

**ФБУН «Екатеринбургский Медицинский-научный центр  
профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий»  
Роспотребнадзора**

# **Сравнительная оценка токсического действия наночастиц оксидов свинца, меди и цинка**

**Сутункова М.П., Кацнельсон Б.А.**

В составе аэрозолей конденсации, образующихся при электродуговой сварке, в производстве сталей и сплавов цветных металлов и при некоторых других высокотемпературных технологиях, всегда присутствует существенная фракция частиц металлов и металлоксидов нанометрового диапазона.

# **общие токсические характеристики связанные с нано-размерностью частиц любого химического состава:**

- высокий процент отложения их в носовых ходах и в глубоких дыхательных путях,
- способность к пенетрации через биологические барьеры,
- перенос с лимфой и кровью в отдалённые органы с задержкой в них,

- проникновение внутрь клеток и клеточных органелл,
- огромная удельная поверхность,
- особый характер протекающих на ней физических взаимодействий и химических процессов, с которыми связаны механизмы повреждающего действия на субклеточном и клеточном уровнях);

Вместе с тем, при оценке риска для здоровья работающих в соответствующих производствах и населения неизбежно возникает вопрос о ***сравнительных*** характеристиках воздействия на организм металлов и/или их оксидов одинакового наноразмера, но различной химической природы.

В рамках решения этого вопроса нами уже были сопоставлены токсические эффекты практически равных по размеру наночастиц серебра и золота, оксидов никеля и марганца (Katsnelson e.al., 2013, Privalova L.I. et al., 2015, Minigalieva I.A. et al., 2017 ) и было показано, что исследуемые наночастицы имеют разную степень цитотоксичности, системной токсичности и генотоксичности.

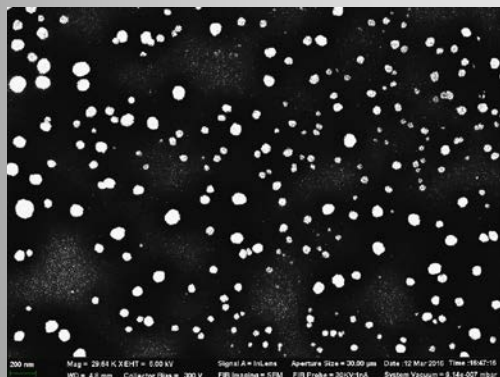
Таким образом было показано что для оценки наночастицы как фактора риска должны учитываться и ее химические характеристики.

Отсюда вытекала задача дальнейшего накопления сведений о токсических свойствах наночастиц различной химической природы.

Для дальнейших исследований по сравнительной оценке токсичности нанометаллов нами были выбраны: оксиды меди, цинка и свинца, действие которых в том или ином количественном соотношении на организм рабочих характерно для производства черновой меди и медных сплавов.

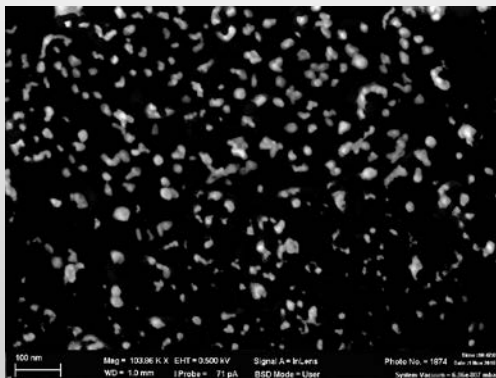
По токсичности наночастиц оксидов цинка и меди имеется достаточные сведения в литературе. Литературные данные по токсичности наночастиц меди, согласуются и с нашими собственными исследованиями, в которых мы показали, что наночастицы меди обладают высокой цитотоксичностью, острой пульмонотоксичностью, генотоксичностью и системно-органной токсичностью, включая поражение базальных ядер головного мозга, которое может быть отнесено к специфическим эффектам избыточного накопления меди (Privalova et al., 2014 a,b). Значительно меньше, известно о токсичности PbO-НЧ (Shaikh et al. 2015; Amiri et al. 2016), поэтому полученные данные особо интересны.

**PbO**



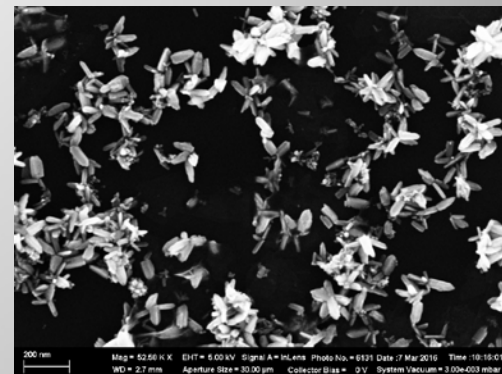
сканирующая электронная  
микроскопия с увеличением \*29 640

**CuO**



сканирующая электронная  
микроскопия с увеличением \*103 860

**ZnO**



сканирующая электронная  
микроскопия с увеличением \*52 580

## Размер частиц:

**47±16 нм**

**24.5±4.8 нм**

**30±11 x  
83±20 нм**

Расчётная средняя величина поверхности частицы :

**PbO**  
**6940 нм<sup>2</sup>**

**CuO**  
**1810 нм<sup>2</sup>**

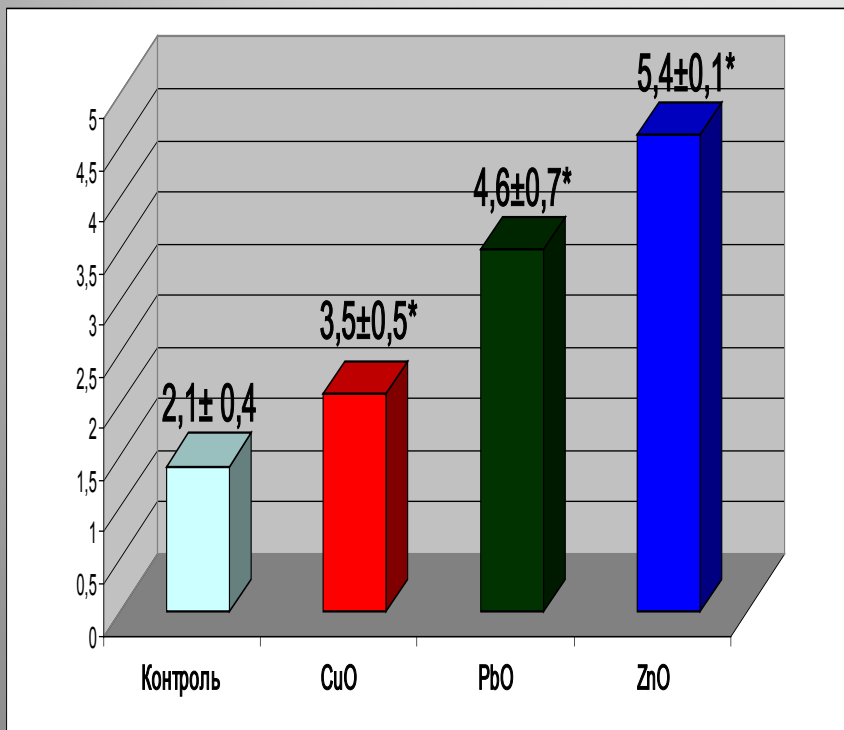
**ZnO**  
**9236 нм<sup>2</sup>**

# Схема исследований

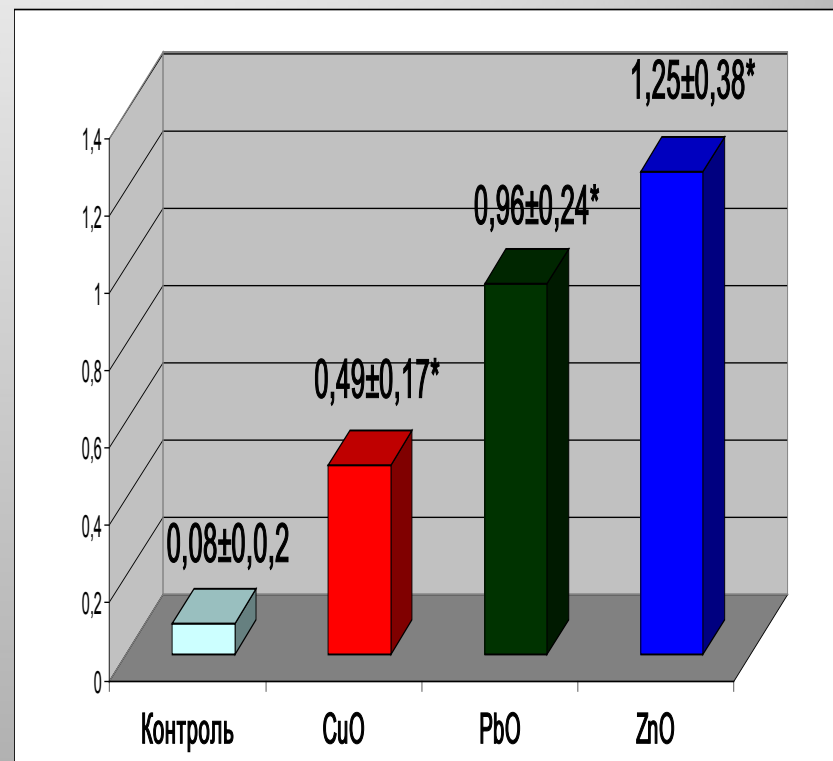
- 4 группы животных, по 12 в каждой
- Острый эксперимент при однократном интратрахеальном введении 1 мг/кг;
  - Субхронический эксперимент при внутрибрюшинных введениях, 3 раза в неделю в течение 6 недель, 2 мг/кг

# Клеточность жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛЖ), проведенного через 24 часа после интратрахеального введения крысам разных Me-НЧ ( $x \pm s.e.$ )

Общая клеточность  $\times 10^6$



Отношение нейтрофильных лейкоцитов к альвеолярным макрофагам (НЛ/АМ)



- 1) Звёздочкой \* отмечены величины, которые статистически значимо отличаются от соответствующих контрольных ( $p < 0.05$  по  $t$  Стьюдента)
- 2) Статистически значимы ( $p < 0.05$  по  $t$  Стьюдента) также различия между группами, на которые воздействовали CuO-НЧ по сравнению с ZnO-НЧ

# Некоторые биохимические показатели супернатанта БАЛЖ ( $x \pm s.e.$ )

Введено и/г:	Альбу- мин, г/л	АЛТ, мМ/час*л	АСТ, мМ/час*л	Амилаза, Ед/л	ЛДГ, Ед/л
<b>CuO</b>	1,98 $\pm 0,10$	1,74 $\pm 0,22$	12,8 $\pm 1,7$	6,05 $\pm 1,10$	57,4 $\pm 7,3$
<b>PbO</b>	1,83 $\pm 0,03$	1,79 $\pm 0,31$	14,5 $\pm 2,5$	8,63 $\pm 1,29$	55,0 $\pm 7,8$
<b>ZnO</b>	2,03 $\pm 0,06$	2,47 $\pm 0,32$	15,8 $\pm 1,4^*$	20,3 $\pm 3,1^*$	69,7 $\pm 8,7$
<b>Контроль</b>	1,90 $\pm 0,08$	1,87 $\pm 0,29$	10,8 $\pm 1,4$	6,56 $\pm 1,20$	54,6 $\pm 10,7$

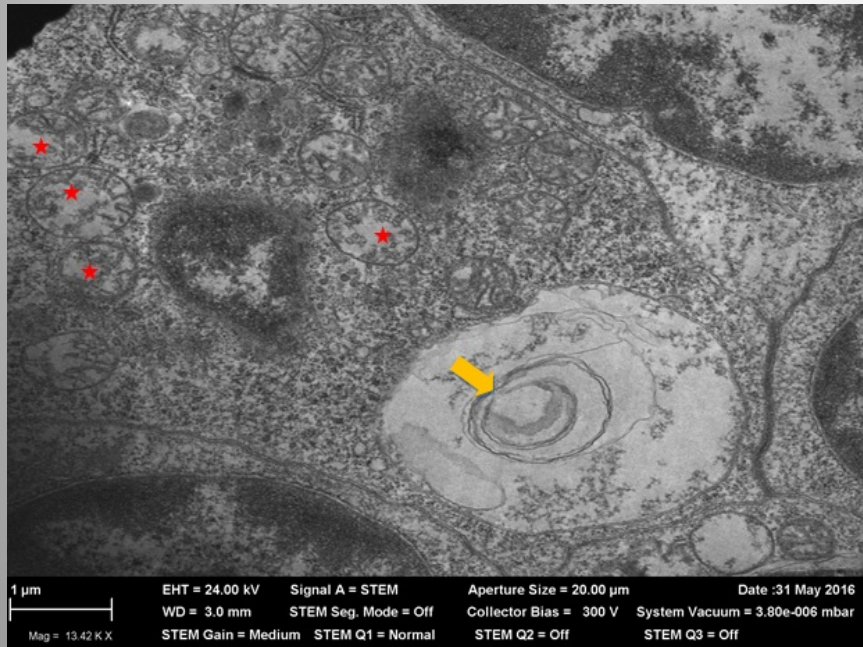
1) Звёздочкой \* отмечены величины, которые статистически значимо отличаются от соответствующих контрольных ( $p < 0.05$  по  $t$  Стьюдента);

# Некоторые функциональные показатели состояния организма крыс после 18 (на протяжении 6 недель) повторных внутрибрюшинных инъекций суспензий различных Me-НЧ ( $X \pm s.e.$ )

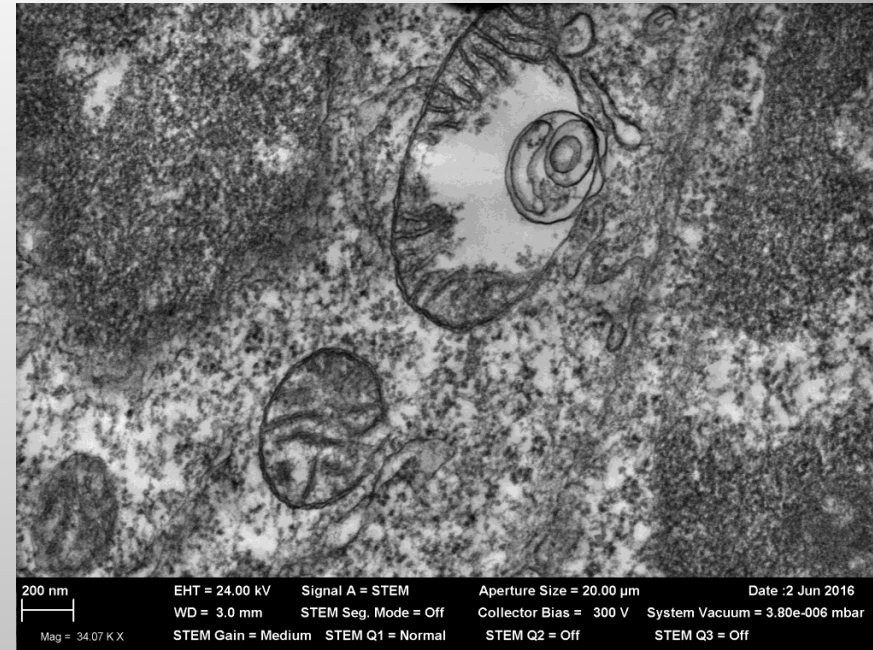
Показатели	Что вводилось:			
	Вода (конт-роль)	CuO	PbO	ZnO
Число заглядываний в «норки» в течение 3 минут	7,17 ±1,33	5,83 ±1,21	3,58 ±0,81*	4,42 ±0,99
Количество пересеченных квадратов в течение 3 минут	15,75 ±2,18	10,25 ±1,94	7,17 ±1,10*	8,58 ±1,18*
Ретикулоциты, ‰	11,5 ±1,33	13,25 ±1,60	29,00 ±2,34*	20,92 ±1,86*
Дельта-АЛК в моче, мкг/мл	8,11 ±2,71	5,95 ±1,10	17,39 ±2,78*	6,55 ±1,79

Звёздочкой \* отмечены величины, которые статистически значимо отличаются от соответствующих контрольных ( $p < 0.05$  по  $t$  Стьюдента)

# Просвечивающая электронная микроскопия тканей печени, селезёнки, почек, миокарда, головного мозга, тимуса, и семенников



Вакуолизация цитоплазмы, образование в ней концентрических мембранных включений (стрелка), а также выраженное повреждение митохондрий (звёздочки) в селезеночной клетке крысы, которой вводили ZnO-НЧ. ПЭМ, увеличение \*13420.



Типичные частично разрушенные митохондрии в клетках крысы, которой вводили в/б НЧ. ПЭМ, увеличение \*34070

## **Повреждённые митохондрии**

В %% от общего числа  
обнаруженных митохондрий

- 0 – 0%,
- 1 – до 30%,
- 2 – свыше 30% до 70 %,
- 3 – свыше 70%.

**Суммарный балл  
повреждения  
митохондрий :**

**ZnO-НЧ (14 баллов)**

**PbO-НЧ (11 баллов)**

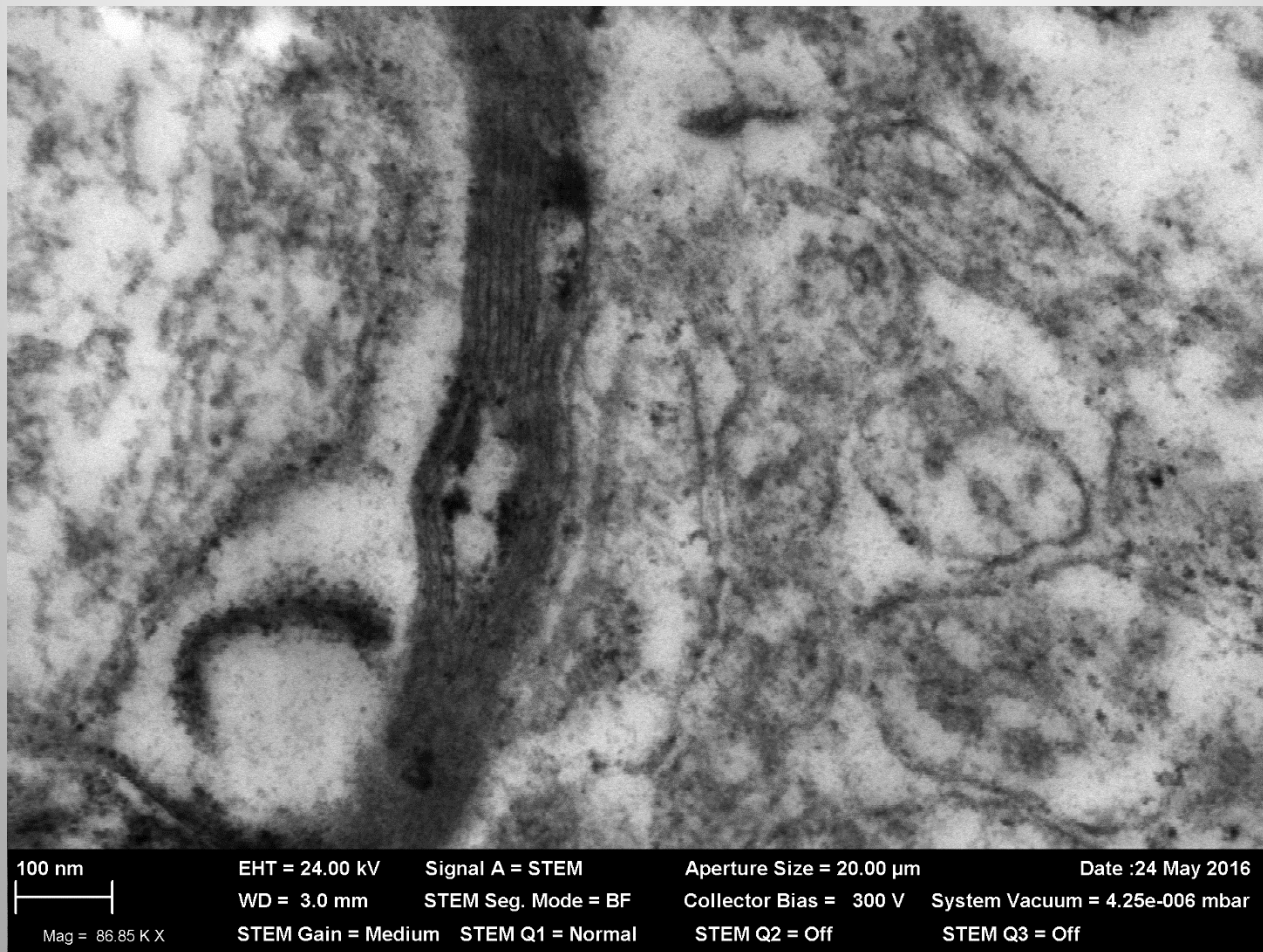
**CuO-НЧ (8 баллов)**

**Показатель НЛ/АМ в  
БАЛЖе:**

**ZnO-НЧ (1,25)**

**PbO-НЧ (0,96)**

**CuO-НЧ (0,49)**



Мозг, группа с наночастицами PbO. Демиелизация миелиновой оболочки, НЧ обнаруживаются в форме мелких электроплотных гранул . В цитоплазме также обнаруживаются наночастицы.

# Концентрация свинца, меди и цинка в крови, моче и кале животных после повторных внутрибрюшинных введений различных Me-НЧ суспензий

Определяемые металлы:	Группы животных, которым вводились:			
	Контроль (деионизированная вода)	CuO	PbO	ZnO
<b>В крови, мкг/мл</b>				
<b>Cu</b>	0,038±0,008	1,394±0,077*	0,138±0,045 <sup>#</sup>	0,131
<b>Pb</b>	0,007 ± 0,002	0±0*	0,387±0,034*	0±0*
<b>Zn</b>	0±0	0±0	0±0	2,64±0,121*
<b>В моче, мкг/мл</b>				
<b>Cu</b>	0,016±0,002	0,034±0,002*	0,011±0,001*	0,011±0,001*
<b>Pb</b>	0,009±0,004	0,07±0,002	0,182±0,010*	0,002±0,001 <sup>#</sup>
<b>Zn</b>	0±0	0,006±0,002*	0,005±0,002*	0,057±0,003*
<b>В кале, мкг/мл</b>				
<b>Cu</b>	0,373±0,099	10,642±0,572*	0,140±0,046	0,129±0,045*
<b>Pb</b>	0,16±0,037	0±0*	4,96±0,308	0±0*
<b>Zn</b>	0±0	0±0	0±0	65,02±3,436*

1) \* статистически значимо отличаются от соответствующих контрольных ( $p < 0.05$  по  $t$  Стьюдента)

2) Статистически значимы различия между группами, на которые воздействовали CuO-НЧ по сравнению с ZnO-НЧ и PbO-НЧ (для всех показателей, кроме нулевых); между группами ZnO-НЧ и PbO-НЧ (для Zn в крови, Pb в моче, Zn в моче и кале)

# Выводы:

- Отложение в глубоких дыхательных путях наночастиц изученных оксидов металлов (экспериментально моделируемое однократным интратрахеальным введением соответствующих наносуспензий), вызывает выраженную защитную мобилизацию альвеолярных макрофагов (АМ) и в особенности нейтрофильных лейкоцитов (НЛ), с соответствующим увеличением отношения НЛ/АМ, что наиболее выражено при действии ZnO-НЧ и наименее – при действии CuO-НЧ.
- Наночастицы введенных оксидов металлов обладают системно-органный токсичностью и генотоксичностью.

# Выводы:

- Me-НЧ вызывают однотипные ультраструктурные клеточные изменения в тканях органов (вакуолизация цитоплазмы, образование в ней концентрических мембранных включений и особенно повреждение митохондрий с частичной или полной потерей крист.
- Судя по показателю суммарного балла повреждения митохондрий для всех органов вместе взятых сравнительная цитотоксичность вводимшихся Me-НЧ «ин виво» убывает в последовательности ZnO-НЧ (14 баллов) > PbO-НЧ (11 баллов) > CuO-НЧ (8 баллов).

**СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!**