

УДК 613.632.2; 615.916; 661.862.277.3
DOI: 10.21668/health.risk/2024.3.12

Читать
онлайн



Научная статья

ОЦЕНКА БИОНАКОПЛЕНИЯ И ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НАНОЧАСТИЦ КОБАЛЬТ (II) АЛЮМИНАТА ДЛЯ ЗАДАЧ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ГИГИЕНИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ

М.А. Землянова^{1,2}, М.С. Степанков¹, О.В. Пустовалова¹, А.В. Недошитова¹

¹Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения, Российская Федерация, 614045, г. Пермь, ул. Монастырская, 82

²Пермский государственный национальный исследовательский университет, Российская Федерация, 614068, г. Пермь, ул. Букирева, 15

Гигиенические основы безопасности играют важную роль в профилактике нарушений здоровья населения в условиях воздействия химических факторов. Базовым при этом является гигиеническое регламентирование содержания существующих и новых веществ в объектах окружающей среды, осуществляемое в рамках экспериментальных исследований их токсических свойств. Типичным примером нового материала являются наночастицы кобальт (II) алюмината (НЧ $CoAl_2O_4$), предположительно обладающие большим потенциалом токсического действия при пероральном пути поступления в сравнении с микрочастицами (МЧ). В связи с этим для разработки гигиенических нормативов актуальным является выявление отличных от МЧ особенностей негативного воздействия НЧ $CoAl_2O_4$ при пероральной экспозиции.

Исследование проводили на крысах линии Wistar, экспонированных перорально НЧ и МЧ в течение 20 суток в суммарной дозе 10 550 мг/кг массы тела.

НЧ имеют сходный с МЧ химический состав, меньший размер (в 87,11 раза) и большую удельную площадь поверхности (в 1,74 раза). НЧ обладают более выраженной степенью бионакопления в сердце, легких, печени и почках относительно МЧ (до 7,54 раза). При экспозиции НЧ отмечены более выраженные (до 3,60 раза) изменения показателей крови, ассоциированные с развитием окислительно-восстановительного дисбаланса, цитотоксического эффекта, нарушения функции печени, поджелудочной железы и почек, воспалительного процесса, тромбоцитопении. НЧ вызывают геморрагические инфаркты и отек легких, не установленные при экспозиции МЧ. Расчетная величина ориентировочно-допустимых уровней содержания НЧ в питьевой воде составила 0,02 мг/дм³, что в 10 раз меньше, чем величина для МЧ.

Таким образом, НЧ $CoAl_2O_4$ при пероральной экспозиции в течение 20 суток в дозе 10 550 мг/кг массы тела относительно МЧ обладают более выраженной бионакоплением, что обуславливает развитие более выраженных негативных эффектов, отмеченных по изменению показателей крови и развитию патоморфологических изменений. Полученные результаты позволяют повысить точность и объективность разработки гигиенических нормативов содержания НЧ $CoAl_2O_4$ в пищевой продукции и питьевой воде для решения задач обеспечения гигиенической безопасности населения.

Ключевые слова: гигиеническая безопасность, кобальт (II) алюминат, наночастицы, микрочастицы, пероральная экспозиция, бионакопление, морфофункциональные нарушения, крысы.

В условиях повсеместного внедрения новых материалов в различные сферы хозяйственной деятельности высокую актуальность приобретает разработка гигиенических основ безопасности для профилактики нарушений здоровья населения в зонах экспозиции. Базовым при этом является гигиеническое регламентирование содержания химических веществ в объектах окружающей среды на

© Землянова М.А., Степанков М.С., Пустовалова О.В., Недошитова А.В., 2024

Землянова Марина Александровна – доктор медицинских наук, главный научный сотрудник, заведующий отделом биохимических и цитогенетических методов диагностики; доцент кафедры микробиологии и иммунологии (e-mail: zem@fcrisk.ru; тел.: 8 (342) 236-39-30; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8013-9613>).

Степанков Марк Сергеевич – младший научный сотрудник лаборатории биохимической и наносенсорной диагностики (e-mail: stepankov@fcrisk.ru; тел.: 8 (342) 237-18-15; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7226-7682>).

Пустовалова Ольга Васильевна – старший научный сотрудник лаборатории биохимической и наносенсорной диагностики (e-mail: pustovalova@fcrisk.ru; тел.: 8 (342) 237-18-15; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8050-7674>).

Недошитова Анна Владимировна – старший научный сотрудник лаборатории методов элементного анализа (e-mail: nedoshitova@fcrisk.ru; тел.: 8 (342) 237-10-37; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6514-7239>).

основе результатов экспериментальных исследований, направленных на изучение и оценку особенностей бионакопления и токсического действия материалов.

Типичным примером нового материала являются наноразмерные оксиды со структурой шпинели, такие как сплав Al_2O_3 и CoO в виде наночастиц кобальт (II) алюмината (НЧ $CoAl_2O_4$). НЧ $CoAl_2O_4$ применяют в качестве пигмента в различных производственных сферах; катализатора – в химической промышленности; компонента микроэлектроники и строительных материалов; в процессах литья в металлургии¹ [1, 2]. В настоящее время активно ведутся исследования по возможности применения НЧ $CoAl_2O_4$ в пищевой промышленности в качестве подложки для иммобилизации инулиназы при производстве сахара путем гидролиза инулина [3], а также катализатора в процессах синтеза биотоплива [4].

Широкий спектр применения в различных отраслях и перспектива использования в пищевой промышленности обуславливает повышение риска экспозиции населения НЧ $CoAl_2O_4$, в том числе при употреблении продуктов питания. Согласно данным, представленным в научной литературе, и результатам собственных экспериментальных исследований установлено, что при пероральной экспозиции изолированные НЧ Al_2O_3 и CoO благодаря малому размеру, относительно микрочастиц (МЧ) химических аналогов, в большей степени преодолевают энтерогематический барьер и накапливаются в органах-мишенях [5, 6]. Благодаря большей степени бионакопления и высокой реакционной способности данные НЧ вызывают развитие более выраженных негативных эффектов. Результаты данных исследований позволили предположить, что сплав веществ в виде НЧ $CoAl_2O_4$ может обладать большим потенциалом токсического действия, по сравнению с микроразмерным химическим аналогом. Вышесказанное подтверждает необходимость проведения экспериментальных исследований по установлению ключевых, отличных от МЧ, особенностей токсикокинетики и токсикодинамики НЧ $CoAl_2O_4$ для повышения точности и объективности регламентирования содержания в объектах окружающей среды.

Цель исследования – оценка ключевых особенностей бионакопления и токсического действия НЧ $CoAl_2O_4$ при многократной пероральной экспозиции.

Материалы и методы. Для выполнения экспериментов в качестве наноматериала использовали порошок НЧ $CoAl_2O_4$, синтезированный на базе АО «Гиредмет» (Россия) по заказу ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения». НЧ синтезированы золь-гель методом из кобальта (II) азотнокислого 6-водного ($Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$) и алюминия азотнокислого 9-водного ($Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$). В качестве микроразмерного химического аналога использовали коммерческий порошок МЧ производства ООО «Химкрафт» (Россия).

Для подтверждения химического состава и принадлежности синтезированного материала к продукции наноиндустрии проводили сравнительную оценку физико-химических свойств с таковыми МЧ. Химический состав компонентов сплава определяли методом рентгеноспектрального микрозондового анализа; размер частиц – методом анализа изображений, полученных с помощью растровой электронной микроскопии; удельную площадь поверхности – методическими подходами, предложенными Брунауэром, Эмметом и Теллером.

Экспериментальные исследования выполняли на самках крыс линии Wistar средней массой $244,4 \pm 7,6$ г. Все манипуляции с экспериментальными животными осуществляли в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных или в иных научных целях (ETS № 123). Проведение исследования одобрено решением этического комитета Федерального научного центра медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения. Перед экспериментами все крысы адаптировались к условиям содержания в течение 14 суток.

Для определения начальной дозы тестируемых материалов при многократной пероральной экспозиции устанавливали значение среднесмертельной дозы (LD_{50}) при однократном введении. Для этого выполнили эксперимент по моделированию острой пероральной экспозиции в соответствии с ГОСТ 32644-2014². Сформировали три группы по шесть крыс (для экспозиции НЧ, МЧ и контрольную группу). НЧ и МЧ $CoAl_2O_4$ вводили в дозе 2000 мг/кг массы тела в виде суспензии на основе бидистиллированной воды в объеме 1 см^3 однократно через зонд из нержавеющей стали. После экспозиции в течение 14 суток наблюдали за животными для оценки дина-

¹ NN1948 Cobalt Aluminum Oxide Nano Powder [Электронный ресурс] // Stanford Advanced Materials. – URL: <https://www.samaterials.com/micro-nano-materials/1948-cobalt-aluminum-oxide-nano-powder.html> (дата обращения: 06.11.2023); Cobalt Aluminate Blue Spinel Nanopowder $CoAl_2O_4$ Size: 300-500 nm [Электронный ресурс] // Nanografi. – URL: <https://nanografi.com/nanoparticles/cobalt-aluminate-blue-spinel-nanopowder-coal2o4-size-300-500-nm/> (дата обращения: 06.12.2023).

² ГОСТ 32644-2014. Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Острая пероральная токсичность – метод определения класса острой токсичности: межгосударственный стандарт / принят Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 28 марта 2014 г. № 65-II) [Электронный ресурс] // КОДЕКС: электронный фонд правовых и нормативно-технических документов. – URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200115815> (дата обращения: 18.03.2024).

мики гибели. По результатам выживаемости значение LD_{50} составило > 2000 мг/кг массы тела.

Для выполнения эксперимента по изучению многократной пероральной экспозиции формировали три группы по 10 крыс аналогично вышеописанному опыту. Экспозиции проводили ежедневно в соответствии с МУ 1.2.2520-09³ по методике, предложенной Лимом с соавт. Длительность воздействия составила 20 суток, начальная доза – 1/10 (200 мг/кг массы тела) от установленной LD_{50} . Повышение дозы осуществляли каждые четыре дня в 1,5 раза относительно предыдущей. Таким образом, суммарная доза НЧ и МЧ, полученная животными, составила 10 550 мг/кг массы тела.

Через 24 ч после последнего введения тестируемых веществ у крыс отбирали образцы крови для изучения биохимического и гематологического статусов; органы – для определения концентраций алюминия и кобальта и идентификации патоморфологических нарушений тканей.

Статистические различия показателей биораспределения, бионакопления, биохимического и гематологического статусов крови выявляли по методике Манна – Уитни с расчетом U -критерия с помощью программы Statistica 10. Статистически значимыми считали результаты при соответствии значению $p \leq 0,05$.

Значение ориентировочно-допустимых уровней (ОДУ) содержания для НЧ и МЧ $CoAl_2O_4$ в питьевой воде рассчитывали по токсикологическому признаку вредности в соответствии с МУ 2.1.5.720-98⁴.

Результаты и их обсуждение. Сравнительный анализ химического состава тестируемых образцов

подтвердил наличие кобальта, алюминия и кислорода без посторонних примесей, что соответствует заявленной производителем химической формуле вещества (рис. 1).

Изучение физических свойств позволило установить в нанопорошке наличие частиц нанометрового диапазона (1–100 нм, 78,25 % от общего количества частиц), отсутствующих в составе микропорошка. НЧ в сравнении с МЧ обладают меньшим в 87,11 раза средним размером (52,12 / 4540 нм) и большей в 1,74 раза удельной площадью поверхности (14,51 / 8,33 м²/г). Изображения НЧ и МЧ, полученные методом РЭМ, представлены на рис. 2.

Биораспределение НЧ $CoAl_2O_4$ при многократной пероральной экспозиции установлено в сердце, легких, печени, почках, головном мозге и крови экспонированных крыс. Суммарная концентрация алюминия и кобальта возрастает в 1,57–242,69 раза ($p = 0,002$) относительно контрольных данных. При экспозиции МЧ суммарная концентрация исследуемых элементов в данном перечне органов и крови повышается в 1,94–32,20 раза ($p = 0,002$) относительно контрольных данных.

Сопоставление полученных результатов позволило установить более выраженную степень бионакопления НЧ $CoAl_2O_4$ относительно микроразмерного химического аналога по увеличению суммарной концентрации алюминия и кобальта в сердце, легких, печени и почках в 2,66 ($p = 0,014$), 7,54 ($p = 0,001$), 1,29 ($p = 0,001$) и 2,06 раза ($p = 0,001$) соответственно. Результаты исследования биораспределения и бионакопления представлены на рис. 3.

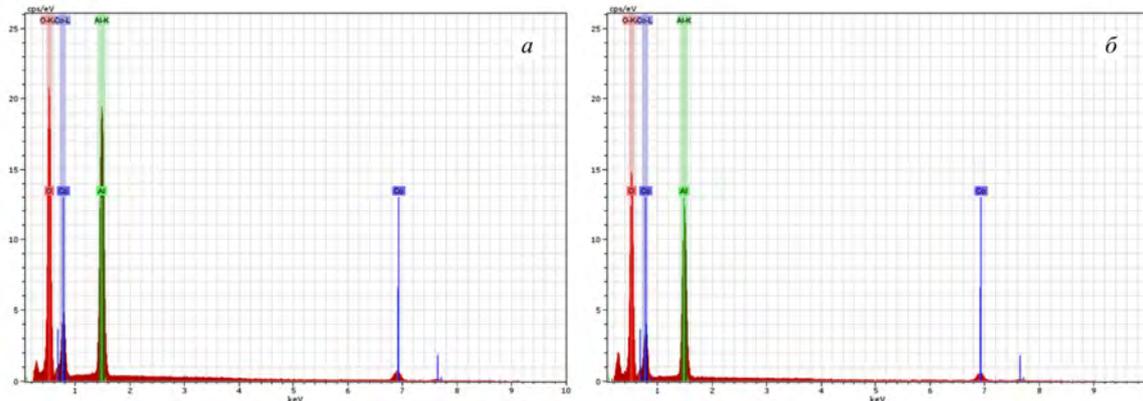


Рис. 1. Рентгенограмма образцов сплава $CoAl_2O_4$: *a* – нанодисперсный; *б* – микродисперсный

³ МУ 1.2.2520-09. Токсиколого-гигиеническая оценка безопасности наноматериалов: методические указания / утв. Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г. Онищенко 5 июня 2009 г.; введ. в действие с 5 июня 2009 г. [Электронный ресурс] // КОДЕКС: электронный фонд правовых и нормативно-технических документов. – URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200074057> (дата обращения: 18.03.2024).

⁴ МУ 2.1.5.720-98. Обоснование гигиенических нормативов химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования: методические указания / утв. и введ. в действие Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 15 октября 1998 года [Электронный ресурс] // КОДЕКС: электронный фонд правовых и нормативно-технических документов. – URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200006903> (дата обращения: 18.03.2024).

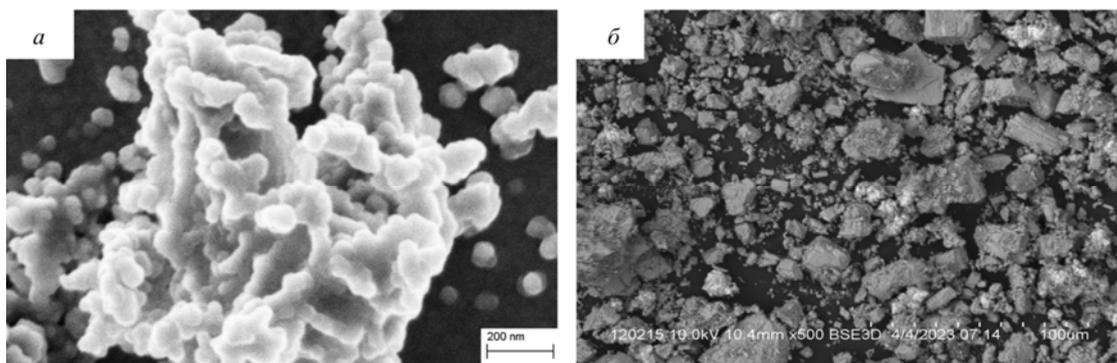


Рис. 2. Изображение частиц сплава CoAl_2O_4 с помощью РЭМ: а – нанопорошок; б – микропорошок

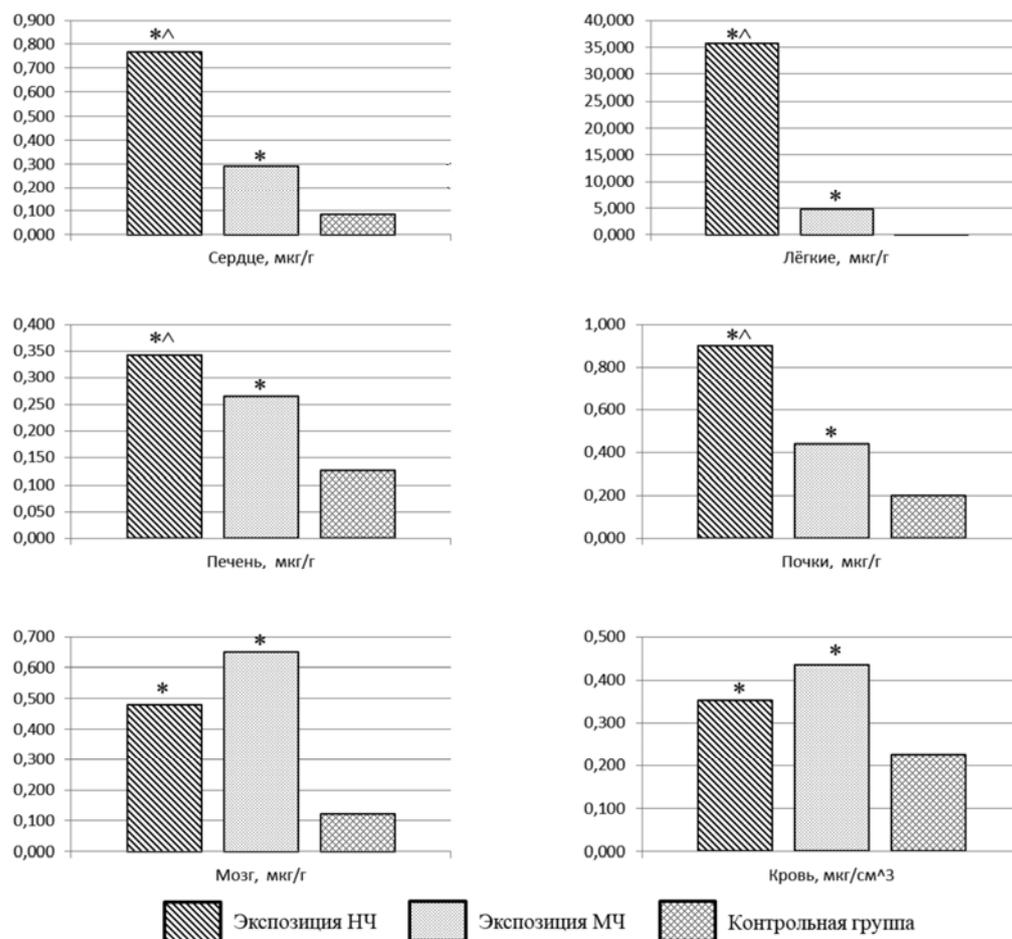


Рис. 3. Суммарная концентрация алюминия и кобальта в органах и тканях ($p \leq 0,05$):
* – статистически значимое отличие от контрольной группы, ^ – от экспозиции МЧ

Установлено изменение биохимических показателей крови крыс, экспонированных НЧ CoAl_2O_4 , в виде увеличения активности аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспаратаминотрансферазы (АСТ), гамма-глутамилтранспептидазы (γ -ГТ), амилазы, лактатдегидрогеназы (ЛДГ), концентраций креатинина, С-реактивного белка (СРБ) и малонового диальдегида (МДА) в 1,30–6,23 раза ($p = 0,002$) и уменьшения общей антиоксидантной активности (АОА) в 1,99 раза ($p = 0,005$) относительно контрольных данных. Воздействие микроразмерного химического аналога вы-

зывает увеличение активности АЛТ, АСТ, γ -ГТ, амилазы, ЛДГ и концентрации креатинина в 1,24–6,30 раза ($p = 0,002$ – $0,012$) и уменьшение АОА в 2,31 раза ($p = 0,002$) в сравнении с значениями показателей в крови крыс контрольной группы. Сравнительный анализ биохимических показателей показал более высокие значения активности АЛТ, АСТ, амилазы, ЛДГ и концентрации МДА в 1,37–2,25 раза ($p = 0,001$ – $0,014$) при экспозиции НЧ относительно МЧ. Результаты исследования биохимических показателей крови крыс представлены на рис. 4.

Изменение гематологических показателей крови крыс при экспозиции НЧ характеризуется снижением количества тромбоцитов, тромбокрита, количества крупных тромбоцитов в 3,57–5,98 раза ($p = 0,002$) относительно контрольных значений. При экспозиции МЧ значение данных показателей уменьшается в 1,66–1,79 раза ($p = 0,045$). Отличительной особенностью эффекта, оказываемого НЧ на гематологические показатели крови, является меньшее количество тромбоцитов, тромбокрита, содержание крупных тромбоцитов в 2,00–3,60 раза ($p = 0,001–0,014$). Результаты исследования гематологических показателей крови крыс представлены на рис. 5.

При гистологическом исследовании тканей органов крыс, экспонированных НЧ и МЧ, в легких установлено развитие патоморфологических изменений в виде очаговой интерстициальной пневмонии, бронхита, васкулита, полнокровия; в печени идентифицировано острое венозное полнокровие. Отличительной особенностью воздействия НЧ являются геморрагические инфаркты и отек легких, не установленные при экспозиции микроразмерным химическим аналогом (рис. 6). В тканях сердца, почек и головного мозга не установлено патоморфологических изменений.

Согласно расчету ОДУ содержания НЧ CoAl_2O_4 в питьевой воде по токсикологическому признаку вредности составил $0,02 \text{ мг/дм}^3$, МЧ – $0,2 \text{ мг/дм}^3$.

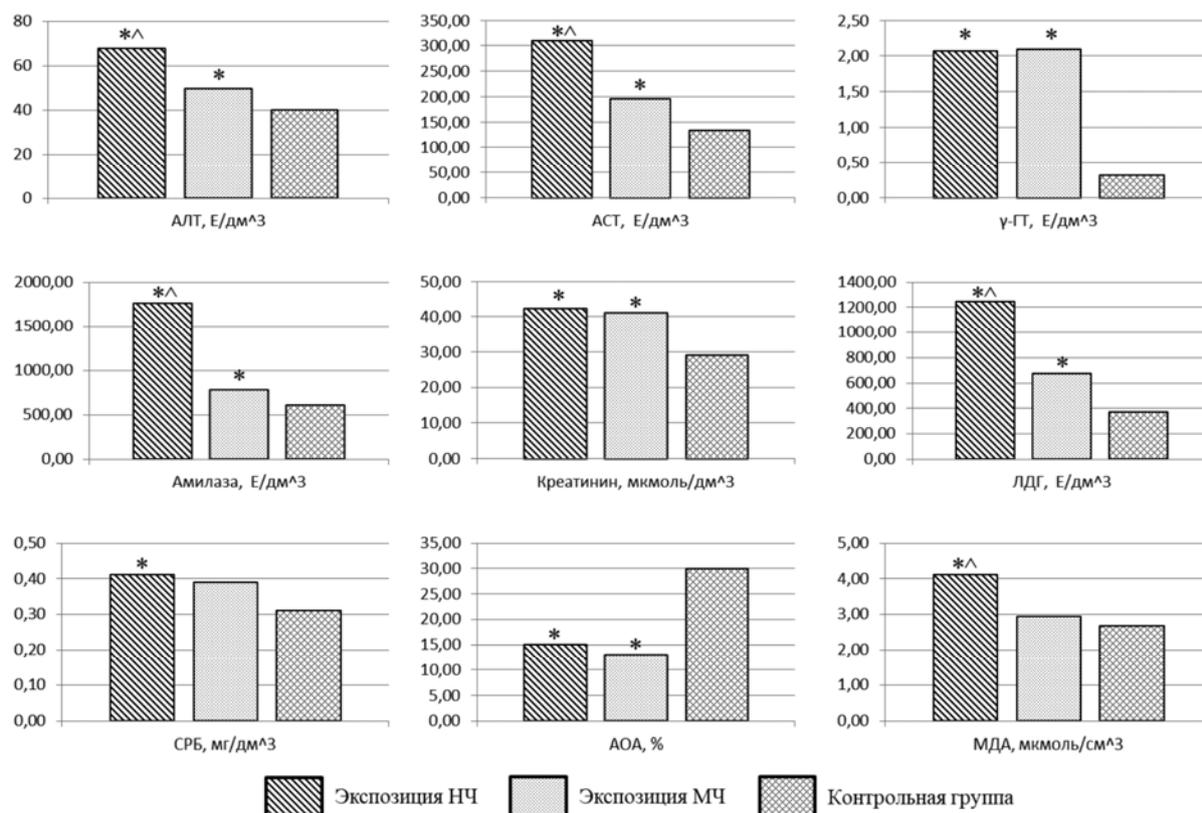


Рис. 4. Биохимические показатели крови крыс ($p \leq 0,05$):
* – статистически значимое отличие от контрольной группы, ^ – от экспозиции МЧ

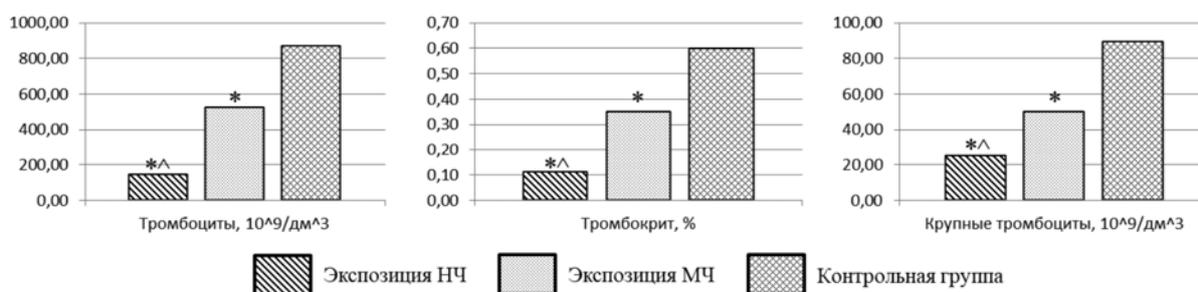


Рис. 5. Гематологические показатели крови крыс ($p \leq 0,05$):
* – статистически значимое отличие от контрольной группы, ^ – от экспозиции МЧ

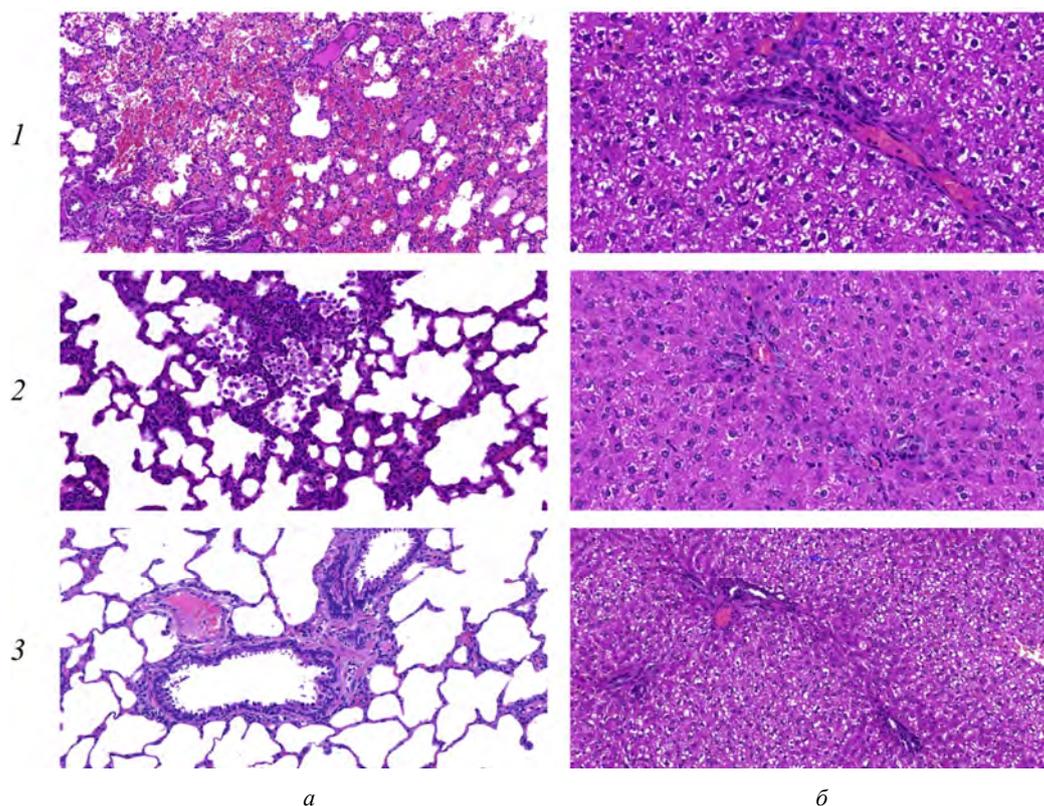


Рис. 6. Микрофотографии гистологических препаратов легких (а) и печени (б) крыс, окраска гематоксилином и эозином, увеличение 200х: 1 – экспозиция НЧ; 2 – экспозиция МЧ; 3 – контрольная группа

Аналитическое обобщение результатов проведенных исследований показало, что физические свойства НЧ тестируемого порошка CoAl_2O_4 существенно отличаются (до 87,11 раза) по показателю размера и удельной площади поверхности от микро-размерного химического аналога. Это позволяет предположить способность исследуемого наноматериала накапливаться в органах-мишенях в большем количестве и вызывать более выраженные морфо-функциональные нарушения [7, 8].

Рассматривая механизм биораспределения и накопления НЧ CoAl_2O_4 при пероральном пути поступления, необходимо обратить внимание на растворимость наноматериала в желудке, кишечнике и крови. В исследовании по изучению биодоступности кобальта отмечено, что содержание ионов Co^{2+} не превышает 0,1 % в искусственных жидкостях, имитирующих желудочную, кишечную и сывороточную среду, после внесения тестируемого сплава [9]. Малое содержание ионов Co^{2+} указывает на нерастворимость НЧ CoAl_2O_4 в желудочно-кишечном тракте и крови. Исходя из этого, повышение концентрации алюминия и кобальта в органах, вероятно, происходит в основном за счет твердых НЧ без значительного участия в процессе бионакопления ионов Al^{3+} и Co^{2+} .

Как НЧ CoAl_2O_4 , так и МЧ способны преодолевать энтерогематический барьер. В подтверждение этого установлено увеличение суммарной концентрации кобальта и алюминия в крови экспонированных крыс (~до 2 раз относительно контрольных

значений). С током крови НЧ и МЧ распространяются по организму, распределяясь преимущественно в сердце, легких, печени, почках и головном мозге (суммарная концентрация НЧ превышает контрольные уровни до 242,69 раза; МЧ – до 32,20 раза). НЧ обладают более выраженным бионакоплением (до 7,54 раза) в сердце, легких, печени и почках по сравнению с микро-размерным химическим аналогом.

В научной литературе практически отсутствуют данные о механизме развития негативных эффектов, ассоциированных с экспозицией НЧ CoAl_2O_4 . Однако в исследованиях *in vitro* и *in vivo* установлена способность изолированных НЧ Al_2O_3 и CoO усиливать генерацию свободных радикалов, приводящих к развитию окислительного стресса [10–14]. Результаты выполненного исследования подтверждают данный механизм при воздействии сплава указанных химических соединений. Воздействие НЧ CoAl_2O_4 приводит к усилению окислительных реакций и угнетению восстановительного процесса, отмеченным по увеличению активности МДА и снижению АОА (~до 2 раз относительно контрольных данных). Дисбаланс между реакциями окисления и восстановительными процессами более выражен при экспозиции наноматериалом относительно микро-материала (~в 1,4 раза), что может привести к более выраженной цитотоксичности [15].

На развитие цитотоксического эффекта указывает увеличение цитолитической активности по повышению активности ЛДГ, АЛТ и АСТ (до 3,38 раза относительно контрольных данных) при экспозиции

НЧ и МЧ. Изменения, вызываемые НЧ, более выражены (до 1,85 раза), что подтверждает большую цитотоксичность относительно микроматериала. Одним из характерных проявлений цитотоксического эффекта различных наноразмерных оксидов металлов является изменение проницаемости клеточной мембраны [16]. Установленное повышение активности в крови таких ферментов, как АЛТ, АСТ и γ -ГТ, в норме локализующихся в клетках печени, может указывать на увеличение проницаемости мембраны гепатоцитов и, как следствие, нарушение функций органа [17–20]. Изменение показателей, связанных с гепатотоксическим эффектом, вызываемое НЧ CoAl_2O_4 , более выражено (до 1,58 раза) в сравнении с влиянием, оказываемым МЧ. В результате нарушения функций печени может снизиться синтез тромбопоэтина, регулирующего формирование тромбоцитов [21]. В подтверждение этому в крови экспонированных крыс установлена тромбоцитопения по уменьшению количества тромбоцитов, тромбокрит и количества крупных тромбоцитов (при экспозиции НЧ ~ до 6 раз относительно контрольных данных, при экспозиции МЧ ~ до 2 раз). Снижение тромбоцитарных показателей более выражено при воздействии наноматериала (до 3,60 раза относительно эффекта МЧ). Снижение количества тромбоцитов в крови может негативно сказаться на ангиотрофическом, адгезивно-агрегационном, фибринолитическом процессах и иммунитете организма⁵.

Цитотоксический эффект, вызванный окислительно-восстановительным дисбалансом, может проявляться в виде воспалительного процесса, инициированного провоспалительными цитокинами, высвободившимися из клеток в результате окислительного повреждения свободными радикалами [22]. Развитие воспалительного процесса идентифицировано по увеличению содержания СРБ в крови крыс, экспонированных НЧ (в 1,30 раза относительно контрольных данных), в то время как воздействие МЧ не вызывает статистически значимого изменения показателя. В исследованиях [23–25] отмечена роль воспалительных изменений, ассоциированных с окислительным стрессом, в развитии нарушений функции поджелудочной железы и почек. Это согласуется с установленным увеличением активности амилазы и креатинина при экспозиции НЧ и МЧ (до 2,91 и 1,41 раза соответственно относительно контрольных значений). Эффект, оказываемый наноматериалом на функцию поджелудочной железы, более выражен в сравнении с воздействием МЧ (в 2,25 раза).

НЧ и МЧ CoAl_2O_4 вызывают негативные эффекты на тканево-органном уровне в виде воспаления и нарушения кровообращения. Экспозиция НЧ влечет за

собой более выраженное нарушение кровообращения в легких, что отмечено по геморрагическим инфарктам и отеку, не наблюдаемых у крыс, экспонированных микроматериалом. Вероятно, это может быть связано с большей степенью цитотоксичности НЧ. Провоспалительные цитокины, высвобожденные из клеток под воздействием НЧ, способны увеличивать проницаемость эндотелия сосудов, в результате чего происходит экссудация крови в орган [26, 27]. Таким образом, с усилением цитотоксического эффекта становятся более выраженными процессы, способствующие развитию нарушения кровообращения.

В действующих санитарных правилах и нормах⁶ не установлено значение предельно допустимой концентрации или ОДУ содержания в питьевой воде как для НЧ, так и для МЧ сплава CoAl_2O_4 . Расчетная величина ОДУ для микроматериала составила 0,2 мг/дм³. Принимая во внимание уникальные физические свойства и более выраженную степень токсичности НЧ относительно МЧ, полученное значение целесообразно сократить в 10 раз (0,02 мг/дм³).

Выводы. Согласно результатам выполненных исследований, НЧ CoAl_2O_4 обладают меньшим размером (в 87,11 раза) и большей удельной площадью поверхности (в 1,74 раза) относительно микроразмерного химического аналога. За счет этого при пероральном поступлении в организм в течение 20 суток в суммарной дозе 10 550 мг/кг массы тела они обладают большей степенью бионакопления в сердце, легких, печени и почках (до 7,54 раза). Большая степень бионакопления НЧ обуславливает более выраженные негативные эффекты в виде усиления окислительного процесса (~ в 1,4 раза), цитотоксичности (до 1,85 раза), нарушения функции печени (до 1,58 раза) и поджелудочной железы (в 2,25 раза), тромбоцитопении (до 3,60 раза), воспалительного процесса (в 1,30 раза). НЧ вызывают более выраженные нарушения циркуляции крови в легких, представленные в виде геморрагических инфарктов и отека. Расчетная величина ОДУ содержания наноматериала в питьевой воде по токсикологическому критерию вредности составила 0,02 мг/дм³, что на порядок меньше, чем таковая величина у МЧ.

Полученные результаты позволяют повысить точность и объективность разработки гигиенических нормативов содержания НЧ CoAl_2O_4 в пищевой продукции и питьевой воде для решения задач обеспечения гигиенической безопасности населения.

Финансирование. Исследование выполнено за счет федерального бюджета.

Конфликт интересов. Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

⁵ Назаренко Г.И., Кишкун А.А. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований / под науч. ред. Л.В. Левушкина. – М.: Медицина, 2006. – 544 с.

⁶ СанПиН 1.2.3685-21. Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания (с изменениями на 30 декабря 2022 года) / утв. постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 28 января 2021 года № 2 [Электронный ресурс] // КОДЕКС: электронный фонд правовых и нормативно-технических документов. – URL: <https://docs.cntd.ru/document/573500115> (дата обращения: 19.03.2024).

Список литературы

1. Bright blue hallosite/CoAl₂O₄ hybrid pigments: preparation, characterization and application in water based painting / A. Zhang, B. Mu, Z. Luo, A. Wang // *Dyes and Pigments*. – 2017. – Vol. 139. – P. 473–481. DOI: 10.1016/j.dyepig.2016.12.055
2. Photocatalytic study of cobalt aluminate nano-particles synthesised by solution combustion method / N. Babu, D. Devadathan, A. Sebasian, B. Vidhya // *Materials Today Proceedings*. – 2023. DOI: 10.1016/j.matpr.2023.05.641
3. Production of copper and cobalt aluminate spinel and their application as supports for inulinase immobilization / E.R. Abaide, C.G. Anchieta, V.S. Foletto, B. Reinehra, L. Ferreira Nunesa, R.C. Kuhna, M.A. Mazuttia, E.L. Foletto // *Materials Research*. – 2015. – Vol. 18, № 5. – P. 1062–1069. DOI: 10.1590/1516-1439.031415
4. Waste cooking oil processing over cobalt aluminate nanoparticles for liquid biofuel hydrocarbons production / M.A. Ibrahim, R. El-Araby, E. Abdelkader, M. El Saied, A.M. Abdelsalam, E.H. Ismail // *Sci. Rep.* – 2023. – Vol. 13, № 1. – P. 3876. DOI: 10.1038/s41598-023-30828-0
5. Nanoscale aluminum oxide – bioaccumulation and toxicological features based on alimentary intake / N.V. Zaitseva, M.A. Zemlyanova, M.S. Stepankov, A.M. Ignatova // *Nanobiotechnology Reports*. – 2021. – Vol. 16, № 2. – P. 246–252. DOI: 10.1134/s263516762102018x
6. Shaikh S.M., Desai P.V. Effect of CoO nanoparticles on the enzyme activities and neurotransmitters of the brain of the mice “Mus musculus” // *Curr. Trends Clin. Toxicol.* – 2018. – Vol. 1. – 8 p. DOI: 10.29011/CTT-103.100003
7. Research on the fate of polymeric nanoparticles in the process of the intestinal absorption based on model nanoparticles with various characteristics: size, surface charge and pro-hydrophobics / S. Guo, Y. Liang, L. Liu, M. Yin, A. Wang, K. Sun, Y. Li, Y. Shi // *J. Nanobiotechnology*. – 2021. – Vol. 19, № 1. – P. 32. DOI: 10.1186/s12951-021-00770-2
8. Dependence of nanoparticle toxicity on their physical and chemical properties / A. Sukhanova, S. Bozrova, P. Sokolov, M. Berestovoy, A. Karaulov, I. Nabiev // *Nanoscale Res. Lett.* – 2018. – Vol. 13, № 1. – P. 44. DOI: 10.1186/s11671-018-2457-x
9. Lison D., Brule S., Van Maele-Fabry G. Cobalt and its compounds update on genotoxic and carcinogenic activities // *Crit. Rev. Toxicol.* – 2018. – Vol. 48, № 7. – P. 522–539. DOI: 10.1080/10408444.2018.1491023
10. Toxicity of Nanoparticles and an Overview of Current Experimental Models / H. Bahadar, F. Maqbool, K. Niaz, M. Abdollahi // *Iran. Biomed. J.* – 2016. – Vol. 20, № 1. – P. 1–11. DOI: 10.7508/ibj.2016.01.001
11. Manufactured Aluminum Oxide Nanoparticles Decrease Expression of Tight Junction Proteins in Brain Vasculature / L. Chen, R.A. Yokel, B. Hennig, M. Toborek // *J. Neuroimmune Pharmacol.* – 2008. – Vol. 3, № 4. – P. 286–295. DOI: 10.1007/s11481-008-9131-5
12. Toxicological assessment of CoO and La₂O₃ metal oxide nanoparticles in human small airway epithelial cells / J.D. Sisler, S.V. Pirela, J. Shaffer, A.L. Mihalchik, W.P. Chisholm, M.E. Andrew, D. Schwegler-Berry, V. Castranova [et al.] // *Toxicol. Sci.* – 2016. – Vol. 150, № 2. – P. 418–428. DOI: 10.1093/toxsci/kfw005
13. Xie Y., Zhuang Z.X. Chromium (VI) -induced production of reactive oxygen species, change of plasma membrane potential and dissipation of mitochondria membrane potential in Chinese hamster lung cell cultures // *Biomed. Environ. Sci.* – 2001. – Vol. 14, № 3. – P. 199–206.
14. Mohamed H.R.H., Hussein N.A. Amelioration of cobalt oxide nanoparticles induced genomic and mitochondrial DNA damage and oxidative stress by omega-3 co-administration in mice // *Caryologia*. – 2018. – Vol. 71, № 4. – P. 357–364. DOI: 10.1080/00087114.2018.1473943
15. Bhatti J.S., Bhatti G.K., Reddy P.H. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in metabolic disorders – a step towards mitochondria based therapeutic strategies // *Biochim. Biophys. Acta. Mol. Basis Dis.* – 2017. – Vol. 1863, № 5. – P. 1066–1077. DOI: 10.1016/j.bbadis.2016.11.010
16. Cytotoxicity, permeability, and inflammation of metal oxide nanoparticles in human cardiac microvascular endothelial cells: cytotoxicity, permeability, and inflammation of metal oxide nanoparticles / J. Sun, S. Wang, D. Zhao, F.H. Hun, L. Weng, H. Liu // *Cell Biol. Toxicol.* – 2011. – Vol. 27, № 5. – P. 333–342. DOI: 10.1007/s10565-011-9191-9
17. Antagonistic efficacy of luteolin against lead acetate exposure-associated with hepatotoxicity is mediated via anti-oxidant, anti-inflammatory, and anti-apoptotic activities / W.A. Al-Megrin, A.F. Alkhourji, A.O.S. Yousef, D.M. Metwally, O.A. Habotta, R.B. Kassab, A.E. Abdel Moneim, M.F. El-Khadragy // *Antioxidants (Basel)*. – 2019. – Vol. 9, № 1. – P. 10. DOI: 10.3390/antiox9010010
18. Curcumin ameliorates lead-induced hepatotoxicity by suppressing oxidative stress and inflammation, and modulating Akt/GSK-3 β signaling pathway / A. Alhusaini, L. Fadda, I.H. Hasan, E. Zakaria, A.M. Alenazi, A.M. Mahmoud // *Biomolecules*. – 2019. – Vol. 9, № 11. – P. 703. DOI: 10.3390/biom9110703
19. Lead exposure-induced changes in hematology and biomarkers of hepatic injury: protective role of Trévo™ supplement / O.B. Ilesanmi, E.F. Adeogun, T.T. Odewale, B. Chikere // *Environ. Anal. Health Toxicol.* – 2022. – Vol. 37, № 2. – P. e2022007-0. DOI: 10.5620/eaht.2022007
20. Biomarkers of hepatic toxicity: an overview / S. Thakur, V. Kumar, R. Das, V. Sharma, D.K. Mehta // *Curr. Ther. Res. Clin. Exp.* – 2024. – Vol. 100. – P. 100737. DOI: 10.1016/j.curtheres.2024.100737
21. Karakas D., Xu M., Ni H. GPIIb/IIIa is the driving force of hepatic thrombopoietin generation // *Res. Pract. Thromb. Haemost.* – 2021. – Vol. 5, № 4. – P. e12506. DOI: 10.1002/rth2.12506
22. Overview of the mechanisms of oxidative stress: impact in inflammation of the airway diseases / G.D. Albano, R.P. Gagliardo, A.M. Montalbano, M. Profita // *Antioxidants (Basel)*. – 2022. – Vol. 11, № 11. – P. 2237. DOI: 10.3390/antiox11112237
23. Cai Y., Yang F., Huang X. Oxidative stress and acute pancreatitis (Review) // *Biomed. Rep.* – 2024. – Vol. 21, № 2. – P. 124. DOI: 10.3892/br.2024.1812
24. Kruse P., Anderson M.E., Loft S. Minor role of oxidative stress during intermediate phase of acute pancreatitis in rats // *Free Radic. Biol. Med.* – 2001. – Vol. 30, № 3. – P. 309–317. DOI: 10.1016/S0891-5849(00)00472-X
25. The role of oxidative stress in kidney injury / N. Piko, S. Bevc, R. Hojs, R. Ekart // *Antioxidants (Basel)*. – 2023. – Vol. 12, № 9. – P. 1772. DOI: 10.3390/antiox12091772
26. Pulmonary infarction in acute pulmonary embolism / F.H.J. Kaptein, L.J.M. Kroft, G. Hammerschlag, M.K. Ninaber, M.P. Bauer, M.V. Huisman, F.A. Klok // *Thromb. Res.* – 2021. – Vol. 202. – P. 162–169. DOI: 10.1016/j.thromres.2021.03.022

27. Lentsch A.B., Ward P.A. Regulation of inflammatory vascular damage // *J. Pathol.* – 2000. – Vol. 190, № 3. – P. 343–348. DOI: 10.1002/(SICI)1096-9896(200002)190:3<343::AID-PATH522>3.0.CO;2-M

Оценка бионакопления и токсического действия наночастиц кобальт (II) алюмината для задач обеспечения гигиенической безопасности / М.А. Землянова, М.С. Степанков, О.В. Пустовалова, А.В. Недошитова // *Анализ риска здоровья.* – 2024. – № 3. – С. 113–122. DOI: 10.21668/health.risk/2024.3.12

UDC 613.632.2; 615.916; 661.862.277.3
DOI: 10.21668/health.risk/2024.3.12.eng



Research article

ASSESSMENT OF BIOACCUMULATION AND TOXIC EFFECTS OF COBALT (II) ALUMINATE NANOPARTICLES FOR HYGIENIC SAFETY PURPOSES

M.A. Zemlyanova^{1,2}, M.S. Stepankov¹, O.V. Pustovalova¹, A.V. Nedoshitova¹

¹Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, 82 Monastyrskaya St., Perm, 614045, Russian Federation

²Perm State University, 15 Bukireva St., Perm, 614068, Russian Federation

Hygienic safety plays an important role in preventing health harm under chemical exposures. Hygienic regulation of levels of existing and new substances in environmental objects is the core element here carried out within experimental research aimed at establishing their toxic properties. Cobalt (II) aluminate nanoparticles (CoAl₂O₄ NPs) are a typical example of a new material with presumably higher toxic potential upon oral exposure as opposed to micro-sized particles (MPs). Given that, the development of safety standards requires identifying features of the negative impact of CoAl₂O₄ NPs, which are different from MPs upon oral exposure.

The study was performed on Wistar rats orally exposed to NPs and MPs for 20 days at the total dose of 10,550 mg/kg of body weight.

NPs have chemical composition similar to MPs, smaller size (87.11 times) and larger specific surface area (1.74 times). NPs have a more pronounced ability to bioaccumulate in the heart, lungs, liver and kidneys as compared to MPs (up to 7.54 times). Exposure to NPs resulted in more pronounced (up to 3.60 times) changes in blood indicators associated with developing redox imbalance, cytotoxic effect, liver, pancreas and kidney dysfunction, inflammatory process, and thrombocytopenia. NPs caused hemorrhagic infarcts and pulmonary edema not established upon MPs exposures. The calculated value of the tentatively permissible exposure level (TPEL) was 0.02 mg/dm³ for these NPs content in drinking water, which is 10 times lower than the same value for MPs.

Thus, CoAl₂O₄ NPs upon oral exposure for 20 days at the total dose of 10,550 mg/kg of body weight have more marked bioaccumulation relative to MPs, which causes more pronounced negative effects identified by changes in blood indicators and developing pathomorphological changes. The study findings allow increasing accuracy and objectivity when developing safety standards for CoAl₂O₄ levels in food products and drinking water to ensure greater hygienic safety of the population.

Keywords: *hygienic safety, cobalt (II) aluminate, nanoparticles, microparticles, oral exposure, bioaccumulation, morphofunctional impairments, rats.*

References

1. Zhang A., Mu B., Luo Z., Wang A. Bright blue hallosite/CoAl₂O₄ hybrid pigments: preparation, characterization and application in water based painting. *Dyes and Pigments*, 2017, vol. 139, pp. 473–481. DOI: 10.1016/j.dyepig.2016.12.055
2. Babu N., Devadathan D., Sebastian A., Vidhya B. Photocatalytic study of cobalt aluminate nano-particles synthesised by solution combustion method. *Materials Today Proceedings*, 2023. DOI: 10.1016/j.matpr.2023.05.641

© Zemlyanova M.A., Stepankov M.S., Pustovalova O.V., Nedoshitova A.V., 2024

Marina A. Zemlyanova – Doctor of Medical Sciences, Chief Researcher with the duties of the Head of the Department of Biochemical and Cytogenetic Methods of Diagnostics; Associate Professor at the Department of Microbiology and Virology (e-mail: zem@fcrisk.ru; tel.: +7 (342) 236-39-30; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8013-9613>).

Mark S. Stepankov – Junior Researcher at the Laboratory of Biochemical and Nanosensor Diagnostics (e-mail: stepankov@fcrisk.ru; tel.: +7 (342) 237-18-15; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7226-7682>).

Olga V. Pustovalova – Senior Researcher at the Laboratory of Biochemical and Nanosensor Diagnostics (e-mail: pustovalova@fcrisk.ru; tel.: +7 (342) 237-18-15; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8050-7674>).

Anna V. Nedoshitova – Senior Researcher at the Laboratory of Elemental Analysis Methods (e-mail: nedoshitova@fcrisk.ru; tel.: +7 (342) 237-10-37; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6514-7239>).

3. Abaide E.R., Anchieta C.G., Foletto V.S., Reinehra B., Ferreira Nunes L., Kuhna R.C., Mazuttia M.A., Foletto E.L. Production of copper and cobalt aluminate spinel and their application as supports for inulinase immobilization. *Materials Research*, 2015, vol. 18, no. 5, pp. 1062–1069. DOI: 10.1590/1516-1439.031415
4. Ibrahim M.A., El-Araby R., Abdelkader E., El Saied M., Abdelsalam A.M., Ismail E.H. Waste cooking oil processing over cobalt aluminate nanoparticles for liquid biofuel hydrocarbons production. *Sci. Rep.*, 2023, vol. 13, no. 1, pp. 3876. DOI: 10.1038/s41598-023-30828-0
5. Zaitseva N.V., Zemlyanova M.A., Stepankov M.S., Ignatova A.M. Nanoscale aluminum oxide – bioaccumulation and toxicological features based on alimentary intake. *Nanobiotechnology Reports*, 2021, vol. 16, no. 2, pp. 246–252. DOI: 10.1134/s263516762102018x
6. Shaikh S.M., Desai P.V. Effect of CoO nanoparticles on the enzyme activities and neurotransmitters of the brain of the mice “Mus musculus”. *Curr. Trends Clin. Toxicol.*, 2018, vol. 1, 8 p. DOI: 10.29011/CTT-103.100003
7. Guo S., Liang Y., Liu L., Yin M., Wang A., Sun K., Li Y., Shi Y. Research on the fate of polymeric nanoparticles in the process of the intestinal absorption based on model nanoparticles with various characteristics: size, surface charge and hydrophobicity. *J. Nanobiotechnology*, 2021, vol. 19, no. 1, pp. 32. DOI: 10.1186/s12951-021-00770-2
8. Sukhanova A., Bozrova S., Sokolov P., Berestovoy M., Karaulov A., Nabiev I. Dependence of nanoparticle toxicity on their physical and chemical properties. *Nanoscale Res. Lett.*, 2018, vol. 13, no. 1, pp. 44. DOI: 10.1186/s11671-018-2457-x
9. Lison D., Brule S., Van Maele-Fabry G. Cobalt and its compounds update on genotoxic and carcinogenic activities. *Crit. Rev. Toxicol.*, 2018, vol. 48, no. 7, pp. 522–539. DOI: 10.1080/10408444.2018.1491023
10. Bahadar H., Maqbool F., Niaz K., Abdollahi M. Toxicity of Nanoparticles and an Overview of Current Experimental Models. *Iran. Biomed. J.*, 2016, vol. 20, no. 1, pp. 1–11. DOI: 10.7508/ibj.2016.01.001
11. Chen L., Yokel R.A., Hennig B., Toborek M. Manufactured Aluminum Oxide Nanoparticles Decrease Expression of Tight Junction Proteins in Brain Vasculature. *J. Neuroimmune Pharmacol.*, 2008, vol. 3, no. 4, pp. 286–295. DOI: 10.1007/s11481-008-9131-5
12. Sisler J.D., Pirela S.V., Shaffer J., Mihalchik A.L., Chisholm W.P., Andrew M.E., Schwegler-Berry D., Castranova V. [et al.]. Toxicological assessment of CoO and La₂O₃ metal oxide nanoparticles in human small airway epithelial cells. *Toxicol. Sci.*, 2016, vol. 150, no. 2, pp. 418–428. DOI: 10.1093/toxsci/kfw005
13. Xie Y., Zhuang Z.X. Chromium (VI)-induced production of reactive oxygen species, change of plasma membrane potential and dissipation of mitochondria membrane potential in Chinese hamster lung cell cultures. *Biomed. Environ. Sci.*, 2001, vol. 14, no. 3, pp. 199–206.
14. Mohamed H.R.H., Hussein N.A. Amelioration of cobalt oxide nanoparticles induced genomic and mitochondrial DNA damage and oxidative stress by omega-3 co-administration in mice. *Caryologia*, 2018, vol. 71, no. 4, pp. 357–364. DOI: 10.1080/00087114.2018.1473943
15. Bhatti J.S., Bhatti G.K., Reddy P.H. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in metabolic disorders – a step towards mitochondria based therapeutic strategies. *Biochim. Biophys. Acta. Mol. Basis Dis.*, 2017, vol. 1863, no. 5, pp. 1066–1077. DOI: 10.1016/j.bbadis.2016.11.010
16. Sun J., Wang S., Zhao D., Hun F.H., Weng L., Liu H. Cytotoxicity, permeability, and inflammation of metal oxide nanoparticles in human cardiac microvascular endothelial cells: cytotoxicity, permeability, and inflammation of metal oxide nanoparticles. *Cell Biol. Toxicol.*, 2011, vol. 27, no. 5, pp. 333–342. DOI: 10.1007/s10565-011-9191-9
17. Al-Megrin W.A., Alkhouriji A.F., Yousef A.O.S., Metwally D.M., Habotta O.A., Kassab R.B., Abdel Moneim A.E., El-Khadragy M.F. Antagonistic efficacy of luteolin against lead acetate exposure-associated with hepatotoxicity is mediated via antioxidant, anti-inflammatory, and anti-apoptotic activities. *Antioxidants (Basel)*, 2019, vol. 9, no. 1, pp. 10. DOI: 10.3390/antiox9010010
18. Alhusaini A., Fadda L., Hasan I.H., Zakaria E., Alenazi A.M., Mahmoud A.M. Curcumin ameliorates lead-induced hepatotoxicity by suppressing oxidative stress and inflammation, and modulating Akt/GSK-3β signaling pathway. *Biomolecules*, 2019, vol. 9, no. 11, pp. 703. DOI: 10.3390/biom9110703
19. Ilesanmi O.B., Adeogun E.F., Odewale T.T., Chikere B. Lead exposure-induced changes in hematology and biomarkers of hepatic injury: protective role of Trévo™ supplement. *Environ. Anal. Health Toxicol.*, 2022, vol. 37, no. 2, pp. e2022007-0. DOI: 10.5620/eaht.2022007
20. Thakur S., Kumar V., Das R., Sharma V., Mehta D.K. Biomarkers of hepatic toxicity: an overview. *Curr. Ther. Res. Clin. Exp.*, 2024, vol. 100, pp. 100737. DOI: 10.1016/j.curtheres.2024.100737
21. Karakas D., Xu M., Ni H. GPIIb is the driving force of hepatic thrombopoietin generation. *Res. Pract. Thromb. Haemost.*, 2021, vol. 5, no. 4, pp. e12506. DOI: 10.1002/rth2.12506
22. Albano G.D., Gagliardo R.P., Montalbano A.M., Profita M. Overview of the mechanisms of oxidative stress: impact in inflammation of the airway diseases. *Antioxidants (Basel)*, 2022, vol. 11, no. 11, pp. 2237. DOI: 10.3390/antiox11112237
23. Cai Y., Yang F., Huang X. Oxidative stress and acute pancreatitis (Review). *Biomed. Rep.*, 2024, vol. 21, no. 2, pp. 124. DOI: 10.3892/br.2024.1812
24. Kruse P., Anderson M.E., Loft S. Minor role of oxidative stress during intermediate phase of acute pancreatitis in rats. *Free Radic. Biol. Med.*, 2001, vol. 30, no. 3, pp. 309–317. DOI: 10.1016/S0891-5849(00)00472-X
25. Piko N., Bevc S., Hojs R., Ekart R. The role of oxidative stress in kidney injury. *Antioxidants (Basel)*, 2023, vol. 12, no. 9, pp. 1772. DOI: 10.3390/antiox12091772
26. Kaptein F.H.J., Kroft L.J.M., Hammerschlag G., Ninaber M.K., Bauer M.P., Huisman M.V., Klok F.A. Pulmonary infarction in acute pulmonary embolism. *Thromb. Res.*, 2021, vol. 202, pp. 162–169. DOI: 10.1016/j.thromres.2021.03.022
27. Lentsch A.B., Ward P.A. Regulation of inflammatory vascular damage. *J. Pathol.*, 2000, vol. 190, no. 3, pp. 343–348. DOI: 10.1002/(SICI)1096-9896(200002)190:3<343::AID-PATH522>3.0.CO;2-M

Zemlyanova M.A., Stepankov M.S., Pustovalova O.V., Nedoshitova A.V. Assessment of bioaccumulation and toxic effects of cobalt (II) aluminate nanoparticles for hygienic safety purposes. *Health Risk Analysis*, 2024, no. 3, pp. 113–122. DOI: 10.21668/health.risk/2024.3.12.eng

Получена: 07.05.2024

Одобрена: 14.09.2024

Принята к публикации: 26.09.2024