

КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ НАНОМАТЕРИАЛОВ ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ ЧЕЛОВЕКА И СРЕДЫ ЕГО ОБИТАНИЯ

*И.А. Дятлов, В.П. Холоденко, В.Д. Потопов, В.В. Фирстова,
В.А. Чугунов, В.Н. Герасимов, С.Г. Игнатов*

COMPREHENSIVE ASSESSMENT OF THE SAFETY OF NANOMATERIALS TO HUMAN HEALTH AND HABITAT

*I.A. Dyatlov, V.P. Kholodenko, V.D. Potapov, V.V. Firstova,
V.A. Chugunov, V.N. Gerasimov, S.G. Ignatov*

ФГУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Проведена комплексная оценка воздействия различных наноматериалов на лабораторные животные, линии первичных и перевиваемых клеточных культур и некоторые объекты окружающей среды. С использованием биохимических, иммунологических, цитометрических и электронномикроскопических методов исследовано влияние аэрозольного введения наночастиц металлов и углерода на первичные культуры альвеолярных макрофагов. Обнаружено влияние наноматериалов на различные функции макрофагов и функциональную активность иммунокомпетентных клеток. Методами биотестирования исследована экотоксичность наноматериалов (биолюминесцентный метод на фотобактериях, ростовой микробный тест, тесты на семенах высших растений и дафниях).

Ключевые слова: биотестирование, наноматериалы, экотоксичность, одностенные углеродные нанотрубки, наночастицы.

The authors have fulfilled the complex estimation of the impact of different nanomaterials on laboratory animals, primary and continuous cell cultures and some of the objects of the environment. The effect of aerosol administration of metal and carbon nanoparticles in primary cultures of alveolar macrophages have been studied by means of biochemical, immunological, cytometric and electron microscopic techniques. The influence of nanomaterials on various functions of macrophages and functional activity of immunocompetent cells has been revealed. Bioassay methods have investigated the ecotoxicity of nanomaterials (bioluminescent method for photobacteria, microbial growth test, tests on the seeds of higher plants and daphnia).

Keywords: bioassay, nanomaterials, ecotoxicology, single-walled carbon nanotubes, nanoparticles.

Материалы и методы. Объектами исследования стали линейные белые мыши, морские свинки, различные линии первичных и пере-

виваемых клеточных культур, бактерии, высшие растения, беспозвоночные гидробионты. Наноматериалы: одностенные углеродные

нанотрубки, фуллерены, наносеребро разных форм, наночастицы диоксида кремния, диоксида титана (анатаз и рутил), диоксида титана, модифицированные марганцем, оксида цинка, оксида железа (II), наноглина бентонит.

Методы исследования: просвечивающая электронная микроскопия, атомно-силовая микроскопия, биохимические, иммунологические, цитометрические и микробиологические методы, методы биотестирования.

Результаты и обсуждение. Анализ современной научно-технической литературы свидетельствует о возрастающем понимании потенциальных опасностей широкого применения различных нанотехнологий. Многие исследователи считают необходимым проведение комплексных исследований токсичности наноматериалов, включая их экотоксичность, прежде чем использовать их в различных нанотехнологиях.

Цель исследований – разработка методологии комплексной оценки воздействия наноматериалов на лабораторных животных, на различные линии первичных и перевиваемых клеточных культур и некоторые объекты окружающей природной среды.

Были проведены эксперименты по однократному и многократному аэрозольному введению суспензий наночастиц металлов и углерода в камере «Glas-Col Apparatus Co» различным видам лабораторных животных (линейные белые мыши, морские свинки) с целью оценки их острой и хронической токсичности. С использованием биохимических методов изучались первичные культуры альвеолярных макрофагов, полученных после аэрозольного введения наночастиц. Обнаружено влияние наноматериалов на различные функции макрофагов: продукцию активных форм кислорода, активность ферментов, участвующих в «оксидативном взрыве», способность к дифференцировке моноцитов в зрелые макрофаги, уровень синтеза провоспалительных цитокинов.

Применение иммунологических и цитометрических методов позволило оценить влияние этих наночастиц на функциональную активность иммунокомпетентных клеток: содержание Т- и В-лимфоцитов, иммунорегуляторный индекс (соотношение Т-хелперов и Т-супрессоров), активность лейкоцитов по маркеру ранней активации CD69, реакцию бласттрансформации (РБТЛ), определение уровня IgE (для оценки общей алергизации организма).

Образцы органов и тканей подопытных животных служили для оптимизации методов электронно-микроскопической идентификации наночастиц в биологических материалах. Полученные данные могут быть использованы для оценки биораспределения и биоаккумуляции наночастиц в организме лабораторных животных.

Дефицит приборов для количественной оценки содержания наноматериалов в окружающей среде затрудняет проведение исследований по экотоксикологии наноматериалов. В связи с этим все большее внимание обращается на использование биотестирования для оценки экотоксичности наноматериалов. Методами биотестирования исследовалась потенциальная токсичность пяти наноматериалов (биолюминесцентный метод на фотобактериях, ростовой микробный тест на жидких и плотных питательных средах, тесты на прорастающих семенах высших растений и беспозвоночных гидробионтах (дафниях)). Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования различных методов биотестирования для оценки экотоксичности наноматериалов в среде обитания человека.

С целью применения атомно-силовой микроскопии (АСМ) для оценки воздействия наноматериалов на бактерии были разработаны методы иммобилизации клеток. Показаны возможности модификации поверхности поли-L-лизинном и желатином для иммобилизации бактериальных клеток, а также использования поверхностных карбоксильных групп для фиксации аминогрупп, расположенных на бактериальной поверхности. АСМ позволяет оценить воздействие наноматериалов на структуру микроорганизмов, что может использоваться для оценки интегральной токсичности наноматериалов.

Таким образом, разработанные методы комплексной оценки воздействия наноматериалов на организм лабораторных животных и некоторые объекты окружающей среды позволяют дать объективную характеристику возможного негативного влияния наночастиц на здоровье человека и среды его обитания.

Все эти методы вошли составной частью в методические указания, разработанные в рамках выполняемой в настоящее время Федеральной целевой программы «Развитие инфраструктуры наноиндустрии в Российской Федерации на 2008–2010 годы» (МУ 1.2. 2634–10 «Микробиологическая и молекулярно-генетическая оценка воздействия наноматериала»).

лов на представителей микробиоценоза» и МУ 1.2. 2635—10 «Медико-биологическая оценка безопасности наноматериалов»).

Для подготовки высококвалифицированных специалистов в сфере безопасности нанотехнологий в 2005 г. на базе ФГУН ГНЦ ПМБ создан факультет (Учебный Центр) Пушкинского государственного университета по биологической и экологической безопасности, (с 2010 г. он преобразован в Учебный Центр по нанобиобезопасности). Такие специалисты могут быть востребованы в сфере охраны здоровья научного и производственного персонала предприятий наноиндустрии, потребителей нанопродукции, населения и окружающей среды.

Выводы. Для получения объективной характеристики возможного негативного влияния наноматериалов на здоровье человека и среды его обитания необходима комплексная медико-биологическая оценка их безопасности.

Разработанная методология такой оценки включает использование лабораторных животных, первичных и перевиваемых клеточных культур и объектов окружающей среды

с применением биохимических, иммунологических, цитометрических и электронно-микроскопических методов, а также методов биотестирования.

Источники поддержки работы. Работа выполнена в рамках Федеральной целевой программы «Развитие инфраструктуры nanoиндустрии в Российской Федерации на 2008—2010 годы».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Методические указания МУ 1.2. 2634—10 «Микробиологическая и молекулярно-генетическая оценка воздействия наноматериалов на представителей микробиоценоза», М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010, 58 с.
2. Методические указания МУ 1.2. 2635—10 «Медико-биологическая оценка безопасности наноматериалов». М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010. 123 с.

Контактная информация:

Фирстова Виктория Валерьевна ,
тел.: 8-909-968-27-23

Contact information:

Firstova Victoria Valer'evna
tel.: 8-909-968-27-23

