



Соловьева С.Н.¹, Сутункова М.П.¹, Кузьмин С.В.², Привалова Л.И.¹, Гурвич В.Б.¹,
Кацнельсон Б.А.¹

Оценка цитотоксичности реального промышленного аэрозоля, содержащего высокий процент аморфного диоксида кремния в нанометровом диапазоне

¹ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 620014, Екатеринбург, Россия;

²ФБУН «Федеральный научный центр гигиены имени Ф.Ф. Эрисмана» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 141014, Мытищи, Россия

Введение. На данном этапе гигиенической оценки обоснование хотя бы ориентировочных безопасных концентраций в атмосферном воздухе населённых мест наночастиц, является актуальной задачей, нерешённость которой размывает ориентиры управления рисками и лишает надзорные органы нормативной опоры. Одним из принципов научного обоснования гигиенических нормативов допустимого содержания вредных веществ в воздухе является проведение сравнительной токсикологической оценки изучаемого вещества и его химического аналога, который уже имеет ранее установленные гигиенические нормативы (ПДК или ОБУВ).

Материалы и методы. Для изучения цитотоксичности исследуемых наночастиц использована методика сдвига клеточного состава жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛЖ) и исследование некоторых биохимических показателей надосадочной жидкости БАЛЖ. Аутбредным крысам-самкам в виде взвеси интратрахеально вводили взвесь частиц в объёме 1 мл в различных концентрациях, в качестве растворителя использована дистиллированная вода. Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты. При сравнительной оценке цитотоксичности реального промышленного аэрозоля, содержащего 72% аморфного диоксида кремния со средним размером частиц 90 нм (ПА SiO₂), искусственно созданных «engineered» частиц аморфного диоксида кремния со средним размером 43 нм (НЧ SiO₂), коммерческого промышленного образца 100% аморфного диоксида кремния с размером частиц от 5 до 60 нм (АК SiO₂) и образца сравнения стандартного кварца DQ₁₂ в объёме 1 мл водной суспензии. Судя по результатам сдвигов клеточного состава жидкости бронхоальвеолярного лаважа через 24 ч после интратрахеального введения указанных частиц, показано, что биологическая агрессивность (по показателю отношения НЛ/АМ) как НЧ SiO₂, так и АК SiO₂ статистически значимо выше исследуемого промышленного аэрозоля и выше стандартной кварцевой пыли DQ₁₂. Таким образом, цитотоксичность ПА SiO₂ может быть объяснена преимущественным содержанием в нём наночастиц аморфного диоксида кремния.

Заключение. Результаты исследования свидетельствуют о неправомерности применения ОБУВ 0,02 мг/м³ для кремния диоксида аморфного, поскольку в нормативном документе не сказано о размере частиц и не оговорено процентное содержание аморфного SiO₂ в аэрозоле (хотя загрязнение атмосферного воздуха аэрозолем, состоящим только из этого вещества, нереально), в связи с чем данный норматив должен быть пересмотрен.

Ключевые слова: наночастицы; аморфный диоксид кремния; реакция альвеолярного фагоцитоза

Для цитирования: Соловьева С.Н., Сутункова М.П., Кузьмин С.В., Привалова Л.И., Гурвич В.Б., Кацнельсон Б.А. Оценка цитотоксичности реального промышленного аэрозоля, содержащего высокий процент аморфного диоксида кремния в нанометровом диапазоне. *Гигиена и санитария*. 2021; 100 (9): 938–942. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2021-100-9-938-942>

Для корреспонденции: Соловьева Светлана Николаевна, науч. сотр. отд. клиники экспериментальных животных ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП, 620014, Екатеринбург. E-mail: solovyevasn@ymrc.ru

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Участие авторов: Соловьева С.Н. – сбор материала и обработка данных; Сутункова М.П. – концепция и дизайн исследования, написание текста; Кузьмин С.В. – концепция и дизайн исследования; Привалова Л.И. – концепция и дизайн исследования, редактирование текста; Гурвич В.Б. – концепция и дизайн исследования; Кацнельсон Б.А. – концепция и дизайн исследования. Все соавторы – утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

Поступила 15.06.2021 / Принята к печати 17.08.2021 / Опубликовано 20.09.2021

Svetlana N. Solovyeva¹, Marina P. Sutunkova¹, Sergey V. Kuzmin², Larisa I. Privalova¹,
Vladimir B. Gurvich¹, Boris A. Katsnelson¹

Assessment of cytotoxicity of an original industrial aerosol containing a high percentage of amorphous silica in the nanometer range

¹Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation;

²Federal Scientific Center of Hygiene named after F. Erisman, Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, Mytishchi, 141014, Russian Federation

Introduction. At the current stage of hygienic evaluation, the substantiation of at least approximate safe concentrations in the ambient air of populated areas for nanoparticles is an up-to-date challenge. Its persistence dissolves the guidelines for risk management and divests the supervisory bodies of legal support. A comparative toxicological evaluation of the studied substance and its chemical analogue is one of the guidelines for the academic substantiation of the hygienic standards for the permissible content of hazardous substances in the air. It already has previously defined exposure standards.

Materials and methods. To investigate the cytotoxicity of the studied particles, a shift of the cellular composition of the bronchoalveolar lavage fluid (BALF) was used. Also, some biochemical measurements of the BALF supernatant were investigated. Outbred female rats were instilled with a suspension of particles in the

Original article

volume of 1 ml of various concentrations in the form of an intratracheal suspension. Distilled water was used as a solvent. Statistical analysis of the data obtained was performed using the Student's *t*-test.

Results. The comparative assessment of the cytotoxicity of an original industrial aerosol containing 72% amorphous silica with an average particle size of 90 nm (SiO_2 IA) was performed. It also included engineered particles of amorphous silica with an average size of 43 nm (SiO_2 NPs), a commercial, an industrial sample of 100% amorphous silica with a particle size of 5 to 60 nm (amorphous SiO_2), and a reference sample of standard quartz DQ_{12} in a volume of 1 ml of water suspension. Under the findings of changes in the cellular composition of the bronchoalveolar lavage fluid 24 hours after the intratracheal instillation of these particles, it was revealed that the biological power (in terms of the NL/AM ratio) of both SiO_2 NPs and amorphous SiO_2 is statistically much higher than the industrial aerosol under study. It is also higher than the standard quartz dust DQ_{12} . In this regard, the cytotoxicity of SiO_2 IA may be explained by the predominant content of amorphous silica nanoparticles in it.

Conclusion. Under the obtained results, the appropriateness of using indicative safe exposure levels (ISEL) of 0.02 mg/m^3 for amorphous silica needs to be reviewed. The safe reference level of impact guideline does not contain data concerning the particle size and the percentage of amorphous SiO_2 in the aerosol. Nevertheless, it is impossible to pollute the ambient air with an aerosol containing only this substance.

Keywords: nanoparticles; amorphous silica; alveolar phagocytosis reaction

For citation: Solovyeva S.N., Sutunkova M.P., Kuzmin S.V., Privalova L.I., Gurvich V.B., Katsnelson B.A. Assessment of cytotoxicity of an original industrial aerosol containing a high percentage of amorphous silica in the nanometer range. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2021; 100 (9): 938-942. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2021-100-9-938-942> (In Russ.)

For correspondence: Svetlana N. Solovyeva, MD, researcher, Department of the Experimental Animals, Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation. E-mail: solovyevasn@ymrc.ru

Information about authors:

Solovyeva S.N., <https://orcid.org/0000-0001-8580-403X>

Sutunkova M.P., <https://orcid.org/0000-0002-1743-7642>

Kuzmin S.V., <https://orcid.org/0000-0002-9119-7974>

Privalova L.I., <https://orcid.org/0000-0002-1442-6737>

Gurvich V.B., <https://orcid.org/0000-0002-6475-7753>

Katsnelson B.A., <https://orcid.org/0000-0001-8750-9624>

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

Acknowledgement. The study had no sponsorship.aa

Contribution: Solovyeva S.N. – collection and processing of material; Sutunkova M.P. – the concept and design of the study, writing; Kuzmin S.V. – the concept and design of the study; Privalova L.I. – the concept and design of the study, editing; Gurvich V.B. – the concept and design of the study; Katsnelson B.A. – concept and design of the study. All authors are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of the manuscript final version.

Received: June 15, 2021 / Accepted: August 17, 2021 / Published: September 20, 2021

Введение

Из научной литературы хорошо известна высокая биологическая агрессивность наночастиц диоксида кремния, который за последние годы вошёл в число пяти искусственных наноматериалов, производимых и используемых в наибольшем объёме [1–14]. Кроме того, давно установлено, что наночастицы диоксида кремния составляют значительную фракцию аэрозолей конденсации, образующихся при таких технологических процессах, как электротермическое производство кремнийсодержащих ферросплавов и технически чистого кремния [15], однако вклад в токсическое действие именно этой фракции не изучен.

Поэтому наше исследование сфокусировано на оценке сравнительной цитотоксичности реального промышленного аэрозоля, содержащего высокий процент аморфного диоксида кремния в нанометровом диапазоне и искусственно созданных наночастиц аморфного диоксида кремния.

Материалы и методы

Экспериментальные исследования проведены на половозрелых аутбредных белых крысах-самках собственного разведения с исходной массой тела около 200 г (начальный возраст 3–4 мес) в двух сериях сравнительного эксперимента. Все экспериментальные животные делились на группы не менее 10 крыс в каждой. Каждому животному присваивали групповую и индивидуальную метку, характеризующую принадлежность к группе и индивидуальный номер в эксперименте.

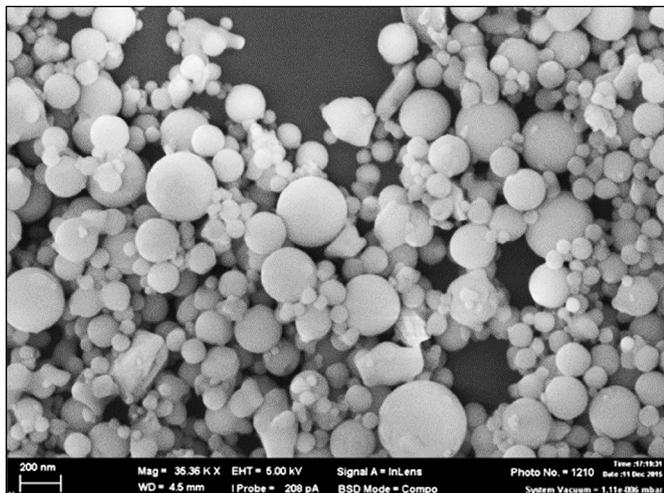
Животные получали чистую бутилированную воду и стандартный сбалансированный корм, в качестве подстилочного материала использовали гранулы кукурузных початков. Средняя температура за день в помещении не выходила за пределы нормы ($16\text{--}22^\circ\text{C}$ и относительной влажности воздуха $30\text{--}70\%$). Содержание, питание, уход за животными и выведение их из эксперимента осуществляли в соответствии с требованиями Международных руководящих принципов биомедицинских исследований с участием животных (Council for International Organizations of Medical Sciences and International Council for Laboratory Animal Science). Исследования одобрены Локальным независимым этическим комитетом ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора.

В качестве объекта экспериментального исследования выбран аэрозоль конденсации, типичный по механизму образования и размерности частиц, но при этом содержащий наиболее высокий процент диоксида кремния по сравнению с другими промышленными аэрозолями рассматриваемого типа и не содержащий в отличие от них существенной примеси тех или иных токсичных металлов. Речь идёт о том веществе, выбрасываемом в атмосферный воздух, которое образуется при выплавке элементного («металлического») кремния в рудно-термических электропечах с открытым коллошником.

В процессе высокотемпературного восстановления коксом диоксида кремния в составе загружаемого в эту печь кварцита до свободного элементного кремния (Si) выделяется газообразный монооксид кремния SiO , который при охлаждении газового потока подмешиваемым воздухом вновь окисляется и конденсируется в форме сферических частиц аморфного SiO_2 . Сканирующая электронная микроскопия этого материала выявляет численное преобладание частиц правильной сферической формы и размером менее 100 нм (см. рисунок). Следует учесть, что выделяемый газообразный монооксид кремния SiO при охлаждении газового потока подмешиваемым воздухом окисляется и конденсируется в форме SiO_2 . Нет особых оснований сомневаться в том, что этими сферическими НЧ и такими же субмикронными частицами с диаметром > 100 нм представлен как раз такой аэрозоль конденсации диоксида кремния.

Определение элементного состава НЧ на этих фильтрах, которое проводили методом энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии с помощью сканирующего электронного микроскопа AURIGA CrossBeam (Carl Zeiss NTS, Германия), показало, что в нём действительно преобладают кремний и кислород. Это косвенно подтверждает идентификацию этих НЧ как частиц аэрозоля конденсации SiO_2 .

Однако заметны отдельные относительно крупные частицы неправильной формы, свойственные аэрозолям дезинтеграции и связанные, вероятнее всего, с выносом газовым потоком шихтовых материалов (кварцита и кокса) из поверхностных слоёв колошника. Такая трактовка подтверждается химическим составом смешанного аэрозоля, в котором обнаружено 78% свободного SiO_2 , в том числе 72% аморфного и только 6% кристаллического.



Частицы порошка, отобранного из газохода от зонты над руднотермической печью плавки кремния и просеянного через сито < 2 мкм. Сканирующая электронная микроскопия, ув. $\times 35\,930$.

Particles of powder taken from the gas duct from the umbrella above the ore-thermal furnace for smelting silicon and sifted through a sieve < 2 microns. Scanning electron microscopy, magnification: $\times 35\,930$.

Реакцию альвеолярного фагоцитоза оценивали путём проведения бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) через 24 ч после однократного интратрахеального введения частиц вышеописанного промышленного аэрозоля с размером частиц 90 ± 30 нч (ПА SiO₂); искусственно созданных частиц аморфного диоксида кремния со средним размером 43 ± 22 нм (НЧ SiO₂); коммерческий промышленный образец 100% аморфного ДК с размером частиц от 5 до 60 нм (АК SiO₂) и образца сравнения стандартного кварца DQ₁₂ в объёме 1 мл водной суспензии. НЧ SiO₂ специально готовили в Центре коллективного пользования «Современные нанотехнологии» ФГАОУ ВО «УрФУ им. первого Президента России Б.Н. Ельцина» методом лазерной абляции сверхчистой кварцевой мишени под слоем деионизированной воды в концентрации 0,5 мг/мл. Сферическая форма и размерность частиц были охарактеризованы с использованием сканирующей электронной микроскопии, химическая идентичность — с помощью конфокальной микроскопии комбинационного рассеяния.

Суспензии изучаемых частиц вводили в объёме 1 мл интратрахеальным путём крысам под эфирным рауш-нар-

козом, под контролем зрения (с помощью специальной воронки и бинокулярных очков с подсветкой). Контрольным крысам вводили 1 мл той же самой стерильной деионизированной воды, на которой готовили эти суспензии (Методические рекомендации, 1995).

Для подсчёта общего числа клеток в БАЛЖ в лейкоцитарный меланжер набирали аликвотную пробу и 3% уксусную кислоту с метиленовым синим с дальнейшим подсчётом в камере Горяева. Остальной объём БАЛЖ центрифугировали в течение 4 мин при 1000 об./мин, затем жидкость декантировали и из клеточного осадка готовили мазки на два предметных стекла. Мазки просушивали при комнатной температуре и фиксировали метиловым спиртом. Окрашивание мазка производили азур-эозином. При оптической микроскопии окрашенных мазков при увеличении $\times 1000$ (под иммерсией) проводили подсчёт альвеолярных макрофагов (АМ), нейтрофильных лейкоцитов (НЛ) и прочих клеток. Подсчёт проводили до общего числа подсчитанных клеток, равного 100. С учётом общего числа клеток в БАЛЖ эти проценты пересчитывали на абсолютное число АМ и НЛ.

Биохимические показатели надосадочной жидкости отцентрифугированного БАЛЖа, такие как амилаза, АЛТ, АСТ, ГГТП, глюкоза, определены на биохимическом анализаторе «Кобас Интегра» с использованием соответствующих диагностических наборов.

Различия между среднegrupповыми количественными результатами обрабатывались с помощью критериев Стьюдента с использованием компьютерной программы Excel. Различия между средними величинами считалось статистически значимым, если вероятность возникновения случайного различия не превышала 5% ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

Для проверки гипотезы, что из всех компонентов ПА SiO₂ основной причиной его высокой цитотоксичности являются преобладающие в составе НЧ, проведён эксперимент при интратрахеальном введении (табл. 1).

Сравнительный эксперимент проведён с малыми дозами частиц (0,5 мг) ПА SiO₂ в сравнении со специально созданными НЧ SiO₂ со средним диаметром 43 ± 22 нм и стандартной кварцевой пылью DQ₁₂ (табл. 2).

Как известно, ключевым механизмом самоочистки пульмонарной области дыхательных путей является мобилизация на её свободную поверхность клеток, способных фагоцитировать мельчайшие частицы, тем самым препятствуя их пенетрации в лёгочный интерстициум и способствуя выведению по пути мукоцилиарного транспорта [16]. Основным эффектором фагоцитарного звена пульмонарного клиренса являются лёгочные альвеолярные макрофаги,

Таблица 1 / Table 1

Перечень изучаемых веществ и их характеристики

List of studied substances and their characteristics

Исследуемое вещество Test substance	Содержание аморфного диоксида кремния, % Amorphous silicon dioxide content, %	Средний размер наночастиц, нм Average size of NPs, nm
Промышленный аэрозоль (ПА SiO ₂) Industrial aerosol (IA) of SiO ₂	72	90 ± 30
Искусственно созданные «engineered» наночастицы (НЧ SiO ₂) Artificially engineered nanoparticles (SiO ₂ NPs)	99.999	43 ± 22
Коммерческий промышленный образец (АК SiO ₂) Commercial industrial sample (amorphous SiO ₂)	100	5 ± 60
Стандартный кварцевый порошок (DQ ₁₂) Standard quartz powder DQ ₁₂	—	12

Таблица 2 / Table 2

Число клеток в жидкости, полученной при бронхоальвеолярном лаваже через 24 ч после интратрахеального введения крысам суспензии частиц в дозе 0,5 мг в 1 мл дистиллированной воды ($X \pm Sx$)

The number of cells in the bronchoalveolar lavage fluid obtained 24 hours after intratracheal instillation of a suspension of particles in rats at a dose of 0.5 mg in 1 ml of dist. water ($X \pm Sx$)

Введённое вещество Administered substance	Количество клеток ⁶ Number of cells ⁶			НЛ / АМ NL / AM
	Общее Total	Альвеолярные макрофаги (АМ) Alveolar macrophages (AM)	Нейтрофильные лейкоциты (НЛ) Neutrophilic leukocytes (NL)	
Контроль Control	2.27 ± 0.44	1.20 ± 0.29	1.06 ± 0.33	1.25 ± 0.40
ПА SiO ₂ SiO ₂ IA	3.71 ± 0.73	1.71 ± 0.33	1.95 ± 0.55	1.36 ± 0.38
НЧ SiO ₂ SiO ₂ NPs	4.11 ± 0.89	1.27 ± 0.25	2.79 ± 0.73*	2.50 ± 0.44*
DQ ₁₂	3.60 ± 0.69	1.14 ± 0.13	2.45 ± 0.66	2.51 ± 0.55

Примечание. Здесь и в табл. 3: * – статистически значимое различие с группой «контроль» (при $p < 0,05$ по t -критерию Стьюдента).

Note. Here and in Table 3: * – statistically significant difference with the “control” group (at $p < 0.05$ according to the Student's t -test).

а вспомогательным – нейтрофильные лейкоциты. Исследованиями Л.И. Приваловой и Б.А. Качнельсона доказано, что мобилизация нейтрофилов играет важную компенсаторную роль и контролируется количеством продуктов макрофагального разрушения, и поэтому тем интенсивнее, чем выше повреждающее действие (цитотоксичность) частиц для макрофага. В связи с этим отношение нейтрофилов к макрофагам (НЛ/АМ) в клеточной популяции бронхоальвеолярного лаважа служит косвенным, но достаточно надёжным показателем сравнительной цитотоксичности различных частиц [16]. Как видно из табл. 2, судя по этому показателю, наибольшей цитотоксичностью обладают искусственно созданные НЧ SiO₂. Введение стандартной кварцевой пыли DQ₁₂ и ПА SiO₂ вызывает увеличение притока общей клеточности, в основном за счёт мобилизации нейтрофильных лейкоцитов, однако эти изменения статистически незначимы.

О том же говорят и результаты биохимического исследования надосадочной жидкости БАЛЖ, которое также показало, что искусственно созданные НЧ SiO₂ обладают наиболее выраженной биологической агрессивностью. Если при введении DQ₁₂ наблюдали повышение только уровня АлТ, при введении ПА SiO₂ – повышение АлТ и ГГТП, то при введении НЧ SiO₂ наряду с повышением уровня этих двух ферментов повышался также уровень амилазы (табл. 3).

Для дополнительной проверки вышеприведённой гипотезы проведён ещё один эксперимент аналогичного дизайна только с коммерческим промышленным образцом АК SiO₂ (табл. 4). Кроме того, мы остановили свой выбор на этом образце ещё потому, что одним из принципов установления гигиенических нормативов является проведение сравнительной токсикологической оценки изучаемого вещества с его химическим аналогом, который уже имеет ранее установленные гигиенические нормативы (ПДК или ОБУВ). В СанПиН 1.2.3685-21 «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания» в табл. 1.2 (п. 748) «Ориентировочные безопасные уровни воздействия (ОБУВ) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населённых мест»* установлен **единственный ОБУВ (0,02 мг/м³) для кремния диоксида аморфного.**

Как видно из табл. 4, частицы ПА SiO₂ проявили себя и в этом в интратрахеальном эксперименте менее агрессивными в сравнении с АК SiO₂. Цитотоксичность частиц ПА SiO₂ была в 3,6 раза ниже в сравнении с частицами АК SiO₂.

* СанПин 1.2.3685-21 Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания. – М., 2021.

Таблица 3 / Table 3

Биохимические показатели надосадочной жидкости бронхоальвеолярного лаважа через 24 ч после интратрахеального введения крысам суспензии частиц в дозе 0,5 мг в 1 мл дистиллированной воды ($X \pm Sx$)

Biochemical indices of the supernatant fluid of bronchoalveolar lavage 24 hours after intratracheal instillation of a suspension of particles in rats at a dose of 0.5 mg in 1 ml of dist water ($X \pm Sx$)

Показатели Indices	Контроль Control	НЧ SiO ₂ SiO ₂ NPs	ПА SiO ₂ SiO ₂ IA	DQ ₁₂
Амилаза, Е/л Amylase, u/L	17.45 ± 4.72	39.19 ± 8.37*	28.28 ± 9.94	16.07 ± 4.17
АлТ, Е/л ALT, u/L	0.37 ± 0.09	1.59 ± 0.35*	0.95 ± 0.24*	0.78 ± 0.16*
АсТ, Е/л AST, u/L	7.93 ± 0.71	9.44 ± 1.00	8.99 ± 0.85	7.90 ± 0.69
ГГТП, Е/л GGT, u/L	3.08 ± 0.37	4.34 ± 0.44*	4.67 ± 0.52*	2.48 ± 0.47
Глюкоза, ммоль/л Glucose, mmol/L	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.01 ± 0.01
ЛДГ, Е/л LDH, u/L	46.08 ± 5.37	58.33 ± 9.22	58.15 ± 6.23	34.23 ± 6.26

Таблица 4 / Table 4

Цитологические показатели бронхоальвеолярного лавжа крыс через 24 ч после интратрахеального введения исследуемых веществ в дозе 7 мг на 1 мл дистиллированной воды ($X \pm Sx$)

Cytological indices of rat bronchoalveolar lavage 24 hours after intratracheal instillation of the test substances at a dose of 7 mg per 1 ml water ($X \pm Sx$)

Введённое вещество Administered substance		Клеточность на 10^6 Cell number per 10^6			НЛ / АМ NL / AM
		Общее Total	Нейтрофильные лейкоциты (НЛ) Neutrophilic leukocytes (NL)	Альвеолярные макрофаги (АМ) Alveolar macrophages (AM)	
Контроль	Control	2.04 ± 0.30	0.20 ± 0.03	1.85 ± 0.29	0.11 ± 0.02
АК SiO ₂	Amorphous SiO ₂	11.97 ± 3.84*	7.18 ± 2.84*	4.78 ± 1.53	1.42 ± 0.45*
ПА SiO ₂	SiO ₂ IA	3.71 ± 0.86 •	1.24 ± 0.45* •	2.64 ± 0.53	0.39 ± 0.09* •

Примечание. * – статистически значимое различие с группой «контроль»; • – статистически значимое различие с группой АК SiO₂ (при $p < 0,05$ по t -критерию Стьюдента).

Note. * – statistically significant difference with the "control" group; • – statistically significant difference with the amorphous SiO₂ group (at $p < 0.05$ according to the Student's t -test).

Заключение

Цитотоксическое действие, оценённое по отношению числа нейтрофильных лейкоцитов к числу альвеолярных макрофагов, промышленного кремнийсодержащего аэрозоля, содержащего в своём составе 72% аморфного диоксида кремния со средним размером наночастиц 90 нм, статистически значимо ниже, чем искусственно созданных («engineered») частиц аморфного диоксида кремния со средним размером 43 нм (НЧ SiO₂) и коммерческого про-

мышленного 100% образца аморфного диоксида кремния с размером частиц от 5 до 60 нм. Таким образом, цитотоксичность ПА SiO₂ может быть объяснена преимущественным содержанием в нём наночастиц аморфного диоксида кремния. Тогда правомерность применения вышеуказанного ОБУВ, в котором ничего не сказано о размере частиц и не оговорено процентное содержание аморфного SiO₂ в аэрозоле (хотя загрязнение атмосферного воздуха аэрозолями, состоящим только из этого вещества, нереально), должна быть пересмотрена.

Литература

(п.п. 1–6, 12–14 см. References)

- Землянова М.А., Звездин В.Н., Довбыш А.А., Акафьева Т.И. Сравнительная оценка токсичности водной суспензии нано- и микродисперсного диоксида кремния в субхроническом эксперименте. *Анализ риска здоровью*. 2014; (1): 74–82.
- Зайцева Н.В., Землянова М.А., Звездин В.Н., Довбыш А.А., Гмошинский И.В., Хотимченко С.А. Влияние наночастиц диоксида кремния на морфологию внутренних органов у крыс при пероральном введении. *Анализ риска здоровью*. 2016; (4): 80–94. <https://doi.org/10.21668/health.risk/2016.4.10>
- Шумакова А.А., Арианова Е.А., Шипелин В.А., Сидорова Ю.С., Селифанов А.В., Трушина Э.Н. и соавт. Токсикологическая оценка наноструктурного диоксида кремния. I. Интегральные показатели, аддукты ДНК, уровень тиоловых соединений и апоптоз клеток печени. *Вопросы питания*. 2014; 83(3): 52–62.
- Шумакова А.А., Авреньева Л.И., Гусева Г.В., Кравченко Л.В., Сото С.Х., Ворожко И.В. и соавт. Токсикологическая оценка наноструктурного диоксида кремния. II. Энзимологические, биохимические показатели, состояние системы антиоксидантной защиты. *Вопросы питания*. 2014; 83(4): 58–66.
- Шумакова А.А., Ефимочкина Н.Р., Минаева Л.П., Быкова И.Б., Батищева С.Ю., Маркова Ю.М. и соавт. Токсикологическая оценка наноструктурного диоксида кремния. III. Микроэкологические, гематологические показатели, состояние системы иммунитета. *Вопросы питания*. 2015; 84(4): 55–65.
- Величковский Б.Т., Кацнельсон Б.А. *Этиология и патогенез силикоза*. М.: Медицина; 1964.
- Кацнельсон Б.А., Алексеева О.Г., Привалова Л.И., Ползик Е.В. *Пневмокониоз: патогенез и биологическая профилактика*. Екатеринбург; 1995.

References

- Vance M.E., Kuiken T., Vejerano E.P., McGinnis S.P., Hochella M.F., Rejeski D., et al. Nanotechnology in the real world: Redeveloping the nanomaterial consumer products inventory. *Beilstein J. Nanotechnol.* 2015; 6: 1769–80. <https://doi.org/10.3762/bjnano.6.181>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2008.10.012>
- Eom H.J., Choi J. Oxidative stress of silica nanoparticles in human bronchial epithelial cell, Beas-2B. *Toxicol. In Vitro.* 2009; 23(7): 1326–32. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2009.07.010>
- Kim J.H., Kim C.S., Ignacio R.M., Kim D.H., Sajo M.E., Maeng E.H., et al. Immunotoxicity of silicon dioxide nanoparticles with different sizes and electrostatic charge. *Int. J. Nanomedicine.* 2014; 9(Suppl. 2): 183–93. <https://doi.org/10.2147/ijn.s57934>
- Sergent J.A., Paget V., Chevillard S. Toxicity and genotoxicity of nano-SiO₂ on human epithelial intestinal HT-29 cell line 48. *Ann. Occup. Hyg.* 2012; 56(5): 622–30. <https://doi.org/10.1093/annhyg/mes005>
- Du Z., Zhao D., Jing L., Cui G., Jin M., Li Y., Liu X., et al. Cardiovascular toxicity of different sizes amorphous silica nanoparticles in rats after intratracheal instillation. *Cardiovasc. Toxicol.* 2013; 13(3): 194–207. <https://doi.org/10.1007/s12012-013-9198-y>
- Zemlyanova M.A., Zvezdin V.N., Dovbysh A.A., Akaf'eva T.I. Comparison of toxicity of aqueous suspension of nano- and microfine silica in subchronic experiment. *Анализ риска здоровью*. 2014; (1): 74–82. (in Russian)
- Zaytseva N.V., Zemlyanova M.A., Zvezdin V.N., Dovbysh A.A., Gmoshinskiy I.V., Хотимченко С.А. Impact of silica dioxide nanoparticles on the morphology of internal organs in rats by oral supplementation. *Анализ риска здоровью*. 2016; (4): 80–94. <https://doi.org/10.21668/health.risk/2016.4.10> (in Russian)
- Shumakova A.A., Arianova E.A., Shipelin V.A., Sidorova Yu.S., Selifanov A.V., Trushina E.N., et al. Toxicological assessment of nanostructured silica. I. Integral indices, adducts of DNA, tissue thiols and apoptosis in liver. *Вопросы питания*. 2014; 83(3): 52–62. (in Russian)
- Shumakova A.A., Avren'eva L.I., Guseva G.V., Kravchenko L.V., Soto S.Kh., Vorozhko I.V., et al. Toxicological assessment of nanostructured silica. II. Enzymatic, biochemical indices, state of antioxidative defence. *Вопросы питания*. 2014; 83(4): 58–66. (in Russian)
- Shumakova A.A., Efimochkina N.R., Minaeva L.P., Bykova I.B., Batishcheva S.Yu., Markova Yu.M., et al. Toxicological assessment of nanostructured silica. III. Microecological, hematological indices, state of cellular immunity. *Вопросы питания*. 2015; 84(4): 55–65. (in Russian)
- Patrick L., Rosenblat M., Paland N., Aviram M. Silicon dioxide nanoparticles increase macrophage atherogenicity: Stimulation of cellular cytotoxicity, oxidative stress, and triglycerides accumulation. *Environ. Toxicol.* 2014; 31(6): 713–23. <https://doi.org/10.1002/tox.22084>
- Guo H., Callaway J.B., Ting J.P. Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics. *Nat. Med.* 2015; 21(7): 677–87. <https://doi.org/10.1038/nm.3893>
- Wang W., Li Y., Liu X., Jin M., Du H., Liu Y., et al. Multinucleation and cell dysfunction induced by amorphous silica nanoparticles in an L-02 human hepatic cell line. *Int. J. Nanomedicine.* 2013; 8: 3533–41. <https://doi.org/10.2147/ijn.s46732>
- Velichkovskiy B.T., Katsnel'son B.A. *Etiology and Pathogenesis of Silicosis [Этиология и патогенез силикоза]*. Moscow: Meditsina; 1964. (in Russian)
- Katsnel'son B.A., Alekseeva O.G., Privalova L.I., Polzik E.V. *Pneumokoniosis: Pathogenesis and Biological Prevention [Пневмокониоз: патогенез и биологическая профилактика]*. Екатеринбург; 1995. (in Russian)