

УДК 615.015.36 : 546.655

ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ЦЕРИЯ

*Н.В. Ходыкина, Л.П. Точилкина, О.Н. Новикова,
М.С. Срослов, А.Я. Почепцов, Ю.И. Великородная*

Федеральное государственное унитарное предприятие «Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии» Федерального медико-биологического агентства (ФГУП «НИИ ГТП» ФМБА России), 400048, г. Волгоград, Российская Федерация

Изучены резорбтивные эффекты 0,01 М золя нанодиоксида церия при однократном интраперитонеальном введении крысам. Установлено, что острое воздействие наночастиц оказывает на организм дозозависимое общетоксическое действие (снижение массы тела, воспалительные изменения органов брюшной полости, модификация индивидуального поведения, гематологические сдвиги, нарушение регуляции обмена веществ), развивающееся на фоне активации ПОЛ. Прооксидантное действие наночастиц диоксида церия демонстративно проявляется на относительно высоких (80 – 8 мг/кг) уровнях экспозиции. Пороговой по общетоксическому эффекту (Lim_{ch}^{integr}) признана доза 0,8 мг/кг.

Ключевые слова: нанодиоксид церия, крысы, острая токсичность, прооксидантное действие, антиоксидантное действие.

Введение. Термин «наноантиоксиданты», появившийся в отечественной научной литературе немногим более 10 лет назад [1,2], в настоящее время ассоциируется уже с вполне сформировавшейся инновационной фармакологической стратегией поиска потенциальных антиоксидантов среди продуктов нанотехнологий [3,4]. Данный подход представляется несколько парадоксальным, если учесть, что в качестве универсальной основы повреждающего действия наноматериалов (НМ) признаётся разрушительный оксидативный стресс, провоцируемый их прооксидантной активностью [5-7]. Тем не менее, способность проявлять и антиоксидантные свойства подтверждена de facto для наночастиц (НЧ) металлов (золота, платины и даже серебра), оксидов металлов (церия, иттрия, алюминия, марганца), неметаллов (фуллеренов и их производных), органических полимеров и т.д. Некоторым из них антиоксидантная активность присуща per se, другие приобретают её в результате особой функционализации поверхности, третьи служат средствами целевой доставки антиоксидантов к органам-мишеням. В том или ином виде при применении в низких дозах многие НЧ демонстрируют свойства «чистильщиков», нейтрализующих или ослабляющих эффекты свободных радикалов и АФК и смягчающих проявления оксидативного

стресса [8-10]. На этом основании можно полагать, что в будущем НМ, действительно, смогут сформировать новый самостоятельный кластер антиоксидантных препаратов. Для текущего же этапа больше характерно экспансивное накопление релевантной информации в виде результатов скрининговых исследований и пилотных испытаний.

Вместе с тем на фоне обилия исследовательских «эпизодов» отчётливо выделяются работы, отличающиеся преемственностью и аккумулярованием знаний в объёме, достаточном для объективной оценки возможности применения в биологии и медицине. К числу таких НМ с высокой степенью изученности следует отнести, в первую очередь, нанодиоксид церия (SeO_2 , НДЦ).

Наличие дефектов кристаллической решетки («кислородных вакансий»), двух стабильных степеней окисления (Se^{3+} и Se^{4+}) и низкая энергия их образования обуславливают уникальную редокс-активность данного соединения, в том числе его антиоксидантное действие в системах in vitro и in vivo. Наряду с выраженной кислородной нестехиометрией, наночастицы SeO_2 обладают таким достоинством, как способность к быстрой регенерации, которая позволяет им, в отличие от классических антиоксидантов, участвовать во внутриклеточных редокс-реакциях многократно, инактивируя широ-

Ходыкина Нина Владимировна (Khodykina Nina Vladimirovna), кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории лекарственной безопасности ФГУП «НИИ ГТП» ФМБА России, hodykina@rihtop.ru

Точилкина Людмила Петровна (Tochilkina Lyudmila Petrovna), кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, заведующий лабораторией лекарственной безопасности ФГУП «НИИ ГТП» ФМБА России, tochilkina@rihtop.ru

Новикова Ольга Николаевна (Novikova Olga Nikolaevna), кандидат медицинских наук, вед. научный сотрудник лаборатории лекарственной безопасности ФГУП «НИИ ГТП» ФМБА России, novikova@rihtop.ru

Срослов Михаил Сергеевич (Sroslov Mikhail Sergeevich), научный сотрудник лаборатории лекарственной безопасности ФГУП «НИИ ГТП» ФМБА России, SroslovMS@gmail.com

Почепцов Александр Яковлевич (Pochepcov Alexander Yakovlevich), старший научный сотрудник лаборатории патоморфологии ФГУП «НИИ ГТП» ФМБА России, pochepcov@rihtop.ru

Великородная Юлия Ивановна (Velikorodnaya Julia Ivanovna), заведующий лабораторией патоморфологии ФГУП «НИИ ГТП» ФМБА России, velikorodnaya@rihtop.ru

кий спектр свободных радикалов и АФК. Наличие у НДЦ каталазо- и супероксиддисмутазоподобных свойств также расценивается как явное преимущество в сравнении с традиционными антиоксидантами [3,4,8,9,12-14]. В совокупности перечисленные качества позволяют рассматривать данный НМ как потенциальное лекарственное средство для терапии заболеваний с патогенетической основой в виде оксидативного стресса [8]. Вместе с тем, очевидно, что реализация таких перспектив на практике требует преодоления немалых трудностей [11,14]. Основная их часть, безусловно, связана с оценкой биобезопасности НДЦ.

Известно, что токсические свойства и спектр биологической активности нанодиоксида церия находятся в сложной и неоднозначной зависимости от размера частиц, свойств их поверхности (функционализация, дзета-потенциал), метода синтеза («химической предыстории»), рН биологической среды (в зоне накопления и активности наночастиц) и др. [8,12,14]. Максимально биосовместимыми и безопасными, а потому и наиболее приемлемыми для биомедицинского применения, признаются стабилизированные мальтодекстрином агрегатно-устойчивые гидрозоли с размером наночастиц церия 1-7 нм [8].

Однако и в этом случае способность НДЦ оказывать на баланс окислительно-восстановительных процессов *in vivo* противоположно направленное влияние требует тщательного изучения зависимости вызываемых им эффектов от уровня воздействия с целью обоснованного выбора диапазона доз, в котором вероятность проявления неблагоприятных эффектов НДЦ при фармакологических испытаниях потенциальных лекарственных средств, содержащих его в своём составе, будет сведена к минимуму. Поэтому очевидно, что сведения о парантеральной токсичности НДЦ, являясь необходимой составной частью токсикологической характеристики этого НМ, могут представлять не меньший интерес и для исследований в области экспериментальной терапии с его применением. Результаты собственных исследований, проведённых в этом направлении и тезисно представленных в печати ранее [15], положены в основу настоящей публикации.

Материалы и методы исследования. Объектом экспериментального исследования служил образец 0,01 М наноразмерного золя диоксида церия (1,72 мг/мл), синтезированный в Институте общей и неорганической химии им. Н. С. Курнакова РАН и охарактеризованный там же с применением методов УФ-видимой спектроскопии, рентгенофазового анализа, просвечивающей электронной микроскопии и динамического светорассеяния. Согласно результатам анализа, синтезированный коллоидный раствор был практически монодисперсным и содержал сферические НЧ со средним гидро-

динамическим диаметром 6-9 нм в концентрации $2,4 \times 10^{22}$ мл⁻¹.

В качестве биообъекта использовали беспородных белых крыс самцов с массой тела 220-240 г общей численностью 180 особей. Содержание, питание, уход за животными и их умерщвление осуществляли в соответствии с требованиями «Международных рекомендаций по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (ВОЗ, Женева, 1985) и «Правилами лабораторной практики» (Приказ Минздравсоцразвития России от 23 августа 2010 г. №708н).

Золь НДЦ вводили крысам однократно внутрибрюшинно в трёх дозах с десятикратным разрывом между ними: 80,0 мг/кг (экспериментальная серия 1); 8,0 и 0,8 мг/кг (серия 2). Контрольным особям инъецировали физиологический раствор. Длительность наблюдения за животными составляла две недели. На 1, 3, 7 и 14 сутки крыс подвергали инструментальному обследованию, завершавшемуся эвтаназией и вскрытием. О биологической активности НЧ судили по характеру, глубине и динамике изменений показателей, характеризующих состояние целостного организма, функцию печени и почек, а также общий уровень обмена веществ, особенности регуляции основных метаболических путей и эффективность механизмов антиперекисной защиты.

Функциональное состояние организма оценивали с применением интегральных тестов, в число которых входили: масса тела; ЧСС; СПП; мышечная сила – на специализированном приборе «Измеритель силы хватки» («Panlab», Испания); поведенческие реакции – в автоматизированной системе регистрации и идентификации поведенческих актов «LABORAS» («Metris», Нидерланды); параметры крови – на автоматическом гематологическом анализаторе «PCE-210» («ERMA», Япония).

Сравнительному биохимическому анализу подвергали цельную кровь и сыворотку крови подопытных и контрольных крыс. В последней на автоматическом биохимическом анализаторе «Chem Well-2910» («Combi», США) с использованием наборов «Dia Sys» (Германия) и «Диакон-ДС» (Россия) определяли содержание общего белка, альбумина, глюкозы, триглицеридов, холестерина, мочевины, креатинина, общего билирубина, молочной кислоты, активность АЛТ, АСТ, ЩФ, ЛДГ и ГГТ. Определение пировиноградной кислоты (ПВК) осуществляли традиционным спектрофотометрическим методом. Состояние механизмов антиперекисной защиты организма оценивали по содержанию восстановленного глутатиона в цельной крови и конечного продукта ПОЛ – малонового диальдегида (МДА) – в сыворотке.

Биологический материал, полученный при вскрытии животных (головной мозг, сердце, печень, селезёнку, почки, надпочечники, семенники),

Таблица 1

Статистически значимые патофизиологические изменения у крыс после однократного интраперитонеального введения НДЦ

Показатели и единицы измерения	Сутки наблюдения	Дозы НДЦ			
		80,0 мг/кг	8,0 мг/кг	0,8 мг/кг	контроль
1	2	3	4	5	6
Интегральные физиологические показатели					
Масса тела, г	3 ¹	234,2±5,3			255,1±4,1
	7 ¹	230,0±4,9			244,4±4,4
	14 ¹	238,8±4,0			254,4±2,9
СПП, В	1 ²		2,11±0,11		1,82±0,08
	14 ¹	1,95±0,09			2,25±0,07
ЧСС в мин.	1 ¹	452,0±6,1			486,7±13,3
	14 ¹	457,8±16,1			402,2±18,4
Поведенческие реакции за 5-минутный период наблюдения					
Длительность передвижений, сек.	7 ¹	17,63±2,02			27,31±2,48
Время неподвижности, сек.	7 ¹	46,12±11,58			12,21±4,73
Длительность «стоек», сек.	1 ¹	101,40±10,44			161,31±12,79
	1 ²			149,34±8,06	109,23±15,18
	7 ¹	85,99±11,02			135,00±18,73
Продолжительность груминга, сек	3 ¹	45,56±7,9			18,76±5,62
Количество «стоек»	1 ¹	24,4±2,5			34,7±3,0
	1 ²			34,3±2,7	24,0±3,3
Частота перемещений	1 ¹	20,2±1,9			30,2±3,2
	1 ²			26,0±2,2	17,3±2,8
	7 ¹	15,7±1,4			24,5±2,9
Частота груминга	1 ¹	6,5±1,1			3,1±0,8
	3 ¹	7,7±1,1			3,8±1,1
Максимальная скорость, мм/сек	1 ¹	122,6±5,1			162,3±8,9
Пройденная дистанция, м	3 ²		1,586±0,098		2,353±0,184
	7 ¹	1,260±0,137			1,768±0,182
Количество круговых вращений по часовой стрелке	1 ¹	4,7±0,8			9,3±1,0
	1 ²			9,1±0,7	6,0±1,0
	7 ¹	4,4±0,7			8,4±1,2
Количество круговых вращений против часовой стрелки	1 ¹	4,7±0,8			8,3±0,9
Продолжительность круговых вращений, сек.	1 ¹	8,32±0,21			7,52±0,26
Средняя скорость круговых вращений, мм/сек.	1 ²			31,99±0,75	37,53±1,69
Содержание в периферической крови					
лейкоцитов, ·10 ⁹ /л	14 ¹	17,26±1,21			11,97±0,71
эритроцитов, 10 ¹² /л	7 ¹	7,82±0,17			8,50±0,10
	14 ¹	8,11±0,16			8,74±0,20
гемоглобина, г/л	7 ¹	140,1±2,5			149,6±1,7
	14 ¹	137,6±3,8			153,2±4,0

тромбоцитов, 109/л	1 ¹	481,5±11,0			609,7±23,1
	1 ²		465,0±18,7		593,6±22,5
	3 ¹	417,9±49,3			674,0±27,9
	7 ¹	892,6±34,8			648,5±18,6
	14 ¹	906,9±66,3			697,4±17,8
гематокрит, %	7 ¹	39,88±0,94			42,74±0,47
	14 ¹	39,80±0,94			43,82±1,09
Относительная масса внутренних органов, г/кг					
Головной мозг	1 ¹	7,44±0,17			6,60±0,15
Лёгкие	14 ¹	5,53±0,26			4,87±0,13
Печень	14 ¹	31,91±1,07			28,83±0,76
Селезёнка	3 ¹	5,95±0,28			3,72±0,46
	3 ²		6,65±0,26		5,81±0,25
	7 ¹	5,14±0,41			3,46±0,26
	7 ²			7,70±0,56	5,07±0,49
	14 ¹	4,73±0,41			2,73±0,14
Семенники	3 ¹	12,07±0,30			11,03±0,30
	14 ¹	12,63±0,40			10,69±0,44
Надпочечники	1 ¹	0,220±0,013			0,157±0,010
	1 ²		0,209±0,007		0,161±0,007
	3 ¹	0,196±0,011			0,128±0,004
	3 ²			0,178±0,007	0,155±0,005
	7 ¹	0,183±0,006			0,161±0,005
	14 ¹	0,187±0,012			0,150±0,008

Примечание: жирным курсивом выделены достоверные сдвиги, выходящие за пределы ($M \pm 2\sigma$) значений контроля; в графе 2 индексы ^{1,2} обозначают серию экспериментов

обследовали визуально и использовали для определения коэффициентов массы внутренних органов. В случае обнаружения видимых морфологических нарушений изменённые ткани выборочно подвергали гистологическому изучению.

Статистическую обработку результатов проводили с учётом эмпирического распределения анализируемых признаков при помощи пакета Primer of Biostatistics 4.03 с использованием критерия t Стьюдента. Значимыми считали изменения при $P \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение. Динамическое наблюдение за общим состоянием и внешним видом животных показало, что первую неделю крысы, получившие золь в наибольшей дозе (80,0 мг/кг), по сравнению с остальными были значительно более вялыми и имели сниженный мышечный тонус. В других группах после экспозиции НДЦ клинические признаки интоксикации отсутствовали. Вместе с тем в ходе инструментальных тестирований статистически значимые изменения целого ряда показателей жизнедеятельности, свидетельствовавшие о развитии резорбтивного эффекта, были выявлены на всех уровнях воздействия гидрозоля (табл. 1,2). Обобщение полученного цифрового материала убедительно свидетельствовало, что широта, длительность и динамика наблюдаемых из-

менений определялись величиной введённой дозы наночастиц.

Как и ожидалось, наиболее выраженные нарушения гомеостаза имели место у крыс, экспонированных препаратом в высшей дозе – 80 мг/кг. В этом случае контакт животных с НДЦ приводил к снижению массы тела, угнетению двигательной и исследовательской активности, нарушениям сердечной деятельности, изменениям в системе красной и белой крови (лейкоцитозу, эритропении, фазовым колебаниям количества тромбоцитов) (табл. 1). Характерный поведенческий паттерн указывал на развитие выраженной стрессорной реакции, которая сопровождалась стабильным увеличением относительной массы надпочечников. Нарушения морфологического состава крови дополнялись стойким увеличением относительной массы селезёнки (табл. 1). На поверхности печени и селезёнки формировались воспалительные гранулёмы, в верхнем этаже брюшины наблюдали инкапсулированные очаги некроза.

Многочисленные биохимические отклонения, затрагивавшие параметры основного обмена, эффективности энергообеспечения и антиперекисной защиты организма регистрировались на протяжении всего постэкспозиционного периода. О прооксидантном действии нанопрепарата свиде-

Таблица 2

Статистически значимые биохимические сдвиги у крыс после однократного интраперитонеального введения НДС

Показатели и единицы измерения	Сутки наблюдения	Дозы НДС			
		80,0 мг/кг	8,0 мг/кг	0,8 мг/кг	контроль
1	2	3	4	5	6
Мочевина, ммоль/л	3 ¹	2,325±0,291			4,489±0,480
	3 ²		5,064±0,485		6,545±0,322
	7 ¹	4,299±0,444			5,732±0,423
Щелочная фосфатаза, Е/л	1 ²		531,7±54,1		326,3±16,8
	3 ¹	1399,0±323,9			512,0±31,2
	1 ¹	340,6±24,2			220,3±12,1
АСТ, Е/л	1 ²		414,0±27,3		195,8±11,4
	3 ¹	414,5±42,5			261,8±22,7
	14 ¹	218,4±11,6			159,1±9,3
АЛТ, Е/л	7 ¹	106,8±6,0			155,3±10,8
ЛДГ, Е/л	1 ²		989,2±62,6		645,5±74,5
	3 ¹	925,3±118,5			580,9±62,4
Лактат, ммоль/л	1 ²		4,736±0,144		4,164±0,198
	7 ¹	4,485±0,174			4,990±0,130
	7 ²		4,881±0,203		5,563±0,263
ПВК, мкмоль/л	1 ¹	66,19±4,27			42,87±2,04
	3 ¹	48,00±2,01			40,10±1,24
	7 ¹	35,19±1,19			39,07±1,12
	7 ²		36,19±0,59		39,96±1,19
Лактат/ПВК	1 ¹	74,86±1,12			100,30±4,86
	1 ²		112,10±4,82		94,35±3,86
	3 ¹	100,60±4,64			127,30±4,10
	7 ²		131,20±2,81		142,20±4,40
	14 ¹	117,80±1,38			104,70±4,38
Глюкоза, ммоль/л	1 ¹	5,078±0,286			5,981±0,150
	3 ¹	5,976±0,186			6,446±0,123
Общий белок, г/л	1 ²		76,47±1,48		71,90±1,08
Альбумин, г/л	1 ¹	33,10±0,46			34,67±0,40
	1 ²			36,98±0,21	35,92±0,54
	3 ¹	31,96±0,27			35,01±0,29
	3 ²		32,97±0,41		35,08±0,50
	7 ¹	32,16±0,37			36,50±0,35
	14 ¹	33,93±0,52			36,51±0,44
Холестерин, ммоль/л	1 ²		2,112±0,076		1,711±0,106
	14 ¹	1,874±0,054			1,593±0,045

Триглицериды, ммоль/л	1 ¹	0,959±0,060		0,637±0,031
	1 ²		0,831±0,042	0,672±0,038
	14 ¹	0,766±0,035		0,449±0,026
	14 ²		0,717±0,026	0,846±0,029
Восстановленный глутатион, мкмоль/л	1 ²		1,330±0,098	1,066±0,043
	3 ¹	1,219±0,024		1,121±0,035
	3 ²		1,346±0,099	1,062±0,069
	3 ²			1,915±0,050
	14 ²			2,461±0,126
ГГТ, Е/л	3 ¹	44,47±7,28		20,58±2,67
МДА, мкмоль/л	11	14,56±0,28		13,33±0,25
	1 ²		12,86±0,41	9,96±0,37
	3 ¹	16,36±0,39		12,10±0,39
	3 ²		14,82±0,52	11,97±0,50
	7 ¹	15,87±0,41		13,53±0,41
	7 ²			9,87±0,37
	14 ¹	13,23±0,52		11,31±0,27
Билирубин, мкмоль/л	1 ²		19,14±0,49	16,50±0,53
	3 ¹	12,21±0,21		11,31±0,36
Креатинин, мкмоль/л	1 ¹	58,88±2,09		52,04±1,40
	1 ²		58,09±3,80	41,00±1,51
	3 ¹	60,69±1,88		51,46±2,21

Примечание: жирным курсивом выделены достоверные сдвиги, выходящие за пределы ($M \pm 2\sigma$) значений контроля; в графе 2 индексы 1,2 обозначают серию экспериментов

тельствовала, в первую очередь, активация ПОЛ, проявлявшаяся устойчивым статистически значимым ростом МДА и однократным (на 3 сутки) компенсаторным повышением уровня восстановленного глутатиона в крови. На этом фоне при всех тестированиях наблюдались множественные метаболические сдвиги (гипоальбунемия и гипогликемия, рост триглицеридов и холестерина, активация АСТ, ЩФ, ГГТ и ЛДГ), направленность и глубина которых не оставляли сомнений по поводу токсичности испытуемого нанопрепарата (табл. 2). Выраженность негативной реакции на поступление золя сохранялась на достаточно высоком уровне до завершения наблюдений (рис. 1).

Десятикратное снижение дозы НДЦ приводило к существенному ослаблению токсического эффекта. При введении наногидрозоля НДЦ в дозе 8,0 мг/кг изменения интегральных показателей и метаболические нарушения становились значительно менее обширными и продолжительными. Ни значимой потери массы тела, ни асептического воспаления брюшины и патологических изменений органов брюшной полости отмечено не было. Модификация индивидуального поведения проявлялась лишь сокращением пройденной дистанции при втором тестировании, а гематологические нарушения – тромбоцитопенией в начале эксперимента. Повышение относительной массы затраги-

вали только селезёнку (3 и 7 сутки) и надпочечники (1 сутки) (табл. 1). Биохимический профиль сыворотки крыс, экспонированных НДЦ, при снижении дозы НЧ в 10 раз также претерпевал определенные изменения в направлении нормализации (табл. 2). При этом сокращалось как общее количество нарушенных метаболических сдвигов, так и их стойкость. В результате общее число достоверных отклонений, зарегистрированных у крыс с первых по четырнадцатые сутки после введения НДЦ, сократилось с 78 (80,0 мг/кг) до 26 (8,0 мг/кг), а нарушений, превышающих допустимые физиологические колебания параллельного контроля, – с 24 до 5 соответственно (рис. 2). Вместе с тем, характер и направленность отмеченных сдвигов (включая активацию ПОЛ) практически полностью соответствовали наблюдаемым на высшем уровне экспозиции, указывая на сохранение у НДЦ прооксидантного действия и при десятикратном снижении дозовой нагрузки.

Признаки перехода к качественно иной реакции организма на испытуемый нанопрепарат начали проявляться только при применении наименьшей избранной дозы НДЦ – 0,8 мг/кг, воздействие которой сопровождалось дальнейшим сужением спектра достоверных сдвигов (до 10), абсолютное большинство которых находились уже в допустимых физиологических границах (табл. 1,2; рис. 1,2).

Кроме того, при практически полной нормализации функционального и метаболического статуса у животных сдвиги целого ряда показателей приобрели инвертированную направленность: обнаруживалось не угнетение, а определённая активация индивидуального поведения (табл. 1); гипоальбуминемия сменялась незначительным (на 3%), но достоверным увеличением содержания альбумина (1 сутки) и, главное, вместо характерного для высоких уровней экспозиции накопления МДА в крови к седьмым суткам эксперимента происходило его падение (на 12,6 %) на фоне существенного роста в крови восстановленного глутатиона (табл. 2). Очевидно, что установленные факты свидетельствовали уже не столько о токсичности НЧ, сколько о «напряжении» адаптационных механизмов экспонированного организма. Не позволяя констатировать безусловную инверсию прооксидантного действия НДЦ, они, однако, указывали на то, что достигнута та «точки перелома» токсического эффекта, когда прооксидантное (относительно слабое) действие НЧ получило адекватный «метаболический ответ» со стороны системы антиперекисной защиты, позволивший избежать выраженных нарушений здоровья.

Анализ представленного выше экспериментального материала даёт основания сделать вывод, что 0,01 М (1,72 мг/мл) гидрозолю НДЦ, содержащий НЧ со средним диаметром 6-9 нм, при однократном интраперитонеальном поступлении в организм способен вызывать интоксикацию с формированием дозозависимого комплекса нарушений. При введении крысам в дозах 80,0 и 8,0 мг/кг общетоксический эффект НДЦ проявляется на фоне стойкой активации ПОЛ и роста концентрации восстановленного глутатиона в крови. Несомненно, пусковым механизмом обнаруженных на всех уровнях организации гомеостатических сдвигов является оксидативный стресс, инициированный прооксидантным действием нанодиоксида церия. Однако последствия контакта с НЧ в минимальной дозе 0,8 мг/кг сводятся исключительно к развитию выраженной адаптивной реакции («пограничный эффект»), что и позволяет признать эту величину близкой к порогу острого токсического действия (L_{imac integr}).

С учётом вышеизложенного очевидно, что для изучения потенциальной фармакологической активности нанодиоксида церия в качестве антиоксиданта перспективными являются только низкие уровни экспозиции (менее 0,8 мг/кг в/бр), не приводящие к негативным проявлениям его прооксидантного токсического действия. Для курсового применения, более предпочтительного в практике экспериментальной терапии, оптимальный диапазон фармакотерапевтических доз НДЦ может определяться, как принято в токсикологии, введением к установленному порогу острого действия ситуационно обоснованного коэффициента запаса.

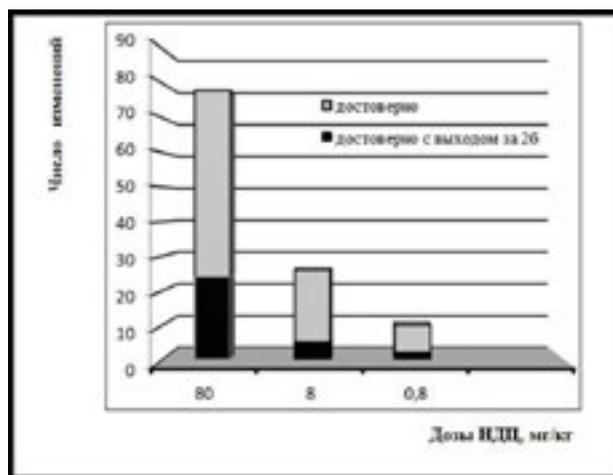


Рис 1. Сумма достоверных сдвигов в остром эксперименте

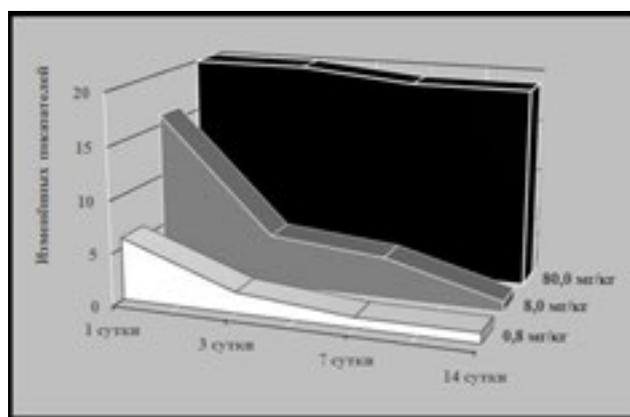


Рис 2. Динамика достоверных сдвигов на протяжении двух недель наблюдения

Заключение. Данные литературы последних лет убеждают, что дозозависимому характеру прооксидантной и антиоксидантной модальностям действия НДЦ начинает уделяться должное внимание [16]. Достаточную чёткость обрели представления о дозовых уровнях НЧ диоксида церия, вызывающих развитие окислительного стресса, и ценных, в первую очередь, для характеристики его токсикологического профиля [16-18]. Определилась и дистанцирована от них область доз, придающих НДЦ антиоксидантную активность, благодаря которой он и находит медико-биологическое применение в качестве средства защиты от окислительного стресса и формирующихся при его патогенетическом участии разнообразных заболеваний (нейродегенеративных, офтальмологических, эндокринных и др.) [8, 18-20]. Промежуточная между ними зона имеет достаточно размытые границы, в пределах которых реален риск нежелательной трансформации лечебного антиоксидантного действия НДЦ в повреждающее прооксидантное. Авторы публикации смеют надеяться, что выполненное ими исследование послужит уточнению этих границ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сейфулла Р.Д., Рожкова Е.А., Ким Е.К. Антиоксиданты. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2009; 72(3):60-64.
2. Сейфулла Р.Д. Наноантиоксиданты. Изд-во «Сам полиграфист», 2011. – 132 с.
3. З. Иванов В.К., Иванова О.С., Баранчиков А.Е., Третьяков Ю.Д. Нанокристаллический диоксид церия – компонент эффективных антиоксидантных препаратов. Available at: <http://www.igic.ras.ru/docs/patent/placat/ionh-3.pdf> (accessed 5 March 2019).
4. Попов А.Л. Исследование биологической активности цитрат-стабилизированных наночастиц диоксида церия (CeO₂): дисс. ... канд. биол. наук: 03.01.02 / Попов А. Л.; [Место защиты: ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук], 2017. – 144 с.
5. Puja Khanna, Cynthia Ong, Boon Huat Bay, Gyeong Hun Baeg. Nanotoxicity: An Interplay of Oxidative Stress, Inflammation and Cell Death: Review. *Nanomaterials*. 2015; 5:1163-1180; doi:10.3390/nano5031163.
6. Geetha N., Prabhavathi G., Ayeshamariam A., Bevi A.H., Punithavelan N., Uthiram C., Jayachandran M. Review on a Nanomaterials Mechanisms-Induced Oxidative Stress and Toxicity: Review. *J Powder Metall. Min.* 2017; 6(3):185. doi:10.4172/2168-9806.1000185.
7. Zuberek M., Grzelak A. Nanoparticles-Caused Oxidative Imbalance. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2018; 1048: 691-698. doi: 10.1007/978-3-319-72041-8_6.
8. Щербakov А.Б., Иванова О.С., Спивак Н.Я., Козик В.В., Иванов В.К. Синтез и биомедицинские применения нанодисперсного диоксида церия. – Томск, Издательский Дом Томского государственного университета. – 2016. – 474 с.
9. Jawahar Natarajan, Sukumar Nagavishwakya. Nanoceria: A Novel Cytoprotective Drug Delivery Carrier. *Current Nanomedicine*. 2017; 7(2): 111-116. DOI: 10.2174/2468187307666170208104644.
10. Syed Tawab Shah, Wageeh A. Yehye, Omar Saad, Khanom Simarani, Zaira Zaman Chowdhury, Abeer A. Alhadi, Lina A. Al-Ani. Surface Functionalization of Iron Oxide Nanoparticles with Gallic Acid as Potential Antioxidant and Antimicrobial Agents. *Nanomaterials (Basel)*. 2017 Oct.; 7(10): 306. doi: 10.3390/nano7100306.
11. Sharpe E., Andreescu D., Andreescu S. Artificial Nanoparticle Antioxidants. *Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention, and Therapy: Book*. 2011; Chapter 8. – P. 235-253.
12. Gagnon J., Fromm K.M. Toxicity and protective effects of cerium oxide nanoparticles (nanoceria) depending on their preparation method, particle size, cell type, and exposure route. *European Journal of Inorganic Chemistry*. 2015; (27):4510-4517.
13. Sanjay, S. Cerium oxide based nanozymes: Redox phenomenon at biointerfaces. *Biointerphases*. 2016; 11(4): 04B202.
14. Changyan Li, Xiangcheng Shi, Qiudi Shen, Chen Guo, Zepeng Hou, Jun Zhang. Hot Topics and Challenges of Regenerative Nanoceria in Application of Antioxidant Therapy: Review Article. *Journal of Nanomaterials*. Volume 2018. – Article ID 4857461, 12 pages.
15. Срослов М.С., Тоцилкина Л.П., Филатов Б.Н., Ходыкина Н.В. Экспериментальное изучение острой токсичности наночастиц диоксида церия. В сб.: Нанотоксикология: достижения, проблемы и перспективы: Материалы научной конференции. Волгоград, 2014; 58-9.
16. Ranjbar A., Ghasemi H., Kheiripour N. Cerium oxide nanoparticle modulates hepatic damage, inflammatory and oxidative stress biomarkers in a dose-dependent manner: an in vivo study of rat liver. *Nanomedicine Journal*. 2018; 5(4): 245-250.
17. Hardas S.S., Sultana S., Warriar G., Dan M., Florence R. L., Wu P., Grulke E.A., Tseng M.T., Unrine J.M., Graham U.M., Yokel R.A., Butterfield D.A. Rat brain pro-oxidant effects of peripherally administered 5 nm ceria 30 days after exposure. *Neurotoxicology*. 2012; 33:1147-1155.
18. Rzigalinski B. A., Carfagna C. S., Ehrich M. Cerium Oxide Nanoparticles in Neuroprotection and Considerations for Efficacy and Safety. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*. 2017; 9(4): 10.1002/wnan.1444.
19. Hirst S.M., Karakoti A., Singh S., Self W., Tyler R., Seal S., Reilly C.M. Bio-distribution and in vivo antioxidant effects of cerium oxide nanoparticles in mice. *Environ Toxicol*. 2013; 28 (2): 107-118.
20. Nelson B. C., Johnson M. E., Walker M. L., Riley K. R., Sims Ch. M. Antioxidant Cerium Oxide Nanoparticles in Biology and Medicine: Review. *Antioxidants*. 2016; 5(15); doi:10.3390/antiox5020015.

REFERENCES:

1. Seifulla R.D., Rozhkova E.A., Kim E.K. Antioxidants. *Experimental and clinical pharmacology*. 2009; 72(3):60-64 (in Russian).
2. Seifulla R.D. Nanoantioxidants, «Сам полиграфист», 2011 – 132 p. (in Russian).
3. Ivanov V.K., Ivanova O.S., Baranchikov A.E., Tretjakov Ju.D. Cerium Nanocrystalline Dioxide – Component of Effective Antioxidant Preparations. Available at: <http://www.igic.ras.ru/docs/patent/placat/ionh-3.pdf> (Accessed 5 March 2019) (in Russian).
4. Popov A.L. Investigation of the biological activity of citrate-stabilized cerium dioxide nanoparticles (CeO₂): diss. kand. biol. science: 03.01.02 / Popov A. L.; [Place of defense: Institute of Theoretical and Experimental Biophysics of the Russian Academy of Sciences, 20- 144 p. (in Russian).
5. Puja Khanna, Cynthia Ong, Boon Huat Bay, Gyeong Hun Baeg. Nanotoxicity: An Interplay of Oxidative Stress, Inflammation and Cell Death: Review. *Nanomaterials*. 2015; 5:1163-1180; doi:10.3390/nano5031163.
6. Geetha N., Prabhavathi G., Ayeshamariam A., Bevi A.H., Punithavelan N., Uthiram C. et al. Review on a Nanomaterials Mechanisms-Induced Oxidative Stress and Toxicity: Review. *J Powder Metall. Min.* 2017; 6(3):1doi:10.4172/2168-9806.1000185.
7. Zuberek M., Grzelak A. Nanoparticles-Caused Oxidative Imbalance. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2018; 1048: 691-6doi: 10.1007/978-3-319-72041-8_6.
8. Shherbakov A.B., Ivanova O.S., Spivak N.Ja., Kozik V.V., Ivanov V.K. Synthesis and biomedical applications of nano-dispersed cerium dioxide. – Tomsk, Publishing House of Tomsk State University. – 20- 474 p. (in Russian).
9. Jawahar Natarajan, Sukumar Nagavishwakya. Nanoceria: A Novel Cytoprotective Drug Delivery Carrier. *Current Nanomedicine*. 2017; 7(2): 111-1D0I: 10.2174/2468187307666170208104644.
10. Syed Tawab Shah, Wageeh A. Yehye, Omar Saad, Khanom Simarani, Zaira Zaman Chowdhury, Abeer A.et al. Surface Functionalization of Iron Oxide Nanoparticles with Gallic Acid as Potential Antioxidant and Antimicrobial Agents. *Nanomaterials (Basel)*. 2017 Oct.; 7(10): 3doi: 10.3390/nano7100306.
11. Sharpe E., Andreescu D., Andreescu S. Artificial Nanoparticle Antioxidants. *Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention, and Therapy: Book*. 2011; Chapter – P. 235-253.
12. Gagnon J., Fromm K.M. Toxicity and protective effects of cerium oxide nanoparticles (nanoceria) depending on their preparation method, particle size, cell type, and exposure route. *European Journal of Inorganic Chemistry*. 2015; (27):4510-4517.
13. Sanjay, S. Cerium oxide based nanozymes: Redox phenomenon at biointerfaces. *Biointerphases*. 2016; 11(4): 04B202.
14. Changyan Li, Xiangcheng Shi, Qiudi Shen, Chen Guo, Zepeng Hou, Jun Zhang. Hot Topics and Challenges of Regenerative Nanoceria in Application of Antioxidant Therapy: Review Article. *Journal of Nanomaterials*. Volume 20- Article ID 4857461, 12 p.
15. Sroslov M.S., Tochilkina L.P., Filatov B.N., Hodykina N.V. Experimental study of the acute toxicity of cerium dioxide nanoparticles. In: *Nanotoxicology: achievements, problems and prospects: Materials of the scientific conference*. Volgograd, 2014; 58-9 (in Russian).
16. Ranjbar A., Ghasemi H., Kheiripour N. Cerium oxide nanoparticle modulates hepatic damage, inflammatory and oxidative stress biomarkers in a dose-dependent manner: an in vivo study of rat liver. *Nanomedicine Journal*. 2018; 5(4): 245-250.
17. Hardas S.S., Sultana S., Warriar G., Dan M., Florence R. L., Wu P. et al. Rat brain pro-oxidant effects of peripherally administered 5 nm ceria 30 days after exposure. *Neurotoxicology*. 2012; 33:1147-1155.
18. Rzigalinski B. A., Carfagna C. S., Ehrich M. Cerium Oxide Nanoparticles in Neuroprotection and Considerations for Efficacy and Safety. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*. 2017; 9(4): 10.1002/wnan.1444.
19. Hirst S.M., Karakoti A., Singh S., Self W., Tyler R., Seal S. et al. Bio-distribution and in vivo antioxidant effects of cerium oxide nanoparticles in mice. *Environ Toxicol*. 2013; 28 (2): 107-118.
20. Nelson B. C., Johnson M. E., Walker M. L., Riley K. R., Sims Ch. M. Antioxidant Cerium Oxide Nanoparticles in Biology and Medicine: Review. *Antioxidants*. 2016; 5(15); doi:10.3390/antiox5020015.

N.V. Khodykina, L.P. Tochilkina, O.N. Novikova, M.S. Sroslov, A.Ya. Pocheptsov, Yu.I. Velikorodnaya

ACUTE TOXICITY OF CERIUM DIOXIDE NANOPARTICLES

Research Institute for Hygiene, Toxicology and Occupational Pathology, Federal Medical and Biological Agency, 400048, Volgograd, Russian Federation

The resorptive effects of 0.01 M cerium nanodioxide sol upon single intraperitoneal administration to rats have been studied. The acute exposure to nanoparticles was found to have a dose-dependent general toxic effect on the body (weight loss, inflammatory changes in the abdominal organs, modification of individual behavior, hematological changes, metabolic imbalance), which develops on the background of POL activation. The prooxidant effect of cerium dioxide nanoparticles is demonstratively manifested at relatively high exposure levels (80–8 mg / kg). The threshold dose for the general toxic effect (Lim_{ch}^{integr}) is equal to 0.8 mg / kg.

Keywords: cerium dioxide nano, rats, acute toxicity, prooxidant action, antioxidant action.

Материал поступил в редакцию 23.04.2019 г.