

## КОНКУРС НАУЧНЫХ РАБОТ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ И СПЕЦИАЛИСТОВ

УДК 546.46:613.63

DOI: 10.36946/0869-7922-2020-1-45-48

# ИССЛЕДОВАНИЕ И ОЦЕНКА ПАРАМЕТРОВ ТОКСИЧНОСТИ НАНОДИСПЕРСНОГО ОКСИДА МАГНИЯ ПРИ МНОГОКРАТНОМ ИНГАЛЯЦИОННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

М.С. Степанков

ФБУН ФНЦ  
медико-профилактических  
технологий управления  
рисками здоровью  
населения, 614045,  
г. Пермь, Российская  
Федерация

Проведена многократная ингаляционная экспозиция крыс линии Wistar аэрозодем водной суспензии нанодисперсного оксида магния (5-100 нм) в фактической концентрации  $0,485 \pm 0,121$  мг/м<sup>3</sup>. Установлено достоверное увеличение активности аланинаминотрансферазы, количества лейкоцитов и тромбоцитов, тромбокрита. Отмечено достоверное снижение палочкоядерных нейтрофилов и моноцитов. У животных опытной группы установлено острое полнокровие в тканях головного мозга, сердца, лёгких, печени, поджелудочной железы и почках. Установлены субарахноидальные кровоизлияния в головном мозге; геморрагические инфаркты и гиперплазия ткани лёгких; гиперплазия миелоидного ростка кроветворения костного мозга и лимфоидной ткани тонкого кишечника; эозинофилия инфильтрата в желудке и толстом кишечнике. Полученные результаты позволяют повысить эффективность обоснования мер профилактики для работающих и населения, подвергающихся ингаляционной экспозиции наноразмерных частиц оксида магния.

**Ключевые слова:** наночастицы, оксид магния, ингаляция, показатели крови, патоморфологические изменения.

Цит.: М.С. Степанков. Исследование и оценка параметров токсичности нанодисперсного оксида магния при многократном ингаляционном воздействии. Токсикологический вестник. 2020; 1: 45-48.

**Введение.** Наноматериалы обладают рядом преимуществ относительно материалов большей размерности. В связи с этим идёт активное внедрение наноматериалов и нанотехнологий в различные сферы деятельности человека [1].

Одним из наноматериалов, получившим широкое распространение, являются наночастицы оксида магния (MgO). Данный продукт используется в пищевой промышленности – в качестве компонента упаковки пищевых продуктов [2, 3] и для создания на них защитной плёнки, предотвращающей порчу от влажности и окисления [4]; медицине – в диагностических приборах, в системе доставки лекарств; фармакологии – в качестве антимикробного компонента в мазях; химической промышленности – как компонент катали-

заторов, красок, топливных присадок; металлургии – в составе ингибиторов коррозии, сплавов, электроизоляционного материала; электронике – в составе сверхпроводников, оптоволокон, электродных стержней и листов, высокочастотных магнитно-стержневых антенн [5]. Ожидается, что мировой спрос на наночастицы MgO к 2020 году составит 185,5 тонн [6].

Исследованиями *in vitro* и *in vivo* установлено, что наночастицы MgO способны генерировать активные формы кислорода [7], вызывать летальные изменения в клетках [8], накапливаться в различных органах, приводя к патологическим изменениям [9], влиять на протеомный и метаболомный профили [10]. Обладают такими отдалёнными и специфическими эффектами

токсичности, как генотоксичность [8, 9], эмбриотоксичность [11] и аллергенность [12].

Принимая во внимание объём производства, спектр применения и имеющиеся данные о токсичности наночастиц MgO, приобретают актуальность исследования, направленные на детальное изучение действия данного наноматериала на организм человека при различных путях поступления.

*Целью данной работы* является исследование и оценка параметров токсичности нанодисперсного MgO при многократном ингаляционном воздействии.

**Материалы и методы исследования.** Для проведения экспериментальных исследований использовали порошок нанодисперсного MgO (Magnesium oxide, CAS 1309-48-4, № продукта 549649) производства Sigma-Aldrich (США). Оценка размера частиц тестируемого материала выполнена методом электронной микроскопии на сканирующем микроскопе высокого разрешения S-3400N (НИТАСНИ, Япония). Исследование и оценка удельной площади поверхности частиц выполнена по методу Брунауэра, Эммета и Тейлора на приборе ASAP 2020 (Micromeritics, США) после дегазации в вакууме при температуре 350 °С в течение 3 часов.

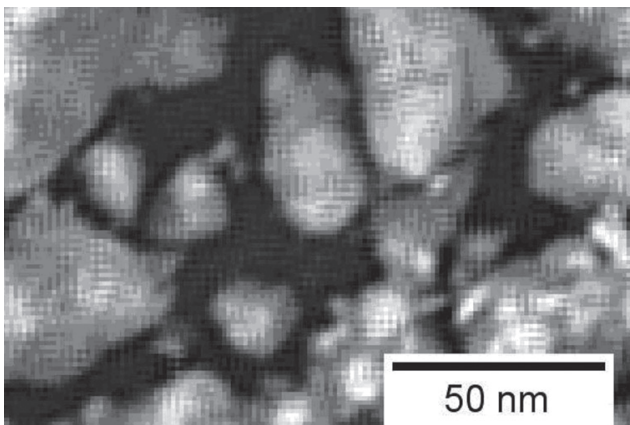
Исследование и оценка токсичности нанодисперсного MgO выполнены на белых крысах линии Wistar массой 250-300 г в количестве 10 особей. Животные распределены на 2 группы случайным образом по 5 особей: опытная группа – животные, получавшие многократно ингаляционно аэрозоль водной суспензии нанодисперсного MgO, контрольная группа – животные, не подвергавшиеся ингаляционному воздействию исследуемого вещества. Моделирование ингаляционного поступления вещества в организм осуществляли в ингаляционной системе с интегрированным программным обеспечением с использованием камеры для всего тела (TSE Systems GmbH, Германия). Для генерирования аэрозоля использовали водную суспензию нанодисперсного MgO в концентрации 25 мг/см<sup>3</sup>. Характеристика воздушных потоков в камере: приток воздуха – 10 дм<sup>3</sup>/мин; скорость подачи водной суспензии вещества – 0,4 см<sup>3</sup>/мин; отток воздуха – 10 дм<sup>3</sup>/мин; колебания давления внутри камеры – 0,4 мбар; температура в камере – 22-25 °С. Пробы воздуха из камеры для определения концентрации тестируемого вещества отбирали ежедневно на фильтры АФА-ХП-10-1 на протяжении всей экспозиции со скоростью подачи 2 дм<sup>3</sup>/мин. Фактическая концентрация нанодисперсного MgO в воздухе ингаляционной камеры в течение всего эксперимента в среднем составила 0,485±0,121 мг/м<sup>3</sup>. Экспозицию проводили ежедневно по 4 часа в течение 10 дней. На период

экспозиции животные корм не получали. После окончания последней экспозиции у экспериментальных животных отбирали образцы крови из хвостовой вены в объёме 3 см<sup>3</sup>. Биохимическое исследование крови проводили с помощью полуавтоматического биохимического анализатора Humalyzer 2000 (Human GmbH, ФРГ) (определение количества лактатдегидрогеназы и С-реактивного белка) и биохимического анализатора Keylab (BPC BioSed, Италия) (определение уровня аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, амилазы, общего и прямого билирубина, гамма-глутамилтрансферазы, креатинина, мочевины, щелочной фосфатазы). Исследование гематологических показателей крови (количество лейкоцитов, тромбоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, моноцитов, эозинофилов, лимфоцитов, эритроцитов, уровень гемоглобина, гематокрита, тромбокрита, средний объём эритроцита, среднее содержание гемоглобина в эритроците, средняя концентрация гемоглобина в эритроцитарной массе, индекс распределения эритроцитов, средний объём тромбоцитов) – с помощью автоматического анализатора Coulter Ac\*Т 5diff AL (Beckman Culter, США).

Для изучения морфологических изменений органов и тканей экспериментальных животных отбирали висцеральные органы (сердце, лёгкие, селезенку, печень, почки, желудок, поджелудочную железу, тонкий и толстый кишечник), мозг и отрезок бедренной кости методом полной эвисцерации по Шору. Извлечение головного мозга выполняли специализированным инструментом. Отобранный материал фиксировали в 10%-ном растворе забуференного нейтрального формалина. Дегидратацию фиксированных кусочков тканей проводили в автоматическом гистологическом процессоре «Excelsior ES» (Thermo Scientific, Германия). Гистологические препараты изготавливали из парафиновых срезов толщиной 3-4 микрона, окрашивая по общепринятой методике гематоксилином и эозином в работе-окрашивателе «Varistain Gemini ES» (Thermo Scientific, Германия). Полученные микропрепараты исследовали на светоптическом микроскопе Axio Lab A1 (Carl Zeiss, Германия).

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием программного обеспечения Microsoft Excel. Сравнение полученных величин производили с помощью двустороннего t-критерия Стьюдента. Статистически значимыми считали различия при p≤0,05.

**Результаты и обсуждение.** По результатам сканирующей электронной микроскопии установлено, что исследуемый материал содержит преимущественно частицы размером 5-100 нм (71,9% от общего количества частиц) (рис. 1). Удельная



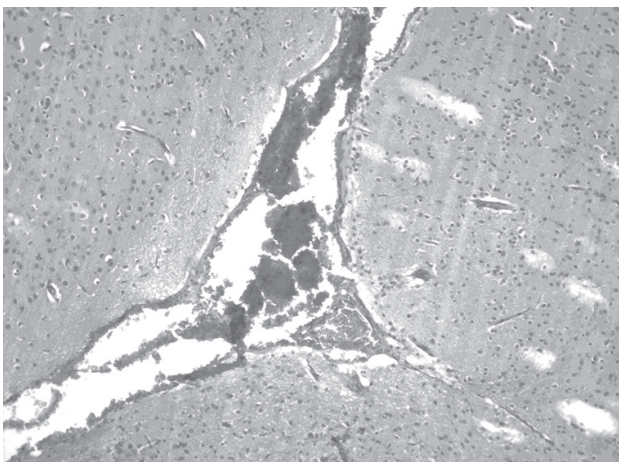
**Рис. 1.** Изображение наночастиц MgO с помощью сканирующей электронной микроскопии

площадь поверхности наночастиц MgO составила  $64,51 \text{ м}^2/\text{г}$ .

Оценка результатов исследования биохимических показателей крови на 10-й день эксперимента позволила установить у крыс опытной группы достоверное увеличение уровня аланинаминотрансферазы (АЛТ) в сыворотке крови в 1,42 раза ( $p=0,011$ ) относительно аналогичных показателей у животных контрольной группы.

Гематологическим исследованием установлено достоверное увеличение количества лейкоцитов в 4,73 раза ( $p=0,0002$ ), тромбоцитов в 4,71 раза ( $p=0,0001$ ) и тромбокрита в 5,12 раза ( $p=0,0001$ ), достоверное снижение содержания палочкоядерных нейтрофилов в 1,50 раза ( $p=0,042$ ) и моноцитов в 1,70 раза ( $p=0,0014$ ) относительно данных показателей у животных контрольной группы.

Известно, что центральная нервная система является системой-мишенью при ингаляционном



**Рис. 2.** Головной мозг крысы после многократного ингаляционного поступления нанодисперсного MgO в концентрации  $0,485 \pm 0,121 \text{ мг}/\text{м}^3$ , окраска гематоксилином и эозином,  $\times 100$

действию MgO. Гистологическим исследованием у животных опытной группы установлено острое полнокровие и субарахноидальные кровоизлияния в тканях головного мозга, чего не отмечено у животных контрольной группы (рис. 2).

Кроме того, у животных опытной группы отмечены следующие патоморфологические изменения, не установленные у животных контрольной группы: острое полнокровие в тканях сердца, лёгких, печени, поджелудочной железы и почках; геморрагические инфаркты и гиперплазия лимфоидной ткани лёгких, эозинофилия инфильтрата в желудке, гиперплазия миелоидного ростка кроветворения костного мозга.

У животных опытной группы отмечены схожие изменения с животными контрольной группы в тканях селезёнки в виде гиперплазии лимфоидной ткани с более выраженным увеличением объёма белой пульпы у животных опытной группы до 40%, что на 5% больше значения данного показателя у животных контрольной группы (35%). Кроме того, в тканях селезёнки животных опытной группы установлено острое венозное полнокровие, не отмеченное в контрольной группе. В тканях тонкого кишечника у животных обеих экспериментальных групп отмечена эозинофилия инфильтрата, но в опытной группе, в отличие от контроля, отмечена гиперплазия лимфоидной ткани. В тканях толстого кишечника у животных опытной и контрольной групп отмечен острый колит с выраженной эозинофилией инфильтрата в опытной группе и слабой эозинофилией в контрольной группе.

Таким образом, установлено, что исследуемый образец MgO по показателям размера и удельной площади поверхности частиц является наноматериалом. При ингаляционной экспозиции аэрозолем водной суспензии нанодисперсного MgO в фактической концентрации  $0,485 \pm 0,121 \text{ мг}/\text{м}^3$  в течение 10 дней по 4 часа не зафиксировано гибели экспериментальных животных. Гистологическим исследованием у животных опытной группы отмечено острое полнокровие в тканях головного мозга, сердца, лёгких, печени, поджелудочной железы и почках, не установленное у животных контрольной группы, что, может быть, обусловлено сгущением крови в результате увеличения количества тромбоцитов, вызванного прямым действием наночастиц [13]. Как отмечается в некоторых исследованиях [14, 15] тромбоциты участвуют в воспалительных процессах, в связи с этим, есть вероятность, что в органах, подверженных полнокровию, может развиваться воспалительная реакция, на что указывает повышение уровня лейкоцитов [13] и, в случае печени – тромбокрита [16]. Кроме того, на развитие нарушений в тканях печени указывают повышенный уровень АЛТ [13] и сниженная доля палочкоядер-

ных нейтрофилов [17]. Геморрагический инфаркт лёгких животных опытной группы также может быть результатом тромбоцитоза [18]. Гиперплазия миелоидного ростка кроветворения костного мозга у животных опытной группы может обуславливать снижение уровня моноцитов [19].

**Заключение.** Полученные результаты сви-

детельствует о наличии у наночастиц MgO токсических свойств, и позволяют повысить эффективность обоснования мер профилактики для работающих и населения, подвергающихся ингаляционной экспозиции наноразмерных частиц MgO в процессе производства и потребления продукции.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES:

1. Benefits and Applications // National Nanotechnology Initiative [Электронный ресурс]. URL: <https://www.nano.gov/you/nanotechnology-benefits>.
2. Batt C.A., Tortorello M.L. Encyclopedia of Food Microbiology, Second Edition V. 1. Academic Press Elsevier. 2014. 3248 p.
3. Pradhan N., Singh S., Ojha N., Shrivastava A., Barla A., Rai V. et al. Facet of Nanotechnology as Seen in Food Processing, Packaging, and Preservation Industry // Biomed Res Int. 2015. V. 2015. 17 p.
4. Cushman M., Kerry J., Morris M., Cruz-Romero M., Cummins E. Nanotechnologies in the food industry – Recent developments, risks and regulation // Trends in Food Science & Technology. 2012. № 24(1). P. 30-46.
5. Magnesium Oxide (MgO) nanoparticles – Properties, Applications // Azonano [электронный ресурс]. [2013]. URL: <https://www.azonano.com/article.aspx?ArticleID=3353>.
6. Global Market for Magnesium Oxide Nanoparticles to Surpass \$42 million by 2020 // Ceramic Industry [Электронный ресурс]. [2016]. URL: <https://www.ceramicindustry.com/articles/95323-global-market-for-magnesium-oxide-nanoparticles-to-surpass-42-million-by-2020>.
7. Kumar R.S., Choi Y.-K., Singh V., Song H.J., Song K.J., Kim K.J. et al. In Vitro Cytotoxic Evaluation of MgO Nanoparticles and Their Effect on the Expression of ROS Genes // International Journal of Molecular Sciences. 2015. № 16. P. 7551-7564.
8. Mahmoud A., Ezgi Ö., Merve A., Özhang G. In Vitro Toxicological Assessment of Magnesium Oxide Nanoparticle Exposure in Several Mammalian Cell Types // International Journal of Toxicology. 2016. № 35(4). P. 429-437.
9. Mangalampalli B., Dumala N., Venkata R.P., Grover P. Genotoxicity, biochemical, and biodistribution studies of magnesium oxide nano and microparticles in albino wistar rats after 28-day repeated oral exposure // Environmental Toxicology. 2017. № 00. P. 1-15.
10. Srinivasan V., Bhavan P.S., Rajkumar G. Dietary Supplementation of Magnesium Oxide (MgO) Nanoparticles for Better Survival and Growth of the Freshwater Prawn *Macrobrachium rosenbergii* Post-larvae // Biological Trace Metal Research. 2017. № 177(1). P. 196-208.
11. Ghobadian M., Nabiuni M., Parivar K., Fathi M., Pazooki J. Toxic effect of magnesium oxide nanoparticles on early developmental and larval stages of zebrafish // Ecotoxicology and Environmental Safety. 2015. № 122. P. 260-267.
12. Magnesium oxide nanopowder, ≤50 nm particle size (BET) material safety data sheet (MSDS) // Sigma-Aldrich. 2012. 6 p.
13. Ilinskaya A.N. and Dobrovol'skaia M.A. Nanoparticles and the blood coagulation system. Part II: safety concern // Nanomedicine (Lond). 2013. V. 8. № 6. P. 969-981.
14. Huang H.S. and Chang H.H. Platelets in inflammation and immune modulations: functions beyond hemostasis // Arch Immunol Ther Exp (Warsz). 2012. V. 60. № 6. P. 443-451.
15. Jenne C.N., Urrutia R. and Kubes P. Platelets: bridging hemostasis, inflammation, and immunity // Int J Lab Hematol. 2013. V. 35. № 3. P. 254-261.
16. Wang L.-R., Zhou Y.-F., Zhou Y.-J., Zhang S.H., Liu W.Y., Wu S.J. et al. Elevation of plateletcrit increasing the risk of non-alcoholic fatty liver disease development in female adults: A large population-based study // Clinica Chimica Acta. 2017. V. 474. P. 28-33.
17. Tietze K.J. Clinical Skills for Pharmacists (Third Edition) // Mosby. 2012. 214 p.
18. Kroll M.H. and Afshar-Kharghan V. Platelets in pulmonary vascular physiology and pathology // Pulmonary Circulation. 2012. V. 2. № 3. P. 291-308.
19. Molyneux G., Andrews M., Sones W., York M., Barnett A., Quirk E. et al. Haemotoxicity of busulphan, doxorubicin, cisplatin and cyclophosphamide in the female BALB/c mouse using a brief regimen of drug administration // Cell Biol Toxicol. 2011. № 27. P. 13-40.

M.S. Stepankov

## RESEARCH AND EVALUATION OF THE TOXICITY PARAMETERS OF NANO-DISPERSED MAGNESIUM OXIDE IN REPEATED INHALATION EXPOSURE

Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, 614045, Perm, Russian Federation

A repeated inhalation exposure of Wistar rats to an aerosol of aqueous suspension of nano-dispersed magnesium oxide (5-100 nm) with actual concentration of  $0,485 \pm 0,121$  mg/m<sup>3</sup> has been studied. There was a significant increase in the activity of alanine aminotransferase, as well as the number of leukocytes and platelets, thrombocrit. At the same time, a significant decrease in stab neutrophils and monocytes has been noted. In animals of the experimental group, acute plethora has been found in the tissues of the brain, heart, lungs, liver, pancreas, and kidneys. Subarachnoid hemorrhages in the brain; hemorrhagic heart attacks and hyperplasia of lung tissue; hyperplasia of the myeloid germ of hematopoietic bone marrow and lymphoid tissue of the small intestine; eosinophilia of infiltrate in the stomach and large intestine have been established. The results obtained make it possible to increase the effectiveness of substantiating preventive measures for workers and population exposed to inhalation exposure to nanoparticles of magnesium oxide.

**Keywords:** nanoparticles, magnesium oxide, inhalation, blood parameters, pathomorphological changes.

Quote: M.S. Stepankov. Research and evaluation of the toxicity parameters of nano-dispersed magnesium oxide in repeated inhalation exposure. Toxicological Review. 2020; 1: 45-48.

Переработанный материал поступил в редакцию 20.03.2019 г.

