

УДК 615.099 : 57.04

СРАВНИТЕЛЬНАЯ И КОМБИНИРОВАННАЯ ТОКСИЧНОСТЬ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДОВ АЛЮМИНИЯ, ТИТАНА И КРЕМНИЯ И ЕЁ ОСЛАБЛЕНИЕ КОМПЛЕКСОМ БИОПРОТЕКТОРОВ

И.А. Минигалиева¹, Б.А. Кацнельсон¹,
Л.И. Привалова¹, М.П. Сутункова¹, В.Б. Гурвич¹,
В.Я. Шур², Е.В. Шишкина², И.Е. Валамина,
О.Г. Макеев³, В.Г. Панов⁴, А.Н. Вараксин,
С.В. Клинова¹, С.В. Соловьёва¹, Е.Ю. Мещерякова³

¹ ФБУН «Екатеринбургский медицинский - научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, г. Екатеринбург, Российская Федерация

² Уральский центр коллективного пользования «Современные нанотехнологии», ФГАОУ ВПО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н.Ельцина», 620000, г. Екатеринбург, Российская Федерация

³ Центральная научно-исследовательская лаборатория Уральского государственного медицинского университета, 620109, г. Екатеринбург, Российская Федерация

⁴ ФБУН «Институт промышленной экологии» УрО РАН, 620990, г. Екатеринбург, Российская Федерация

Стабильные суспензии наночастиц (НЧ) оксидов алюминия, титана и кремния, полученные с помощью лазерной абляции соответствующих элементных мишеней 99,99% чистоты под слоем деионизированной воды, вводились крысам внутрибрюшинно 18 раз на протяжении 6 недель изолированно или в различных комбинациях. Развитие субхронической интоксикации оценено большим числом функциональных, биохимических и морфометрических показателей состояния организма. Найдено, что во многих отношениях Al_2O_3 -НЧ наиболее токсичны сами по себе и являются ведущим компонентом изученных комбинаций. Математическое моделирование с помощью построения поверхности отклика (the Response Surface Methodology) показало, что реакция организма на бинарные сочетания исследованных НЧ характеризуется всеми возможными вариантами типов комбинированной токсичности (аддитивность, субаддитивность и супераддитивность однонаправленного действия, различные варианты противонаправленности действия) в зависимости от того, по какому эффекту она оценивается, а также от его уровня и от дозы НЧ. На фоне действия любого третьего вида НЧ тип бинарной комбинированной токсичности остальных двух может существенно измениться. Многие неблагоприятные эффекты

Минигалиева Ильзира Амировна (Minigalieva Ilzira Amirovna), к.б.н., старший научный сотрудник, заведующая лабораторией промышленной токсикологии отдела токсикологии и биопрофилактики ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, г. Екатеринбург, ilzira-minigalieva@yandex.ru
Кацнельсон Борис Александрович (Katsnelson Boris Aleksandrovich), д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, заведующий отделом токсикологии и биопрофилактики ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, г. Екатеринбург, bkaznelson@etel.ru
Привалова Лариса Ивановна (Privalova Larisa Ivanovna), доктор медицинских наук, профессор, зав. лабораторией научных основ биологической профилактики ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, Екатеринбург, privaloval@yahoо.com
Сутункова Марина Петровна (Sutunkova Marina Petrovna), к.м.н., старший научный сотрудник, заведующая лабораторией токсикологии окружающей среды отдела токсикологии и биопрофилактики ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, г. Екатеринбург, marinasutunkova@yandex.ru
Гурвич Владимир Борисович (Gurvich Vladimir Borisovich), д.м.н., директор ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, 620014, г. Екатеринбург, gurvich@umrc.ru
Шур Владимир Яковлевич (Shur Vladimir Yakovlevich), доктор физико-математических наук, профессор, директор, Уральский центр коллективного пользования «Современные нанотехнологии», Институт естественных наук и математики, ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», 620000, г. Екатеринбург, vladimir.shur@urfu.ru
Шишкина Екатерина Владимировна (Shishkina Ekaterina Vladimirovna), кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник Уральского центра коллективного пользования «Современные нанотехнологии», ФГАОУ ВПО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н.Ельцина», г. Екатеринбург, ekaterina.shishkina@urfu.ru
Валамина Ирина Евгеньевна (Valamina Irene Evgenjevna), к.м.н., старший научный сотрудник, заведующая лабораторией ЦНИЛ ГБОУ ВПО УГМУ, г. Екатеринбург, Российская Федерация, ivalamina@mail.ru
Макеев Олег Германович (Makeyev Oleg Hermanovich), д.м.н., профессор, заведующий лабораторией клеточной и генной терапии Института медицинских клеточных технологий, ГБОУ ВПО УГМУ, г. Екатеринбург, oomt305@mail.ru
Панов Владимир Григорьевич (Panov Vladimir Grigoryevich), к. ф.-м. н., старший научный сотрудник лаборатории математического моделирования в экологии и медицине ИПЭ УрО РАН, г. Екатеринбург, vpanov@esko.uran.ru
Вараксин Анатолий Николаевич (Varaksin Anattolij Nikolayevich), д. ф.-м.н. профессор, заведующий лабораторией математического моделирования в экологии и медицине ИПЭ УрО РАН, г. Екатеринбург, varaksin@esko.uran.ru
Клинова Светлана Владиславовна (Klinova Svetlana Vladislavovna), младший научный сотрудник ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора, г. Екатеринбург, klinova.svetlana@gmail.com
Соловьёва Светлана Николаевна (Solovyeva Svetlana Nikolaevna), м.н.с. лаборатории токсикологии среды обитания, ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, г. Екатеринбург, solovyevasn@umrc.ru
Мещерякова Екатерина Владимировна (Meshcheryakova Ekaterina Vladimirovna), младший научный сотрудник ЦНИЛ ГБОУ ВПО УГМУ, г. Екатеринбург, katusha-ugma@rambler.ru

действия комбинации $[Al_2O_3\text{-НЧ}+TiO_2\text{-НЧ}+SiO_2\text{-НЧ}]$, включая её генотоксичность, были существенно ослаблены пероральным назначением комплекса безвредных биопротекторов.

Ключевые слова: наночастицы, субхроническое воздействие, сравнительная токсичность, комбинированная токсичность, биопротекторы.

Введение. Токсичность наночастиц металлов, металлоидов и особенно их оксидов (MeO-НЧ) интенсивно изучается нами на протяжении последних лет [1-10], главным образом потому, что они составляют существенную фракцию промышленных аэрозолей, образующихся при многих сварочных и металлургических технологиях [10]. Во всех этих случаях имеет место воздействие на работающих не одного какого-либо вида MeO-НЧ, а той или иной комбинации таких MeO-НЧ, что связывает данную проблему с другой, тоже давно интересующей наш коллектив и не менее актуальной, а именно с изучением общих закономерностей комбинированной токсичности. Такие закономерности для MeO-НЧ [6, 7, 9, 11, 12], в принципе совпадали с теми, которые ранее были установлены в экспериментах с растворимыми солями токсичных элементов [13, 14]. В дальнейшем была подтверждена изучением токсичности комбинаций наночастиц (NiO-НЧ+Mn₃O₄-НЧ) [6, 7, 12]; (PbO-НЧ+CuO-НЧ), (PbO-НЧ+ZnO-НЧ), (ZnO-НЧ+CuO-НЧ; PbO-НЧ+CuO-НЧ+ZnO-НЧ) [9, 12]. Тем не менее, мы полагаем, что для проверки, уточнения и развития вышеприведенных обще-теоретических положений накопление новых экспериментальных данных всё ещё необходимо. Вместе с тем, такие данные нужны и для обоснования частных решений по оценке и управлению токсикологическими рисками в конкретных производственных условиях. Именно этими соображениями мы руководствовались, выбирая для исследования ранее не изучавшиеся комбинации наночастиц $Al_2O_3\text{-НЧ}$, $TiO_2\text{-НЧ}$ и $SiO_2\text{-НЧ}$, преобладающие в усреднённом составе аэрозолей конденсации, загрязняющих воздух рабочей зоны в производстве алюминиево-титановых лигатур.

В качестве искусственных (engineered) наноматериалов последние два относятся к числу наиболее широко производимых и используемых, а потому часто подвергавшихся токсикологической оценке, хотя, как правило, *in vitro* и значительно реже – в кратковременных экспериментах на животных. По вопросу о токсичности $TiO_2\text{-НЧ}$ примером могут служить публикации [15-21 и др.], о токсичности $SiO_2\text{-НЧ}$ – [22-30 и др.]. Что же касается токсичности $Al_2O_3\text{-НЧ}$, то если не считать нескольких исследований, проведенных на одноклеточных водорослях или на растительных клетках, она изучена даже на клеточных культурах заметно меньше [31-33] и лишь в одной из этих работ [33] – также при однократном пероральном введении мышам. Нам не встрети-

лось ни одной публикации, посвященной сравнительной или комбинированной токсичности рассматриваемых трёх MeO-НЧ или хотя бы любой пары из них.

Наряду с этим, практическое значение имеет поиск биопротекторов, назначение которых в безвредных дозах могло бы повысить резистентность организма к действию данной комбинации подобно тому, как это было найдено по отношению к действию ряда других MeO-НЧ и их комбинаций [3, 5, 6, 9, 20].

Материалы и методы исследования.

Суспензии сферических MeO-НЧ были изготовлены специально для данного исследования путём лазерной абляции мишеней из элементного металла (Al и Ti) или полупроводника (Si) 99,9%-ной чистоты; методика описана нами ранее [10]. Концентрация суспензий $TiO_2\text{-НЧ}$ и $SiO_2\text{-НЧ}$ была, как и во всех наших предыдущих экспериментах с другими MeO-НЧ, повышена до 0,5 мг/мл с помощью частичного упаривания при 50 °С, но концентрация суспензии $Al_2O_3\text{-НЧ}$ могла быть без потери стабильности повышена лишь до 0,25 мг/мл. Распределение НЧ по диаметрам было симметричным при среднем диаметре 21 ± 6 нм для $Al_2O_3\text{-НЧ}$, 27 ± 7 нм для $TiO_2\text{-НЧ}$ и 43 ± 1 нм для $SiO_2\text{-НЧ}$. Эксперимент был проведен на 4-месячных аутбредных крысах-самцах собственного разведения с исходной массой тела около 290 г, по 12 или более особей в каждой группе. Субхроническая интоксикация моделировалась путём повторных внутрибрюшинных инъекций крысам суспензий соответствующих MeO-НЧ. Каждый вид MeO-НЧ вводился в/б в дозе 0,5 мг на крысу для $TiO_2\text{-НЧ}$ и $SiO_2\text{-НЧ}$ или 0,25 мг для $Al_2O_3\text{-НЧ}$ в 1 мл суспензии 3 раза в неделю на протяжении 6 недель. Параллельно экспонировались группы, получавшие либо только один вид MeO-НЧ в указанных дозах плюс 2 мл деионизированной воды; либо одну из трёх возможных бинарных комбинаций этих MeO-НЧ ($Al_2O_3\text{-НЧ} + TiO_2\text{-НЧ}$; $Al_2O_3\text{-НЧ} + SiO_2\text{-НЧ}$; $SiO_2\text{-НЧ} + TiO_2\text{-НЧ}$) плюс 1 мл деионизированной воды; либо тройную комбинацию тех же MeO-НЧ в тех же дозах; либо ту же тройную комбинацию в половинной дозировке; либо 3 мл деионизированной воды. Половина крыс последних двух из перечисленных групп получали перорально на протяжении всего экспозиционного периода биопротекторный комплекс (БПК), в состав которого входили: глютамат натрия (160 мг с питьём 1,5%ного раствора), глицин (12 мг с кор-

мом), N-ацетилцистеин (30 мг с кормом), витамин С (4,4 мг с кормом), Е (0,84 мг с кормом), селенид (4 мг на крысу с кормом), препарат рыбьего жира с высоким содержанием витамина А и ПНЖК класса омега-3 (1 капля сублингвально), йодистый калий (4 мг с кормом), карбонат кальция (160 мг на крысу с кормом), яблочный пектин (1 г/кг в смеси с кормом). Основания к выбору перечисленных протекторов и доз даны в [10].

Ввиду ограниченного объёма статьи мы не перечисляем здесь все измеренные после завершения экспозиций 60 функциональных и биохимических показателей состояния организма, по средним значениям которых проводились межгрупповые сравнения (те, по которым были получены значимые результаты, упоминаются при их обсуждении). Кроме того было проведено гистологическое изучение печени и почек с морфометрией. Генотоксический эффект «ин vivo» был оценен по фрагментации геномной ДНК в ПДАФ-тесте на ядродержащих клетках крови.

Математическое моделирование бинарного комбинированного действия по всем его измеренным эффектам было проведено с помощью методологии построения поверхности отклика - Response Surface Method (RSM) с построением на её основе изобол Лёве [34]. На той же математической основе давалась характеристика трёхфакторного действия с помощью риск-ориентированного двухэтапного подхода, ранее предложенного и апробированного нами [9, 35]. На первом этапе оцениваются варианты комбинированной токсичности для каждого из трёх парных сочетаний, входящих в тройную комбинацию. На втором этапе анализа все эффекты токсического воздействия классифицируются в зависимости от того, оказывается ли тип комбинированной токсичности той же самой пары, но на фоне действия третьего фактора более неблагоприятным

для организма (класс А), менее неблагоприятным для организма (класс В) и остаётся существенно не изменившимся (класс С).

Результаты и их обсуждение.

Из приблизительно 400 величин, полученных в общей сложности во всех 6 подопытных группах изолированного или двухфакторного действия, вместе взятых, только 52 статистически значимо отличались от соответствующих контрольных показателей. Несмотря на то, что Al_2O_3 -НЧ вводился в 2 раза меньшей дозировке, чем остальные MeO -НЧ, по большинству показателей он вызвал практически те же самые сдвиги, что TiO_2 -НЧ или SiO_2 -НЧ, а это косвенно свидетельствует о большей токсичности Al_2O_3 -НЧ. К тому же, по некоторым показателям (снижение содержания гемоглобина, снижение гематокрита, сдвиг рН мочи в кислую сторону и повышение содержания в ней белка, мочевины, мочевой кислоты, креатинина при сниженных массовых коэффициентах обеих почек) действие Al_2O_3 -НЧ было более выраженным, чем действие двух других MeO -НЧ. Так, например, содержание гемоглобина (г/л), равное $158,89 \pm 1,16$ в контрольной группе, статистически значимо (при $P < 0,05$ по t -критерию Стьюдента) снизилось при действии всех MeO -НЧ, но при действии TiO_2 -НЧ (до $149,00 \pm 3,64$) и SiO_2 -НЧ (до $149,71 \pm 2,74$) это снижение было значимо менее существенным, чем при действии Al_2O_3 -НЧ (до $141,14 \pm 1,99$)

Математическое RSM-моделирование выявило эффект-зависимую и дозо-зависимую неоднозначность типологии бинарного комбинированного действия. Поскольку это принципиальное положение, обоснованное и неоднократно подтверждённое нами ранее ([4, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 34] и др.), данным экспериментом лишь дополнительно подтверждается, мы считаем возможным ограничиться иллюстрацией его примерами, приведенными на рисунках 1 - 3.

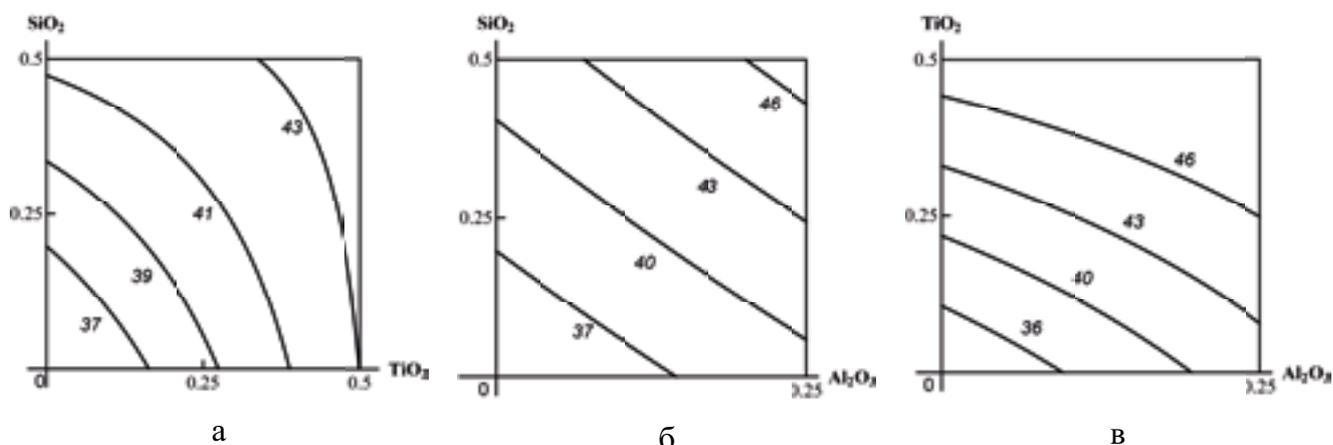


Рис. 1. Примеры изоболограмм комбинированной субхронической токсичности, оцениваемой по повышению концентрации церулоплазмينا в сыворотке крови при действии (а) SiO_2 -НЧ + TiO_2 -НЧ (субаддитивность); (б) SiO_2 -НЧ + Al_2O_3 -НЧ (аддитивность); (в) TiO_2 -НЧ + Al_2O_3 -НЧ (незначительная субаддитивность). На осях дозы соответствующих MeO -НЧ в мг на крысу; числа на изоболах обозначают величину эффекта (в мг%).

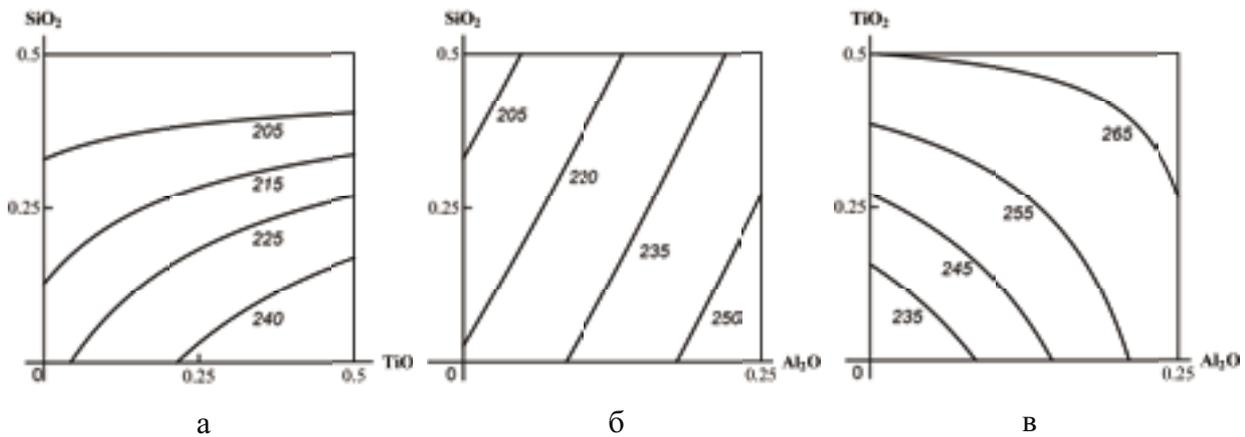


Рис. 2. Примеры изоболограмм комбинированной субхронической токсичности, оцениваемой по повышению концентрации АсАТ в сыворотке крови при действии (а) $\text{SiO}_2\text{-НЧ}$ + $\text{TiO}_2\text{-НЧ}$ (противонаправленность); (б) $\text{SiO}_2\text{-НЧ}$ + $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-НЧ}$ (противонаправленность); (в) $\text{TiO}_2\text{-НЧ}$ + $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-НЧ}$ (субаддитивность однонаправленного действия). На осях дозы соответствующих MeO-НЧ в мг на крысу; числа на изоболах обозначают величину эффекта (в ИЕ/л)

Токсическое действие тройной комбинации, оцениваемое по функциональным и биохимическим эффектам, было классифицировано на основе двухэтапного анализа, описанного в Разделе 2. В целом, на класс А пришлись 35%, на класс В - 43%, на класс С - 22% всех таких эффектов. При рассмотрении в качестве третьего фактора $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-НЧ}$ несколько преобладает класс А (42%), в то время как для двух остальных MeO-НЧ – класс В (44%). Пример эффекта, отнесенного к наиболее неблагоприятному классу А, дан изоболограммами на рисунке 4.

Как и при всех других ранее изученных нами субхронических интоксикациях металлосодержащими наночастицами, наиболее выраженным гистопатологическим проявлением нефротоксичности были дегенеративные изменения эпителия проксимальных извитых канальцев, включая потерю щётчатой каёмки, а в конечном итоге – полная десквамация эпителиальных клеток. Как видно из таблицы 1, при изолированном воздействии $\text{TiO}_2\text{-НЧ}$ оба показателя были несколько выше в сравнении не только с воздействием $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-НЧ}$ (что могло бы быть объяснено меньшей дозировкой последнего), но и с воздействием $\text{SiO}_2\text{-НЧ}$. Наиболее вероятно, что непосредственно на почки металлы действуют не столько в форме персистирующих MeO-НЧ , сколько в виде ионов, отдаваемых ими в результате солиubilизации в биологических средах, доказанной нами неоднократно [8, 10]. Поэтому можно допустить, что особая нефротоксичность $\text{TiO}_2\text{-НЧ}$ объясняется как раз наиболее высокой растворимостью, которая была нами показана при добавлении бычьей эмбриональной сыворотки «in vitro» к каждой наносuspension.

В той же таблице 1 морфометрические показатели бинарной нефротоксичности бинарных комбинаций сопоставлены с соответствующи-

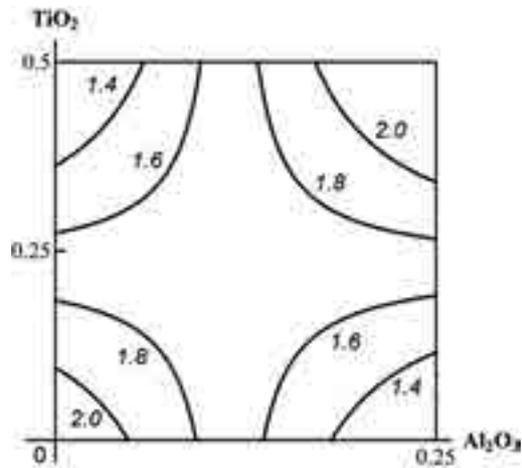


Рис. 3. Неоднозначность типа комбинированной субхронической токсичности $\text{TiO}_2\text{-НЧ}$ + $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-НЧ}$, оцениваемой по снижению содержания гамма-глутамилтранспептидазы в сыворотке крови: субаддитивность однонаправленного действия при малых дозах и относительно высоких уровнях эффекта; супераддитивность – при высоких дозах и таких же уровнях эффекта; противонаправленное действие – при малых дозах и относительно низких уровнях эффекта, а так же при высоких дозах и относительно низких уровнях эффекта. На осях дозы соответствующих MeO-НЧ в мг на крысу; числа на изоболах обозначают величину эффекта (в ИЕ/л)

ми показателями действия тройной комбинации при полной и половинной дозировке последней. Можно отметить, что добавление $\text{SiO}_2\text{-НЧ}$ к наиболее нефротоксичной комбинации ($\text{Al}_2\text{O}_3\text{-НЧ}$ + $\text{TiO}_2\text{-НЧ}$) усилило эффект только незначительно (возможная субаддитивность действия), в то время как добавление $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-НЧ}$ к комбинации ($\text{SiO}_2\text{-НЧ}$ + $\text{TiO}_2\text{-НЧ}$) усилило его вдвое и (причём по показателю потери щётчатой каёмки статистически значимо). Сама по себе связь этого эффекта с воздействием на организм изучаемой

Морфометрические показатели повреждения эпителия проксимальных извитых канальцев в почках крыс после субхронического воздействия Al_2O_3 -НЧ, TiO_2 -НЧ и SiO_2 -НЧ отдельно либо в комбинациях ($\bar{x} \pm s.e.$)

Показатель	Группа, получавшая в/б MeO-НЧ									
	Конт-роль	Al_2O_3	TiO_2	SiO_2	$Al_2O_3 + TiO_2$	$Al_2O_3 + SiO_2$	$TiO_2 + SiO_2$	$Al_2O_3 + TiO_2 + SiO_2$ в половинной дозировке	$Al_2O_3 + TiO_2 + SiO_2$ в полных дозах	$Al_2O_3 + TiO_2 + SiO_2$ в полных дозах на фоне БПК
% потери щеточной каёмки	1,49 ± 0,56	1,85 ± 0,47	3,61 ± 0,99*	2,24 ± 0,58	6,45 ± 1,07* ^х	4,23 ± 0,80* ^х	3,64 ± 0,70*	3,06 ± 0,84 [#]	7,19 ± 1,47*	1,99 ± 0,43 [#]
% десквамации эпителия	0,00 ± 0,00	0,15 ± 0,15	0,42 ± 0,36	0,30 ± 0,25	0,97 ± 0,48*	0,29 ± 0,17	0,14 ± 0,14	0,66 ± 0,47	1,04 ± 0,39*	0,18 ± 0,16 [#]

Примечание: значком * обозначено статистически значимое ($P < 0,05$ по t Стьюдента) отличие от контрольного показателя, ⁺ – от показателя группы, получавшей SiO_2 , ^х – от показателя группы, получавшей TiO_2 , [@] – от показателя группы, получавшей Al_2O_3 ; [#] – от показателя группы, получавшей тройную комбинацию в полной дозировке без БПК

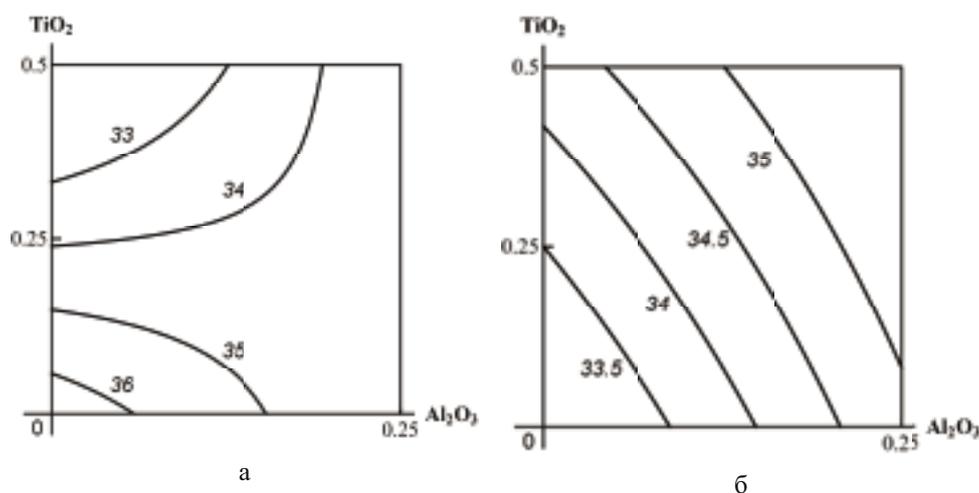


Рис. 4. Пример трёхфакторной токсичности, отнесенной к классу "А": (а) субаддитивное или противонаправленное (для разных уровней эффекта и доз) действие комбинации (Al_2O_3 -НЧ + TiO_2 -НЧ) на содержание креатинина в сыворотке крови в отсутствие третьего фактора переходит (для всех соотношений уровней эффекта и доз) в (б) аддитивное на фоне одновременного влияния наночастиц SiO_2 -НЧ. Дозы MeO-НЧ на осях даны в мг на крысу. Числа на линиях соответствуют величине показателя эффекта (мкмоль/л)

комбинации подтверждается его явной зависимостью от действующей дозы комбинации. Вместе с тем, фоновое воздействие биопротекторного комплекса (БПК) ослабило нефротоксический эффект тройной комбинации в значительно большей мере, чем двукратное уменьшение токсической дозы.

Как видно из изоболограмм, приведенных на рисунке 5, только в двух бинарных комбинациях, включающих Al_2O_3 -НЧ, по широкому диапазону доз выявлена несомненная аддитивность нефротоксического действия по показателю потери щеточной каёмки с не значимым статистически,

но тем не менее явным отклонением от неё в сторону синергизма (супераддитивности). Напротив, в комбинации (SiO_2 -НЧ + TiO_2 -НЧ) явно преобладает вклад TiO_2 -НЧ, и только при минимальных дозах последнего видна аддитивность или некоторая субаддитивность действия SiO_2 -НЧ. Тот или иной тип антагонизма (т.е. субаддитивность или противонаправленность действия) именно этой комбинации явно преобладает и по показателю десквамации канальцевого эпителия.

Вместе с тем, и по рассматриваемым морфометрическим показателям нефротоксичности тип бинарного комбинированного действия может на

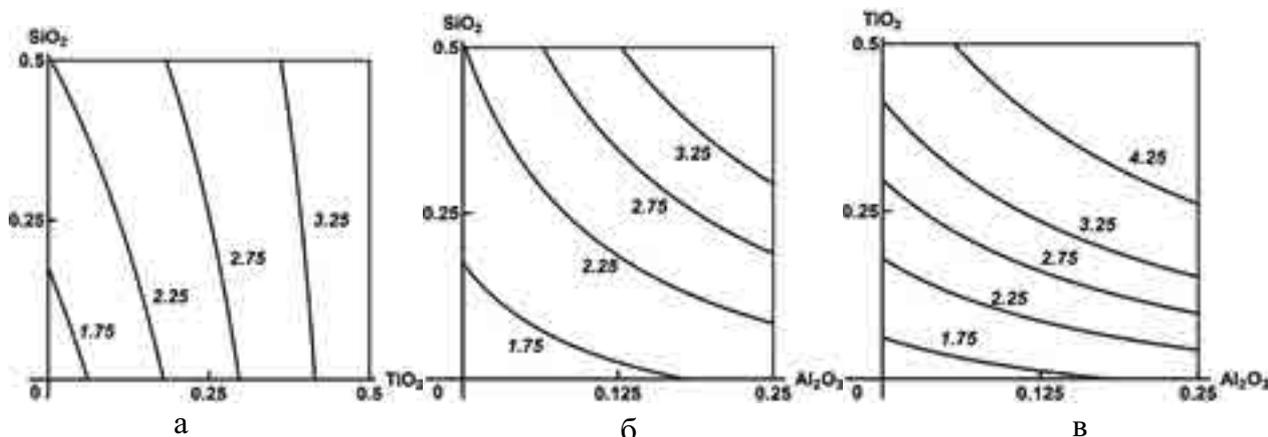


Рис. 5. Изоболограммы комбинированной субхронической токсичности, оцениваемой по потере щёточной каёмки эпителием почечных канальцев: (а) SiO_2 -НЧ + TiO_2 -НЧ (однофакторный эффект TiO_2 -НЧ с незначимой аддитивностью); (б) SiO_2 -НЧ + Al_2O_3 -НЧ (аддитивность с тенденцией к синергизму); (в) TiO_2 -НЧ + Al_2O_3 -НЧ (тот же тип действия). На осях дозы соответствующих MeO -НЧ в мг на крысу; числа на изоболах обозначают величину эффекта (в %)

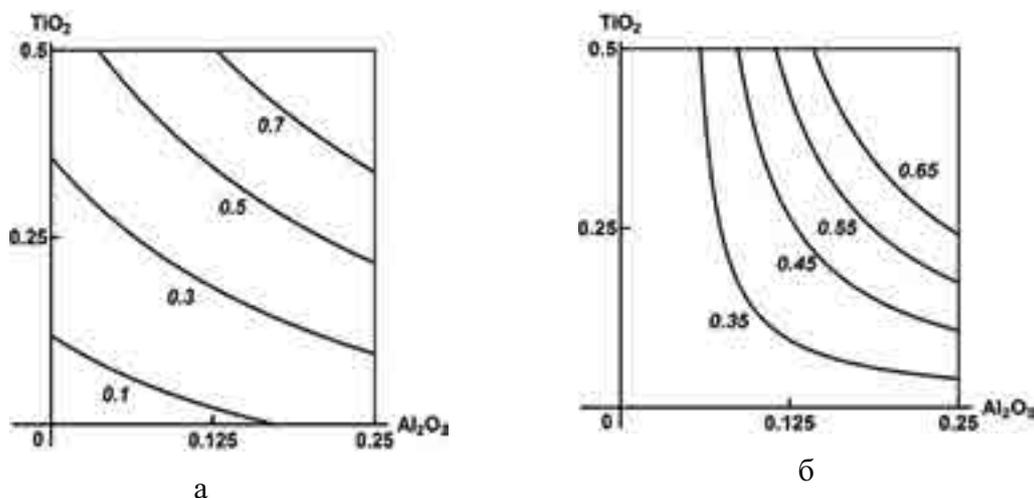


Рис. 6. Изоболограммы комбинированной субхронической токсичности Al_2O_3 -НЧ + TiO_2 -НЧ, оцениваемой по десквамации эпителия почечных канальцев: (а) аддитивность однонаправленного действия в отсутствии третьего MeO -НЧ, (б) супераддитивность – на фоне действия SiO_2 -НЧ (пример трёхфакторного действия, относимого к классу А). На осях дозы соответствующих MeO -НЧ в мг на крысу; числа на изоболах обозначают величину эффекта (в %)

фоне действия третьего члена комбинации более или менее существенно измениться, пример чего иллюстрируется рисунком 6.

На гистологических препаратах печени, как и во всех наших предыдущих субхронических экспериментах с MeO -НЧ без исключения, наблюдалась усиленная дегенерация гепатоцитов вплоть до увеличения доли клеток, потерявших ядро. Как видно из таблицы 2, этот количественный показатель был увеличен и во всех экспонированных группах настоящего эксперимента. Почти так же часто мы в прошлом сталкивались с уменьшением доли двуядерных гепатоцитов, свидетельствующим об угнетении репаративной пролиферации – этот эффект также наблюдается и в данном случае. Напротив, число клеток Купфера увеличено – хотя и не очень сильно, но во всех группах статистически значимо.

Сопоставление групп бинарной экспозиции с группами, подвергавшимся соответствующим двум изолированным, а также с группой полной тройной комбинации создает впечатление о субаддитивности как преобладающем типе комбинированной гепатотоксичности рассматриваемых MeO -НЧ, что в целом подтвердилось и при RSM-моделировании (рис. 7). Отметим также, что уменьшение дозировки тройной комбинации вдвое ослабило гепатотоксический эффект только по прямому его морфометрическому показателю (а именно по числу безъядерных гепатоцитов).

Генотоксический эффект ранее изучавшихся нами наночастиц *in vivo* оценивался показателем «коэффициент фрагментации» (Кфр) в ПДАФ-тесте на геномной ДНК, выделявшейся из клеток различных органов и тканей. В ряде ис-

Морфометрические показатели состояния печёночных долек у крыс после субхронического воздействия Al_2O_3 -НЧ, TiO_2 -НЧ и SiO_2 -НЧ отдельно либо в комбинациях ($x \pm s.e.$)

Число клеток данного вида на 100	Группа, получавшая в/б MeO-НЧ									
	Конт-роль	Al_2O_3	TiO_2	SiO_2	$Al_2O_3 + TiO_2$	$Al_2O_3 + SiO_2$	$TiO_2 + SiO_2$	$Al_2O_3 + TiO_2 + SiO_2$ в половинной дозировке	$Al_2O_3 + TiO_2 + SiO_2$ в полных дозах	$Al_2O_3 + TiO_2 + SiO_2$ в полных дозах на фоне БПК
Безъядерные гепатоциты	10,30 \pm 1,09	17,60 \pm 0,98*	41,27 \pm 1,36*	39,67 \pm 2,58*	29,45 \pm 1,47*	41,88 \pm 1,72*	41,90 \pm 1,48*	16,92 \pm 0,81**	31,85 \pm 1,74*	27,13 \pm 1,20**
Двухъядерные гепатоциты	6,65 \pm 0,83	5,67 \pm 0,55	4,13 \pm 0,47*	3,27 \pm 0,46*	5,13 \pm 0,46	3,13 \pm 0,37*	3,75 \pm 0,52*	5,00 \pm 0,33*	4,05 \pm 0,78*	3,35 \pm 0,32*
Клетки Купфера	14,28 \pm 0,45	18,07 \pm 0,62*	21,43 \pm 0,68*	21,03 \pm 0,62*	19,58 \pm 0,60*	18,80 \pm 0,72*	21,05 \pm 0,53*	20,58 \pm 0,48*	20,08 \pm 0,75*	18,58 \pm 0,53*

Примечание: значком * обозначено статистически значимое ($P < 0,05$ по t Стьюдента) отличие от соответствующего контрольного показателя; # - от показателя группы, получавшей тройную комбинацию в полной дозировке без БПК. Кроме того отличаются статистически значимо: (1) по всем показателям группа, подвергавшаяся воздействию Al_2O_3 -НЧ - от групп изолированного воздействия двух других MeO-НЧ; (2) по числу безъядерных гепатоцитов группа, подвергавшаяся воздействию (Al_2O_3 -НЧ + TiO_2 -НЧ) - от групп изолированного воздействия обоих компонентов; группа, подвергавшаяся воздействию (Al_2O_3 -НЧ + SiO_2 -НЧ) - от группы изолированного воздействия Al_2O_3 -НЧ; группа, подвергавшаяся воздействию (Al_2O_3 -НЧ + TiO_2 -НЧ) - от группы изолированного воздействия Al_2O_3 -НЧ; (3) по числу двухъядерных гепатоцитов группа, подвергавшаяся воздействию (Al_2O_3 -НЧ + SiO_2 -НЧ) - от группы изолированного воздействия Al_2O_3 -НЧ; (4) по числу клеток Купфера группа, подвергавшаяся воздействию (Al_2O_3 -НЧ + TiO_2 -НЧ) - от группы изолированного воздействия TiO_2 -НЧ; группа, подвергавшаяся воздействию (Al_2O_3 -НЧ + SiO_2 -НЧ) - от группы изолированного воздействия SiO_2 -НЧ

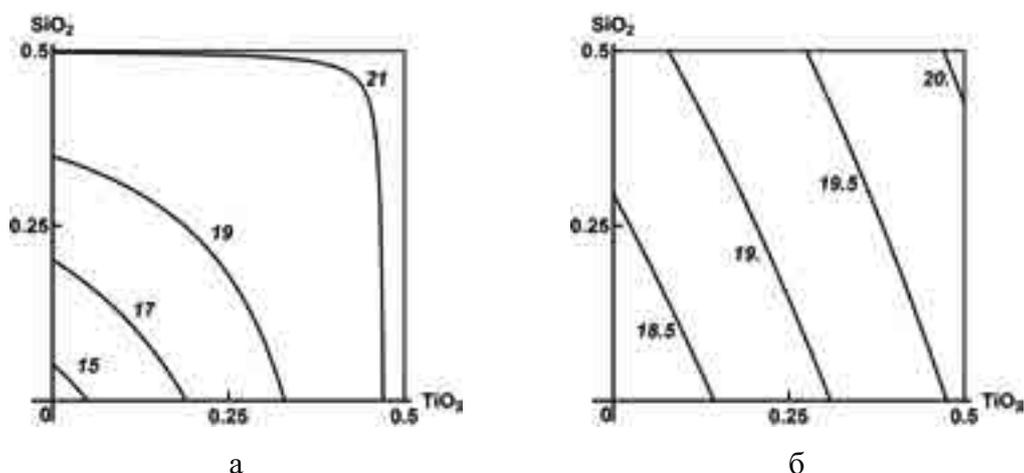


Рис. 7. Изоболограммы комбинированной субхронической токсичности SiO_2 -НЧ + TiO_2 -НЧ, оцениваемой по увеличению числа клеток Купфера: (а) субаддитивность однонаправленного действия в отсутствие третьего MeO-НЧ, (б) аддитивность - на фоне действия Al_2O_3 -НЧ (пример трёхфакторного действия, относимого к классу А). На осях дозы соответствующих MeO-НЧ в мг на крысу; числа на изоболах обозначают величину эффе́кта (%%)

Таблица 3

Повышение коэффициента фрагментации (Кфр) геномной ДНК в ПДАФ-тесте на ядросодержащих клетках крови крыс после субхронического воздействия различных MeO-НЧ отдельно, в бинарных и тройной комбинациях ($x \pm s.e.$)

Воздействие	Кфр
Al ₂ O ₃ -НЧ	0,4470+0,0038 ^{*+x}
TiO ₂ -НЧ	0,4328+0,00548 [*]
SiO ₂ -НЧ	0,4288+0,0061 [*]
Al ₂ O ₃ -НЧ +TiO ₂ -НЧ	0,5416+0,0046 ^{*@}
Al ₂ O ₃ -НЧ +SiO ₂ -НЧ	0,4872+0,0041 ^{*x@}
TiO ₂ -НЧ+SiO ₂ -НЧ	0,4391+0,0061 ^{*+ x}
Al ₂ O ₃ -НЧ+TiO ₂ -НЧ+SiO ₂ -НЧ (половинные дозы)	0,4849+0,0068 ^{*+ x@}
Al ₂ O ₃ -НЧ +TiO ₂ -НЧ+SiO ₂ -НЧ (полные дозы)	0,6430+0,0189 ^{*+ x@}
Al ₂ O ₃ -НЧ +TiO ₂ -НЧ+SiO ₂ -НЧ (полные дозы) +БПК	0,4742+0,0067 ^{*+ x@}
БПК	0,4143+0,0047
Контроль	0,4023+0,0064

Примечание: Значками обозначены показатели, отличающиеся статистически значимо ($P < 0,05$ по t Стьюдента): * - от контрольного показателя, + - от показателя при воздействии TiO₂-НЧ, x - от показателя при воздействии SiO₂-НЧ, @ - от показателя при воздействии SiO₂-НЧ. Кроме того, статистически значимо различие между группами, получавшими тройную комбинацию MeO-НЧ в полной и в половинной дозировке, а также в полной дозировке и в такой же дозировке на фоне БПК

следований было найдено, что генотоксичность НЧ серебра и золота [3], оксидов марганца и никеля [6], оксидов меди, свинца и цинка [5, 9] является *полиорганичной*. При этом оказалось, что хотя степень повышения показателя Кфр может быть различной для разных органов, однако *сравнительная* генотоксичность разных НЧ, оцениваемая для всех органов, как правило, однозначна. Поэтому в дальнейших исследованиях мы сочли возможным ограничиться ПДАФ-тестированием одного рода клеток целостного организма, а именно ядросодержащих клеток циркулирующей крови.

Судя по этому тесту, все три MeO-НЧ дали статистически значимый дозозависимый генотоксический эффект (Табл. 3). При этом сравнительная генотоксичность изученных наночастиц убывает в последовательности Al₂O₃-НЧ >> TiO₂-НЧ ≥ SiO₂-НЧ. (Ещё раз отметим, что более высокий эффект действия Al₂O₃-НЧ по сравнению с SiO₂-НЧ и TiO₂-НЧ особо существенен, принимая во внимание, что дозировка первого была вдвое меньшей.) Изоболограммы RSM-модели, которые мы не приводим

ввиду ограниченного объёма статьи, показали, что для пары (SiO₂-НЧ + TiO₂-НЧ) по всей области доз и ответов действительно выявлена субаддитивность, а для пары (TiO₂-НЧ + Al₂O₃-НЧ) – несомненная супераддитивность, которая для пары (SiO₂-НЧ + Al₂O₃-НЧ) выступает лишь как едва заметное (и статистически не значимое) отклонение от аддитивности. При этом сопоставление изоболограмм для той или иной бинарной комбинации в отсутствии или в присутствии третьего фактора свидетельствует о том, что если в качестве этого фоновго фактора рассматривается Al₂O₃-НЧ, то явная субаддитивность действия двух остальных переходит в аддитивность с тенденцией к супераддитивности, то есть в тип комбинированного действия, более неблагоприятный для организма (класс А). Если же третьим фактором является TiO₂-НЧ, то генотоксичность комбинации (SiO₂-НЧ + Al₂O₃-НЧ), являющаяся без этого фактора строго аддитивной, приближается к однофакторной, определяемой в основном дозой Al₂O₃-НЧ, что менее неблагоприятно (класс В). Наконец, добавление SiO₂-

НЧ к комбинации (TiO_2 -НЧ + Al_2O_3 -НЧ) фактически не изменила супераддитивный тип её действия (класс С). Особо отметим, что фрагментация ДНК была на фоне приёма БПК ослаблена даже в большей степени, чем при уменьшении вдвое действующей дозы трёх MeO -НЧ.

Заключение. Субхроническая интоксикация, развившаяся под влиянием MeO -НЧ, изученных в настоящем исследовании, характеризовалась относительно малым числом сдвигов функциональных и биохимических интегральных показателей. Вместе с тем, морфометрические показатели токсического повреждения почек и печени свидетельствуют о несомненной органо-токсичности всех изученных MeO -НЧ, качественно однотипной, но выраженной неодинаково сильно. В полном соответствии с ранее накопленными данными по другим MeO -НЧ, ПДАФ-тест выявил, что при изученных нано-интоксикациях имеет место усиленная фрагментация геномной

ДНК. По большей части всех этих неблагоприятных эффектов наночастицы оксида алюминия оказались наиболее активными.

В том, что касается типологии комбинированной токсичности, наши новые результаты также в принципе сходны с ранее полученными не только для других MeO -НЧ, но и для метал-ионов, подтверждая её неоднозначность для одной и той же пары действующих токсикантов в зависимости от соотношения доз, от конкретного эффекта, по которому эта токсичность оценивается, а нередко и от выраженности такого эффекта. С методической точки зрения, получено новое подтверждение того, что Response Surface Methodology является адекватным способом математического моделирования комбинированной токсичности.

Многие неблагоприятные эффекты действия комбинации [Al_2O_3 -НЧ+ TiO_2 -НЧ+ SiO_2 -НЧ], включая её генотоксичность, были существенно ослаблены пероральным назначением комплекса безвредных биопротекторов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES:

1. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Degtyareva T.D., Sutunkova M.P., Yeremenko O.S., Minigaliev I.A. Experimental estimates of the toxicity of iron oxide Fe_3O_4 (magnetite) nanoparticles. *Cent Eur J Occup Environ Med.* 2010; 16: 47-63.
2. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Khodos M.Y., Shur V.Y., Shishkina E.V., et al. Uptake of some metallic nanoparticles by, and their impact on pulmonary macrophages in vivo as viewed by optical, atomic force, and transmission electron microscopy. *J Nanomed Nanotechnol.* 2012; 3: 1-8.
3. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Makeyev O. H., Shur V.Ya., Beikin Y. B., et al. Comparative in vivo assessment of some adverse bio-effects of equidimensional gold and silver nanoparticles and the attenuation of nanosilver's effects with a complex of innocuous bioprotectors. *Int J Mol Sci.* 2013; 14: 2449-2483.
4. Кацнельсон Б.А., Минигалиева И.А., Привалова Л.И., Сутункова М.П., Гурвич В.Б., Шур В.Я., и др. Реакция глубоких дыхательных путей крысы на однократное интратрахеальное введение наночастиц оксидов никеля и марганца или их комбинации и ее ослабление биопротекторной премедикацией. *Токсикологический вестник.* 2014; 6: 8-14. /Katsnelson B.A., Minigaliev I.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Shur V. Ya., et al. Lower airways response in rats to a single or combined intratracheal instillation of manganese and nickel nanoparticles and its attenuation with a bio-protective pre-treatment. *Toksikol Vestnik.* 2014; 6: 8-14 (in Russian).
5. Privalova L.I., Katsnelson B.A., Loginova N.V., Gurvich V.B., Shur V.Y., Valamina I.E., et al. Subchronic Toxicity of Copper Oxide Nanoparticles and Its Attenuation with the Help of a Combination of Bioprotectors. *Int J Mol Sci.* 2014; 15: 12379-12406.
6. Minigaliev I.A., Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Shur V.Y., et al. Attenuation of combined nickel (II) oxide and manganese (II,III) oxide nanoparticles' adverse effects with a complex of bioprotectors. *Int J of Mol Sci.* 2015; 16(9): 22555-22583.
7. Katsnelson B.A., Minigaliev I.A., Panov V.G., Privalova L.I., Varaksin A.N., Gurvich V.B., et al. Some patterns of metallic nanoparticles' combined subchronic toxicity as exemplified by a combination of nickel and manganese oxide nanoparticles. *J Food Chem Toxicol.* 2015; 86: 351-364.
8. Sutunkova M.P., Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Konyshova L.K., Shur V.Ya., et al. 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.* 2016; 363: 19-28.
9. Minigaliev I.A., Katsnelson B.A., Panov V.G., Privalova L.I., Varaksin A.N., Gurvich V.B., et al. In vivo toxicity of copper oxide, lead oxide and zinc oxide nanoparticles acting in different combinations and its attenuation with a complex of innocuous bio-protectors. *Toxicology.* 2017; 380: 72-93.
10. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Minigaliev I.A., Gurvich V.B., Shur V.Y., et al. Experimental research into metallic and metal oxide nanoparticle toxicity in vivo. In: B. Yan, H. Zhou, J. Gardea-Torresdey (Eds.). "Bioactivity of Engineered Nanoparticles", Springer; 2017; Chapter 11: 259-319.
11. Minigaliev I.A., Katsnelson B.A., Panov V.G., Varaksin A.N., Gurvich V.B., Privalova L.I., et al. Experimental study and mathematical modeling of toxic metals combined action as a scientific foundation for occupational and environmental health risk assessment. A summary of results obtained by the Ekaterinburg research team (Russia). *Toxicol Rep.* 2017; 4C: 194-201.
12. Минигалиева И.А. Некоторые закономерности комбинированной токсичности металлооксидных наночастиц. *Токсикологический Вестник.* 2016; 6: 18-24. / Minigaliev I.A. Some regularities of metal oxide NPs combined toxicity. *Toksikol Vestnik.* 2014; 6: 8-14 (in Russian).
13. Varaksin A.N., Katsnelson B.A., Panov V.G., Privalova L.I., Kireyeva E.P., Valamina I.E., et al. Some considerations concerning the theory of combined toxicity: a case study of subchronic experimental intoxication with cadmium and lead. *Food Chem Toxicol.* 2014; 64: 144-156.
14. Katsnelson B.A., Panov V.G., Minigaliev I.A., Varaksin A.N., Privalova L.I., Slyshkina T.V., et al. Further development of the theory and mathematical description of combined toxicity: an approach to classifying types of action of three factorial combinations (a case study of manganese-chromium-nickel subchronic intoxication). *Toxicology.* 2015; 334: 33-44.
15. Bermudez E., Mangum J.B., Wong B.A., Asgharian B., Hext P.M., Warheit D.B., et al. Pulmonary responses of mice, rats, and hamsters to subchronic inhalation of ultrafine titanium dioxide particles. *Toxicol Sci.* 2004; 77(2): 347-57.
16. Grassian V.H., O'Shaughnessy P.T., Adamcakova-Dodd A., Pettibone J.M., Thorne P.S. Inhalation exposure study of titanium dioxide nanoparticles with a primary particle size of 2 to 5 nm. *Environ. Health Perspect.* 2007; 115: 397-402.
17. Park E.-J., Yoon J., Choi K., Yi J., Park K. Induction of chronic inflammation in mice treated with titanium dioxide nanoparticles by intratracheal instillation. *Toxicology.* 2009; 260: 37-46.
18. Iavicoli I., Leso V., Fontana L., Bergamaschi A. Toxicological effects of titanium dioxide nanoparticles: a review of in vitro mammalian studies. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2011; 15: 481-508.
19. Husain M., Saber A.T., Guo C., Jacobsen N.R., Jensen K.A., Yauk C.L., et al. Pulmonary instillation of low doses of titanium dioxide nanoparticles in mice leads to particle retention and gene expression changes in the absence of inflammation. *Toxicology and Applied Pharmacology.* 2013; 269: 250-262.
20. Shakeel M., Jabeen F., Iqbal R., Chaudhry A.S., Zafar S., Ali M., et al. Assessment of titanium dioxide nanoparticles (TiO_2 -NPs) induced hepatotoxicity and ameliorative effects of Cinnamomum cassia in Sprague-Dawley rats. *Biological Trace Element Research.* 2017; 1-13
21. Kreyling W.G., Holzwarth U., Haberl N., Kozempel J., Hirn S., Wenk A., et al. Quantitative Biokinetics of Titanium Dioxide Nanoparticles After Intravenous Injection in Rats: Part 1. *Nanotoxicology.* 2017; 11(4): 434-442.
22. Park E.J., Park K. Oxidative stress and pro-inflammatory responses induced by silica nanoparticles in vivo and in vitro. *Toxicol. Lett.* 2009; 184 (1): 18-25.
23. Eom H.J., Choi J. Oxidative stress of silica nanoparticles in human bronchial epithelial cell, Beas-2B. *Toxicol. In Vitro.* 2009; 2 (7): 1326-1332.
24. Kim Y.J., Yu M., Park H.O., Yang S.I. Comparative study of cytotoxicity, oxidative stress and genotoxicity induced by silica nanomaterials in human neuronal cell line. *Mol. Cell. Toxicol.* 2010; 6(4): 336-343.
25. Sergent J.A., Paget V., Chevillard S. Toxicity and genotoxicity of nano-SiO₂ on human epithelial intestinal HT-29 cell line. *Ann. Occup. Hyg.* 2012; 56(5): 622-630.
26. Tetsuka E., Shimizu Y., Teruya K., Myojin-Maekawa Y., Shimamoto F., Watanabe H., et al. Liver injury induced by 30- and 50-nm-diameter silica nanoparticles. *J-STAGE.* 2012; 36(3): 370-375.
27. Petrick L., Rosenblatt M., Paland N., Aviram M. Silicon dioxide nanoparticles increase macrophage atherogenicity: stimulation of cellular cytotoxicity,

oxidative stress, and triglycerides accumulation. *Environ. Toxicol.* 2016; 31(6): 713-723.

28. Ren L., Zhang J., Zou Y., Zhang L., Wei J., Shi Z., et al. Silica nanoparticles induce reversible damage of spermatogenic cells via RIPK1 signal pathways in C57 mice. *Int. J. Nanomedicine.* 2016; 11: 2251-2264.
29. Murugadoss S., Lison D., Godderis L., Van Den Brule S., Mast J., Brassinne F., et al. Toxicology of silica nanoparticles: an update. *Arch. Toxicol.* 2017; 91(9): 2967-3010.
30. Sutunkova M.P., Solovyeva S.N.,

Katsnelson B.A., Gurvich V.B., Privalova L.I., Minigalieva I.A., et al. A paradoxical response of the rat organism to long-term inhalation of silica containing submicron (predominantly nanoscale) particles of a collected industrial aerosol at realistic exposure levels. *Toxicology.* 2017; 384: 59-68.

31. Arul Prakash F., Dushendra Babu G.J., Lavanya M., Shenbaga Vidhya K., Devasena T. Toxicity Studies of Aluminium Oxide Nanoparticles in Cell Lines. *International Journal of Nanotechnology and Applications.* 2011; 5(2): 99-107.

32. Radziun E., Dudkiewicz Wilczyńska J., Książek I., Nowak K., Anuszevska E.L., Kunicki A., et al. Assessment of the cytotoxicity of aluminum oxide nanoparticles on selected mammalian cells. *Toxicol. In Vitro.* 2011; 25(8): 1694-700.

33. Park E.J., Lee G.H., Yoon C., Jeong U., Kim Y., Cho M.H., et al. Biodistribution and toxicity of spherical aluminum oxide nanoparticles. *J. Appl. Toxicol.* 2016; 36(3): 424-33.

34. Panov V.G., Varaksin A.N., Minigalieva I.A., Katsnelson B.A. The Response Surface Methodology as an

approach of choice to modeling and analyzing combined toxicity: theoretical premises, the most important inferences, experimental justification. *Biom. Biostat. J.* 2017; 1(1): 112-124.

35. Katsnelson B.A., Panov V.G., Minigalieva I.A., Varaksin A.N., Privalova L.I., Slyshkina T.V., et al. Further development of the theory and mathematical description of combined toxicity: an approach to classifying types of action of three-factorial combinations (a case study of manganese-chromium-nickel subchronic intoxication). *Toxicology.* 2015; 334: 33-44.

I.A. Minigalieva¹, B.A. Katsnelson¹, L.I. Privalova¹, M.P. Sutunkova¹, V.B. Gurvich¹, V.Y. Shur², E.V. Shishkina², I.E. Valamina³, O.G. Makeyev³, V.G. Panov⁴, A.N. Varaksin⁴, S.V. Klinova¹, S.V. Solovyeva¹, E.Y. Meshcheryakova³

COMPARATIVE AND COMBINED TOXICITY OF ALUMINIUM, TITANIUM AND SILICON OXIDES NANOPARTICLES AND ITS ALLEVIATION WITH THE COMPLEX OF BIOPROTECTORS

¹The Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection of Industrial Workers, Rospotrebnadzor, 620014, Ekaterinburg, Russian Federation

²Ural Center for Shared Use «Modern nanotechnologies», Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin, 620000, Ekaterinburg, Russian Federation

³The Central Research Laboratory, Ural State Medical University, 620109, Ekaterinburg, Russian Federation

⁴Institute of Industrial Ecology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 620990, Ekaterinburg, Russian Federation

Stable suspensions of metal/metalloid oxide nanoparticles (MeO-NPs) obtained by laser ablation of 99.99% pure elemental aluminum, titanium or silicon under a layer of deionized water were used separately or in different combinations to induce subchronic intoxications in rats. To this end, MeO-NPs had been repeatedly injected intraperitoneally (i.p.) 18 times during 6 weeks before a large number of functional, biochemical and morphometric indexes for the organism's status were measured. It was found that, in many respects, the Al₂O₃-NPs were the most toxic as such and the most dangerous component of the studied combinations. Mathematical modeling with the help of the Response Surface Methodology has shown that the response of the organism to a simultaneous exposure to any two of the MeO-NPs under study is characterized by all possible types of combined toxicity (additivity, subadditivity or superadditivity of unidirectional action and different variants of opposite effects) depending on which outcome this type is estimated for as well as on the levels of the effect and dose. With any third MeO-NP species acting in the background, the type of combined toxicity displayed by the other two can change significantly. Many adverse effects produced by the [Al₂O₃-NP+TiO₂-NP+SiO₂-NP]-combination, including its genotoxicity, were substantially attenuated by giving to rats per os during the entire exposure period complex of innocuous bioprotective substances.

Keywords: nanoparticles, subchronic effects, comparative and combined toxicity, bioprotectors.

Материал поступил в редакцию 15.01.2018 г.

