

УДК 615.9

НЕКОТОРЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ КОМБИНИРОВАННОЙ ТОКСИЧНОСТИ МЕТАЛЛОКСИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ

И.А. Минигалиева

ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, г. Екатеринбург, Российская Федерация

Токсичность наночастиц (НЧ) оксидов нескольких металлов была изучена на аутбредных крысах-самках при изолированном и комбинированном ($\text{NiO}+\text{Mn}_3\text{O}_4$; $\text{CuO}+\text{PbO}$; $\text{CuO}+\text{ZnO}$; $\text{PbO}+\text{ZnO}$; $\text{PbO}+\text{CuO}+\text{ZnO}$) действии с использованием двух экспериментальных моделей: (а) однократная интратрахеальная инстилляционная в малых дозах за 24 часа до проведения бронхоальвеолярного лаважа для цитологического и биохимического исследования получаемой жидкости; (б) повторные внутрибрюшинные инъекции на протяжении 6 недель в несмертельной дозировке, для оценки, вызванной этой субхронической интоксикацией по большому числу функциональных и морфометрических показателей и показателей био-распределения и элиминации соответствующих металлов. Комбинационные эффекты описывались различными математическими моделями, включая построение поверхности отклика. Было продемонстрировано многообразие типов комбинированной токсичности для одной и той же пары НЧ в зависимости от того, для какого конкретного эффекта она оценивается, а нередко также от дозо-зависимого уровня этого эффекта. Показано также, что риск-ориентированный подход к классификации трёхфакторной токсичности, ранее разработанный для комбинированного действия металлов в ионно-молекулярной форме, адекватен и для изученных НЧ.

Ключевые слова: комбинированная токсичность, наночастицы.

Чем шире использование наноматериалов в технике, науке, медицине и быту, тем выше вероятность того, что человек будет подвергаться, если не одновременно, то последовательно комбинированному воздействию нескольких химически различающихся видов наночастиц (НЧ). Наряду с этим, уже давно лица, занятые в пирометаллургических и сварочных производствах, почти неизбежно подвергаются ингаляционному воздействию той или иной комбинации металлооксидных НЧ, образующихся как побочный продукт технологии, и загрязняющих воздух рабочей зоны и окружающую атмосферу, поскольку комбинированный характер такого загрязнения задан составом выплавляемых или свариваемых металлов, электродной обмазки, флюсов и т.п. Между тем, на фоне активного развития общей и частной нанотоксикологии металлов, характеризующего последнее десятилетие, отмечается недостаточность работ по сравнительной оценке токсичности различных

нанометаллов, и практически полное отсутствие внимания к анализу закономерностей их комбинированного действия [1].

Это положение тем более удивительно, что общая проблема комбинированного действия ядов и анализа его закономерностей и практических аспектов, в том числе, проблема комбинированной токсичности металлов в ионно-молекулярной форме, является одной из давно и широко развиваемых в научной токсикологии. В частности, наш исследовательский коллектив, руководимый заслуженным деятелем науки РФ профессором Б. А. Кацнельсоном и включающий в себя, наряду с токсикологами-экспериментаторами, специалистов по математическому моделированию, только за последние годы выполнил и опубликовал ряд работ по этой проблеме [2, 3, 4, 5, 6]. Критическое обсуждение взглядов, преобладающих в научной литературе, и обобщение результатов собственных экспериментов с 5-ю бинарными

Минигалиева Ильзира Амировна (Minigalieva Il'zira Amirovna), кандидат биологических наук, зав. лабораторией промышленной токсикологии, старший научный сотрудник ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург, Российская Федерация, ilzira@umrc.ru

ми (Pb-Cd, Pb-F, Cr-Ni, Cr-Mn, Ni-Mn) и одной тройной (Cr-Ni-Mn) комбинациями на однотипной модели субхронической интоксикации, вызываемой повторными внутривенными инъекциями солей перечисленных элементов изолированно или совместно, с применением математического планирования эксперимента и математического описания его результатов привело нас к формулировке нескольких принципиальных постулатов, а именно:

Широко используемые в теоретической токсикологии смеси основных понятия «аддитивность эффектов» (частным случаем которой является так называемая независимость Бласса) и «аддитивность доз» (называемая также аддитивностью Лёве) в реальности оказываются взаимозаменяемыми и поэтому скорее отражают метод математического моделирования комбинированного действия, чем фундаментально различающиеся парадигмы, в качестве которых они обычно рассматриваются.

Помимо трёх основных типов комбинированного действия (аддитивность, субаддитивность и супераддитивность, или синергизм), традиционно описываемых, хотя и по-разному определяемых в рамках обеих парадигм, чаще всего сложные варианты сочетания этих типов в зависимости от того, по какому конкретному эффекту воздействия они оцениваются, а также от величины этого эффекта и от уровня доз комбинируемых факторов.

При характеристике развития интоксикации большим числом эффектов, по некоторым из них обычно наблюдается не только однонаправленное действие вышеуказанных типов, но и противоположное (то есть явный антагонизм), причём нередко одна и та же пара токси-

кантов действует при одном соотношении доз однонаправленно, а при другом – в противоположных направлениях.

На фоне действия третьего токсиканта тип бинарной токсичности двух других компонентов тройной комбинации может остаться в принципе тем же, что и в его отсутствии, но может измениться как в сторону повышения, так и в сторону понижения эффекта.

В дальнейшем справедливость этих постулатов была подтверждена нашими исследованиями, проведенными по тому же дизайну субхронической парентеральной интоксикации, а также при однократном интратрахеальном введении металло-оксидных НЧ изолированно и в комбинациях: NiO-NP+Mn₃O₄-NP; PbO-NP+CuO-NP, PbO-NP+ZnO-NP, ZnO-NP+CuO-NP; PbO-NP+CuO-NP+ZnO-NP [11, 12].

Некоторые примеры, демонстрирующие зависимость комбинированной токсичности указанных НЧ от вида и уровня токсического эффекта, по которому она оценивается, представлены изоболом Лёве, построенными с помощью RSM (рис. 1-4).

В принципе аналогичное разнообразие типов комбинированной токсичности металло-оксидных НЧ в зависимости от характера и уровня эффекта обнаружено и по показателям, характеризующим жидкость бронхоальвеолярного лаважа (БАЛЖ), проводившегося через 24 часа после однократного интратрахеального введения наносуспензий (рис. 5).

В соответствии с вышеприведенным постулатом (4) мы впервые предложили риск-ориентированную классификацию эффектов трёхфакторного воздействия, основанную на оценке того, становится ли при наличии третьего фактора

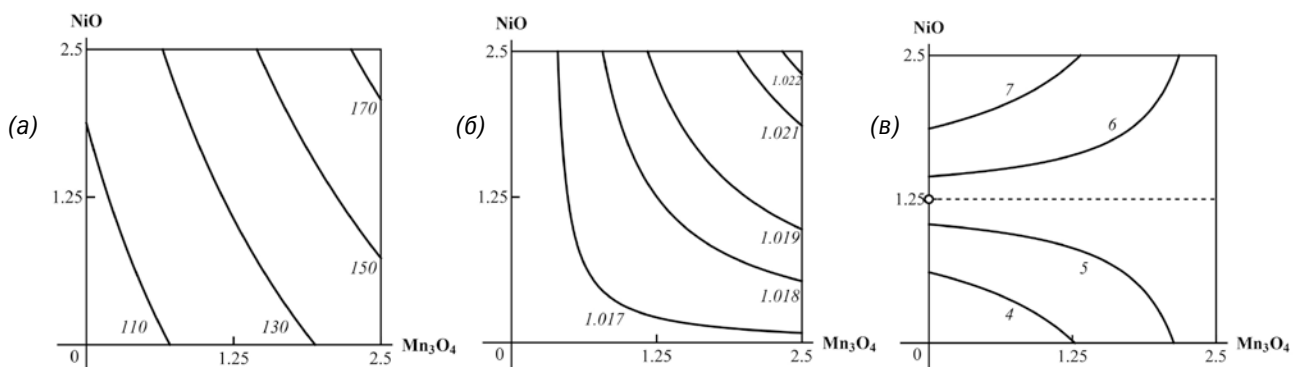


Рис. 1. Примеры изобол комбинированной субхронической токсичности NiO-НЧ+Mn₃O₄-НЧ:

- (а) по влиянию на концентрацию мочевой кислоты в сыворотке крови (аддитивность однонаправленного действия);
 (б) по влиянию на относительную плотность мочи (синергизм при низких и аддитивность однонаправленного действия при высоких уровнях ответа);
 (в) по влиянию на процент безъядерных гепатоцитов (субаддитивность однонаправленного действия при низких и противоположное действие при высоких уровнях ответа). На осях дозы Mn₃O₄ and NiO в мг на крысу; числа на изоболах обозначают величину эффекта (по мочевой кислоте в мкмоль/л).

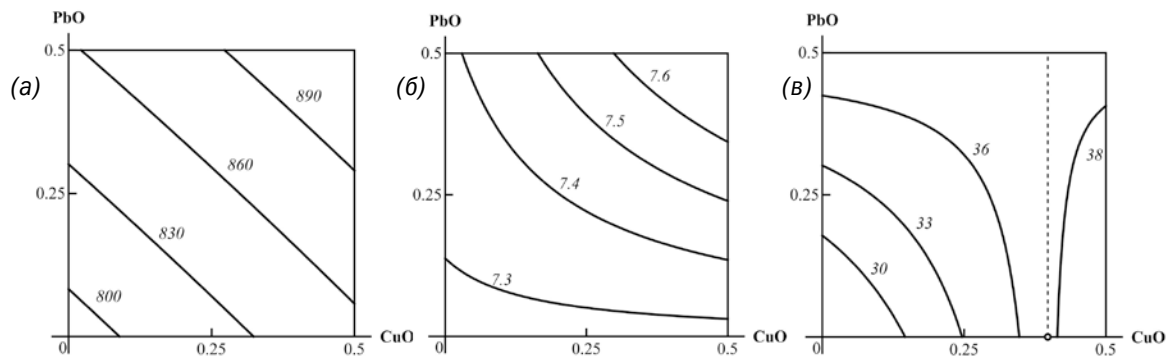


Рис. 2. Примеры изобол комбинированной субхронической токсичности CuO-НЧ+PbO-НЧ:

(а) по влиянию на число тромбоцитов в крови (аддитивность однонаправленного действия);
 (б) по влиянию на число эритроцитов в крови (синергизм при низких и аддитивность однонаправленного действия при высоких уровнях ответа);
 (в) по влиянию на диурез (субаддитивность однонаправленного действия при низких и противонаправленное действие при высоких уровнях ответа). На осях дозы PbO and Cu мг на крысу; числа на изоболах обозначают величину эффекта (тромбоциты *109 /л; эритроциты *10¹² /L; суточный диурез в мл).

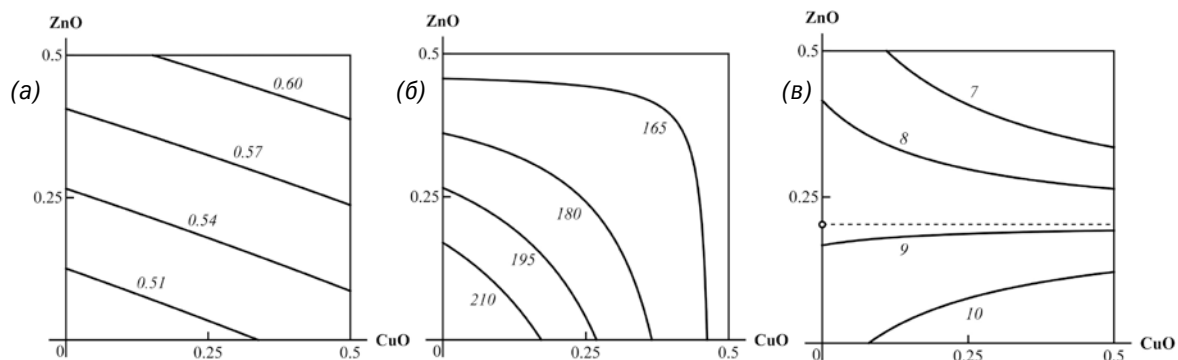


Рис. 3. Примеры изобол комбинированной субхронической токсичности CuO-НЧ+ZnO-НЧ:

(а) по влиянию на тромбоцит (аддитивность однонаправленного действия);
 (б) по влиянию на активность щёлочной фосфатазы (ЩФ) в сыворотке крови (субаддитивность однонаправленного действия);
 (в) по влиянию на уровень тестостерона в сыворотке крови (синергизм однонаправленного действия при высоких уровнях и противонаправленность действия при низких уровнях ответа). На осях дозы ZnO and CuO в мг на крысу; числа на изоболах обозначают величину эффекта (тромбоцит в долях объёма крови; ЩФ а Ед/л; тестостерон в нМоль/л).

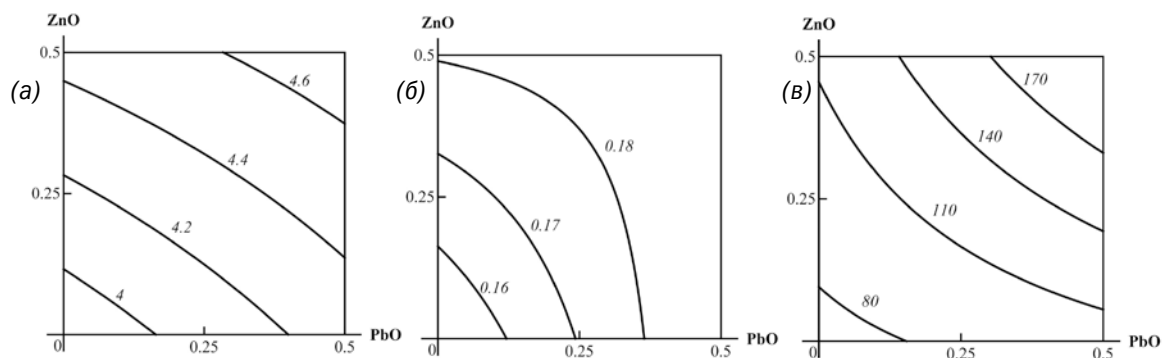


Рис. 4. Примеры изобол комбинированной субхронической токсичности PbO-НЧ+ZnO-НЧ:

(а) по влиянию на коэффициент Де Ритиса (аддитивность однонаправленного действия);
 (б) по влиянию на активность фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) в сыворотке крови (субаддитивность однонаправленного действия);
 (в) по влиянию на концентрацию копропорфирина в моче (синергизм однонаправленного действия). На осях дозы ZnO and Pb O в мг на крысу; числа на изоболах обозначают величину эффекта коэффициент Де Ритиса безразмерный; ФСГ в Ед /л; копропорфирин в нМоль/л).

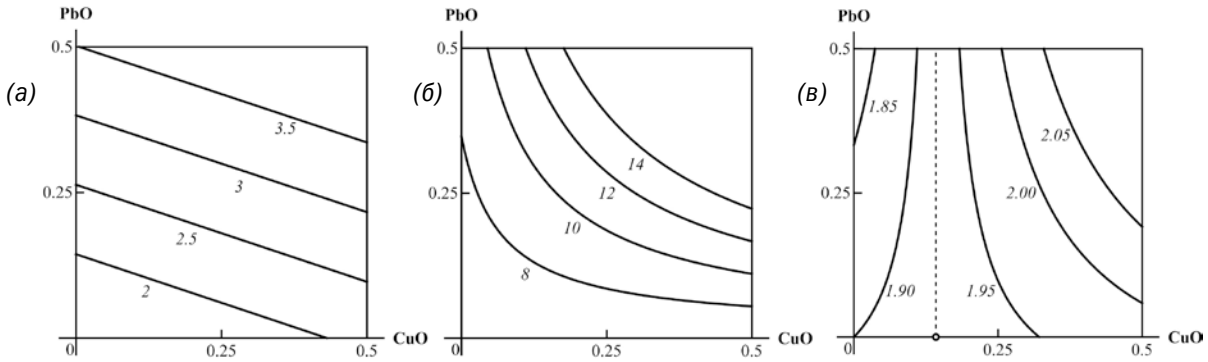


Рис. 5. Примеры изобол комбинированной острой лёгочной токсичности CuO-НЧ+PbO-НЧ: (а) по влиянию на общую клеточность БАЛЖ (аддитивность однонаправленного действия); (б) по влиянию на активность амилазы в супернатанте БАЛЖ (синергизм однонаправленного действия); (в) по влиянию на уровень альбумина в супернатанте БАЛЖ (противонаправленное действие при низких и синергизм однонаправленного действия при высоких уровнях ответа). На осях дозы PbO and CuO в мг на крысу; числа на изоболах обозначают величину эффекта (число клеток * 10⁶, активность амилазы в Ев/л IU/L, альбумин в г/л).

тип бинарной комбинированной токсичности, оцененный относительно данного эффекта, более неблагоприятным (класс А) или менее неблагоприятным (класс В) для организма, или остаётся в принципе тем же (класс С) [2]. Этот подход был успешно испытан при субхронической комбинированной интоксикации солями никеля, хрома (VI) и марганца (VII), причём была выявлена внутренняя непротиворечивость предложенной классификации, воспроизводимой в статистически значимом числе случаев при рассмотрении в качестве третьего любого из трёх факторов комбинации. Затем этот подход был испытан в аналогичном субхроническом эксперименте с тройной комбинацией металло-оксидных (CuO+PbO+ZnO) НЧ, и были выявлены в принципе те же закономерности [13]. Примеры изоболограмм, типичных для каждого из вышеназванных классов, даны рисунками 6, 7 и 8.

Отметим, что опасность всей тройной комбинации в целом должна оцениваться как заведомо особо высокая не только по тем эффектам, которые были отнесены к классу А, но и по тем, которые попали в класс С, поскольку и в этом случае суммарный вредный эффект будет выше эффекта любого из компонентов комбинации, действу-

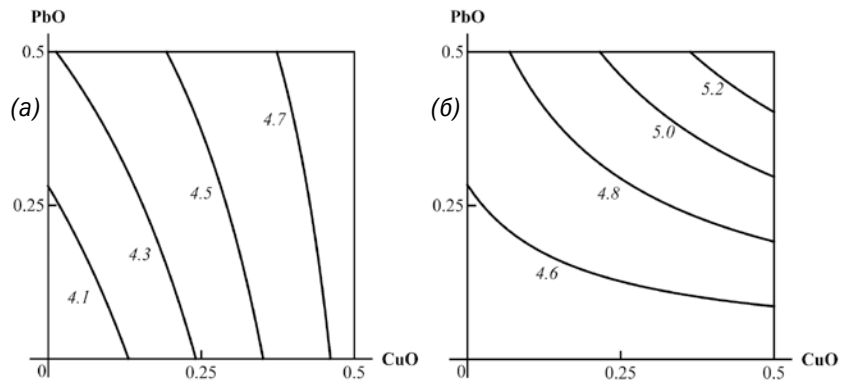


Рис. 6. Пример трёхфакторной токсичности металло-оксидных НЧ, отнесенной к классу А: аддитивное однонаправленное действие PbO-НЧ и CuO-НЧ на коэффициент Де Ритиса, выявленное при отсутствии третьего компонента токсической комбинации, переходит в синергизм на фоне одновременного действия ZnO-НЧ. На осях дозы PbO and CuO в мг на крысу; числа на изоболах обозначают величину эффекта (безразмерное отношение).

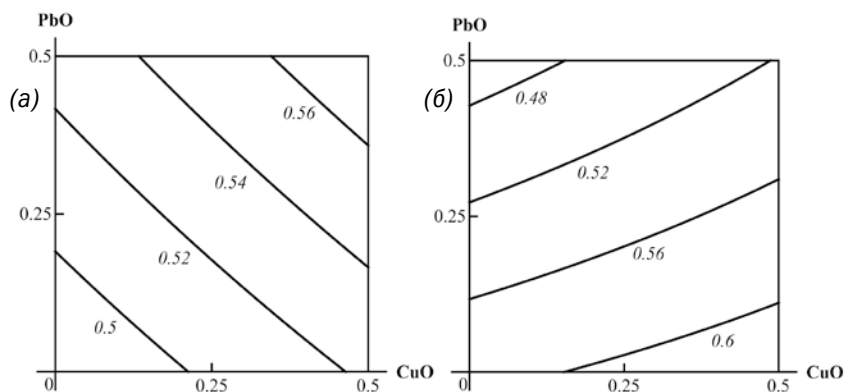


Рис. 7. Пример трёхфакторной токсичности металло-оксидных НЧ, отнесенной к классу В: аддитивное однонаправленное действие PbO-НЧ и CuO-НЧ на показатель тромбоцитоза, выявленное при отсутствии третьего компонента токсической комбинации, переходит в противонаправленное на фоне одновременного действия ZnO-НЧ. На осях дозы PbO and CuO в мг на крысу; числа на изоболах обозначают величину эффекта (в долях объёма крови).

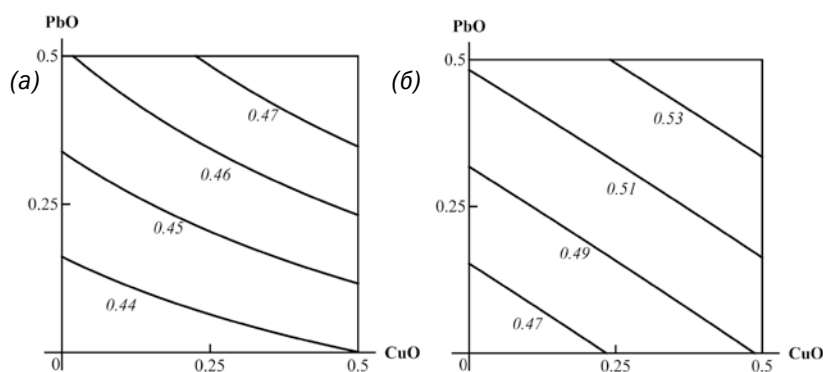


Рис. 8. Пример трёхфакторной токсичности металло-оксидных НЧ, отнесенной к классу С: аддитивное однонаправленное действие PbO-НЧ и CuO-НЧ на коэффициент фрагментации ДНК ядерных клеток крови выявляется как при отсутствии, так и на фоне одновременного действия ZnO-НЧ. На осях дозы PbO and CuO в мг на крысу; числа на изоболах обозначают величину эффекта (безразмерное отношение).

ющего изолированно. Это утверждение можно проиллюстрировать в отношении примера класса С, показанного на рисунке 8. Как видно из рисунка 9, генотоксический эффект «ин vivo», являющийся в разной степени выраженной,

но обязательной особенностью субхронических интоксикаций всех испытанных нами металло-оксидных НЧ, а также НЧ элементарных серебра и золота, оказался при одновременном действии CuO-НЧ, PbO-НЧ и ZnO-НЧ существенно более высоким, чем при действии каждого вида НЧ в отдельности [14].

Токсикодинамические и токсикокинетические механизмы комбинированной нанотоксичности, как и комбинированной токсичности в целом, многообразны и далеко не всегда достаточно понятны. При этом мы находим, что токсикокинетические взаимодействия между компонентами комбинации далеко не всегда могут объяснить функциональные эффекты комбинированной интоксикации, но важно отметить, что такие взаимодействия (хоть и не всегда легко объяснимые сами по себе) действительно имеют место. Например, как видно из данных, представленных в таблице 1, при комбинированной

Таблица 1

Содержание марганца и никеля (по данным атомно-эмиссионной спектроскопии) в органах крыс после 18 повторных (на протяжении 6 недель) внутрибрюшинных введений наночастиц NiO и/или Mn₃O₄ в дозе 0.50 мг, мкг на г сухой ткани (X±s.e.)

Металл	Группы крыс, которым вводили:			
	Воду без НЧ	NiO-НЧ	Mn ₃ O ₄ -НЧ	NiO-НЧ+Mn ₃ O ₄ -НЧ
В печени				
Марганец	7,33±0,56	6,33±0,49	7,20±0,73	6,80±0,20
Никель	3,17±0,65	16,40±3,26*+○	2,80±0,20+	38,00±2,80*+○
В селезёнке				
Марганец	28,80±1,74	32,00±4,15	25,00±1,87	25,83±4,23
Никель	25,60±1,89	46,75±8,44*	32,50±4,63	36,17±7,21
В почках				
Марганец	13,75±0,95	10,00±0,63*○	20,50±1,45*+	10,80±1,11
Никель	18,20±1,56	20,60±3,23	16,00±1,58	17,60±1,29
В головном мозгу				
Марганец	6,00±0,45	7,17±0,98	10,75±1,70*	7,60±1,08
Никель	14,67±0,96	12,83±1,20	15,75±2,46	15,80±2,65

Примечание: статистически значимое отличие: * от контрольной группы; +от группы, получавшей комбинацию наночастиц NiOи Mn₃O₄; ○ от группы, получавшей наночастицы Mn₃O₄ (p <0.05 по t Стьюдента)

Таблица 2

Суточная экскреция марганца и никеля с мочой (по данным атомно-эмиссионной спектроскопии) в органах крыс после 18 повторных (на протяжении 6 недель) внутрибрюшинных введений наночастиц NiO и/или Mn₃O₄ в дозе 0.50 мг, мкг (X±s.e.)

Металл	Группы крыс, которым вводили			
	Воду без НЧ	NiO-НЧ	Mn ₃ O ₄ -НЧ	NiO-НЧ+Mn ₃ O ₄ -НЧ
Марганец	0,06±0,05	0,008±0,006+○	0,06±0,01+	0,52±0,1*
Никель	2,9±0,2	37,9±5,3*+○	0,63±0,3*+	16,7±2,9*

Примечание: статистически значимое отличие: * от контрольной группы; + от группы, получавшей комбинацию наночастиц NiO и Mn₃O₄; ○ от группы, получавшей наночастицы Mn₃O₄ (p < 0.05 по t Стьюдента)

интоксикации наночастицами NiO и Mn₃O₄ накопление никеля в печени (но не в селезёнке, почках и головном мозгу) существенно выше, чем при изолированной интоксикации наночастицами NiO. Напротив, та же комбинированная экспозиция вызывает статистически значимо меньшее накопление марганца в почках и не значимое, но заметно меньшее в мозгу по сравнению с изолированной экспозицией к Mn₃O₄-НЧ. Вместе с тем, почечная экскреция марганца в группе комбинированного воздействия была парадоксально повышена, а экскреция никеля – снижена по сравнению с соответствующими группами изолированных НЧ-интоксикаций (табл. 2), а морфометрические показатели нефротоксичности были максимальными при комбинированной интоксикации.

Так, например, в почечных гистологических срезах через извитые каналцы первого порядка процент периметра с десквамацией эпителия составил 0 в контроле, 0,48±0,36 при воздействии NiO-НЧ, 0,28±0,32 при воздействии Mn₃O₄-НЧ

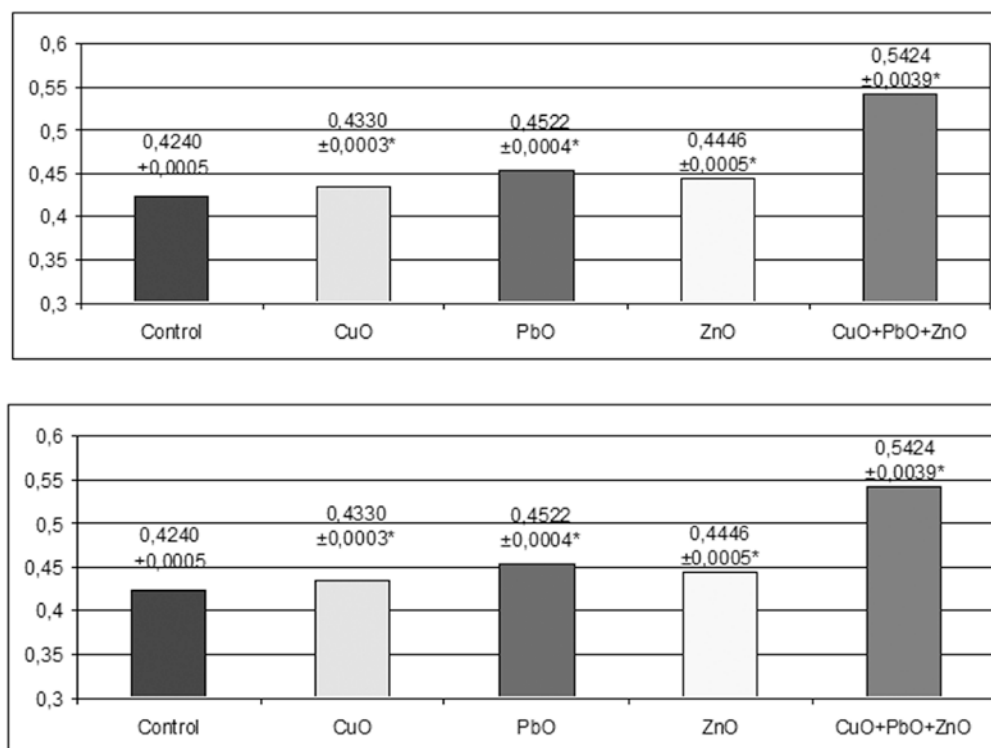


Рис. 9. Коэффициент ДНК-фрагментации (X±s.e.) по данным ПДАФ-теста на ядерных клетках крови крыс при субхронической интоксикации наночастицами оксидов меди, свинца и цинка. Звёздочкой отмечено статистически значимое отличие от контрольного показателя, при этом показатель комбинированного эффекта значимо выше показателей при изолированном действии всех НЧ (p < 0,05 по t Стьюдента)

и 2,43±1,0 при комбинированной экспозиции, а соответствующие среднегрупповые показатели потери щёточной каёмки составили 5,44±0,9; 10,3±1,7; 9,02±1,17 и 12,33±2,3.

Заключение. Для эффектов комбинированного вредного действия на организм металло-оксидных наночастиц характерны те же основные закономерности, что и для ранее изученной комбинированной токсичности металлов и металлоидов в ионно-молекулярной форме.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Tong T., Wilke C.M., Wu J., Binh C.T., Kelly J.J., Gaillard J.F., et al. Combined toxicity of nano-zno and nano-tio2: from single- to multinanomaterial systems. *J Environ Sci Technol.* 2015; 49 (13): 8113-8123.
2. Katsnelson B.A., Panov V.G., Minigaliev I.A., Varaksin A.N., Privalova L.I., Slyshkina T.V., et al. Further development of the theory and mathematical description of combined toxicity: an approach to classifying types of action of three factorial combinations (a case study of manganese-chromium-nickel subchronic intoxication). *Toxicology.* 2015; 334: 33-44.
3. Varaksin A.N., Katsnelson B.A., Panov V.G., Privalova L.I., Kireyeva E.P., Valamina I.E., Beresneva Yu.O. Some considerations concerning the theory of combined toxicity: a case study of subchronic experimental intoxication with cadmium and lead. *Food Chem Toxicol.* 2014; 64:144-156.
4. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Kuzmin S.V., Kireyeva E.P., Minigaliev I.A., et al. Enhancing population's resistance to toxic exposures as an auxiliary tool of decreasing environmental and occupational health risks (a self-overview). *Journal of Environmental Protection.* 2014; 5: 1435-1449.
5. Minigaliev I.A., Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Panov V.G., Varaksin A.N., et al. Toxicodynamic and toxicokinetic descriptors of combined chromium(VI) and nickel toxicity. *Int J Toxicol.* 2014; 33(6): 498-505.
6. Panov V.G., Katsnelson B.A., Varaksin A.N., Privalova L.I., Kireyeva E.P., Valamina I.E., et al. Further development of mathematical description for combined (a case study of lead-fluoride combination). *J Toxicol Rep.* 2015; 2: 297-307.
7. Box G.E.P., Draper N.R. *Response Surfaces, Mixtures, and Ridge Analyses.* Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc; 2007.
8. Tallarida R.J. *Drug Synergism: Its Detection and Applications.* *J Pharmacol Exp Therapeutics.* 2001; 298 (3):865-872.
9. Euling S., Gennings C., Wilson E.M., Kemppainen J.A., Kelce W.R., Kimmel C.A. Response-Surface Modeling of the Effect of 5-Dihydrotestosterone and Androgen Receptor Levels on the Response to the Androgen Antagonist Vinclozin. *J Toxicol Sci.* 2002; 69 (2): 332-343.
10. Myers R.H., Montgomery D.C., Anderson-Cook C.M. *Response Surface Methodology. Process and Product Optimization Using Designed Experiments,* 3rd ed. New York: John Wiley & Sons; 2009.
11. Minigaliev I.A., Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Shur V.Ya., et al. Attenuation of combined nickel (II) oxide and manganese (II,III) oxide nanoparticles' adverse effects with a complex of bioprotectors. *Int J of Mol Sci.* 2015; 16 (9): 22555-22583.
12. Кацнельсон Б.А., Привалова Л.И., Гурвич В.Б., Кузьмин С.В., Киреева Е.П., Минигалиева И.А. и др. О роли биопрофилактики в системе мер управления профессиональными и экологически обусловленными химическими рисками для здоровья населения. *Токсикологический Вестник.* 2015; (1): 10-21.
13. Katsnelson B.A., Panov V.G., Varaksin A.N., Minigaliev I.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P. Changes in the «dose-response» relationship of one toxicant under simultaneous exposure to another toxicant. *Dose-response.* 2016; in press.
14. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Makeyev O.H., Shur V.Y., Beikin Y.B., et al. Comparative in vivo assessment of some adverse bio-effects of equidimensional gold and silver nanoparticles and the attenuation of nanosilver's effects with a complex of innocuous bioprotectors. *Int J Mol Sci.* 2013; 14: 2449-2483.

REFERENCES:

1. Tong T., Wilke C.M., Wu J., Binh C.T., Kelly J.J., Gaillard J.F., et al. Combined toxicity of nano-zno and nano-tio2: from single- to multinanomaterial systems. *J Environ Sci Technol.* 2015; 49 (13): 8113-8123.
2. Katsnelson B.A., Panov V.G., Minigaliev I.A., Varaksin A.N., Privalova L.I., Slyshkina T.V., et al. Further development of the theory and mathematical description of combined toxicity: an approach to classifying types of action of three factorial combinations (a case study of manganese-chromium-nickel subchronic intoxication). *Toxicology.* 2015; 334: 33-44.
3. Varaksin A.N., Katsnelson B.A., Panov V.G., Privalova L.I., Kireyeva E.P., Valamina I.E., Beresneva Yu.O. Some considerations concerning the theory of combined toxicity: a case study of subchronic experimental intoxication with cadmium and lead. *Food Chem Toxicol.* 2014; 64:144-156.
4. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Kuzmin S.V., Kireyeva E.P., Minigaliev I.A., et al. Enhancing population's resistance to toxic exposures as an auxiliary tool of decreasing environmental and occupational health risks (a self-overview). *Journal of Environmental Protection.* 2014; 5: 1435-1449.
5. Minigaliev I.A., Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Panov V.G., Varaksin A.N., et al. Toxicodynamic and toxicokinetic descriptors of combined chromium(VI) and nickel toxicity. *Int J Toxicol.* 2014; 33(6): 498-505.
6. Panov V.G., Katsnelson B.A., Varaksin A.N., Privalova L.I., Kireyeva E.P., Valamina I.E., et al. Further development of mathematical description for combined (a case study of lead-fluoride combination). *J Toxicol Rep.* 2015; 2: 297-307.
7. Box G.E.P., Draper N.R. *Response Surfaces, Mixtures, and Ridge Analyses.* Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc; 2007.
8. Tallarida R.J. *Drug Synergism: Its Detection and Applications.* *J Pharmacol Exp Therapeutics.* 2001; 298 (3):865-872.
9. Euling S., Gennings C., Wilson E.M., Kemppainen J.A., Kelce W.R., Kimmel C.A. Response-Surface Modeling of the Effect of 5-Dihydrotestosterone and Androgen Receptor Levels on the Response to the Androgen Antagonist Vinclozin. *J Toxicol Sci.* 2002; 69 (2): 332-343.
10. Myers R.H., Montgomery D.C., Anderson-Cook C.M. *Response Surface Methodology. Process and Product Optimization Using Designed Experiments,* 3rd ed. New York: John Wiley & Sons; 2009.
11. Minigaliev I.A., Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Shur V.Ya., et al. Attenuation of combined nickel (II) oxide and manganese (II,III) oxide nanoparticles' adverse effects with a complex of bioprotectors. *Int J of Mol Sci.* 2015; 16 (9): 22555-22583.
12. Кацнельсон Б.А., Привалова Л.И., Гурвич В.Б., Кузьмин С.В., Киреева Е.П., Минигалиева И.А. и др. О роли биопрофилактики в системе мер управления профессиональными и экологически обусловленными химическими рисками для здоровья населения. *Токсикологический Вестник.* 2015; (1): 10-21. (in Russian).
13. Katsnelson B.A., Panov V.G., Varaksin A.N., Minigaliev I.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P. Changes in the «dose-response» relationship of one toxicant under simultaneous exposure to another toxicant. *Dose-response.* 2016; in press.
14. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Makeyev O.H., Shur V.Y., Beikin Y.B., et al. Comparative in vivo assessment of some adverse bio-effects of equidimensional gold and silver nanoparticles and the attenuation of nanosilver's effects with a complex of innocuous bioprotectors. *Int J Mol Sci.* 2013; 14: 2449-2483.

I.A. Minigaliev

SOME REGULARITIES OF METAL OXIDE NPs COMBINED TOXICITY

Ekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, Rospotrebnadzor, 620014 Ekaterinburg, Russian Federation

Toxicity of oxides nanoparticles (NPs) of some metals was studied in outbred female rats under isolated and combined action of (NiO + Mn₃O₄; CuO + PbO; CuO + ZnO; PbO + ZnO; PbO + CuO + ZnO) using two experimental models: (a) a single intratracheal instillation in small doses 24 hours prior to the bronchoalveolar lavage procedure in cytology and biochemical investigations into the fluid produced; (b) repeated intraperitoneal injections at non-lethal dosage over 6 weeks to evaluate that sub-chronic intoxication produced using a great number of functional morphometric parameters and indicators of bio-distribution and elimination of the respective metals. Combination effects were described by various mathematical models including the construction of response surface. A variety of combined toxicity types was demonstrated for the same pair of NPs according to what concrete effect the toxicity was assessed and frequently also according to dose-dependent level of that effect. It was also shown that the risk-oriented approach to the classification of three-factor toxicity, previously developed for the combined action of metals in ion-molecular form, was adequate for NPs investigated,

Keywords: combined toxicity, nanoparticles.

Материал поступил в редакцию 18.11.2016 г.