

ТОКСИКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ТИТАНА В СОСТАВЕ ПИЩЕВОЙ ДОБАВКИ E171 (ОБЗОР ДАННЫХ ЛИТЕРАТУРЫ И МЕТААНАЛИЗ)

И.В. Гмошинский¹, О.В. Багрянцева^{1,2}, С.А. Хотимченко^{1,2}

¹Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи, Россия, 109240, г. Москва, Устьянский проезд, 2/14

²Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Россия, 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2

Рассматриваются данные о величинах экспозиции, биодоступности, эффектах токсичности и рисках наночастиц (НЧ) диоксида титана TiO₂ при их поступлении в организм через желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) в виде пищевой добавки – красителя E171 либо как значимой примеси в ее составе. Согласно токсикологической оценке, данной JECFA в 1969 г., TiO₂ рассматривался как малоопасное вещество. Однако в настоящее время ряд зарубежных и международных организаций в области безопасности пищи придерживаются мнения, что эта оценка должна быть пересмотрена в свете новых научных данных о неблагоприятном воздействии на организм TiO₂ в наноформе. Суммарное поступление TiO₂ в организм человека с пищевыми продуктами, косметическими средствами (зубные пасты) и лекарственными препаратами может составлять от 0,5 до 5,0 мг в сутки; наиболее экспонируемыми группами являются дети в возрасте 3–9 лет и подростки 10–17 лет. Несмотря на малую степень всасывания НЧ и микрочастиц TiO₂ в ЖКТ, в значительном числе работ выявлены признаки их общетоксического действия на организм при пероральном и внутрижелудочном введении. Выявленные эффекты TiO₂ включают органотоксическое (преимущественно гепатотоксическое) действие, генотоксичность, иммунотоксичность, репродуктивную токсичность, нейротоксичность. Убедительных данных о канцерогенности TiO₂ при поступлении в ЖКТ получено не было. Ряд эффектов НЧ TiO₂, предположительно, опосредуется их местным воздействием на лимфоидную ткань, ассоциированную со слизистой оболочкой кишки, а также на состав и активность компонентов кишечного микробиоценоза, что не требует в качестве обязательной стадии кишечной абсорбции НЧ. Метаанализ данных 64 статей (за период 2007–2019 гг.), удовлетворяющих критериям научной достоверности и полноты, показал, что вероятная максимальная недеятельная доза (NOAEL) TiO₂ в наноформе составляет менее 10 мг/кг массы тела в сутки, а референтную безопасную дозу этого вещества следует оценить величиной 0,1 мг/кг массы тела в сутки. В связи с этим риск от поступления TiO₂ в качестве пищевой добавки E171 зависит от доли НЧ в ее составе и может быть неприемлемо высоким в случае их содержания свыше 10 % по массе общего TiO₂. Таким образом, содержание НЧ TiO₂ в составе пищевой добавки E171, применяемой в пищевой промышленности, нуждается в контроле и нормативном регулировании.

Ключевые слова: диоксид титана, пищевая добавка, наночастицы, экспозиция, биодоступность, токсичность, кишечный микробиоценоз, риски.

Диоксид титана (TiO₂), годовой объем производства которого в мире превысил с 2008 г. 5 млн тонн [1], благодаря своему интенсивно белому цвету широко используется в составе разнообразной пищевой продукции в качестве добавки-

красителя E171. Применение E171 разрешено в пищевой промышленности в соответствии с российским и международным законодательством (Технический регламент Таможенного союза «Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов

© Гмошинский И.В., Багрянцева О.В., Хотимченко С.А., 2019

Гмошинский Иван Всеволодович – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий (e-mail: gmosh@ion.ru; тел.: 8 (495) 698-53-71; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3671-6508>).

Багрянцева Ольга Викторовна – доктор биологических наук, профессор (Республика Казахстан), ведущий научный сотрудник лаборатории пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий (e-mail: bagryantseva@ion.ru; тел.: 8 (495) 698-54-05; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3174-2675>).

Хотимченко Сергей Анатольевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий (e-mail: hotimchenko@ion.ru; тел.: 8 (495) 698-52-35; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5340-9649>).

и технологических вспомогательных средств» (ТР ТС 029/2012)¹, Codex General Standard For Food Additives (CODEX STAN 192-1995), Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on food additives²). По-видимому, значительные количества TiO₂ могут также потребляться в составе оболочек таблетированных фармакологических препаратов, а также с косметическими средствами (зубные пасты). Кроме того, согласно законодательству Евразийского экономического союза, TiO₂ может использоваться при изготовлении упаковки и материалов, контактирующих с пищей, в составе титановых эмалей (Технический регламент таможенного союза «О безопасности упаковки», ТР ТС 005/2011³). Таким образом, экспозиция населения TiO₂ через желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) может быть значительной. Возникает вопрос о безопасности TiO₂ для потребителей продукции и связанных с этим рисках для здоровья. В особенности это относится к содержащейся в составе E171 фракции наночастиц (НЧ), то есть частиц, имеющих размер менее 100 нм [2]. Во всех практически важных случаях эти НЧ бывают представлены двумя альтернативными кристаллическими формами TiO₂ – анатазой и рутилом. Если НЧ анатазы имеют, как правило, сферическую или овальную форму и размер от 10 до 100 нм (типично 20–30 нм), то НЧ рутила часто представлены кристаллитами неправильной или стержневидной формы с поперечным диаметром менее 10 нм и длиной 40–50 нм и более. В водных суспензиях и в составе пищевой продукции для обеих форм НЧ характерна значительная степень агломерации или агрегации, зависящая от концентрации наноматериала и состава дисперсионной среды. Гранулометрический анализ распространенных марок E171 показывает, что в них часто присутствуют НЧ анатазы или рутила [3]. Благодаря своим малым размерам, эти НЧ обладают потенциально значительно большей, в сравнении с микрочастицами (МЧ), способностью проникать через биологические барьеры, включая барьер ЖКТ [4]. Они также обладают в расчете на единицу массы большим химическим потенциалом, каталитической активностью и растворимостью. Это не позво-

ляет исключить возможность токсического действия НЧ TiO₂, содержащихся в пищевой продукции, косметических средствах или лекарственных препаратах, на организм человека.

Целью работы является анализ данных научной литературы о величинах экспозиции, биодоступности, эффектах токсичности и рисках наночастиц TiO₂ при их поступлении в организм через ЖКТ в качестве пищевой добавки E171 или значимой примеси в ее составе.

Сценарии и объемы экспозиции. В пищевой промышленности TiO₂ используется в роли красителя, придающего продукции белый цвет за счет снижения «серого» компонента в спектре отраженного ею светового излучения [2]. Международный комитет экспертов ФАО/ВОЗ по пищевым добавкам и загрязнителям (JECFA)⁴ подготовил первую и единственную официально действующую токсикологическую оценку TiO₂ как пищевой добавки в 1969 г. [5]. В рамках этой оценки вопрос о возможном негативном влиянии НЧ в составе диоксида титана не рассматривался. Был сделан вывод, что установление безопасных дневных уровней потребления этого вещества не требуется, главным образом, из-за его крайне низкой растворимости. Согласно мнению Европейского агентства по безопасности пищевой продукции, пигментный TiO₂ (так называемые «титановые белила») с частицами размером 0,1–1,0 мкм безопасен для человека ввиду своей низкой растворимости в воде и биологических средах и полного отсутствия его абсорбции в ЖКТ [6, 7].

В США TiO₂ был разрешен как пищевой краситель в 1966 г. [8]. US FDA⁵ разрешает использовать TiO₂ в пищевой продукции в количестве не более 1 % по массе [9]. Помимо этого, в США TiO₂ допущен в качестве «материала, контактирующего с пищей» (в составе упаковочных материалов). В Японии использование TiO₂ как пищевого красителя допускается без каких-либо ограничений [10]. В Индии количество TiO₂, которое можно добавлять в пищевую продукцию, ограничено 1 % в жевательной резинке и 0,01 % в сухих смесях для приготовления напитков [11]. По данным X.-X. Chen et al. [12]

¹ ТР ТС 029/2012. Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств (с изменениями на 18 сентября 2014 года): технический регламент Таможенного союза [Электронный ресурс] // КОДЕКС: электронный фонд правовой и нормативно-технической документации. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/902359401> (дата обращения: 23.03.2019).

² CODEX STAN 192-1995. General Standard For Food Additives [Электронный ресурс]. – URL: http://www.fao.org/gsfaonline/docs/CXS_192e.pdf (дата обращения: 23.03.2019); Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on food additives (Text with EEA relevance) [Электронный ресурс]. – URL: <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2008/1333/oj> (дата обращения: 23.03.2019).

³ ТР ТС 005/2011. О безопасности упаковки (с изменениями на 18 октября 2016 года): технический регламент Таможенного союза [Электронный ресурс] // КОДЕКС: электронный фонд правовой и нормативно-технической документации. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/902299529> (дата обращения: 23.03.2019).

⁴ Объединенный комитет по пищевым добавкам ФАО/ВОЗ (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives).

⁵ Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (United States Food and Drug Administration).

в тех странах, где норматив содержания TiO_2 в жевательной резинке не установлен, его количество может достигать до 0,2 % от массы продукта, причем до 93 % из него может быть представлено наноформой. В Европейском союзе [13] и в России, согласно ТР ТС 029/2012, TiO_2 разрешается использовать в соответствии с технической документацией для изготовления всех видов пищевой продукции, за исключением указанной в приложении 9. TiO_2 также допущен для окрашивания оболочек лекарственных препаратов (Приказ Минздрава РФ № 80 от 19.03.1998 г.⁶) и в косметической продукции (зубные пасты).

В 2013 г. Научный комитет по безопасности потребителей Европейской комиссии (EU-SCCS) опубликовал свое мнение по пищевой добавке E171 в форме НЧ [14]. Базируясь на результатах всего двух публикаций [15, 16], комитет заключил, что минимальная доза, отвечающая наблюдаемому неблагоприятному воздействию (LOAEL) для наноформы TiO_2 , составляет 5 мг/кг массы тела (м.т.) в сутки. Был сделан вывод о том, что оценка, данная JECFA в 1969 г., утратила актуальность в свете новых научных данных, и необходимо безотлагательное повторное исследование безопасности TiO_2 при его использовании в качестве пищевого красителя.

Таким образом, вопрос о том, какая часть перорально поступающего TiO_2 представлена НЧ, является критически важным для оценки экспозиции и рисков. По данным A. Weir et al. [17] среднечисловой диаметр частиц популярных марок пигментного TiO_2 , используемого в пищевой продукции, может составлять 110 нм и, как минимум, 36 % от общего числа частиц по данным электронно-микроскопического исследования имеют диаметр от 30 до 100 нм. Однако, поскольку масса частицы возрастает пропорционально кубу диаметра, общая масса наноразмерного компонента в составе пищевого TiO_2 будет значительно меньше. В соответствии с рекомендациями Европейской комиссии, для того, чтобы образец мог считаться наноматериалом, количество НЧ в нем должно составлять не менее 50 % от их общего числа [18]. По этому критерию большинство применяемых в настоящее время марок E171 не могут рассматриваться в качестве наноматериалов.

Было показано, что при пропуске водных вытяжек из таких видов продукции, как конфеты, кондитерские изделия, жевательная резинка и зубные пасты, через мембранные фильтры только около 5 % Ti проходит через поры диаметром 0,45 или 0,5 мкм [17]. Этот результат может быть интерпретирован двояко: и как практическое отсутствие наноматериала в образце, и как массивная агрегация или агломерация содержащихся НЧ, либо их адсорбция на компонентах матрикса, имеющих размер много выше нанодиапазона.

Согласно результатам исследований, приведенных в работе R.J. Peters et al. [19], для большинства образцов пищевого E171 число частиц с размером менее 100 нм составляет 10–15 % по числу частиц. В 24 из 27 видов исследованной пищевой продукции и средств личной гигиены TiO_2 был выявлен в значимых количествах – от 0,02 до 9,0 мг/г, причем, что 5–10 % по числу частиц в этих видах продукции находились в нанодиапазоне, что качественно согласовалось с анализом образцов E171 в чистом виде.

Как известно, элемент титан (Ti) широко распространен в земной коре и является нормальным минеральным компонентом тканей животных, хотя и присутствует в них в минимальных количествах [20]. Сведения о какой-либо определенной биологической роли Ti и о его эссенциальности для животных отсутствуют. Тем не менее данные о фоновых уровнях Ti в биологических объектах следует принимать во внимание при оценке результатов работ, в которых предпринимались попытки судить о содержании НЧ в пищевой продукции и биоматериалах на основе данных элементного анализа. Поступление в организм человека общего Ti, являющегося естественным компонентом пищевых продуктов, может составлять порядка 300–400 мкг в сутки, в то время как поступление с питьевой водой рассматривается как незначительное. Значительно большее экспонирование человека Ti происходит через различную потребительскую продукцию, в которую TiO_2 (E171) преднамеренно добавляется в форме как микрочастиц (МЧ, диаметр 100–2500 нм), так и НЧ.

По ранним данным Министерства сельского хозяйства Великобритании [21], среднесуточное потребление TiO_2 человеком в Великобритании составило 5,4 мг/кг м.т. Впоследствии более точные оценки, проведенные A. Weir et al. [17], показали значение от 0,2 до 2,0 мг/кг, что близко к вышеуказанной оценке для LOAEL, без учета процентного содержания наночастиц TiO_2 в пищевых продуктах.

Согласно M.V. Heringa et al. [22], в странах Западной Европы до 57 % перорального поступления TiO_2 обусловливается использованием зубных паст. В числе продуктов, способных быть источниками НЧ TiO_2 , выделяют также жевательную резинку (14 %), порционные сливки для кофе (13 %), сухое молоко для кофе (8 %), глазированные шоколадные конфеты (3 %), майонез (7 %), пикантные соусы (5 %), инстантный капучино (3 %). Для детей младших возрастов наибольшее значение имеет, по-видимому, дополнительное экспонирование через зубную пасту вследствие ее заглатывания. Потребление TiO_2 , применяемого в качестве красителя E171, составило по этим данным 0,67 мг/кг м.т. у детей 2–6 лет, 0,17 мг/кг м.т. в возрастном интер-

⁶ Об использовании красителей в лекарственных средствах: Приказ Минздрава РФ № 80 от 19.03.1998 г. [Электронный ресурс]. – URL: <http://www.consultpharma.ru/index.php/ru/documents/drugs/374-80?showall=1> (дата обращения: 23.03.2019).

вале 7–69 лет и 0,06 мг/кг м.т. у лиц старше 70 лет. При этом оцененное среднее потребление наночастиц TiO₂ составляло 0,19 мкг/кг м.т. у лиц старше 70 лет; 0,55 мкг/кг м.т. – у лиц в возрасте 7–69 лет и 2,16 мкг/кг м.т. – у детей 2–6 лет. 95%-ный перцентиль потребления составил в этих группах 0,74; 1,61 и 4,16 мкг/кг м.т. соответственно. У детей моложе 2 лет уровень потребления этого красителя не оценивали. При проведении расчетов авторы исходили из предположения, что среднее содержание НЧ в коммерчески используемых образцах E171 составляет порядка 0,31 % по массе [1].

В публикации EFSA⁷ [6] рассматривается экспозиция TiO₂ в составе оболочек лекарственных препаратов и биологически активных добавок к пище (БАД) в форме таблеток или капсул. В этих случаях содержание TiO₂ может составлять 3 % по массе препарата, причем до 12,5 % по массе от этого количества может быть представлено рутилом. Среднее дневное потребление лекарственных препаратов составляет обычно порядка 20–200 мг, а потребление БАД – 10–1000 мг. Это приводит к оценке дневной экспозиции TiO₂ 15,0–37,5 мг соответственно, или 0,625 мг/кг м.т. В этом же исследовании оценка для экспозиции рутильной формой TiO₂ в составе кондитерских изделий варьируется от 0,071 до 0,495 мг/кг м.т. в сутки.

Как сообщается в работе M.-H. Ropers [3], количество потребляемого с пищей TiO₂ в США составляет около 0,2–0,7 мг/кг м.т. в сутки, тогда как в Великобритании, Голландии и Германии эта величина может достигать 1 мг/кг м.т. Эти данные были получены путем учета всех возможных сценариев пищевого поступления. Например, оценка медианного поступления E171 в Голландии составила от 1,1 до 1,4 мг/кг м.т., а верхний предел поступления для детей – 3,2 мг/кг м.т. В Германии были получены сходные результаты. Несмотря на различие анализируемых сценариев, данные всех исследований совпадают в том, что наиболее экспонируемой группой являются дети в возрасте 3–9 лет и подростки 10–17 лет. EFSA предполагает, что вклад жевательной резинки в сравнении с другими кондитер-

скими изделиями является незначительным, если учитывать потребление освежителей дыхания в таблетированной форме, пикантных соусов и салатных заправок [7]. Исследование, проведенное в Германии, в качестве продуктов, вносящих максимальный вклад (до 75 %) в потребляемое количество TiO₂, указывает на пикантные соусы, салатные заправки, безалкогольные напитки и сыр [23].

По данным вариационного анализа экспозиции по методу Монте-Карло у жителей США потребление всех форм TiO₂ может составлять 1 мг/кг м.т. в сутки [17].

Таким образом, оценки пероральной экспозиции населения НЧ TiO₂, сделанные разными авторами, несколько расходятся в зависимости от использованного сценария, отбора рассматриваемой продукции, предполагаемого содержания в них TiO₂ и, самое главное, неопределенности, связанной с вопросом о том, какая фракция пигмента представлена НЧ. Предполагается, что полностью наноразмерные марки TiO₂ в качестве пищевой добавки E171 используются незначительно, поскольку максимальный отбеливающий (светорассеивающий) эффект этого вещества достигается при среднем размере частиц около 200 нм [1].

Основные результаты публикаций, касающиеся оценки пероральной суточной экспозиции взрослого и детского населения всеми формами TiO₂, суммированы в табл. 1.

Биодоступность, биораспределение и бионакопление. Сравнительно немногочисленными являются работы, в которых были предприняты попытки непосредственно изучить проницаемость слизистой оболочки кишки для НЧ и МЧ TiO₂. В ряде исследований для этого были применены *in vitro* модели кишечного эпителия, использующие монослой клеток, морфологически и функционально тождественных энтероцитам, таких, в частности, как клетки линии Caco-2. В работе Z.M. Song et al. [24] при воздействии на клеточный монослой в концентрации 10–100 мкг/мл (что соответствует их пероральному приему человеком порядка 1–10 мг/кг м.т.) НЧ TiO₂ проникали в небольших количествах

Таблица 1

Оценки суточной пероральной экспозиции диоксидом титана, применяемым в составе пищевой, косметической продукции, фармакологических препаратов и БАД

Источник	Экспозиция, мг/кг м.т.	Регион, страна	Группа населения	Примечание
MAFF, 1993	5,4	Великобритания	Все группы	Медиана
Weir et al., 2012	1,0 2,0	США Западная Европа	Все группы – « –	Медиана Медиана
EFSA, 2004	1,1	Страны ЕС	Все группы	Медиана
Rompelberg et al., 2016	0,59 1,29 0,08 0,50	Голландия – –	Дети 2–6 лет – « – Дети 7–16 лет и взрослые – « –	Медиана 95-й перцентиль Медиана 95-й перцентиль
Ropes et al., 2017	0,7 1,4 3,2	США Западная Европа Западная Европа	Все группы Все группы Дети до 16 лет	Медиана Медиана Медиана

⁷ Европейское агентство по безопасности продуктов питания (European Food Safety Authority).

через эпителиальный пласт как путем трансцитоза, так и парацеллюлярно через межклеточные контакты за счет нарушения структуры γ -катенина. По данным В.А. Коенетан et al. [25], НЧ были способны накапливаться в клетках Сасо-2, но значимым образом не проникали через монослой. В работе G. Janer et al. [26] с использованием моделей слизистой оболочки кишки крысы и монослоя клеток Сасо-2 показано, что проникновение НЧ в эпителиоциты является минимальным за исключением специализированных М-клеток пейеровых бляшек. В работе Г.Е. Онищенко и др. [27] трансмиссионная электронная микроскопия (ТЭМ) была использована при изучении влияния НЧ рутила на слизистую оболочку кишки крысы при их введении в количестве 50 мг в изолированную петлю подвздошной кишки с сохраненными кровоснабжением и иннервацией. При этом обнаружено массивное осаждение НЧ на апикальной поверхности энтероцитов и проникновение их небольших количеств в апикальную цитоплазму. Таким образом, имеющиеся данные свидетельствуют о том, что НЧ TiO_2 способны к проникновению через слизистую оболочку кишки в очень ограниченной степени.

Количественная оценка всасывания TiO_2 из ЖКТ представляет собой непростую задачу, которая может быть, в принципе, решена путем выявления МЧ или НЧ этого вещества методами аналитической ТЭМ или с помощью элементного анализа содержания Тi в тканях. Исторически первой такой работой было исследование P.U. Jani et al. [28], в котором гистологическими и химическими методами были выявлены МЧ TiO_2 размером 500 нм в печени, селезенке и лимфоидной ткани кишки самок крыс Sprague Dawley после однократного перорального введения в дозе 12,5 мг/кг м.т. В сердце и почках МЧ обнаружены не были.

При однократном введении МЧ (150 нм) и НЧ (25 и 80 нм) TiO_2 самцам и самкам мышей в дозе 5000 мг/кг м.т. накопление Тi удалось выявить в печени, селезенке и почках [29]. О нарастании количеств Тi в печени мышей, получавших перорально НЧ TiO_2 в течение 60 суток, сообщается также у Y. Cui et al. [30]. При более длительном (90 суток) введении мышам НЧ TiO_2 в дозе 10 мг/кг м.т. X. Sang et al. выявили увеличение содержания Тi в селезенке [31, 32] и тимусе [33]. У крыс самок Sprague – Dawley НЧ анатазы при 5-суточном введении в дозе 1–2 мг/кг м.т. накапливались в селезенке и яичниках [34]. По данным Г.Е. Онищенко и др. [27], 28-суточное введение самцам крыс Wistar НЧ рутила в дозе 100 мг/кг м.т. сопровождалось их накоплением в печени. Данные R. Shrivastava et al. [35] указывают на возможность проникновения НЧ TiO_2 через гематоэнцефалический барьер и поступления в цитоплазму и ядро клеток головного мозга после однократного внутривенного введения 500 мг/кг м.т. Y. Ze et al. [36] также сообщают о выявлении этих НЧ в мозге мышей после 90-су-

точного введения в дозе от 2,5 до 10 мг/кг м.т. Накопление НЧ TiO_2 в слизистой оболочке желудка мышей после введения по 500 мг/кг м.т. в течение 5 суток выявлено в исследовании [37]; авторы связывают это с возможным развитием гастрита. Аналогичные данные были получены и в отношении накопления в слизистой оболочке тонкой кишки крысы [38]. В подостром 14-недельном эксперименте в исследовании [39] НЧ анатазы вводили в желудок мышей в дозах до 320 мг/кг м.т.; биораспределение Тi при этом включало печень, селезенку, тонкую кишку, почки и поджелудочную железу. F. Hong et al. [40] вводили НЧ TiO_2 в дозе 25–100 мг/кг м.т. самкам мышей на протяжении беременности (17 суток), после чего констатировали накопление Тi в плодах и плаценте [40]. В недавней работе J. Yang [41] хорошо охарактеризованные НЧ анатазы размером 21 нм накапливались в печени мышей в результате перорального введения в течение 14 суток.

В ряде других исследований всасывание из ЖКТ и бионакопление НЧ TiO_2 выявить не удалось на пределе чувствительности примененных аналитических методов. Так, Cho et al. по данным масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ICP-MS) сообщают об отсутствии накопления Тi в печени, почках, селезенке, головном мозге и экскреции с мочой после перорального введения крысам смеси НЧ анатазы и рутила (80:20) в дозе 1000 мг/кг м.т. в течение 13 недель [42]. В эксперименте L. Geraets et al. [43] самкам и самцам крыс Wistar вводили перорально НЧ (диаметром 38–67 нм) или МЧ (132–267 нм) TiO_2 на протяжении 5 суток. При этом только в почках и селезенке были выявлены следовые (не более 0,001 % от введенной дозы) количества Тi, что находилось вблизи порога чувствительности метода. L. Martins et al. [44] не выявили накопления Тi в печени, почках и крови после 45-суточного введения НЧ самцам крыс Wistar в дозе 0,5 мг/кг м.т. Отсутствие бионакопления во внутренних органах было также показано в исследовании E.M. Donner et al. [45], в котором крысам однократно вводили 6 видов НЧ и МЧ анатазы или рутила в дозе от 500 до 2000 мг/кг м.т., а также в работе N. Gu et al. [46], в которой МЧ TiO_2 вводили мышам в дозе 64 мг/кг м.т.

Таким образом, использование химического анализа, даже такого высокочувствительного, как ICP-MS, не позволило получить однозначного результата о возможности всасывания НЧ TiO_2 из ЖКТ и накопления в органах и тканях. Частично это может быть объяснено артефактами, связанными с собственным фоновым содержанием Тi в биологических объектах, в силу чего величина его избыточного поступления в органы и ткани в составе НЧ может быть измерена только с очень большой погрешностью. С другой стороны, часть вышеупомянутых негативных результатов может объясняться неудачным выбором дозы наноматериала (слишком низкая или, наоборот, слишком высокая, приводя-

шая к тотальной агрегации НЧ), либо недостаточным временем экспозиции. Прояснить эту неопределенность могло бы исследование с использованием НЧ, несущих радиоизотопную метку, однако Ti относится к химическим элементам, у которых отсутствуют достаточно долгоживущие радиоизотопы. Попытка пометить НЧ TiO_2 изотопом йода [23] оказалась безуспешной, поскольку эта метка легко отсоединялась от НЧ в биологическом окружении. В работах Ю.П. Бузулукова и др. [47, 48] НЧ рутила были помечены радиоизотопом скандия путем бомбардировки быстрыми нейтронами с энергией более 1,9 МэВ на циклотроне по реакции $^{22}Ti(n, p)^{21}Sc^{47}$. Меченые НЧ вводили крысам-самцам Wistar однократно в дозе 400 мг/кг м.т. Регистрация радиоактивности во внутренних органах не позволила выявить присутствие метки в селезенке, поджелудочной железе, гонадах, почках, легких, сердце, головном мозге, а также в моче. В печени и крови обнаружены только следовые количества метки (около 0,002 % от введенной дозы). Более 99,9 % активности экскретировалось с калом, а в остаточном костно-мышечно-кожном каркасе оставалось порядка 0,06 % введенной активности, что объясняется авторами возможностью контаминации шерсти фекалиями вокруг анального отверстия. Таким образом, единичный результат исследования радиоизотопным методом согласуется с данными тех работ, которые указывают на очень низкую (если не практически нулевую) биодоступность НЧ TiO_2 при их поступлении в ЖКТ.

Характеристика опасности.

1. Общетоксическое действие, органы-мишени.

Несмотря на, по-видимому, очень малую биодоступность НЧ и МЧ TiO_2 , в значительном числе работ выявлены признаки их общетоксического действия на организм при пероральном и внутрижелудочном введении. В хронологической первой статье J. Wang et al. [29] самцам и самкам мышей вводили НЧ (25 и 80 нм) или МЧ (150 нм) однократно в дозе 5000 мг/кг м.т. Несмотря на отсутствие признаков острой токсичности (летальности, изменения поведения животных), на секции выявлена периваскулярная дегенерация и точечный некроз гепатоцитов, сдвиги в активности ЛГД и отношения АСТ/АЛТ плазмы крови, повышение уровня мочевины, патологические изменения в почках. При однократном внутрижелудочном введении крысам Wistar НЧ TiO_2 в дозе 160–1000 мг/кг м.т. вызывали повышение уровней в моче таурина, цитрата, гипшурата, гистидина, триметиламин-N-оксида, цитрулина, α -кетоглутарата, фенилацетилглицина и ацетата, снижение лактата, бетаина, метионина, треонина, пирувата, 3-D-гидроксипирувата, холина и лейцина. Сходные метаболомные сдвиги выявлены и в плазме крови [49].

У самок линии CD-1 (ICR) 30-дневное пероральное введение НЧ анатазы в дозах от 62,5 до 250 мг/кг м.т. вызывало повышение активности АЛТ, АСТ, щелочной фосфатазы (ЩФ), уровня оксида

азота, билирубина и интерлейкина-2, сдвиги в лейкоцитарной формуле крови, содержании популяций CD3 (+), CD4 (+), CD8 (+) клеток, NK-лимфоцитов, В-клеток [15].

В работе Р.В. Распопова и др. [50] растущим самцам крыс Wistar на протяжении 30 суток вводили внутрижелудочно по 1 и 100 мг/кг м.т. НЧ анатазы, рутила и МЧ пигментного TiO_2 . В наименьшей из указанных доз отмечено увеличение проницаемости стенки кишки для белковых макромолекул, повышение экскреции продукта окислительной деградации ДНК 8-охо-G, снижение содержания восстановленных тиолов и активности СYP2B1 и повышение общей активности глутатион-S-трансферазы в печени, снижение активности ЩФ в плазме крови. При этом были выявлены эффекты, как специфические для НЧ, так и проявляемые, в том числе, МЧ. При пероральной экспозиции крыс Wistar НЧ анатазы в дозах 1–10 мг/кг м.т. методами протеомики выявлена экспрессия в печени аномальной изоформы глутатион-S-трансферазы $\mu 2$, а также появление 53 и исчезновение 19 белковых пятен, которые не были точно идентифицированы [51].

При 60-суточном введении НЧ TiO_2 мышам в исследованиях Y. Cui et al. [52] показано усиление апоптоза гепатоцитов, развитие оксидантного стресса, снижение экспрессии металлопротеина, белка теплового шока HSP70, P53 и трансферрина; транскриптомные изменения в экспрессии генов TLR2 и 4, IKK1, IKK2, NF- κ B, NF- κ BP52, NF- κ BP65, TNF- α , NIK, I κ B и IL-2 [30].

У крыс Wistar, получавших НЧ TiO_2 в дозе 300 мг/кг м.т., отмечали увеличение количества липоперекисей в печени, возрастание активностей АЛТ и АСТ плазмы крови при снижении активности антиоксидантных ферментов. Гистологическая картина повреждения печени включала апоптоз, центроlobулярный некроз и пролиферацию клеток воспаления [53]. Изменения в экспрессии p53, BAX, каспазы-3 и -9 и Bcl-2 и признаки окислительного повреждения ДНК наблюдали в печени мышей, получавших НЧ TiO_2 в дозе 100 мг/кг м.т. на протяжении 14 суток [54].

Гепатотоксичность НЧ анатазы (21 нм) для мышей в дозе 150 мг/кг м.т. при 14-суточном эксперименте проявлялась в повышении активности трансаминаз в плазме крови, отеке печени, накоплении в ее ткани малонового диальдегида, активации печеночных макрофагов, увеличении продукции TNF- α и IL-6, экспрессии ядерного эритроид-2-связанного фактора 2 и NF- κ B при подавлении экспрессии Bcl-2 [55]. Нарушения метаболической функции печени под действием перорально вводимых НЧ анатазы размером 21 нм были выявлены в исследовании J. Yang et al. [41].

Как показано Y. Wang et al. [56], введение молодым самцам крыс Sprague – Dawley НЧ TiO_2 размером 75 нм приводит к сдвигам в обмене минеральных веществ, что проявляется в снижении

содержания Mo, Co, Mn и P в печени, а также Rb и Na в почках.

Кардиотоксичность НЧ TiO₂ в дозе 2–50 мг/кг м.т. у крыс Sprague – Dawley в эксперименте длительностью от 30 до 90 суток проявлялась в снижении интервала между систолическим и диастолическим АД, лейкоцитозе, повышении активностей лактатдегидрогеназы, а-гидроксibuтиратдегидрогеназы, содержания TNF-α и IL-6 в плазме крови [57]. Нарушения в функции сердечно-сосудистой системы наблюдали не только под действием НЧ, но и содержащего их в небольшой пропорции пигментного TiO₂, который вводили мышам перорально в дозе до 500 мг/кг м.т. При этом в стенках коронарной артерии усиливалась как холинэргическая вазорелаксация, так и конкурирующая с ней серотонинэргическая вазоконстрикция [58].

В ряде исследований оценивали влияние наночастиц TiO₂ на состояние углеводно-энергетического обмена животных. У мышей введение НЧ анатазы (64–320 мг/кг м.т.) в течение 14 недель вызывало развитие гипергликемии, инсулиновой резистентности, возрастание фосфорилирования IRS1 и снижение –Akt под действием JNK1 и p38 MAPK соответственно. Это сопровождалось явлениями оксидантного стресса и увеличением уровня провоспалительных цитокинов [59].

При введении НЧ TiO₂ самкам мышам в дозе до 50 мг/кг м.т. в течение 14 суток развивались оксидантный стресс, гипергликемия и сдвиги в уровнях тиреоидных гормонов, эстрадиола и пролактина [60]. Возможный механизм влияния НЧ TiO₂ на углеводный обмен был исследован в работах [59, 61], где методами транскриптомики были установлены метаболические пути (KEGGs), являющиеся мишенями такого воздействия. Так, многократное пероральное введение этих НЧ мышам в дозе 50–200 мг/кг м.т. влияло на систему биотрансформации ксенобиотиков и приводило к стрессу эндоплазматического ретикулаума печени.

Степень влияния НЧ TiO₂ на животных может зависеть от их возраста и пола. В частности, было показано выраженное повышение уровня гликемии и активности глутатионпероксидазы у молодых (исходным возрастом 3 недели), но не у взрослых (6 недель) крыс-самцов Sprague – Dawley, перорально экспонированных НЧ TiO₂ в дозе 30 мг/кг м.т. на протяжении 30 суток [62]. Изменения в уровнях восстановленного глутатиона, продуктов ПОЛ, IL-1α, IL-4 и TNF-α под действием НЧ TiO₂ в дозе до 50 мг/кг м.т. в 90-суточном эксперименте были более выражены у самок, чем у самцов мышам сопоставимого возраста [63].

Отдельно следует остановиться на работах, в которых токсичность различных форм TiO₂ при пероральном поступлении не была выявлена. N. Gu et al. [46] многократно экспонировали мышам пигментными титановыми белилами (размер МЧ более 100 нм); при этом не было выявлено гипергликемии и призна-

ков усиления ПОЛ. Исследование D.B. Warheit et al. [64], позиционируемое авторами как арбитражное, было проведено в полном соответствии с протоколами OECD № TG 407, 408, 425. При этом растущим самцам крыс вводили НЧ (73 нм) или МЧ (145; 173 нм) однократно (тест на острую токсичность) в дозе 24 000 мг/кг м.т. или многократно (28 или 90 суток) в дозах 1000 мг/кг м.т. и более. Тестирование интегральных показателей и морфологии внутренних органов не выявило каких-либо признаков токсичности. Несмотря на строгую методическую основу данного исследования, оно впоследствии подверглось критике [22], главным образом, из-за ограниченного набора исследованных показателей, а также неадекватного выбора очень высокой дозы наноматериала, при которой, предположительно, могла происходить его массивная агрегация с образованием протяженных трехмерных структур (гелеобразование) в просвете ЖКТ.

2. Генотоксичность.

При введении НЧ (33 нм) и МЧ (160 нм) TiO₂ в желудок мышам SW6B6F1 в дозах от 40 до 1000 мг/кг м.т. в течение 7 суток отмечали появление микроядер в клетках костного мозга и печени. Как МЧ, так и НЧ вызывали увеличение митотического индекса в железистой слизистой оболочке желудка и эпителии толстой кишки. В случае введения НЧ отмечалось также развитие апоптоза клеток слизистой оболочки желудка, появление многоядерных сперматид в семенниках [65]. Пятидневное введение мышам НЧ TiO₂ в дозе 5–500 мг/кг м.т. приводило к развитию апоптоза, фрагментации ДНК и мутаций в экзонах гена p53 в сочетании с биохимическими признаками оксидантного стресса в слизистой оболочке желудка [37]. У крыс Wistar пероральное введение НЧ анатазы (100–200 мг/кг м.т., 60 суток) вызывало разнообразные нарушения в системе эритроцитов крови, включая появление микроядерных клеток в сочетании с повреждением хромосом клеток костного мозга и фрагментацией ДНК, выявляемой в комет-тесте [66]. В микроядерном тесте на культуре лимфоцитов генотоксичность НЧ анатазы выявлялась в концентрации 1,6 мкг/мл, тогда как у МЧ – только при 40 мкг/мл и выше [67].

Данные, свидетельствующие об отсутствии у НЧ TiO₂ генотоксичности, были получены на крысах-самцах Sprague – Dawley, получавших НЧ анатазы (10–200 мг/кг м.т., 30 суток). В этих условиях не были выявлены хромосомные aberrации и нарушения митоза в клетках костного мозга [68]. У крыс, однократно получавших 6 видов МЧ и НЧ TiO₂ в дозах 500–2000 мг/кг м.т., в клетках костного мозга и ретикулоцитах крови не возрастало количество микроядер [69]. Наконец, согласно A.D.C. Martins et al. [44], признаков генотоксичности не было выявлено у самцов крыс линии Wistar, которым вводили низкую дозу (0,5 мг/кг м.т.) НЧ в течение 45 суток.

Таким образом, данные о наличии у НЧ TiO₂ генотоксичности являются в настоящее время про-

тиворечивыми. Эффекты прямо не коррелируют с размером частиц, дозой и сроками введения, видом животных, что указывает на необходимость дальнейших исследований.

3. Иммунотоксичность.

Рассматривая специальные и отдаленные эффекты перорального введения НЧ TiO_2 , следует остановиться на их взаимодействии с иммунной системой. В работе R. Tassinari et al. [34] сообщается о наличии нарушений в структуре белой пульпы селезенки у самок (но не у самцов) крыс Sprague – Dawley при введении в желудок НЧ анатазы (1–2 мг/кг м.т.) в течение 5 суток. Эти явления сопровождались также изменениями морфологии цитовидной железы, коры надпочечников и яичников, что, по мнению авторов, указывает на развитие системного эндокринного нарушения.

У самцов крыс Wistar, иммунизированных куриным овальбумином, в эксперименте продолжительностью 28 суток НЧ рутила в дозе 100 мг/кг м.т. вызывали снижение числа незрелых клеток и В-лимфоцитов при возрастании фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови. Уровень IgG-антител у животных, получавших НЧ, был повышен, что интерпретируется авторами как ускорение созревания В-лимфоцитов в плазматических клетках при этом воздействии [70].

У мышей введение НЧ анатазы в дозе 2,5–10 мг/кг м.т. в течение 90 суток усиливало апоптоз лимфоцитов, продукцию макрофагальных воспалительных факторов MIP-1 α , MIP-2, Eotaxin, MCP-1, а также IFN- γ , VCAM-1, IL-13, IFN-индуцибельного белка-10, экспрессию CD69, тирозиновых протеинкиназ и фосфатаз, основного фактора роста фибробластов, FasI и GzmB при снижении экспрессии NKG2D, NKp46, 2B4 [33]. С использованием этой же модели показаны развитие некроза и окислительного стресса в селезенке, экспрессия циклооксигеназы-2 с ростом продукции простагландина PGE2, повышение уровней мРНК для ERK, AP-1, CRE, Akt, JNK2, MAPKs, PI3-K, c-Jun и c-Fos [32]. Сообщалось также об увеличении в крови этих животных уровней TNF- α , macrophage migration inhibitory factor, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, IL-1 β , cross-reaction protein, TGF- β , экспрессии Vax и CYP1A1 при подавлении Bcl-2 и HSP-70 [31].

В сходных по методике 30-суточных экспериментах у мышей был выявлен отек селезенки, сопровождаемый усилением процессов ПОЛ и экспрессией гемоксигеназы-1 через p38-Nrf-2 сигнальный путь [71].

4. Репродуктивная токсичность.

Имеются, хотя и немногочисленные, экспериментальные сведения о влиянии перорально вводимых НЧ TiO_2 на репродуктивную систему млекопитающих. При 52-дневном введении самцам мышей Kunming этих НЧ размером менее 50 нм в дозе до 250 мг/кг м.т. возрастало число аномалий сперматозоидов в придатках семенников и снижалось число

сперматогенных клеток и пузырьков в семенных канальцах. Это сопровождалось снижением уровня циркулирующего тестостерона и экспрессии 17 β -гидроксистероид дегидрогеназы в семенниках [72]. В экспериментах на самцах крыс Wistar 2- или 3-недельное пероральное экспонирование НЧ в дозе 50 мг/кг м.т. приводило к повышению экспрессии γ -глутамилтрансферазы и снижению c-kit и стероидогенного острого регуляторного белка (StAR). Уменьшалось общее количество образующихся сперматозоидов и возрастало число их дефектных форм. В предстательной железе и семенниках отмечались признаки оксидантного стресса, снижение восстановленного глутатиона, повышение TNF- α , усиление экспрессии Fas, Vax и каспазы-3 при снижении Bcl-2. Гормональные нарушения включали повышение уровня гонадотропина и эстрадиола при снижении тестостерона [73].

У беременных самок мышей при 17-дневном (на протяжении беременности) введении НЧ TiO_2 в дозе 25–100 мг/кг м.т. развивались скелетные аномалии плодов с признаками недоразвития хрящевой ткани и снижением оссификации. Возрастало число плодов с дисплазией, отмечались случаи экзенцефалии, *spina bifida*, скрученные хвосты, сколиоз, недоразвитие ребер и грудины [40].

В отличие от этого, в исследовании D.B. Warheit et al. [74], где 6 видов НЧ и МЧ TiO_2 вводили беременным самкам крыс Wistar в дозе до 1000 мг/кг м.т., каких-либо признаков аномалий плодов выявлено не было. Информация о репродуктивной токсичности НЧ TiO_2 нуждается в дополнительных исследованиях.

5. Нейротоксичность.

Несмотря на то что надежных свидетельств о возможности транслокации перорально вводимых НЧ TiO_2 в головной мозг в настоящее время не получено, ряд исследований свидетельствует о развитии под их действием нарушений в функционировании ЦНС. Так, у мышей ICR при 60-суточном введении НЧ в дозах 5–50 мг/кг м.т. были выявлены изменения в поведенческих реакциях и памяти пространственного распознавания. В головном мозге ингибировалась активность металлозависимых АТФ-аз (ионных помп для Na^+/K^+ и $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$), ацетилхолинэстеразы и синтазы окиси азота; нарушался обмен дофамина, норэпинефрина и их метаболитов. По мнению авторов работы, указанные изменения могут быть связаны со сдвигами под действием НЧ в статусе минеральных веществ, включая уровни Ca, Mg, Na, K, Fe и Zn головного мозга [16]. На возможность влияния НЧ TiO_2 на обмен дофамина и норэпинефрина в коре головного мозга указывают также данные работы R. Shrivastava et al. [35], выполненной на мышах. Введение наноматериала при этом осуществляли однократно в дозе 500 мг/кг м.т. Значительно меньшая доза НЧ (2,5–10 мг/кг м.т.), вводимая на протяжении 90 суток, вызывала у мышей серьезные морфологические изменения в головном мозге, потерю пространственной

ориентации, снижение долгосрочной памяти в сочетании со снижением экспрессии субъединиц NR2A, В-рецептора N-метил-D-аспартата (NMDA), подавлением экспрессии CaMKIV, CREB-1, CREB-2 и FosB/DFosB в гиппокампе [36]. У самцов крыс Wistar очень мелкие (5–10 нм) НЧ анатазы в дозе 50–200 мг/кг м.т. при 60-суточном введении вызывали ингибирование в ЦНС активности ацетилхолинэстеразы и повышение продукции IL-6 глиальной тканью. Возрастало накопление глиального кислого фибриллярного белка GFAP в коре головного мозга [75].

6. Канцерогенность.

Как известно, НЧ TiO₂, вводимые ингаляционным путем, могут быть канцерогенными и относятся IARC⁸ к группе веществ 2B (предположительно канцерогенны для людей) [76]. Однако возможность проявления канцерогенных свойств этими НЧ при их поступлении в ЖКТ изучена недостаточно. В единственном исследовании [77] краситель TiO₂, представленный смесью МЧ и НЧ рутила и анатазы, вводили в составе рациона (2,5–5,0 % по массе) крысам Fischer 344 и мышам B6C3F142 в течение 103–104 недель. Частота формирования опухолей (аденом и карцином) различной локализации несколько возрастала у самок крыс, экспонированных высокой дозой препарата, при вероятности принятия нуль гипотезы $p = 0,043$, что было сочтено недостаточным для обоснования канцерогенного действия в соответствии с критерием Bonferroni. Таким образом, убедительных данных о канцерогенности TiO₂ при поступлении в ЖКТ получено не было.

7. Эффекты, оказываемые диоксидом титана в просвете кишки.

Обсуждая возможные причины и механизмы выраженной пероральной токсичности НЧ TiO₂, следует остановиться на эффектах его воздействия в просвете ЖКТ, для проявления которых системная транслокация не является необходимым условием. При этом следует остановиться на следующих аспектах: влиянии НЧ на усвоение пищевых веществ, взаимодействии НЧ со слизистыми оболочками ЖКТ и, в особенности, с ассоциированной с ними лимфоидной тканью (GALT) и влияние на кишечный микробиом.

В остром эксперименте НЧ TiO₂ не оказывали влияния на всасывание жирных кислот клетками кишечника. Однако в хроническом эксперименте наблюдалось значительное снижение их всасывания в желудочно-кишечном тракте. Известно, что НЧ могут оказывать влияние на всасывание в желудочно-кишечном тракте минеральных веществ. Во-первых, НЧ, погружаясь в матрицу пищевого продукта, приводят к образованию комплексов с белками, жирами и углеводами и формируют «корону» на его поверхности. Такие поверхностные изменения могут влиять на биодоступность нутриентов, их растворимость, распознавание структурными элемен-

тами организма, отвечающими за процессы усвоения пищевых веществ, и, как результат, влияют на степень токсичности НЧ [78].

С использованием *in vitro* модели монослоя клеток Caco-2 В.А. Koeneman et al. [24] показали, что в концентрации 10–100 мкг/мл НЧ не вызывают гибели клеток, нарушения морфологии микроворсинок и состояния плотных контактов. НЧ рутила в концентрации 100 мкг/мл не оказывали влияния на монослой клеток Caco-2 в работе М. Fisichella et al. [79]. Сходные результаты были получены и в исследовании М.Р. Jo et al. [80], где в сравнительном аспекте анализировали действие гораздо более крупных МЧ (117 и 153 нм) на слои клеток Caco2 и тонкую кишку крыс *in vivo*. В исследовании Г.Е. Онищенко и др. [27] НЧ рутила не вызывали ультраструктурных изменений в энтероцитах подвздошной кишки крысы при внутрикишечном введении.

Имеются, однако, и работы, раскрывающие способность влияния НЧ TiO₂ на кишечный эпителий. К ним относится исследование [38], в котором показано увеличение длины ворсинок слизистой оболочки тонкой кишки крыс, перорально экспонированных НЧ, а также работа на клетках Caco-2, в которой наблюдали нарушение морфологии щеточной каймы под воздействием низкой концентрации (менее 0,35 мкг/мл) пигментного TiO₂ (смеси 25 % НЧ и 75 % МЧ) [81].

Результаты перечисленных работ относятся к действию НЧ на «абсорбтивный» эпителий слизистой оболочки кишки. Однако при взаимодействии НЧ с GALT, представленной лимфоидной тканью пейеровых бляшек, эффект может быть принципиально иным. Так, при действии МЧ (260 нм) и НЧ (66 нм) на самцов мышей C57Bl/6J в дозе 100 мг/кг м.т. в течение 10 суток отмечали возрастание числа CD4+ в лимфоидной ткани двенадцатиперстной, тощей и подвздошной кишки. По сравнению с контрольной группой увеличивалась продукция клетками пейеровых бляшек IL-4, IL-12, IL-23, TNF- α , IFN- γ и TGF- β [82]. Учитывая системный характер действия указанных противовоспалительных цитокинов, данный единичный результат представляет особый интерес при объяснении токсических эффектов НЧ TiO₂, характеризующихся крайне низкой биодоступностью и всасываемостью в пищеварительном тракте. Однако для подтверждения этих данных необходимы дополнительные исследования.

По данным J.J. Faust et al. [83], воздействие НЧ TiO₂ значительно снижало барьерную функцию кишки в хроническом эксперименте. При этом наблюдалось образование активных форм кислорода, активизация воспалительного процесса и увеличение активности щелочной фосфатазы. В связи со снижением поглотительной способности щеточной каймы эпителиоцитов транспорт железа, цинка и

⁸ Международное агентство по изучению рака (International Agency for Research on Cancer).

жирных кислот через слизистую оболочку кишки также снижался в значительной степени после воздействия наночастиц TiO_2 .

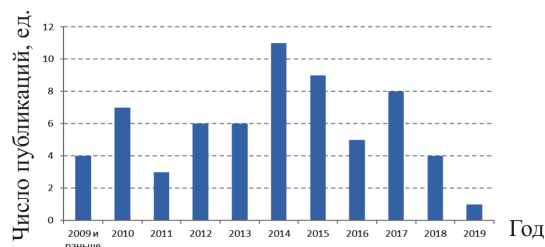
Принципиальная возможность опосредованного воздействия НЧ TiO_2 на организм человека и животных через влияние на состав и функцию компонентов кишечного микробиома вытекает из многочисленных данных о биоцидном действии этих НЧ на различные группы микроорганизмов *in vitro* (обзор основных результатов в статье [84]). Кроме того, установлено, что НЧ могут повышать степень патогенности условно-патогенных микроорганизмов, входящих в состав кишечной микробиоты [85]. При этом существенно, что рост различных групп микроорганизмов подавляется в неодинаковой степени, что может привести к значимому вмешательству наноматериала в тонкую настройку симбиотических и конкурентных отношений многочисленных компонентов микробиома. Однако прямые данные о способности НЧ TiO_2 влиять на кишечный микробиоценоз в естественных условиях немногочисленны.

Препараты НЧ анатазы и рутила, а также пигментного TiO_2 вводили крысам-самцам Wistar на протяжении 30 суток в дозах 1 и 100 мг/кг м.т. [86]. В указанных условиях, как при низкой, так и при высокой дозе, обнаружено возрастание количества гемолитических и общих стрептококков, стафилококков, снижение бифидобактерий. Изменения в иммунном фоне животных выражались в увеличении продукции IL-10. Выявленные изменения не были связаны с кристаллической формой и размером частиц и выявлялись как при введении НЧ, так и МЧ. В исследовании W. Dufefoi et al. [87], выполненном с использованием как МЧ, так и НЧ, изменения в состоянии микробиома *in vitro* в тесте газовой образования и продукции жирных кислот C16:0, C18:0, цисC15:1w5 и цисC18:1w9c были минимальными при концентрации наноматериала 0,1–0,25 мг/мл, но сопровождалась изменением состава микробных популяций – уменьшением количества бактероидов при возрастании *Clostridium sp.* При пероральном введении мышам НЧ анатазы и рутила в период до 28 суток наблюдали развивающиеся во времени изменения в состоянии кишечного микробиома, включая такие филумы, как *Proteobacteria*, *Prevotella*, *Rhodococcus* и *Bacteroides*. Степень выраженности эффектов различалась для двух кристаллических форм НЧ и не сопровождалась видимыми изменениями в морфологии кишечной стенки [88]. Можно заключить, что поиск изменений в составе и функциональной активности кишечного микробиома под действием НЧ TiO_2 – это перспективное направление в установлении механизмов биологического действия этого мало абсорбируемого наноматериала, однако объем подобных исследований пока явно недостаточен.

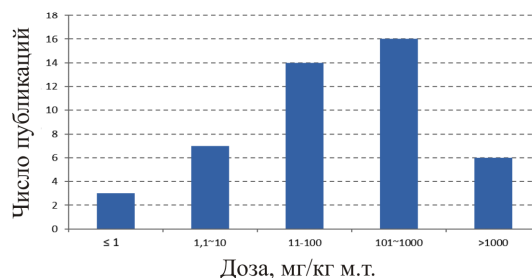
8. Метаанализ данных о токсичности.

Таким образом, в общей сложности были проанализированы данные 64 источников (за период 2007–2019 гг.), удовлетворяющих критериям науч-

ной достоверности и полноты согласно МР 1.2.2522-09 (статьи в рецензируемых научных журналах, содержащие детализированное описание объекта исследования и применяемой биологической модели, выполненные с использованием количественных методов, содержащие статистически достоверные результаты и не оспоренные в последующих публикациях). Распределение работ по годам публикации представлено на рисунке (а). Используемые биологические модели включали пероральное однократное (15 работ) и многократное подострое (42) и хроническое (1) введение крысам и мышам-самцам и самкам различных линий, а также эксперименты *in vitro* на монослоях клеток кишечного эпителия и культурах микробиоты ЖКТ. В 50 статьях объектом исследования были НЧ TiO_2 , в 3 – МЧ, в 9 – МЧ и НЧ в сравнении. Из общего числа работ в 35 было выявлено неблагоприятное (токсическое) действие на организм в дозах TiO_2 от 0,1 до 1000 мг/кг м.т., в 6 – токсичность не была показана, в 27 работах полученные данные не позволили однозначно оценить LOAEL или изучалось только биоаккумуляция. Основными органами-мишенями явились печень (17 работ), желудочно-кишечный тракт (9), селезенка и органы иммунной системы (8), а также сердце, почки, головной мозг. Особого внимания заслуживают данные о влиянии TiO_2 (в форме как НЧ, так и МЧ) на состав и биологические свойства представителей кишечной микробиоты, выявленные в четырех исследованиях. Распределение числа публикаций по оцененной величине LOAEL представлено на рисунке (б).



а



б

Рис. Распределение числа статей по вопросу пероральной токсичности наночастиц диоксида титана: а – по году публикации; б – по величине оцененной LOAEL

Как следует из представленных данных, в 10 из 41 учтенной публикации LOAEL составила 10 мг/кг м.т. и менее, что приблизительно соответствует 25-му перцентилю всего числа источников. Примечательно, что работы, в которых сообщалось об отсутствии у НЧ TiO₂ токсических свойств, были выполнены преимущественно с использованием очень высоких доз наноматериала (1000 мг/кг м.т. и более). Это не исключает возможность ложноотрицательного результата, обусловленного агрегацией НЧ [22]. Следует также отметить, что токсические эффекты реже наблюдались при остром (однократном) введении наноматериала животным, чем при подостром (30–90 суточном). Таким образом, со значительной степенью вероятности можно сделать вывод, что в дозе не более 10 мг/кг м.т. НЧ TiO₂ в форме как анатазы, так и рутила способны оказать неблагоприятное воздействие на организм. Органами и тканями организма, являющимися мишенями такого воздействия, являются, по-видимому, в первую очередь селезенка и иммунная система, а также слизистые оболочки желудка и тонкой кишки, печень и головной мозг. Максимальная недействующая доза (NOAEL) TiO₂ в наноформе составляет тем самым менее 10 мг/кг м.т., что качественно согласуется со сделанными ранее оценками с использованием значительно меньшего числа источников [14].

9. Оценка риска.

Оценка неканцерогенного риска воздействия наноматериала на организм человека проводится в соответствии с МР 1.2.0038-11 «Оценка риска воздействия наноматериалов и наночастиц на организм человека»⁹ путем расчета коэффициента опасности (HQ) по формуле

$$HQ = E_d/RfD,$$

где *RfD* – референтный уровень безопасного воздействия, выраженный в единицах мг/кг м.т. · сут, а *E_d* – оцененная экспозиция в тех же единицах. Как следует из данных табл. 1, реалистической оценкой для потребления TiO₂ в качестве пищевой добавки E171 значительной частью населения является 1 мг/кг м.т. в сутки. При этом, как показано в разделе 8, NOAEL для TiO₂ в наноформе составляет не более 10 мг/кг м.т. в сутки. Для определения на основе этого результата *RfD* необходимо ввести два 10-кратных коэффициентов запаса, первый из которых учитывает неопределенность (расхождение в опытных данных между различными публикациями), а второй представляет собой коэффициент подобия при переносе данных, полученных с использованием мелких животных (лабораторных грызунов) на человека. Таким образом, величину *RfD* для TiO₂ в наноформе следует принять равной не более 0,1 мг/кг м.т. в сутки.

Таблица 2

Оценка риска диоксида титана в составе E171 при пероральном поступлении

№ п/п	Сценарий (содержание НЧ, % по массе)	Коэффициент опасности (HQ)	Риск (оценка)
1	0,3	0,03	Приемлемый
2	1,0	0,1	Приемлемый
3	10	1,0	Неприемлемый
4	100	10,0	Крайне неприемлемый

В табл. 2 представлены результаты оценки риска от перорального поступления НЧ TiO₂ с учетом четырех возможных сценариев содержания в нем НЧ. Первый из этих сценариев (оптимистический) предполагает наличие в составе E171 не более 0,3 % НЧ по массе, как это следует из данных [2, 22], а последний (предельно пессимистический) исходит из предположения о том, что весь используемый TiO₂ представлен в наноформе.

Из этих данных следует, что использование TiO₂ с содержанием НЧ более 1 % по массе может отвечать неприемлемому риску воздействия на организм.

10. Заключение и рекомендации.

Таким образом, имеющиеся в литературе данные позволяют заключить, что НЧ TiO₂ в двух наиболее распространенных формах (анатаза и рутил) при введении в желудочно-кишечный тракт как однократно (в остром опыте), так и многократно оказывают разнообразное неблагоприятное воздействие на организм. Наиболее часто встречающиеся эффекты связаны с воздействием на печень, что проявляется в повреждении ткани, развитии признаков оксидантного стресса, изменениях биохимических показателей плазмы крови, а также сдвигах в протеоме и транскриптоме органа. Другой мишенью воздействия является иммунная система, в частности костный мозг и селезенка, для которых наблюдаются изменения в состоянии генетического аппарата ядра клеток, сдвиги в продукции провоспалительных цитокинов и ростовых факторов. Отмечаются признаки нейротоксичности и репродуктивной токсичности НЧ, однако в этом случае величина LOAEL, как правило, оказывается существенно выше 10 мг/кг м.т. В относительном меньшинстве работ токсические эффекты НЧ TiO₂ не были выявлены. Одной из причин этого может быть выбор авторами исследования слишком высоких доз наноматериала, при которых фактором, ограничивающим проявление биологических эффектов, является массивная агрегация НЧ. В известном противоречии с разнообразными токсическими воздействиями TiO₂ в наноформе находятся данные о его,

⁹ МР 1.2.0038-11. Оценка риска воздействия наноматериалов и наночастиц на организм человека [Электронный ресурс] // КОДЕКС: электронный фонд правовой и нормативно-технической документации. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200097700> (дата обращения: 23.03.2019).

по-видимому, чрезвычайно низкой всасываемости и биодоступности в ЖКТ. Ключевое значение для понимания этого парадокса имеют, скорее всего, данные относительно немногочисленных работ о влиянии НЧ на кишечный микробиом. Воздействие НЧ может вызвать усиление патогенных свойств условно-патогенных микроорганизмов, входящих в состав микробиома кишечника. Изменение качественного и количественного состояния кишечной микрофлоры, в свою очередь, может приводить к нарушению функционирования лимфоидной ткани кишечника (GALT), кислотного баланса в просвете кишечника, пролиферации клеток воспаления, развитию гнилостных процессов. Такие воздействия способны привести к значительным сдвигам в продукции про- и противовоспалительных цитокинов, абсорбции нутриентов и биологически активных метаболитов микрофлоры, что в совокупности может объяснить многие из наблюдаемых для наноразмерного TiO₂ системных эффектов. Однако для выяснения этих важных особенностей действия как наноразмерного TiO₂, так и, по аналогии, других мало- или полностью не абсорбируемых при пероральном введении наноматериалов (НЧ диоксида кремния, алюмосиликатные глины, углеродные нанотрубки) необходимы дополнительные исследования.

Проведенная оценка риска НЧ TiO₂, способных поступать в организм с пищей, косметическими средствами и лекарственными препаратами, основанная на данных литературы об экспозиции человека всеми формами TiO₂ в качестве пищевой добавки E171 и экспериментальном определении величин LOAEL/NOAEL, показала, что степень риска зависит от сценария содержания НЧ в продукции. А именно при количестве НЧ 10 % и более по массе

риск может стать неприемлемым. Отсюда следует, что содержание наноразмерного материала в составе E171, используемой в пищевой продукции, нуждается в нормативном регулировании и контроле. Для этого представляется целесообразным принятие следующих мер:

1. Должна быть пересмотрена спецификация на пищевую добавку E171, ограничивающая массовое содержание в ней наноразмерного компонента величиной не более 1 %.

2. При оценке соответствия продукции, содержащей E171, заявитель должен предоставлять в обязательном порядке сведения о ее гранулометрическом составе.

3. Должны быть разработаны и внедрены в практику методы санитарно-эпидемиологического надзора, позволяющие оценивать размер частиц TiO₂ как в составе чистых образцов E171, так и в продукции.

4. Использование E171 должно быть нормативно запрещено в составе пищевой продукции, предназначенной для детей дошкольного возраста, беременных и кормящих женщин, в специализированных пищевых продуктах диетического профилактического и диетического лечебного питания.

Финансирование. Работа проведена за счет средств субсидии на выполнение государственного задания в рамках Программы фундаментальных научных исследований (тема Минобрнауки России № 0529-2019-0057 «Разработка системы качества и безопасности пищевой продукции, в том числе пищевых добавок и спиртосодержащих напитков, полученных биотехнологическими методами»).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Jovanovic B. Critical review of public health regulations of titanium dioxide, a human food additive // *Integrated environmental assessment and management*. – 2014. – Vol. 11, № 1. – P. 10–20.
2. Oral intake of added titanium dioxide and its nanofraction from food products, food supplements and toothpaste by the Dutch population / C. Rempelberg, M.B. Heringa, G. van Donkersgoed, J. Drijvers, A. Roos, S. Westenbrink [et al.] // *Nanotoxicology*. – 2016. – Vol. 10, № 10. – P. 1404–1414.
3. Titanium dioxide as food additive [Электронный ресурс] / М.-Н. Ropers, Н. Terrisse, М. Mercier-Bonin, В. Humbert // *IntechOpen*. – 2017. – URL: https://www.researchgate.net/publication/318776206_Titanium_Dioxide_as_Food_Additive (дата обращения: 19.03.2019).
4. Origin and fate of dietary nanoparticles and microparticles in the gastrointestinal tract / J.J. Powell, N. Faria, E. Thomas-McKay, L.C. Pele // *J. Autoimmun.* – 2010. – Vol. 34. – P. J226–J233.
5. Specifications for the identity and purity of food additives and their toxicological evaluation: some food colours, emulsifiers, stabilizers, anticaking agents, and certain other substances, thirteenth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Rome, 27 May – 4 June 1969 [Электронный ресурс] // *World Health Organization*. – Geneva, 1970. – 31 p. – URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/40773> (дата обращения: 19.03.2019).
6. Opinion of the Scientific panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food on a request from the Commission related to the safety in use of rutile titanium dioxide as an alternative to the presently permitted anatase form // *EFSA Journal*. – 2004. – Vol. 163. – P. 1–12.
7. EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food). Scientific opinion on the re-evaluation of titanium dioxide (E 171) as a food additive // *EFSA Journal*. – 2016. – Vol. 14, № 9. – P. 83.
8. Federal Register. Color additives. – Washington (DC), USA: P. Federal Register, 1966. – Vol. 8, № 21, 31. – P. 1065.
9. US Food and Drug Administration. Titanium dioxide. Washington (DC) [Электронный ресурс] // P. USFDA. Code of Federal Regulations. – 2005. – № 21, Section 73.575. – URL: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfCFR/CFRSearch.cfm?fr1/473.575> (дата обращения: 19.03.2019).

10. Specifications and standards for foods, food additives, etc. under the Food Sanitation Act [Электронный ресурс]. – Tokyo, Japan: JETRO. Japan External Trade Organization, 2011. – URL: <http://www.jetro.go.jp/en/reports/regulations/pdf/foodext2010e.pdf> (дата обращения: 19.03.2019).
11. Food Safety and Standards. India: Food safety and standards (food product standards and food additives) regulation // *Gazette of India: Extraordinary*. – 2011. – Vol. 4. – P. 449–529.
12. Characterization and preliminary toxicity assay of nano-titanium dioxide additive in sugar-coated chewing gum / X.-X. Chen, B. Cheng, Y.-X. Yang, A. Cao, J.-H. Liu, L.J. Du [et al.] // *Small*. – 2013. – Vol. 9. – P. 1765–1774.
13. European Parliament. European Parliament, Council Directive on Colours, 94/36/EC // *OJEC*. – 1994. – P. 13–29.
14. Opinion on titanium dioxide (nano form) COLIPA n S75. Scientific Committee on Consumer Safety European Commission. S75.SCSS/1516/13 [Электронный ресурс]. – Luxembourg, 2013. – URL: https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/scss_o_136.pdf (дата обращения: 19.03.2019).
15. Toxicological characteristics of nanoparticulate anatase titanium dioxide in mice / Y. Duan, J. Liu, L. Ma, N. Li, H. Liu, Wang J. [et al.] // *Biomaterials*. – 2010. – Vol. 31. – P. 894–899.
16. Neurotoxicological effects and the impairment of spatial recognition memory in mice caused by exposure to TiO₂ nanoparticles / R. Hu, X. Gong, Y. Duan, N. Li, Y. Che, Cui Y. [et al.] // *Biomaterials*. – 2010. – Vol. 31. – P. 8043–8050.
17. Titanium dioxide nanoparticles in food and personal care products / A. Weir, P. Westerhoff, L. Fabricius, K. Hristovski, N. von Goetz // *Environ. Sci. Technol.* – 2012. – Vol. 46. – P. 2242–2250.
18. European Commission. Commission recommendation of 18 October 2011 on the definition of nanomaterial (2011/696/EU) [Электронный ресурс] // *OJEC*. – 2011. – P. L275/38–L275/40. – URL: https://ec.europa.eu/research/industrial_technologies/pdf/policy/commission-recommendation-on-the-definition-of-nanomater-18102011_en.pdf (дата обращения: 19.03.2019).
19. Characterization of titanium dioxide nanoparticles in food products: analytical methods to define nanoparticles / R.J. Peters, G. van Bommel, Z. Herrera-Rivera, H.P. Helsper, H.J. Marvin, S. Weigel [et al.] // *J. Agric. Food Chem.* – 2014. – Vol. 62, № 27. – P. 6285–6293.
20. Titanium dioxide nanoparticles: a review of current toxicological data / H. Shi, R. Magaye, V. Castranova, J. Zhao // *Part. Fibre Toxicol.* – 2013. – Vol. 10. – P. 15.
21. Dietary intake of food additives in the UK: initial surveillance (food surveillance paper 37). – London, UK: Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, 1993. – 67 p.
22. Risk assessment of titanium dioxide nanoparticles via oral exposure, including toxicokinetic considerations / M.B. Heringa, L. Geraets, J.C.H. van Eijkeren, R.J. Vandebriel, W.H. de Jong, A.G. Oomen // *Nanotoxicology*. – 2016. – Vol. 10. – P. 1515–1525.
23. Bachler G., von Goetz N., Hungerbuhler K. Using physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling for dietary risk assessment of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticle // *Nanotoxicology*. – 2015. – Vol. 9, № 3. – P. 373–380.
24. Toxicity and cellular responses of intestinal cells exposed to titanium dioxide / B.A. Koeneman, Y. Zhang, P. Westerhoff, Y. Chen, J.C. Crittenden, D.G. Capco // *Cell. Biol. Toxicol.* – 2010. – Vol. 26, № 3. – P. 225–238.
25. Biological effect of food additive titanium dioxide nanoparticles on intestine: an in vitro study / Z.M. Song, N. Chen, J.H. Liu, H. Tang, X. Deng, W.S. Xi [et al.] // *J. Appl. Toxicol.* – 2015. – Vol. 35, № 10. – P. 1169–1178.
26. Cell uptake and oral absorption of titanium dioxide nanoparticles / G. Janer, E. Mas del Molino, E. Fernández-Rosas, A. Fernández, S. Vázquez-Campos // *Toxicol. Lett.* – 2014. – Vol. 228, № 2. – P. 103–110.
27. Влияние наночастиц диоксида титана на состояние слизистой оболочки тонкой кишки крыс / Г.Е. Онищенко, М.В. Ерохина, С.С. Абрамчук, К.В. Шайтан, Р.В. Распопов, В.В. Смирнова [и др.] // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2012. – Т. 154, № 8. – С. 231–237.
28. Jani P.U., McCarthy D.E., Florence A.T. Titanium dioxide (rutile) particle uptake from the rat GI tract and translocation to systemic organs after oral administration // *Int. J. Pharm.* – 1994. – Vol. 105. – P. 157–168.
29. Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration / J. Wang, G. Zhou, C. Chen, H. Yu, T. Wang, Y. Ma [et al.] // *Toxicol. Lett.* – 2007. – Vol. 168, № 2. – P. 176–185.
30. Signaling pathway of inflammatory responses in the mouse liver caused by TiO₂ nanoparticles / Y. Cui, H. Liu, M. Zhou, Y. Duan, N. Li, X. Gong [et al.] // *J. Biomed. Mater. Res. A*. – 2011. – Vol. 96, № 1. – P. 221–229.
31. The chronic spleen injury of mice following long-term exposure to titanium dioxide nanoparticles / X. Sang, L. Zheng, Q. Sun, N. Li, Y. Cui, R. Hu [et al.] // *J. Biomed. Mater. Res. A*. – 2012. – Vol. 100A. – P. 894–902.
32. Toxicological mechanisms of nanosized titanium dioxide-induced spleen injury in mice after repeated peroral application / X. Sang, B. Li, Y. Ze, J. Hong, X. Ze, S. Gui [et al.] // *J. Agr. Food Chem.* – 2013. – Vol. 61. – P. 5590–5599.
33. Immunomodulatory effects in the spleen-injured mice following exposure to titanium dioxide nano-particles / X. Sang, M. Fei, L. Sheng, X. Zhao, X. Yu, J. Hong [et al.] // *J. Biomed. Mater. Res. A*. – 2013. – Vol. 102A. – P. 3562–3572.
34. Oral, short-term exposure to titanium dioxide nanoparticles in Sprague-Dawley rat: focus on reproductive and endocrine systems and spleen / R. Tassinari, F. Cubadda, G. Moracci, F. Aureli, M. D'Amato, M. Valeri [et al.] // *Nanotoxicology*. – 2014. – Vol. 8, № 6. – P. 654–662.
35. Effects of sub-acute exposure to TiO₂, ZnO and Al₂O₃ nanoparticles on oxidative stress and histological changes in mouse liver and brain / R. Shrivastava, S. Raza, A. Yadav, P. Kushwaha, S.J. Flora // *Drug Chem. Toxicol.* – 2014. – Vol. 37, № 3. – P. 336–347.
36. Neurotoxic characteristics of spatial recognition damage of the hippocampus in mice following subchronic peroral exposure to TiO₂ nanoparticles / Y. Ze, L. Sheng, X. Zhao, X. Ze, X. Wang, Q. Zhou [et al.] // *J. Hazard Mater.* – 2014. – Vol. 264. – P. 219–229.
37. Mohamed H.R. Estimation of TiO₂ nanoparticle-induced genotoxicity persistence and possible chronic gastritis-induction in mice // *Food Chem. Toxicol.* – 2015. – Vol. 83. – P. 76–83.

38. Short-term oral exposure to low doses of nano-sized TiO₂ and potential modulatory effects on intestinal cells / M.G. Ammendolia, F. Iosi, F. Maranghi, R. Tassinari, F. Cubadda, F. Aureli [et al.] // *Food Chem. Toxicol.* – 2017. – Vol. 102. – P. 63–75.
39. Titanium dioxide nanoparticles increase plasma glucose via reactive oxygen species-induced insulin resistance in mice / H. Hu, Q. Guo, C. Wang, X. Ma, H. He, Y. Oh [et al.] // *J. Appl. Toxicol.* – 2015. – Vol. 35, № 10. – P. 1122–1132.
40. Maternal exposure to nanosized titanium dioxide suppresses embryonic development in mice / F. Hong, Y. Zhou, X. Zhao, L. Sheng, L. Wang // *Int. J. Nanomedicine.* – 2017. – Vol. 12. – P. 6197–6204.
41. Oral administration of nano-titanium dioxide particle disrupts hepatic metabolic functions in a mouse model / J. Yang, M. Luo, Z. Tan, M. Dai, M. Xie, J. Lin [et al.] // *Environ. Toxicol. Pharmacol.* – 2017. – Vol. 49. – P. 112–118.
42. Comparative absorption, distribution, and excretion of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles after repeated oral administration / W.S. Cho, B.C. Kang, J.K. Lee, J. Jeong, J.H. Che, S.H. Seok // *Part. Fibre Toxicol.* – 2013. – Vol. 10. – P. 9.
43. Tissue distribution and elimination after oral and intravenous administration of different titanium dioxide nanoparticles in rats / L. Geraets, A.G. Oomen, P. Krystek, N.R. Jacobsen, H. Wallin, M. Laurentie [et al.] // *Part. Fibre Toxicol.* – 2014. – Vol. 11. – P. 30.
44. Evaluation of distribution, redox parameters, and genotoxicity in Wistar rats co-exposed to silver and titanium dioxide nanoparticles / A.D.C. Martins, L.F. Azevedo, C.C. De Souza Rocha, M.F.H. Carneiro, V.P. Venancio, M.R. De Almeida [et al.] // *J. Toxicol. Environ. Health A.* – 2017. – Vol. 80, № 19–21. – P. 1156–1165.
45. In vivo micronucleus studies with 6 titanium dioxide materials (3 pigment-grade & 3 nanoscale) in orally-exposed rats / E.M. Donner, A. Myhre, S.C. Brown, R. Boatman, D.B. Warheit // *Regul. Toxicol. Pharmacol.* – 2016. – Vol. 74. – P. 64–74.
46. Effects of oral administration of titanium dioxide fine-sized particles on plasma glucose in mice / N. Gu, H. Hu, Q. Guo, S. Jin, C. Wang, Y. Oh [et al.] // *Food Chem. Toxicol.* – 2015. – Vol. 86. – P. 124–131.
47. Изучение абсорбции и биораспределения наночастиц некоторых неорганических веществ, вводимых в желудочно-кишечный тракт крыс, с использованием метода радиоактивных индикаторов / Ю.П. Бузулуков, И.В. Гмошинский, Р.В. Распопов, В.Ф. Демин, В.Ю. Соловьев, П.Г. Кузьмин [и др.] // *Медицинская радиология и радиационная безопасность.* – 2012. – Т. 57, № 3. – С. 5–12.
48. Nanomaterials and nanotechnologies: methods of analysis and control / I.V. Gmshinski, S.A. Khotimchenko, V.O. Popov, B.B. Dzantiev, A.V. Zherdev, V.F. Demin, Yu.P. Buzulukov // *Russian Chemical Reviews.* – 2013. – Vol. 82, № 1. – P. 48–76.
49. NMR-based metabonomic study of the sub-acute toxicity of titanium dioxide nanoparticles in rats after oral administration / Q. Bu, G. Yan, P. Deng, F. Peng, H. Lin, Y. Xu [et al.] // *Nanotechnology.* – 2010. – Vol. 21, № 12. – P. 125105.
50. Токсиколого-гигиеническая характеристика НЧ диоксида титана, вводимых в виде дисперсии в желудочно-кишечный тракт крыс. Сообщение 1. Интегральные, биохимические и гематологические показатели, степень всасывания макромолекул в тонкой кишке, повреждение ДНК / Р.В. Распопов, В.М. Верников, А.А. Шумакова, Т.Б. Сенцова, Э.Н. Трушина, О.К. Мустафина [и др.] // *Вопросы питания.* – 2010. – Т. 79, № 4. – С. 21–30.
51. Влияние наночастиц диоксида титана на белковый профиль микросом печени крыс / О.Н. Тананова, Е.А. Арианова, И.В. Гмошинский, И.В. Аксенов, В.Г. Згода, С.А. Хотимченко // *Вопросы питания.* – 2012. – Т. 81, № 2. – С. 18–22.
52. Hepatocyte apoptosis and its molecular mechanisms in mice caused by titanium dioxide nanoparticles / Y. Cui, X. Gong, Y. Duan, N. Li, R. Hu, H. Liu [et al.] // *J. Hazard Mater.* – 2010. – Vol. 183, № 1–3. – P. 874–880.
53. Effect of glycyrrhizic acid on titanium dioxide nanoparticles-induced hepatotoxicity in rats / M. Orzizadeh, F. Fakhradini, E. Mansouri, L. Khorsandi // *Chem. Biol. Interact.* – 2014. – Vol. 220. – P. 214–221.
54. Titanium dioxide nanoparticle-induced oxidative stress triggers DNA damage and hepatic injury in mice / R.K. Shukla, A. Kumar, N.V. Vallabani, A.K. Pandey, A. Dhawan // *Nanomedicine (London).* – 2014. – Vol. 9, № 9. – P. 1423–1434.
55. Amelioration of titanium dioxide nanoparticles-induced liver injury in mice: possible role of some antioxidants / S.A. Azim, H.A. Darwish, M.Z. Rizk, S.A. Ali, M.O. Kadry // *Exp. Toxicol. Pathol.* – 2015. – Vol. 67. – P. 305–314.
56. Effects of TiO₂ nanoparticles on antioxidant function and element content of liver and kidney tissues in young and adult rats / Y. Wang, Z.J. Chen, T. Ba, J. Pu, X.X. Cui, G. Jia // *Beijing Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* – 2014. – Vol. 46, № 3. – P. 395–399.
57. Effect of titanium dioxide nanoparticles on the cardiovascular system after oral administration / Z. Chen, Y. Wang, L. Zhuo, S. Chen [et al.] // *Toxicol. Lett.* – 2015. – Vol. 239, № 2. – P. 123–130.
58. Vasomotor function in rat arteries after ex vivo and intragastric exposure to food-grade titanium dioxide and vegetable carbon particles / D.M. Jensen, D.V. Christophersen, M. Sheykhzade, G.F. Skovsted, J. Lykkesfeldt, R. Münter [et al.] // *Part. Fibre Toxicol.* – 2018. – Vol. 15, № 1. – P. 12.
59. A mechanistic study to increase understanding of titanium dioxide nanoparticles-increased plasma glucose in mice / H. Hu, L. Li, Q. Guo, S. Jin, Y. Zhou, Y. Oh [et al.] // *Food Chem. Toxicol.* – 2016. – Vol. 95. – P. 175–187.
60. Canli E.G., Atli G., Canli M. Response of the antioxidant enzymes of the erythrocyte and alterations in the serum biomarkers in rats following oral administration of nanoparticles. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* – 2017. – Vol. 50. – P. 145–150.
61. RNA sequencing analysis shows that titanium dioxide nanoparticles induce endoplasmic reticulum stress, which has a central role in mediating plasma glucose in mice / H. Hu, L. Li, Q. Guo, H. Zong, Y. Yan, Y. Yin [et al.] // *Nanotoxicology.* – 2018. – Vol. 12, № 4. – P. 341–356.
62. Susceptibility of young and adult rats to the oral toxicity of titanium dioxide nanoparticles / Y. Wang, Z. Chen, T. Ba, J. Pu, T. Chen, Y. Song [et al.] // *Small.* – 2013. – Vol. 9, № 9–10. – P. 1742–1752.
63. Gender difference in hepatic toxicity of titanium dioxide nanoparticles after subchronic oral exposure in Sprague-Dawley rats / Z. Chen, D. Zhou, S. Zhou, G. Jia [Электронный ресурс] // *J. Appl. Toxicol.* – 2019. DOI: 10.1002/jat.3769. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30644115> (дата обращения: 19.03.2019).
64. Warheit D.B., Brown S.C., Donner E.M. Acute and subchronic oral toxicity studies in rats with nanoscale and pigment grade titanium dioxide particles // *Food Chem. Toxicol.* – 2015. – Vol. 84. – P. 208–224.

65. Investigation of genotoxic and cytotoxic effects of micro- and nanosized titanium dioxide in six organs of mice in vivo / L.P. Sycheva, V.S. Zhurkov, V.V. Iurchenko, N.O. Daugel-Dauge, M.A. Kovalenko, E.K. Krivtsova, A.D. Durnev // *Mutat. Res.* – 2011. – Vol. 726, № 1. – P. 8–14.
66. Anemia and genotoxicity induced by sub-chronic intragastric treatment of rats with titanium dioxide nanoparticles / I. Grissa, J. Elghoul, L. Ezzi, S. Chakroun, E. Kerkeni, M. Hassine [et al.] // *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.* – 2015. – Vol. 794. – P. 25–31.
67. Влияние нано- и микрочастиц диоксида титана на показатели микроядерного теста на культуре лимфоцитов человека / Л.В. Ахальцева, Н.Е. Мошков, Ф.И. Ингель, Н.А. Юрцева, В.В. Юрченко // *Гигиена и санитария.* – 2011. – № 5. – С. 61–63.
68. Genotoxic evaluation of titanium dioxide nanoparticles in vivo and in vitro / Z. Chen, Y. Wang, T. Ba, Y. Li, J. Pu, T. Chen [et al.] // *Toxicol. Lett.* – 2014. – Vol. 226, № 3. – P. 314–319.
69. In vivo micronucleus studies with 6 titanium dioxide materials (3 pigment-grade & 3 nanoscale) in orally-exposed rats / E.M. Donner, A. Myhre, S.C. Brown, R. Boatman, D.B. Warheit // *Regul Toxicol Pharmacol.* – 2016. – Vol. 74. – P. 64–74.
70. Влияние наночастиц диоксида титана на показатели иммунной системы у крыс / Е.А. Арианова, А.А. Шумакова, О.Н. Тананова, Э.Н. Трушина, О.К. Мустафина, Н.Э. Шаранова [и др.] // *Вопросы питания.* – 2012. – Т. 84, № 6. – С. 47–53.
71. P38-Nrf-2 signaling pathway of oxidative stress in mice caused by nanoparticulate TiO₂ / J. Wang, N. Li, L. Zheng, S. Wang, Y. Wang, X. Zhao [et al.] // *Biol. Trace Elem. Res.* – 2011. – Vol. 140. – P. 186–197.
72. Effect of pubertal nano-TiO₂ exposure on testosterone synthesis and spermatogenesis in mice / F. Jia, Z. Sun, X. Yan, B. Zhou, J. Wang // *Arch. Toxicol.* – 2014. – Vol. 88, № 3. – P. 781–788.
73. Shahin N.N., Mohamed M.M. Nano-sized titanium dioxide toxicity in rat prostate and testis: possible ameliorative effect of morin // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2017. – Vol. 334. – P. 129–141.
74. Warheit D.B., Boatman R., Brown S.C. Developmental toxicity studies with 6 forms of titanium dioxide test materials (3 pigment-different grade & 3 nanoscale) demonstrate an absence of effects in orally-exposed rats // *Regul. Toxicol. Pharmacol.* – 2015. – Vol. 73, № 3. – P. 887–896.
75. The effect of titanium dioxide nanoparticles on neuroinflammation response in rat brain / I. Grissa, S. Guezguez, L. Ezzi, S. Chakroun, A. Sallem, E. Kerkeni [et al.] // *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* – 2016. – Vol. 23, № 20. – P. 20205–20213.
76. International Agency for Research on Cancer. Carbon black, titanium dioxide, and talc. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. – Lyon, France: IARC. – 2010. – Vol. 93. – P. 1–452.
77. NCI (National Cancer Institute). Bioassay of titanium dioxide for possible carcinogenicity // *Carcinogenesis Technical Report Series.* – 1979. – № 97. – P. 1–123.
78. Ingested engineered nanomaterials: state of science in nanotoxicity testing and future research needs / I.S. Sohal, K.S. O'Fallon, P. Gaines, P. Demokritou, D. Bello // *Part. Fibre Toxicol.* – 2018. – Vol. 15. – P. 29.
79. Intestinal toxicity evaluation of TiO₂ degraded surface-treated nanoparticles: a combined physico-chemical and toxicogenomics approach in Caco-2 cells / M. Fisichella, F. Berenguer, G. Steinmetz, M. Auffan, J. Rose, O. Prat // *Part. Fibre Toxicol.* – 2012. – Vol. 9. – P. 18.
80. Titanium dioxide nanoparticle-biomolecule interactions influence oral absorption / M.R. Jo, J. Yu, H.J. Kim, J.H. Song, K.M. Kim, J.M. Oh, S.J. Choi // *Nanomaterials (Basel).* – 2016. – Vol. 6, № 12. – P. E225.
81. Food grade titanium dioxide disrupts intestinal brush border microvilli in vitro independent of sedimentation / J.J. Faust, K. Doudrick, Y. Yang, P. Westerhoff, D.G. Capco // *Cell. Biol. Toxicol.* – 2014. – Vol. 30, № 3. – P. 169–188.
82. Titanium dioxide induced inflammation in the small intestine / C.M. Nogueira, W.M. De Azevedo, M.L. Dagli, S.H. Toma, A.Z. Leite, M.L. Lordello [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2012. – Vol. 18. – P. 4729–4735.
83. Titanium dioxide nanoparticle ingestion alters nutrient absorption in an in vitro model of the small intestine / Z. Guo, N.J. Martucci, F. Moreno-Olivas, E. Tako, G.J. Mahler // *NanoImpact.* – 2017. – Vol. 5. – P. 70–82.
84. Toxicity and mechanisms of action of titanium dioxide nanoparticles in living organisms / J. Hou, L. Wang, C. Wang, S. Zhang, H. Liu, S. Li, X. Wang // *J. Environ. Sci.* – 2019. – Vol. 75. – P. 40–53.
85. Fröhlich E.E., Fröhlich E. Cytotoxicity of nanoparticles contained in food on intestinal cells and the gut microbiota // *J. Mol. Sci.* – 2016. – Vol. 17. – P. 509.
86. Токсиколого-гигиеническая характеристика НЧ диоксида титана, вводимых в желудочно-кишечный тракт крыс. Сообщение 2. Состояние микробиоценоза толстой кишки, продукция цитокинов, аллергическая чувствительность / С.А. Шевелева, Г.Г. Кузнецова, С.Ю. Батищева, Н.Р. Ефимочкина, В.М. Верников, В.В. Смирнова [и др.] // *Вопросы питания.* – 2010. – Т. 79, № 5. – С. 29–34.
87. Impact of food grade and nano-TiO₂ particles on a human intestinal community / W. Dudefoi, K. Moniz, E. Allen-Vercor, M.H. Ropers, V.K. Walker // *Food Chem. Toxicol.* – 2017. – Vol. 106, Pt. A. – P. 242–249.
88. Oral administration of rutile and anatase TiO₂ nanoparticles shifts mouse gut microbiota structure / J. Li, S. Yang, R. Lei, W. Gu, Y. Qin, S. Ma [et al.] // *Nanoscale.* – 2018. – Vol. 10, № 16. – P. 7736–7745.

Гмошинский И.В., Багрянцева О.В., Хотимченко С.А. Токсиколого-гигиеническая оценка наночастиц диоксида титана в составе пищевой добавки E171 (обзор данных литературы и метаанализ) // Анализ риска здоровью. – 2019. – № 2. – С. 145–163. DOI: 10.21668/health.risk/2019.2.17



TOXICOLOGICAL AND HYGIENIC ASSESSMENT OF TITANIUM DIOXIDE NANOPARTICLES AS A COMPONENT OF E171 FOOD ADDITIVE (REVIEW OF THE LITERATURE AND METAANALYSIS)

I.V. Gmshinski¹, O.V. Bagryantseva^{1,2}, S.A. Khotimchenko^{1,2}

¹Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety, 2/14 Ust'inskiy proezd, Moscow, 109240, Russian Federation

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Bldg. 2, 8 Trubetskaya Str., Moscow, 119991, Russian Federation

The review focuses on exposure values, biological availability, toxic effects, and risks caused by nanoparticles of TiO₂ under their oral introduction into a body as a food coloring agent or E171 food additive, or as a significant component in its structure. According to toxicological assessment performed by JECFA in 1969, TiO₂ is considered to be insignificantly hazardous. However, at present experts employed by several foreign and international organizations that deal with food safety believe that the assessment should be reviewed as there are new scientific data on adverse effects produced by nano-sized TiO₂ on a human body. Overall intake of TiO₂ by people with food products, cosmetics (tooth pastes) and medications can vary from 0.5 to 5 mg a day; children aged 3–9 and teenagers aged 10–17 are the most exposed population groups. Despite insignificant intestinal absorption of TiO₂ nano- and micro-sized particles, a lot of scientific works revealed their overall toxic effects produced on a body under oral and intragastric introduction. Detected effects produced by TiO₂ include organotoxic (mostly hepatotoxic) ones, genotoxicity, immune toxicity, reproductive toxicity, and neurotoxicity. Still, there haven't been any data on carcinogenic effects produced by TiO₂ when it is introduced into the gastrointestinal tract. Presumably, some effects produced by TiO₂ nanoparticles are mediated by their local impacts on the lymphoid tissue associated with an intestinal mucosa as well as on the structure and activity of intestinal microbiocenosis, and nanoparticles are not necessarily absorbed in the intestines in the process. We performed meta-analysis of 64 articles (published over 2007–2019) which complied with criteria related to scientific authenticity and completeness; the meta-analysis revealed that a probable NOAEL for nano-sized TiO₂ amounted to less than 10 mg/kg of body weight a day, and a daily reference safe dose of the substance is estimated as being equal to 0.1 mg/kg of body weight. Given all the above-mentioned, a risk caused by TiO₂ intake as E171 food additive depends on nanoparticles fracture in its composition and it can be unacceptably high if this fracture exceeds 10 % of the overall TiO₂ mass. Therefore, it is necessary to control and regulate TiO₂ nanoparticles contents in the structure of E171 food additive that is applied in food industry.

Key words: titanium dioxide, food additive, nanoparticles, exposure, biological availability, toxicity, intestinal microbiocenosis, risks.

References

1. Jovanovic B. Critical review of public health regulations of titanium dioxide, a human food additive. *Integrated environmental assessment and management*, 2014, vol. 11, no. 1, pp. 10–20.
2. Rompelberg C., Heringa M.B., van Donkersgoed G., Drijvers J., Roos A., Westenbrink S. [et al.]. Oral intake of added titanium dioxide and its nanofraction from food products, food supplements and toothpaste by the Dutch population. *Nanotoxicology*, 2016, vol. 10, no. 10, pp. 1404–1414.
3. Ropers M.-H., Terrisse H., Mercier-Bonin M., Humbert B. Titanium dioxide as food additive. *IntechOpen*, 2017. Available at: https://www.researchgate.net/publication/318776206_Titanium_Dioxide_as_Food_Additive (19.03.2019).
4. Powell J.J., Faria N., Thomas-McKay E., Pele L.C. Origin and fate of dietary nanoparticles and microparticles in the gastrointestinal tract. *J. Autoimmun.*, 2010, vol. 34, pp. J226–J233.
5. Specifications for the identity and purity of food additives and their toxicological evaluation: some food colours, emulsifiers, stabilizers, anticaking agents, and certain other substances, thirteenth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Rome, 27 May – 4 June 1969. Geneva: World Health Organization, 1970, 31 p. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/40773> (19.03.2019).

© Gmshinski I.V., Bagryantseva O.V., Khotimchenko S.A., 2019

Ivan V. Gmshinski – Doctor of Biological Sciences, leading researcher at the Laboratory for Food Toxicity and Nanotechnologies Safety Assessment (e-mail: gmosh@ion.ru; tel.: 8 (495) 698-53-71; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3671-6508>).

Olga V. Bagryantseva – Doctor of Medical Sciences, Professor (Republic of Kazakhstan), leading researcher at the Laboratory for Food Toxicity and Nanotechnologies Safety Assessment (e-mail: bagryantseva@ion.ru; tel.: +7 (495) 698-54-05; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3174-2675>).

Sergey A. Khotimchenko – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Laboratory for Food Toxicity and Nanotechnologies Safety Assessment (e-mail: khotimchenko@ion.ru; tel.: +7 (495) 698-54-05; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5340-9649>).

6. Opinion of the Scientific panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food on a request from the Commission related to the safety in use of rutile titanium dioxide as an alternative to the presently permitted anatase form. *EFSA Journal*, 2004, vol. 163, pp. 1–12.
7. EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food. Scientific opinion on the re-evaluation of titanium dioxide (E 171) as a food additive. *EFSA Journal*, 2016, vol. 14, no. 9, pp. 83.
8. Federal Register. Color additives. Washington (DC), USA, P. Federal Register, 1966, vol. 8, no. 21, 31, pp. 1065.
9. US Food and Drug Administration. Titanium dioxide. Washington (DC). P. *USFDA. Code of Federal Regulations*, 2005, no. 21, Section 73.575. Available at: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfCFR/CFRSearch.cfm?fr=1/473.575> (19.03.2019).
10. Specifications and standards for foods, food additives, etc. under the Food Sanitation Act. Tokyo, Japan: JETRO. External Trade Organization, 2011. Available at: <http://www.jetro.go.jp/en/reports/regulations/pdf/foodext2010e.pdf> (19.03.2019).
11. Food Safety and Standards. India: Food safety and standards (food product standards and food additives) regulation. *Gazette of India: Extraordinary*, 2011, vol. 4, pp. 449–529.
12. Chen X.-X., Cheng B., Yang Y.-X., Cao A., Liu J.-H., L.J. Du [et al.]. Characterization and preliminary toxicity assay of nano-titanium dioxide additive in sugar-coated chewing gum. *Small*, 2013, vol. 9, pp. 1765–1774.
13. European Parliament. European Parliament, Council Directive on Colours, 94/36/EC. *OJEC*, 1994, pp. 13–29.
14. Opinion on titanium dioxide (nano form) COLIPA n S75. Scientific Committee on Consumer Safety European Commission. S75.SCSS/1516/13. Luxembourg, 2013. Available at: https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/scss_o_136.pdf (19.03.2019).
15. Duan Y., Liu J., Ma L., Li N., Liu H., Wang J. [et al.]. Toxicological characteristics of nanoparticulate anatase titanium dioxide in mice. *Biomaterials*, 2010, vol. 31, pp. 894–899.
16. Hu R., Gong X., Duan Y., Li N., Che Y., Cui Y. [et al.]. Neurotoxicological effects and the impairment of spatial recognition memory in mice caused by exposure to TiO₂ nanoparticles. *Biomaterials*, 2010, vol. 31, pp. 8043–8050.
17. Weir A., Westerhoff P., Fabricius L., Hristovski K., von Goetz N. Titanium dioxide nanoparticles in food and personal care products. *Environ. Sci. Technol.*, 2012, vol. 46, pp. 2242–2250.
18. European Commission. Commission recommendation of 18 October 2011 on the definition of nanomaterial (2011/696/EU). *OJEC*, 2011, pp. L275/38–L275/40. Available at: https://ec.europa.eu/research/industrial_technologies/pdf/policy/commission-recommendation-on-the-definition-of-nanomater-18102011_en.pdf (19.03.2019).
19. Peters R.J., van Bommel G., Herrera-Rivera Z., Helsper H.P., Marvin H.J., Weigel S., [et al.]. Characterization of titanium dioxide nanoparticles in food products: analytical methods to define nanoparticles. *J. Agric. Food Chem.*, 2014, vol. 62, no. 27, pp. 6285–6293.
20. Shi H., Magaye R., Castranova V., Zhao J. Titanium dioxide nanoparticles: a review of current toxicological data. *Particle Fibre Toxicol.*, 2013, vol. 10, pp. 15.
21. Dietary intake of food additives in the UK: initial surveillance (food surveillance paper 37). London, UK: Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, 1993, 67 p.
22. Heringa M.B., Geraets L., van Eijkeren J.C.H., Vandebriel R.J., de Jong W.H., Oomen A.G. Risk assessment of titanium dioxide nanoparticles via oral exposure, including toxicokinetic considerations. *Nanotoxicology*, 2016, vol. 10, pp. 1515–1525.
23. Bachler G., von Goetz N., Hungerbuhler K. Using physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling for dietary risk assessment of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticle. *Nanotoxicology*, 2015, vol. 9, no. 3, pp. 373–380.
24. Koeneman B.A., Zhang Y., Westerhoff P., Chen Y., Crittenden J.C., Capco D.G. Toxicity and cellular responses of intestinal cells exposed to titanium dioxide. *Cell. Biol. Toxicol.*, 2010, vol. 26, no. 3, pp. 225–238.
25. Song Z.M., Chen N., Liu J.H., Tang H., X. Deng, W.S. Xi [et al.]. Biological effect of food additive titanium dioxide nanoparticles on intestine: an in vitro study. *J. Appl. Toxicol.*, 2015, vol. 35, no. 10, pp. 1169–1178.
26. Janer G., Mas del Molino E., Fernández-Rosas E., Fernández A., Vázquez-Campos S. Cell uptake and oral absorption of titanium dioxide nanoparticles. *Toxicol. Lett.*, 2014, vol. 228, no. 2, pp. 103–110.
27. Onishchenko G.E., Erokhina M.V., Abramchuk S.S., Shaytan K.V., Raspopov R.V., Smirnova V.V. [et al.]. The effect of titanium dioxide nanoparticles on the state of the small intestinal mucosa of rats. *Byulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny*, 2012, vol. 154, no. 8, pp. 231–237 (in Russian).
28. Jani P.U., McCarthy D.E., Florence A.T. Titanium dioxide (rutile) particle uptake from the rat GI tract and translocation to systemic organs after oral administration. *Int. J. Pharm.*, 1994, vol. 105, pp. 157–168.
29. Wang J., Zhou G., Chen C., Yu H., Wang T., Ma Y. [et al.]. Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration. *Toxicol. Lett.*, 2007, vol. 168, no. 2, pp. 176–185.
30. Cui Y., Liu H., Zhou M., Duan Y., Li N., Gong X. [et al.]. Signaling pathway of inflammatory responses in the mouse liver caused by TiO₂ nanoparticles. *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2011, vol. 96, no. 1, pp. 221–229.
31. Sang X., Zheng L., Sun Q., Li N., Cui Y., Hu R. [et al.]. The chronic spleen injury of mice following long-term exposure to titanium dioxide nanoparticles. *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2012, vol. 100A, pp. 894–902.
32. Sang X., Li B., Ze Y., Hong J., Ze X., Gui S. [et al.]. Toxicological mechanisms of nanosized titanium dioxide-induced spleen injury in mice after repeated peroral application. *J. Agr. Food Chem.*, 2013, vol. 61, pp. 5590–5599.
33. Sang X., Fei M., Sheng L., Zhao X., Yu X., Hong J. [et al.]. Immunomodulatory effects in the spleen-injured mice following exposure to titanium dioxide nano-particles. *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2013, vol. 102A, pp. 3562–3572.
34. Tassinari R., Cubadda F., Moracci G., Aureli F., D'Amato M., Valeri M. [et al.]. Oral, short-term exposure to titanium dioxide nanoparticles in Sprague-Dawley rat: focus on reproductive and endocrine systems and spleen. *Nanotoxicology*, 2014, vol. 8, no. 6, pp. 654–662.
35. Shrivastava R., Raza S., Yadav A., Kushwaha P., Flora S.J. Effects of sub-acute exposure to TiO₂, ZnO and Al₂O₃ nanoparticles on oxidative stress and histological changes in mouse liver and brain. *Drug. Chem. Toxicol.*, 2014, vol. 37, no. 3, pp. 336–347.

36. Ze Y., Sheng L., Zhao X., Ze X., Wang X., Zhou Q. [et al.]. Neurotoxic characteristics of spatial recognition damage of the hippocampus in mice following subchronic peroral exposure to TiO₂ nanoparticles. *J. Hazard Mater.*, 2014, vol. 264, pp. 219–229.
37. Mohamed H.R. Estimation of TiO₂ nanoparticle-induced genotoxicity persistence and possible chronic gastritis-induction in mice. *Food Chem. Toxicol.*, 2015, vol. 83, pp. 76–83.
38. Ammendolia M.G., Iosi F., Maranghi F., Tassinari R., Cubadda F., Aureli F. [et al.]. Short-term oral exposure to low doses of nano-sized TiO₂ and potential modulatory effects on intestinal cells. *Food Chem. Toxicol.*, 2017, vol. 102, pp. 63–75.
39. Hu H., Guo Q., Wang C., Ma X., He H., Oh Y. [et al.]. Titanium dioxide nanoparticles increase plasma glucose via reactive oxygen species-induced insulin resistance in mice. *J. Appl. Toxicol.*, 2015, vol. 35, no. 10, pp. 1122–1132.
40. Hong F., Zhou Y., Zhao X., Sheng L., Wang L. Maternal exposure to nanosized titanium dioxide suppresses embryonic development in mice. *Int. J. Nanomedicine*, 2017, vol. 12, pp. 6197–6204.
41. Yang J., Luo M., Tan Z., Dai M., Xie M., Lin J. [et al.]. Oral administration of nano-titanium dioxide particle disrupts hepatic metabolic functions in a mouse model. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 2017, vol. 49, pp. 112–118.
42. Cho W.S., Kang B.C., Lee J.K., Jeong J., Che J.H., Seok S.H. Comparative absorption, distribution, and excretion of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles after repeated oral administration. *Part. Fibre Toxicol.*, 2013, vol. 10, p. 9.
43. Geraets L., Oomen A.G., Krystek P., Jacobsen N.R., Wallin H., Laurentie M. [et al.]. Tissue distribution and elimination after oral and intravenous administration of different titanium dioxide nanoparticles in rats. *Part. Fibre Toxicol.*, 2014, vol. 11, p. 30.
44. Martins A.D.C., Azevedo L.F., De Souza Rocha C.C., Carneiro M.F.H., Venancio V.P., De Almeida M.R. [et al.]. Evaluation of distribution, redox parameters, and genotoxicity in Wistar rats co-exposed to silver and titanium dioxide nanoparticles. *J. Toxicol. Environ. Health A*, 2017, vol. 80, no. 19–21, pp. 1156–1165.
45. Donner E.M., Myhre A., Brown S.C., Boatman R., Warheit D.B. In vivo micronucleus studies with 6 titanium dioxide materials (3 pigment-grade & 3 nanoscale) in orally-exposed rats. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 2016, vol. 74, pp. 64–74.
46. Gu N., Hu H., Guo Q., Jin S., Wang C., Oh Y. [et al.]. Effects of oral administration of titanium dioxide fine-sized particles on plasma glucose in mice. *Food Chem. Toxicol.*, 2015, vol. 86, pp. 124–131.
47. Buzulukov Yu.P., Gmoshinski I.V., Raspopov R.V., Demin V.F., Solov'yev V.Yu., Kuz'min P.G. [et al.]. Studies of Some Inorganic Nanoparticles after Intra-gastric Administration to Rats Using Radioactive. *Meditinskaya radiologiya i radiatsionnaya bezopasnost'*, 2012, vol. 57, no. 3, pp. 5–12 (in Russian).
48. Gmoshinski I.V., Khotimchenko S.A., Popov V.O., Dzantiev B.B., Zherdev A.V., Demin V.F., Buzulukov Yu.P. Nanomaterials and nanotechnologies: methods of analysis and control. *Russian Chemical Reviews*, 2013, vol. 82, no. 1, pp. 48–76.
49. Bu Q., Yan G., Deng P., Peng F., Lin H., Xu Y. [et al.]. NMR-based metabolomic study of the sub-acute toxicity of titanium dioxide nanoparticles in rats after oral administration. *Nanotechnology*, 2010, vol. 21, no. 12, 125105 p.
50. Raspopov R.V., Vernikov V.M., Shumakova A.A., Sentsova T.B., Trushina E.N., Mustafina O.K. [et al.]. Toxicological sanitary characterization of titanium dioxide nanoparticles introduced in gastrointestinal tract of rats. Communication 1. Integral, biochemical and hematologic indices, intestinal absorption of macro-molecules DNA damage. *Voprosy pitaniya*, 2010, vol. 79, no. 4, pp. 21–30 (in Russian).
51. Tananova O.N., Arianova E.A., Gmoshinski I.V., Aksenov I.V., Zgoda V.G., Khotimchenko S.A. Influence of anatase titanium dioxide nanoparticles on protein expression profiles in rat liver microsomes. *Voprosy pitaniya*, 2012, vol. 81, no. 2, pp. 18–22 (in Russian).
52. Cui Y., Gong X., Duan Y., Li N., Hu R., Liu H. [et al.]. Hepatocyte apoptosis and its molecular mechanisms in mice caused by titanium dioxide nanoparticles. *J. Hazard Mater.*, 2010, vol. 183, no. 1–3, pp. 874–880.
53. Orazizadeh M., Fakhredini F., Mansouri E., Khorsandi L. Effect of glycyrrhizic acid on titanium dioxide nanoparticles-induced hepatotoxicity in rats. *Chem. Biol. Interact.*, 2014, vol. 220, pp. 214–221.
54. Shukla R.K., Kumar A., Vallabani N.V., Pandey A.K., Dhawan A. Titanium dioxide nanoparticle-induced oxidative stress triggers DNA damage and hepatic injury in mice. *Nanomedicine (Lond)*, 2014, vol. 9, no. 9, pp. 1423–1434.
55. Azim S.A., Darwish H.A., Rizk M.Z., Ali S.A., Kadry M.O. Amelioration of titanium dioxide nanoparticles-induced liver injury in mice: possible role of some antioxidants. *Exp. Toxicol. Pathol.*, 2015, vol. 67, pp. 305–314.
56. Wang Y., Chen Z.J., Ba T., Pu J., Cui X.X., Jia G. [Effects of TiO₂ nanoparticles on antioxidant function and element content of liver and kidney tissues in young and adult rats]. *Beijing Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 2014, vol. 46, no. 3, pp. 395–399 (in Chinese).
57. Chen Z., Wang Y., Zhuo L., Chen S., Zhao L., Luan X. [et al.]. Effect of titanium dioxide nanoparticles on the cardiovascular system after oral administration. *Toxicol. Lett.*, 2015, vol. 239, no. 2, pp. 123–130.
58. Jensen D.M., Christophersen D.V., Sheykhzade M., Skovsted G.F. [et al.]. Vasomotor function in rat arteries after ex vivo and intragastric exposure to food-grade titanium dioxide and vegetable carbon particles. *Part. Fibre Toxicol.*, 2018, vol. 15, no. 1, p. 12.
59. Hu H., Li L., Guo Q., Jin S., Zhou Y., Oh Y. [et al.]. A mechanistic study to increase understanding of titanium dioxide nanoparticles-increased plasma glucose in mice. *Food Chem. Toxicol.*, 2016, vol. 95, pp. 175–187.
60. Canli E.G., Atli G., Canli M. Response of the antioxidant enzymes of the erythrocyte and alterations in the serum biomarkers in rats following oral administration of nanoparticles. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 2017, vol. 50, pp. 145–150.
61. Hu H., Li L., Guo Q., Zong H., Yan Y., Yin Y. [et al.]. RNA sequencing analysis shows that titanium dioxide nanoparticles induce endoplasmic reticulum stress, which has a central role in mediating plasma glucose in mice. *Nanotoxicology*, 2018, vol. 12, no. 4, pp. 341–356.
62. Wang Y., Chen Z., Ba T., Pu J., Chen T., Song Y. [et al.]. Susceptibility of young and adult rats to the oral toxicity of titanium dioxide nanoparticles. *Small*, 2013, vol. 9, no. 9–10, pp. 1742–1752.
63. Chen Z., Zhou D., Zhou S., Jia G. Gender difference in hepatic toxicity of titanium dioxide nanoparticles after sub-chronic oral exposure in Sprague-Dawley rats. *J. Appl. Toxicol.*, 2019. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30644115> (19.03.2019). DOI: 10.1002/jat.3769

64. Warheit D.B., Brown S.C., Donner E.M. Acute and subchronic oral toxicity studies in rats with nanoscale and pigment grade titanium dioxide particles. *Food Chem. Toxicol.*, 2015, vol. 84, pp. 208–224.
65. Sycheva L.P., Zhurkov V.S., Iurchenko V.V., Daugel-Dauge N.O., Kovalenko M.A., Krivtsova E.K., Durnev A.D. Investigation of genotoxic and cytotoxic effects of micro- and nanosized titanium dioxide in six organs of mice in vivo. *Mutat. Res.* 2011, vol. 726, no. 1, pp. 8–14.
66. Grissa I., Elghoul J., Ezzi L., Chakroun S., Kerkeni E., Hassine M. [et al.]. Anemia and genotoxicity induced by subchronic intragastric treatment of rats with titanium dioxide nanoparticles. *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.*, 2015, vol. 794, pp. 25–31.
67. Akhal'tseva L.V., Moshkov N.E., Ingel' F.I., Yurtseva N.A., Yurchenko V.V. Effect of titanium dioxide nano- and microparticles on the values of the micronucleus test with human whole blood. *Gigiena i sanitariya*, 2011, no. 5, pp. 61–63 (in Russian).
68. Chen Z., Wang Y., Ba T., Li Y., Pu J., Chen T. [et al.]. Genotoxic evaluation of titanium dioxide nanoparticles in vivo and in vitro. *Toxicol. Lett.*, 2014, vol. 226, no. 3, pp. 314–319.
69. Donner E.M., Myhre A., Brown S.C., Boatman R., Warheit D.B. In vivo micronucleus studies with 6 titanium dioxide materials (3 pigment-grade & 3 nanoscale) in orally-exposed rats. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 2016, vol. 74, pp. 64–74.
70. Arianova E.A., Shumakova A.A., Tananova O.N., Trushina E.N., Mustafina O.K., Sharanova N.E. [et al.]. Influence of dioxide titanium nanoparticles on immune system indicators in rats. *Voprosy pitaniya*, 2012, vol. 84, no. 6, pp. 47–53 (in Russian).
71. Wang J., Li N., Zheng L., Wang S., Wang Y., Zhao X. [et al.]. P38-Nrf-2 signaling pathway of oxidative stress in mice caused by nanoparticulate TiO₂. *Biol. Trace Elem. Res.*, 2011, vol. 140, pp. 186–197.
72. Jia F., Sun Z., Yan X., Zhou B., Wang J. Effect of pubertal nano-TiO₂ exposure on testosterone synthesis and spermatogenesis in mice. *Arch. Toxicol.*, 2014, vol. 88, no. 3, pp. 781–788.
73. Shahin N.N., Mohamed M.M. Nano-sized titanium dioxide toxicity in rat prostate and testis: possible ameliorative effect of morin. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2017, vol. 334, pp. 129–141.
74. Warheit D.B., Boatman R., Brown S.C. Developmental toxicity studies with 6 forms of titanium dioxide test materials (3 pigment-different grade & 3 nanoscale) demonstrate an absence of effects in orally-exposed rats. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 2015, vol. 73, no. 3, pp. 887–896.
75. Grissa I., Gueguez S., Ezzi L., Chakroun S., Sallem A., Kerkeni E. [et al.]. The effect of titanium dioxide nanoparticles on neuroinflammation response in rat brain. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, 2016, vol. 23, no. 20, pp. 20205–20213.
76. International Agency for Research on Cancer. Carbon black, titanium dioxide, and talc. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. *IARC*, Lyon, 2010, vol. 93, pp. 1–452.
77. NCI (National Cancer Institute). Bioassay of titanium dioxide for possible carcinogenicity. *Carcinogenesis Technical Report Series*, 1979, no. 97, pp. 1–123.
78. Sohal I.S., O'Fallon K.S., Gaines P., Demokritou P., Bello D. Ingested engineered nanomaterials: state of science in nanotoxicity testing and future research needs. *Part. Fibre Toxicol.*, 2018, vol. 15, p. 29.
79. Fisichella M., Berenguer F., Steinmetz G., Auffan M., Rose J., Prat O. Intestinal toxicity evaluation of TiO₂ degraded surface-treated nanoparticles: a combined physico-chemical and toxicogenomics approach in Caco-2 cells. *Part. Fibre Toxicol.*, 2012, vol. 9, pp. 18.
80. Jo M.R., Yu J., Kim H.J., Song J.H., Kim K.M., Oh J.M. [et al.]. Titanium dioxide nanoparticle-biomolecule interactions influence oral absorption. *Nanomaterials (Basel)*, 2016, vol. 6, no. 12, pp. E225.
81. Faust J.J., Doudrick K., Yang Y., Westerhoff P., Capco D.G. Food grade titanium dioxide disrupts intestinal brush border microvilli in vitro independent of sedimentation. *Cell. Biol. Toxicol.*, 2014, vol. 30, no. 3, pp. 169–188.
82. Nogueira C.M., De Azevedo W.M., Dagli M.L., Toma S.H., Leite A.Z., Lordello M.L. [et al.]. Titanium dioxide induced inflammation in the small intestine. *World J. Gastroenterol.*, 2012, vol. 18, pp. 4729–4735.
83. Guo Z., Martucci N.J., Moreno-Olivas F., Tako E., Mahler G.J. Titanium dioxide nanoparticle ingestion alters nutrient absorption in an in vitro model of the small intestine. *NanoImpact*, 2017, vol. 5, pp. 70–82.
84. Hou J., Wang L., Wang C., Zhang S., Liu H., Li S. [et al.]. Toxicity and mechanisms of action of titanium dioxide nanoparticles in living organisms. *J. Environ. Sci.*, 2019, vol. 75, pp. 40–53.
85. Fröhlich E.E., Fröhlich E. Cytotoxicity of nanoparticles contained in food on intestinal cells and the gut microbiota. *J. Mol. Sci.*, 2016, vol. 17, pp. 509.
86. Sheveleva S.A., Kuznetsova G.G., Batishcheva S.Yu., Efimochkina N.R., Vernikov V.M., Smirnova V.V. [et al.]. Toxicological sanitary characterization of titanium dioxide nanoparticles introduced in gastrointestinal tract of rats. Communication 2. Intestinal microbiocenosis condition and allergic sensitivity. *Voprosy pitaniya*, 2010, vol. 79, no. 5, pp. 29–34 (in Russian).
87. Dudefoi W., Moniz K., Allen-Vercoe E., Ropers M.H., Walker V.K. Impact of food grade and nano-TiO₂ particles on a human intestinal community. *Food Chem. Toxicol.*, 2017, vol. 106, Pt A, pp. 242–249.
88. Li J., Yang S., Lei R., Gu W., Qin Y., Ma S. [et al.]. Oral administration of rutile and anatase TiO₂ nanoparticles shifts mouse gut microbiota structure. *Nanoscale*, 2018, vol. 10, no. 16, pp. 7736–7745.

Gmoshinski I.V., Bagryantseva O.V., Khotimchenko S.A. Toxicological and hygienic assessment of titanium dioxide nanoparticles as a component of e171 food additive (review of the literature and metahanalysis). *Health Risk Analysis*, 2019, no. 2, pp. 145–163. DOI: 10.21668/health.risk/2019.2.17.eng

Получена: 27.03.2019

Принята: 23.05.2019

Опубликована: 30.06.2019