

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ И ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ДЛЯ ОЦЕНКИ РИСКА В ГИГИЕНЕ И ЭПИДЕМИОЛОГИИ

УДК 615.9, 614.7

DOI: 10.21668/health.risk/2018.1.10

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ АЭРОЗОЛЯ НАНОДИСПЕРСНОГО ОКСИДА МАРГАНЦА ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ОПАСНОСТИ ЗДОРОВЬЮ РАБОТАЮЩИХ И НАСЕЛЕНИЯ ПРИ ИНГАЛЯЦИОННОЙ ЭКСПОЗИЦИИ

Н.В. Зайцева, М.А. Землянова

Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения, 614045, г. Пермь, ул. Монастырская, 82

Объектом исследования являлся нанодисперсный оксид марганца, синтезированный при взаимодействии ионов Mn^{2+} и MnO_4^- в присутствии нанореакторов – мицелл цетилтриметиламмония бромиды, которые не входили в состав конечного продукта. Методами сканирующей электронной микроскопии, рентгенофазового анализа, динамического лазерного светорассеяния, Брунауэра, Эммета, Тейлора и Баррета, Джойнера и Халенды подтверждено, что синтезированное вещество является наноматериалом с размером сечения частиц игольчатой формы преимущественно 13–29 нм (95,6 % от общего количества частиц).

Оценка острой ингаляционной токсичности проведена в соответствии с положениями «Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Острая ингаляционная токсичность – метод определения класса острой токсичности (метод АТС)» (OECD, Test № 436: 2008, IDT). Показано, что синтезированный нанодисперсный оксид марганца обладает острой токсичностью при ингаляционном поступлении в виде аэрозоля. CL_{50} при 4-часовой экспозиции для крыс самцов и самок линии Wistar массой тела 190 ± 10 г и составляет 120 мг/м^3 . Клиническая картина острой интоксикации характеризуется раздражающим, нейротоксическим эффектами действия, угнетением дыхания. По критерию CL_{50} ($>50\text{--}500$) мг/м^3 тестируемое вещество относится к веществам 2-го класса опасности (в соответствии с международной системой классификации и маркировки химических веществ (GHS)) и к веществам 1-го класса опасности (в соответствии с ГОСТ 12.1.007.76. Классификация и общие требования безопасности). Полученные параметры острой ингаляционной токсичности нанодисперсного оксида марганца свидетельствуют об опасности его негативного воздействия на здоровье при экспонировании работающих в процессе производства и населения сельских территорий, а также необходимости разработки мер безопасности.

Ключевые слова: нанодисперсный оксид марганца, аэрозоль, ингаляционная экспозиция, концентрация частиц, токсичность, опасность для здоровья.

Наноразмерные частицы оксида марганца – перспективный наноматериал для создания высокотехнологичных компонентов, используемых в современных отраслях отечественной промышленности – наноэлектронике, нанооптике, нанохимии. В связи с этим в последнее десятилетие отмечается активный рост производства и потребления продукции, использующей в качестве одного из компонентов нанодисперсный оксид марганца. Данное вещество широко применяется при производстве полу-

проводниковых термисторов [1], солнечных батарей, различных электроприборов, катодных катализаторов, наномагнитных и сорбирующих материалов [2]. Специфичной и перспективной областью применения является создания сенсорных электродов и биосенсоров, для которых могут быть использованы нитевидные частицы оксида марганца [3].

Результаты исследований Hussan, Stefanescu, Frick [4–6] позволяют предположить, что в определенных условиях наночастицы оксида

© Зайцева Н.В., Землянова М.А., 2018

Зайцева Нина Владимировна – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, научный руководитель (e-mail: znv@fcrisk.ru; тел.: 8 (342) 237-25-34).

Землянова Марина Александровна – доктор медицинских наук, заведующий отделом биохимических и цитогенетических методов диагностики (e-mail: zem@fcrisk.ru; тел.: 8 (342) 236-39-30).

марганца при их ингаляционном поступлении в организм могут вызывать негативные последствия для здоровья, в том числе токсического характера. Имеются данные об усилении после 24-часовой экспозиции каталитической генерации активных форм кислорода (АФК) в альвеолярных эпителиальных клетках человека [6]. Обнаружено увеличение уровня на 30 и 80 % внеклеточной и внутриклеточной окисленной формы глутатина (GSSG) соответственно [4]. Elder et al. и Oberdorster [7, 8] описывают условия, при которых наночастицы оксида марганца размером до 30 нм проявляют способность проникать по обонятельному нерву в нейроноподобные клетки РС-12 головного мозга, а также накапливаться в астроцитах, других клетках головного мозга [8, 9]. В экспериментах исследователи наблюдали незначительное угнетение митохондриальной деятельности с дозозависимым снижением содержания дофамина и его метаболитов: ди-гидроксифенилуксусной кислоты и гомованилиновой кислоты. Показано, что установленным явлениям сопутствуют значительное увеличение АФК [5, 10], нейродегенеративные нарушения уже через 2–3 недели экспозиции [7, 8], активация протеолитического расщепления, опосредованного каспазой-3 и протеинкиназой Сδ (ферментами, участвующими в процессах апоптоза, некроза и воспалительных процессах). Показана и активация цикла фосфорилирования [10–13]. Crittenden и Filipov [14] описали, что рост концентрации частиц наноксида марганца вызывает линейное увеличение уровня р38 мутагенактивной протеинкиназы. Последняя, в свою очередь, является пусковым механизмом апоптоза, преждевременной клеточной гибели. Elder et al. [7] указали на факты, свидетельствующие о том, что при воздействии вещества в среднем мозге и полосатом теле, в обонятельной луковице и лобной коре вдвое усиливается экспрессия гена фактора некроза опухоли-α. Установлено, что длительная ингаляционная экспозиция наночастиц оксида марганца формирует активацию белка трансферрина в дофаминергических нервных клетках. Выявлены также структурные изменения в белках Beclin 1 и LC3, что, в свою очередь, может указывать на потенциальную активацию процесса аутофагии [5].

В связи с этим для массового и эффективного внедрения перспективных технологий использования наноразмерного оксида марганца в промышленном производстве вопросы обеспечения безопасности работающих и населения являются актуальным. При этом особую значимость приобретает задача изучения параметров токсичности аэрозоля нанодисперсного оксида марганца при ингаляционном поступлении в организм [15].

Материалы и методы. Эксперимент проводили на водной суспензии нанодисперсного оксида марганца, синтезированной прямым взаимодействием ионов Mn^{2+} и MnO_4 с применением мицелл цетилтриметиламмония бромида (СТАВ, $C_{16}H_{33}(CH_3)_3NBr$) как нанореакторов [16]. Навеску СТАВ растворяли в спирте при комнатной температуре в течение 30 минут при интенсивном перемешивании (СТАВ/EtOH = 1:10). В спиртовой раствор СТАВ добавляли водный раствор 0,4 М $MnSO_4 \cdot 5H_2O$. Смесь постоянно перемешивали в течение 24 часов и по каплям медленно вводили в нее 0,05 М водный раствор $KMnO_4$. Полученную смесь еще в течение суток перемешивали до завершения реакции. Темно-коричневый осадок промывали дистиллированной водой. Цетилтриметиламмония бромид удаляли экстракцией этанолом. Степень экстракции – не менее 98 %. Остаточную концентрацию цетилтриметиламмония бромида после экстракции определяли методом хромато-масс-спектрометрии с тандемным детектором Agilent. Матриksom суспензии являлась бидистиллированная вода, соответствующая ТУ 6-09-2502-77¹.

Размер и форму частиц оксида марганца в водной суспензии оценивали методом динамического лазерного светорассеяния на анализаторе Horiba LB-550 (Horiba, Япония) (отдел химико-аналитических методов исследования ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения), методом электронной микроскопии на сканирующем микроскопе высокого разрешения (3–10 нм, максимальное увеличение 300000X) S-3400N (НИТАСНИ, Япония) с приставкой для рентгеновского энергодисперсионного микроанализа (Bruker, Германия) (кафедра химической технологии ФГБОУ ВО «Пермский национальный исследовательский политехнический университет»).

¹ ТУ 6-09-2502-77. Вода особо чистая марки ОСЧ 27-5. Технические условия. – М., 1978. – 31 с.

Текстурные параметры определяли сорбцией азота при температуре $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ на приборе ASAP 2020 (Micromeritics, США) после дегазации исследуемого материала в вакууме в течение 3 часов. Удельную площадь поверхности образцов ($S_{\text{ВЕТ}}$) рассчитывали по методу, предложенному Брунауэром, Эмметом и Тейлором [17]. Общий объем пор (V_{tot}) рассчитывали из количества азота, адсорбированного при относительном давлении $p/p_0 \approx 0,99$. Распределение пор по размерам определяли по изотермам десорбции, используя метод Баррета, Джойнера и Халенды [18]. Структуру образца исследовали методом рентгенофазового анализа на дифрактометре XRD-7000, Shimadzu, в условиях Cu_{α} -излучения в интервале углов $2\alpha = 1-8^{\circ}$.

Массовую концентрацию оксида марганца в суспензии определяли с помощью масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (приборное обеспечение – Agilent 7500сх с октопольной реакционной/столкновительной ячейкой). Газ-реактант – гелий. Перед выполнением измерений с помощью ультразвукового гомогенизатора Sonopuls Hd 3200, фирма Vandelin, проводили диспергирование вещества с целью разрушения агрегатов и агломератов, возможно, образовавшихся в результате старения образца. Равномерного распределения частиц в объеме добивались непрерывной пульсацией в течение 2 минут при комнатной температуре.

Оценку острой токсичности нанодисперсного оксида марганца при ингаляционном поступлении в виде аэрозоля проводили в порядке, установленном ГОСТ 32646-2014². Острый эксперимент осуществляли на половозрелых крысах самцах и самках линии Wistar с массой тела 190 ± 10 г. Все животные содержались по две особи в клетках стандартного размера из полипропилена. До начала эксперимента был выдержан 14-дневный карантин. Виварий был оборудован вентиляцией, температура воздуха поддерживалась на уровне $23,0 \pm 2,0\text{ }^{\circ}\text{C}$, влажность – на уровне $60,0 \pm 5,0\%$. Животные были обеспечены полноценным полусинтетическим рационом питания. Доступ к пище и воде не ограничивали. Все исследования и процедуры строго соответствовали принципам и

стандартам Европейской конвенции по защите позвоночных животных³, что контролировалось этическим комитетом научного центра, на базе которого проводились исследования.

Ингаляционное поступление наноксида марганца обеспечивали в ингаляционной системе с камерой для всего тела типа TSE Systems GmbH и интегрированным программным модулем. Предотвращение заглатывания частиц примеси с поверхности тела достигалось размещением экспериментальных животных специальных индивидуальных домиков. Экспериментальные животные составили две опытные группы, в каждой из которых было по три самки и три самца. Ингаляционная экспозиция первой опытной группы составила 4 часа при концентрации оксида марганца $0,05\text{ мг/дм}^3$; второй группы также 4 часа, но при концентрации примеси на уровне $0,5\text{ мг/дм}^3$. Приток и отток воздуха в ингаляционную камеру осуществляли со скоростью 10 л/мин. Скорость подачи суспензии в генератор аэрозоля составила $0,014\text{ мл/мин}$ и $0,17\text{ мл/мин}$ соответственно. Это позволяло создать в камере равномерную циркуляцию вещества. Давление внутри камеры поддерживалось на уровне $-0,2 \pm 0,2$ миллибара. Температуру обеспечивали порядка $22-25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Уровень содержания кислорода в камере составлял около 19 %, углекислого газа – не более 1 %.

Реально создаваемую концентрацию оксида марганца в ингаляционной камере оценивали методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой на приборе Agilent 7500сх. Отбор проб воздуха проводили со скоростью $0,5\text{ л/мин}$ в течение 5 минут через 2 и 4 часа экспозиции на фильтр АФА-ВГ-10-1 со скоростью 2 л/мин в течение 5 минут. Определение количества наночастиц в камере (концентрации) выполнено с использованием диффузионного аэрозольного спектрометра, произведенного ООО «АэроНаноТех» (Россия).

Корма во время экспозиции экспериментальные животные не получали.

По завершении экспозиции за животными наблюдали в течение четырех дней, принимая во внимание эффекты возможной отложенной токсичности. Класс опасности по критерию средней смертельной концентрации вещества

² ГОСТ 32646-2014. Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Острая ингаляционная токсичность – метод определения класса острой токсичности (метод АТС) [Электронный ресурс]. – М.: Стандартинформ, 2015. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200116047> (дата обращения: 28.07.2017).

³ Европейская конвенция по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных целей. – Страсбург, 1986. – 13 с.

(CL_{50}) определяли по показателям гибели животных с применением алгоритма, представленного в ГОСТ 32646-2014¹, а также в соответствии с ГОСТ 12.1.007.76⁴.

Результаты и их обсуждение. Исследование суспензии образца в концентрации $36,0 \pm \pm 2,3$ мг/мл с остаточным содержанием СТАВ в суспензии ниже порога определения (0,00001 мг/мл) показало, что распределение частиц по размеру, соответствующего размеру поперечного сечения, имеет следующий вид: 13 нм (1,2 % от общего количества частиц), 15–29 нм (94,3 % от общего количества частиц), 33–87 нм (4,1 % от общего количества частиц). Наибольшая доля в суспензии приходится на частицы размером 19 ± 4 нм (41,2 % от общего количество) (табл. 1).

По результатам сканирующей электронной микроскопии установлено, что визуализируемые частицы (частицы более 20 нм) в основном имеют нитевидную форму (97,8 % от общего количества видимых частиц).

Изотерма адсорбции – десорбции азота соответствует IV типу (изотерма с четко выраженной капиллярной конденсацией). Форма петли гистерезиса принадлежит к H3-типу с выраженной областью заполнения мезопор в интервале относительных давлений (p/p_0) 0,7–1,0. Заполнение мезопор в области более высоких относительных давлений подтверждает присутствие мезопор крупного диаметра (рис. 2). Удельная площадь поверхности частиц нанодисперсного оксида марганца составила $150,23 \text{ м}^2/\text{г}$, общий объем пор – $0,676 \text{ см}^3/\text{г}$. По данным рентгенофазового анализа установлено отсутствие упорядоченной структуры мезопор (рис. 3).

Т а б л и ц а 1

Дисперсность наночастиц оксида марганца в водной суспензии

Размер частиц в суспензии, мкм	Доля частиц, %	Размер частиц в суспензии, мкм	Доля частиц, %
0,0131	1,2	0,0387	0,38
0,0150	9,6	0,0443	0,64
0,0171	16,4	0,0507	0,90
0,0196	20,0	0,0581	0,73
0,0225	21,2	0,0666	0,42
0,0257	13,9	0,0762	0,39
0,0295	13,2	0,0873	0,15
0,0338	0,44		

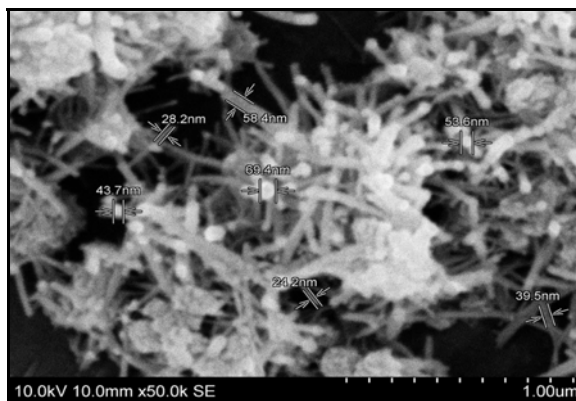


Рис. 1. Изображение частиц нанодисперсного оксида марганца методом сканирующей электронной микроскопии

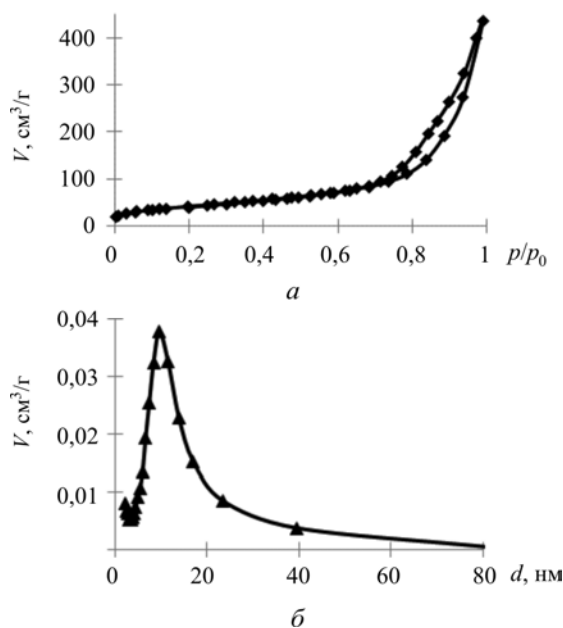


Рис. 2. Изотерма адсорбции – десорбции азота (а) и распределение пор по размерам d (нм) (б) нанодисперсного оксида марганца

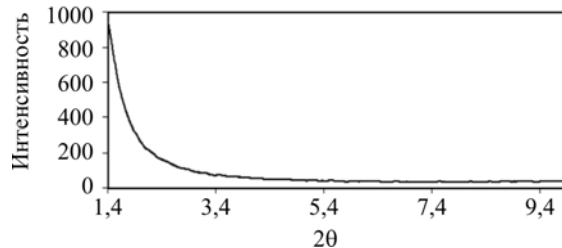


Рис. 3. Рентгенограмма нанодисперсного оксида марганца

⁴ ГОСТ 12.1.007-76. Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности (с Изменениями № 1, 2) [Электронный ресурс]. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/5200233> (дата обращения: 28.07.2017).

Данные по физическим параметрам наночастиц оксида марганца, синтезированных методом темплатного синтеза, соответствовали характеристикам, требуемым для создания сенсорных электродов [3], и корректного моделирования острой ингаляционной экспозиции.

Данные аналитических измерений свидетельствовали, что при задаваемой концентрации оксида марганца 0,05 мг/л в ингаляционной камере формируется фактическая концентрация на уровне $0,029 \pm 0,001$ мг/дм³, при задаваемой концентрации 0,6 мг/л – $0,472 \pm 0,005$ мг/л. Результаты измерения количества наночастиц в воздухе камеры показали, что при подаче в камеру нанодисперсная фракция, переходя в аэрозоль, не агломерирует до микрометрового диапазона (табл. 2). Наибольшее количество частиц при исследованных фактических концентрациях через 2 и 4 часа экспозиции не превышало размерности 100 нм.

Клиническая картина эффектов на начальном этапе острой интоксикации аэрозодем нанодисперсного оксида марганца в фактической концентрации $0,029 \pm 0,001$ мг/л характеризовалась появлением у всех животных чихания, кашля, прозрачных отделений из носа, что свидетельствовало о раздражении дыхательных путей. С третьего по четвертый час экспозиции у животных регистрировали учащенное дыхание, отдышку. При этом исследователи регистрировали у животных участие в акте дыхания

вспомогательной мускулатуры, вынужденную позу (выгибание спины, наклон головы и т.п.). С четвертого часа экспозиции у животных отмечали развитие угнетенного состояния с симптомами заторможенности, отсутствием реакции на звуковые раздражители, нарушением координации движения. В течение 24 часов после экспозиции у экспериментальных животных фиксировали дрожь тела, отсутствие двигательной активности, крайне слабую реакцию на звуковые раздражители, отказ от корма и воды. Через 72 часа после ингаляционного воздействия признаков угнетенного состояния не наблюдалось, животные поедали корм. Однако отмечено, что двигательная активность и реакция на звуковые раздражители были снижена. Гибели животных в эксперименте за период 96 часов наблюдения не зарегистрировано.

Клиническая картина интоксикации животных в условиях воздействия аэрозоля нанодисперсного оксида марганца в фактической концентрации $0,472 \pm 0,005$ мг/л была несколько иной. Так, дыхательная недостаточность была отмечена уже с 30-й минуты экспозиции, Через 3 часа были отмечены угнетение дыхания и гибель животных. Зафиксировано, что перед принятием бокового положения животные были заторможены, реакция на звуковые раздражители и двигательная активность отсутствовали. 83 % экспонированных животных погибли в период 150–190 минут от начала эксперимента (табл. 3).

Т а б л и ц а 2

Результаты исследований концентрации и размера частиц нанодисперсного оксида марганца в воздухе ингаляционной камеры

Показатель	Исходный уровень	Через 2 часа экспозиции	Через 4 часа экспозиции
Концентрация оксида марганца, мг/дм ³	0,002	0,456	0,472
Концентрация частиц при 0–20 нм, ед./дм ³	63	10421	9980
Концентрация частиц при 20–40 нм, ед./дм ³	48	35 930	31 207
Концентрация частиц при 40–60 нм, ед./дм ³	42	35 602	36 783
Концентрация частиц при 60–80 нм, ед./дм ³	22	26 370	25 809
Концентрация частиц при 80–100 нм, ед./дм ³	8	17 783	14 320

Т а б л и ц а 3

Динамика гибели экспериментальных животных при исследовании острой ингаляционной токсичности аэрозоля водной суспензии нанодисперсного оксида марганца

Группа животных	Фактическая концентрация, мг/л	Число животных в группе, абс.	Сроки наблюдения в сутках (часах)				Число погибших животных	
			1 (1)	2 (2)	3 (3)	4 (6)	абс.	%
№ 1	$0,029 \pm 0,001$	6	0/6	0/6	0/6	0/6	0	0
№ 2	$0,472 \pm 0,005$	6	0/6	0/6	5/6	6/6	6	100

В соответствии с процедурой оценки параметры острой ингаляционной токсичности CL_{50} исследованного нанодисперсного оксида марганца приняты на уровне 120 мг/м^3 . Данная концентрация укладывается в диапазон $50\text{--}500 \text{ мг/м}^3$, что позволяет отнести исследуемое вещество – наноразмерный оксид марганца – к веществам 2-го класса опасности по Международной системе классификации и маркировки химических веществ (GHS) и к веществам 1-го класса опасности в соответствии с ГОСТ 12.1.007.76³.

В процессе производства сенсорных электродов и аккумуляторных батарей применение в качестве активной матрицы нитевидных частиц нанодисперсного оксида марганца рассматривается как высокоперспективное направление. Применение вещества обуславливает его вероятное появление в воздухе рабочей зоны и дальнейшее распространение на прилегающие территории. Это определяет опасность ингаляционной экспозиции работников, занятых на производстве, и населения селитебных территорий.

Полученные в рамках исследования результаты свидетельствуют о способности исследуемых наноразмерных частиц оксида марганца вызывать негативные эффекты: раздражающий, нейротоксический, угнетение дыхания, сочетание которых могло обусловить гибель животных.

Наличие токсического эффекта вещества в отношении клеток нервной системы, развития негативных нейropsychологических эффектов при низкодозовом воздействии доказано как для наночастиц оксида марганца, так и для его микродисперсного аналога [10, 12, 19]. В основе нейротоксического механизма действия может лежать нарушение функций мембран нейронов в результате перекисного окисления мембранных липидов, вызванного прямым цитотоксическим действием наночастиц, установленным для дофаминэргических нейронов [10, 12, 20]. Данный эффект у нанодисперсных частиц может быть более выраженным по сравнению

с действием микродисперсного аналога в связи с большей удельной площадью поверхности нанодисперсных частиц. Клиническая картина острой интоксикации подтверждает описанный механизм токсического действия нанодисперсных частиц оксида марганца в ранее проведенных исследованиях [21]. Развитие дыхательной недостаточности может быть связано с потенциальной возможностью исследуемых наночастиц вызывать воспалительные изменения с последующим апоптозом альвеолярных эпителиоцитов. При этом, обладая большей резистентностью к мукоцилиарному удалению, наноразмерные частицы оксида марганца более длительно контактируют с клетками дыхательных путей по сравнению с микродисперсным аналогом [22]. По величине CL_{50} , равной 120 мг/м^3 , нанодисперсный оксид марганца относится к веществам 2-го класса опасности в соответствии с Международной классификацией опасности химических соединений [23] и к веществам 1-го класса опасности в соответствии с ГОСТ 12.1.007.76³.

Выводы. Нанодисперсный оксид марганца с размером сечения частиц нитевидной формы преимущественно $13\text{--}29 \text{ нм}$ обладает острой токсичностью при ингаляционном поступлении в виде аэрозоля. CL_{50} при 4-часовой экспозиции для крыс линии Wistar составляет 120 мг/м^3 . Клиническая картина острой ингаляционной экспозиции характеризуется раздражающим, нейротоксическим эффектами действия, угнетением дыхания. Нейротоксический эффект сохраняется у выживших экспериментальных животных через 92 часа после экспозиции. Таким образом, можно отнести нанодисперсный оксид марганца ко 2-му классу опасности (по критерию CL_{50}) в соответствии с Международной классификацией опасности химических соединений (GHS) и к 1-му классу опасности в соответствии с ГОСТ 12.1.007.76³.

Список литературы

1. Портативный источник тока: патент Российской Федерации № 2396638 / Л.И. Трусов, В.П. Федотов, Л.Б. Красько, В.А. Гринберг, А.М. Скундин. Заявка 2009117282/09 от 07.05.2009; опубликовано 10.08.2010 [Электронный ресурс]. – URL: <http://bd.patent.su/2396000-2396999/pat/servlet/servlet9ef1.html> (дата обращения: 10.11.2009).
2. Manganese Oxide Nanoparticles / Nanopowder [Электронный ресурс] // American Elements. – URL: <http://www.americanelements.com/mnoxnp.html> (дата обращения: 23.12.2017).
3. Донцова Е.А. Сенсорные электроды на основе наночастиц диоксида марганца: дис. ... канд. хим. наук. – М., 2011. – 170 с.
4. Neurotoxicity of manganese oxide nanomaterials / D. Stefanescu, A. Khoshnan, P. Patterson, J. Hering // Journal of Nanoparticle Research. – 2009. – Vol. 8, № 11. – P. 1957–1969.

5. Hussan S.M. The interaction of manganese nanoparticles with pc-12 cells induces dopamine depletion // *Toxicol. Science.* – 2006. – Vol. 92, № 2. – P. 456–463.
6. Comparison of manganese oxide nanoparticles and manganese sulfate with regard to oxidative stress, uptake and apoptosis in alveolar epithelial cells / R. Frick, B. Müller-Edenborn, A. Schlicker, B. Rothen-Rutishauser // *Toxicol Lett.* – 2011. – № 205. – P. 163–172.
7. Translocation of Inhaled Ultrafine Manganese Oxide Particles to the Central Nervous System / A. Elder, R. Gelein, V. Silva, T. Feikert, L. Opanashuk, J. Carter, R. Potter, A. Maynard, Y. Ito, J. Finkelstein, G. Oberdorster // *Environ. Health Perspectives.* – 2006. – № 114. – P. 1172–1178.
8. Oberdorster G., Sharp Z., Atudorei V. Translocation of inhaled ultrafine particles to the brain // *Inhal. Toxicol.* – 2004. – № 16. – P. 437–445.
9. Prise en charge du manganisme d'origine professionnelle: Consensus d'un groupe d'experts: rapport IRSST, № 416 / C. Ostiguy, P. Asselin, S. Malo, D. Nadeau // IRSST. – Montreal, 2005. – 62 p.
10. Expression changes of dopaminergic system-related genes in PC12 cells induced by manganese, silver, or copper nanoparticles / J. Wang, M. Rahman, H. Duhart, G. Newport // *NeuroToxicology.* – 2009. – № 30. – P. 926–933.
11. General and electrophysiological toxic effects of manganese in rats following subacute administration in dissolved and nanoparticle form [Электронный ресурс] / E. Horváth, Z. Máté, S. Takács, P. Pusztai // *The Scientific World Journal.* – 2012. – URL: <http://dx.doi.org/10.1100/2012/520632> (дата обращения: 23.12.2017).
12. Manganese nanoparticle activates mitochondrial dependent apoptotic signaling and autophagy in dopaminergic neuronal cells / N.H. Afeseh, A. Kanthasamy, Y. Gu, N. Fang // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2011. – № 256. – P. 227–240.
13. Oberdorster G. Nanotoxicology: An Emerging Discipline Evolving from Studies of Ultrafine Particles // *Environmental Health Perspective.* – 2005. – № 7. – P. 823–839.
14. Crittenden P.L., Filipov N.M. Manganese-induced potentiation of in vitro proinflammatory cytokine production by activated microglial cells is associated with persistent activation of p38 MAPK // *Toxicology in Vitro.* – 2008. – № 22. – P. 18–27.
15. Исследование острой токсичности нанодисперсного оксида марганца при ингаляционном поступлении / Н.В. Зайцева, М.А. Землянова, В.Н. Звездин, Т.М. Акафьева, Е.В. Саенко // *Российские нанотехнологии.* – 2015. – Т. 10, № 5–6. – С. 117–122
16. Meynen V., Cool P., Vansant E.F. Verified syntheses of mesoporous materials // *Microporous and mesoporous materials.* – 2009. – № 125. – P. 170–223.
17. Грег С., Синг К. Адсорбция, удельная поверхность, пористость. – М.: Мир, 1984. – 306 с.
18. Barrett E.P., Joyner L.G., Halenda P.P. The Determination of Pore Volume and Area Distributions in Porous Substances. I. Computations from Nitrogen Isotherms // *J. Am. Chem. Soc.* – 1951. – Vol. 73. – P. 373–380.
19. Neuropsychological Effects of Low-Level Manganese Exposure in Welders / W. Laohaudomchok, X. Lin, R.F. Herrick, Sh.C. Fang, J.M. Cavallari [et al.] // *Neurotoxicology.* – 2011. – Vol. 32, № 2. – P. 171–179.
20. Effects of Nano-MnO₂ on Dopaminergic Neurons and the Spatial Learning Capability of Rats / T. Li, T. Shi, X. Li, S. Zeng, L. Yin, Y. Pu // *Int. J. Environ. Res. Public Health.* – 2014. – № 11. – P. 7918–7930. DOI: 10.3390/ijerph110807918
21. Токсиколого-гигиеническая оценка безопасности нано- и микродисперсного оксида марганца (III, IV) / Н.В. Зайцева, М.А. Землянова, В.Н. Звездин, Е.В. Саенко, А.В. Тарантин, Р.Р. Махмудов, О.В. Лебединская, С.В. Мелехин, Т.И. Акафьева // *Вопросы питания.* – 2012. – Т. 81, № 5. – С. 13–19.
22. Subacute intratracheal exposure of rats to manganese nanoparticles: behavioral, electrophysiological, and general toxicological effects / L. Sárközi, E. Horváth, Z. Kónya, I. Kiricsi // *US National Library of Medicine.* – 2009. – № 1. – P. 83–91. DOI: 10.1080/08958370902939406
23. Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS). – New York, Geneva, 2011. – 568 p.

Зайцева Н.В., Землянова М.А. Исследование острой токсичности аэрозоля нанодисперсного оксида марганца для прогнозирования опасности здоровью работающих и населения при ингаляционной экспозиции // Анализ риска здоровью. – 2018. – № 1. – С. 89–97. DOI: 10.21668/health.risk/2018.1.10

RESEARCH ON ACUTE TOXICITY OF NANODISPERSE MANGANESE OXIDE AEROSOL FOR PREDICTING HEALTH HAZARDS FOR WORKERS AND POPULATION UNDER INHALATION EXPOSURE

N.V. Zaitseva, M.A. Zemlyanova

Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, 82 Monastyrskaya Str., Perm, 614045, Russian Federation

Our research object was nanodisperse manganese oxide synthesized at Mn^{2+} and MnO_4 ions interaction when nano-reactors, namely bromide cetyltrimethylammonium micelles, were present but they didn't become a part of an end product. We applied scanning electronic microscopy, X-ray phase analysis, dynamic laser light scattering, Brunauer, Emmeth, Taylor and Barret, and Joyner and Halenda techniques to confirm that the synthesized substance was a nanomaterial with particles sections having a needle form and being equal to mostly 13–29 nanometers (95.6 % of the total particles number).

Acute inhalation toxicity was assessed in conformity with the procedures stated in “OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4: Health Effects, Acute Inhalation Toxicity – Acute Toxic Class Method” (OECD, Test № 436:2008, IDT); it revealed that synthesized nanodisperse manganese oxide had acute toxicity when it was inhaled as an aerosol. CL_{50} under 4-hours exposure which male and female Wistar rats with body weight being equal to 190 ± 10 grams had to undergo was 120 mg/m^3 . Acute intoxication had the following clinical picture: irritating and neurotoxic effects, and respiratory depression. As per CL_{50} criterion ($>50\text{--}500$) mg/m^3 the tested substance is of the 2nd hazard degree (in accordance with the Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS) and of the 1st hazard degree (according to the State Standard 12.1.007.76. Classification and general safety requirements). The obtained inhalation toxicity parameters which nanodisperse manganese oxide has prove the substance can exert hazardous impacts on workers' health when they are exposed to it at the work places or on population health; they also call for safety precautions development.

Key words: nanodisperse manganese oxide, aerosol, inhalation exposure, particles concentration, toxicity, health hazard.

References

1. Trusov L.I., Fedotov V.P., Kras'ko L.B., Grinberg V.A., Skundin A.M. Portativnyi istochnik toka: Patent Rossiiskoi Federatsii № 2396638/. – zayavka 2009117282/09 ot 07.05.2009; opublikovano 10.08.2010 [Portable current supply: The Russian Federation patent No. 2396638 – application No. 2009117282/09 dated May 07, 2009; published August 10, 2010]. Available at: <http://bd.patent.su/2396000-2396999/pat/servlet/servlet9ef1.html> (10.11.2009) (in Russian).
2. Manganese Oxide Nanoparticles / Nanopowder. *American Elements*. Available at: <http://www.americanelements.com/mnoxnp.html> (23.12.2017).
3. Dontsova E.A. Sensornye elektrody na osnove nanochastits dioksida margantsa: dis. ... kand. khim. nauk [Sensory electrodes based on manganese dioxide nanoparticles: thesis ... for Candidate of Chemical Sciences]. Moscow, 2011, 170 p. (in Russian).
4. Stefanescu D., Khoshnan A., Patterson P., Hering J. Neurotoxicity of manganese oxide nanomaterials. *Journal of Nanoparticle Research*, 2009, vol. 8, no. 11, pp. 1957–1969.
5. Hussan S.M. The interaction of manganese nanoparticles with pc-12 cells induces dopamine depletion. *Toxicol. Science*, 2006, vol. 92, no. 2, pp. 456–463.
6. FrickR., Müller-Edenborn B., Schlicker A., Rothen-Rutishauser B. Comparison of manganese oxide nanoparticles and manganese sulfate with regard to oxidative stress, uptake and apoptosis in alveolar epithelial cells. *Toxicol Lett*, 2011, no. 205, pp. 163–172.
7. Elder A., Gelein R., Silva V., Feikert T., Opanashuk L., Carter J., Potter R., Maynard A., Ito Y., Finkelstein J., Oberdörster G. Translocation of Inhaled Ultrafine Manganese Oxide Particles to the Central Nervous System. *Environ. Health Perspectives*, 2006, no. 114, pp. 1172–1178.

© Zaitseva N.V., Zemlyanova M.A., 2018

Nina V. Zaitseva – Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor, Research Supervisor (e-mail: znv@fcrisk.ru; tel.: +7 (342) 237-25-34).

Marina A. Zemlyanova – Doctor of Medical Sciences, Head of Biochemical and Cytogenetic Diagnostic Techniques Department (e-mail: zem@fcrisk.ru; tel.: +7 (342) 236-39-30).

8. Oberdorster G., Sharp Z., Atudorei V. Translocation of inhaled ultrafine particles to the brain. *Inhal. Toxicol.*, 2004, no. 16, pp. 437–445.
9. Ostiguy C., Asselin P., Malo S., Nadeau D. Prise en charge du manganisme d'origine professionnelle: Consensus d'un groupe d'experts: rapport IRSST, № 416. IRSST, Montreal, 2005, 62 p.
10. Wang J., Rahman M., Duhart H., Newport G. Expression changes of dopaminergic system-related genes in PC12 cells induced by manganese, silver, or copper nanoparticles. *Neuro Toxicology*, 2009, no. 30, pp. 926–933.
11. Horváth E., Máté Z., Takács S., Pusztai P. General and electrophysiological toxic effects of manganese in rats following subacute administration in dissolved and nanoparticle form. *The Scientific World Journal*, 2012. Available at: <http://dx.doi.org/10.1100/2012/520632> (23.12.2017).
12. Afeseh N.H., Kanthasamy A., Gu Y., Fang N. Manganese nanoparticle activates mitochondrial dependent apoptotic signaling and autophagy in dopaminergic neuronal cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2011, no. 256, pp. 227–240.
13. Oberdorster G. Nanotoxicology: An Emerging Discipline Evolving from Studies of Ultrafine Particles. *Environmental Health Perspective*, 2005, no. 7, pp. 823–839.
14. Crittenden P.L., Filipov N.M. Manganese-induced potentiation of in vitro proinflammatory cytokine production by activated microglial cells is associated with persistent activation of p38 MAPK. *Toxicology in Vitro*, 2008, no. 22, pp. 18–27.
15. Zaitseva N.V., Zemlyanova M.A., Zvezdin V.N., Akaf'eva T.M., Saenko E.V. Issledovanie ostroi toksichnosti nanodispersnogo oksida margantsa pri ingyatsionnom postuplenii [Acute inhalation toxicity of manganese oxide nanoparticles]. *Rossiiskie nanotekhnologii*, 2015, vol. 10, no. 5–6, pp. 117–122 (in Russian).
16. Meynen V., Cool P., Vansant E.F. Verified syntheses of mesoporous materials. *Microporous and mesoporous materials*, 2009, no. 125, pp. 170–223.
17. Greg S., Sing K. Adsorbtsiya, udel'naya poverkhnost', poristost [Adsorption, specific surface, porosity]. Moscow, Mir Publ., 1984, 306 p. (in Russian).
18. Barrett E.P., Joyner L.G., Halenda P.P. The Determination of Pore Volume and Area Distributions in Porous Substances. I. Computations from Nitrogen Isotherms. *J. Am. Chem. Soc.*, 1951, vol. 73, pp. 373–380.
19. Laohaudomchok W., Lin X., Herrick R.F., Fang Sh.C., Cavallari J.M. [et al.]. Neuropsychological Effects of Low-Level Manganese Exposure in Welders. *Neurotoxicology*, 2011, vol. 32, no. 2, pp. 171–179.
20. Li T., Shi T., Li X., Zeng S., Yin L., Pu Y. Effects of Nano-MnO₂ on Dopaminergic Neurons and the Spatial Learning Capability of Rats. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2014, no. 11, pp. 7918–7930. DOI: 10.3390/ijerph110807918
21. Zaitseva N.V., Zemlyanova M.A., Zvezdin V.N., Saenko E.V., Tarantin A.V., Makhmudov R.R., Lebedinskaya O.V., Melekhin S.V., Akaf'eva T.I. Toksikologo-gigienicheskaya otsenka bezopasnosti nano- i mikrodispersnogo oksida margantsa (III, IV) [Hygienic and toxicological safety estimation of nano- and microdispersed manganese oxide (III, IV)]. *Voprosy pitaniya*, 2012, vol. 81, no. 5, pp. 13–19 (in Russian).
22. Sárközi L., Horváth E., Kónya Z., Kiricsi I. Subacute intratracheal exposure of rats to manganese nanoparticles: behavioral, electrophysiological, and general toxicological effects. *US National Library of Medicine*, 2009, no. 1, pp. 83–91. DOI: 10.1080/08958370902939406
23. Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS). New York, Geneva, 2011, 568 p.

Zaitseva N.V., Zemlyanova M.A. Research on acute toxicity of nanodisperse manganese oxide aerosol for predicting health hazards for workers and population under inhalation exposure. *Health Risk Analysis*, 2018, no. 1, pp. 89–97. DOI: 10.21668/health.risk/2018.1.10.eng

Получена: 11.01.2018

Принята: 20.03.2018

Опубликована: 30.03.2018