

УДК 502.084 :615.9

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ИССЛЕДОВАНИЯ ТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ НАНОМАТЕРИАЛОВ В ЭКСПЕРИМЕНТАХ IN VIVO И IN VITRO

О.А. Гуськова^{1,2}, Н.В. Завьялов²,
Е.Л. Скворцова², Х.Х. Хамидулина^{1,3}

¹ГБОУ ДПО РМАПО Министерства здравоохранения
Российской Федерации, 123995, г. Москва,
Российская Федерация

²ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе
Москве», 129626, г. Москва, Российская Федерация

³ФБУЗ «Российский регистр потенциально
опасных химических и биологических веществ»
Роспотребнадзора, 117105, г. Москва, Российская
Федерация

Вданной работе представлены результаты изучения общетоксического и раздражающего действия наноразмерных частиц серебра, цинка и титана диоксида в экспериментах на животных и альтернативных моделях (сперма КРС, бактерии «Эколюм» и сосуды ХАО куриного эмбриона). Обоснована эффективность использования высокочувствительных альтернативных моделей для скрининговой оценки общетоксического и раздражающего действия на предварительном этапе токсиколого-гигиенических исследований наносодержащей продукции.

Ключевые слова: альтернативные токсикологические модели, наноразмерные частицы, сперма КРС, бактерии «Эколюм», сосуды ХАО куриного эмбриона.

Введение. Количество промышленно производимых наноматериалов (НМ) и наносодержащей продукции ежегодно существенно увеличивается, области применения НМ в современной науке и технике чрезвычайно разнообразны [1,2,3]. Преобладающее место в структуре потребительской продукции наноиндустрии занимает косметическая продукция – 73%; пищевая продукция и упаковка для пищевых продуктов – 10%; строительные материалы и бытовая химия – 8%; медицинские изделия – 2% [4].

В соответствии с «Концепцией токсикологических исследований, методологии оценки риска, методов идентификации и количественного определения наноматериалов», утверждённой Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 31 октября 2007 г. N 79 перед Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека стоит

чрезвычайно важная задача по безопасному регулированию НМ и наносодержащей продукции, обращающейся на территории РФ и других стран ЕврАзЭС.

Необходимость в короткие сроки оценки опасности для здоровья человека ежегодно увеличивающейся номенклатуры промышленно производимых НМ и наносодержащей продукции, предназначенной для широкого использования всеми категориями населения, затрудняет использование классических токсикологических методов исследования *in vivo*, требующих значительных временных, трудовых затрат и больших материальных ресурсов. В связи с этим возникает проблема выбора среди разнообразных методов *in vitro* таких, которые были бы наиболее информативны, стандартизованы, имели объективную количественную оценку результатов и хорошо коррелировали с данными, полученными на животных. *Целью настоя-*

Гуськова Оксана Альбертовна (Guskova Oksana Albertovna), аспирант кафедры общей и коммунальной гигиены, гигиены питания и медицины труда ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава РФ, г. Москва, hitrovanka@rambler.ru

Завьялов Николай Всеволодович (Zavyalov Nikolay Vsevolodovich), кандидат медицинских наук, зав. отделом профилактической токсикологии и санитарно-эпидемиологической экспертизы непродовольственной продукции ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Москве», г. Москва, nik-zav@mail.ru

Скворцова Екатерина Львовна (Skvorcova Ekaterina Lvovna), кандидат медицинских наук, зав. отделением санитарно-токсикологической и гигиенической экспертизы ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Москве», г. Москва, hitrovanka@rambler.ru

Хамидулина Халида Хизбулаевна (Khamidulina Khalidia Khizbulaevna), доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой общей, коммунальной гигиены, медицины труда и гигиены питания ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России, директор ФБУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора, г. Москва, khalidiya@yandex.ru

щего исследования являлась сравнительная оценка эффективности экспресс-методов исследования токсических свойств наноматериалов для выбора наиболее чувствительных тест-методов.

Материалы и методы исследования. Объектами исследования являлись наноразмерные частицы металлического серебра (Ag-бион-2), цинка в водном растворе крахмала Zn WDx и порошка титана диоксида (TiO_2), по данным просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ), рентгеновской дифрактометрии (XRD) и лазерной гранулометрии средний размер (гидродинамический диаметр) которых составлял 10 нм, 24 нм и 20 нм, соответственно. Предмет исследования – токсикологические методы исследования опасных свойств НМ в опытах *in vitro* и *in vivo*. В работе использован комплекс экспериментальных токсикологических (клинических, физиологических, патоморфологических, цитотоксических, физических), статистических, аналитических и библиографических методов исследований. Исследования проведены на базе ИЛЦ ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Москве» в соответствии с требованиями стандарта ISO/IEC 17025:2005 (DIN EN ISO 17025:2005, ГОСТ Р ИСО/МЭК 17025-2006) и «Правил лабораторной практики» (Приказ Минздравсоцразвития РФ от 23 августа 2010 г. №708н).

Общетоксическое действие на экспериментальных животных изучали комплексно (табл. 1) по клиническим, физиологическим и патоморфологическим показателям при однократном внутрижелудочном введении, в соответствии с МУ 1.2.2520-09. Опыты проводились на нелинейных мышах, отдельно самцах и самках (240 животных).

Местные воспалительные реакции изучали с помощью накожных аппликаций и конъюнктивальной пробы (МУ 1.2.2635-10). При исследовании использовали молодых морских свинок светлой масти обоих полов (80 животных) и кроликов альбиносов одной масти обоих полов (40 животных).

В целях определения возможности использования экспресс-методов *in vitro* для изучения общетоксического действия наноразмерных частиц проводили токсикологические исследования на сперме крупного рогатого скота (КРС) (ГОСТ 26030-83) и фотобактериях «Эколюм» (ТУ 6-09-20-236-01) в соответствии с МУ 1.1.037-95, МУ 1.2.2634-10. Токсическое действие оценивали по величине индекса токсичности (It и T) на основе параметров функционального состояния тест-объектов (двигательная активность сперматозоидов, интенсивность биолюминесценции бактерий «Эколюм»). Для установления характера и степени выраженности раздражающего действия наноразмерных частиц на слизистые оболочки использовали альтернативную модель – сосуды хориоаллантоисной оболочки (ХАО) 10-дневных куриных эмбрионов кур породы белый леггорн (МУ 1.2.0025-11). С помощью программы Minimax Dopler v.1.7. автоматически вычислялись количественные параметры скорости кровотока: линейная скорость кровотока V_s (см/сек), объёмная скорость кровотока Q_s (мл/сек), средневзвешенная скорость кровотока по кривой средней скорости V_{am} (см/сек). По изменению линейной скорости кровотока (X) контрольной и опытной проб оценивали местно раздражающее действие.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программ Excel, Probit

Таблица 1

Показатели оценки общетоксического действия наноразмерных частиц на организм лабораторных животных

Клинические показатели	Определение DL_{50} мг/кг; гибель животных и признаки интоксикации; наличие и характер судорог
Физиологические показатели	Общее состояние животных (внешний вид, поведение, двигательная активность, состояние шерстного покрова, потребление корма и воды, частота мочеиспускания, динамика массы тела)
Патоморфологические показатели	Макроскопические исследования: коэффициенты массы внутренних органов (печень, почки, селезенка, надпочечники)

Analys, Statistica. Величины параметров токсикометрии определяли методом наименьших квадратов с помощью программы внутрилабораторного контроля Q Control v. 5. Достоверность различий определяли по критерию Манна-Уитни и t – тесту Стьюдента. Различия между группами признавали достоверными при уровне значимости $P < 0,05$.

Результаты и обсуждение. В условиях данного эксперимента, несмотря на отсутствие летальности при однократном внутрижелудочном введении наноразмерных частиц серебра в дозе 5000 мг/кг, при оценке физиологических показателей были отмечены признаки общетоксического действия в виде изменения двигательной активности животных подопытной группы ($P < 0,05$), которые проявлялись в снижении вертикальной двигательной активности по сравнению с контролем (табл.2).

По остальным признакам: внешнему виду, состоянию шерстного покрова, потреблению корма и воды, частоте мочеиспусканий и динамике массы тела за весь наблюдаемый период статистически значимых различий между опытом и контролем не было выявлено ($P > 0,05$). Проведенные исследования позволяют предположить, что наиболее чувствительным органом при воздействии наноразмерных частиц серебра является центральная нервная система. Подтверждением этому являются данные о признаках оксидантного стресса клеток головного мозга при остром внутрижелудочном воздействии наноразмерных частиц серебра в дозе 1000 мг/кг в результате их проникновения через гемато-энцефалический барьер [5]. Следует отметить, что в литературе имеется информация о проявлении общетоксического действия на-

норазмерных частиц серебра при введении ещё более низких доз: 90 мг/кг [6] и 5 мг/л [7], но в условиях субхронических и хронических экспериментов.

В результате изучения общетоксического действия в опытах *in vitro* было выявлено, что наноразмерные частицы серебра оказывают дозозависимое действие на фотобактерии «Эколюм» и сперму КРС. Действующие концентрации $1 \cdot 10^{-1}$ г/л, $1 \cdot 10^{-2}$ г/л, $1 \cdot 10^{-3}$ г/л, $1 \cdot 10^{-4}$ г/л вызывали тушение свечения биосенсора (рис. 1) и снижали подвижность сперматозоидов (рис. 2), что указывает на высокую чувствительность используемых моделей.

Для удобства сравнительной оценки общетоксического действия в экспериментах *in vivo* и *in vitro* величины доз и концентраций, оказывающих токсическое воздействие, были приведены к единообразным показателям (табл. 3). Как показывает сравнительный анализ (табл.3), признаки общетоксического действия наноразмерных частиц серебра в опытах *in vivo* отмечались в дозах 30-150 мг/животное при изучении острой токсичности, в дозе 2,7 мг/животное в опытах по субхронической токсичности [6] и в дозе 0,005 мг/мл при проведении длительных экспериментов на животных [7]. Общетоксическое действие наноразмерных частиц серебра в опытах *in vitro* было выявлено в концентрациях 0,001 и 0,005 мг/мл на одну пробу культуры бактерий «Эколюм» и спермы КРС соответственно (табл. 3), что коррелирует с величинами эффективных токсических концентраций или полученными на клетках человеческого лёгкого [8].

При изучении общетоксического действия наноразмерных частиц цинка в экспериментах *in vivo* было установлено, что при остром

Таблица 2

Показатели поведенческих реакций у исследуемых животных после внутрижелудочного введения наночастиц серебра в дозе 5000 мг/кг

Группы животных	Комплексный метод с интегральной оценкой поведенческих параметров (время измерения 3 минуты)			
	Горизонтальная двигательная активность	Вертикальная двигательная активность	«Норковый рефлекс»	Интегральная активность
Опыт	29,2±2,3	13,3±2,1*	12,2±1,3	54,8±1,8*
Контроль	32,1±1,7	18,9±1,2	13,2±1,0	64,9±2,4

*- достоверные различия $P < 0,05$

воздействию доза 5000 мг/кг не оказывает общетоксического эффекта и не вызывает признаков интоксикации и патоморфологических нарушений. Вместе с тем, в литературе имеются сведения о проявлении общетоксического действия наноразмерных частиц цинка при введении более низкой дозы 500 мг/кг (15 мг/ на одно животное) в исследованиях субхронической токсичности [9]. При изучении общетоксического действия в опытах *in vitro* было выявлено, что наноразмерные частицы цинка оказывают дозозависимое действие на альтернативные модели фотобактерий «Эколюм» и спермы КРС. Действующие концентрации $2 \cdot 10^{-3}$ г/л, $3 \cdot 10^{-3}$ г/л, $4 \cdot 10^{-3}$ г/л, $5 \cdot 10^{-3}$ г/л вызвали тушение свечения биосенсора и снижали подвижность сперматозоидов в концентрации 20 г/л, 30 г/л, 40 г/л, 50 г/л. Токсическая концентрация наноразмерных частиц цинка для альтернативной модели фотобактерий «Эколюм» составила 0,005 мг/мл на одну пробу культуры, а для модели спермы КРС – 20 мг/мл на одну пробу сперматозоидов (табл. 3), что указывает на более высокую чувствительность альтернативной модели фотобактерий «Эколюм». О репрезентативности полученных результатов свидетельствует тот факт, что аналогичные токсические концентрации были получены и на пневмоцитах человека [8].

Изучение общетоксического действия наноразмерных частиц титана диоксида при однократном внутрежелудочном введении показало, что доза 5000 мг/кг не вызывает эффекта: отсутствуют признаки интоксикации и патоморфологических нарушений. Тем не менее, в литературе имеются сведения о признаках общетоксического действия наноразмерных частиц титана диоксида, вызванных более низкими концентрациями в субхронических и хронических экспериментах: 500 мг/кг (15 мг/ на одно животное) [9], 200 мг/кг (10 мг/ на одно животное) [10] и 10 мг/кг (0,3 мг/ на одно животное) [11].

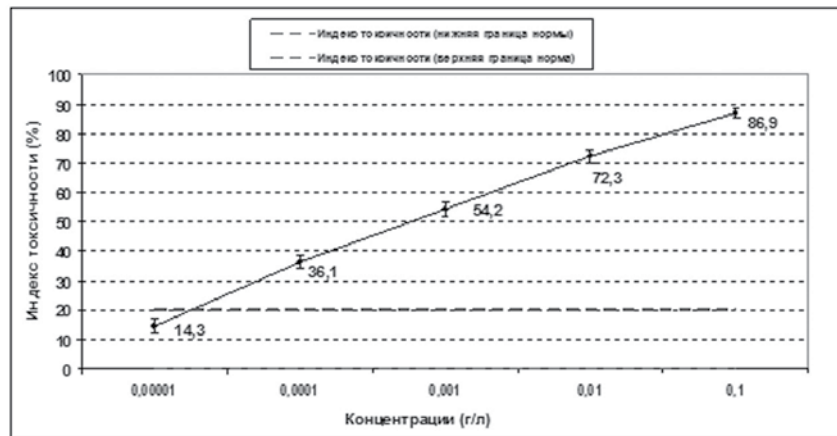


Рис. 1. Изменение индекса токсичности при исследовании общетоксического действия наноразмерных частиц серебра на альтернативной модели фотобактерий «Эколюм».

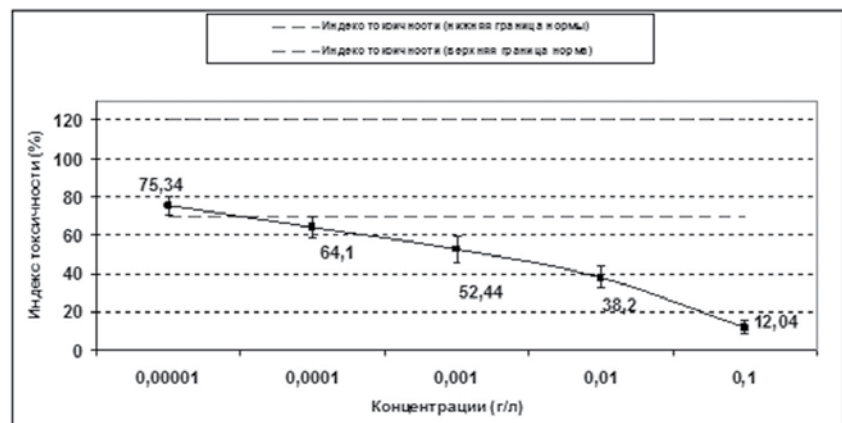


Рис. 2. Изменение индекса токсичности при исследовании общетоксического действия наноразмерных частиц серебра на альтернативной модели спермы КРС.

При изучении общетоксического действия в опытах *in vitro* было выявлено, что наноразмерные частицы титана диоксида оказывают дозозависимое действие только на альтернативную модель фотобактерии «Эколюм» в концентрациях $2,5 \cdot 10^{-1}$ г/л; 2,5 г/л; 25 г/л и 250 г/л, вызывая тушение свечения биосенсора по сравнению с контролем. Токсическая концентрация наноразмерных частиц титана диоксида составила 0,2 мг/мл на одну пробу фотобактерий «Эколюм». Полученные результаты аналогичны величинам токсических концентраций полученных на других клеточных объектах: лимфоцитах периферической крови, макрофагах, эпителиальных клетках дыхательных путей и кишечника человека [Demir. E., et al. 2013; Tilton. S.C. et al. 2014]. Наноразмерные частицы титана не оказывали общетоксического действия на альтернативную модель спермы

КРС в концентрациях 250 г/л, 300 г/л, 400 г/л, индекс токсичности находился в нормативном интервале (70-120%).

Следует отметить, что исследования по изучению общетоксического действия наноразмерных частиц серебра, цинка и титана диоксида в длительных субхронических и хронических экспериментах на животных проводились с привлечением высокотехнологического оборудования, которое в обычной практике при проведении санитарно-эпидемиологической экспертизы не применяется в виду отсутствия возможности оснащения испытательных лабораторных центров таким дорогостоящим оборудованием и ограниченностью сроков проведения экспертизы (не более 1 месяца). При этом, как показали результаты исследований, чувствительность используемых в работе методов *in vivo* не позволяет выявить токсическое действие в острых опытах, так как для этого необхо-

димо использование высокотехнологического оборудования, тогда как чувствительность методов *in vitro* способна выявить токсический эффект даже в острых опытах.

Результаты исследований показали высокую чувствительность альтернативных моделей и их способность в остром опыте улавливать токсический эффект тех доз, которые вызывают подобный эффект у животных лишь в условиях длительных экспериментов и требуют использования высокочувствительного специального оборудования. Этот факт чрезвычайно важен, так как использование альтернативных методов позволит получить скрининговую оценку токсичности исследуемых НМ или наносодержащей продукции, что очень актуально в условиях нарастающих объемов токсикологической экспертизы. [1]

При изучении раздражающего действия в экспериментах *in vivo* было выявлено, что на-

Таблица 3

Сравнительная оценка общетоксического действия наноразмерных частиц серебра, цинка и титана диоксида в экспериментах *in vivo* и *in vitro* (* результаты собственных исследований)

Вид исследования	Наноразмерные частицы		
	Ag	Zn	TiO ₂
Эксперименты <i>in vivo</i> (Животные)	Острая токсичность (14 дней) 150 мг/ животное (5000 мг/кг) DL ₅₀ >5000 мг/кг изменение двигательной активности животных*	Острая токсичность (14 дней) 150 мг/ животное (5000 мг/ кг) DL ₅₀ >5000 мг/кг общетоксическое действие не выявлено*	Острая токсичность (14 дней) 150 мг/ животное (5000 мг/ кг) DL ₅₀ >5000 мг/кг общетоксическое действие не выявлено*
	Острая токсичность (14 дней) 30 мг/ животное (1000 мг/кг) [Rahman M.F. et al., 2009] Субхроническая токсичность(28 дней) 2,7 мг/животное (90 мг/кг) [van der Zande M. et al., 2012] Хроническая токсичность (6 месяцев) 0,005 мг/мл (5 мг/л) [Рахманин Ю.А и др., 2014]	Субхроническая токсичность(28 дней) 15 мг/животное (500 мг/кг) [Shrivastava R., et al., 2014] [Jo E., et al., 2013]	Субхроническая токсичность(28 дней) 15 мг/животное (500 мг/кг) [Shrivastava R., et al., 2014] 10 мг/животное (200 мг/кг) [Wang Y., et al., 2013] Хроническая токсичность (90 дней) 0,3 мг/животное (10 мг/кг) [Gui S., et al., 2013]
Эксперименты <i>in vitro</i> (Альтернативные модели)	0,005 мг/мл (2 дня) на одну пробу спермы* 0,001 мг/мл (1 день) на одну пробу бактерий*	20 мг/мл (2 дня) на одну пробу спермы* 0,005 мг/мл (1 день) на одну пробу бактерий*	0,2 мг/мл (1 день) на одну пробу бактерий*
	0,002-0,005 мг/мл (1-2 дня) на клеточных культурах [Gluga A. R, et al., 2013]	0,005 мг/мл (1-2 дня) на культуре пневмоцитов [Gluga A. R., et al., 2013]	0,2 мг/мл (1-2 дня) на клеточных культурах [Demir. E., et al., 2013]

Таблица 4

Изменение линейной скорости кровотока X (%) при воздействии наноразмерных частиц серебра, цинка и титана диоксида на сосуды ХАО куриного эмбриона

Исследуемые группы	Изменение линейной скорости кровотока X (%)
НЧ металлического серебра (Agбион-2) (50 г/л)	16,4 (σ4,48)*
НЧ цинка в водном растворе крахмала Zn WDx (нативный раствор)	3,4 (σ 2,1)
НЧ титана диоксид (250 г/л)	4,0 (σ 2,0)
Контроль негативный	0,05 (σ 0,06)
Контроль позитивный	40,7 (σ 1,2)*

*- достоверные различия $P < 0,05$

норазмерные частицы серебра не оказывают раздражающего действия на кожные покровы, но умеренно раздражают слизистые оболочки. Уже через 1 час после внесения в конъюнктивный мешок глаза кролика раствора наноразмерных частиц серебра в концентрации 50 г/л отмечались гиперемия конъюнктивы глаза, которая оценивалась в 2 балла (отдельные сосуды трудно различимы), отёк века - 1 балл (слабый) и наличие выделений - 1 балл (минимальные, в углу глаза). Общая суммарная оценка раздражающего действия на слизистую глаз составила 4 балла, что позволяет отнести НЧ серебра к умеренно раздражающим веществам. Способность наноразмерных частиц серебра раздражать слизистые оболочки была подтверждена исследованиями в опытах *in vitro* на сосудах ХАО куриного эмбриона (табл. 4). Об этом свидетельствует изменение линейной скорости кровотока (X) на 16,4% ($P < 0,05$). Результаты исследований однократного раздражающего действия НЧ цинка (нативный раствор) и НЧ титана диоксида (250г/л) не выявили повреждающего действия на слизистые оболочки. Такие признаки раздражения как гиперемия конъюнктивы и роговицы, отёк век и выделения не отмечались ни через 15 минут после воздействия (быстрая реакция), ни через 24-48 часов (гиперчувствительность замедленного типа), ни по окончании периода наблюдения (14 дней). Отсутствие раздражающего действия на слизистые оболочки было подтверждено исследованиями в опытах *in vitro* на сосудах ХАО куриного эмбриона (табл.4).

Выводы. 1. Установлено совпадение результатов изучения общетоксического и раздра-

жающего действия наноразмерных частиц серебра, цинка и титана диоксида, полученных в классических токсикологических экспериментах на животных и альтернативных моделях *in vitro*, что свидетельствует о возможности использования альтернативных методов в качестве скрининговой оценки общетоксического и раздражающего действия на предварительном этапе токсиколого-гигиенических исследований наносодержащей продукции.

2. Выявлена высокая чувствительность альтернативных моделей и их способность в остром эксперименте улавливать токсический эффект доз, вызывающих подобный общетоксический эффект у животных лишь в условиях длительных экспериментов. При изучении общетоксического действия токсичные концентрации для бактерий «Эколюм» и спермы КРС соответственно составили: при воздействии наноразмерных частиц серебра 0,001 мг/мл и 0,005 мг/мл; наноразмерных частиц цинка 0,005 мг/мл и 20 мг/мл; наноразмерных частиц титана диоксида - 0,2 мг/мл для бактерий «Эколюм».

3. Выявлено, что среди используемых альтернативных тест-объектов наиболее чувствительным по отношению к изучаемым веществам оказалась модель фотобактерий «Эколюм», что, прежде всего, связано с высокой бактерицидной активностью наноразмерных частиц серебра и цинка.

4. Установлено, что однократное внутрижелудочное введение наноразмерных частиц серебра в дозе 5000 мг/кг оказывает токсическое действие на центральную нервную систему, проявляющееся изменением двигательной

активности животных ($P < 0,05$).

5. Выявлено, что наиболее выраженное общетоксическое и раздражающее действие на альтернативные модели оказывают наноразмерные частицы серебра, в меньшей степени

наноразмерные частицы цинка и титана диоксида, что коррелирует с экспериментальными данными, полученными в опытах на животных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Курляндский Б. А. О нанотехнологии и связанных с нею токсикологических проблемах // Токсикологический вестник.-2007.- №6.- С. 2-4.
 2. Онищенко Г. Г. Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения в условиях расширенного использования наноматериалов и нанотехнологий // Гигиена и санитария.-2010.-№2.- С. 4-7.
 3. Хамидулина Х. Х., Давыдова Ю. О. Международные подходы к оценке токсичности и опасности наночастиц и наноматериалов // Токсикологический

вестник. - 2011. - N 6. - 53с.
 4. Хотимченко С. А., Гмошинский И. В., Казак А. А. и др. Оценка безопасности и риска наноматериалов // Материалы Всерос. научно-практ. конф. Актуальные проблемы безопасности и оценки риска здоровью населения.-2014.- Пермь.- С.70-74.
 5. Rahman M.F., Wang J., Patterson T.A., et al. Expression of genes related to oxidative stress in the mouse brain after exposure to silver-25 nanoparticles // Toxicol. Lett.- 2009.- Vol.187, N 1.- P.15- 21.
 6. van der Zande M. et al. Distribution,

elimination, and toxicity of silver nanoparticles and silverions in rats after 28-day oral exposure. // ACS Nano. 2012 Aug 28;6(8):7427-42.
 7. Рахманин Ю. А., Хрипач Л. В., Михайлова Р. И. и др. Сравнительный анализ влияния нано- и ионной форм серебра на биохимические показатели лабораторных животных // Гигиена и санитария.-2014.- №1.- С.- 45-50.
 8. Gliga A.R., Skoglund S., Wallinder I.O. et al. Size-dependent cytotoxicity of silver nanoparticles in human lung cells: the

role of cellular uptake, agglomeration and Ag release. // Part Fibre Toxicol. 2014 Feb 17;11:11.
 9. Shrivastava R., Raza S., Yadav A. et al. Effects of sub-acute exposure to TiO₂, ZnO and Al₂O₃ nanoparticles on oxidative stress and histological changes in mouse liver and brain. // Drug Chem Toxicol. 2014 Jul;37(3):336-47.
 10. Wang Y., Chen Z., Ba T. et al. Susceptibility of young and adult rats to the oral toxicity of titanium dioxide nanoparticles. // Small. 2013 May 27;9(9-10):1742-52.

REFERENCES:

1. Kurlyanskiy B.A. About nanotechnology and related toxicological problems // Toksikologicheskij vestnik.-2007.- №6.- S. 2-4. (in Russian)
 2. Onishchenko G.G. Ensuring sanitary and epidemiological welfare of the population in conditions of extended use of nanomaterials and nanotechnology // Gigiena i sanitariya.- 2010.-№2.- S.-4-7. (in Russian)
 3. Khamidulina Kh.Kh., Davydova Yu. O. International approaches to evaluating the toxicity and hazards of nanoparticles and nanomaterials // Toksikologicheskij vestnik. - 2011. - N 6. - 53s. (in Russian)

4. Khotimchenko S.A., Gmoshinskiy I.V., Kazak A.A. i dr Assessment of safety and risk of nanomaterials // Materialy Vseros. nauchno-prakt. konf. Aktual'nye problemy bezopasnosti i otsenki riska zdorov'yu naseleniya.-2014.- Perm'. - S.70-74. (in Russian)
 5. Rahman M.F., Wang J., Patterson T.A., et al. Expression of genes related to oxidative stress in the mouse brain after exposure to silver-25 nanoparticles // Toxicol. Lett.- 2009.- Vol.187, N 1.- P.15-21.
 6. van der Zande M. et al. Distribution, elimination, and toxicity of silver

nanoparticles and silverions in rats after 28-day oral exposure. // ACS Nano. 2012 Aug 28;6(8): 7427-42.
 7. Rakhmanin Yu.A., Khrpach L.V., Mikhaylova R.I. i dr A comparative analysis of the impact of nano- and ionic forms of silver on the biochemical parameters of laboratory animals // Gigiena i sanitariya.-2014.- №1.- S.- 45-50. (in Russian)
 8. Gliga A.R., Skoglund S., Wallinder I.O. et al. Size-dependent cytotoxicity of silver nanoparticles in human lung cells: the role of cellular uptake, agglomeration

and Ag release. // Part Fibre Toxicol. 2014 Feb 17;11:11.
 9. Shrivastava R., Raza S., Yadav A. et al. Effects of sub-acute exposure to TiO₂, ZnO and Al₂O₃ nanoparticles on oxidative stress and histological changes in mouse liver and brain. // Drug Chem Toxicol. 2014 Jul; 37(3):336-47.
 10. Wang Y., Chen Z., Ba T. et al. Susceptibility of young and adult rats to the oral toxicity of titanium dioxide nanoparticles. // Small. 2013 May 27;9(9-10): 1742-52.

O.A. Guskova^{1,2}, N.V. Zavyalov², E.L. Skvorcova², Kh.Kh. Khamidulina^{1,3}

COMPARATIVE ASSESSMENT OF INVESTIGATIONS INTO TOXIC PROPERTIES OF NANOMATERIALS IN VIVO AND IN VITRO EXPERIMENTS

¹State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education «Russian Medical Academy for Post-Graduate Education», 123995 Moscow, Russian Federation

²Federal Budgetary Health Institution «Hygienic and Epidemiological Center in the City of Moscow», 129626 Moscow, Russian Federation

³Federal Budgetary Health Institution «Russian Register of Potentially Hazardous Chemical and Biological Substances», Rospotrebnadzor, 117105, Moscow, Russian Federation

The article presents results of studies on general toxic and irritant action of nanoscale particles of silver, zinc and titanium dioxide in experiments on animals and alternative models (livestock sperm, *E. coli* bacteria and vessels of chick embryo chorioallantoic membrane). Efficiency of using high sensitive alternative models is substantiated for screening assessment of general toxic and irritant action at the preliminary stage of general toxicological and irritant action investigations into nanoscale products.

Keywords: alternative toxicological models, nanoscale particles, livestock sperm, *E. coli* bacteria, chick embryo chorioallantoic membrane.

Материал поступил в редакцию 15.12.2014 г.