

Богословская О.А.¹, Сизова Е.А.², Полякова В.С.³, Мирошников С.А.³,
Лейпунский И.О.¹, Ольховская И.П.¹, Глущенко Н.Н.¹

¹Учреждение Российской академии наук Институт энергетических проблем
химической физики РАН

²ГОУ ВПО «Оренбургский государственный университет»

³Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский
институт мясного скотоводства РАСХН

ИЗУЧЕНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ ВВЕДЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ МЕДИ С РАЗЛИЧНЫМИ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ В ОРГАНИЗМ ЖИВОТНЫХ

Оценка безопасности введения наночастиц металлов в организм животных проведена по показателям токсичности (МПД - максимально переносимая доза, LD_{50} , LD_{100}) наночастиц меди, которые отличались по размеру и содержанию кристаллической меди в ядре частиц. Установлено, что частицы размером $33,8 \pm 0,3$ нм обладают большей токсичностью по сравнению с наночастицами размером $103,0 \pm 2,0$ нм. Токсичность модифицированных наночастиц меди в 2,5–6 раз меньше токсичности солей меди.

Ключевые слова: токсикология, наночастицы меди.

Современные нанотехнологии обладают огромным потенциалом и, как утверждают эксперты, кардинально изменят общество XXI века. Однако новые научные достижения не только способствуют развитию экономики, повышению качества жизни человека и т.д., но ставят ряд задач, которые относятся прежде всего к проблеме воздействия наноматериалов и наночастиц на качество среды обитания человека, на животный и растительный мир, на качество сельскохозяйственной продукции и воды и на здоровье человека. Это связано с особенностью наночастиц и наноматериалов, которые при попадании в организм могут быть непредсказуемыми и опасными. Наноматериалы, как правило, легче вступают в химические превращения, чем более крупные объекты того же состава, поэтому они способны образовывать комплексные соединения с неизвестными ранее свойствами. Наночастицы благодаря своим малым размерам легко проникают в организм человека и животных через защитные барьеры (эпителий, слизистые и т.д.), респираторную систему и желудочно-кишечный тракт. Общепринятые лекарственные средства, переведенные в нанопорошок (аспирин, кальция глюконат), обладают более высокой активностью, чем в обычной форме. Абсорбирующие свойства наночастиц значительно выше, чем у других молекул. Появление таких наноматериалов в окружающей среде может способствовать активному поглощению загрязнителей и их широко-

му распространению. Следовательно, с одной стороны, несомненна технологическая перспективность нанообъектов, с другой стороны, необходимо с особым вниманием относиться к связанным с ними рискам. Действительно, ранее проведенные исследования биологической активности наночастиц металлов на экспериментальных животных позволили установить, что нанокристаллическое железо и цинк в биотических дозах ускоряют рост животных и птиц, усиливают регенерацию печени после частичной гепатэктомии, ускоряют заживление тканей [1, 4, 5, 7, 9]. Изучение скоростей выведения наночастиц железа из организма показывает, что в течение шести недель наблюдается ответная реакция на однократное введение нанокристаллического железа [4, 10]. Кроме того, в работах зарубежных исследователей установлен факт, что, например, при появлении в легочной ткани животных углеродных нанотрубок размером меньше 10 нм макрофаги, фагоциты, лейкоциты активно локализируются возле углеродных нанотрубок, но «не узнают» их и не выполняют свою основную функцию утилизацию чужеродных частиц. Следствием этого является развитие воспаления легочной ткани и постепенное развитие злокачественных новообразований [11]. В то же время, как показали наши исследования, биологическая активность наночастиц металлов связана с их физико-химическими свойствами, что позволит в будущем, изменяя свойства наночастиц, достигать высокой био-

логической активности при минимальных побочных эффектах [6].

В связи с вышесказанным целью нашего исследования является проведение оценки безопасности введения наночастиц металлов в организм животных по показателям токсичности наночастиц меди, характеризующихся различными физико-химическими характеристиками.

Материалы и методы

Наночастицы меди были получены методом высокотемпературной конденсации на установке Миген [3]. Модификацию наночастиц меди проводили в контролируемых условиях при подаче кислорода, или паров воды, или атмосферного воздуха. Определение формы и размера наночастиц меди проводили методом сканирующей электронной микроскопии на сканирующем электронном микроскопе JSM 7401F фирмы JOEL при напряжении 1 кВ. Для приготовления образца нанопорошок меди подвергали кратковременному ультразвуковому диспергированию в ацетоне. Затем наночастицы наносили на специальную углеродную подложку и помещали в микроскоп. Для определения среднего диаметра наночастиц микрофотографии, сделанные на приборе, обрабатывали с помощью компьютерной программы Microan 25, путем измерения поперечника как минимум тысячи частиц. На основании полученных данных рассчитывали распределение наночастиц меди по размерам. Исследования токсичности наночастиц металлов проводили на мышах линии SHK, массой 18-20 г, которых делили на группы по 7-9 мышей в каждой и внутрибрюшинно вводили суспензию нанопорошков меди в разных концентрациях, приготовленную методом диспергирования определенной навески порошка в воде на ультразвуковом диспергаторе УЗДН-2Т в режиме 0,5 А, 44 кГц при охлаждении по следующей схеме: 30 сек. диспергирования – 1 мин. охлаждения (3 цикла). На основании полученных данных строили кривые «доза - ответ» и рассчитывали следующие показатели: МПД (максимально переносимая доза), ЛД₅₀, ЛД₁₀₀.

рошков меди в разных концентрациях, приготовленную методом диспергирования определенной навески порошка в воде на ультразвуковом диспергаторе УЗДН-2Т в режиме 0,5 А, 44 кГц при охлаждении по следующей схеме: 30 сек. диспергирования – 1 мин. охлаждения (3 цикла). На основании полученных данных строили кривые «доза - ответ» и рассчитывали следующие показатели: МПД (максимально переносимая доза), ЛД₅₀, ЛД₁₀₀.

Результаты и обсуждение

В настоящее время установлено, что реакционная способность наночастиц зависит от их размеров [8]. Однако биологическая активность наночастиц с таких позиций не изучена. Связь между особенностью наноструктуры и проявлением биологической активности наночастиц серебра отражена в работах [12, 13]. Показано, что при нагревании нанокристаллического серебра происходит агрегация частиц, разложение кристаллического серебра оксида и уменьшение общего количества кислорода с 16-17% до 6,5%. При этом происходит значительное снижение антибактериальной активности частиц.

В наших исследованиях для изучения токсикологических свойств наночастиц меди, полученных методом высокотемпературной конденсации и модифицированных различными факторами: водяным паром, кислородом и атмосферным воздухом, – было приготовлено шесть образцов наночастиц меди, токсикологические характеристики которых приведены в таблице 1.

Видно, что наночастицы меди шести образцов различаются между собой по показа-

Таблица 1. Токсикологические показатели наночастиц меди с различными физико-химическими показателями

Образец меди №	Дозы, мг/кг массы животного		
	МПД*	ЛД ₅₀ **	ЛД ₁₀₀ ***
1.	10.0	14.25	30.0
2.	10.0	15.0	30.0
3.	7.5	11.0	30.0
4.	7.5	11.0	20.0
5.	5.0	13.0	20.0
6.	2.5	7.0	20.0

*МПД- максимально переносимая доза, максимальная доза, которая не вызывает гибель животных.

** ЛД₅₀ – доза, вызывающая 50% гибель животных.

*** ЛД₁₀₀ – доза, вызывающая 100% гибель животных.

Таблица 2. Физико-химические характеристики наночастиц меди, модифицированных различными факторами

№ образца	Факторы, модифицирующие наночастицы меди	Содержание кристаллической меди, %	Размер НЧ меди, нм
1.	тары воды	84±8,4	86,0 ± 0,6
2.	кислород	96±9,6	103,0 ± 2,0
3.	кислород	3,2±0,32	77,3 ± 1,2
4.	кислород	84±8,4	47,0 ± 0,6
5.	воздух	94±9,4	86,8 ± 0,9
6.	воздух	67±6,7	33,8 ± 0,3

телям токсичности. По значению МПД различия лежат в пределах 2,5-10 мг/кг массы животного, по LD_{50} – 7-15 мг/кг массы животного и по LD_{100} – 20-30 мг/кг массы животного. Наименьшей токсичностью обладают наночастицы меди образцов № 1 и № 2, для которых значение МПД равно 10 мг/кг, LD_{50} – 15 мг/кг, LD_{100} – 30 мг/кг. Наибольшей токсичностью обладают наночастицы меди образца № 6, для которого значение МПД в 4 раза меньше, LD_{50} – в 2 раза меньше, а LD_{100} – на 30% меньше, чем соответствующие показатели токсичности для наночастиц меди образцов № 1 и № 2. Следует отметить, что по значению LD_{100} изученные наночастицы меди можно разделить на две группы. В первую группу можно отнести наночастицы меди образцов № 1, № 2, № 3, для которых значение LD_{100} составляет 30 мг/кг массы животного. Ко второй группе можно отнести наночастицы меди образцов № 4, № 5, № 6, для которых значение LD_{100} составляет 20 мг/кг.

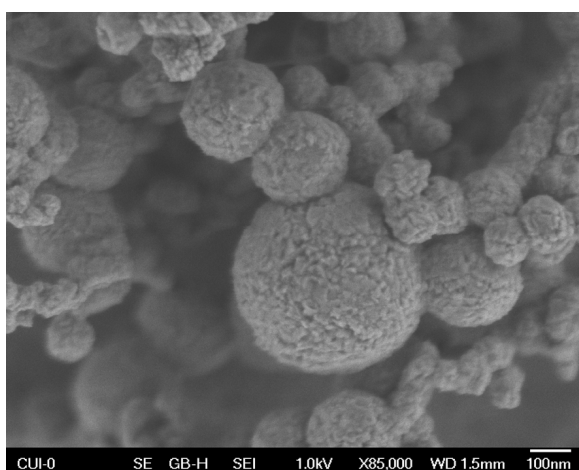


Рисунок 1. Фотография наночастиц меди образца №5, полученная методом сканирующей электронной микроскопии

Несмотря на различия в токсикологических показателях наночастиц меди, полученных различными модифицирующими факторами, их токсичность, как показали проведенные нами ранее исследования, значительно ниже токсичности солей меди [2, 4]. Так, МПД нанопорошка меди составляет 2 мг/кг массы животного, нанопорошка меди оксида – 5 мг/кг массы животного, солей меди (сульфата, хлорида, нитрата) – 1,5 мг/кг, 1,5 мг/кг и 1,0 мг/кг массы животного соответственно. LD_{50} наночастиц меди составляет 10 мг/кг, нанопорошка меди оксида – 20 мг/кг массы животного, солей меди (сульфата, хлорида, нитрата) – 3,5 мг/кг, 4,2 мг/кг, 4,1 мг/кг массы животного соответственно. Следовательно, по значению LD_{50} нанопорошки меди и меди оксида в 2,5–5 раз менее токсичны, чем соли меди. По значению LD_{100} разница между нанопорошками меди и меди оксида составляет 17%, а токсичность солей в 4,5–6,0 раз выше токсичности нанопорошков. Сульфаты, хлориды, нитраты меди проявляют более высокую токсичность по сравнению с нанокристаллическими порошками меди и меди оксида вне зависимости от аниона [2, 4].

Рассмотрим физико-химические характеристики наночастиц меди, модифицированных различными факторами. На рис. 1 приведена электронная фотография наночастиц меди образца №5.

По результатам электронной микроскопии установлено, что наночастицы меди имеют сферическую форму. По диаграммам распределения частиц по размерам и кривым накопления частот видно, что средний размер в зависимости от условий модификации частиц колеблется от 33 нм (образец № 6) до 103 нм (образец № 2). Наночастицы меди отличаются

ся также по содержанию кристаллической меди в ядре частиц от 3,2% (образец № 3) до 96% (образец № 2) (таблица 2).

При сравнении физико-химических показателей и токсикологических характеристик наночастиц меди, модифицированных различными факторами, следует отметить, что токсичность наночастиц не зависит от содержания кристаллической меди в ядре наночастиц. Однако наблюдается связь между размерами частиц и значениями показателей токсичности (рис. 2).

Так, наибольшей токсичностью обладают наночастицы меди образца № 6: МПД в 4 раза меньше, ЛД₅₀ – в 2 раза меньше, ЛД₁₀₀ – на 30% меньше, чем соответствующие значения доз для наночастиц образцов № 1 и № 2. При этом размер наночастиц образцов № 1 и № 2 в 2,5–3 раза больше размера наночастиц образца № 6. Следовательно, существует тенденция в увеличении токсичности наночастиц меди (по значению МПД и ЛД₅₀) с уменьшением размера наночастиц. Однако независимо от модификации наночастиц меди различными факторами их токсичность в 2,5–6 раз меньше токсичности солей меди при одинаковых условиях проведения эксперимента.

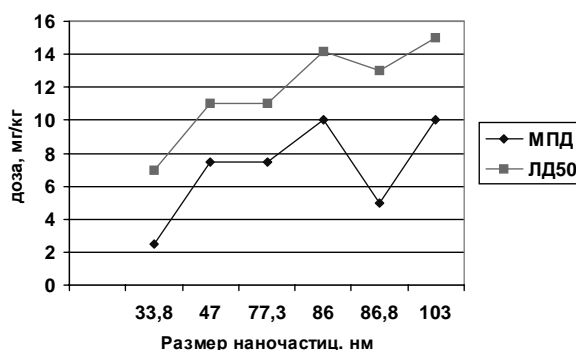


Рисунок 2. Взаимосвязь размеров наночастиц меди с показателями ее токсичности по значению МПД и ЛД₅₀

Выводы

1. Наночастицы меди, модифицированные различными факторами, отличаются по показателям токсичности: МПД, ЛД₅₀, ЛД₁₀₀.
2. Установлено, что токсичность наночастиц меди увеличивается с уменьшением размеров наночастиц.
3. Токсичность наночастиц меди, модифицированных различными факторами, ниже токсичности солей меди.

Список использованной литературы:

1. Богословская О.А., Лобаева Т.А., Байтукалов Т.А., Глущенко Н.Н., Шеремет А.С., Ольховская И.П., Лопатин С.А., Варламов В.П. Сравнительное исследование ранозаживляющего действия веществ различной природы. // Естественные и технические науки. – 2007. - № 6(32). - С. 91-99.
2. Богословская О.А., Глущенко Н.Н., Ольховская И.П., Байтукалов Т.А., Кисс В.И., Федоров Ю.И. Токсичность биологически активных нанопорошков металлов. // Всероссийская научно-практическая конференция, посвященная памяти профессора Ю.М. Кубицкого «Современные проблемы медико-криминалистических, судебно-химических и химико-токсикологических экспертных исследований»: Тез. докл. - Москва, 2007. - С. 197-200.
3. Ген М.Я., Миллер А.В. Авторское свидетельство СССР № 814432. Бюллетень изобретений. – 1981. – № 11. – С. 25.
4. Глущенко Н.Н. Физико-химические закономерности биологического действия высокодисперсных порошков металлов // автореферат докт. дис. – 1988 - М.-50 с.
5. Глущенко Н.Н., Богословская О. А., Ольховская И. П. Физико-химические закономерности биологического действия высокодисперсных порошков металлов // Химическая физика. - 2002. Т.21, №4,- С.79-85.
6. Глущенко Н.Н., Богословская О.А., Байтукалов Т.А., Ольховская И.П., Арсентьева И.П., Фолманис Г.Э., Лейпунский И.О. Исследование структуры и функциональной активности наночастиц железа. // XVIII Менделеевский съезд по общей и прикладной химии: Тез. докл. – Москва, 2007. - С. 28.
7. Куренева В.П., Егоров И.А., Глущенко Н.Н., Фаткуллина Л.Д., Федоров Ю.И. Физиолого-биохимические основы повышения продуктивности сельскохозяйственной птицы // В сборнике научных трудов. Боровск.- 1985. XXXI. - С. 80-87.
8. Сергеев Г.Б. Нанохимия. - М.: Изд-во МГУ, 2003. - 288 с. 10.
9. Фаткуллина Л.Д., Глущенко Н.Н., Яглова Л.Г., Косова Г.В., Бурлакова Е.Б., Федоров Ю.И. Действие высокодисперсного порошка цинка на синтез ДНК в клетках регенерирующей печени мышей // В сборнике: «Физико-химические и биологические основы функционирования живых систем». М.: Наука.-1985.- С.17-19.
10. Цапин А.И., Иваненко Г.Ф., Глущенко Н.Н., Федоров Ю.И. Распределение и изменение свойств ферромагнитных частиц железа при введении их в организм животных // Биофизика, -1987-т.32.-С.132-134.
11. Kagan V.E., Tyurina Y.Y., Konduru N.V. et. Al. / Direct and indirect effects of single walled carbon nanotubes on RAW 264.7 macrophages // Toxicol. letters – 2006 - p. 1-13B.
12. Taylor P.L., Omotoso O., Wiskel J.B. et al. Impact of heat on nanocrystalline silver dressings. Part II: Physical properties // Biomaterials. – 2005. - V. 26(35). – P. 7230-7240.
13. Taylor P.L., Ussher A.L., Burrell R.E. Impact of heat on nanocrystalline silver dressings. Part I: Chemical and biological properties // Biomaterials. – 2005. - V. 26(35). – P. 7221-7229.

Работа поддержана грантами РФФИ 07-08-00376, 07-04-12200, 08-04-13544