

УДК 546.723-31 : 615.916

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ И МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ КИНЕТИКИ ЗАДЕРЖКИ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА В ЛЁГКИХ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ НИЗКОУРОВНЕВОЙ ИНГАЛЯЦИОННОЙ ЭКСПОЗИЦИИ

М.П. Сутункова¹,
Б.А. Кацнельсон¹, Л.И. Привалова¹,
В.Б. Гурвич¹, Л.К. Коньшева¹,
В.Я. Шур², Е.В. Шишкина²,
И.А. Минигалиева¹,
С.Н. Соловьёва¹, И.В. Зубарев²

¹ФБУН Екатеринбургский медицинский
научный центр профилактики и охраны
здоровья рабочих промпредприятий
Роспотребнадзора. Екатеринбург,
Российская Федерация

²Уральский Центр коллективного
пользования «Современные нанотехнологии»
Уральского федерального университета.
Екатеринбург, Российская Федерация

Витающие наночастицы (НЧ) оксида железа Fe_2O_3 со средним диаметром 14 ± 4 нч, образующиеся при искровой абляции электродов из железа 99.99% чистоты подавались в затравочную установку типа «только нос» для крыс по 4 часа в день, 5 раз в неделю на протяжении 3, 6 или 10 мес. при средней концентрации 1.14 ± 0.01 мг/м³. Наночастицы, отфильтрованные из воздуха, отсасываемого из этой установки, оказались нерастворимыми в деионизированной воде, но постепенно растворялись в бесклеточном супернатанте жидкости, полученной при бронхоальвеолярном лаваже, и в стерильной бычьей сыворотке крови. Содержание Fe_2O_3 в лёгких было измерено с помощью ЭПР-спектроскопии, а факт задержки НЧ в лёгких и головном мозгу визуализирован при просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ). Найдено относительно низкое, но значимое накопление Fe_2O_3 в лёгких, постепенно нарастающее во времени, но с тенденцией к достижению равновесного уровня. При ПЭМ обнаружена задержка НЧ в альвеолоцитах и в миелиновой оболочке внутримозговых нервных волокон, связанная с их ультраструктурным повреждением.

Разработана и идентифицирована многокамерная математическая модель, описывающая токсикокинетику ингалированных НЧ после отложения в глубоких дыхательных путях как процесс, контролируемый (а) их высокой способностью пенетрировать через альвеолярную мембрану; (б) активным эндоцитозом; (в) растворением «ин vivo». Однако в этом конкретном исследовании именно механизмы, зависящие от растворения, оказались доминирующими из-за относительно высокой растворимости мельчайших Fe_2O_3 -НЧ в биологических средах.

Ключевые слова: железоксидные наночастицы, токсикокинетика, системные модели.

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

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

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

Коньшева Людмила Константиновна (Konysheva Ludmila Konstantinovna), к.б.н., научный сотрудник отдела токсикологии и биопрофилактики ФБУН ЕМНЦПОЗРПП, 620014, г. Екатеринбург, konkl@yandex.ru

Шур Владимир Яковлевич (Shur Vladimir Yakovlevich), д.ф.-м.н. профессор Уральского Центра коллективного пользования «Современные нанотехнологии» Уральского федерального университета, 620000, г. Екатеринбург, vladimir.shur@urfu.ru

Шишкина Екатерина Владимировна (Shishkina Ekaterina Vladimirovna), к.ф.-м.н., старший научный сотрудник Уральского Центра коллективного пользования «Современные нанотехнологии» Уральского федерального университета, 620000, г. Екатеринбург, ekaterina.shishkina@labfer.usu.ru

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

Соловьёва Светлана Николаевна (Solovyeva Svetlana Nikolayevna), младший научный сотрудник лаборатории токсикологии внешней среды ФБУН ЕМНЦПОЗРПП, 620014, г. Екатеринбург, solovyevasn@ymrc.ru

Зубарев Илья Владимирович (Zubarev Ilya Vladimirovich), Уральский Центр коллективного пользования «Современные нанотехнологии» Уральского федерального университета, 620000, г. Екатеринбург, ilya.zubarev@urfu.ru

Введение. Будучи практически нерастворимыми в деионизированной воде, металлические и в особенности металлооксидные наночастицы (Me-НЧ), более или менее быстро растворяются *in vitro* в физиологическом растворе, но ещё больше – в биологических и модельных жидких средах, что указывает на высокую вероятность их растворимости *in vivo*. Токсикологическая значимость этого растворения не только ожидается *априори* [1], но и демонстрируется многими экспериментальными данными, в том числе, нашими собственными, полученными при субхронической внутрибрюшинной экспозиции крыс к НЧ металлического серебра в сравнении с заметно менее растворимыми НЧ металлического золота [2] и особенно к НЧ оксида меди [3] и оксида марганца [4]. Вместе с тем, хорошо известное из многих экспериментов, в том числе и наших, проведенных с этими же и другими Me-НЧ при их парентеральном введении [5,6] преимущественное накопление НЧ в печени и селезёнке – органах, богатых клетками РЭС, косвенно указывает на существенную токсикокINETическую роль резидентных макрофагов.

Однако особое значение имеет сравнительная оценка влияния растворимости и фагоцитоза на судьбу НЧ, отлагающихся в глубоких дыхательных путях при хронической ингаляционной экспозиции. Последняя наиболее важна именно для металлооксидных НЧ, поскольку они составляют существенную фракцию промышленных аэрозолей не только в наноиндустрии, но и при многих давно существующих технологиях (электросварка, сталеплавильное производство, цветная металлургия и др.), в которых заняты в сумме миллионные контингенты работающих.

Теоретические представления об аэродинамических механизмах, определяющих первичное отложение ингалируемых НЧ преимущественно в так называемой пульмонарной, или альвеолярной области лёгких, а также в носовых ходах, давно устоялись в науке. Они были включены в общеизвестную модель Международного Комитета по Радиационной защите [7], а последующие корректировки количественной оценки этого отложения, основанные на использовании различных математических моделях [8], не могут быть названы принципиальными. Между тем, именно как принципиальные должны быть охарактеризованы различия взглядов разных исследователей на роль физиологических и физико-химических механизмов, контролирующих дальнейшую судьбу НЧ, отложившихся при дыхании. В частности, конкретных экспериментальных и мо-

дельных оценок её зависимости от растворения Me-НЧ в организме пока имеется недостаточно для каких-либо обобщений. Если, например, эта роль была экспериментально оценена как малая по отношению к TiO_2 -НЧ [9], то это является скорее частным случаем, чем общей закономерностью. Отметим, что исследователи [10], проводившие подострую и субхроническую ингаляционную экспозицию мышей к ZnO-НЧ, выявили начальную фазу существенного повышения концентрации Zn^{2+} -иона в бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ), что косвенно свидетельствует о растворении этих НЧ уже на свободной поверхности глубоких дыхательных путей и альвеол ещё до их пенетрации в лёгочный интерстициум.

Между тем, автор диссертации [8], разработавший многокамерную системную модель кинетики отложения и задержки ингалируемых НЧ в лёгких, параметры которой были им оценены на базе различных опубликованных экспериментальных исследований других авторов с разными Me-НЧ при, как правило, краткосрочной ингаляции в малых концентрациях, принял нерастворимость этих НЧ в качестве одного из исходных постулатов. Напротив, мы [5] ранее предложили включить в многокамерную токсикокINETическую модель, рассматриваемую ниже, гипотетические дополнительные потоки элиминации растворяющихся НЧ из легких и легочно-ассоциированных лимфоузлов, но подчеркнули, что в то время не располагали данными, достаточными для количественной идентификации этих потоков.

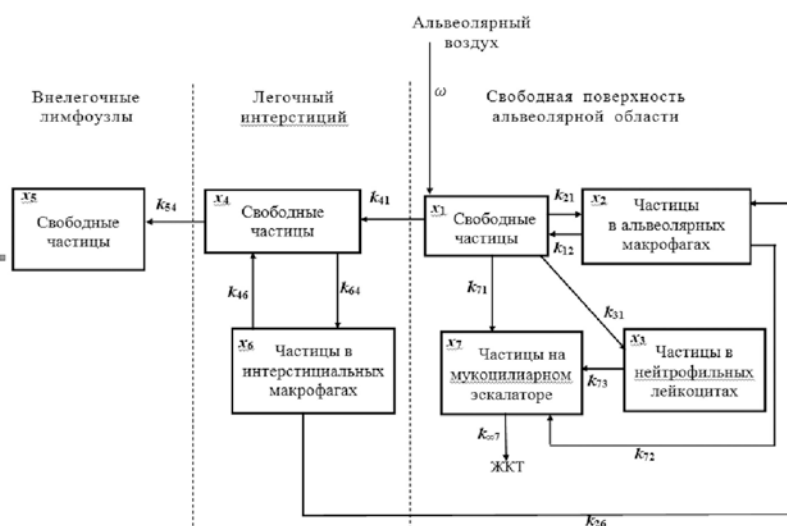


Рис. 1. Структура многокамерной модели кинетики лёгочной задержки, перераспределения и клиренса нерастворимых пылевых частиц, отложившихся при дыхании в пульмонарной области лёгких; ω – постоянная отложения, k_{ji} константа скорости пререноса частиц из камеры X_i в камеру X_j [12,22,23]

Тот же автор [8] отмечает, что «Katsnelson et al. (1992) опубликовали многокамерную модель задержки био-персистирующих частиц в пульмонарной области лёгких, включив в ней нейтрофилы, которые также участвуют в фагоцитозе, внося вклад в альвеолярный клиренс путём переноса своего груза частиц на мукоцилиарный эскалатор». Тем не менее, сам он в своей модели принимает, в полном соответствии с преобладающей в литературе традицией, альвеолярный макрофаг (АМ) в качестве единственного эффектора фагоцитарного механизма лёгочного клиренса наночастиц. На самом же деле, усиленная мобилизация нейтрофильных лейкоцитов (НЛ) в ответ на пульмонарное отложение любых частиц, включая наноразмерные, давно и хорошо известна, но обычно характеризуется как признак воспаления [12-18]. Между тем, большим числом экспериментов, проведенных в нашем коллективе на протяжении десятков лет [19-21] было доказано, что нейтрофильный фагоцитоз цитотоксичных пылевых частиц является важным механизмом частичной компенсации повреждения ими макрофага, роль которого как основного участника лёгочного клиренса несомненна. Упомянутая выше многокамерная модель системы задержки практически нерастворимых пылевых частиц, схема которой показана на рисунке 1, была разработана на основе именно этих представлений.

Подтверждением их обоснованности может служить то, что при управляющих вмешательствах, имитирующих различия фагоцитарной реакции лёгких на отложение различных пылевых частиц с большим или меньшим вкладом НЛ, эта модель успешно прогнозировала кинетику хронической задержки в лёгких и лимфоузлах крысы при длительной ингаляции пыли неодинаковой цитотоксичности (кварцит, стандартный кварц DQ12, диоксид титана), а также при ингаляции той же самой кварцитной пыли на фоне такого мощного антицитотоксического агента как глутамат [11,21-24].

Отметим, однако, что неодинаковая задержка в лёгких кварцитной пыли и некоторых аэрозолей аморфного кремнезёма [25,26,27] свидетельствует о том, что и для малорастворимых микрометровых частиц роль растворения как механизма самоочищения лёгких от них не всегда является пренебрежимо малой. Этот механизм представляется тем более важным, когда речь идёт о Ме-НЧ, поскольку и цитотоксичность и растворимость этого класса аэрозолей варьируют в широких пределах.

Для проверки верности вышеизложенных представлений применительно к ингаляционной токсикологии металлооксидных наноаэрозолей было решено провести эксперименты с НЧ оксида железа Fe_2O_3 , которые являются основным

по массе компонентом сварочных дымов и эмиссий сталеварения, а тем самым, одним из гигиенически наиболее значимых примеров Ме-НЧ.

Материалы и методы исследования.

Экспериментальная часть. Витающие НЧ со средним диаметром 14 ± 4 нм, образующиеся в генераторе Palas DNP-3000 при искровой абляции электродов из железа 99.99% чистоты, подавались в затравочную установку типа «только нос» для 60 крыс (поставка фирмы CN Technologies, США) по 4 часа в день, 5 раз в неделю на протяжении 3, 6 или 10 мес. при средней концентрации, соответственно, 1.00 ± 0.12 , 1.09 ± 0.10 и 1.14 ± 0.01 мг/м³. Химическая идентичность НЧ как Fe_2O_3 подтверждена с помощью Рамановской спектроскопии.

Частицы, выделенные микропористым фильтром PSI (Performance Systematix, Inc., USA) из воздуха, отсасываемого из этой установки, оказались нерастворимыми в деионизированной воде, но постепенно растворялись в бесклеточном супернатанте жидкости, полученной при бронхоальвеолярном лаваже (БАЛЖ) у неэкспонированных крыс, и в стерильной бычьей сыворотке крови.

Содержание Fe_2O_3 -НЧ в лёгких каждой крысы, умерщвлённой по истечении одного из вышеуказанных периодов экспозиции, было измерено по иону Fe^{2+} с помощью ЭПР-спектроскопии (EMXplus EPR Spectrometer фирмы Bruker, США) и пересчитано на молекулярную массу Fe_2O_3 и на показатель сухой массы органа. Кроме того, задержка НЧ в лёгких и головном мозгу визуализировалась при просвечивающей электронной микроскопии ультратонких срезов с использованием ультрамикротом (Power Tome, «RMC», США) и микроскопа AURIGA («Carl Zeiss; MT», Германия) в STEM режиме в диапазоне увеличения от $\times 1200$ до $\times 200000$.

Общий и дифференциальный подсчёт клеток был произведен в БАЛЖ, полученной через 24 часа после завершающей экспозиции каждого периода, а также после однократного интратрахеального введения либо наносуспензии Fe_2O_3 со средним диаметром частиц $17,1 \pm 3,9$ нм (0,3 мг в объёме 1 мл), полученной лазерной абляцией такого же чистого железа в деионизированной воде, либо такой же дозы водной взвеси кварца DQ12 (с частицами менее 5 мкм), либо той же воды без частиц.

Адаптация системной модели. При расчёте постоянной массы наночастиц, первично отлагающихся на свободной поверхности так называемой пульмонарной области глубоких дыхательных путей крысы, для всех подопытных групп были приняты: (а) взвешенная по времени средняя концентрация Fe_2O_3 во вдыхаемом воздухе, равная 1,10 мг/м³; (б) минутный объём

лёгочной вентиляции 100 мл, что в 1,3 раза выше минимальной величины, найденной в литературе – 78 мл (29) и в 2,1 раза ниже максимальной – 210 мл (30); (в) 52%-ное фракционное отложение НЧ в пульмонарной области, что близко к минимальной оценке по разным методам [8]. Отметим, что ориентировочный характер параметров (б) и (в) не только неизбежен, принимая во внимание противоречивости имеющихся в литературе оценок, но и вполне допустим для системной модели подобного рода.

В качестве исходной была принята та многокамерная модель, структура которой показана на рисунке 1 и которая представляет собой систему дифференциальных уравнений, описывающих предусмотренные этой структурой процессы перераспределения, выведения и задержки частиц в лёгких. При этом был выбран тот набор коэффициентов этой системы, который был ранее идентифицирован [23] для оптимальной имитации экспериментальных данных о задержке SiO_2 в лёгких и лёгочно-ассоциированных лимфоузлах в процессе хронической ингаляции кварца DQ12 [31]. Этот конкретный выбор был продиктован как ожиданием высокой цитотоксичности Fe_2O_3 -НЧ¹, так и сходными условиями экспозиции, которая в эксперименте с DQ12 была проведена на протяжении от 3 до 24 мес. по 30 часов в неделю при той же самой средней концентрации 1 мг/м³.

Адаптация этой модели к специфике настоящего эксперимента осуществлялась на основе подхода, разработанного нами ранее для решения аналогичных задач системного моделирования [11,22,23 и др.]. Этот подход основан на компьютерных программах, сочетающих формальную итеративную процедуру с определёнными ограничениями или, наоборот, прямыми заданиями, касающимися того или иного изменения коэффициентов модели по знаку и/или величине. Эти ограничения и задания должны быть оправданы теоретическими представлениями о закономерностях функционирования моделируемой системы, а также собственными или имеющимися в литературе экспериментальными данными.

Критерием успешности этой процедуры (так называемой идентификации модели) является удовлетворительная имитация динамики задержки, то есть накопления хронически ингалируемых частиц в ткани лёгких и лимфоузлов. Необходимо понимать, однако, что основная цель системного моделирования состоит не в надёжном предсказании какого-то количественного показателя как такового, а в подтверждении внутренней не-

противоречивости (консистентности) той гипотезы о структуре рассматриваемой системы и процессах, её контролирующих, которая воплощена данной моделью. Поэтому имитация, о которой идёт речь, должна быть адекватной в главном, но не обязательно полной в деталях.

Так, например, имеются все основания допустить, что чем мельче частицы тем вероятнее их диффузия через биологические мембраны (в отношении пенетрации в кровь из альвеол 22 нм $^{59}\text{Fe}_2\text{O}_3$, введенных интратрахеально, это показано в эксперименте [33]). Поэтому представлялось необходимым увеличить по сравнению с исходной моделью константу скорости переноса свободных НЧ в лёгочный интерстициум (на модели Рис. 1 это константа k_{41} переноса из камеры X_1 в камеру X_4). Даже при отсутствии оснований для априорного назначения кратности этого изменения, сама по себе обязательность его, причём именно в сторону увеличения, может служить примером того ограничения свободы итеративной процедуры, о котором только что было сказано.

Второй пример касается введения в модель конечного значения k_{31} - константы скорости переноса из камеры X_1 в камеру X_3 , описывающего вторичное освобождение НЧ при разрушении НЛ, их фагоцитировавших. При моделировании задержки вышеперечисленных пылей она была принята равной нулю (почему соответствующая связь между указанными камерами и не была показана схемой модели на рис.1). Это объяснялось тем, что нагрузка единичного НЛ микрометровыми пылевыми частицами была мала по сравнению с единичным АМ и поэтому не приводила к существенному повреждению и разрушению клетки. Однако накопленный нами опыт интратрахеального воздействия различными Ме-НЧ, начиная с Fe_2O_3 -НЧ [5,32], показал, что они поглощаются единичным НЛ очень жадно (хотя и менее жадно, чем единичным АМ), а электронно-микроскопическое исследование выявляло ультраструктурное повреждение не только в АМ, но и в НЛ).

Результаты вышеописанного эксперимента *in vitro*, выявившие растворимость Fe_2O_3 -НЧ в биологических жидкостях, позволяют предположить, что они могут растворяться *in vivo*, где бы ни находились после отложения. Однако для учёта роли этого процесса в кинетике лёгочной задержки мы приняли достаточным (и, как выяснилось далее, необходимым) включить в структуру модели элиминационные потоки, обусловленные растворением свободных (то есть

¹ Высокая пульмонарная цитотоксичность, по данным наших интратрахеальных экспериментов, свойственна практически всем ранее изученным Ме-НЧ, причём для 10 нм частиц другого оксида железа (Fe_3O_4) она была найдена более высокой по сравнению с кварцевыми микрочастицами [5,32].

внеклеточных) частиц, идущие из камер X_1 и X_4 . Выбирая величину константы скорости s_1 для первого из этих потоков, мы ориентировались на константу скорости растворения Fe_2O_3 -NPs с фильтра в БАЛЖ (равную 32 нед⁻¹), поскольку эта жидкость близка к той среде, в которой частицы плавают на свободной поверхности пульмонарной области лёгких. Оговоримся однако, что точного равенства этих двух констант в принципе не может быть и потому, что указанная естественная среда была разбавлена водой, которой производится лаваж, и потому, что пульмонарной области достигают при ингаляции наиболее мелкие, то есть наиболее растворимые НЧ (в то время как на фильтре осаждались НЧ из камеры без предварительной сепарации по размерам), и потому, что какая-то часть этих НЧ, проникшая в толщу фильтра, оказывается мало доступной для контакта с растворителем.

Задать ориентир для выбора значения s_4 - константы скорости элиминационного потока из камеры X_4 ещё сложнее, прежде всего, потому, что для оценки этой величины *in vitro* затруднительно найти модельную жидкую среду, достаточно близкую по составу и свойствам к тканевой жидкости крысиных лёгких. Используемая нами в этом качестве стерильная бычья сыворотка крови кажется сравнительно неплохим решением задачи, но разумеется, далёким от «точности». К тому же, кинетика растворения в этой среде частиц с фильтра аппроксимировалась двухэкспоненциальной функцией времени. Мы приняли допущение, что те мельчайшие НЧ, с которыми

может быть связана быстрая фаза растворения, *in vivo* в значительной степени растворились ещё до пенетрации через альвеолярную мембрану. Поэтому константа s_4 должна бы быть существенно ниже константы s_1 и не слишком отличаться от константы скорости медленной фазы растворения *in vitro* (равной 4,9 нед⁻¹).

В итоге итерационная процедура, ориентированная на вышеприведенные оценки, выбрала значения рассматриваемых констант равными для $s_1 = 30$ нед⁻¹ и для $s_4 = 2.5$ нед⁻¹. Для элиминации НЧ из лёгочно-ассоциированных лимфоузлов, представленных в модели камерой X_5 , мы условно объединили растворение в один поток с прямой пенетрацией НЧ в лимфу и кровь, что и может оправдать найденное итерацией более высокое по сравнению с последней величиной значение константы $s_5 = 6$ нед⁻¹.

Методические приёмы выбора тех констант модели, которые связаны с фагоцитозом частиц, целесообразнее рассмотреть в следующем Разделе в рамках обсуждения некоторых результатов экспериментальной оценки этого процесса.

Результаты и обсуждение. Как видно из данных таблицы 1, и ингаляционное воздействие, и интратрахеальное введение Fe_2O_3 -НЧ вызвали дополнительную мобилизацию в глубокие дыхательные пути альвеолярных макрофагов (АМ) и преимущественно нейтрофильных лейкоцитов (НЛ), подсчитанных в БАЛЖ, причём численное отношение НЛ/АМ статистически значимо возросло. Исследованиями нашей лаборатории [22,23,27,34,35,36] было давно по-

Таблица 1

Клеточность жидкости, полученной у крыс при бронхоальвеолярном лаваже (БАЛЖ), $\bar{x} \pm s_x$

Воздействие	Число клеток $\times 10^6$			НЛ/АМ
	Все	Альвеолярные макрофаги (АМ)	Нейтрофильные лейкоциты (НЛ)	
24 часа после завершающей экспозиции 3-месячного ингаляционного периода ¹				
Fe_2O_3 - НЧ	2,45±0,33*	1,96±0,28	0,46±0,08*	0,25±0,02*
Контрольная камера	1,47±0,23	1,35±0,21	0,11±0,03	0,08±0,02
24 часа после интратрахеального введения (0,3 мг в 1 мл)				
Fe_2O_3 -НЧ	3,59±0,24*+	2,69±0,24	0,84 ±0,09*+	0,35±0,06*
Кварц DQ12	5,22±0,32*	3,09±0,24*	2,09±0,41*	0,85±0,28*
Вода (контроль)	2,16±0,26	2,04±0,24	0,12±0,03	0,05±0,01

Приложение: ¹аналогичные результаты получены после 6 и 10 месяцев ингаляций.

*статистически значимое ($p < 0.05$) отличие от контрольного показателя; + то же от показателя при действии кварца DQ12.

казано и в дальнейшем неоднократно подтверждено, что при пульмонарном отложении пылевых частиц такая мобилизация фагоцитирующих клеток ауторегулируется организмом в соответствии с количеством образующихся продуктов макрофагального разрушения. Поэтому отношение НЛ/АМ может использоваться как информативный, хотя и косвенный критерий цитотоксичности отложившихся частиц для АМ. В частности, было найдено, что интратрахеально введенные частицы Fe_3O_4 диаметром 10 нм или даже 50 нм, судя по этому критерию, существенно более цитотоксичны, чем частицы диаметром 1,1 мкм [5,32].

Правда, при интратрахеальном введении Fe_2O_3 -НЧ мобилизация НЛ была намного менее выраженной, чем при введении DQ12, однако при практически равном вовлечении АМ в элиминацию частиц обоого рода даже существенное межгрупповое различие вовлеченности нейтрофильного фагоцитоза едва ли играло важную токсикокинетическую роль. Другими словами, у нас не оказалось надёжно экспериментально обоснованных количественных ограничений для подбора программной итерации тех констант модели, которые связаны с фагоцитозом частиц, однако имелись некоторые априорные ограничения и ориентиры.

Так, исходя из более высокой фагоцитарной активности АМ по сравнению с НЛ по отношению к любым частицам, в том числе, к железоксидным НЧ [5,32], было задано условие $k_{21} > k_{31}$. Исходя из того, что скорость вторичного освобождения фагоцитированных частиц в результате разрушения клеточного пула естественно ниже скорости их поглощения, можно было задать условия $k_{21} > k_{12}$, $k_{31} > k_{13}$ и $k_{64} > k_{46}$. Учитывая, что относительно низкая нагрузка частицами единичного НЛ делает вероятность его разрушения частицами невысокой по сравнению с единичным АМ, мы приняли условие $k_{13} \ll k_{12}$ (Как уже отмечено выше, в исходной модели это разрушение было не учтено вовсе).

Вместе с тем, нам неизвестны данные о сравнительной фагоцитарной активности АМ и интерстициального макрофага, а соотношение между численностью наличных пулов этих клеток является заведомо динамичным, что в совокупности делает невозможным задать условие того или иного неравенства констант k_{21} и k_{64} . Можно было лишь предположить, что они ско-

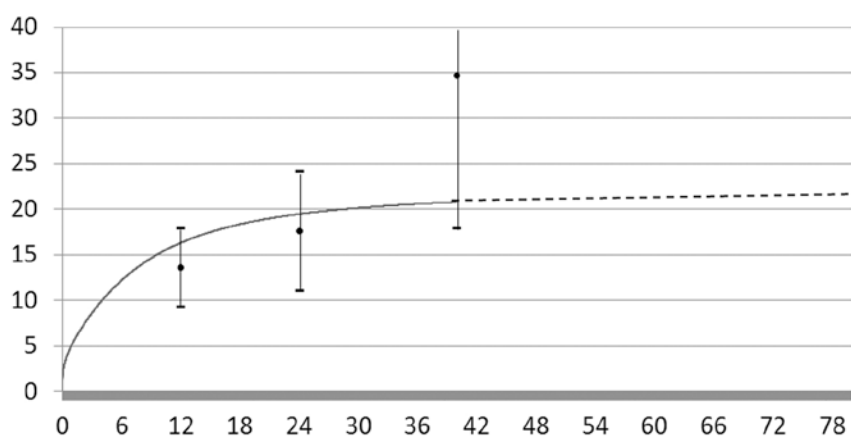


Рис. 2. Временной ход накопления Fe_2O_3 -НЧ в лёгких крыс, предсказываемый модифицированной многокамерной моделью на 10-месячный период реально осуществлённых ингаляционных экспозиций (сплошная линия) и в случае его удлинения до 20 мес. (пунктирная линия). По оси абсцисс отложены недели от момента начала экспозиций, по оси ординат – абсолютное содержание Fe_2O_3 в лёгких, мкг. Экспериментальные показатели обозначены с 95% ДИ.

рее не равны, чем одинаковы. С другой стороны, как исходная, так и модифицированная модель принимают, что непосредственное токсикокинетическое последствие разрушения лёгочного макрофага любой локализации или нейтрофила (возвращение частиц из внутриклеточного в свободное положение) не зависит от того, какой вариант клеточной смерти (апоптоз, аутофагия или некроз) привёл к указанному разрушению фагоцитов. Даже если это допущение несколько упрощает реальность, уместно подчеркнуть ещё раз, что подобные упрощения при построении модели системы не только неизбежны, но и не лишают её познавательной ценности в рамках поставленной задачи.

Однако итерационная процедура, корректируемая всеми этими ограничениями, допущениями и условиями, включая обоснованное выше требование увеличить константу k_{41} , не смогла достичь хотя бы приблизительной имитации динамики нарастания задержки частиц в лёгких. Перед нами стояла альтернатива: либо допустить ничем не обоснованное изменение любых констант исходной модели, просто подгоняя её отклик под ответ (что лишило бы системное моделирование его смысла, сформулированного выше), либо сначала включить в структуру модели обоснованные выше выходы из системы, связанные с растворением НЧ, а затем повторно запустить процедуру идентификации всех параметров модифицированной модели с учётом всех вышеизложенных условий и ограничений.

Как можно увидеть на рисунке 2, в этом случае модель действительно прогнозировала характерную для токсикокинетики 1-го порядка кривую накопления с постепенным выходом на плато.

При этом, хотя ни одна из трёх экспериментальных точек и не легла на кривую, но ни одна из них не отклоняется от неё статистически значимо. Таким образом, эксперимент дал вполне удовлетворительное подтверждение consistency модели, а тем самым – и той теории, на базе которой она была первоначально развита и в настоящее время модифицирована.²

Особо следует подчеркнуть, что алгоритм и результат этого модифицирования вполне согласуются с признанием важной токсикокинетической роли постепенного растворения НЧ «in vivo» – во всяком случае, для частиц Fe_2O_3 в нижнем диапазоне наноразмерности. Отметим, что именно этот механизм самоочищения лёгких является наиболее вероятным объяснением того, почему накопление оксида железа в лёгких оказалось в 15-16 раз ниже, чем накопление диоксида кремния при сопоставимой экспозиции к пыли кварца DQ12 [31]: например, после 3 месяцев ингаляции 13,5 мкг и 207 мкг, соответственно, а после 10 месяцев – 34,6 мкг и 550 мкг, соответственно.

К сожалению, мы располагаем показателем содержания Fe_2O_3 в лёгочно-ассоциированных лимфоузлах только по объединённой ткани всех крыс группы к 10-месячному сроку эксперимента. В расчёте на одно животное оно составило 0,003 мкг, что близко к модельной имитации (0,004 мкг).

Рисунки 3 и 4 дают пример электронно-микроскопической визуализации накопления НЧ в альвеолоцитах типа I и типа II, которое с рассматриваемых в данной статье позиций лёгочной токсикокинетики частиц является промежуточной фазой их транслокации через альвеолярную мембрану, чему в нашей модели соответствует переход из камеры X_1 в камеру X_2 . Этой моделью он рассматривается, по сути дела, как пассивная диффузия, но нельзя исключить какую-то роль физиологического (клеточно-опосредованного) компонента. С другой стороны, участвующие в нём клетки, образующие альвеолярную мембрану, могут быть повреждены действием цитотоксичных частиц. Во всяком

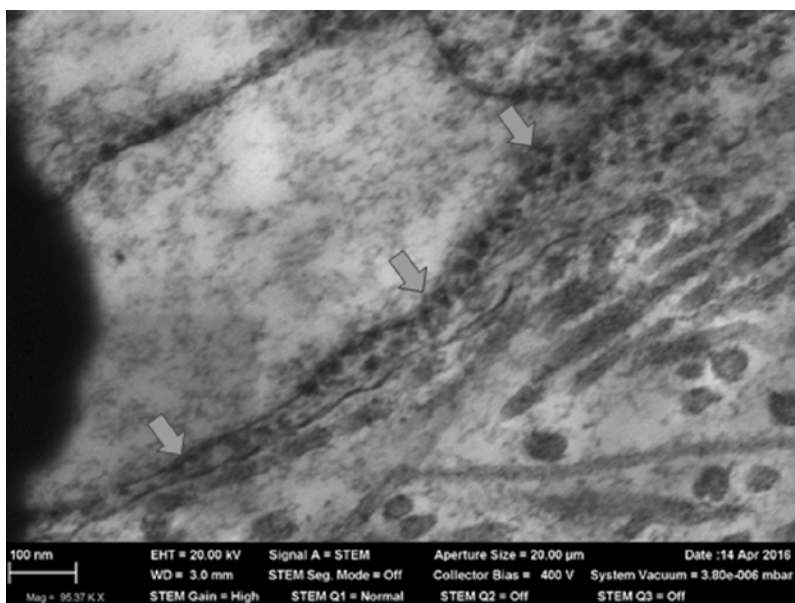


Рис. 3. Альвеолоцит типа I в лёгких крысы после 6 мес. ингаляции наночастиц, накопление которых в клетке указано стрелками. (ПЭМ, увеличение $\times 95\,370$).

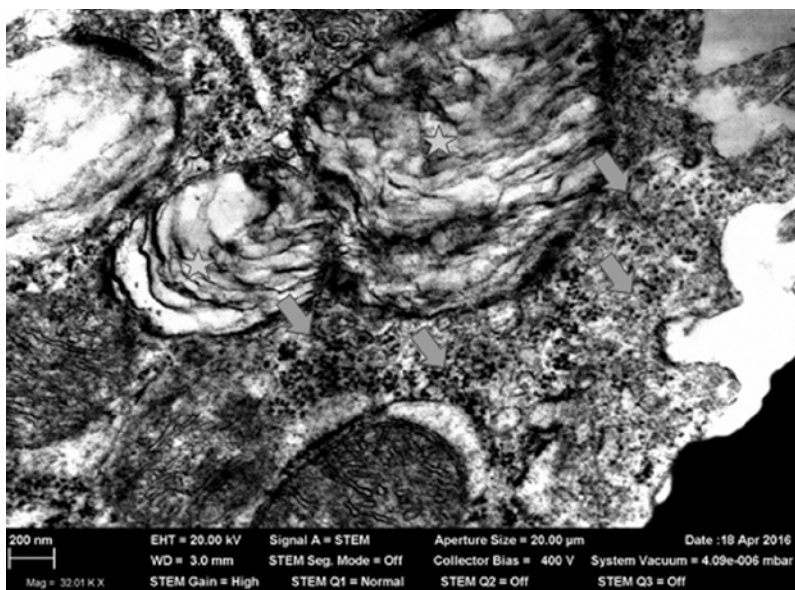


Рис. 4. Альвеолоцит типа II в лёгких крысы после 6 мес. ингаляции наночастиц, накопление которых в клетке указано стрелками, а звёздочками – дезорганизация мембран мультислойного тельца (ПЭМ, увеличение $\times 32\,010$).

случае, мы видим в альвеолоците типа II, показанном на рис. 4, выраженную дезорганизацию мембран мультислойного тельца и можем предположить, что такое повреждение этих органелл, участвующих в образовании сурфактанта, может привести к нарушениям лёгочной механики.

² Целесообразно напомнить, что речь идёт о модели системы, а не о модели данных, которая вполне удовлетворительно аппроксимировала бы те же самые экспериментальные результаты линейной зависимостью. Смысл и назначение этих двух принципов моделирования совершенно различны.

Мы находим НЧ также в ольфакторной области головного мозга, где они обнаруживаются только в миелиновой оболочке внутримозговых нервных волокон и сопряжены с очаговой демиелинизацией (рис. 5). Такая, казалось бы, странная локализация может быть объяснена транслокацией НЧ со стороны ольфакторного эпителия носовой полости, в которой они, как хорошо известно [7,8 и др.], отлагаются в значительной степени напрямую в мозг вдоль волокон обонятельного нерва. Этот путь транслокации различных НЧ был непосредственно прослежен многими экспериментаторами [37,38,39].

Однако общее накопление Fe_2O_3 в мозгу наших крыс оказалось недостаточным для количественного определения с помощью ЭПР-спектроскопии, что не позволяет идентифицировать рассматриваемый токсикокинетический механизм в структуре многокамерной модели.

Заключение. Результаты исследования свидетельствуют о том, что лёгочная токсикокинетика (задержка, перераспределение и элиминация) металлоксидных наночастиц контролируются как физиологическими, так и физико-химическими механизмами, а именно их высокой способностью к диффузионному проникновению через мембраны, наряду с активным эндоцитозом, осуществляемым различными клетками, и постепенным растворением *in vivo*.

Логично предположить, что относительный вклад перечисленных механизмов в эти токсикокинетические процессы для разных НЧ неодинаков в зависимости от их размера и химического состава, но для изученных нами Fe_2O_3 -НЧ нижнего диапазона наноразмерной шкалы наиболее высока роль растворения в биологической среде.

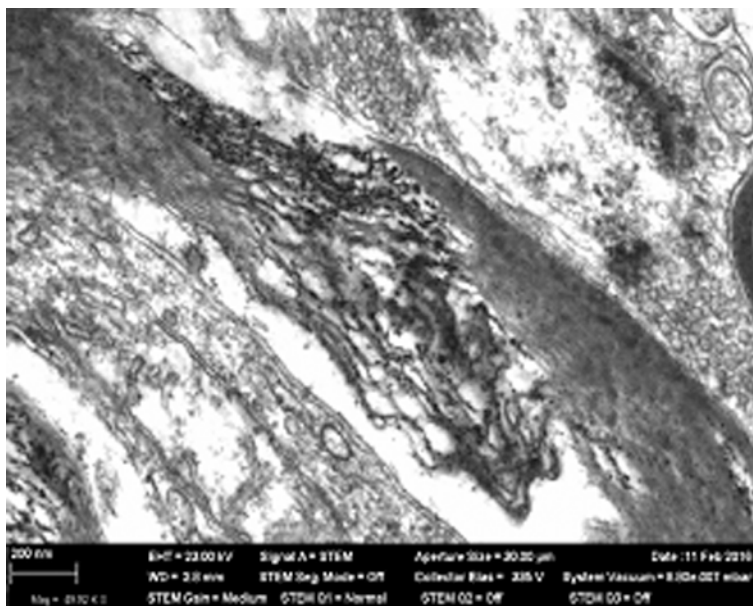


Рис. 5. Продольное сечение нервного волокна в ольфакторной области головного мозга крысы после 10 мес. ингаляции наночастиц. Видно фокальное повреждение миелиновой оболочки в местах их накопления (ПЭМ, увеличение $\times 49\,920$).

Хорошо известная способность различных НЧ, отложившихся при ингаляции в носовой полости, к транслокации вдоль волокон обонятельного нерва, может служить объяснением того, что мы обнаружили очаги скопления Fe_2O_3 -НЧ в миелиновой оболочке внутримозговых нервных волокон ольфакторной области головного мозга.

Как в лёгких, так и в мозгу даже относительно малотоксичный оксид железа проявляет в наносостоянии высокую цитотоксичность. Развита нами многокамерная модель учитывает важную кинетическую роль цитотоксического повреждения лёгочных макрофагов с компенсаторной мобилизацией нейтрофильных лейкоцитов и в будущем может послужить основой также для анализа вероятной кинетической роли цитотоксического повреждения альвеолоцитов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Utembe W., Potgieter K., Stefaniak A.B., Gulumian M. Dissolution and biodegradability: Important parameters needed for risk assessment of nanomaterials. Part. Fibre Toxicol. 2015; 12: 11.
2. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Makeyev O.H., Shur V.Y., Beikin J.B. 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.
3. Privalova L.I., Katsnelson B.A., Loginova N.V., Gurvich V.B., Shur V.Y., Valamina I.E. 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.
4. Minigalieva I.A., Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Shur V.Y., et al. Attenuation of combined nickel (II) oxide and manganese (II,III) oxide nanoparticles' adverse effects with a complex of bioprotectors. International Journal of Molecular Sciences. 2015; 16 (9): 22555-225
5. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Kuzmin S.V., Degtyareva T.D., Sutunkova M.P., Yeremenko O.S. Some peculiarities of pulmonary clearance mechanisms in rats after intratracheal instillation of magnetite (Fe_3O_4) suspensions with different particle sizes in the nanometer and micrometer ranges: Are we defenseless against nanoparticles? Int. J. Occup. Environ. Health. 2010; 16: 508-5
6. Katsnelson B.A., Minigalieva I.A., Panov V.G., Privalova L.I., Varaksin A.N., Gurvich V.B. et al. Some patterns of metallic nanoparticles' combined subchronic toxicity as exemplified by a combination of nickel and manganese oxide nanoparticles. Food and Chemical Toxicology. 2015; 86: 351-364
7. ICRP. Human respiratory tract model for radiological protection. A report of a Task Group of the International Commission on Radiological Protection. Ann ICRP 24.1994; 66: 1-482.
8. Kolanjiyil A.V. Deposited nanomaterial mass transfer from lung airways to systemic regions. A thesis for MSc degree. Raleigh, NC. 2013.
9. Creutzenberg, O. Toxic Effects of Various Modifications of a Nanoparticle Following Inhalation (Research Project F 2246). Dortmund, Berlin, Dresden; the Federal Institute for Occupational Safety and Health. 2013; 4
10. Adamcakova-Dod A., Stebounova L.V., Kim, J.S., Vorrink S.U., Ault A.P., O'Shaughnessy P.T., Grassian V.H., Thorne P.S. Toxicity assessment of zinc oxide nanoparticles using sub-acute and sub-chronic murine inhalation models. Part. Fib. Toxicol. 2014; 11: 15.
11. Katsnelson B.A., Konyshva L.K., Privalova L.I., Morosova K.I. Development of a multicompartamental 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.

- 12. 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.
- 13. Stoeger T., Reinhard C., Takenaka Sh., Schroepfel A., Karg E., Ritter, B.** 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.
- 14. 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.
- 15. 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.
- 16. Neuberger M.** Umweltepidemiologie und Toxikologie von Nanopartikeln, in: Gazsó, A., Grefler, S., Schiemer, F. (Eds), Nano-Chancen und Risiken aktueller Technologien. Springer, Wien – New York. 2007; 181-197.
- 17. Warheit D.B., Reed K.L., Sayes C.M.** A role for surface reactivity in TiO₂ and quartz-related nanoparticle pulmonary toxicity. *Nanotoxicol.* 2009; 3: 181-187.
- 18. Liu J., Feng X., Wei L., Chen L., Song B., Shao L.** The toxicology of ion-shedding zinc oxide nanoparticles. *Crit. Rev. Toxicol.* 2016; 46(4): 348-3
- 19. Старикова С. К., Кацнельсон Б. А., Аронова Г. В., Шнайман И. М.** Участие полинуклеаров в альвеолярном фагоцитозе кварцевой пыли и его связь с биологической агрессивностью кварца. «Бюллетень эксперим. биол. и медицины». 1970; 9: С. 113-116
- 20. Привалова Л. И.** Гигиеническое значение цитотоксического действия силикозоопасной пыли как фактора, контролирующего защитную реакцию самоочищения легких. Автореф. дис. канд. мед. наук. Свердловск: НИИ ГТ и ПЗ. 1979; 211 С.
- 21. Привалова Л. И.** Гигиенические аспекты неспецифического действия малорастворимых цитотоксических пылевых частиц. Автореф. дисс. докт. мед. наук. Свердловск: МНЦП и ОЗРПП. 1990; 389 С.
- 22. Katsnelson B.A., Konyshcheva L.K., Sharapova N.Ye., 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.
- 23. Katsnelson B.A., Konyshcheva 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.
- 24. Кацнельсон Б. А., Привалова Л. И., Алексеева О. Г., Ползик Е. В.** Пневмокониозы: патогенез и биологическая профилактика. Екатеринбург: УрО РАН. 1995; 325
- 25. Петин Л. М.** К обоснованию предельно допустимой концентрации кремнеземсодержащих аэрозолей конденсации. *Гиг. труда.* 19№ С. 28-33.
- 26. Подгайко Г. А., Кацнельсон Б. А., Лемяев М. Ф., Соломина С. Н., Саитов В. А., Русяева Л. В.** Новые данные к оценке силикозоопасности промышленных аэрозолей на основе коллоидного раствора кремниевой кислоты. В кн.: Домнин С. Г. и Кацнельсон Б. А. (ред.) «Профессиональные болезни пылевой этиологии. Выпуск 7». М.: НИИГ им. Эрисмана, 19С. 93-100.
- 27. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Kisilitsina N.S., Podgaiko G.A.** Correlation between cytotoxicity and fibrogenicity of silicosis-inducing dusts. *Med. Lav.* 1984; 75: 450-462.
- 28. Ramahandran G.** Assessing nanoparticle risk to human health. Elsevier, Amsterdam. 2016.
- 29. Maulderly J.L., McCunney R.G.** Particle overload in the rat lung and lung cancer. Implications for human risk assessment. Taylor & Francis, Philadelphia, USA. 1997.
- 30. Bellmann B., Creutzenberg O., Dassenbrock C.** Lung clearance and retention of toner, utilizing a tracer technique, during chronic inhalation exposure in rats. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1991; 17: 300-313.
- 31. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Degtyareva T.D., Sutunkova M.P., Yeremenko O.S., Minigaliev I.A.** Experimental estimates of the toxicity of iron oxide Fe₃O₄ (magnetite) nanoparticles. *Cent. Eur. J. Occup. Environ. Med.* 2011; 16: 47-63.
- 32. Zhu M.T., Feng W.Y., Wang Y., Wang B., Wang M., Ouyang, H.** Particokinetics and extrapulmonary translocation of intratracheally instilled ferric oxide nanoparticles in rats and the potential health risk assessment. *Toxicol. Sciences.* 2009; 107(2): 342-351.
- 33. 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; 356: 205-218.
- 34. 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: 228-2
- 35. 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: 511-5
- 36. 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.
- 37. Oberdörster G., Sharp Z., Atudore V., Elder A., Gelein R., Kreylin W.** Translocation of inhaled ultrafine particle to the brain. *Inhal. Toxicol.* 2004; 16(6/7): 437-445.
- 38. Elder A., Gelein R., Silva V., Feikert T., Opanashuk L., Carter J., Potter J., Maynard A., Ito Y., Finkelstein J., Oberdörster G.** Translocation of Inhaled Ultrafine Manganese Oxide Particles to the Central Nervous System. *Environ. Health Perspect.* 2006; 114(8): 1172-1178.
- 39. Kao Y.-Y., Cheng T.-J., Yang D.-M., Liu P.-Sh.** Demonstration of an olfactory bulb-brain translocation pathway for ZnO nanoparticles in rodent eils in vitro and in vivo. *J. Molecular Neurosci.* 2012; 48(2): 464-71.

REFERENCES:

- 1. Utembe W., Potgieter K., Stefaniak A.B., Gulumian M.** Dissolution and biodegradability: Important parameters needed for risk assessment of nanomaterials. *Part. Fibre Toxicol.* 2015; 12: 11.
- 2. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Makeyev O.H., Shur V.Y., Beikin J.B.** 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.
- 3. Privalova L.I., Katsnelson B.A., Loginova N.V., Gurvich V.B., Shur V.Y., Valamina I.E.** 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.
- 4. Minigaliev I.A., Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Shur V.Y., et al.** Attenuation of combined nickel (II) oxide and manganese (II,III) oxide nanoparticles' adverse effects with a complex of bioprotectors. *International Journal of Molecular Sciences.* 2015; 16(9): 22555-225
- 5. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Kuzmin S.V., Degtyareva T.D., Sutunkova M.P., Yeremenko O.S.** Some peculiarities of pulmonary clearance mechanisms in rats after intratracheal instillation of magnetite (Fe₃O₄) suspensions with different particle sizes in the nanometer and micrometer ranges: Are we defenseless against nanoparticles? *Int. J. Occup. Environ. Health.* 2010; 16: 508-5
- 6. Katsnelson B.A., Minigaliev I.A., Panov V.G., Privalova L.I., Varaksin A. N., Gurvich V. B. et al.** Some patterns of metallic nanoparticles' combined subchronic toxicity as exemplified by a combination of nickel and manganese oxide nanoparticles. *Food and Chemical Toxicology.* 2015; 86: 351-364
- 7. ICRP.** Human respiratory tract model for radiological protection. A report of a Task Group of the International Commission on Radiological Protection. *Ann ICRP* 24. 1994; 66: 1-482.
- 8. Kolanjiyil A.V.** Deposited nanomaterial mass transfer from lung airways to systemic regions. A thesis for MSc degree. Raleigh, NC. 2013.
- 9. Creutzenberg, O.** Toxic Effects of Various Modifications of a Nanoparticle Following Inhalation (Research Project F 2246). Dortmund, Berlin, Dresden; the Federal Institute for Occupational Safety and Health. 2013; 4
- 10. Adamcakova-Dod A., Stebounova L.V., Kim, J.S., Vorrink S.U., Ault A.P., O'Shaughnessy P.T., Grassian V.H., Thorne P.S.** Toxicity assessment of zinc oxide nanoparticles using sub-acute and sub-chronic murine inhalation models. *Part. Fib. Toxicol.* 2014; 11: 15.
- 11. Katsnelson B.A., Konyshcheva L.K., Privalova L.I., 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.
- 12. 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.
- 13. Stoeger T., Reinhard C., Takenaka Sh., Schroepfel A., Karg E., Ritter, B.** 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.
- 14. 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.
- 15. 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.
- 16. Neuberger M.** Umweltepidemiologie und Toxikologie von Nanopartikeln, in: Gazsó, A., Grefler, S., Schiemer, F. (Eds), Nano-Chancen und Risiken aktueller Technologien. Springer, Wien – New York. 2007; 181-197.
- 17. Warheit D.B., Reed K.L., Sayes C.M.** A role for surface reactivity in TiO₂ and quartz-related nanoparticle pulmonary toxicity. *Nanotoxicol.* 2009; 3: 181-187.
- 18. Liu J., Feng X., Wei L., Chen L., Song B., Shao L.** The toxicology of ion-shedding zinc oxide nanoparticles. *Crit. Rev. Toxicol.* 2016; 46(4): 348-3
- 19. Старикова С. К., Katsnelson B.A., Aronova H.V., Shnayman I.M.** The input of polymorphonuclear leukocytes into the alveolar phagocytosis of the quartz dust and its dependence on the quartz biological aggressivity. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины* 1970; 9: 113-116 (in Russian)
- 20. Privalova L.I.** "The hygienic significance of the silicosis-inducing dust's cytotoxicity as a factor controlling the defensive response of the pulmonary clearing." Candidate of medical sciences dissertation abstract. Sverdlovsk: The Institute of Industrial Hygiene & Occupational Disease. 1979; 211 P. (in Russian)
- 21. Privalova L.I.** "Hygienic dimensions of non-specific action of low-soluble dust particles" Doctor of medical sciences dissertation abstract. Sverdlovsk: The Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers. 1990; 389 P. (in Russian)
- 22. Katsnelson B.A., Konyshcheva L.K., Sharapova N.Ye., 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.
- 23. Katsnelson B.A., Konyshcheva 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.
- 24. Katsnelson B.A., Privalova L.Y., Alekseyeva O.G., Pokzik Ye. V.** "Pneumokoniosis: the pathogenesis and

- biological prophylaxis". Ekaterinburg: The Ural Branch of the RAS. 1995; 325 P.
- 25.** *Petin L.M.* Data for establishing the maximal allowable concentration of silica-containing condensation aerosols. *Gigiyena Truda* 1978; 6: 28-33. (in Russian).
- 26.** *Podgayko G.A., Katsnelson B.A., Lemyasev M.F., Solomina S.N., Saitov V.A., Russjayeva L.V.* New data for assessment of the silicosis risks due to industrial aerosols based on a colloidal solution of silicic acid, in: *Domnin, S.G., Katsnelson, B.A. (Eds.), Occupational diseases due to dusts. Issue Erisman's Institute, Moscow. 1982.* (in Russian)
- 27.** *Katsnelson B.A., Privalova L.I., Kislitsina N.S., Podgaiko G.A.* Correlation between cytotoxicity and fibrogenicity of silicosis-inducing dusts. *Med. Lav.* 1984; 75: 450-462.
- 28.** *Ramahandran G.* Assessing nanoparticle risk to human health. Elsevier, Amsterdam. 2016.
- 29.** *Maulderly J.L., McCunney R.G.* Particle overload in the rat lung and lung cancer. Implications for human risk assessment. Taylor & Francis, Philadelphia, USA. 1997.
- 30.** *Bellmann B., Creutzenberg O., Dasenbrock C.* Lung clearance and retention of toner, utilizing a tracer technique, during chronic inhalation exposure in rats. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1991; 17: 300-313.
- 31.** *Katsnelson B.A., Privalova L.I., Degtyareva T.D., Sutunkova M.P., Yeremenko O.S., Minigalieva I.A.* Experimental estimates of the toxicity of iron oxide Fe₃O₄ (magnetite) nanoparticles. *Cent. Eur. J. Occup. Environ. Med.* 2011; 16: 47-63.
- 32.** *Zhu M.T., Feng W.Y., Wang Y., Wang B., Wang M., Ouyang, H.* Particokinetics and extrapulmonary translocation of intratracheally instilled ferric oxide nanoparticles in rats and the potential health risk assessment. *Toxicol. Sciences.* 2009; 107(2): 342-351.
- 33.** *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; 356: 205-218.
- 34.** *Privalova L.I., Katsnelson B.A., Yelnichnykh 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: 228-2
- 35.** *Privalova L.I., Katsnelson B.A., Sharapova N.Y., Kislitsina N.S.* On the relationship between activation and the breakdown of macrophages in pathogenesis of silicosis. *Med. Lav.* 1995; 86: 511-5
- 36.** *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.
- 37.** *Oberdörster G., Sharp Z., Atudore V., Elder A., Gelein R., Kreylin W.* Translocation of inhaled ultrafine particle to the brain. *Inhal. Toxicol.* 2004; 16(6/7): 437-445.
- 38.** *Elder A., Gelein R., Silva V., Feikert T., Opanashuk L., Carter J., Potter R., Maynard A., Ito Y., Finkelstein J., Oberdörster G.* Translocation of Inhaled Ultrafine Manganese Oxide Particles to the Central Nervous System. *Environ. Health Perspect.* 2006; 114(8): 1172-1178.
- 39.** *Kao Y.-Y., Cheng T.-J., Yang D.-M., Liu P.-Sh.* Demonstration of an olfactory bulb-brain translocation pathway for ZnO nanoparticles in rodent ell in vitro and in vivo. *J. Molecular Neurosci.* 2012; 48(2): 464-71.

M.P. Sutunkova¹, B.A. Katsnelson¹, L.I. Privalova¹, V.B. Gurvich¹, L.K. Konyshcheva¹, V.Ya. Shur², E.V. Shishkina², I.A. Minigalieva¹, S.N. Solovyeva¹, I.V. Zubarev²

EXPERIMENTAL AND MATHEMATICAL MODELING OF THE IRON OXIDE NANOPARTICLE PULMONARY RETENTION AT LONG-TERM LOW-LEVEL INHALATION EXPOSURE

¹Ekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, Rospotrebnadzor, 620014 Ekaterinburg, Russian Federation

²Ural Center for Shared Use «Modern Nanotechnologies», Ural Federal University, 620000 Ekaterinburg, Russian Federation

Airborne Fe₂O₃ nanoparticles (NPs) with the mean diameter of 14±4 nm produced at spark ablation from 99.99% pure iron rods were fed into a «nose-only» exposure tower for rats exposed for 4 h a day, 5 days a week during 3, 6 or 10 months at a mean concentration of 1.14±0.01 mg/m³. Nanoparticles filtered out of the air exhausted from the exposure tower proved insoluble in de-ionized water but gradually dissolved in the cell free fluid supernatant produced by broncho-alveolar lavage and in the sterile bovine blood serum. The Fe₂O₃ content in lungs was measured by the Electron Paramagnetic Resonance (EPR) spectroscopy. NP retention in lungs and in brain was visualized with the Transmission Electron Microscopy (TEM). It was found a relatively low but significant pulmonary accumulation of Fe₂O₃, gradually increasing with time but tending to attain an equilibrium level. Besides, TEM-images showed nanoparticles retention within alveolocytes and the myelin sheaths of brain fibers associated with their ultrastructural damage.

A multi compartment system model was developed and identified which describes toxicokinetics of inhaled nanoparticles after their deposition in the lower airways as a process controlled by their (a) high ability to penetrate through the alveolar membrane; (b) active endocytosis; (c) *in vivo* dissolution. However, in this particular study, dissolution-depending mechanisms proved to be dominant due to the rather high solubility of the finest Fe₂O₃-NPs in biological milieu.

Keywords: iron oxide nanoparticles, toxicokinetics, system modeling.

Материал поступил в редакцию 01.06.2016 г.

