

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

УДК 544.773:546.57:57.044:613.2:615.9

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА НАНОРАЗМЕРНОГО КОЛЛОИДНОГО СЕРЕБРА В ЭКСПЕРИМЕНТАХ НА МЫШАХ. ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ, МОРФОЛОГИЯ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ

**Н.В. Зайцева¹, М.А. Землянова^{1,2}, В.Н. Звездин¹, А.А. Довбыш¹, Т.И. Акафьева²,
И.В. Гмошинский³, С.А. Хотимченко³**

¹ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», Россия, 614045, г. Пермь, ул. Монастырская, 82

²ФГБОУ ВПО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», Россия, 614990, г. Пермь, ул. Букирева, 15

³ФГБНУ «Научно-исследовательский институт питания», Россия, 109240, г. Москва, Устьинский проезд, 2/14

Представлены результаты исследования токсичности наноразмерного коллоидного серебра (НКС), наиболее широко применяющегося в медицине, питании и быту. При оценке безопасных доз наноразмерных частиц (НЧ) серебра (использовали выпускаемый промышленностью раствор НКС, стабилизированный поливинилпирролидоном (ПВП), с размером НЧ серебра в интервале 5–80 нм) при пероральном введении мышам-самцам линии BALB/c в дозах 0,1; 1,0 и 10 мг/кг массы тела в расчете на серебро выявлены различные эффекты со стороны двигательной и ориентировочно-исследовательской активности, для части которых была характерна зависимость от дозы вводимого НКС. Установлено: снижение двигательной активности по уменьшению частоты действий, требующих физических усилий, и сокращению времени выполнения данных действий; повышение тревожности по показателям частоты и длительности актов ориентировочно-исследовательской активности и умывания животных. Морфологическое исследование выявило серию изменений тканей внутренних органов (в первую очередь печени и селезенки, в меньшей степени – почек, толстой кишки и сердца) с нарастанием спектра и степени выраженности структурных изменений по мере увеличения дозы НКС. По совокупности полученных данных сделан вывод, что максимальная недействующая доза (NOAEL) данного наноматериала при подостром пероральном введении составляет не более 0,1 мг/кг массы тела.

Ключевые слова: серебро, наночастицы, токсичность, морфология, поведенческие реакции

Наночастицы (НЧ) серебра содержатся в вязочные материалы, дезинфицирующие средства, лакокрасочная продукция, текстиль, фильтры для воды, упаковочные материалы, косметиче-

© Зайцева Н.В., Землянова М.А., Звездин В.Н., Довбыш А.А., Акафьева Т.И., Гмошинский И.В., Хотимченко С.А., 2015
Зайцева Нина Владимировна – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор; директор (e-mail: znv@fcrisk.ru; тел.: 8 (342) 237-25-34).

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

Звездин Василий Николаевич – кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией биохимической и наносенсорной диагностики (e-mail: zvezdin@fcrisk.ru; тел.: 8 (342) 236-39-30).

Довбыш Анастасия Александровна – токсиколог лаборатории метаболизма и фармакокинетики (e-mail: dovastja@yandex.ru; тел.: 8 (342) 236-39-30).

Акафьева Татьяна Игоревна – магистр кафедры экологии человека и безопасности жизнедеятельности (e-mail: akafieva@fcrisk.ru; тел.: 8 (342) 236-39-30).

Гмошинский Иван Всеволодович – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий (e-mail: gmosh@ion.ru; тел.: +7 (495) 698-53-71).

Хотимченко Сергей Анатольевич – доктор медицинских наук, заведующий лабораторией пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий (e-mail: hotimchenko@ion.ru; тел.: +7 (495) 698-52-35).

ская продукция, биологически активные добавки к пище [12, 19]. Объём производства в мире материалов, содержащих этот вид НЧ, составлял по состоянию уже на 2011 г. свыше 500 т/г. в пересчете на серебро [20] и в настоящее время продолжает увеличиваться. Отходы изделий и продукции, содержащие НЧ серебра, подвергаются утилизации, в том числе на мусоросжигающих предприятиях. При этом большая часть НЧ серебра концентрируется в золе и шлаках систем жидкостной воздухоочистки [9, 20], откуда может поступать на поля в составе удобрений, накапливаясь в растениях и различных водных и почвенных организмах, после чего передаётся к человеку по трофическим цепям.

Согласно имеющимся данным литературы, НЧ серебра могут быть токсичными при пероральном введении, при этом оценки токсических доз НЧ серебра при их поступлении в желудочно-кишечный тракт противоречивы [6, 10, 15, 18, 23], что может быть обусловлено различиями в размерах частиц и структуре их поверхности, недостаточной длительностью экспериментов и ограниченным набором изучаемых биомаркеров токсичности.

Целью цикла исследований, проводимых совместно ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» и ФГБНУ «Научно-исследовательский институт питания», является оценка безопасных для человека доз НЧ серебра при их поступлении через желудочно-кишечный тракт с использованием методических указаний по оценке безопасности наноматериалов [5]. Большинство экспериментов по острой и подострой токсичности наноматериалов проводятся в настоящее время на крысах [22]. Вместе с тем обоснование безопасных доз наноматериала требует проведения экспериментов не менее чем на двух видах лабораторных животных. Ввиду этого предметом исследования в данной статье является оценка некоторых интегральных и гистопатологических изменений, развивающихся под действием НЧ серебра, вводимых в желудочно-кишечный тракт линейных мышей. В качестве объекта исследований выбран выпускаемый в промышленных масштабах препа-

рат наноразмерного коллоидного серебра (НКС), стабилизированного поливинилпирролидоном (ПВП), который является разрешенной пищевой добавкой Е1201, а также безопасно используется в составе инфузионных растворов – кровезаменителей.

Материалы и методы. Исследованный раствор НКС («кластерного серебра») «Арговит-С» по ТУ 9310-03-79044259-12 был предоставлен фирмой ООО НПЦ «Вектор-Вита», Россия, г. Новосибирск¹. Препарат НКС представлял собой водный раствор коричневого цвета (в проходящем свете) с зеленовато-серым оттенком (в отраженном свете) и небольшой опалесценцией. Длина волны максимума поглощения в видимой области составляла 403,2 нм. Согласно данным анализа методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой² (MP 1.2.2641-10), общее содержание серебра в неразбавленном растворе НКС составляло $10,09 \pm 0,04$ мг/см³. Стабилизатор ПВП в продукте содержался в количестве 19 % по массе. По данным трансмиссионной электронной микроскопии (MP 1.2.2641-10, микроскоп JEOL JEM-100CX; JEOL, Япония; ускоряющее напряжение 80 кВ) в составе изучаемого образца НКС присутствовали НЧ серебра с высокой электронной плотностью, четкими контурами, преимущественно округлой, эллипсоидной формы и отдельные частицы треугольной формы, принадлежащие к размерным фракциям с диаметром менее 5 нм; 10–20 и 50–80 нм³. Как показал анализ методом динамического лазерного светорассеяния на приборе Nanotrack Wave (Microtrac Inc., США), 80 % НЧ серебра в препарате имели гидродинамический диаметр в интервале 10,6–61,8 нм.

Работа с животными выполнена в соответствии с «Руководством по уходу и использованию лабораторных животных» (ILAR, DELS) и «Правилами лабораторной практики» [13]. Исследование гистопатологических изменений, вызываемых НЧ серебра, в органах и тканях проведено на половозрелых мышам-самцах линии BALB/C исходной массой $26,0 \pm 3,0$ г, полученных из питомника лабораторных животных «Андреевка» ФБУН «Научный центр биомедицинских технологий»

¹ Авторы благодарят канд. химич. наук В.А. Бурмистрова за предоставленный для исследования образец коллоидного серебра.

² Исследование проведено А.А. Шумаковой (ФГБНУ «Научно-исследовательский институт питания»).

³ Исследование проведено канд. биол. наук С.М. Придворовой (ФГБНУ «Институт биохимии им. А.Н. Баха»).

ФМБА России. Животных в количестве 75 особей распределили на 5 групп по 15 особей в группе (группа № 1 – контрольная, группы № 2, 3, 4, 5 – опытные). Препараты НКС и стабилизатора ПВП вводили ежедневно в до-

зах, представленных в табл. 1, в фиксированное время, внутривентриально через зонд. Животные контрольной группы получали носитель – дистиллированную воду. Длительность эксперимента составила 90 дней.

Таблица 1

Дозы и объемы НКС и стабилизатора ПВП при внутривентриальном введении мышам в подостром эксперименте

Группа	Число животных в группе	НКС в виде суспензии в воде	Стабилизатор ПВП в виде раствора в воде	Общий объем вводимых препаратов, мл/кг массы тела/сут.
		Доза*, мг/кг массы тела/сут.		
1 (контроль)	15	–	–	4,0
2	15	–	200,0	
3	15	0,1	200,0	
4	15	1,0	180,0	
5	15	10,0	–	

Примечание: * – для НКС в расчёте на серебро.

В ходе эксперимента ежедневно оценивали внешний вид, общее состояние животных, аппетит. Массу тела определяли непосредственно перед началом эксперимента и на 30-й, 60-й и 90-й день эксперимента.

Выведение животных из эксперимента осуществляли на 90-й день в соответствии с существующими правилами [13]. После эвтаназии проводили вскрытие, отбор внутренних органов (головной мозг, сердце, легкие, печень, селезенку, почки, гонады) с последующим измерением абсолютной и расчетом относительной массы органов. Для морфологических исследований отбирали сердце, печень, почки, селезенку, подвздошную кишку, толстый кишечник, головной мозг. Отобранный материал фиксировали в 10%-ном нейтральном (забуференном 0,1 М фосфатом натрия, рН 7,00±0,05) растворе формалина в соотношении 1:50 по массе, проводили обезвоживание фрагментов органов в спиртах восходящей концентрации, пропитывание хлороформом и парафином, а затем заливали гомогенизированной парафиновой средой «Histomix». Срезы толщиной 4 мкм выполняли на санном микротоме JUNG SM 2000R (Leica, Германия) и окрашивали по общепринятой методике гематоксилином и эозином. Микрофотографии получали на светоптическом микроскопе «МЕИЛ» (Techno, Япония), снабженном камерой «microscopy VISION» (VISION, Канада), при увеличении ×200, ×400, ×1000. Всего было изучено 550 гистологических препаратов.

Влияние внутривентриального введения НКС на двигательную и ориентировочно-исследовательскую активность животных изучали по мето-

дике Я.И. Буреш и соавт. [1] и в соответствии с МУ 1.2. 2635-10. Тестирование выполняли на установке «Открытое поле» TS0501 (ООО «НПК Открытая Наука», Россия), поведение фиксировали в течение 5 минут с помощью видеокамеры высокого разрешения, закрепленной на высоте 2 метров. Учет, анализ и статистическую обработку данных проводили в программе RealTimer v.1.2.1. Математическую обработку результатов исследования осуществляли с помощью параметрических методов статистики, с предварительной оценкой соответствия полученных результатов закону нормального распределения. Рассчитывали выборочное среднее (M) и стандартную ошибку (m), проверяли гипотезу о совпадении выборочных средних с использованием t -критерия Стьюдента. Различия полученных результатов считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Расчёты выполняли с использованием программного пакета Statistica 6.0.

Результаты и их обсуждение. При оценке интегральных показателей организма животных на протяжении эксперимента во всех группах не выявлено нарушений или изменений состояния кожного покрова животных, интенсивности и характера двигательной активности, реакции на тактильные, звуковые и световые раздражители. Снижения аппетита, наличия признаков интоксикации, гибели животных в течение всего срока наблюдения не отмечено. Средняя масса тела у животных опытной группы № 5, получавшей максимальную дозу НКС, начиная с 60-го дня эксперимента достоверно ($p < 0,05$) снижена на 16–19 % относительно данного показателя в контрольной группе. Средняя масса

тела животных остальных опытных групп не отличалась от контроля (табл. 2).

Отмечалось достоверное дозозависимое увеличение относительной массы селезен-

ки у мышей опытных групп № 4 в 1,75 раза и № 5 – в 2,25 раза ($p < 0,05$) по сравнению с аналогичным показателем в контрольной группе (табл. 3).

Таблица 2

Динамика массы тела мышей линии BALB/C в ходе подострого эксперимента

Группа	Средняя масса тела в группе, г ($M \pm m$)			
	до начала эксперимента	30-й день	60-й день	90-й день
1 (контроль)	28,1±2,1	30,7±3,3	32,1±2,1*	34,6 ±5,5*
2	27,1±2,0	29,1±3,2	31,2±3,0*	32,4±2,0*
3	26,9±2,8	29,0±4,1	31,1±5,0*	31,6±2,8*
4	26,1±2,5	28,7±3,1	30,3±3,1*	30,4±2,5*
5	26,5±1,5	26,2±2,4	27,0±2,0^	28,1±2,6^

Примечание: ^ $p < 0,05$ в сравнении со значением показателя контрольной группы; * $p < 0,05$ в сравнении со значением показателя перед началом эксперимента.

Таблица 3

 Средняя ($M \pm m$) масса тела и относительная масса органов мышей на 90-й день подострого эксперимента

Показатель	Группа					
	1 (контроль)	2	3	4	5	
Масса тела, г	34,2±3,65	32,4±2,0	31,6±2,8	30,4±2,5	28,1±3,56	
Относительная масса внутренних органов, % от массы тела	головной мозг	1,32±0,10	1,4±0,2	1,7±0,3	1,5±0,2	1,4±0,2
	сердце	0,5±0,1	0,5±0,1	0,6±0,1	0,5±0,2	0,5±0,1
	легкие	0,8±0,2	0,9±0,3	1,2±0,5	0,9±0,2	0,8±0,2
	печень	5,0±0,8	4,9±1,1	5,8±1,65	4,9±0,9	4,6±0,6
	селезенка	0,4±0,1	0,5±0,1	0,9±0,6	0,7±0,2*	0,9±0,3*
	почки	1,5±0,1	1,6±0,2	1,6±0,1	1,4±0,3	1,4±0,2
гонады	0,9±0,3	0,7±0,2	0,8±0,3	0,6±0,2	0,8±0,2	

Примечание: * $p < 0,05$ в сравнении со значением показателя контрольной группы.

Достоверных изменений относительной массы остальных исследованных органов в опытных группах относительно контрольных показателей не установлено.

При оценке двигательной и ориентировочно-исследовательской активности на 90-й день эксперимента (табл. 4) установлено, что мыши опытной группы № 2, получавшие ПВП, в 2 раза реже по сравнению с контролем вставали в стойку без опоры на стенку арены ($p < 0,001$). Аналогичные, не имеющие четкой зависимости от дозы изменения этого показателя отмечены и у животных групп № 3–5, что может рассматриваться, по-видимому, как неспецифический эффект со стороны вводимого носителя наноматериала (ПВП). При этом средняя длительность стойки достоверно снижена в сравнении с контролем только у животных группы № 3, получавших НКС в наименьшей из доз.

Частота замираний у животных группы № 2 была снижена в 1,8 раза по сравнению с показателем в контроле ($p < 0,001$). Наблюдавшиеся в группах № 3 и 4 изменения этого

показателя были сопоставимы с таковыми в группе № 2 и не демонстрировали монотонной зависимости от дозы. Однако у мышей группы № 5, получавших НКС в дозе 10 мг/кг массы тела, частота замираний была снижена по сравнению как с показателем в контроле (в 6,2 раза, $p < 0,001$), так и с показателем в группе № 2 (в 3,5 раза, $p < 0,001$), что не может быть объяснено эффектом со стороны вводимого ПВП. Зависимости средней длительности замираний от дозы НКС не выявлено. Оценка частоты поведенческих актов по длительности умываний показала достоверное и дозозависимое снижение этого показателя в группах № 3–5 по сравнению с контролем. При этом в группе № 2 частота умываний достоверно не отличалась от таковой в контроле, а средняя длительность актов умывания (в отличие животных от групп № 3–5) была достоверно снижена. На показатель тревожности, характеризуемый частотой заглядывания в норки, введение мышам группы № 2 ПВП не оказывало воздействия, тогда как в группах № 3–5, получавших НКС,

этот показатель достоверно снижался, хотя определенная зависимость его от дозы наноматериала отсутствовала. Длительность заглядывания в норки достоверно повышена в группах № 3 и 4, чего не выявлено в группе № 5. Достоверного отличия по показателю пересечения квадратов поля у экспериментальных живот-

ных групп № 3–5 не установлено (за исключением небольшого по величине снижения в группе № 4 для периферических квадратов). Значение интегрального показателя общей активности достоверно изменялось в сравнении с контролем в группах № 3 и 4 при отсутствии достоверных изменений в группе № 5.

Таблица 4

Показатели двигательной и ориентировочно-исследовательской активности у мышей на 90-й день эксперимента

Показатель ($M \pm m$)	Группы животных				
	1 (контроль)	2	3	4	5
<i>Число событий за 5 мин</i>					
Стойка без опоры на стенку	10,8±1,6	5,5±2,0**	2,4±0,6**	4,7±3,8*	3,5±3,5**
Умывание	1,3±0,2	1,3±0,6	0,5±0,5*	0,5±0,3**	0,25±0,2**
Заглядывание в норки	27,5±2,0	28,0±1,2	15,0±3,2*	18,1±4,5**	23,0±3,5*
Пересечение центрального квадрата	5,0±1,0	6,3±1,1	5,1±1,4	4,3±1,9	8,1±4,5
Пересечение периферического квадрата	46,5±2,9	40,3±8,9	35,4±11,4	31,4±10,4*	41,7±7,9
Замирание	6,8±1,1	3,8±1,1**	5,3±1,8	3,3±1,3**	1,1±0,4**
Общая активность	91,0±6,3	81,3±10,9	58,4±13,8*	59,1±15,5**	76,6±16,0
<i>Длительность событий (с) за 5 мин</i>					
	1 (контроль)	2	3	4	5
Стойка без опоры на стенку	0,7±0,03	0,8±0,2	0,35±0,2*	0,7±0,3	0,8±0,4
Умывание	1,3±0,3	0,5±0,2**	3,7±4,9	3,2±2,2	0,9±0,8
Заглядывание в норки	1,7±0,1	1,9±0,1	2,6±0,4*	2,7±0,7*	1,9±0,4
Замирание	0,5±0,2	0,3±0,2	3,4±1,7*	2,1±1,0*	1,0±0,4*
Общая активность	3,7±0,4	3,2±0,4	6,7±4,9	6,7±2,2*	3,6±1,2

Примечание: * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$ в сравнении со значением показателя контрольной группы.

Полученные результаты свидетельствуют о наличии различных эффектов в отношении двигательной и ориентировочно-исследовательской активности мышей групп № 3–5, часть из которых может быть объяснена воздействием НКС. При этом в ряде случаев четкой зависимости от его дозы не наблюдается. Однако в случае частоты умываний и замираний животных прослеживается однозначная зависимость от дозы, причём, если в группе № 3 (доза 0,1 мг/кг массы тела НКС) отмечаемые изменения ещё относительно невелики, то в группах № 4 и 5 эти показатели значительно и достоверно отличаются от контрольных.

Результаты морфологического исследования внутренних органов (головной мозг, сердце (миокард), печень, селезенка, почки, толстая кишка, подвздошная кишка) мышей групп № 1, 3–5 представлены на репрезентативных светоптических микрофотографиях (рис. 1–7). При оценке морфологии внутренних органов мышей контрольной группы (рис. 1–7 (а)) в структуре ткани головного мозга, почек, печени и толстой кишки существенных морфологических изменений не установлено. В части порталных трактов печени встречаются единичные эози-

нофилы. В структуре ткани селезенки отмечается гиперплазия лимфоидной ткани с увеличением объёма белой пульпы до 35–40 % и образованием реактивных фолликулов. В структуре лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистой оболочкой подвздошной кишки, имеется гиперплазия с образованием реактивных фолликулов, эозинофилия реактивного инфильтрата, гиперплазия клеток Панета. Отмеченные эффекты со стороны иммунной реакции организма могут рассматриваться как не выходящие за пределы нормальных возрастных изменений для животных данного возраста.

При оценке структуры тканей исследованных внутренних органов мышей группы № 2 морфологических изменений относительно контроля не выявлено.

У мышей группы № 3, получавших НКС на протяжении 3 месяцев в дозе 0,1 мг/кг массы тела (рис. 1–7 (б)), в структуре ткани головного мозга, сердца, почек, подвздошной и толстой кишки морфологических изменений относительно контроля не установлено. В структуре ткани печени выявлены морфологические изменения, состоящие в очаговой белковой дистрофии гепатоцитов, выраженной эозинофилии ин-

фильтрата. В селезенке мышей рассматриваемой группы установлена близкая по степени выраженности к контрольной группе гиперплазия

лимфоидной ткани с увеличением объема белой пульпы до 35–40 %, а также эозинофилия, скопления гигантских многоядерных клеток.

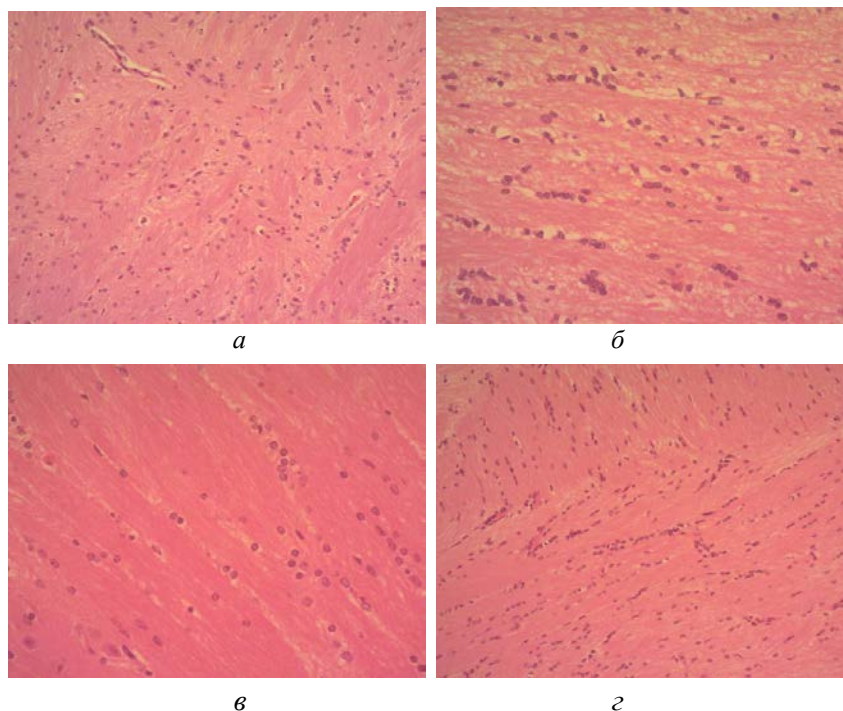


Рис. 1. Микрофотографии головного мозга мышей: а – г – животные из групп № 1, 3–5 соответственно. Окраска гематоксилином – эозином. Увеличение $\times 200$

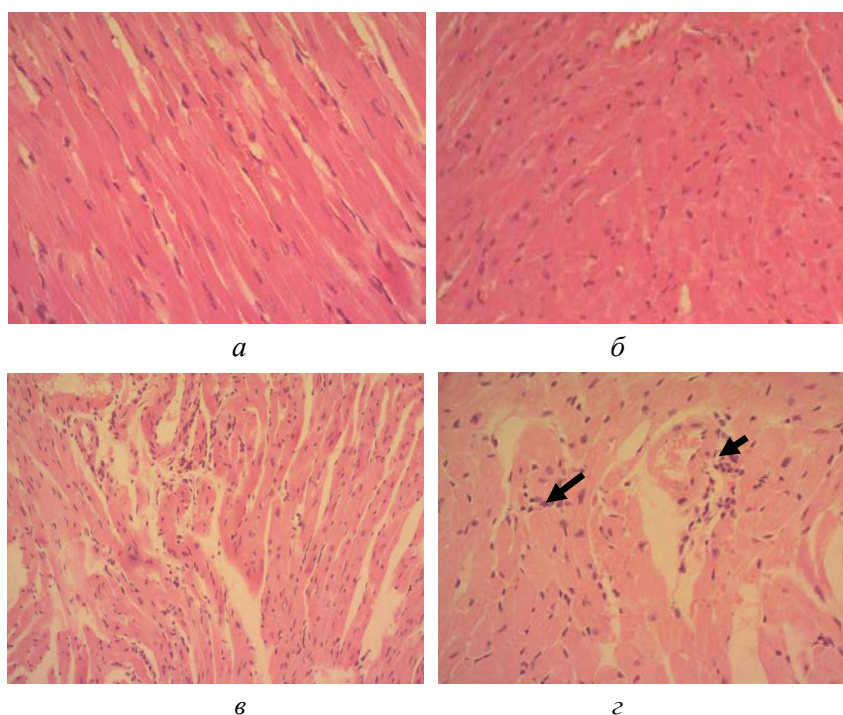


Рис. 2. Микрофотографии мышечной ткани сердца (миокарда) мышей: а – животное из группы № 1 (контроль); б – животное из группы № 3; в – животное из группы № 4: выявляется незначительный отёк, периваскулярные скопления лимфоцитов, плазматических клеток; г – животное из группы № 5: морфологические изменения в виде очаговой слабо выраженной периартериальной лимфоплазматической инфильтрации (отмечена стрелками). Окраска гематоксилином – эозином. Увеличение $\times 400$

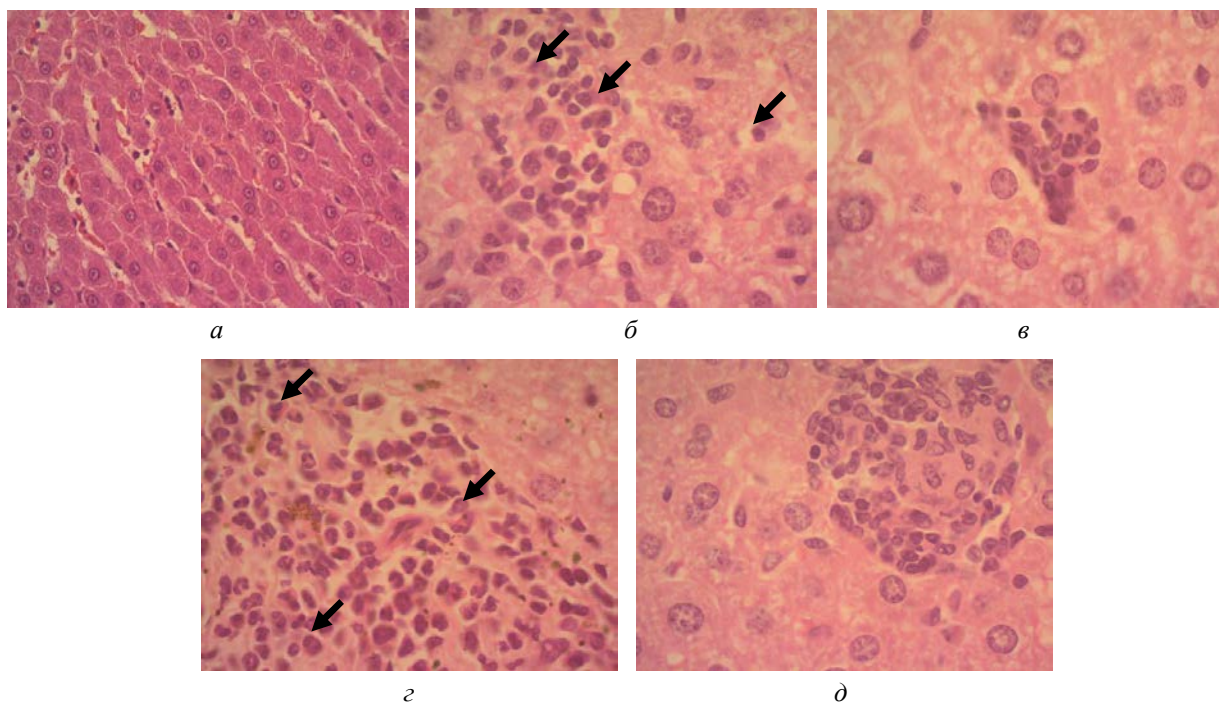


Рис. 3. Репрезентативная светооптическая картина печени мышей: *а* – животное из группы № 1 (контроль); *б* – животное из группы № 3: гепатоциты в состоянии очаговой белковой дистрофии; в просветах синусоидов – скопления эозинофилов (указаны стрелками), лимфоцитов и плазматических клеток; *в*, *г* – животное из группы № 4: гепатоциты в состоянии распространённой гидрапической и гиалиново-капельной дистрофии; эозинофильная инфильтрация портальных трактов (указана стрелками); *д* – животное из группы № 5: признаки гранулематозного воспаления с умеренно выраженной эозинофилией инфильтрата. Окраска гематоксилином – эозином. Увеличение $\times 400$ (*а*, *г*), $\times 1000$ (*б*, *в*, *д*)

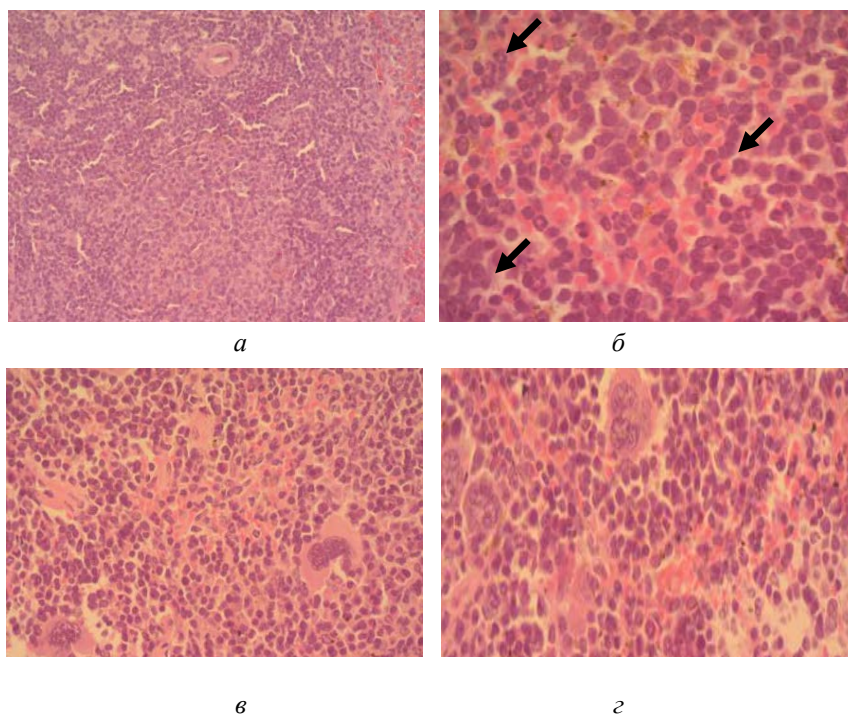


Рис. 4. Репрезентативная светооптическая картина селезенки мышей: *а* – *г* – животные из групп № 1, 3–5 соответственно. Стрелками указана эозинофильная инфильтрация. Окраска гематоксилином – эозином. Увеличение $\times 200$ (*а*, *в*, *г*), $\times 1000$ (*б*)

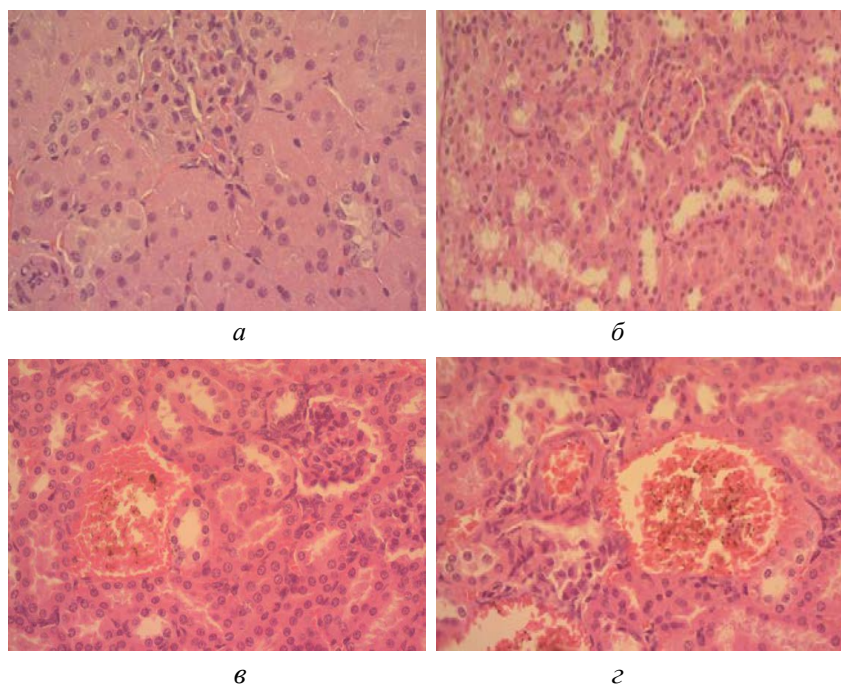


Рис. 5. Репрезентативная светооптическая картина почки мышей: *a* – животное из группы № 1; *б* – животное из группы № 3; *в* – животное из группы № 4: в клубочках – пролиферация мезангиальных клеток до 8 в дольке; *г* – животное из группы № 5. Окраска гематоксилином – эозином. Увеличение $\times 400$

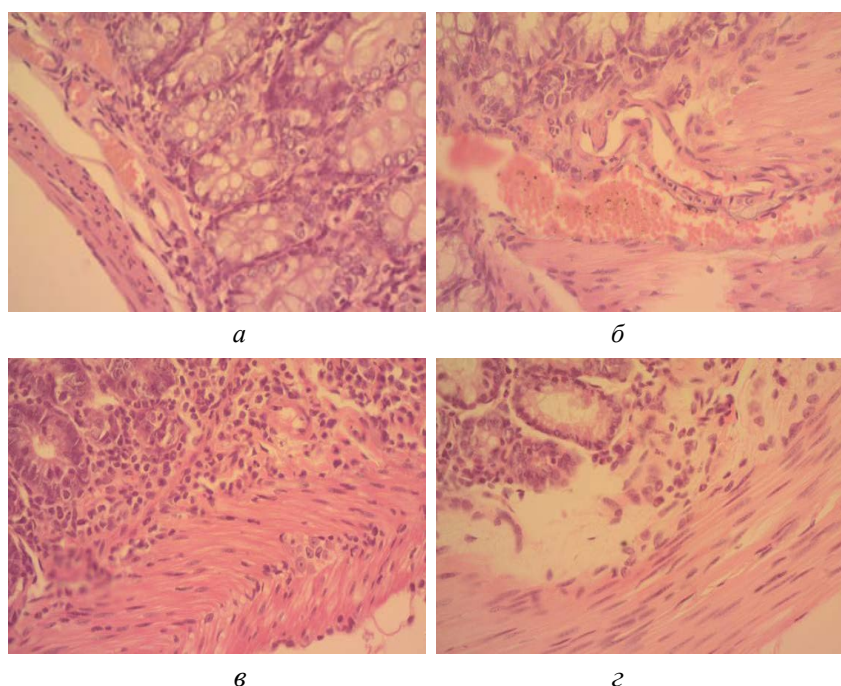


Рис. 6. Репрезентативная светооптическая картина толстой кишки: *a* – животное из группы № 1; *б* – животное из группы № 3; *в* – животное из группы № 4; *г* – животное из группы № 5. Срез ворсинок: аксиальный (*a*, *б*), латеральный (*в*, *г*). Эозинофильная инфильтрация указана стрелками. Окраска гематоксилином – эозином. Увеличение $\times 400$

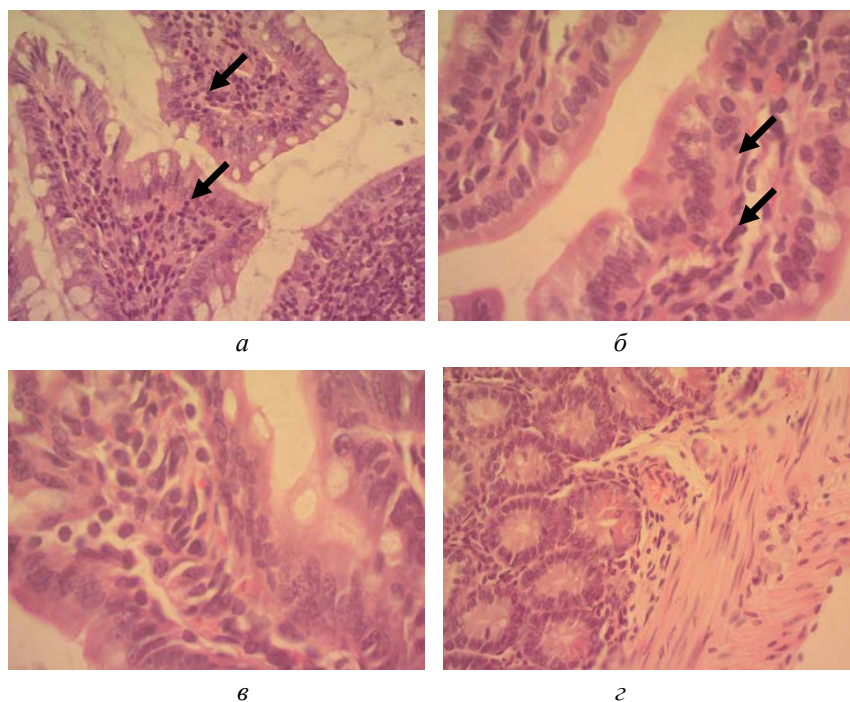


Рис. 7. Репрезентативная светооптическая картина подвздошной кишки: *а* – животное из группы № 1; *б* – животное из группы № 3; *в* – животное из группы № 4; *г* – животное из группы № 5. Срез ворсинок: аксиальный (*а, б, в*), латеральный (*г*). Стрелками указаны клетки Панета. Увеличение $\times 400$ (*а, г*), $\times 1000$ (*б, в*)

У мышей группы № 4, получавших НКС в дозе 1,0 мг/кг массы тела (рис. 1, 2 (*в*), 3 (*в, г*), 4–7 (*в*)), в структуре ткани головного мозга и подвздошной кишки морфологических изменений относительно контрольной группы не установлено. В ткани сердца выявлены незначительные периваскулярные скопления лимфоцитов, плазматических клеток. В печени присутствовали морфологические изменения относительно контрольной группы в виде эозинофильной инфильтрации, локализации клеток Купфера в перипортальной области, распространённой гидрапической и гиалиново-капельной дистрофии, более выраженные, чем у животных группы № 3. В структуре ткани селезенки установлены морфологические изменения, также сходные с отмечавшимися в группе № 3, в виде эозинофилии и пролиферации многоядерных гигантских клеток, гиперплазии лимфоидной ткани с объёмом белой пульпы в диапазоне от 35 до 45 %. В почках, по сравнению с данными, полученными от животных контрольной группы, отмечена пролиферация мезангиальных клеток и выраженные дистрофические изменения клеток наружного листка капсулы нефрона. В стенке толстой кишки наблюдались морфологические изменения относительно контрольной группы в виде распространённого колита с отёком стенки, пролифе-

рацией лимфоцитов, макрофагов, эозинофилов и плазматических клеток в собственной пластинке.

У мышей группы № 5, получавших НКС в дозе 10 мг/кг массы тела/сут., как и у животных других опытных групп, в структуре ткани головного мозга и подвздошной кишки морфологических изменений относительно показателей контрольной группы не установлено. В ткани сердца выявлены морфологические изменения в виде очаговой слабо выраженной периартериальной лимфоплазмоцитарной инфильтрации. Печень животных характеризовалась морфологическими изменениями относительно контрольной группы в виде гранулематозного воспаления с умеренно выраженной эозинофилией инфильтрата. В структуре ткани селезенки отмечены морфологические изменения, проявляющиеся в дальнейшем нарастании объёма лимфоидной ткани с увеличением доли белой пульпы до 45 %, эозинофилии, пролиферации гигантских многоядерных клеток. Для почек характерной являлась очаговая слабо выраженная пролиферация мезангиальных клеток, дистрофические изменения клеток наружного листка капсулы нефрона с периартериальными лимфоплазмоцитарными инфильтратами. В структуре ткани толстого кишечника преобладали морфологические изменения относи-

тельно контрольной группы в виде распространённого колита с эозинофилией воспалительного инфильтрата и реактивной гиперплазией лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистой оболочкой.

Полученные результаты показали, что для НКС характерны различные проявления подострой токсичности при 90-дневном введении в желудочно-кишечный тракт мышей. В частности, выявлено достоверное отставание животных в прибавке массы тела на 60-й и 90-й дни опыта и снижение относительной массы селезенки, наиболее заметное при применении максимальной из исследованных доз наноматериала – 10 мг/кг массы тела. Изучение поведенческих реакций показало, что препарат НКС во всех исследованных дозах обуславливает снижение двигательной активности, о чем свидетельствует снижение частоты действий, требующих физических усилий, и сокращение времени выполнения данных действий, приводит к повышению тревожности по показателям частоты и длительности актов ориентировочно-исследовательской активности и умывания животных. В тех случаях, когда указанные эффекты имели специфический для НКС и дозозависимый характер, их проявление было однозначно выраженным при дозе в расчете на серебро 10 мг/кг массы тела. Насколько можно понять из анализа доступной литературы, полученные результаты являются первым свидетельством наличия у НКС признаков нейротоксического действия при пероральном введении. Ранее в исследовании [21] проводившееся однократное введение беременным самкам крыс НЧ серебра в очень высоких дозах (10–1000 мг/кг массы тела) не сопровождалось какими-либо неблагоприятными изменениями в поведенческих реакциях. Причина этих расхождений, помимо очевидных факторов (вид животных, схема введения), может состоять в способности серебра, входящего в состав НКС, анізотропно проходить через гематоэнцефалический барьер и избирательно накапливаться в головном мозге при многократном введении в условии подострого опыта [7, 8]. Таким образом, влияние НЧ серебра на головной мозг, хотя и не подтверждённое в настоящей работе данными морфологического анализа, требует дальнейшего специального изучения.

Согласно представленным результатам светооптических морфологических исследований, НКС при введении в желудочно-кишечный тракт мышей на протяжении 90 суток вызывает серию изменений тканей внутренних органов

(в первую очередь – печени и селезенки; в меньшей степени – почек, толстой кишки и сердца) с нарастанием спектра и степени выраженности структурных изменений по мере увеличения дозы. В печени указанные изменения сходны с картиной гранулематозного воспаления с очаговой белковой дистрофией гепатоцитов, выраженной эозинофилией инфильтрата; в селезенке изменения проявлялись в гиперплазии лимфоидной ткани с увеличением объёма белой пульпы до 45 %, эозинофилии, скоплениях гигантских многоядерных клеток; в сердце – в виде очаговой слабо выраженной периартериальной лимфоплазмоцитарной инфильтрации; в толстом кишечнике – в виде распространённого колита с эозинофилией воспалительного инфильтрата и реактивной гиперплазией лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистой оболочкой. В головном мозге и подвздошной кишке морфологических изменений при использовании указанных доз относительно контрольной группы не установлено.

Сравнительная выраженность структурных изменений во внутренних органах животных, получавших НКС, коррелирует с известными из литературы данными о биораспределении НЧ серебра, вводимых в желудочно-кишечный тракт. Так, было показано, что органом, накапливающим наибольшее количество этих НЧ, является печень, далее следует селезенка, в почках накопление НЧ серебра (в отличие, в частности, от НЧ золота) оказывается менее значительным [3, 11, 23]. В работах [2, 11] доказывается, что НЧ серебра способны проникать через кишечную стенку в кровь, циркулировать и накапливаться в ряде внутренних органов. Согласно имеющимся данным [22], возможен захват клетками НЧ серебра, после чего под действием окислителей различной природы (в том числе эндогенных) происходит постепенное высвобождение из них серебра в ионной форме, которое, как известно, обладает способностью необратимо ингибировать большое число ферментов и мембранных транспортных систем, связываясь с тиоловыми группами активных белков [14]. Многочисленные исследования *in vitro* в клеточных культурах показали, что пороговая концентрация токсического действия НЧ серебра в среде инкубации составляет не менее 3 мкг/см³. При этом, согласно данным компьютерного моделирования биокинетики НЧ серебра, эта концентрация в ткани печени и селезенки может развиваться при однократном или многократном внутриве-

лудочном введении в дозе порядка 5–10 мг/кг массы тела [16]. С этими оценками согласуются полученные нами результаты, характеризующие выраженные морфологические изменения в печени и селезенке (и, отчасти, в почках) мышей при использовании доз в интервале 1–10 мг/кг массы тела, что свидетельствует о развитии токсического действия, тогда как при дозе 0,1 мг/кг изменения имеют маргинальный характер. Показательно, что тонкая кишка, являющаяся первым барьером на пути НЧ серебра из просвета желудочно-кишечного тракта в организм, сама по себе, по-видимому, не является мишенью их токсического действия. Это согласуется с результатами исследований, в которых не выявлено значительных ультраструктурных изменений в энтероцитах по данным электронной микроскопии (в отличие от селезенки и печени) при остром внутрикишечном введении высоких доз НКС [2], а также с отсутствием влияния НКС на проницаемость кишечного барьера у крыс в возрасте 4 месяцев для белковых макромолекул. Одним из объяс-

нений этого, на первый взгляд, парадоксального факта может быть то, что кишечная абсорбция серебра из изучаемого препарата происходит в основном в форме НЧ нульвалентного серебра, которые предположительно обладают более низкой токсичностью по сравнению с этим металлом в катионной форме [17]. Органами-мишенями токсического действия серебра при его введении в виде НЧ являются печень и селезенка, в клетках которых, вероятно, происходит высвобождение ионов серебра в высоких локальных концентрациях под действием оксидантов, эндогенно продуцируемых нейтрофильными лейкоцитами, макрофагами и (в случае печени) клетками Купфера [4].

В совокупности морфологических данных, полученных у мышей, потреблявших на протяжении 3 месяцев НКС, можно заключить, что максимальная недействующая доза (NOAEL) данного наноматериала составляет, по данным изучения вышеуказанных органов, не более 0,1 мг/кг массы тела.

Список литературы

1. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. – М.: Высшая Школа, 1991. – 268 с.
2. Идентификация наночастиц серебра в тканях слизистой оболочки тонкой кишки, печени и селезенки крыс методом просвечивающей электронной микроскопии / Т.А. Платонова, С.М. Придворова, А.В. Жердев, Л.С. Василевская, Е.А. Арианова, И.В. Гмошинский, С.А. Хотимченко, Б.Б. Дзантиев, В.О. Попов, В.А. Тутельян // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2013. – Т. 155, № 2. – С. 204–209.
3. 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, Г.А. Шафеев, С.А. Хотимченко // Медицинская радиология и радиационная безопасность. – 2012. – Т. 57, № 3. – С. 5–12.
4. Маянский А.Н., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге / под ред. В.П. Казначеева. – Новосибирск: Наука. Сиб. отделение, 1983. – 256 с.
5. Развитие системы оценки безопасности и контроля наноматериалов и нанотехнологий в Российской Федерации / Г.Г. Онищенко, В.А. Тутельян, И.В. Гмошинский, С.А. Хотимченко // Гигиена и санитария. – 2013. – № 1. – С. 4–11.
6. Токсиколого-гигиеническая характеристика наночастиц серебра, вводимых в желудочно-кишечный тракт крыс / А.А. Шумакова, В.В. Смирнова, О.Н. Тананова, Э.Н. Трушина, Л.В. Кравченко, И.В. Аксенов, А.В. Селифанов, Х.С. Сото, Г.Г. Кузнецова, А.В. Булахов, И.В. Сафенкова, И.В. Гмошинский, С.А. Хотимченко // Вопросы питания. – 2011. – Т. 80, № 6. – С. 9–18.
7. Bioaccumulation of silver and gold nanoparticles in organs and tissues of rats studied by neutron activation analysis / Yu.P. Buzulukov, E.A. Arianova, V.F. Demin, I.V. Safenkova, I.V. Gmshinski, V.A. Tutelyan // Biology Bulletin. – 2014. – Vol. 41, № 3. – P. 255–263.
8. Biopersistence of silver nanoparticles in tissues from Sprague–Dawley rats / J.H. Lee, Y.S. Kim, K.S. Song, H.R. Ryu, J.H. Sung, J.D. Park, H.M. Park, N.W. Song, B.S. Shin, D. Marshak, K. Ahn, J.E. Lee, I.J. Yu // Part. Fibre Toxicol. – 2013. Vol. 10, № 36 [Электронный ресурс]. – URL: <http://www.particleandfibre-toxicology.com/content/10/1/36> (дата обращения: 19.05.2015).
9. Characterization of particle emissions and fate of nanomaterials during incineration / E.P. Vejerano, E.C. Leon, A.L. Holder, L.C. Marr // Environ. Sci.: Nano. – 2014. – Vol. 1, № 2. – P. 133–143.
10. Combined repeated-dose toxicity study of silver nanoparticles with the reproduction/developmental toxicity screening test / J.S. Hong, S. Kim, S.H. Lee, E. Jo, B. Lee, J. Yoon, I.C. Eom, H.M. Kim, P. Kim, K. Choi, M.Y. Lee, Y.R. Seo, Y. Kim, Y. Lee, J. Choi, K. Park // Nanotoxicology. – 2014. – Vol. 8, № 4. – P. 349–362.

11. Distribution, elimination, and toxicity of silver nanoparticles and silver ions in rats after 28-day oral exposure / M. Van der Zande, R.J. Vandebriel, E.V. Doren, E. Kramer, Z.H. Rivera, C.S. SerranoRojero, E.R. Gremmer, J. Mast, R.J.B. Peters, P.C.H. Hollman, P.J.M. Hendriksen, H.J.P. Marvin, A.A.C.M. Peijnenburg, Y. Bouwmeester // *ACS Nano*. – 2012. – Vol. 6, № 8. – P. 7427–7442.
12. Estimation of cumulative aquatic exposure and risk due to silver: contribution of nano-functionalized plastics and textiles / S.A. Blaser, M. Scheringer, M. MacLeod, K. Hungerbühler // *Sci. Total Environ.* – 2008. – Vol. 390, № 2–3. – P. 396–409.
13. Guide for the care and use of laboratory animals. Eighth Edition / Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals; Institute for Laboratory Animal Research (ILAR); Division on Earth and Life Studies (DELS); National Research Council of the national academies. – Washington: The national academies press, 2011.
14. Lapresta-Fernández A., Fernández A., Blasco J. Nanoecotoxicity effects of engineered silver and gold nanoparticles in aquatic organisms // *Trends Anal. Chem.* – 2012. – Vol. 32, № 2. – P. 40–59.
15. Marambio-Jones C., Hoek E.M.V. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment // *J. Nanopart. Res.* – 2010. – Vol. 12, № 5. – P. 1531–1551.
16. Modeling interorgan distribution and bioaccumulation of engineered nanoparticles (using the example of silver nanoparticles) / V.A. Demin, I.V. Gmshinsky, V.F. Demin, A.A. Anciferova, Yu.P. Buzulukov, S.A. Khotimchenko, V.A. Tutelyan // *Nanotechnologies in Russia*. – 2015. – Vol. 10, № 3–4. – P. 288–296.
17. Negligible Particle-Specific Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles / Z.M. Xiu, Q.B. Zhang, H.L. Puppala, V.L. Colvin, P.J.J. Alvarez // *Nano Lett.* – 2012. – Vol. 12, № 8. – P. 4271–4275.
18. Repeated-dose toxicity and inflammatory responses in mice by oral administration of silver nanoparticles / E.J. Park, E. Bae, J. Yi, Y. Kim, K. Choi, S.H. Lee, J. Yoon, B.C. Lee, K. Park // *Environ. Toxicol. Pharmacol.* – 2010. – Vol. 30, № 2. – P. 162–168.
19. Savage N., Diallo M.S. Nanomaterials and water purification: opportunities and challenges // *J. Nanopart. Res.* – 2005. – Vol. 7, № 4–5. – P. 331–342.
20. Silver nanoparticles: behaviour and effects in the aquatic environment / J. Fabrega, S.N. Luoma, C.R. Tyler, T.S. Galloway, J.R. Lead // *Environ. Int.* – 2011. – Vol. 37, № 2. – P. 517–531.
21. The effect of TiO₂ and Ag nanoparticles on reproduction and development of *Drosophila melanogaster* and CD-1 mice / N.A. Philbrook, L.M. Winn, A.R. Afrooz, N.B. Saleh, V.K. Walker // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2011. – Vol. 257, № 3. – P. 429–436.
22. Toxicological studies on silver nanoparticles: challenges and opportunities in assessment, monitoring and imaging / M.C. Stensberg, Q. Wei, E.S. McLamore, D.M. Porterfield, A. Wei, M.S. Sepúlveda // *Nanomedicine (Lond)*. – 2011. – Vol. 6, № 5. – P. 879–898.
23. Twenty-eight-day oral toxicity, genotoxicity, and gender-related tissue distribution of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats / Y.S. Kim, J.S. Kim, H.S. Cho, D.S. Rha, J.M. Kim, J.D. Park, B.S. Choi, R. Lim, H.K. Chang, Y.H. Chung, I.H. Kwon, J. Jeong, B.S. Han, I.J. Yu // *Inhal. Toxicol.* – 2008. – Vol. 20, № 6. – P. 575–583.

References

1. Buresh Ja., Bureshova O., Hyuston D.P. Metodiki i osnovnye jeksperimenty po izucheniju mozga i povedenija [Techniques and basic experiments on the brain and behavior]. Moscow: Vysshaja Shkola, 1991, 268 p. (in Russian)
3. Buzulukov Ju.P., Gmshinskiy I.V., Raspopov R.V., Demin V.F., Solovyev V.Ju., Kuzmin P.G., Shafeev G.A., Hotimchenko S.A. Izuchenie absorbcii i bioraspredelenija nanochastich nekotorykh neorganicheskikh veshhestv, vvodimykh v zheludochno-kishechnyj trakt krysa, s ispol'zovaniem metoda radioaktivnykh indikatorov [Study of biodistribution of nanoparticles and absorption of some inorganic substances introduced into the gastrointestinal tract of rats using the method of radiotracer]. *Medicinskaja radiologija i radiacionnaja bezopasnost'*, 2012, vol. 57, no. 3, pp. 5–12. (in Russian)
4. Mayanskiy A.N., Mayanskiy D.N. Ocherki o nejtrofile i makrofage [Essays on neutrophils and macrophages]. Edit by V.P. Kaznacheev. Novosibirsk: Nauka. Sib. otdelenie, 1983, 256 p. (in Russian)
5. Onishhenko G.G., Tutel'jan V.A., Gmshinskij I.V., Hotimchenko S.A. Razvitie sistemy ocenki bezopasnosti i kontrolja nanomaterialov i nanotehnologij v Rossijskoj Federacii [Development of the safety assessment and control of nanomaterials and nanotechnology in the Russian Federation]. *Gigiena i sanitarija*, 2013, no. 1, pp. 4–11. (in Russian)
6. Shumakova A.A., Smirnova V.V., Tananova O.N., Trushina Je.N., Kravchenko L.V., Aksenov I.V., Selifanov A.V., Soto H.S., Kuznecova G.G., Bulahov A.V., Safenkova I.V., Gmshinskij I.V., Hotimchenko S.A. Toksikologo-gigienicheskaja karakteristika nanochastich srebra, vvodimykh v zheludochno-kishechnyj trakt krysa [Toxicological-hygienic characteristic of silver nanoparticles introduced into the gastrointestinal tract of rats]. *Voprosy pitaniya*, 2011, vol. 80, no. 6, pp. 9–18. (in Russian)

7. Buzulukov Yu.P., Arianova E.A., Demin V.F., Safenkova I.V., Gmshinski I.V., Tutelyan V.A. Bioaccumulation of silver and gold nanoparticles in organs and tissues of rats studied by neutron activation analysis [Bioaccumulation of silver and gold nanoparticles in organs and tissues of rats studied by neutron activation analysis]. *Biology Bulletin*, 2014, vol. 41, no. 3, pp. 255–263. (in Russian)
8. Lee J.H., Kim Y.S., Song K.S. and etc. Biopersistence of silver nanoparticles in tissues from Sprague–Dawley rats. *Part. Fibre Toxicol*, 2013, vol. 10, no. 36. Available at: <http://www.particleandfibretoxicology.com/content/10/1/36>.
9. Vejerano E.P., Leon E.C., Holder A.L., Marr L.C. Characterization of particle emissions and fate of nanomaterials during incineration. *Environ. Sci.: Nano*, 2014, vol. 1, no. 2, pp. 133–143.
10. Hong J.S., Kim S., Lee S.H. and etc. Combined repeated-dose toxicity study of silver nanoparticles with the reproduction/developmental toxicity screening test. *Nanotoxicology*, 2014, vol. 8, no. 4, pp. 349–362.
11. Van der Zande M., Vandebriel R.J., Doren E.V. and etc. Distribution, elimination, and toxicity of silver nanoparticles and silver ions in rats after 28-day oral exposure. *ACS Nano*, 2012, vol. 6, no. 8, pp. 7427–7442.
12. Blaser S.A., Scheringer M., MacLeod M., Hungerbühler K. Estimation of cumulative aquatic exposure and risk due to silver: contribution of nano-functionalized plastics and textiles [Estimation of cumulative aquatic exposure and risk due to silver: contribution of nano-functionalized plastics and textiles]. *Sci. Total Environ*, 2008, vol. 390, no. 2–3, pp. 396–409. (in Russian)
13. *Guide for the care and use of laboratory animals*. Eighth Edition. Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals; Institute for Laboratory Animal Research (ILAR); Division on Earth and Life Studies (DELS); National Research Council of the national academies. Washington: The national academies press, 2011.
14. Lapresta-Fernández A., Fernández A., Blasco J. Nanoecotoxicity effects of engineered silver and gold nanoparticles in aquatic organisms. *Trends Anal. Chem.*, 2012, vol. 32, no. 2, pp. 40–59.
15. Marambio-Jones C., Hoek E.M.V. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. *J. Nanopart. Res.* 2010, vol. 12, no. 5, pp. 1531–1551.
16. Demin V.A., Gmshinsky I.V., Demin V.F., Anciferova A.A., Buzulukov Yu.P., Khotimchenko S.A., Tutelyan V.A. Modeling interorgan distribution and bioaccumulation of engineered nanoparticles (using the example of silver nanoparticles) [Modeling interorgan distribution and bioaccumulation of engineered nanoparticles (using the example of silver nanoparticles)]. *Nanotechnologies in Russia*, 2015, vol. 10, no. 3–4, pp. 288–296. (in Russian)
17. Xiu Z.M., Zhang Q.B., Puppala H.L., Colvin V.L., Alvarez P.J.J. Negligible Particle-Specific Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles. *Nano Lett.*, 2012, vol. 12, no. 8, pp. 4271–4275.
18. Park E.J., Bae E., Yi J. and etc. Repeated-dose toxicity and inflammatory responses in mice by oral administration of silver nanoparticles. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 2010, vol. 30, no. 2, pp. 162–168.
19. Savage N., Diallo M.S. Nanomaterials and water purification: opportunities and challenges. *J. Nanopart. Res.*, 2005, vol. 7, no. 4–5, pp. 331–342.
2. Platonova T.A., Pridvorova S.M., Zherdev A.V., Vasilevskaja L.S., Arianova E.A., Gmshinskij I.V., Hotimchenko S.A., Dzantiev B.B., Popov V.O., Tutel'jan V.A. Identifikacija nanochastich serebra v tkanjah slizistoj obolochki tonkoj kishki, pecheni i slezenki krys metodom prosvechivajushhej jelektronnoj mikroskopii [Identification of silver nanoparticles in the mucosal tissues of the small intestine, liver and spleen of rats by transmission electron microscopy]. *Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny*, 2013, vol. 155, no. 2, pp. 204–209. (in Russian)
20. Fabrega J., Luoma S.N., Tyler C.R., Galloway T.S., Lead JR. Silver nanoparticles: behaviour and effects in the aquatic environment. *Environ. Int.*, 2011, vol. 37, no. 2, pp. 517–531.
21. Philbrook N.A., Winn L.M., Afrooz A.R., Saleh N.B., Walker V.K. The effect of TiO₂ and Ag nanoparticles on reproduction and development of *Drosophila melanogaster* and CD-1 mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2011, vol. 257, no. 3, pp. 429–436.
22. Stensberg M.C., Wei Q., McLamore E.S., Porterfield D.M., Wei A., Sepúlveda M.S. Toxicological studies on silver nanoparticles: challenges and opportunities in assessment, monitoring and imaging. *Nanomedicine (Lond)*, 2011, vol. 6, no. 5, pp. 879–898.
23. Kim Y.S., Kim J.S., Cho H.S. and etc. Twenty-eight-day oral toxicity, genotoxicity, and gender-related tissue distribution of silver nanoparticles in Sprague–Dawley rats. *Inhal. Toxicol.*, 2008, vol. 20, no. 6, pp. 575–583.

TOXICOLOGICAL EVALUATION OF NANO-SIZED COLLOIDAL SILVER IN EXPERIMENTS ON MICE. BEHAVIORAL REACTIONS, MORPHOLOGY OF INTERNALS

N.V. Zaitseva¹, M.A. Zemlyanova¹, V.N. Zvezdin¹, A.A. Dovbysh¹, T.I. Akafyeva², I.V. Gmshinski³, S.A. Khotimchenko³

¹FSBI "FNTS health-care technology risk management to public health", Russian Federation, Perm, 82 Monastyrskaya St., 614045

²Perm State National research university, Russian Federation, Perm, 15 Bukireva St., 614990

³FSBI "Institute of Nutrition", Russian Federation, Moscow, 2/14 Ustinsky Passage, 109240

The results of toxicity studies of nano-sized colloidal silver (NCC), the most widely used in medicine, food and life, are given. When evaluating safe doses of silver NP (using commercially available NCC solution stabilized with polyvinylpyrrolidone (PVP), with the size of silver NP at the range of 5-80 nm) when orally administered to male mice, BALB/c mice at doses of 0.1; 1.0 and 10 mg/kg of body weight per silver different effects from the motor and orienting-exploratory activity were revealed, for the part of them the dependence on the dose of the NCC was typical. The following peculiarities were found: reduction in motor activity to reduce the frequency of activities requiring physical effort, reduction of the execution time of these actions; increasing anxiety in terms of frequency and duration of attacks of orienting-investigative activity and animals washing. Morphological examination revealed a series of tissue changes of internal organs (especially liver and spleen, to a lesser extent – kidney, heart and colon) with increase of the spectrum and severity of structural changes with increasing doses of the NCC. From the combination of the data the conclusion was made that maximal ineffective dose (NOAEL) of this nanomaterial at subacute oral administration is no more than 0.1 mg/kg body weight.

Key words: silver nanoparticles, toxicity, morphology, behavior reactions

© Zaitseva N.V., Zemlyanova M.A., Zvezdin V.N., Dovbysh A.A., Akafyeva T.I., Gmshinski I.V., Khotimchenko S.A., 2015

Zaitseva Nina Vladimirovna – Academician, Doctor of Medicine, Professor; Director (e-mail: znv@fcrisk.ru; tel.: 8 (342) 237-25-34).

Zemlyanova Marina Aleksandrovna – Doctor of Medicine, Head of the Department of Biochemical and Cytogenetic Diagnostic Methods; Professor of the Department of Human Ecology and Life Safety (e-mail: zem @ fcrisk. ru; tel.: 8 (342) 236-39-30).

Zvezdin Vasily Nikolaevich – Candidate of Medicine, Head of the Laboratory of Biochemical and Nanosensor Diagnostics (e-mail: zvezdin@fcrisk.ru; tel.: 8 (342) 236-39-30).

Dovbysh Anastasia Aleksandrovna – Toxicologist at the Laboratory of Metabolism and Pharmacokinetics (e-mail: dovnastja@yandex.ru; tel.: 8 (342) 236-39-30).

Akafyeva Tatiana Igorevna – Master of the Department of Human Ecology and Life Safety (e-mail: akafieva@fcrisk.ru; tel.: 8 (342) 236-39-30).

Gmshinsky Ivan Vsevolodovich – Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher at the Laboratory of Food Toxicology and Safety Assessment of Nanotechnology (e-mail gmosh@ion.ru; tel. +7 (495) 698-53-71).

Khotimchenko Sergey Anatolievich – Doctor of Medicine, Head of the Laboratory of Food Toxicology and Safety Assessment of Nanotechnology (e-mail hotimchenko@ion.ru; tel. +7 (495) 698-52-35).