

4. Prasad A. S. Clinical, immunological, anti-inflammatory and antioxidant roles of zinc // *Exp. Gerontol.* 2008. Vol. 43. Pp. 370–377.
5. Prasad A. S., Bao B. et al. Antioxidant effect of zinc in humans // *Free Radic. Biol. Med.* 2004. Vol. 37. Pp. 1182–1190.
6. Briganti S., Picardo M. Antioxidant activity, lipid peroxidation and skin diseases. What's new // *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 2003. Vol. 17. Pp. 663–669.
7. Berkow R. L., Wang D. et al. Enhancement of neutrophil superoxide production by pre-incubation with recombinant human tumor necrosis factor // *J. Immunol.* 1987. Vol. 139. Pp. 3783–3791.
8. Ozaki Y., Ohashi T., Kume S. Potentiation of neutrophil function by recombinant DNA-produced interleukin-1 $\pm$  // *J. Leukoc. Biol.* 1987. Vol. 42. Pp. 621–627.
9. Иванов О. Л., Кочергин Н. Г. Эффективность геля и крем Cu-Zn при атопической экземе кистей // *Вестн. дерматол. и венерол.* 2005. № 1. С. 56–58.
10. Скрипкин Ю. К., Петровский Ф. И., Феденко Е. С. и др. Активированный пиритион цинка («Скин-Кап»): Механизмы действия. Клиническое применение // *Рос. аллергол. журн.* 2007. № 3. С. 70–75.
11. Позднякова О. В. Местная терапия себорейного дерматита // *Вестн. дерматол. и венерол.* 2005. № 5. С. 45–47.

## **ОЦЕНКА КЛЕТочНОЙ РЕАКЦИИ ГЛУБОКИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ НА ОТЛОЖЕНИЕ НАНОЧАСТИЦ ФЕРРОМАГНЕТИТА**

**М. П. Сутункова, И. А. Минигалиева, Е. П. Киреева, О. С. Еременко**  
*ФГУН «Екатеринбургский медицинский научный центр профилактики  
и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора,  
г. Екатеринбург*

Представления об особой опасности ингалируемых наноразмерных частиц по сравнению с их микроразмерными химическими аналогами базируются на хорошо развитых теоретических основаниях и на значительно расширившейся за последние годы, но все еще недостаточной сумме экспериментальных данных. Анализ литературы свидетельствует о том, что наименее изученным является вопрос о реагировании физиологических защитных механизмов на воздействие наночастиц, которые в силу давно известных зако-

номерностей должны отлагаться за счет диффузионного механизма преимущественно в так называемой пульмонарной (наиболее глубокой) и отчасти в назофарингеальной области респираторного тракта.

Как известно, ключевым механизмом самоочищения пульмонарной области является мобилизация на ее свободную поверхность клеток, способных фагоцитировать мельчайшие частицы, тем самым препятствуя их пенетрации в легочный интерстициум и способствуя выведению по пути мукоцилиарного транспорта [1]. Основным эффектором фагоцитарного звена пульмонарного клиренса являются легочные альвеолярные макрофаги (АМ), а вспомогательным – нейтрофильные лейкоциты (НМ). Исследованиями Л. И. Приваловой и Б. А. Кацнельсона было доказано, что мобилизация нейтрофилов играет важную компенсаторную роль, а сама контролируется количеством продуктов макрофагального разрушения и поэтому тем интенсивнее, чем выше повреждающее действие (цитотоксичность) частиц для макрофага [1–4]. Поэтому отношение нейтрофилов к макрофагам в клеточной популяции бронхо-альвеолярного лаважа служит косвенным показателем цитотоксичности различных частиц.

Предметом дискуссии пока служит то, в какой мере эти закономерности, надежно обоснованные для частиц микрометрового диапазона, справедливы и для наночастиц. Высказываются утверждения, согласно которым наночастицы плохо распознаются защитными механизмами вообще [5] и, в частности, вызывают слабую аттракцию альвеолярных макрофагов и поэтому неэффективно выводятся из легких [6, 7]. Однако эти гипотезы представляются недостаточно убедительными с эволюционных позиций, поскольку все наземные позвоночные столкнулись с ингаляцией наночастиц (вулканической золы, распыляющейся морской воды, дыма лесных пожаров, сульфатов, образующихся в атмосфере в результате окисления ангидрида и т. д.) тогда же, когда и с ингаляцией микрочастиц, а все механизмы легочного клиренса обнаруживаются уже у земноводных.

Сказанное не исключает возможности количественных различий реагирования этих механизмов на частицы разного размера, но такие различия следует искать на пути накопления конкретных экспериментальных данных, а не только теоретических предположений. При этом сопоставлять следует только те эксперименталь-

ные результаты, которые получены при действии нано- и микрочастиц одной и той же химической природы и при строгой параллельности тестирования их действия, что не всегда соблюдается в литературе. Специально для решения подобной задачи были синтезированы три образца химически идентичных частиц ферромагнетита ( $Fe_3O_4$ ) одинаковой намагниченности, но двух разных наноразмеров (10 и 50 нм) и одного микроразмера (1,0 мкм, т. е. 1 000 нм). Была отработана техника интратрахеального введения крысам суспензий, полученных ультразвуковым диспергированием. Процедура набора суспензии в шприц и введения ее в трахею под контролем зрения укладывается во временной интервал, характеризующийся минимальной степенью агломерации наночастиц. Кинетика этой агломерации была предварительно изучена методом динамического рассеяния света на универсальном анализаторе суспензий *Brookhaven ZetaPlus* (США). Все сравниваемые частицы вводились в дозе 2 мг в 1 мл стерильной дистиллированной воды, поскольку было найдено, что в суспензии на физиологическом растворе агломерация происходит слишком быстро. Животные контрольной группы получали такую же воду без частиц.

Таблица 1

**Основные цитологические характеристики БАЛ  
через 24 часа после интратрахеального введения крысам  
суспензии ферромагнетита (2 мг/мл) в различных фракциях ( $\bar{x} \pm S_x$ )**

Диаметр частиц	Число клеток, млн			НЛ/АМ
	Общее	Альвеолярные макрофаги (АМ)	Нейтрофильные лейкоциты (НЛ)	
–	2,86 ± 0,48	2,30 ± 0,40	0,33 ± 0,06	0,16 ± 0,03
10 нм	20,07 ± 3,86* <sup>□</sup>	2,83 ± 0,63	16,32 ± 3,06* <sup>□</sup>	6,39 ± 0,66* <sup>□</sup>
50 нм	31,86 ± 6,52* <sup>□</sup>	5,74 ± 1,25* <sup>□</sup>	25,40 ± 5,54* <sup>□</sup>	5,05 ± 0,69* <sup>□</sup>
1 мкм	4,22 ± 0,63*	1,67 ± 0,33*	2,15 ± 0,37**	1,61 ± 0,37**

*Примечание:* Значками помечены:

«\*» – статистически значимое различие с контрольной группой;

«<sup>□</sup>» – с группой «10 нм»;

«<sup>□</sup>» – с группой «1 мкм»

( $p < 0,05$ ) по t-критерию Стьюдента.

Как видно из данных таблицы 1, введение наночастиц обоих образцов вызвало значительно более интенсивное увеличение общей клеточности бронхо-альвеолярного лаважа (БАЛ), чем введение микрочастиц, однако такая реакция на 10-нанометровые частицы была несколько слабее, чем на 50-нанометровые. Последнее, вероятно, связано с более быстрым освобождением легких от мельчайших частиц за предшествовавшие лаважу 24 часа благодаря как рассматриваемой ниже повышенной фагоцитарной активности, так и в силу предположительно более высокой растворимости.

Судя по увеличению отношения нейтрофильных лейкоцитов к альвеолярным макрофагам (АМ), показанному даже на фоне менее высокой общей клеточности, цитотоксичность наночастиц диаметром 10 нм несколько выше, чем у наночастиц диаметром 50 нм, при том, что обе эти фракции нанометрового диапазона значительно цитотоксичнее, чем микрометровые частицы того же вещества.

По-видимому, как мельчайшие размеры частиц, так и особенности нано-структуры вещества, с одной стороны, делающие его особо биологически агрессивным, с другой, могут служить причиной повышенной растворимости отлагающихся в легких частиц, обуславливающей ускоренный пульмонарный клиренс, и, в конечном итоге, ослабленное развитие патологических изменений. Такое двойственное значение растворимости давно известно по отношению к ультратонким аэрозолям диоксида кремния в сравнении с кварцевой пылью [1].

При подсчете при оптической микроскопии с увеличением  $\times 1000$  (с иммерсией) частиц, видимых внутри фагоцитирующих их клеток (табл. 2), установлено, что мало «нагруженные» частицами макрофаги и нейтрофилы составляют в 1,7–2,0 раза меньший процент от общего числа соответствующих клеток в бронхо-альвеолярном лаваже тех легких, в которые были введены 10-нанометровые частицы, по сравнению с теми, в которые были введены 50-нанометровые. Другими словами, фагоцитоз последних был менее активен. При этом наночастицы обоих размеров поглощались и макрофагами, и нейтрофилами заметно активнее, чем микрометровые.

**Процентное распределение фагоцитоспособных клеток  
с разной степенью нагрузки частицами магнетита  
сравниваемой дисперсности**

Альвеолярные макрофаги (АМ)		Нейтрофильные лейкоциты (НЛ)	
% АМ с 0–20 частицами	% АМ с > 20 частицами	% НЛ с 0–20 частицами	% НЛ с > 20 частицами
Через 24 часа после введения частиц 10 нм			
9,38 ± 0,25 %	90,62 ± 0,35 %	42,66 ± 0,28 %	57,34 ± 0,38 %
Через 24 часа после введения частиц 50 нм			
19,09 ± 0,21 %	80,91 ± 0,21 %	72,55 ± 0,18 %	27,45 ± 0,19 %
Через 24 часа после введения частиц 1 000 нм			
64,00 ± 0,16 %	36,00 ± 0,16 %	97,75 ± 0,08 %	2,25 ± 0,08 %

Исследованиями Л. И. Приваловой, проводившимися еще в 80–90-е годы прошлого века, было показано, что продукты макрофагального разрушения стимулируют как аттракцию альвеолярных макрофагов и особенно нейтрофильных лейкоцитов, так и фагоцитарную активность макрофагов по отношению к 1-микрометровым полистирольным тест-частицам [1]. Это позволяет объяснить прямое соответствие между цитотоксичностью разных частиц ферромагнетита и «жадностью» их поглощения жизнеспособными фагоцитами.

В целом же представления о якобы беззащитности организма при действии наночастиц явно нуждаются в уточнении.

Еще один, более практический аспект экспериментальной характеристики фагоцитарной реакции легких на введение наночастиц связан с тем, что количественные показатели этой реакции, в особенности отношение нейтрофильных лейкоцитов к альвеолярным макрофагам, позволяют дать сравнительную оценку цитотоксичности разных пылеобразующих веществ, в том числе тех, для которых установлены ПДК в воздухе рабочей зоны. Судя по показателям названного отношения (рис. 1), силикозоопасная пыль кварцита, как и было неоднократно показано ранее, найдена значительно более цитотоксичной, чем пыль диоксида титана, но цитотоксичность 10-нанометровых частиц ферромагнетита еще намного выше.

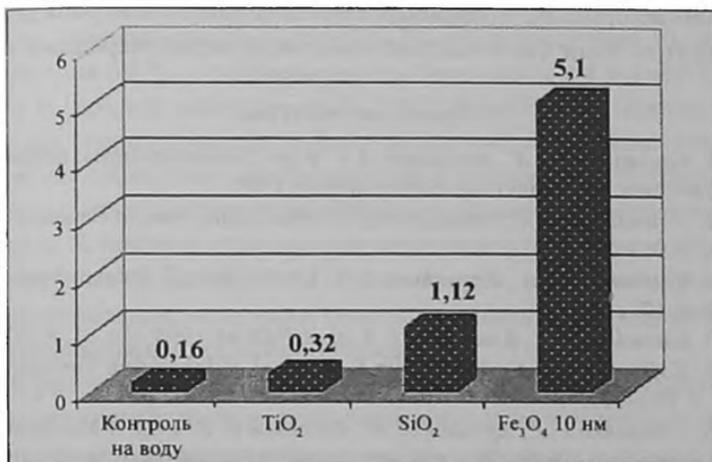


Рис. 1 Отношение числа НЛ к числу АМ в бронхоальвеолярном лаваже у крыс через 24 часа после введения наночастиц Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (10 нм) и полидисперсных пылей TiO<sub>2</sub> и SiO<sub>2</sub> (в дозе 2 мг в 1 мл дист. воды)

Это позволяет в первом приближении предположить, что для таких наночастиц величина ПДК (или на первом этапе – величина ОБУВ) в воздухе рабочей зоны должна быть в два–три раза ниже, чем для пылей с высоким содержанием кристаллического диоксида кремния, которая равна 1 мг/м<sup>3</sup>. Между тем, для обычных полидисперсных пылей железа и оксида железа, химически наиболее близких к ферромагнетиту, принятые в России ПДК равны, соответственно, 10 и 6 мг/м<sup>3</sup>, а для диоксида титана, использованного в этом сравнительном эксперименте как эталон малофиброгенного вещества, – 10 мг/м<sup>3</sup>.

Мы полагаем, что до развития лабораторно-технической базы для проведения строго дозированных хронических ингаляционных затравок nano-аэрозолями именно подобные сопоставления на основе интратрахеальных экспозиций, как и для ускоренного нормирования ПДК и ОБУВ микрометровых частиц [8], являются реальным подходом к установлению ориентировочных безопасных уровней воздействия наноматериалов, потребность в которых становится все более актуальной. Однако контролировать соблюдение столь низких ОБУВ каких бы то ни было наноаэрозолей – задача техничес-

ки очень не простая, и разработка методов такого контроля должна уже на этом этапе быть поставлена в число первоочередных задач.

### Список литературы

1. Кацнельсон Б. А., Алексеева О. Г. и др. Пневмококкозы: патогенез и биологическая профилактика. Екатеринбург, 1995.
2. Katsnelson B. A., Privalova L. I. // Environm. Health Perspect. 1984. Vol. 55. P. 313–325.
3. Katsnelson B. A., Konysheva L. K. et al. // Brit. J. Industr. Med. 1992. Vol. 49. P. 172–181.
4. Katsnelson B. A., Konysheva L. K. et al. // OEM. 1994. Vol. 51. P. 173–180.
5. Katsnelson B. A., Konysheva L. K. et al. // Inhalation Toxicol. 1997. Vol. 9. P. 703–715.
6. Онищенко Г. Г., Арчаков А. И., Бессонов В. В. и др. // Методол. проблемы изучения и оценки био- и нанотехнологий (нановолны, частицы, структуры, процессы, биообъекты) в экологии человека и гигиене окружающей среды / под ред. Ю. А. Рахманина. М., 2007. С. 4–10.
7. Oberdörster G., Oberdörster E., Oberdörster J. // Environm. Health Perspect. 2005. Vol. 113. P. 823–839.
8. Использование клеточных систем «ин vivo» и «ин vitro» для ускорения гигиенической регламентации малорастворимых промышленных аэрозолей : метод. рек. Екатеринбург, 1995. С. 28.

## ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СОВМЕСТНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ТЕХНОГЕННЫХ И СОЦИАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ НА ФОРМИРОВАНИЕ И ТЕЧЕНИЕ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У ДЕТЕЙ (на примере депрессивных угледобывающих территорий Пермского края)

**С. В. Фарносова**

ФГУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий  
управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора,  
г. Пермь

В течение последних нескольких десятилетий в структуре  
общей заболеваемости детей сохраняется стабильно высокий по-