

Профилактическая токсикология и гигиеническое нормирование

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 544.77.022.524: 546.26: 57.044: 577.29:613.6.027

Гмошинский И.В., Шипелин В.А., Хотимченко С.А., Никитюк Д.Б.

ТОКСИЧНОСТЬ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК: СПЕЦИАЛЬНЫЕ И ОТДАЛЁННЫЕ ЭФФЕКТЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ, СЦЕНАРИИ ЭКСПОЗИЦИИ, ОЦЕНКА РИСКА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи», 119121, Москва, Россия

Статья содержит анализ и обобщение данных о специальных и отдалённых эффектах токсического действия углеродных нанотрубок (УНТ) (органотоксичность, генотоксичность, репродуктивная токсичность, эмбриотоксичность, иммунотоксичность, аллергенность, канцерогенность), оценки экспозиции и рисков УНТ при различных путях поступления, в том числе ингаляционном и с разнообразной продукцией. Поиск и отбор источников был осуществлён с использованием открытых баз данных, включая PubMed, Scopus, Google Scholar и РИНЦ, за период с 2003 по 2016 г. Всего проанализировано 109 публикаций. В настоящее время на высоком уровне доказательности установлено повреждающее действие УНТ на геном клеток, опосредуемое, по-видимому, клеточными реакциями окислительного стресса, активацией сигнальных каскадов, экспрессией цитокинов и других регуляторных факторов. По мнению международного агентства по изучению рака (IARC), УНТ следует отнести к группе веществ 2В по канцерогенности («возможно канцерогенны для людей»). При оценке рисков УНТ важно учитывать их способность усиливать аллергическую сенситизацию, влияя на токсичность ряда контаминантов окружающей среды. Безопасный уровень (ПДК) для многослойных УНТ в воздухе рабочей зоны составляет 1 мкг/м³, с учётом накопления данных об отдалённых эффектах воздействия УНТ существуют перспективы дальнейшего снижения этого норматива.

Ключевые слова: углеродные нанотрубки; генотоксичность; репродуктивная токсичность; канцерогенность; гигиеническое нормирование.

Для цитирования: Гмошинский И.В., Шипелин В.А., Хотимченко С.А., Никитюк Д.Б. Токсичность углеродных нанотрубок: специальные и отдалённые эффекты воздействия, сценарии экспозиции, оценка риска (обзор литературы). *Гигиена и санитария*. 2017; 96(8): 770-779. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2017-96-8-770-779>

Для корреспонденции: Гмошинский Иван Всеволодович, д-р биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии». E-mail: gmosh@ion.ru

Gmoshinsky I.V., Shipelin V.A., Khotimchenko S.A., Nikityuk D.B.

TOXICITY OF CARBON NANOTUBES: SPECIFIC AND DISTANT EFFECTS, EXPOSURE SCENARIOS, RISK ASSESSMENT (REVIEW OF LITERATURE)

Federal Research Centre of Nutrition and Biotechnology, Moscow, 119121, Russian Federation

The article contains the survey and analysis of data on specific and long-term effects of the toxic action of carbon nanotubes (CNT) (organotoxicity, genotoxicity, reproductive toxicity, embryotoxicity, immunotoxicity, allergenicity, carcinogenic action), evaluation of exposure risks and assessment in different receipt ways, including inhalation and intake with a variety of products. Search and selection of sources for the review was carried out with the use of public databases, including PubMed, Scopus, Google Scholar, and RISC, for the period from 2004 to 2016. In total 109 publications were analyzed for the purposes of the review. Currently, harmful effects of CNT concerning the genetic apparatus of cells is proved on the highest level of evidence and appears to be mediated by oxidative cellular stress responses, signaling cascades activation, expression of cytokines and other regulatory factors. According to the International Agency for Research on Cancer (IARC) CNTs should be attributed to a group of carcinogenic substances 2B ("possibly carcinogenic to humans"). In assessing the risks of CNTs it is important to take into account their ability to enhance allergic sensitization, influence the toxicity of a number of environmental contaminants. Safe level (MCL) for multiwalled CNTs in the air of working area is 1 mg/m³, and taking into account data accumulation on the long-term effects of CNT, there are prospects for further reduction of the mentioned normative level.

Key words: carbon nanotubes, reproductive toxicity, carcinogenic action, hygienic standards.

For citation: Gmoshinsky I.V., Shipelin V.A., Khotimchenko S.A., Nikityuk D.B. Toxicity of carbon nanotubes: specific and distant effects, exposure scenarios, risk assessment (review of literature). *Gigiena i Sanitaria (Hygiene and Sanitation, Russian journal)* 2017; 96(8): 770-779. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2017-96-8-770-779>

For correspondence: Ivan V. Gmoshinski, D. Sc., leading researcher of the laboratory of food toxicology and evaluation safety of nanotechnologies Federal Research Centre of Nutrition and Biotechnology, Moscow, 119121, Russian Federation. E-mail: gmosh@ion.ru

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgement. The study had no sponsorship.

Received: 27.02.17

Accepted: 05.07.17

Введение

В обзорной статье [1] были представлены данные научной литературы за период с 2004 по 2016 г. по вопросам молекулярных и клеточных механизмов действия одностенных (ОУНТ) и многостенных (МУНТ) УНТ на живые системы, наиболее информативных биохимических, протеомных, транскриптомных и метаболомных маркёров токсичности, а также наиболее важные сведения об оценке общетоксического действия УНТ на лабораторных животных при особо важных естественных путях поступления (ингаляционном и пероральном). В соответствии с методологией оценки риска наноматериалов [2] в задачи данной обзорной статьи входит анализ литературы по вопросам изучения специальных и отдалённых эффектов токсического действия УНТ (органотоксичность, генотоксичность, репродуктивная токсичность и эмбриотоксичность, иммунотоксичность, аллергенность, канцерогенность), оценки экспозиции и рисков УНТ при различных путях поступления, в том числе ингаляционном и с разнообразной продукцией.

Специальные и отдалённые эффекты воздействия на организм

Органотоксичность. Помимо общетоксического действия на организм при ингаляционном и пероральном пути поступления, УНТ способны, по данным ряда исследований, оказывать избирательное повреждающее воздействие на удалённые от места внедрения УНТ в организм органы-мишени. Различные эффекты органотоксичности УНТ были изучены на моделях *in vitro*, с использованием линий клеток, с максимальной степенью приближения воспроизводящих функциональные характеристики того или иного органа и ткани. При этом, как правило, открытым остается вопрос о возможности транслокации УНТ в соответствующий орган или ткань.

При изучении воздействия ОУНТ в концентрации 30 мкг/мл на клетки смешанных культур из спинной хорды и дорзального корневого ганглия эмбриона цыпленка выявлены эффекты, связанные со снижением числа нейронов в культурах и уменьшением общего содержания ДНК в клетках [3]. В сочетании с данными о возможности проникновения ОУНТ в мозг по обонятельному нерву эти результаты служат указанием на их потенциальную нейротоксичность. В экспериментах *in vitro* на нейронах дорзального корневого ганглия (DRG) мыши показано [4], что МУНТ длиной 10–20 мкм и диаметром 25 нм в концентрации 10 мкг/мл вызывали нарушение регенеративных процессов нервной ткани, хотя и не влияли на выживаемость отдельных клеток и апоптоз. Вопрос, может ли такая концентрация МУНТ создаваться в ЦНС при естественных путях экспозиции, остается открытым. Под воздействием МУНТ и ОУНТ выявлено снижение выживаемости нейроноподобных клеток PC12 и инициация апоптоза [5]. Как и в предыдущем исследовании, действующие дозы УНТ были высокими, составляя от 20 до 60 мкг/мл культуральной среды.

В работе [6] показана значительно большая токсичность окисленных ОУНТ функционализированных полиэтиленгликолем по сравнению с не окисленными в отношении макрофагов печени и селезенки при внутривенном введении мышам. При воздействии МУНТ на эмбриональные клетки НЕК293, функционально близкие к нейронам и клеткам надпочечников, а также кардиомиоциты крысы отмечена блокада ряда типов калиевых каналов плазматической мембраны, включая Kv4/Ito [7]. Полученные данные указывают на потенциальную возможность проявления МУНТ кардиотоксического действия, в частности выражающегося в торможении реполяризации мембран и развитии брадиаритмии.

Эффекты органотоксичности УНТ были изучены и на ряде моделей *in vivo*. При парентеральном введении МУНТ мышам *Swiss-Webster* в дозе от 0,25 до 0,75 мг/кг массы тела в течение 5 сут наблюдались признаки гепатотоксического действия, выявляемые по гистопатологическим изменениям и накоплению продуктов ПОЛ в ткани печени в сочетании с повышением активности аминотрансфераз [8]. Следствием внутривенного введения немодифицированных МУНТ мышам, по данным [9], было опосредуемое TNF- α повреждение печени, проявлением которого стало снижение уровня восстановленного глутатиона,

активности супероксиддисмутазы и изменения транскриптомного профиля.

Токсический эффект в почках и печени крыс при однократном интратрахеальном введении МУНТ в дозах 0,2, 1 и 5 мг/кг массы тела проявлялся в дозозависимой перитонеальной лимфоидной инфильтрации в печени, пенных повреждениях и некрозе почечной ткани в течение всего постинстилляционного периода, что было подтверждено соответствующим изменением биомаркёров [10].

При ингаляции МУНТ возможно проявление эффектов кардиотоксичности. Это подтверждается данными работы [11], в которой у мышей через 24–168 ч после однократного введения МУНТ в дыхательные пути в дозе 10–80 мкг отмечалось утолщение эндотелия коронарных артериол, приводящее к нарушению микроциркуляции в сердечной мышце. Вместе с тем сам факт транслокации ингалируемых МУНТ в ткань сердца в работе доказан не был. Интратрахеальная инстилляционная ОУНТ мышам приводила, по данным [12], к развитию признаков нейротоксического действия, что интерпретируется как возможность проникновения нанотрубок через гематоэнцефалический барьер. Сопутствующими явлениями были активация неспецифического T-клеточного ответа по Th2 типу, изменения в продукции цитокинов, экспрессия циклооксигеназы 2, нарушения в функционировании ряда внутриклеточных систем передачи сигнала и других геномных, протеомных и метаболомных сдвигах.

При ежедневном пероральном введении мышам C57B6/DBA2 в 30-дневном эксперименте МУНТ в дозе 30 мкг/кг массы тела были выявлены очаговые инфильтраты печени, характеризующиеся при иммуногистохимическом исследовании повышенной экспрессией антигенов CD-3, CD-5, CD-20, CD-79a, Ki-67к λ . Эти данные косвенно указывают на избирательное накопление МУНТ в печени, сопровождающееся повреждением её паренхимы по механизму, ранее детально охарактеризованному для лёгочной ткани [13]. Вместе с тем непосредственно выявить наличие МУНТ в инфильтратах в данном исследовании не удалось.

Генотоксичность. По данным относительно немногочисленных работ, ОУНТ и МУНТ способны оказывать повреждающее действие на генетический аппарат клетки (в системах *in vitro* и *in vivo*). Для изучения генотоксичности ОУНТ в статье [14] применялись методы «комет ДНК» и микроядер. В качестве тестовых объектов использовали фибробласты лёгкого мыши и *Salmonella spp.* Повреждение ДНК клеток животных вызывалось нанотрубками в концентрации 0,096 мг/мл, в то время как какой-либо их генотоксичности для микроорганизма в данном тесте выявлено не было. В работе [15] воздействие УНТ на различные клеточные линии животного происхождения (эпителиальные клетки бронхов человека, кератиноциты, клетки альвеолярной карциномы) изучали с помощью клоногенного анализа (clonogenic assay). Во всех случаях показано выраженное воздействие на процессы клеточной пролиферации, в то время как снижение выживаемости отмечено только для нормальных, но не для опухолевых клеток. Генотоксичность МУНТ в отношении линии клеток фибробластов кожи человека (NHDF) проявлялась в дозах: 40, 200 и 400 мкг/мл [16]. Наблюдалось повреждение ДНК, сопровождавшееся апоптозом клеток. ОУНТ и МУНТ вызывают микроядерное повреждение и нарушение структуры двойной цепи ДНК в лимфоцитах и фибробластах человека [17]. Введение в состав УНТ боковых амидных групп усиливало эти эффекты.

Влияние физико-химических параметров (длины, числа слоёв, наличия примесей) УНТ на их генотоксичность было изучено в работе [18] с использованием эмбриональных клеток сирийского хомячка линии SHE. В целом число и выраженность эффектов генотоксичности на данной модели были значительно выше от МУНТ, чем от ОУНТ и двуслойных УНТ.

Способность МУНТ нарушать процесс митоза была изучена в работе [19] *in vitro* на культуре эпителиальных клеток лёгкого человека. Наблюдалась деформация веретена деления и блокада клеточного цикла на G1/S стадии. Существенной особенностью работы оказалось то, что действующие концентрации МУНТ были пересчитаны на площадь поверхности лёгочного эпителия, что позволило соотнести результат с условиями реальной

экспозиции согласно рекомендуемым экспозиционным лимитам (REL), предлагаемым US NIOSH (не более 1 мг/кг³ вдыхаемого воздуха).

В исследовании [20] было показано, что при интраперитонеальном введении МУНТ мышам в дозах 0,25–0,75 мг/кг массы тела отмечается значительное увеличение числа хромосомных отклонений, увеличение уровня повреждения в тесте ДНК-комет и снижение митотического индекса в клетках костного мозга и лейкоцитах.

При изучении воздействия МУНТ на генетический аппарат клеток слюнных желёз насекомых (комаров хириноид) в работе [21] авторы использовали популярную в классической генетике модель политенных (гигантских) хромосом. Основной мишенью воздействия МУНТ на политенные хромосомы были их ядрышки (NOR-участки), для которых выявлена активизация процессов транскрипции, что, предположительно, является адаптивной защитной реакцией на инвазию МУНТ, направленной на усиление процессов детоксикации ксенобиотиков. Проведённое в работе изучение на данной модели зависимости доза–эффект показало низкую токсичность МУНТ (IV класс опасности).

Репродуктивная токсичность и эмбриотоксичность. Особо пристальное внимание исследователей при оценке влияния на организм УНТ, присутствующих в окружающей среде, привлекают эффекты в отношении репродуктивной сферы, включающие как собственно влияние на процессы репродукции, так и на развитие эмбрионов и появление аномалий развития. Обзоры ранних работ по данному вопросу представлены в [22, 23].

Для выявления влияния ОУНТ на мужскую репродуктивную сферу в исследовании [24] их перорально вводили мышам в дозе до 10 мг/кг массы тела. В максимальной из доз достоверно возрастало количество образующихся микроядер в спермогенном эпителии гонад и двукратно возрастало количество деформированных сперматозоидов.

В серии работ [25–27] МУНТ «Таунит» в виде водной дисперсии, обработанной ультразвуком, давали с питьевой водой мышам C57B6/DBA2 в дозах 0,3; 3 и 30 мг/кг на протяжении 30 сут. Контрольные группы были представлены мышами, которые получали воду или водные дисперсии коллоидного углерода (сажи). Фертильность самцов оценивали после их ссаживания с самками по числу оплодотворений, количеству плодов, их выживаемости. Изучали морфологию семенников и уровни в крови ряда гормонов. По сравнению с контролем у самцов мышей, получавших МУНТ в наибольшей из изученных доз, отмечено снижение индекса оплодотворяющей способности и уровня циркулирующего тестостерона, что свидетельствует о развитии дисфункции гонад. Не было выявлено каких-либо эффектов МУНТ в отношении репродуктивной функции самок. Авторы работы полагают, что препараты на основе МУНТ даже в высоких дозах относительно «мягко» воздействуют на фертильность самцов, что может быть использовано для экологически адекватной регуляции численности грызунов в естественных биоценозах.

В исследовании [28] УНТ вводили внутривенно самцам мышей с целью изучения влияния указанных наноматериалов на репродуктивные функции. В течение 15 дней после начала введения были выявлены аккумуляция нанотрубок в организме животного, генерация окислительного стресса, снижение толщины семенного эпителия. На 60-й и 90-й дни после начала введения эти эффекты не наблюдались. Все репродуктивные функции (в том числе и уровень гормонов) возвращались к норме. В итоге авторы статьи делают вывод об обратимости репродуктивной токсичности УНТ.

При внутривенном введении функционализированных аминокислотами и полиэтиленгликолем ОУНТ беременным мышам в дозе 30 мкг наблюдался тератогенный эффект (5 эмбрионов с дефектом развития на 10 самок) и нарушения структуры плаценты [29]. УНТ были выявлены в значимых количествах в плаценте и желточном мешке, но не в эмбрионах. В экспериментах на мышах CD-1 показано наличие у ОУНТ эмбриотоксичности в форме резорбции плодов и морфологических (в том числе скелетных) аномалий на 9-й день беременности после введения в дозе 10 мг/кг в растворе трагакантовой камеди [30]. В 10 раз более высокая доза не вызывала неблагоприятных эффектов, что связывается авторами с большой скоростью агрегации наноматериала при в/ж зондовом введении.

В эксперименте на крысах *Sprague–Dawley*, получавших МУНТ перорально с 6-х по 19-е сутки гестации в дозе 1000 мг/кг/сут, тератогенный эффект не выявлен [31], хотя отмечалось влияние на иммунную систему, проявляющееся в снижении массы тимуса самок.

Изучение нефункционализированных ОУНТ на мышах в работе [32] показало отсутствие эффекта эмбриотоксичности при внутривенном введении в дозах до 30 мкг/кг. В отличие от этого, окисленные ОУНТ при введении в аналогичных дозах приводили к развитию аномалий плода и невынашиванию беременности. Сходные данные были получены в работе [33] при более высоких дозах (до 1000 мкг/кг) при внутривенном введении самкам мышей. Резко возрастало число невынашиваний беременности, увеличивалась частота аномалий плода. В плаценте и эмбрионе отмечали признаки усиления перекисного окисления липидов, однако не были выявлены ОУНТ как таковые. По данным [34], окисленные МУНТ были способны проникать через плацентарный барьер и вызывать гибель от 40 до 70% эмбрионов у экспонированных самок мышей.

Сравнение эмбриотоксичности различных УНТ, проведенное в работе [35], показало, что при прочих равных условиях МУНТ при внутривенном введении оказываются более эмбриотоксичными по сравнению с ОУНТ. Механизм эмбриотоксического действия авторы связывают с активацией под действием УНТ гена белка p53, запускающего процессы апоптоза в ткани эмбриона.

При внутрибрюшинном введении МУНТ беременным самкам мышей ICR однократно на 9-й день беременности в дозе от 2 до 5 мг/кг отмечалось 100% развитие дефектов извлеченных из матки плодов на 18-й день по показателям развития скелетной мускулатуры [36]. В случае интратрахеального введения подобные изменения отмечались только при максимальных дозах 4 и 5 мг/кг. С повышением дозы МУНТ в данном исследовании возрастало число плодов со скелетными аномалиями.

При введении лактирующим крысам [³H]-меченных укороченных ОУНТ внутривенно в дозе до 0,8 мг/кг выявлено их проникновение в молоко в пиковой концентрации 0,12 мкг/л [37]. Потребляемые потомством с молоком ОУНТ однородно распределялись в организме крысят, включая мозг, почки, скелетную мускулатуру и другие органы. Способность окисленных МУНТ проникать через плацентарный барьер и влиять на течение беременности на разных её стадиях была доказана в работе [38]. Введение наноматериала осуществляли внутривенно в дозе 20 мг/кг. Отмечено проникновение МУНТ через плацентарный барьер и возрастание частоты резорбции и аномалий плодов.

По мнению авторов исследования [39], механизм эмбриотоксического действия МУНТ не обязательно может быть связан с их проникновением через плацентарный барьер и воздействием непосредственно на развивающийся эмбрион. Альтернативное объяснение может быть обусловлено вазоактивными свойствами МУНТ, проявляющимися через активацию системы Rho киназы. Следствием этого могут быть вазоконстрикция сосудов плаценты, нарушение микроциркуляции, приводящие к нарушению трофических процессов в развивающихся плодах с их последующим повреждением.

Достаточно велико число работ, в которых эмбриотоксичность УНТ была низкой либо не выявлена. Так, результаты оценки влияния МУНТ на эмбриональное развитие млекопитающих в исследованиях [40, 41] были неоднозначны. При интратрахеальной экспозиции самок мышей C57Bl/6J в дозе 67 мкг отмечали только незначительное увеличение продолжительности вынашивания беременности (что связывалось с развитием воспаления в лёгких) без какого-либо влияния на качество потомства. Во 2-м поколении у самок, родившихся от обработанных МУНТ матерей на 125-й день жизни, не было отклонений в показателях сперматогенеза. В работе [42] при введении МУНТ внутрибрюшинно самкам мышей в дозе 1–10 мг/кг не наблюдали каких-либо изменений в вынашивании беременности, однако отмечено повышение уровня тревожности. Аналогично в исследовании [43], в котором МУНТ вводили внутривенно беременным крысам в дозах от 40 до 2000 мг/кг в течение 13 дней, не было выявлено аномалий развития плодов.

Таким образом, ввиду противоречивости данных вопрос об эмбриотоксичности УНТ остаётся открытым. Причины расхождений в результатах цитированных работ, как можно предположить, связаны преимущественно с различными путями введения наноматериалов. Так, при их парентеральном поступлении в большинстве исследований эмбриотоксический и тератогенный эффекты оказываются наиболее выраженными.

Иммунотоксичность и аллергенность. Представленные в предыдущей части обзора данные литературы о влиянии УНТ на активность клеток иммунной системы, воспаление, выработку цитокинов позволяют предположить, что эти наноматериалы способны нарушать нормальное функционирование иммунной системы организма и усиливать аллергические реакции. Тем не менее, работы, в которых эти эффекты были подтверждены непосредственно, немногочисленны.

В работе [44] было показано, что при ингаляции мышами МУНТ в дозах 0,3 и 1 мг/м³ в течение 14 сут наблюдается подавление функции иммунитета по Т-зависимому ответу антител. Данная реакция иммунной системы на МУНТ частично блокировалась введением ибупрофена, а также у животных с нокаутом гена циклооксигеназы-2, что указывает на роль простагландинов в механизме иммуносупрессии.

На модели интратрахеальной сенсибилизации мышей овалбумином куриного яйца показано [45], что одновременно вводимые в респираторный тракт животных МУНТ обладают адъювантным действием, усиливая выработку провоспалительных цитокинов и цитотропных антител IgG и IgE классов, и тем самым могут усиливать развитие аллергических реакций. Аналогично авторы работы [46] показали, что ОУНТ усиливают тяжесть аллергической реакции на модели аллергической астмы у крыс, вызванной сенсибилизацией овалбумином. Ингаляция укороченных (стержневидных) УНТ мышами, изученная в работе [47], приводила к модулируемому иммунными механизмами псевдоаллергическому воспалению в лёгочной ткани. Маркёрами процесса были массивная эозинофилия и выработка серии Th-2 зависимых провоспалительных цитокинов.

В основе проаллергенного действия УНТ может лежать их способность модулировать выработку цитокинов IL-1 β , IL-33 и усиливать экспрессию их рецептора ST2 на тучных клетках [48]. В результате повышается неустойчивость тучных клеток к деградации с выбросом больших количеств биогенных аминов, являющихся агентами патохимической стадии аллергической реакции. Другая функция IL-33 может состоять, по данным [49], в рекрутировании наивных Т-хелперных клеток в ткани лёгкого, чем усиливаются процессы респираторной сенсибилизации различными аллергенами, поступающими совместно с ингалируемыми МУНТ. В реальных условиях процессы аллергической сенсибилизации и воспаления, вызываемого действием МУНТ, могут быть тесно переплетены и взаимосвязаны. В частности, как указывается в работе [50], активация под действием МУНТ инфламмосом по STAT-6 зависимому пути, связанному с подавлением активности каспазы-1, приводящая к гиперпродукции IL-1 β , рассматривается как одно из звеньев процессов развития фиброза в лёгочной ткани. Если данный процесс развивается на фоне аллергической сенсибилизации, связанной с активацией Т-хелперов 2-го типа и выработкой провоспалительных цитокинов IL-4 и IL-13, степень активации инфламмосом и, следовательно, вероятность развития фиброза могут значительно усиливаться.

Трансформирующее действие и канцерогенность. По аналогии с широко изученными минеральными волокнистыми материалами – амфиболовым и крокидолитовым асбестом – высказывается предположение, что УНТ обладают канцерогенностью. Однако прямые данные о наличии у УНТ канцерогенных свойств немногочисленны. Вместо этого в значительном числе работ охарактеризовано трансформирующее действие и экспрессия онкогенов под действием МУНТ в клеточных линиях различных типов.

В работе [51] на модели макрофагов показано, что МУНТ обладают потенциальным трансформирующим действием на клетки, сходным с эффектом волокон крокидолитового асбеста, причём основным фактором, влияющим на активность МУНТ, служит аспектное отношение (отношение длины к диаметру).

Сравнение трансформирующей активности ОУНТ, МУНТ и асбеста было проведено также в [52] с использованием клеток лёгочного эпителия. В результате их 6-месячного экспонирования дисперсиями УНТ отмечалась злокачественная трансформация фенотипа, сходная с наблюдавшейся под действием асбестовых волокон. Однако транскриптомный профиль клеток, трансформированных под действием УНТ и асбеста, значительно различался, что свидетельствует, по-видимому, о разных молекулярных механизмах этих процессов.

Агентом действия УНТ могут быть «раковые стволовые клетки» (CSCs) [53, 54]. Показано, что в результате 6-месячной экспозиции клеток эпителия лёгкого человека ОУНТ в дозах, реалистически соответствующих экспонированию на рабочем месте, отмечается образование CSCs, характеризующихся гиперэкспрессией кавеолина-1 (Cav-1), агрессивным раковым фенотипом и устойчивостью к апоптозу. Механизм трансформирующего действия ОУНТ опосредуется нарушением защитной функции противооракового гена *p53*. С использованием аналогичной модели авторами работы [55] были получены транскриптомные данные, свидетельствующие об активации *pAkt/p53/Bcl-2* сигнальной оси, экспрессии онкогенов семейства RAS и подавления активности генов апоптоза в эпителиальных клетках лёгкого, подвергавшихся 6-месячной экспозиции ОУНТ.

Продолжительное воздействие ОУНТ на мезотелиальные клетки человека, согласно [56], вызывало злокачественную трансформацию с усилением пролиферации и инвазивности клеток. Указанные эффекты были связаны с активацией онкогена *H-Ras* и экспрессией ERK1/2 MAP киназы. В свою очередь, подавление *H-Ras* под действием специфических малых интерферирующих РНК (siRNA) или инактивация ERK химическим ингибитором эффективно блокировало агрессивный фенотип трансформированных под действием ОУНТ клеток, характеризующийся экспрессией интегрин- α и кортактина. Другая работа этой же группы авторов [57] указывает на роль в злокачественной трансформации клеток лёгочного эпителия под действием МУНТ экспрессии металлопротеиназы матрикса типа 2, которая может рассматриваться как маркер данного процесса.

На роль секреции цитокинов семейства IL-1 в злокачественной трансформации клеток под действием УНТ указывают данные работы [58], в которой было показано, что одна из функций этих цитокинов состоит в стимуляции экспрессии специфических белков, нарушающих взаимодействие клеток по плотным контактам, вследствие чего блокируется межклеточная передача сигнала о запуске апоптоза трансформированных клеток.

При воздействии МУНТ длиной 1–2 или 5–15 мкм на клетки альвеолярного эпителия человека A549 в них развивался окислительный стресс, сопровождающийся активацией толл-подобного рецептора TLR9, гликированием белков, секрецией ядерного белка HMGB1 и 8-нитрогуанина (8-nitroG) [59]. Супернатант клеток, обработанных МУНТ, содержащий, как можно предположить, в высоких концентрациях HMGB1, приводил к выработке 8-nitroG в обработанных им интактных клетках. HMGB1 (являющийся свойствами антагониста *p53*) и 8-nitroG, являются агентами, способными в условиях эксперимента вызывать злокачественную трансформацию клеток. Недостаток исследования [59] в том, что исходная клеточная линия A549 изначально была злокачественно трансформированной, что создаёт определённые затруднения в интерпретации полученных данных.

В 2-летнем эксперименте на 500 крысах *Wistar* [60] была изучена в сравнительном аспекте канцерогенность МУНТ и волокон асбеста, вводимых внутрибрюшинно. Выявлено развитие злокачественных мезотелиом, морфологически сходных для действия МУНТ и асбеста. Наибольшей канцерогенностью обладали относительно короткие и распрямлённые МУНТ; более длинные, спутанные в плотные клубки, также вызывали развитие опухолей, но при более высоких дозах и временах наблюдения.

Дозозависимое образование опухолей было зафиксировано при внутрибрюшинном введении МУНТ гетерозиготным по гену *p53* мышам в интервале доз от 3 до 300 мкг [61]. Типичная морфологическая картина включала формирование мезотелиомы с фиброзом и с накоплением CD3⁺ и CD45⁺ лимфоцитов и

CD3/CD45-негативных макрофагов f4/80. В основе развития фиброза с последующей малигнизацией лежат, по мнению авторов, эффекты «нарушенного фагоцитоза» макрофагами сравнительно коротких и жестких фрагментов УНТ. Фактором, ответственным за развитие опухолевого процесса в лёгких вследствие экспозиции ОУНТ, по данным [62], может быть экспрессия трансформирующего фактора роста TGF- β .

У мышей В6С3F₁, предварительно обработанных внутрибрюшинно «инициатором» канцерогенеза метилхолантеном, ингаляция МУНТ в дозе 5 мг/м³ в течение 15 дней приводила к массивному развитию аденом и аденокарцином лёгких с достоверно более высокой частотой, чем у контрольных животных, дышавших чистым фильтрованным воздухом [63]. Это свидетельствует о важности учёта возможных агрегированных канцерогенных рисков УНТ в сочетании с другими производственными или бытовыми канцерогенами (например, такими, как курение).

Таким образом, в литературе детально изучены механизмы злокачественной трансформации под действием МУНТ и ОУНТ клеток различных типов в модельных системах *in vitro*, есть отдельные результаты о канцерогенности этих наноматериалов для лабораторных животных. Поэтому, несмотря на то что каких-либо свидетельств канцерогенности УНТ для человека до настоящего времени не было получено, IARC было принято решение об их отнесении к группе 2B по канцерогенности («возможно канцерогенны для людей») [58].

Взаимодействие с контаминантами традиционной природы. УНТ в реальных условиях экспозиции воздействуют на человека не изолированно, а в сочетании с рядом других контаминантов химической и биологической природы. Представляет интерес исследование вопроса о взаимодействии УНТ с токсичными веществами «традиционной» природы, что может быть необходимо для оценки агрегированных рисков [64].

Для УНТ может быть свойственно усиление проникновения в биологические объекты гидрофобных контаминантов, если они присутствуют в среде в достаточно высоких концентрациях и способны адсорбироваться на наноматериале [65]. Одновременно УНТ могут оказывать влияние на биодеградацию и биодоступность контаминантов, таких как фенантрен [66]. Кроме того, УНТ могут влиять на степень поглощения различных контаминантов организмами – компонентами природной биоты. Эти эффекты, по данным [67], неоднозначны. Так, в присутствии ионов Cu²⁺ адсорбция ароматических соединений на ОУНТ может усиливаться [68] вследствие образования мостиковых комплексов.

Имеется ряд данных о синергизме действия УНТ и контаминантов химической природы. Так, адсорбция на УНТ бисфенола-А может приводить к повышению его активности как «эндокринного разрушителя» [69]. Согласно данным работы [70], острая лёгочная токсичность УНТ при ингаляционном пути поступления потенцируется озоном. Окисленные МУНТ при действии на клетки печени в культуре демонстрировали признаки взаимодействия с ионами Cd²⁺, что проявлялось в синергическом усилении экспрессии металлотионина при сочетанной обработке этими агентами [71].

ОУНТ [72] и в меньшей степени МУНТ [73, 74] обладают антимикробной активностью в отношении культур микроорганизмов, а также бактериальных биоплёнок. На антимикробное действие УНТ могут оказывать значительное влияние присутствующие в них остаточные количества металлических катализаторов. В исследовании [73] ОУНТ проявляли антимикробное действие в отношении *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *B. subtilis* и *St. epidermis*. В сравнении с такими наноматериалами, как фуллерены и коллоидные частицы графита, антимикробная активность ОУНТ была наибольшей.

В реальных условиях экспозиции на поверхности УНТ могут быть адсорбированы следы бактериальных липополисахаридов (ЛПС), повсеместно присутствующих в окружающей среде. Это явление может иметь значение для потенцирования лёгочной токсичности УНТ [75], а также должно приниматься во внимание при тестировании эффектов УНТ *in vitro* в культурах клеток и при парентеральном введении в организм лабораторных животных, когда даже минимальные количества ЛПС, пред-

ставленные в тестируемом препарате, могут исказить результаты исследования.

Оценка экспозиции (дозы и сценарии)

Переходя к вопросу об оценке экспозиции человека УНТ, важно иметь в виду, что детекция УНТ в составе природных объектов, в том числе в образцах биологических тканей, представляет собой сложную задачу. Электронно-микроскопические методы детекции УНТ в настоящее время относятся к наиболее разработанным, на их применение существует международный стандарт ISO [76]. Однако применительно к сложным многокомпонентным системам, включая различные виды биологических матриц, использование методов электронной микроскопии встречает ряд проблем. В основном они связаны с низкой электронной плотностью углеродного материала, слагающего УНТ, и отсутствием надёжных методов их контрастирования на фоне биологического объекта. Спектральные методы, в частности основанные на комбинационном рассеянии света (Раман-эффект), в ряде случаев позволяют идентифицировать УНТ в составе живых организмов, даже таких сложноорганизованных, как лабораторные животные [77]. Однако применительно к объектам окружающей среды данные методы недостаточно апробированы и не стандартизованы, поэтому их применение для целей количественного определения УНТ проблематично. Даже если безопасные уровни УНТ в составе объектов окружающей среды будут определены экспериментально в модельных биологических системах, установление на этой основе гигиенических нормативов затруднительно, поскольку адекватный метод контроля может отсутствовать или быть недостаточно чувствительным и селективным. Данные о современных методах определения УНТ представлены в обзорных статьях [78, 79].

По мнению авторов работы [8], УНТ следует считать сравнительно малоопасными для окружающей среды, поскольку, во-первых, большинство вредных воздействий на водные, почвенные и наземные организмы наблюдается только при их достаточно высоких концентрациях (> 0,1 мг/л среды), которые с малой вероятностью могут достигаться в объектах окружающей среды [80–82], а, во-вторых, УНТ относительно мало стабильны и способны разрушаться как при физико-химических процессах [83, 84], так и вследствие ферментативной деградации [85]. Однако следует иметь в виду, что в перспективе концентрации УНТ в окружающей среде могут возрастать с увеличением их производства [86].

Ингаляционная экспозиция. В подавляющем большинстве исследований, посвящённых сценариям экспозиции человека УНТ, ингаляционный путь экспозиции рассматривается как основной [87]. Это связано с физико-химическими свойствами УНТ, представляющими собой по своему агрегатному состоянию тонкие лёгкие порошки с высокой склонностью к статической электризации и пылеобразованию. Аэрозоли УНТ стойкие к седиментации и способны к длительной персистенции в воздухе производственных помещений. Уже в самых первых работах по этой тематике [88] было показано, что концентрация УНТ в воздухе рабочей зоны может достигать 50 мкг/м³. В результате анализа имеющихся данных US NIOSH рассматривает проблему гигиенического нормирования УНТ в воздухе рабочей зоны как приоритетную [89]. Другая причина наибольшей вероятности ингаляционной экспозиции УНТ связана с тем, что производство УНТ в большинстве случаев представлено преимущественно малыми предприятиями, на которых не всегда достаточно реализуются меры по защите органов дыхания работников от наноразмерных аэрозолей [90].

Интенсивное исследование ингаляционной экспозиции УНТ и связанных с нею рисков осуществляется рядом международных рабочих групп [91]. В их числе исследование, поддерживаемое US NIOSH [92], проект CANTES, реализуемый в Нидерландах, и российско-американский проект CNT-ERA. В США в 2013 г был завершён пилотный проект, охватывающий около 100 работников производства, в рамках которого проведено перекрёстное исследование связи между ингаляционной экспозицией УНТ и развитием лёгочных и сердечно-сосудистых заболеваний. Результатом исследований стала разработка критериев, позволяющих оценивать уровень опасности УНТ, пред-

ставленных в воздухе рабочей зоны [93, 94]. В дальнейшем этот проект был расширен с обследованием персонала 8 предприятий, производящих УНТ и углеродные нановолокна [94]. Результаты исследования показали, что средняя концентрация МУНТ, представленная в воздухе рабочей зоны, составляет 10,6 мкг/м³. Это соответствует, с учётом коэффициента эффективности отложения, составляющего 4%, накоплению в лёгких человека порядка 4,07 мкг МУНТ за рабочий день (смену). В пересчёте на массу тела эта доза лишь незначительно уступает пороговой, отвечающей минимальным воспалительным изменениям и транскриптомным сдвигам в лёгочной ткани, определённой в экспериментах на мышах. Поскольку экспонирование персонала предприятий может быть очень длительным (в течение многих лет), указанную экспозицию было решено рассматривать как создающую неприемлемый риск для здоровья.

В 2014 г было объявлено о серии исследований, проводимых в Нидерландах и Бельгии по проекту CANTES. Определяли содержание общего углерода в воздухе рабочих помещений предприятий, производящих УНТ. Различные биомаркеры их токсического действия одновременно определяли в пробах крови, мочи и соскобах эпителия полости рта и носа работников предприятий. Сообщалось о важной роли провоспалительных цитокинов в качестве биомаркеров токсического действия УНТ [95].

В рамках российско-американского проекта CNT-ERA была проведена гигиеническая оценка МУНТ в условиях одного реально действующего российского предприятия, выпускающего их в крупных масштабах [96–98]. Выполняли пилотное токсиколого-гигиеническое исследование экспозиции работников предприятия к МУНТ и биохимических маркеров их предполагаемого токсического действия. Отбор проб воздуха осуществляли в контрольных точках рабочей зоны на 2 вида фильтров – из высокоочищенного кварца и из эфирной целлюлозы. В пробах, отобранных на 1-й тип фильтра, количество определяли МУНТ путём анализа общего углерода (после тотальной минерализации образца) методом термооптического анализа. Фильтры 2-го типа после растворения в подходящем растворителе использовали для электронно-микроскопической идентификации МУНТ. Респираторную фракцию аэрозоля при отборе проб выделяли с использованием циклона. Электронная микроскопия МУНТ, содержащихся в воздухе рабочей зоны, показала, что они представлены спутанными клубками размером типично 0,5–10 мкм, с поверхности которых могут отделяться индивидуальные УНТ, одним концом зафиксированные в клубке. Свободных УНТ не выявлено. Наибольшая концентрация УНТ в воздухе рабочей зоны отмечена на стадиях сбора готовой продукции и её упаковки; она составила в этих контрольных точках соответственно 32,59/6,11 и 14,15/2,65 мкг/м³ (данные для среднесменной концентрации УНТ в общей/респираторной фракции аэрозоля). Данные концентрации значительно превосходили рекомендуемый US NIOSH и международными организациями [99] безопасный уровень МУНТ в воздухе рабочей зоны, составляющий 1 мкг/м³. Экспонирование МУНТ на стадиях дезинтеграции продукта и лабораторных исследований было существенно меньше. В числе биомаркеров токсического действия МУНТ на работников предприятия наиболее информативными были уровень TGF- β сыворотки крови и белкового сурфактанта KL-6 мокроты. Информативность биомаркеров выявлена после коррекции данных определений у экспонированных людей на возраст, пол, наличие курения. Вопреки ожиданиям авторов, уровень остеопонтина сыворотки не оказался информативным маркером токсического действия МУНТ. Авторы заключают, что в условиях реального производства возможна экспозиция работников предприятия к МУНТ, приводящая к реальным сдвигам ряда биомаркеров токсического действия, что требует разработки системы мер по контролю НМ на производстве и регулярного медицинского наблюдения за состоянием здоровья работников.

Особенность исследования, выполненного группой корейских авторов, заключалась в том, что объектом наблюдения было производство не только МУНТ, но и ОУНТ [100]. В результате 3-дневного мониторинга с использованием сканирующего анализатора мобильности (SMPS) и счётчика пылевых частиц показано, что концентрация УНТ в воздухе рабочей зоны варьировала от необнаружимо малых значений до 254 мкг/м³, превышая в

сотни раз рекомендуемый норматив. Наиболее высокие концентрации наноматериала развивались на стадии выгрузки готовой продукции из CVD-реактора, в котором осуществлялся синтез УНТ. Электронно-микроскопическое исследование показало, что УНТ в воздухе рабочей зоны были представлены исключительно крупными агрегатами без следов свободных нанотрубок. Недостатком исследования была, по-видимому, малая чувствительность применяемых аналитических методов.

Ингаляция при деградации композитных материалов. Композитные материалы – одно из основных массовых направлений использования УНТ. Применение УНТ в составе композитов позволяет значительно улучшить их механические характеристики. Поскольку наноматериал распределяется в пределах объёма полимерного матрикса, первоначально предполагалось, что возможность экспонирования человека УНТ, содержащимися в композитах, минимальна. Однако, по данным [101], высвобождение УНТ из полимерного матрикса всё-таки возможно в результате сочетания факторов механического воздействия и химической деградации. При этом часть волокон УНТ оказываются выступающими из объёма композита и могут быть оторваны или отломаны при трении. Точное количество мигрирующих таким образом УНТ оценить не представляется возможным, и даже при наиболее неблагоприятном сценарии до 95% УНТ остаётся связанным в составе матрикса изделия. Это соответствует выделению с 1 м² порядка нескольких мг УНТ в течение года, что может быть токсикологически значимым при близком контакте потребителя с изделием (например, при его использовании в быту, в качестве спортивного инвентаря, игрушек и т. п.) [102].

Миграция из упаковки. Частный случай нанокompозитов – материалы, применяемые при упаковке пищевой продукции. Сведения о возможности использования при их производстве УНТ в литературе немногочисленны. Несмотря на возможные преимущества, которые открывает использование УНТ в упаковке [103], существующие при этом риски, по-видимому, препятствуют сколько-нибудь широкому внедрению подобных технологий. Единственная доступная публикация по данному вопросу содержит исследование нанокompозита МУНТ и пищевого желатина [104]. В результате были получены упаковочные плёнки, обладающие повышенной механической прочностью и имевшие, в дополнение к этому, выраженную антимикробную активность. В случае введения подобной продукции в оборот встанет вопрос об оценке миграции из неё УНТ.

Поступление через растения и сельскохозяйственную продукцию. В доступных источниках литературы не имеется прямых данных о загрязнении УНТ объектов окружающей среды. Считается, что при утилизации отходов сжиганием на мусоросжигательных заводах УНТ полностью сгорают [83, 84]; их поступление с промышленными и муниципальными жидкими сточными водами также, по-видимому, пренебрежимо мало [105]. Однако не исключено, что в перспективе УНТ, как материалы, имеющие большую адсорбционную способность в отношении гидрофобных контаминантов, могут начать использоваться в качестве средств очистки природных объектов [67, 106]. Эта потенциальная область применения УНТ требует тщательного анализа соотношения польза–риск от подобных технологий при их широкомасштабном внедрении. Так, например, введение в промышленные шламы, поступающие в состав донных отложений водоёмов, 1,5% по массе УНТ практически не сказывается на сорбции полициклических ароматических углеводородов, но может само по себе оказать вредное воздействие на некоторых представителей бентосной фауны [107, 108].

Отдельно следует рассмотреть вопрос о пероральном экспонировании человека УНТ через потребляемую сельскохозяйственную продукцию. Согласно ряду данных, УНТ могут применяться в сельском хозяйстве в качестве стимуляторов роста растений [109], носителей для агрохимикатов [110, 111], а также в качестве средств контроля численности грызунов-вредителей [27]. По данным исследования [112], выполненного методом электронной микроскопии, при проращивании семян эспарцета *Onobrychis arenaria* в присутствии водной дисперсии МУНТ «Таунит» отмечается накопление МУНТ в корнях и зелёных частях растения. В экспериментах на проростках люцерны и пшеницы показано [113], что УНТ хорошо переносятся расте-

ниями в концентрации до 2,56 г/л и вызывают ускорение проращивания семян и удлинение побегов (что может быть связано, в частности, с наличием в УНТ примесей металлов, например железа). Методом электронной микроскопии и Рамановской спектроскопии показано присутствие УНТ только в эпидермисе корней, что, однако, не позволяет исключить их более отдалённую транслокацию у растений старшего возраста. В работе [114] были показаны проникновение и аккумуляция УНТ в тканях брокколи при внекорневом внесении.

Полученные данные указывают на появление в перспективе рисков, связанных с передачей МУНТ к животным и человеку по трофической цепи с сельскохозяйственной продукцией.

Экспонирование нанотрубками природного и техногенного происхождения. Распространено мнение, что УНТ могут быть получены исключительно искусственным путём. Однако уже в начале 2000-х годов появились данные о том, что в окружающей среде присутствуют и УНТ природного происхождения (они, например, были обнаружены в 10 000-летних льдах Гренландии [115]), а также техногенного, включая образующиеся при сгорании органических веществ [116, 117]. Известно, в частности, что после инцидента 11.09.2001 в США УНТ были обнаружены в биоптатах лёгких пострадавших людей [91]. В работе [118] УНТ были идентифицированы в бронхолёгочном лаваже от проживающих в Париже детей, больных бронхиальной астмой. Поскольку эти пациенты никогда не контактировали с УНТ, производимыми в промышленных масштабах, можно предположить, что их источником являются продукты сгорания, присутствующие в воздухе мегаполиса. Есть основание полагать, что роль таких «техногенных» УНТ [119] в развитии различных видов лёгочной патологии недооценена, однако для выяснения этих обстоятельств необходимо дальнейшее накопление данных эпидемиологических наблюдений.

Оценка риска

Полученные данные позволяют подойти к оценке рисков МУНТ при ингаляционном воздействии. В исследовании [120] предпринята попытка оценки опасности ингаляционных концентраций МУНТ, достигаемых в условиях реального производства, на основе анализа большого массива данных, полученных в модельных системах *in vitro*. На существенность рисков МУНТ как промышленного токсиканта указывают работы [121]. Следует иметь в виду [122], что, с учётом данных о возможной генотоксичности и отдалённых последствий действия УНТ на организм, их безопасные уровни в воздухе рабочей зоны могут в перспективе быть пересмотрены в сторону снижения. Согласно заключению US NIOSH, сделанному на основе обобщения большого числа экспериментальных данных по ингаляционной токсичности и результатов оценки промышленной экспозиции [123], УНТ, особенно производимые в крупных промышленных масштабах МУНТ, уже в настоящее время являются приоритетными промышленными токсикантами, создающими в ряде случаев неприемлемые риски. Поэтому разработка комплекса мероприятий, направленных на снижение рисков промышленно производимых УНТ, – актуальная задача.

Заключение

УНТ, помимо общетоксического действия на организм при ингаляционном и пероральном пути поступления, способны оказывать избирательное повреждающее воздействие на удалённые от места их внедрения в организм органы–мишени, что свидетельствует о высокой значимости процессов транслокации УНТ из бронхолёгочного эпителия, слизистой оболочки кишки, обонятельного эпителия. Однако в большинстве случаев о факте такой транслокации можно судить только косвенно по проявляющимся эффектам воздействия на органы мишени (печень, сердце и др.), тогда как собственно выявление УНТ в составе затронутых органов методически пока не представляется возможным.

Данные о способности ОУНТ и МУНТ оказывать повреждающее действие на генетический аппарат клетки в системах *in vitro* и *in vivo* немногочисленны, но обладают высоким уровнем доказательности, поскольку при этом были использованы

современные высокоинформативные генетические и молекулярно-биологические методы. Повреждающее действие УНТ на геном осуществляется, по-видимому, не путём их непосредственного взаимодействия с ДНК (как это характерно для химических мутагенов и канцерогенов), а опосредуется клеточными реакциями окислительного стресса, активации сигнальных каскадов, экспрессией цитокинов и других регуляторных факторов.

УНТ обладают несомненной эмбриотоксичностью и тератогенностью, что проявляется в снижении выживаемости плодов, появлении аномалий развития. Однако данные об эмбриотоксическом действии УНТ находятся в выраженной зависимости от техники проведения экспериментов, от пути поступления наноматериала в организм беременных самок. Вопрос о проявлении эмбриотоксического действия УНТ при естественных путях экспозиции пока остаётся открытым. Что же касается репродуктивной токсичности УНТ, то можно считать доказанным наличие у них «мягкого» подавляющего действия на мужскую репродуктивную сферу, включая качество спермы и уровень мужских половых гормонов.

При оценке рисков, связанных с УНТ, важно учитывать их способность усиливать аллергическую сенсибилизацию антигенами, присутствующими в окружающей среде. Есть основание предполагать даже, что роль УНТ (в том числе естественного и техногенного происхождения) в развитии аллергических заболеваний, например бронхиальной астмы, может быть недооценена.

Подобно минеральным волокнистым материалам – амфиболовому и крокидолитовому асбесту, УНТ способны вызывать злокачественную трансформацию клеток. Как и в случае эффектов генотоксичности, это действие опосредуется процессами окислительного стресса и экспрессией внутриклеточных мессенджеров, включая цитокины, онкогены и белки межклеточного распознавания. Что же касается канцерогенного действия, оно показано для УНТ только в модельных экспериментах на животных, а данные эпидемиологических наблюдений в доступной литературе практически отсутствуют. Отчасти это может быть связано с тем, что искусственно производимые промышленностью УНТ – относительно новый фактор окружающей среды, действующий в массовых масштабах немногим более 10 лет, тогда как для доказательства канцерогенного действия в эпидемиологических исследованиях, как правило, необходимы наблюдения, длящиеся несколько десятилетий. По аналогии с другими канцерогенными факторами, такими, например, как ионизирующая радиация, можно предположить, что по мере накопления данных о канцерогенном действии УНТ их пороговые дозы, отвечающие минимальному канцерогенному риску, будут корректироваться в сторону понижения. Так или иначе, но уже IARC было принято решение об отнесении УНТ к группе веществ 2В по канцерогенности («возможно канцерогенны для людей»).

Есть данные, что УНТ могут потенцировать токсичность ряда химических контаминантов (таких, как полициклические ароматические углеводороды) за счёт облегчения их транспорта в биологические системы либо за счёт ингибирования естественных процессов их микробной деградации. В числе других контаминантов, действие которых необходимо учитывать при оценке агрегированных рисков УНТ, некоторые условно-патогенные микроорганизмы, микробные липополисахариды и ионы кадмия.

Решение проблемы экспозиции работников предприятия и населения УНТ через продукцию и объекты окружающей среды затруднено сложностью методов количественного определения УНТ. Несколько проще данная задача решается для УНТ в воздухе рабочей зоны, где с успехом применяются методы подсчёта числа частиц и химического элементного анализа в сочетании с электронной микроскопией. Этим отчасти объясняется то, что наибольший объём сведений получен для частного случая ингаляционной экспозиции к УНТ. Этот путь экспозиции, одновременно, рассматривается и как наиболее важный с учётом значимости аэрозолей УНТ как контаминантов воздуха рабочей зоны. В широких межлабораторных исследованиях, проведённых в России, США, Нидерландах и др. странах получены надёжные данные о содержании УНТ в воздухе производственных помещений, позволяющие, в сочетании с большим объёмом данных

об ингаляционной токсичности УНТ, перейти к вопросу их гигиенического нормирования. В настоящее время международно-признанным является рекомендуемый US NIOSH безопасный уровень (ПДК) для МУНТ в воздухе рабочей зоны, составляющий 1 мкг/м^3 . Ввиду наличия значительных пробелов в сведениях о некоторых специальных и отдалённых видах токсичности УНТ (в частности, канцерогенности), данный норматив следует рассматривать как временный, с перспективой его дальнейшего снижения. Однако встает вопрос о том, способны ли существующие методы анализа обеспечить определение таких низких концентраций УНТ.

В отношении других путей экспозиции человека УНТ, например через желудочно-кишечный тракт, количественные оценки в доступной литературе практически отсутствуют. Это связано как с аналитическими проблемами определения УНТ в плотных матрицах, так и с неясными перспективами самого факта экспонирования УНТ через пищу, воду, сельскохозяйственную и др. виды продукции. Тем не менее, с учётом существующих перспектив использования УНТ в композитных материалах (в том числе, применяемых в быту), упаковке, средствах стимуляции роста и защиты растений, важность этих исследований очевидна; можно предполагать, что существующие пробелы в знаниях по этим вопросам в ближайшие годы будут заполнены.

Благодарности. Авторы благодарят доктора мед. наук, проф. Лилю Минвагизовну Фатхутдинову и канд. с/х наук, доц. Александра Анатольевича Гусева за помощь и полезное обсуждение материалов данного обзора.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

(3–24, 28–36, 38–77, 80–89, 91–95, 98–108, 110–123 см. References)

1. Гмошинский И.В., Хотимченко С.А., Ригер Н.А., Никитюк Д.Б. Токсичность углеродных нанотрубок: механизмы действия, биологические маркеры и оценки в системах *in vivo* (обзор литературы). *Гигиена и санитария*. 2017; 96 (2): 176–86.
2. Оценка риска воздействия наноматериалов и наночастиц на организм человека. Методические рекомендации. М.; 2012.
25. Васюкова И.А., Гусев А.А., Халиуллин Т.О., Фатхутдинова Л.М., Убогов А.Ю. Многостенные углеродные нанотрубки и их влияние на показатели мужской репродуктивной системы. *Нанотехнологии и охрана здоровья*. 2014; 6 (1): 10–5.
26. Гусев А.А., Полякова И.А., Горшенева Е.Б., Ткачёв А.Г., Емельянов А.В., Шутова С.В. и др. Половые различия физиологического эффекта углеродного наноструктурного материала – перспективного носителя лекарственных препаратов в эксперименте на лабораторных мышках. *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Естественные науки*. 2010; 21 (13): 107–12.
27. Васюкова И.А., Грибановский С.Л., Гусев А.А., Убогов А.Ю., Халиуллин Т.О., Фатхутдинова Л.М. и др. Оценка репродуктивной токсичности и возможных популяционно-экологических эффектов МУНТ на мышевидных грызунах. *Российские нанотехнологии*. 2015; 10 (5-6): 109–16.
37. Алдобаев В.Н., Ерёмченко Л.А., Мазанова А.А., Бикетова Д.Х., Ковалёва Е.В., Квачёва Л.Д. и др. Изучение распределения и оценка основных фармакокинетических параметров окисленных укороченных одностенных нанотрубок в организме детенышей аутибредных крыс при поступлении с молоком матери в период грудного вскармливания. *Токсикологический вестник*. 2013; (2): 26–30.
78. Гендриксон О.Д., Сафенкова И.В., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б., Попов В.О. Методы детекции и идентификации техногенных наночастиц. *Биофизика*. 2011; 56 (6): 965–94.
79. Гмошинский И.В., Хотимченко С.А., Попов В.О., Дзантиев Б.Б., Жердев А.В., Демин В.Ф. и др. Наноматериалы и нанотехнологии: методы анализа и контроля. *Успехи химии*. 2013; 82 (1): 48–76.
90. Халиуллин Т.О., Кисин Е.Р., Залялов Р.Р., Шведова А.А., Фатхутдинова Л.М. Биологические эффекты многослойных углеродных нанотрубок при легочной экспозиции *in vivo*. *Токсикологический вестник*. 2013; (4): 17–21.
96. Халиуллин Т.О., Залялов Р.Р., Шведова А.А., Ткачёв А.Г., Фатхутдинова Л.М. Гигиеническая оценка производства многослойных углеродных нанотрубок. *Медицина труда и промышленная экология*. 2015; (7): 37–41.
97. Фатхутдинова Л.М., Халиуллин Т.О., Васильева О.Л., Залялов Р.Р., Валеева И.Х., Мустафин И.Г. и др. Пилотное кросс-секционное исследование по оценке потенциального фиброгенного риска в условиях реальных экспозиций к аэрозолю многостенных углеродных нанотрубок на рабочих местах. *Казанский медицинский журнал*. 2013; 94 (5): 770–4.
109. Смирнова Е.А., Гусев А.А., Зайцева О.Н., Лазарева Е.М., Онищенко Г.Е., Кузнецова Е.В. и др. Углеродные нанотрубки проникают в ткани и клетки и оказывают стимулирующее воздействие на проростки эспарцета *Onobrychis Arenaria* (Kit.). *Acta Naturae*. 2011; 3 (1): 106–13.

References

1. Gmoshinskiy I.V., Khotimchenko S.A., Riger N.A., Nikityuk D.B. The toxicity of carbon nanotubes: mechanisms of action, biomarkers and evaluation in vivo systems (review). *Gigiena i sanitariya*. 2017; 96 (2): 176–86. (in Russian)
2. *Assessment of risk exposure to nanoparticles and nanomaterials on the human body. Guidelines*. Moscow; 2012. (in Russian)
3. Belyanskaya L., Weigel S., Hirsch C., Tobler U., Krug H.F., Wick P. Effects of carbon nanotubes on primary neurons and glial cells. *Neurotoxicology*. 2009; 30 (4): 702–11.
4. Wu Di, Pak E.S., Wingard C.J., Murashov A.K. Multi-walled carbon nanotubes inhibit regenerative axon growth of dorsal root ganglia neurons of mice. *Neurosci Lett*. 2012; 507 (1): 72–7.
5. Zeinabd H.A., Zarrabian A., Saboury A.A., Alizadeh A.M., Falahatia M. Interaction of single and multi wall carbon nanotubes with the biological systems: tau protein and PC12 cells as targets. *Sci. Rep*. 2016; (6): 26508.
6. Schipper M.L., Nakayama-Ratchford N., Davis C.R., Kam N.W.S., Chu P., Liu Z., et al. A pilot toxicology study of single-walled carbon nanotubes in a small sample of mice. *Nature Nanotechnol*. 2008; 3: 216–21.
7. Tan X.Q., Cheng X.L., Zhang L., Wu B.W., Liu Q.H., Meng J., et al. Multi-Walled Carbon Nanotubes Impair Kv4.2/4.3 Channel Activities, Delay Membrane Repolarization and Induce Bradycardias in the Rat. *PLoS One*. 2014; 9 (7): e101545.
8. Patlolla A.K., Berry A., Tchounwou P.B. Study of hepatotoxicity and oxidative stress in male Swiss-Webster mice exposed to functionalized multi-walled carbon nanotubes. *Mol. Cell. Biochem*. 2011; 358 (0): 189–99.
9. Zhang D., Deng X., Ji Z., Shen X., Dong L., Wu M. et al. Long-term hepatotoxicity of polyethylene-glycol functionalized multi-walled carbon nanotubes in mice. *Nanotechnology*. 2010; 21 (17): 175101.
10. Reddy A.R., Krishna D.R., Reddy Y.N., Himabindu V. Translocation and extra pulmonary toxicities of multi wall carbon nanotubes in rats. *Toxicol. Mech. Methods*. 2010; 20 (5): 267–72.
11. Stapleton P.A., Minarchick V.C., Cumpston A.M., McKinney W., Chen B.T., Sager T.M. et al. Impairment of Coronary Arteriolar Endothelium-Dependent Dilation after Multi-Walled Carbon Nanotube Inhalation: A Time-Course Study. *Int. J. Mol. Sci*. 2012; 13 (11): 13781–803.
12. Park E.J., Roh J., Kim S.N., Kang M.S., Lee B.S., Kim Y. et al. Biological Toxicity and Inflammatory Response of Semi-Single-Walled Carbon Nanotubes. *PLoS One*. 2011; 6 (10): e25892.
13. Vasyukova I.A., Gusev A.A., Ubogov A.Yu., Godymchuk A.Yu. Study of MWNTS Influence upon Liver Histological and Histochemical Parameters in Laboratory Mice: Preliminary Results. *Adv. Mater. Res*. 2015; 1085: 376–83.
14. Kisin E.R., Murray A.R., Keane M.J., Shi X.C., Schwegler-Berry D., Gorelik O. et al. Single-walled carbon nanotubes: geno- and cytotoxic effects in lung fibroblast V79 cells. *J. Toxicol. Environ. Health A*. 2007; 70 (24): 2071–9.
15. Herzog E., Casey A., Lyng F.M., Chambers G., Byrne H.J., Davoren M. A new approach to the toxicity testing of carbon-based nanomaterials—the clonogenic assay. *Toxicol. Lett*. 2007; 174 (1-3): 49–60.
16. Patlolla A., Knighten B., Tchounwou P. Multi-walled carbon nanotubes induce cytotoxicity, genotoxicity and apoptosis in normal human dermal fibroblast cells. *Ethn. Dis*. 2010; 20 (1 Suppl. 1): 65–72.
17. Cveticanin J., Joksic G., Leskovic A., Petrovic S., Sobot A.V., Neskovic O. Using carbon nanotubes to induce micronuclei and double strand breaks of the DNA in human cells. *Nanotechnology*. 2010; 21 (1): 015102.
18. Darne C., Terzetti F., Coulais C., Fontana C., Binet S., Gat L., et al. Cytotoxicity and genotoxicity of panel of single- and multiwalled carbon nanotubes: *in vitro* effects on normal syrian hamster embryo and immortalized V79 hamster lung cells. *J. Toxicol*. 2014; 2014: 872195.
19. Siegrist K.J., Reynolds S.H., Kashon M.L., Lowry D.T., Dong C., Hubbs A.F. et al. Genotoxicity of multi-walled carbon nanotubes at occupationally relevant doses. *Part. Fibre Toxicol*. 2014; 11: 6.
20. Patlolla A.K., Hussain S.M., Schlager J.J., Patlolla S., Tchounwou P.B. Comparative study of the clastogenicity of functionalized and nonfunctionalized multiwalled carbon nanotubes in bone marrow cells of Swiss-Webster mice. *Environ. Toxicol*. 2010; 25 (6): 608–21.
21. Gusev A.A., Fedorova I.A., Tkachev A.G., Godymchuk A.Yu., Kuznetsov D.V., Polyakova I.A. Acute toxic and cytogenetic effects of carbon nanotubes on aquatic organisms and bacteria. *Nanotechnol. Russ*. 2012; 7 (9-10): 509–16.
22. Vasyukova I., Gusev A., Tkachev A. Reproductive toxicity of carbon nanomaterials: a review. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 2015; 98: 012001.
23. Al Moustafa A.E., Mfoumou E., Roman D.E., Nerguizian V., Alazzam A., Stiharu I. et al. Impact of single-walled carbon nanotubes on the embryo: a brief review. *Int. J. Nanomed*. 2016; 11: 349–55.

24. Zhao Z., Liu M., Jia X., Wang H., Liu Z., Zhang J. et al. Toxicity effect of carbon nanotubes. *Nano Life*. 2014; 4 (3): 1441009.
25. Vasyukova I.A., Gusev A.A., Khaliullin T.O., Fatkhutdinova L.M., Ubogov A.Yu. Multi-walled carbon nanotubes and their effect on the male reproductive system. *Nanotekhnologii i okhrana zdorov'ya*. 2014; 6 (1): 10–5. (in Russian)
26. Gusev A.A., Polyakova I.A., Gorsheneva E.B., Tkachev A.G., Emel'yanov A.V., Shutova S.V., et al. Sex differences in the physiological effect of carbon nanostructured materials – promising drug carriers in an experiment on laboratory mice. *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Estestvennye nauki*. 2010; 21 (13): 107–12. (in Russian)
27. Vasyukova I.A., Gribanovskiy S.L., Gusev A.A., Ubogov A.Yu., Khaliullin T.O., Fatkhutdinova L.M., et al. Evaluation of reproductive toxicity and potential environmental effects of population-MWCNTs on rodents. *Rossiyskie nanotekhnologii*. 2015; 10 (5-6): 109–16. (in Russian)
28. Bai Y., Zhang Y., Zhang J., Mu Q., Zhang W., Butch E.R. et al. Repeated administrations of carbon nanotubes in male mice cause reversible testis damage without affecting fertility. *Nanotechnol*. 2010; 5 (9): 683–9.
29. Campagnolo L., Massimiani M., Palmieri G., Bernardini R., Sacchetti C., Bergamaschi A., et al. Biodistribution and toxicity of pegylated single wall carbon nanotubes in pregnant mice. *Part. Fibre Toxicol*. 2013; 10: 21.
30. Philbrook N.A., Walker V.K., Afrooz A.R.M.N., Saleh N.B., Winn L.M. Investigating the effects of functionalized carbon nanotubes on reproduction and development in *Drosophila melanogaster* and CD-1 mice. *Reprod. Toxicol*. 2011; 32 (4): 442–8.
31. Lim J.H., Kim S.H., Lee I.C., Moon C., Kim S.H., Shin D.H. et al. Evaluation of maternal toxicity in rats exposed to multi-wall carbon nanotubes during pregnancy. *Environ. Health Toxicol*. 2011; 26: e2011006.
32. Pietroiusti A., Massimiani M., Fenoglio I., Colonna M., Valentini F., Palleschi G., et al. Low doses of pristine and oxidized single-wall carbon nanotubes affect mammalian embryonic development. *ACS Nano*. 2011; 5 (6): 4624.
33. Pietroiusti A., Campagnolo L., Fadeel B. Interactions of engineered nanoparticles with organs protected by internal biological barriers. *Small*. 2013; 9 (9-10): 1557.
34. Qi W., Bi J., Zhang X., Wang J., Wang J., Liu P., et al. Damaging effects of multi-walled carbon nanotubes on pregnant mice with different pregnancy times. *Sci Rep*. 2014; 4: 4352.
35. Huang X., Zhang F., Sun X., Choi K.Y., Niu G., Zhang G. et al. The genotype-dependent influence of functionalized multiwalled carbon nanotubes on fetal development. *Biomaterials*. 2014; 35 (2): 856–65.
36. Fujitani T., Ohyama K., Hirose A., Nishimura T., Nakae D., Ogata A. Teratogenicity of multi-wall carbon nanotube (MWCNT) in ICR mice. *J. Toxicol. Sci*. 2012; 37 (1): 81–9.
37. Aldobaev V.N., Eremenko L.A., Mazanova A.A., Biketova D.Kh., Kovaleva E.V., Kvacheva L.D. et al. The study of the distribution and assessment of the main pharmacokinetic parameters of the truncated oxidized single-walled nanotubes in the body Young outbred rats admission with their mother's milk during breastfeeding. *Toksikologicheskii vestnik*. 2013; 2 (119): 26–30. (in Russian)
38. Qi W., Bi J., Zhang X., Wang J., Wang J., Liu P. et al. Damaging effects of multi-walled carbon nanotubes on pregnant mice with different pregnancy times. *Sci. Rep*. 2014; 4: 4352.
39. Vidanapathirana A.K., Thompson L.C., Odum J., Holland N.A., Sumner S.J., Fennell T.R. et al. Vascular tissue contractility changes following late gestational exposure to multi-walled carbon nanotubes or their dispersing vehicle in Sprague Dawley rats. *J. Nanomed. Nanotechnol*. 2014; 5 (3): 201.
40. Hougaard K., Jackson P., Kyjovska Z., Birkedal R., De Temmerman P., Brunelli A. et al. Effects of lung exposure to carbon nanotubes on female fertility and pregnancy. A study in mice. *Reprod. Toxicol*. 2013; 41: 86–97.
41. Hougaard K., Jackson P., Jensen K., Saber A., Vogel U., Wallin H. Carbon nanotubes: effects on gestation and reproduction. *Reprod. Toxicol*. 2010; 30 (2): 239.
42. Ivani S., Karimi I., Tabatabaei S., Reza S.J. Biosafety of multiwalled carbon nanotube in mice: a behavioral toxicological approach. *Toxicol. Sci*. 2012; 37 (6): 1191.
43. Lim J., Kim S., Shin I., Park N., Moon C., Kang S. et al. Maternal exposure to multi-wall carbon nanotubes does not induce embryo-fetal developmental toxicity in rats. *Birth Defects. Res. B. Dev. Reprod. Toxicol*. 2011; 92 (1): 69–76.
44. Mitchell L.A., Lauer F.T., Burchiel S.W., McDonald J.D. Mechanisms for how inhaled multiwalled carbon nanotubes suppress systemic immune function in mice. *Nat. Nanotechnol*. 2009; 4 (7): 451–6.
45. Inoue K., Koike E., Yanagisawa R., Hirano S., Nishikawa M., Takano H. Effects of multi-walled carbon nanotubes on a murine allergic airway inflammation model. *Toxicol. Appl. Pharmacol*. 2009; 237 (3): 306–16.
46. Li J., Li L., Chen H., Chang Q., Liu X., Wu Y. et al. Application of vitamin E to antagonize SWCNTs-induced exacerbation of allergic asthma. *Sci. Rep*. 2014; 4: 4275.
47. Rydman E.M., Ilves M., Koivisto A.J., Kinaret P.A.S., Fortino V., Savinko T.S. et al. Inhalation of rod-like carbon nanotubes causes unconventional allergic airway inflammation. *Part. Fibre Toxicol*. 2014; 11: 48.
48. Katwa P., Wang X., Urankar R.N., Podila R., Hilderbrand S.C., Fick R.B. et al. A carbon nanotube toxicity paradigm driven by mast cells and the IL-33/ST2 axis. *Small*. 2012; 8 (18): 2904–12.
49. Beamer C.A., Girtsman T.A., Seaver B.P., Finsaas K.J., Migliaccio C.T., Perry V.K. et al. IL-33 mediates multi-walled carbon nanotube (MWCNT)-induced airway hyper-reactivity via the mobilization of innate helper cells in the lung. *Nanotoxicology*. 2013; 7 (6): 1070–81.
50. Shipkowski K.A., Taylor A.J., Thompson E.A., Glista-Baker E.E., Sayers B.C., Messenger Z.J. et al. An Allergic Lung Microenvironment Suppresses Carbon Nanotube-Induced Inflammation Activation via STAT6-Dependent Inhibition of Caspase-1. *PLoS One*. 2015; 10 (6): e0128888.
51. Sanchez V.C., Weston P., Yan A., Hurt R.H., Kane A.B. A 3-dimensional in vitro model of epithelioid granulomas induced by high aspect ratio nanomaterials. *Part. Fibre Toxicol*. 2011; 8: 17.
52. Wang L., Stueckle T.A., Mishra A., Derk R., Meighan T., Castranova V. et al. Neoplastic-like transformation effect of single-walled and multi-walled carbon nanotubes compared to asbestos on human lung small airway epithelial cells. *Nanotoxicology*. 2014; 8 (5): 485–507.
53. Luanpitpong S., Wang L., Stueckle T.A., Tse W., Chen Y.C., Rojanasakul Y. Caveolin-1 regulates lung cancer stem-like cell induction and p53 inactivation in carbon nanotube-driven tumorigenesis. *Oncotarget*. 2014; 5 (11): 3541–54.
54. Luanpitpong S., Wang L., Castranova V., Rojanasakul Y. Induction of stem-like cells with malignant properties by chronic exposure of human lung epithelial cells to single-walled carbon nanotubes. *Part. Fibre Toxicol*. 2014; 11: 22.
55. Chen D., Stueckle T.A., Luanpitpong S., Rojanasakul Y., Lu Y., Wang L. Gene expression profile of human lung epithelial cells chronically exposed to single-walled carbon nanotubes. *Nanoscale Res. Lett*. 2015; 10: 12.
56. Lohcharenkal W., Wang L., Stueckle T.A., Park J., Tse W., Dinu C.Z. et al. Role of H-Ras/ERK signaling in carbon nanotube-induced neoplastic-like transformation of human mesothelial cells. *Front. Physiol*. 2014; 5: 222.
57. Lohcharenkal W., Wang L., Stueckle T.A., Dinu C.Z., Castranova V., Liu Y. et al. Chronic exposure to carbon nanotubes induces invasion of human mesothelial cells through matrix metalloproteinase-2. *ACS Nano*. 2013; 7 (9): 7711–23.
58. Arnoldussen Y.J., Anmarkrud K.H., Skaug V., Apte R.N., Haugen A., Zienoldiny S. Effects of carbon nanotubes on intercellular communication and involvement of IL-1 genes. *J. Cell. Commun. Signal*. 2016; 10 (2): 153–62.
59. Hiraku Y., Guo F., Ma N., Yamada T., Wang S., Kawanishi S. et al. Multi-walled carbon nanotube induces nitrate DNA damage in human lung epithelial cells via HMGB1-RAGE interaction and Toll-like receptor 9 activation. *Part. Fibre Toxicol*. 2015; 13: 16.
60. Rittinghausen S., Hackbarth A., Creutzenberg O., Ernst H., Heinrich U., Leonhardt A. et al. The carcinogenic effect of various multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) after intraperitoneal injection in rats. *Part. Fibre Toxicol*. 2014; 11: 59.
61. Takagi A., Hirose A., Futakuchi M., Tsuda H., Kanno J. Dose-dependent mesothelioma induction by intraperitoneal administration of multi-wall carbon nanotubes in p53 heterozygous mice. *Cancer Sci*. 2012; 103 (8): 1440–4.
62. Shvedova A.A., Kisin E.R., Yanamala N., Tkach A.V., Gutkin D.W., Star A. et al. MDSC and TGF- β are required for facilitation of tumor growth in the lungs of mice exposed to carbon nanotubes. *Cancer Res*. 2015; 75 (8): 1615–23.
63. Sargent L.M., Porter D.W., Staska L.M., Hubbs A.F., Lowry D.T., Battelli L. et al. Promotion of lung adenocarcinoma following inhalation exposure to multi-walled carbon nanotubes. *Part. Fibre Toxicol*. 2014; 11: 3.
64. Hartmann N.B., Baun A. The nano cocktail: ecotoxicological effects of engineered nanoparticles in chemical mixtures. *Integr. Environ. Assess. Manag*. 2010; 6 (2): 311–3.
65. Hofmann T., von der Kammer F. Estimating the relevance of engineered carbonaceous nanoparticle facilitated transport of hydrophobic organic contaminants in porous media. *Environ. Pollut*. 2009; 157 (4): 1117–26.
66. Cui X.Y., Jia F., Chen Y.X., Gan J. Influence of single-walled carbon nanotubes on microbial availability of phenanthrene in sediment. *Ecotoxicology*. 2011; 20 (6): 1277–85.
67. Ferguson P.L., Chandler G.T., Templeton R.C., Demarco A., Scrivens W.A., Englehart B.A. Influence of sediment-amendment with single-walled carbon nanotubes and diesel shoot on bioaccumulation of hydrophobic organic contaminants by benthic invertebrates. *Environ. Sci. Technol*. 2008; 42 (10): 3879.
68. Wang F., Zhu D., Chen W. Effect of copper ion on adsorption of chlorinated phenols and 1-naphthylamine to surface-modified carbon nanotubes. *Environ. Toxicol. Chem*. 2012; 31 (1): 100–7.
69. Wang W., Jiang C., Zhu L., Liang N., Liu X., Jia J. et al. Adsorption of Bisphenol A to a Carbon Nanotube Reduced Its Endocrine Disrupting Effect in Mice Male Offspring. *Int. J. Mol. Sci*. 2014; 15 (9): 15981–93.
70. Han S.G., Andrews R., Gairola C.G., Bhalla D.K. Acute pulmonary effects of combined exposure to carbon nanotubes and ozone in mice. *Inhal. Toxicol*. 2008; 20 (4): 391–8.
71. Wei Q., Juanjuan B., Longlong T., Zhan L., Peng L., Wangsuo W. The Effect of Multiwalled Carbon Nanotubes on Hepatotoxicity of Cd²⁺ in

- Accumulated Cadmium-Metallothione in Mice. *Biomed. Res. Int.* 2014; 2014: 463161.
72. Vecitis C.D., Zodrow K.R., Kang S., Elimelech M. Electronic-structure dependent bacterial cytotoxicity of single-walled carbon nanotubes. *ACS Nano.* 2010; 4 (9): 5471–9.
 73. Kang S., Mauter M.S., Elimelech M. Microbial cytotoxicity of carbon-based nanomaterials: implications for river water and wastewater effluent. *Environ. Sci. Technol.* 2009; 43 (7): 2648–53.
 74. Kang S., Herzberg M., Rodrigues D.F., Elimelech M. Antibacterial effects of carbon nanotubes: Size does matter. *Langmuir.* 2008; 24: 6409–13.
 75. Shvedova A.A., Fabisak J.P., Kisin E.R., Murray A.R., Roberts J.R., Tyurina Y.Y. et al. Sequential exposure to carbon nanotubes and bacteria enhances pulmonary inflammation and infectivity. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2008; 38 (5): 579–90.
 76. ISO/TS 11888:2011. Nanotechnologies. Characterization of multiwall carbon nanotubes Mesoscopic shape factors. London; 2011.
 77. Keren S., Zavaleta C., Cheng Z., de la Zerda A., Gheysens O., Gambhir S.S. Noninvasive molecular imaging of small living subjects using Raman spectroscopy. *PNAS.* 2008; 105 (15): 5844–9.
 78. Gendrikson O.D., Safenkova I.V., Zherdev A.V., Dzantiev B.B., Popov V.O. Methods for detection and identification of man-made nanoparticles. *Biofizika.* 2011; 56 (6): 965–94. (in Russian)
 79. Gmshinski I.V., Khotimchenko S.A., Popov V.O., Dzantiev B.B., Zherdev A.V., Demin V.F., Buzulukov Yu.P. Nanomaterials and nanotechnologies: methods of analysis and control. *Uspekhi khimii.* 2013; 82 (1): 48–76. (in Russian)
 80. Jackson P., Jacobsen N.R., Baun A., Birkedal R., Kühnel D., Jensen K.A., et al. Bioaccumulation and ecotoxicity of carbon nanotubes. *Chem. Central J.* 2013; 7: 154.
 81. Mueller N.C., Nowack B. Exposure modeling of engineered nanoparticles in the environment. *Environ. Sci. Technol.* 2008; 42 (12): 4447–53.
 82. Gottschalk F., Sun T., Nowack B. Environmental concentrations of engineered nanomaterials: review of modeling and analytical studies. *Environ. Pollut.* 2013; 181: 287–300.
 83. Sobek A., Bucheli T.D. Testing the resistance of single- and multi-walled carbon nanotubes to chemothermal oxidation used to isolate soots from environmental samples. *Environ. Pollut.* 2009; 157 (4): 1065–71.
 84. Koehler A.R., Som C., Helland A., Gottschalk F. Studying the potential release of carbon nanotubes throughout the application life cycle. *J. Clean. Prod.* 2005; 16 (8-9): 927–37.
 85. Kotchey G.P., Hasan S.A., Kapralov A.A., Ha S.H., Kim K., Shvedova A.A. et al. A Natural Vanishing Act: The Enzyme-Catalyzed Degradation of Carbon Nanomaterials. *Acc. Chem. Res.* 2012; 45 (10): 1770–81.
 86. De Volder M.F., Tawfik S.H., Baughman R.H., Hart A.J. Carbon nanotubes: present and future commercial applications. *Science.* 2013; 339 (6119): 535–9.
 87. Baron P.A., Deye G.J., Chen B.T., Schwegler-Berry D.E., Shvedova A.A., Castranova V. Aerosolization of single-walled carbon nanotubes for an inhalation study. *Inhal. Toxicol.* 2008; 20 (8): 751–60.
 88. Maynard A.D., Baron P.A., Foley M., Shvedova A.A., Kisin E.R., Castranova V. Exposure to carbon nanotube material: aerosol release during the handling of unrefined single-walled carbon nanotube material. *J. Toxicol. Environ. Health A.* 2004; 67 (1): 87–107.
 89. NIOSH: Occupational exposure to carbon nanotubes and nanofibers. *Curr. Intell. Bull.* 2013; 65: 1–153.
 90. Khaliullin T.O., Kisin E.R., Zalyalov R.R., Shvedova A.A., Fatkhutdinova L.M. Biological effects of multi-walled carbon nanotubes in pulmonary exposure in vivo. *Toksikologicheskii vestnik.* 2013; (4): 17–21. (in Russian)
 91. Fatkhutdinova L.M., Khaliullin T.O., Shvedova A.A. Carbon Nanotubes Exposure Risk Assessment: From Toxicology to Epidemiologic Studies (Overview of the Current Problem). *Nanotechnol. Russ.* 2015; 10(5): 501–9.
 92. Exposure Assessment and Epidemiological Study of U.S. Workers Exposed to Carbon Nanotubes and Carbon Nanofibers (2012). Available at: <http://www.gpo.gov/fdsys/pkg/FR-2012-09-20/pdf/2012-23194.pdf>
 93. Dahm M.M., Evans D.E., Schubauer-Berigan M.K., Birch M.E., Daddens J.A. Occupational exposure assessment in carbon nanotube and nanofiber primary and secondary manufacturers: mobile direct-reading sampling. *Ann. Occup. Hyg.* 2013; 57 (3): 328–44.
 94. Erdely A., Dahm M., Chen B.T., Zeidler-Erdely P.C., Fernback J.E., Birch M.E. et al. Carbon nanotube dosimetry: from workplace exposure assessment to inhalation toxicology. *Part. Fibre Toxicol.* 2013; 10: 53.
 95. Vermeulen R., Pronk A., Vlaanderen J., Hosgood D., Rothman N., Hildesheim A. et al. O282 a cross-sectional study of markers of early immunological and cardiovascular health effects among a population exposed to carbon nanotubes: the CANTES study. *Occup. Environ. Med.* 2014; 71 (Suppl. A): A35.
 96. Khaliullin T.O., Zalyalov R.R., Shvedova A.A., Tkachev A.G., Fatkhutdinova L.M. Hygienic evaluation of the production of multi-layer carbon nanotubes. *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya.* 2015; (7): 37–41. (in Russian)
 97. Fatkhutdinova L.M., Khaliullin T.O., Vasil'eva O.L., Zalyalov R.R., Valeeva I.Kh., Mustafin I.G. et al. A pilot cross-sectional study to assess the potential risk of fibrogenic under real exposure to the aerosol multi-walled carbon nanotubes in the workplace. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal.* 2013; 94 (5): 770–4. (in Russian)
 98. Fatkhutdinova L.M., Khaliullin T.O., Zalyalov R.R., Tkachev A.G., Birch M.E., Shvedova A.A. Assessment of Airborne Multiwalled Carbon Nanotubes in a Manufacturing Environment. *Nanotechnol. Russ.* 2016; 11 (1-2): 110–6.
 99. Manke A., Luanpitpong S., Rojanasakul Y. Potential Occupational Risks Associated with Pulmonary Toxicity of Carbon Nanotubes. *Occup. Med. Health Aff.* 2014; 2: 1000165.
 100. Lee J.H., Ahn K.H., Kim S.M., Kim E., Lee G.H., Han J.H. et al. Three-Day Continuous Exposure Monitoring of CNT Manufacturing Workplaces. *Biomed. Res. Int.* 2015; 2015: 237140
 101. Hirth S., Cena L., Cox G., Tomović Z., Peters T., Wohlleben W. Scenarios and methods that induce protruding or released CNTs after degradation of nanocomposite materials. *J. Nanopart. Res.* 2013; 15 (4): 1504.
 102. Froggett S.J., Clancy S.F., Boverhof D.R., Canady R.A. A review and perspective of existing research on the release of nanomaterials from solid nanocomposites. *Part. Fibre Toxicol.* 2014; 11: 17.
 103. Amini S.M., Gilaki M., Karchan M. Safety of Nanotechnology in Food Industries. *Electron. Physician.* 2014; 6 (4): 962–8.
 104. Kavoosi G., Dadfar S.M., Dadfar S.M., Ahmadi F., Niakosari M. Investigation of gelatin/multi-walled carbon nanotube nanocomposite films as packaging materials. *Food Sci. Nutr.* 2014; 2 (1): 65–73.
 105. Gottschalk F., Sonderer T., Scholz R.W., Nowack B. Modeled environmental concentrations of engineered nanomaterials (TiO₂, ZnO, Ag, CNT, Fullerenes) for different regions. *Environ. Sci. Technol.* 2009; 43 (24): 9216–22.
 106. Upadhyayula V.K.K., Meyer D.E., Curran M.A., Gonzalez M.A. Life cycle assessment as a tool to enhance the environmental performance of carbon nanotube products: a review. *J. Clean. Prod.* 2012; 26: 37–47.
 107. Kah M., Zhang X., Jonker M.T., Hofmann T. Measuring and modeling adsorption of PAHs to carbon nanotubes over a six order of magnitude wide concentration range. *Environ. Sci. Technol.* 2011; 45 (14): 6011–7.
 108. Shen M., Xia X., Wang F., Zhang P., Zhao X. Influences of multiwalled carbon nanotubes and plant residue chars on bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons by Chironomus plumosus larvae in sediment. *Environ. Toxicol. Chem.* 2012; 31 (1): 202–9.
 109. Smirnova E.A., Gusev A.A., Zaytseva O.N., Lazareva E.M., Onishchenko G.E., Kuznetsova E.V., et al. Carbon nanotubes penetrate into tissues and cells and have a stimulating effect on seedlings sainfoin *Onobrychis arenaria* (Kit). *Acta Naturae.* 2011; 3 (1): 106–13. (in Russian)
 110. Mukherjee A., Majumdar S., Servin A.D., Pagano L., Dhankher O.P., White J.C. Carbon Nanomaterials in Agriculture: A Critical Review. *Front. Plant Sci.* 2016; 7: 172.
 111. Sekhon B.S. Nanotechnology in agri-food production: an overview. *Nanotechnol. Sci. Appl.* 2014; 7: 31–53.
 112. Smirnova E.A., Gusev A.A., Zaytseva O., Sheina O., Tkachev A., Kuznetsova E. et al. Uptake and accumulation of multiwalled carbon nanotubes change the morphometric and biochemical characteristics of *Onobrychis arenaria* seedlings. *Front. Chem. Sci. Eng.* 2012; 6 (2): 132–8.
 113. Miralles P., Johnson E., Church T.L., Harris A.T. Multiwalled carbon nanotubes in alfalfa and wheat: toxicology and uptake. *J.R. Soc. Interface.* 2012; 9 (77): 3514–27.
 114. Martínez-Ballesta M.C., Zapata L., Chalbi N., Carvajal M. Multiwalled carbon nanotubes enter broccoli cells enhancing growth and water uptake of plants exposed to salinity. *J. Nanobiotechnology.* 2016; 14: 42.
 115. Murr L.E., Esquivel E.V., Bang J.J., de la R.G., Gardea-Torresdey J.L. Chemistry and nanoparticle compositions of a 10,000 year-old ice core melt water. *Water Res.* 2004; 38 (19): 4282–96.
 116. Murr L.E., Soto K.F., Garza K.M., Guerrero P.A., Martinez F., Esquivel E.V. et al. Combustion-generated nanoparticulates in the El Paso, TX, USA / Juarez, Mexico Metroplex: their comparative characterization and potential for adverse health effects. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2006; 3 (1): 48–66.
 117. Bang J.J., Guerrero P.A., Lopez D.A., Murr L.E., Esquivel E.V. Carbon nanotubes and other fullerene nanocrystals in domestic propane and natural gas combustion streams. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2004; 4 (7): 716–8.
 118. Kolosnjaj-Tabi J., Just J., Hartman K.B., Laoudi Y., Boudjemaa S., Alloyeau D. et al. Anthropogenic Carbon Nanotubes Found in the Airways of Parisian Children. *EBio Medicine.* 2015; 2 (11): 1697–704.
 119. Barna B.P., Judson M.A., Thomassen M.J. Carbon Nanotubes and Chronic Granulomatous Disease. *Nanomaterials (Basel).* 2014; 4 (2): 508–21.
 120. Gangwal S., Brown J.S., Wang A., Houck K.A., Dix D.J., Kavlock R.J. et al. Informing selection of nanomaterial concentrations for toxicant in vitro testing based on occupational exposure potential. *Environ. Health Perspect.* 2011; 119 (11): 1539–46.
 121. Kuhlbusch T.A., Asbach C., Fissan H., Göhler D., Stintz M. Nanoparticle exposure at nanotechnology workplaces: A review. *Part. Fibre Toxicol.* 2011; 8: 22.
 122. Nakanishi J., Morimoto Y., Ogura I., Kobayashi N., Naya M., Ema M. et al. Risk Assessment of the Carbon Nanotube Group. *Risk Anal.* 2015; 35 (10): 1940–56.
 123. Castranova V., Schulte P.A., Zumwalde R.D. Occupational Nanosafety Considerations for Carbon Nanotubes and Carbon Nanofibers. *Acc. Chem. Res.* 2013; 46 (3): 642–9.