

УДК 615.9:614.7

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ДАННЫЕ И МЕТОДИЧЕСКИЕ СООБРАЖЕНИЯ К ОБОСНОВАНИЮ ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ЖЕЛЕЗООКСИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ В ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ

М.П. Сутункова

ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, г. Екатеринбург, Российская Федерация

Взвешенные в воздухе наночастицы (НЧ) оксида железа Fe_2O_3 со средним диаметром 14 ± 4 нм, полученные при искрении стержней железа 99,9 % чистоты, подавались в экспозиционную установку типа «только нос» в течение 4 часов, 5 раз в неделю на протяжении до 10 месяцев при средней концентрации $1,14 \pm 0,01$ мг/м³. Мы нашли очень низкое накопление Fe_2O_3 -НЧ в лёгочной ткани, постепенно нарастающее со временем. Судя по практически нормальной гистологической картине лёгких и лёгочно-ассоциированных лимфоузлов и по низкому содержанию оксипролина в лёгких, интенсивность развивающегося пневмокозиоза не существенна. Функциональные и биохимические показатели состояния организма в большинстве своём остаются нормальными, но некоторые из них заставляют рассматривать испытанную концентрацию НЧ в качестве пороговой по хронической системной токсичности. В соответствии с общими принципами установления ПДК для воздуха рабочей зоны, мы считаем обоснованным предложение концентрации, равной $0,4$ мг/м³ в качестве ПДК для железоксидных НЧ.

Ключевые слова: наночастицы, растворимость, токсикокинетика.

Введение. Наночастицы (НЧ) оксидов железа (НЧОЖ) Fe_3O_4 и γ - Fe_2O_3 находят широкое диагностическое и терапевтическое применение в медицине в связи с особыми физическими (в частности, магнитными) свойствами и широко рекламируемой поставщиками «биосовместимостью» и даже «нетоксичностью», которая, однако, не подтверждается экспериментальными данными [1, 2, 3, 4, 5].

Оценка токсичности Fe_2O_3 -НЧ имеет важное значение ещё и потому, что они составляют, наряду с другими химическими формами железа и других металлов, большую или меньшую (в зависимости от ряда технологических параметров) пропорцию в составе аэрозолей конденсации, образующихся при электродуговой и газовой сварке и резке [6, 7, 8]. Между тем, информационный поиск не выявил ни одной публикации, по экспериментальной оценке, токсичности НЧОЖ при ингаляционной экспозиции. Наше собственное предложение установить для Fe_3O_4 -НЧ в воздухе рабочих помещений величину ОБУВ, равную $0,4$ мг/м³,

было обосновано результатами интратрахеального и субхронического парентерального экспериментов, доказавших существенно более высокую токсичность этих НЧ по сравнению с микрометровыми частицами Fe_3O_4 [9]. На этом основании был использован принятый в ряде стран принцип снижения примерно на 1-2 порядка величин тех национальных нормативов допустимой экспозиции, которые установлены для микрометрового аналога конкретных металлосодержащих НЧ.

Хронический ингаляционный эксперимент с Fe_2O_3 -НЧ был проведен нами впервые, однако, в опубликованной в 2016 г. статье рассмотрены прежде всего экспериментальные результаты и их математическое моделирование, относящиеся к кинетике задержки этих НЧ в лёгочной ткани, а не данные, характеризующие патологические изменения в организме [10]. Вместе с тем, анализ этих изменений, который приводится в настоящей статье, позволил расценить использованную в эксперименте концентрацию Fe_2O_3 -НЧ как пороговую

и тем самым подойти к обоснованию величины ПДК для НЧОЖ в воздухе рабочей зоны.

Материалы и методы исследования. Витяющие НЧ, полученные с помощью искрового разряда между стержнями 99,99 % химически чистого железа в атмосфере азота (генератор наночастиц Palas DNP-3000), окислялись в воздушном потоке и подавались в автоматически управляемую многоярусную ингаляционную установку «башню» типа «только нос» (фирмы CN Technologies, USA) на 60 крыс. Аналогичная «башня», снабжаемая чистым воздухом от того же компрессора, использовалась для параллельно проводимой псевдо-экспозиции (sham exposure) контрольных крыс как показано на рисунке 1, при сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) поликарбонатных фильтров (на которые ежедневно отбирались пробы воздуха из точек присоединения пеналов для крыс) обнаруживаются сферические НЧ либо единичные, либо в структуре небольших агрегатов. Те компактные агрегаты, в которых измерить каждую НЧ затруднительно, измерялись и учитывались в целом как одна частица, но и при таком подходе распределение частиц по размерам оказалось довольно узким и укладывалось в нанометровый диапазон при среднем ($\pm\sigma$) диаметре 14 ± 4 нм. При Рамановской спектроскопии (рис. 1) химический состав этих НЧ был идентифицирован как Fe_2O_3 .

Была исследована также растворимость оксида железа Fe_2O_3 , собранного на выходном микропористом PSI фильтре (Performance Systematic, Inc. – USA) из воздуха, отсасываемого от ингаляционной установки. Су-

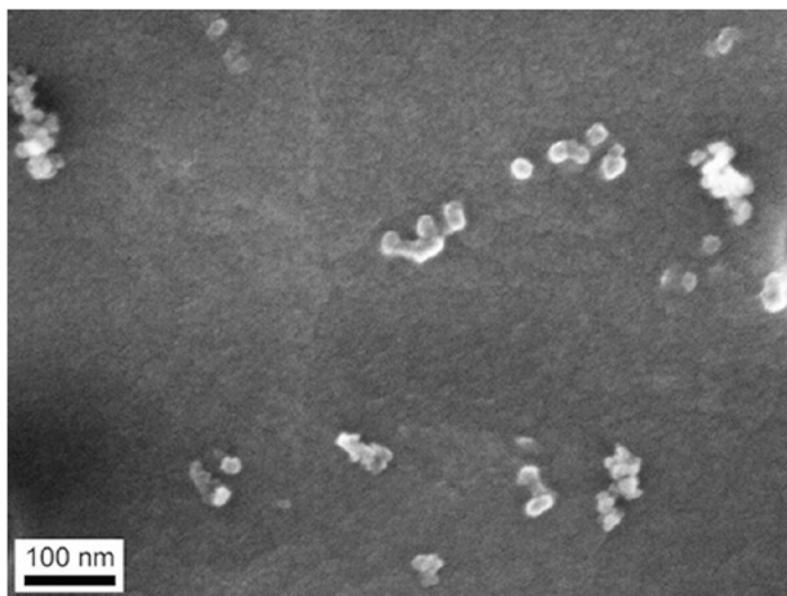


Рис. 1. СЭМ-образы частиц, отобранных на поликарбонатный фильтр из воздуха в точке дыхания крысы

дя по кинетике снижения периодически измеряемого ЭПР сигнала, соответствующего иону Fe^{2+} (с помощью Bruker EMXplus EPR Spectrometer, USA при температуре ~ 177 К), Fe_2O_3 -НЧ практически не растворимы ни в деионизированной воде, ни в изотоническом растворе NaCl, но постепенно растворяются в испытанных биологических средах: центрифугированной жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛЖ) не экспонированных крыс и стерильной бычьей сыворотке [10]. Кинетика растворения в БАЛЖ аппроксимируется экспоненциальной функцией с коэффициентом скорости растворения $k=32$ нед⁻¹, а в сыворотке – двумя экспоненциальными функциями с $k_1=118$ нед⁻¹ и с $k_2=4,9$ нед⁻¹.

Для сравнительного изучения реакции лёгких на разовое интратрахеальное введение Fe_2O_3 -НЧ в сравнении с реакцией на такое же введение равной дозы стандартного кварца DQ12 (ФРГ), имеющего частицы <5 мкм, была получена (методом лазерной абляции того же химически чистого железа в стерильной деионизированной воде) суспензия сферических Fe_2O_3 -НЧ со средним диаметром $17,1\pm 3,9$ нм.

Токсикологические эксперименты были проведены на аутбредных белых крысах-самках собственного разведения с исходной массой тела $193,8\pm 1,8$ г в экспонированной и $193,9\pm 1,2$ г в контрольной группе (начальный возраст около 3 мес.), содержащихся в отдельном виварии при температуре воздуха 20-22 °С, относительной влажности 50-60 % и естественном световом режиме и получавших стандартный сбалансированный корм и чистую бутилированную воду. После 2-недельной тренировки, необходимой для того, чтобы крыса занимала и сохраняла правильное положение в «пенале» установки «только нос», были начаты экспозиции продолжительностью 4 часа в день, 5 раз в неделю.

Крысы были выведены из эксперимента равными группами (по 20 особей в опыте и в контроле) после 3, 6 и 10 месяцев такого воздействия. Средние ($\pm s_x$) концентрации за соответствующие периоды экспозиции составили $1,00\pm 0,12$; $1,09\pm 0,10$ и $1,14\pm 0,02$ мг/м³.

В каждый указанный срок экспозиции определялись: масса тела и внутренних органов; диурез; общая клеточность (меланжерным способом) и клеточный состав (при оптической микроскопии мазка осадка, полученного при центрифугировании) БАЛЖ с полуконтактной атомно-си-

ловой микроскопией поверхности клеток; содержание Fe_2O_3 в лёгочной ткани по спектру электронного парамагнитно резонанса (ЭПР) с помощью Bruker EMX plus EPR Spectrometer (USA) (кроме того, в сроки 6 мес. и 10 мес. задержка Fe_2O_3 -НЧ в лёгких и головном мозгу визуализировалась с помощью электронного микроскопа AURIGA («Carl Zeiss; MT», Германия) в режиме STEM при увеличении в диапазоне 1200-200000; гематологические показатели – содержание гемоглобина, число эритроцитов, ретикулоцитов, лейкоцитов, тромбоцитов (с помощью автоматического анализатора крови MYTHIC-18), формула крови; биохимические показатели крови (общий белок, альбумин, глобулины, глюкоза, креатинин, мочевины, мочевого кислоты, церулоплазмин, восстановленный глутатион; железо, железосвязывающая сила сыворотки, активность аминотрансфераз, щелочной фосфатазы, амилазы, гамма-глутамилтранспептидазы, каталазы сыворотки; активность сукцинатдегидрогеназы в лимфоцитах; в моче: МДА, дельта-АЛК, копропорфирин, креатинин, мочевины; в костном мозге: число микроядер в полихроматофильных эритроцитах. После 10-ти месячной экспозиции было проведено гистологическое исследование лёгких, трахеобронхиальных лимфоузлов, печени, селезёнки, почек, головного мозга, а после 3-х и 10-ти месячной экспозиций – определение содержания оксипролина в лёгких.

Результаты и их обсуждение. Использованные в эксперименте концентрации Fe_2O_3 -НЧ, близкие к 1 мг/м^3 , в 2,5 раза выше ранее предложенной для Fe_3O_4 величины ОБУВ в воздухе рабочей зоны, равной $0,4 \text{ мг/м}^3$ [9]. Однако 4-х часовая разовая ингаляционная экспозиция, принятая в России для проведения хронических ингаляционных экспериментов в целях обоснования ПДК вредных веществ в воздухе рабочей зоны (см. «Методические указания к постановке исследований для обоснования санитарных стандартов вредных веществ в воздухе рабочей зоны», утверждённые Главным государственным санитарным врачом СССР 4 апреля 1980 г. N 2163-80»), напротив, в 2 раза короче обычной рабочей смены.

Таким образом, наш эксперимент может служить проверкой прогностической нами же безопасности указанного ОБУВ. Следует иметь в виду, что обоснование ОБУВ для Fe_3O_4 предлагало введение понижающего коэффициента в ПДКр.з. и соответствующие национальные нормативы других стран, установленные не для Fe_3O_4 , а именно для Fe_2O_3 . Такой подход был оправдан тем, что существенных различий токсичности разных оксидов железа нет, и не случайно Объединённый Комитет экспертов по пищевым добавкам (Joint Expert Committee on Food Additives) Всемирной организации здравоохранения и Организации ООН по пище и сельскому хозяйству принял для Fe_3O_4 и для Fe_2O_3 одну и ту же величину допустимого ежедневного потребления.

Таблица 1

Клеточность жидкости, полученной у крыс при бронхоальвеолярном лаваже (БАЛЖ), $\times \pm s_x$

Воздействие	Число клеток $\times 10^6$			НЛ/АМ
	Все	Альвеолярные макрофаги (АМ)	Нейтрофильные лейкоциты (НЛ)	
24 часа после завершающей экспозиции 3-месячного ингаляционного периода ¹				
Fe2O3- НЧ	2,45±0,33*	1,96±0,28	0,46±0,08*	0,25±0,02*
Контрольная камера	1,47±0,23	1,35±0,21	0,11±0,03	0,08±0,02
24 часа после интратрахеального введения (0,3 мг в 1 мл)				
Fe2O3-НЧ	3,59±0,24**	2,69±0,24	0,84 ±0,09**	0,35±0,06*
Кварц DQ12	5,22±0,32*	3,09±0,24*	2,09±0,41*	0,85±0,28*
Вода (контроль)	2,16±0,26	2,04±0,24	0,12±0,03	0,05±0,01

¹ аналогичные результаты получены после 6 и 10 месяцев ингаляций.

Примечание: * – статистически значимое ($p < 0,05$) отличие от контрольного показателя; ** – то же от показателя при действии кварца DQ12.

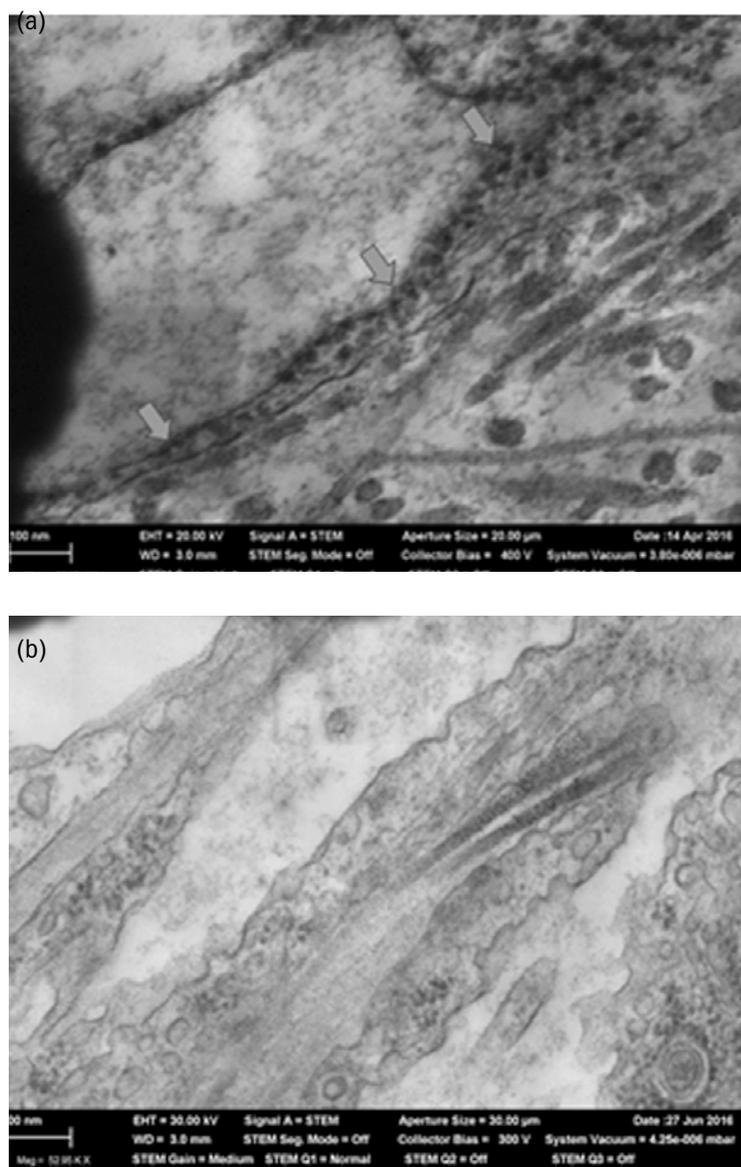


Рис. 2. Альвеолоциты типа I (указаны стрелками) в лёгких крыс (а) после 6 мес. экспозиции (увеличение *95 370) и (б) соответствующей контрольной группы (увеличение *52950). НЧ различимы только в случае (а)

ния (Acceptable Daily Intake) железа. Отметим также, что максимальная продолжительность нашего хронического эксперимента (10 мес.) в 2,5 раза больше той 4-х месячной, которая регламентируется вышеуказанными методическими указаниями, что даёт существенный запас надёжности рассматриваемой проверки.

Факт задержки исследованных НЧ в лёгких подтверждается электронной микроскопией (рис 2).

Однако по данным ЭПР-спектроскопии количественно оцениваемое накопление Fe₂O₃-НЧ в лёгких составило всего 13,5±4,3 мкг за 3 мес., 11,5±6,5 мкг за 6 мес. и 34,6±16,7 мкг за 10 месяцев ингаляционной экспозиции. Эти

величины во много раз ниже, чем было получено в сопоставимом по дизайну эксперименте немецких авторов, в котором крысы подвергались хроническому ингаляционному воздействию высоко фиброгенной стандартной кварцевой пыли DQ12 при той же средней концентрации ~1 мг/м³ [11]. В этом случае накопление кварца в лёгких составило, например, за 3 и 6 мес. 207 мкг и 550 мкг, соответственно.

Столь низкая задержка наночастиц не может быть объяснена ни низким первичным отложением их в глубоких дыхательных путях при дыхании (которое судя по имеющимся в литературе моделям этого отложения) может быть принято как равное приблизительно 52 % от массы ингалированных частиц), ни более высокой активностью фагоцитарнообусловленного пульмонарного клиренса, поскольку наши данные, представленные в таблице 1, свидетельствуют о том, что активность этого механизма скорее несколько выше в случае действия DQ12 [12]. К тому же, судя по отношению числа нейтрофильных лейкоцитов к числу альвеолярных макрофагов (НЛ/АМ) в БАЛЖ, испытанные Fe₂O₃-НЧ менее цитотоксичны, чем кварцевые, и, следовательно, фагоцитарный механизм самоочищения лёгких повреждается ими в меньшей степени.

Поэтому наиболее вероятной причиной столь низкой хронической задержки рассматриваемых НЧ является их относительно быстрое растворение в жидкой выстилке пульмонарной области, которое экспериментально моделируется кинетикой растворения в супернатанте БАЛЖ.

Действительно, только включив в ранне разработанную многокамерную модель кинетики лёгочной задержки практически нерастворимых цитотоксичных частиц (в том числе, по данным эксперимента с кварцем DQ12), которая учитывала только физиологические механизмы, её контролирующие, дополнительные элиминационные потоки, обусловленные растворением Fe₂O₃-НЧ со скоростью, близкой к найденной «in vitro», нам удалось построить кривую накопления, хорошо прогнозирующую вышеприведенные экспериментальные данные о фактической задержке этих НЧ [10, 13, 14, 15].

Однако, какими бы ни были причины низкого уровня накопления Fe₂O₃-НЧ в лёгочной ткани, оно является доказанным фактом и вполне объясняет низкие количественные

показатели развития пневмокониотического процесса. Как видно из данных, приведенных в таблице 2, хотя к последнему сроку эксперимента и наблюдалось увеличение по сравнению с контролем сухой массы лёгких и содержания оксипролина в них как по абсолютным показателям, так и по показателям, скорректированным на различия массы тела, однако все эти сдвиги невелики и статистически не значимы.

Этому вполне соответствовала и гистологическая характеристика изменений в лёгких и трахеобронхиальных лимфоузлах как слабо-выраженных. Межалвеолярные перегородки не утолщены, их каркас составляют тонкие аригрофильные волокна, представленные в небольшом количестве. Перибронхиально имеется нежная сеть тонких аригрофильных волокон. Респираторные отделы воздушны. В лимфоидной ткани и в синусах трахеобронхиальных лимфатических узлов встречаются небольшие рыхлые скопления макрофагов с железосодержащими частицами в цитоплазме, но аригрофильный каркас лимфатических узлов не отличается существенно от контроля.

Растворение железооксидных наночастиц в лёгких и лимфоузлах с резорбцией железа в кровь (непосредственно или через лимфоток) является предпосылкой к системной резорбтивной токсичности железа. Концентрация железа в сыворотке крови, измеренная только после 3 и 6 месяцев воздействия, была практически не изменена в первый и статистически не значимо увеличена по сравнению с контролем – во второй срок исследования. При этом,

несмотря на существенное удлинение периода экспозиции по сравнению с регламентированной методологией обоснования ПДК, проявления системной токсичности весьма незначительны и в некоторых случаях сомнительны.

Даже по тем нескольким показателям, по которым во все три срока исследования отличия от контрольной величины имеет одинаковую направленность (задержка прироста массы тела, снижение числа ретикулоцитов, снижение активности щелочной фосфатазы и амилазы в сыворотке крови, и активности сукцинатдегидрогеназы в циркулирующих лимфоцитах, и повышение доли полихроматофильных эритроцитов костного мозга с микроядрами), ни в один из этих сроков указанное различие не было статистически значимым.

Что же касается тех немногих показателей, по которым отличие от контроля оказывалось статистически значимым, то и по ним оно имело место только в один какой-нибудь срок и к тому же не было однонаправленным. Кроме того, трактовка некоторых из таких статистически значимых сдвигов вызывают обоснованные сомнения. Так, например, с позиций критерия вредности затруднительно определить значение выявленного в конце эксперимента статистически значимого повышения числа заглядываний в норки ($11,05 \pm 1,15$ против $7,18 \pm 1,19$, $p < 0,05$). Как известно, так называемый норковый рефлекс является выработанным эволюцией элементом исследовательского поведения крысы. При том, что в данном случае не было ни повышения общей двигательной активности животных (оцени-

Таблица 2

Относительная масса лёгких и содержание оксипролина в них ($\bar{x} \pm s_x$)

Группы	Масса сухих лёгких, г	Масса сухих лёгких на 100 г массы тела	Концентрация оксипролина (мкг в 100 мг сухих лёгких)	Абсолютное содержание оксипролина в лёгких, мкг	Абсолютное содержание оксипролина в лёгких на 100 г массы тела, мкг
Контроль (3 месяца)	$0,30 \pm 0,04$	$0,14 \pm 0,01$	$930,12 \pm 146,56$	$2599,93 \pm 324,23$	$1220,57 \pm 146,40$
Fe ₂ O ₃ -НЧ (3 месяца)	$0,36 \pm 0,04$	$0,16 \pm 0,02$	$768,46 \pm 88,36$	$2587,69 \pm 269,93$	$1169,32 \pm 110,53$
Контроль (10 месяцев)	$0,33 \pm 0,03$	$0,14 \pm 0,01$	$1043,37 \pm 141,18$	$3440,36 \pm 483,59$	$1413 \pm 208,24$
Fe ₂ O ₃ -НЧ (10 месяцев)	$0,37 \pm 0,03$	$0,21 \pm 0,06$	$1122,07 \pm 160,63$	$3900,62 \pm 439,94$	$1977,63 \pm 305,19$

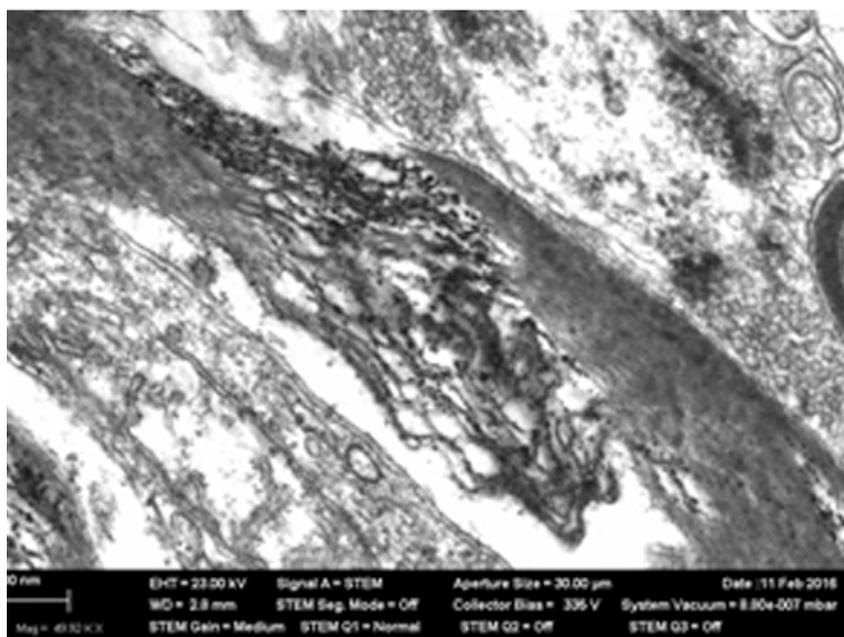


Рис. 3. Продольное сечение нервного волокна в ольфакторной зоне головного мозга крысы после 10 мес. ингаляционной экспозиции. Очаговое повреждение миелиновой оболочки (отмеченное звёздочками) связано с накоплением наночастиц (отмечено стрелкой). ПЭМ, увеличение *49 920).

ваемой числом пересеченных квадратов доски), ни преобладания процессов возбуждения над процессами торможения в ЦНС (судя по суммационно-пороговому показателю), такое обособленное повышение исследовательской активности скорее кажется положительным, чем отрицательным сдвигом (если оно вообще не случайно, несмотря на малую, но не нулевую вероятность случайности). Можно отметить также, что, регулярно используя этот показатель в десятках токсикологических экспериментов, мы нередко наблюдали его снижение, но ни разу – повышение.

Статистически значимое различие между опытом и контролем по содержанию гемоглобина в крови в 10-месячный срок ($148,84 \pm 3,64$ против $163,29 \pm 3,69$, $p < 0,05$) отражает не столько снижение этого показателя в экспонированной группе (в которой оно по сравнению с предыдущим сроком даже несколько повысилось), сколько его выраженное повышение в контрольной. Число тромбоцитов в крови было значимо снижено только в первый срок эксперимента и опять-таки отражает наблюдавшийся только в этот срок высокий контрольный уровень, в то время как в экспонированной группе он был даже более высоким, чем в последующем. Активность сывороточной аланин-аминотрансферазы, напротив, нарастала в экспонированной группе от срока к

сроку, но в контрольной так же последовательно снижалась, так что в этом случае статистически значимое отличие опыта от контроля в 10-месячный срок, возможно, заслуживает большего внимания. Однако ни по одному другому сывороточному показателю гепатотоксического эффекта он не подтверждается.

Только один статистически значимый сдвиг по сравнению с контролем, мимо которого, возможно, не следует пройти, а именно небольшое увеличение коэффициента массы головного мозга к концу эксперимента ($0,82 \pm 0,01$ против $0,78 \pm 0,01$ г/100 г массы тела, $p < 0,05$). Не исключено, что оно связано с хорошо известным фактом проникновения в мозг по волокнам ольфакторного нерва тех наночастиц, которые при ингаляции в малом числе отлагаются в носовых ходах [16-18]. В нашем эксперименте немногочисленные очаги наночастиц действительно обнаруживались

в миелиновой оболочке внутри-мозговых нервных волокон, наряду с её очаговым расслоением (рис. 3). Однако в целом накопление Fe_2O_3 в мозгу столь невелико, что не могло быть уловлено ЭПР-спектроскопией.

Заключение. Полученные экспериментальные результаты в совокупности с представленными при их обсуждении методическими соображениями позволяют расценить среднюю за полный период экспозиции концентрацию $1,14 \text{ мг/м}^3$ как пороговую при хроническом ингаляционном воздействии (Lim_{ch}) в том значении этого термина, который принят в отечественной профилактической токсикологии.

В соответствии с «Методическими указаниями к постановке исследований для обоснования санитарных стандартов вредных веществ в воздухе рабочей зоны» так называемый коэффициент запаса, служащий для перехода от пороговой к предельно допустимой концентрации, обычно устанавливается в пределах от 3 до 20. Следует учесть, что по абсолютному большинству эффектов испытанная нами концентрация является фактически не действующей. Кроме того, 2,5-кратное удлинение экспериментального периода по сравнению с предусмотренным этими МУ само по себе вносит значительный запас надёжности в оценку величины Lim_{ch} . По этим

двум соображениям считаем возможным принять величину коэффициента запаса $\approx 2,9$, близкую к указанной минимальной, и тем самым, предложить к утверждению норматив среднесменной ПДК в воздухе рабочей зоны как для диоксида триоксида (Fe_2O_3) в форме наночастиц на уровне $0,4 \text{ мг/м}^3$.

Эта величина в 15 раз ниже среднесменной ПДК 6 мг/м^3 , установленной в ГН 2.2.5.1313-03 для того же вещества в обычной форме, и следует отметить, что снижение действующих нормативов на один-полтора порядка

при установлении допустимых уровней экспозиции для металлических и металлооксидных наночастиц соответствует международной практике. Поскольку же она совпадает с ранее обоснованной величиной ОБУВ для наночастиц триоксида железа тетраоксида (Fe_3O_4) и учитывая известную из литературы практически одинаковую токсичность Fe_2O_3 и Fe_3O_4 , считаем достаточно обоснованным предложить для обсуждения возможность принять концентрацию $0,4 \text{ мг/м}^3$ в качестве ПДК для наночастиц обоих оксидов железа.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/ REFERENCES:

- Katsnelson B.A., Privalova L.I., Kuzmin S.V., Degtyareva T.D., Sutunkova M.P., Yeremenko O.S., Minigaliev I.A., Kireyeva E.P., Khodos M.Y., Kozitsina A.N., Malakhova N.A., Glazyrina J.A., Shur V.Y., Shishkin E.I., Nikolaeva E.V. (2010b) Some peculiarities of pulmonary clearance mechanisms in rats after intratracheal instillation of magnetite (Fe_3O_4) suspensions with different particle sizes in the nanometer and micrometer ranges: Are we defenseless against nanoparticles? *Int J Occup Environ Health* 16:508-524
- Katsnelson B.A., Degtyareva T.D., Minigaliev I.A., Privalova L.I., Kuzmin S.V., Yeremenko O.S., Kireyeva E.P., Sutunkova M.P., Valamina I.I., Khodos M.Y., Kozitsina A.N., Shur V.Y., Vazhenin V.A., Potapov A.P., Morozova M.V. (2011) Sub-chronic systemic toxicity and bio-accumulation of Fe_3O_4 nano- and microparticles following repeated intraperitoneal administration to rats. *Int J Toxicol* 30:60-67
- Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Tulakina L.G., Pichugova S.V., Beykin J.B., Khodos M.J. (2012c) The "in vivo" interaction between iron oxide Fe_3O_4 nanoparticles and alveolar macrophages. *J Bull Exp Biol Med* 152:627-631
- Szalay B., Kováčiková Z., Brózik M., Pándics M., Tátrai E. Effects of iron oxide nanoparticles on pulmonary morphology, redox system, production of immunoglobulins and chemokines in rats: in vivo and in vitro studies. *CEJOEM* 2008, Vol.14. No.2.: 149-164
- Soenen S.J., De Cuyper M, De Smedt S.C., Braeckmans K. Investigating the toxic effects of iron oxide nanoparticles. *Methods Enzymol.* 2012; 509: 195-224.
- Ennan, A.A., Kiro, S.A., Oprya, M.V., Vishnyakov, V.I., Particle size distribution of welding fume and its dependency on conditions of shielded metal arc welding. *J. Aerosol Sci.* 2013: 65, 103-110
- Lehnert M., Pesch B., Lotz A., Pelzer J., Kendzia B., Gawrych K., Heinze E., Van Gelder R., Pungenburg E., Weiss T., Mattenklott M., Hahn J.U., Möhlmann C., Berges M., Hartwig A., Brüning T. 2012. Exposure to inhalable, respirable, and ultrafine particles in welding fume. *Ann Occup Hyg.* 56(5), 557- 567
- Lewinski N., Graczyk H., Riediker M., 2013. Human inhalation exposure to iron oxide particles. *BioNanoMat*, 14(1-2), 5-23
- Katsnelson B.A., Privalova L.I., Kuzmin S.V., Gurvich V.B., Sutunkova M.P., Kireyeva E.P., Minigaliev I.A. (2012) An approach to tentative reference levels setting for nanoparticles in the workroom air based on comparing their toxicity with that of their micrometric counterparts: A case study of iron oxide Fe_3O_4 . *J ISRN Nanotechnol* 2012:12
- Sutunkova M.P., Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Konyshcheva L.K., Shur V.Y., Shishkina E.V., Minigaliev I.A., Solovjeva S.N., Grebenkina S.V., Zubarev I.V. (2016) On the contribution of the phagocytosis and the solubilization to the iron oxide nanoparticles retention in and elimination from lungs under long-term inhalation exposure. *J Toxicol* 363:19-28
- Bellmann B., Creutzenberg O., Dasenbrock C., 1991. Lung clearance and retention of toner, utilizing a tracer technique, during chronic inhalation exposure in rats. *Fundam. Appl. Toxicol.* 17, 300-313.
- Kolanjiyil A.V., 2013. Deposited nanomaterial mass transfer from lung airways to systemic regions. A thesis for MSc degree. North Carolina State University. Raleigh, NC.
- Katsnelson B.A., Konyshcheva L.K., Privalova L.I., Morosova K.I., 1992. Development of a multicompartmental model of the kinetics of quartz dust in the pulmonary region of the lung during chronic inhalation exposure of rats. *Brit. J. Ind. Med.* 49, 172-181.
- Katsnelson, B.A., Konyshcheva, L.K., Sharapova, N.Ye., Privalova, L.I., 1994. Prediction of the comparative intensity of pneumoconiotic changes caused by chronic inhalation exposure to dusts of different cytotoxicity by means of a mathematical model. *Occup. Environ. Med.* 51, 173-180.
- Katsnelson B.A., Konyshcheva L.K., Privalova L.Y., Sharapova N.Y., 1997. Quartz dust retention in rat lungs under chronic exposure simulated by a multicompartmental model: Further evidence of the key role of the cytotoxicity of quartz particles. *Inhalat. Toxicol.* 9, 703-715.
- Oberdörster G., Sharp Z., Atudore V., Elder A., Gelein R., Kreylin W., 2004. Translocation of inhaled ultrafine particle to the brain. *Inhal. Toxicol.* 16 (6/7), 437-445.
- Elder A., Gelein R., Silva V., Feikert T., Opanashuk L., Carter J., Potter R., Maynard A., Ito Y., Finkelstein J., Oberdörster G., 2006. Translocation of Inhaled Ultrafine Manganese Oxide Particles to the Central Nervous System. *Environ. Health Perspect.* 114(8), 1172-1178.
- Kao Y.-Y., Cheng T.-J., Yang D.-M., Liu P.-Sh., 2012. Demonstration of an olfactory bulb-brain translocation pathway for ZnO nanoparticles in rodent eils in vitro and in vivo. *J. Molecular Neurosci.* 48(2), 464-71.

M.P. Sutunkova.

EXPERIMENTAL DATA AND METHODOLOGICAL CONSIDERATIONS FOR JUSTIFICATION OF IRON OXIDE NANOPARTICLES MAXIMUM ALLOWABLE CONCENTRATION IN OCCUPATIONAL AIR

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

Airborne Fe_2O_3 nanoparticles (NPs) with an average diameter of $14 \pm 4 \text{ nm}$, obtained by sparking iron rods of 99.9% purity were fed to a "nose only" type exposition installation for 4 hours 5 times a week over 10 months at an average concentration of $1.14 \pm 0.01 \text{ mg} / \text{m}^3$. A very low accumulation of Fe_2O_3 -NPs in the lung tissue gradually increasing over time was found out. As judged by the almost normal histology of lung and lung-associated lymph nodes and low content of hydroxyproline in the lungs, the intensity of the developing pneumoconiosis was not important. Functional and biochemical indices of the body's condition mostly remained normal, but some of them made consider tested NP concentration as threshold value in the chronic systemic toxicity. In accordance with general principles of setting MAC for occupational air, it was suggested to consider justified a concentration of $0.4 \text{ mg} / \text{m}^3$, as MAC value for iron-oxide NPs.

Keywords: nanoparticles, solubility, toxicokinetics.

Материал поступил в редакцию 18.11.2016 г.