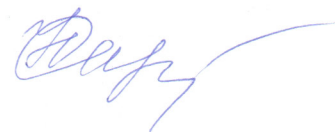


*На правах рукописи*



**САЯПИНА** *Нина Витальевна*

**ЭКОЛОГО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА  
УГЛЕРОДНЫХ НАНОМАТЕРИАЛОВ КАК ЗАГРЯЗНЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ**

Специальность 03.02.08 – Экология  
(биологические науки)

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Якутск - 2019

Работа выполнена на базе международной лаборатории ЮНЕСКО «Морская экология» Школы естественных наук федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Дальневосточный федеральный университет»

**Научный руководитель:** доктор биологических наук, профессор кафедры безопасности жизнедеятельности в техносфере Инженерной школы ФГАОУ ВО ДВФУ  
**Голохваст Кирилл Сергеевич**

**Официальные оппоненты:** **Гусев Александр Анатольевич**  
доктор биологических наук, доцент, директор НИИ экологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Тамбовский государственный университет имени Г. Р. Державина», г. Тамбов

**Залялов Рамиль Равилевич**  
кандидат медицинских наук, заместитель директора ГАУЗ «Республиканский медицинский информационно-аналитический центр», Республика Татарстан, г. Казань

**Ведущая организация:** ФБУН «Екатеринбургский медицинский научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, г. Екатеринбург

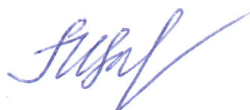
Защита состоится «17» февраля 2020 г. в 10:00 часов на заседании диссертационного совета Д212.306.03 при ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова» по адресу: 677000 г. Якутск, ул. Белинского 58.

E-mail: dsovet\_nefu@mail.ru

Отзывы на автореферат в двух экземплярах с заверенными подписями просим направлять по адресу: 677000 г. Якутск, ул. Белинского 58, ученому секретарю диссертационного совета. С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Северо-восточного федерального университета им. М.К. Аммосова: [www.s-vfu.ru](http://www.s-vfu.ru)

Автореферат разослан « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2019 г.

Ученый секретарь



Щелчкова Марина Владимировна

**Актуальность темы.** В настоящее время в сфере современных технологий наноматериалы находят широкое применение. Одновременно со стремительным развитием нанотехнологий учеными ставится вопрос о токсичности наноматериалов. В связи с этим в начале 2000-х гг. появилась новая наука – нанотоксикология – наука о воздействии наноматериалов и наночастиц на живой организм. Рост производства и применения наноматериалов может повлечь возникновение непредвиденных экологических катастроф, вызванных попаданием новых материалов, например, многослойных углеродных нанотрубок, в частности, в водные системы, с дальнейшим воздействием на живые организмы (Бородкин, 2011). Именно поэтому исследование «поведения» наноматериалов в окружающей среде, по мнению ряда ученых, сейчас является наиболее государственно-значимой задачей, напрямую связанной с проблемой биологической безопасности страны (Супотницкий и др., 2009; Lopes et al., 2016; McGillicuddy et al., 2017). Большинство работ касаются наночастиц металлов, а вопрос «поведения» углеродных наноматериалов в окружающей среде, в том числе и в водных ресурсах, остается нераскрытым.

В Российской Федерации не разработаны ГОСТ или СанПиН, устанавливающие предельно допустимые концентрации наночастиц (Абаева и др., 2010). Имеется ГН 1.2.2633-10 «Гигиенические нормативы содержания приоритетных наноматериалов в объектах окружающей среды» (ГН 1.2.2633-10), утвержденный в 2010 году и действующий на всей территории Российской Федерации. Этот документ лишь частично касается проблем влияния наночастиц на окружающую среду и устанавливает гигиенические нормативы содержания наночастиц диоксида титана, серебра и одностенных углеродных нанотрубок (ОСУНТ). Очевидно, что этот список должен быть дополнен многослойными углеродными нанотрубками, углеродными нановолокнами (УНВ).

Современная индустриализация производства, появление нанотехнологий, требует разработки передового оборудования и технологий для очистки и получения питьевых характеристик воды (Войтов, Сколубович, 2013). В настоящее время проблема загрязнения природных вод носит глобальный характер (Тутурова, 2016). Основными мишенями при химическом загрязнении вод становятся гидробионты, а также высшие животные и человек, находящиеся на высших уровнях пищевой пирамиды (Гвоздовский, 2016; Тутурова, 2016). По мнению исследователей, несмотря на соответствие качества водопроводной воды санитарным нормам, население испытывает проблемы со здоровьем при использовании её в бытовой жизни (Гвоздовский, 2016).

Большинство ученых сходятся во мнении, что углеродные наноматериалы обладают токсическим эффектом за счёт интенсификации образования активных форм кислорода, способных в повышенных концентрациях стимулировать клеточный апоптоз, проявлять мутагенные свойства (Yanamala et al., 2013; Costa, Fadeel, 2016). Известно, что такие наночастицы способны легко преодолевать защитные барьеры организма и оказывать негативное влияние на генетический материал (Engin et al., 2015; Piperigkou et al., 2016). Вместе с тем, вопрос отсроченного влияния на живые организмы остается пока открытым и требует своего изучения.

**Цель и задачи работы:** дать эколого-биологическую оценку углеродным наноматериалам как загрязняющим веществам антропогенного происхождения.

Для достижения цели исследования были сформулированы следующие задачи:

1. Исследовать химическую структуру и «поведение» углеродных наноматериалов (УНМ) в окружающей среде (на примере водной среды) и дать экологическую оценку.
2. Оценить морфологические изменения при воздействии углеродных нановолокон на организм животных при пероральном введении.
3. Исследовать биохимические показатели крови у крыс при пероральном употреблении углеродных наноматериалов.
4. Изучить в динамике изменения показателей высшей нервной деятельности у животных на фоне воздействия углеродных наноматериалов как экологического фактора при пероральном введении.

**Научная новизна исследования.** Впервые показано, что углеродные наноматериалы (УНМ) в воде являются длительно персистирующими токсикантами. Углеродные наноматериалы в воде находятся не в виде единичных структур, а в виде агрегатов во взвешенном состоянии 24 часа. Впервые показано, что при воздействии течения (в эксперименте с использованием ультразвукового диспергирования) агрегаты углеродных нановолокон увеличиваются в размерах, а также впервые выявлено, что углеродные нановолокна, как тип загрязняющих веществ, при краткосрочном введении крысам в виде агрегатов вызывают стойкие морфофункциональные отклонения в органах желудочно-кишечного тракта и, как следствие, снижают адаптивные возможности животных. В частности, установлено, что органы желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) механически повреждаются всеми исследованными типами углеродных нановолокон, что проявляется вакуолизацией и некрозом. Впервые исследована реакция ткани головного мозга крыс на введение

углеродных наноматериалов. Впервые изучено и проанализировано влияние загрязняющих веществ на компоненты врожденного и приобретенного поведения у крыс при сроках экспозиции 3 и 10 дней. В частности, показано, что углеродные наноматериалы способны снижать показатели исследовательской и поисковой активности (ИА и ПА) у крыс и увеличивать их тревожность. Углеродные нановолокна повышают биохимические маркеры воспаления интерлейкин-10 (ИЛ-10) и интерлейкин-6 (ИЛ-6) у крыс при пероральном применении.

**Теоретическая значимость работы.** Полученные экспериментальные данные о динамике изменения показателей поведения крыс, в связи с воздействием на них углеродных наноматериалов, расширяют имеющиеся представления о токсическом действии последних на поведенческом, биохимическом, морфологическом уровнях. Сведения, полученные в ходе эксперимента, об особенностях изменения различного рода активности на фоне перорального употребления углеродных наноматериалов, имеют теоретическую и практическую значимость для экологических, биомедицинских дисциплин, а также для профилактической медицины.

**Практическая значимость работы.** Полученные в работе данные о «поведении» УНМ в водной среде и их токсичности по отношению к живым организмам могут быть учтены в качестве рисков при проектировании, включая расположение по отношению к водным объектам и эксплуатации, предприятий по производству наноматериалов.

#### **Основные положения, выносимые на защиту.**

1. Углеродные наноматериалы при попадании в воду образуют устойчивые агрегаты (АгУНМ), которые 24 часа могут находиться во взвешенном состоянии и в течение недели стремятся к осаждению. При имитации естественного течения перемешиванием ультразвуком (от 10 до 100 Вт) агрегаты углеродных нановолокон (АгУНВ) увеличиваются в размере.

2. Агрегаты углеродных наноматериалов (АгУНМ) при краткосрочном пероральном введении в организм животных вызывают морфофункциональные изменения в органах желудочно-кишечного тракта, вызывая повреждения и нарушение функции (воспаление, единичный некроз, повышают уровень ИЛ-6 и ИЛ-10) эпителия органов желудочно-кишечного тракта, чем снижают адаптивные возможности животных, проявляющиеся в поведенческих характеристиках.

**Степень достоверности и апробация результатов.** Степень достоверности полученных результатов выражается в комплексном подходе с применением научных методов исследования, с

использованием статистической обработки полученных данных. Выводы отражены наглядно с помощью рисунков и таблиц диссертации.

Результаты исследований и основные положения диссертационной работы представлялись и обсуждались: на Sixteen International Conference on the Science and Application of Nanotubes (28.06–3.07.2015, Nagoya, Japan); 68-й Итоговой студенческой научной конференции АГМА (18–28 апреля 2016 г., Благовещенск, РФ);

**Личный вклад автора.** Автор принимал участие в исследованиях физико-химического и гистологического профиля. Самостоятельно провел эксперименты по исследованию влияния наноматериалов на лабораторных животных, выполнил физиологические исследования, проанализировал и интерпретировал полученные данные. Автор принимал непосредственное участие в подготовке всех опубликованных по материалам диссертации статей и тезисов докладов.

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 7 работ, в том числе 3 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, 2 статьи в зарубежных журналах.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация изложена на 125 страницах. Содержит введение, 3 главы, выводы, список сокращений и условных обозначений, а также список литературы. Последний включает 146 источников, в том числе 77 иностранных. Диссертация иллюстрирована 24 таблицами и 24 рисунками.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента Российской Федерации для молодых докторов наук МД-7737.2015.6.

**Благодарности.** Выражаю благодарность моему научному руководителю д.б.н. К.С. Голохвасту, а также д.б.н. Т.А. Баталовой за поддержку на всех этапах становления моего научного мировоззрения и всестороннюю поддержку в процессе работы над диссертацией. Также выражаю благодарность за сотрудничество к.б.н. Ю.А. Галышевой, к.б.н. А.А. Сергиевичу, к.б.н. В.В. Чайке.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

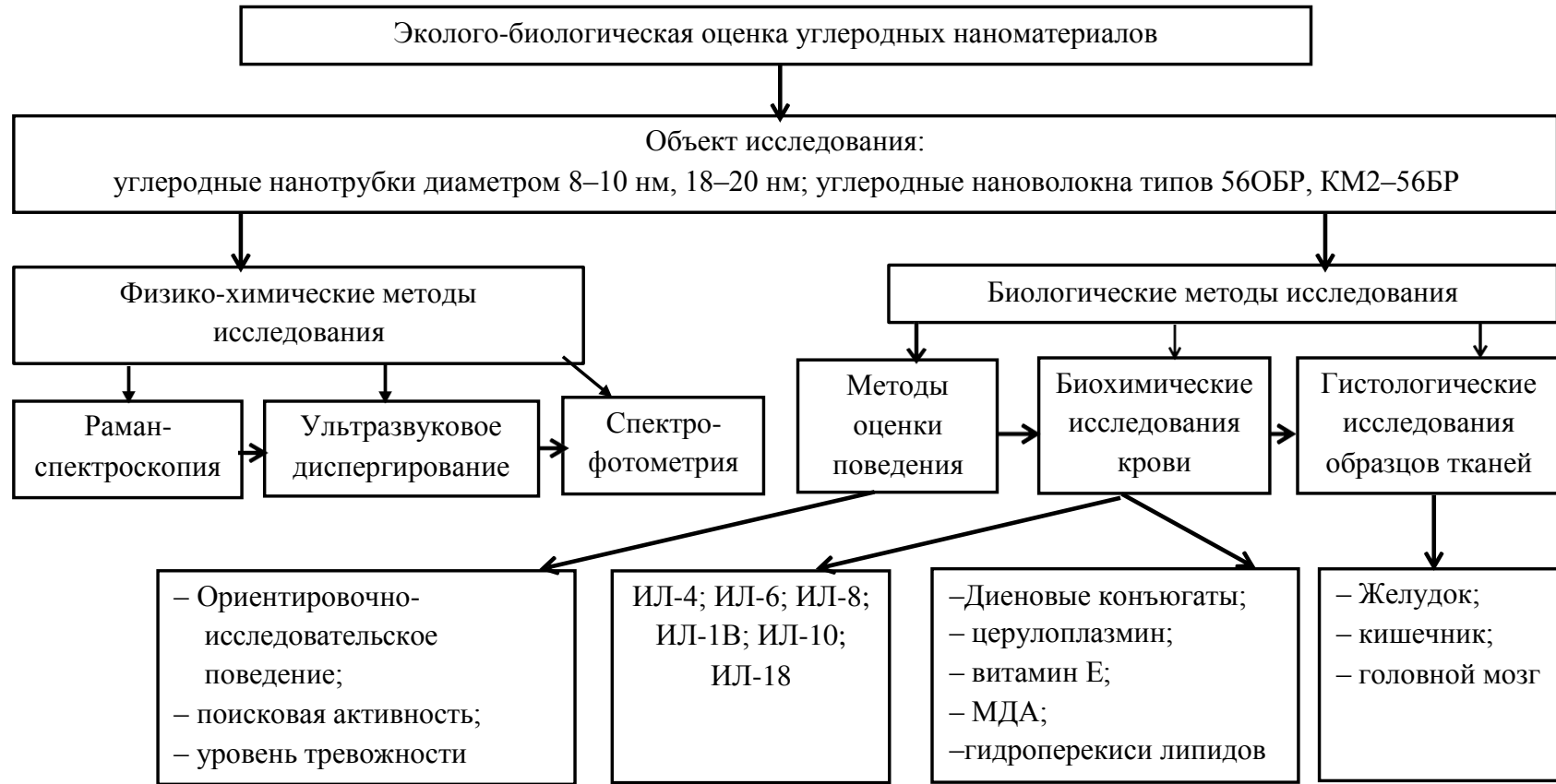


Рисунок 1. Структурная схема эколого-биологического исследования углеродных наноматериалов

В работе использовались два типа многослойных углеродных нанотрубок (МУНТ-1 (8-10 нм) и МУНТ-2 (18-20 нм).) МУНТ-1 содержали примеси: Fe – 0,6%, Co – 0,3%, Al – 0,9%, МУНТ-2: Fe – 0,2%, Co – 0,12%, Ca – 0,004%, Cl – 0,08% . Два типа нановолокон: 56ОБР, КМ2-56БР, диаметром от 20 до 200 нм (в среднем 85 нм). Исследуемые наноматериалы были синтезированы в Институте катализа им. Г.К. Борескова Сибирского отделения Российской академии наук (СО РАН) (Новосибирск).

Эколого-биологическая оценка углеродных наноматериалов осуществлялась физико-химическими и биологическими методами исследования. Спектроскопия комбинационного рассеяния выполнена на приборе Morphologi-G3-ID (Malvern, Великобритания).

Ультразвуковое диспергирование суспензии УНМ в водопроводной воде, концентрацией 100 мг/л осуществлялось диспергатором Bandelin Sonopulse HD 3100. Режим диспергирования 10 Вт и 100 Вт. Исследование проводилось в течение 3 мин (энергия  $(6384 \pm 120)$  кДж). Спектрофотометрия раствора объемом 4 мл выполнена кинетическим методом на двухканальном спектрофотометре Shimadzu UV 2550. Каждую минуту в течение недели (всего 10 080 измерений) прибор снимал показания светопоглощения при длине волны 195 нм.

В качестве дисперсной среды использовалась водопроводная вода. Проба воды объемом 5 мл была исследована на масс-спектрометре Element XR (фирма «Thermo Scientific») согласно методике, изложенной в ЦВ 3.18.05-2005 «Качество воды. Методика выполнения измерений элементного состава питьевых, природных, сточных вод и атмосферных осадков методом масс-спектрометрии с ионизацией в индуктивно связанной плазме».

Биологические методы работы осуществлялись с участием лабораторных животных. Работа с животными выполнялась согласно правилам лабораторной практики. По истечении срока адаптации, лабораторные крысы были разбиты на группы по 10 особей в каждой группе, случайным образом. Экспериментальные группы животных один раз в сутки, получали в качестве питания МУНТ и УНВ в дозировке 500 мг/кг. Взвешивание навесок МУНТ проводилось на претенциозных весах Shimadzu AUX 220. Исследование показателей поведения с помощью методик: «открытое поле», «приподнятый крестообразный лабиринт», «универсальная проблемная камера» осуществлялось на 1-й день эксперимента, после 3 дней и после 10 дней употребления лабораторными крысами наноматериалов. При стандартном освещении, в определенные часы (в 16.00).



Лабораторные животные выводились из эксперимента методом обескровливания. Взятие образцов крови, желудочно-кишечного тракта и ткани головного мозга крыс осуществлялось после наступления наркотического эффекта.

Структурная схема эколого-биологического исследования углеродных наноматериалов представлена на рисунке 1.

#### **Математические методы анализа полученных данных.**

Полученные результаты подвергались статистическому сравнению с соответствующими контрольными группами, оценка осуществлялась непараметрическим методом статистической обработки с использованием критерия U - Манна-Уитни. Средняя арифметическая и ее отклонение оценивались по t-критерию в программе STATISTICA 6.1.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

### **1. Физико-химическое исследование углеродных наноматериалов**

#### **1.1. Раман-спектроскопия углеродных наноматериалов**

Исследование углеродных нановолокон с помощью Раман-спектроскопии показало, что углеродные нановолокна имеют упорядоченную структуру, представленную кристаллическим углеродом. Сдвиг сигнала *D*-пика с  $1299\text{ см}^{-1}$  и *G*-пика с  $1953\text{ см}^{-1}$  до  $1313\text{ см}^{-1}$  и  $1598\text{ см}^{-1}$  у УНВ-2 (тип КМ2-56 ОБР) свидетельствует об увеличении количества упорядоченных связей и уменьшении количества дефектов (рисунок 2). Исследование многослойных углеродных нанотрубок с помощью Раман-спектроскопии показало, что многослойные углеродные нанотрубки имеют дефекты. Образец МУНТ-2 имеет наименьшее количество нанотрубок без дефектов и характеризуется менее упорядоченной структурой. *D*-пик ( $1308\text{ см}^{-1}$ ) относится к беспорядочной структуре или дефектам в трубках. Линия на уровне  $1605\text{ см}^{-1}$ , соответствующая *G*<sup>+</sup>-полосе, также является показателем для связанного  $\text{sp}^2$ -углерода (рисунок 3).

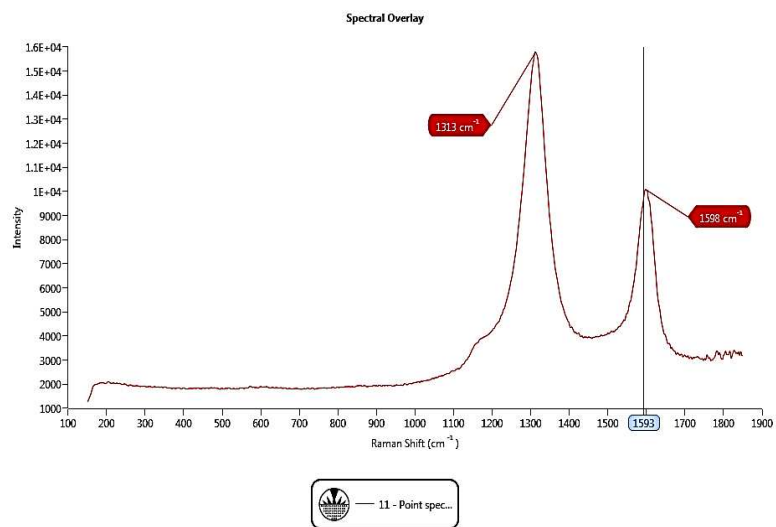


Рисунок 2. Рамановский спектр KM2-56ОБР

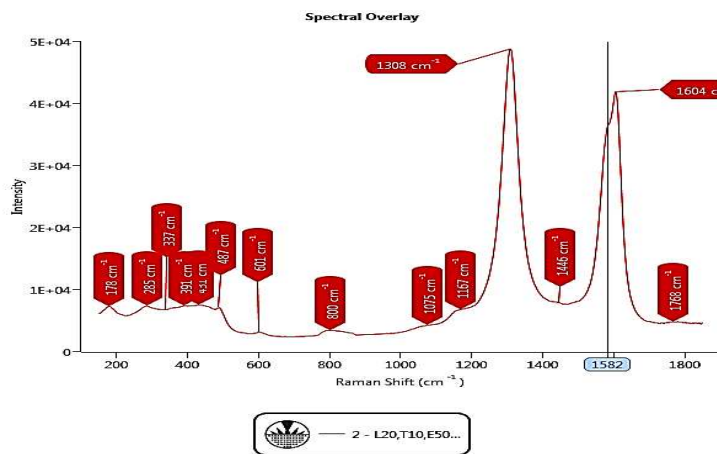


Рисунок 3. Рамановский спектр МУНТ-2 (18-20 нм)

### 1.2. Поведение углеродных нановолокон в водопроводной воде

После обработки ультразвуком проб углеродных нановолокон в воде объемом 100 мг/л наблюдалось увеличение размера агрегатов до 500-1000 мкм при мощности 10 Вт и 100 Вт.

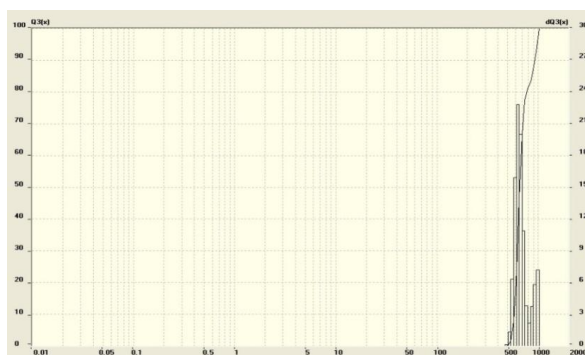


Рисунок 4. УНВ (560БР) после УЗ диспергирования 100 Вт (сильное течение).

### 1.3. Исследование осаждения углеродных наноматериалов

Результаты показали, что углеродные нанотрубки осаждаются в течение 24 часов. Зависимость светопоглощения от времени для МУНТ-1 (8-10 нм) представлена на рисунке 5.

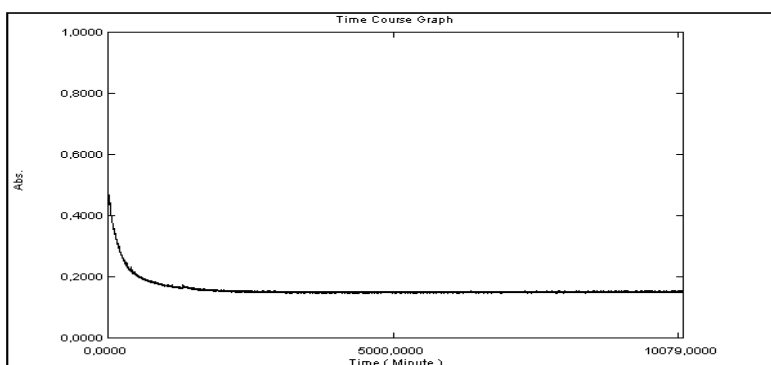


Рисунок 5. График светопоглощения раствора МУНТ 1 при длине волны 195 нм в зависимости от времени (10800 минут).

Углеродные нановолокна за неделю нахождения в водопроводной воде полностью не оседают; часть из них продолжает находиться во взвеси, что является фактором экологической опасности (рисунок 6).

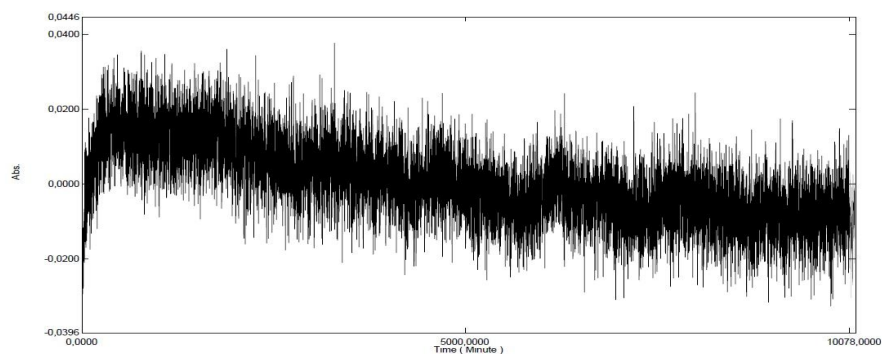


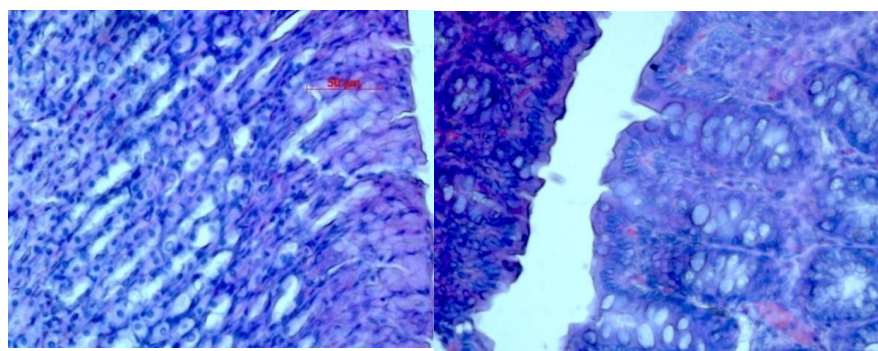
Рисунок.6. График светопоглощения раствора УНВ (56ОБР) при длине волны 195 нм в зависимости от времени (10800 точек).

## **2. Результаты гистологических исследований**

### **2.1. Морфологическая оценка влияния углеродных нановолокон на органы пищеварения крыс при пероральном введении**

Результаты гистологических исследований клеток органов желудочно-кишечного тракта крыс, получавших с питанием УНВ, указывали на утолщение слизистой оболочки желудка, что является следствием механического раздражения углеродными нановолокнами.

В группе животных, получавших УНВ марки КМ2-56БР, в поверхностных слоях слизистой оболочки отмечались дистрофические изменения и некрозы. Ядра не прослеживались, границы клеток стерты. В слизистой оболочке кишечника в группах животных, получавших УНВ 56ОБР и УНВ КМ2-56БР, наблюдалось выраженное слизиобразование. В эпителии обнаружено множество бокаловидных клеток с вакуолями, заполненными слизью. В экспериментальных группах крыс в подслизистом слое отмечалась гипертрофия лимфоидных фолликулов.



А)

Б)

Рисунок 7. Гистологическое строение органов желудочно-кишечного тракта у крыс при введении УНВ КМ2-56БР. А) строение слизистой стенки желудка x400; Б) строение стенки тонкого кишечника x400;

## 2.2 Морфологическая оценка влияния углеродных нановолокон на головной мозг крыс

Исследовано влияние перорального введения УНВ на ткань мозга крыс. У животных, получавших углеродные нановолокна, в строении белого и серого вещества головного мозга не было обнаружено отличий от крыс контрольной группы. Мягкая мозговая оболочка и кора мозга у крыс были без повреждений, отека, инфильтрации и кровоизлияний. Сосуды мягкой мозговой оболочки были нормального кровенаполнения. Гистоархитектоника коры головного мозга сохранялась, прослеживались слои.

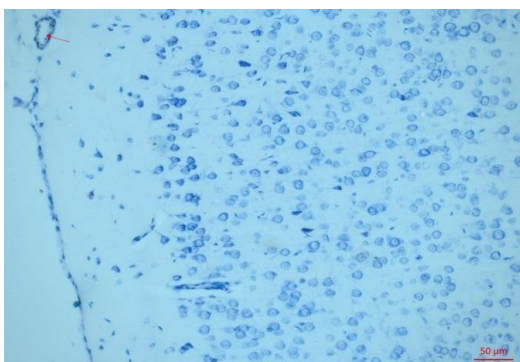


Рисунок.8. Гистологическое строение коры мозга (серое вещество) с мягкой мозговой оболочкой у крыс в группе УНВ КМ2-56БР. Увеличение x200.

### 2.3. Исследование влияния углеродных наноматериалов на поведенческие показатели

Изменения интегрального показателя ориентировочно-исследовательской активности крыс при употреблении углеродных наноматериалов представлены в таблице 1(А,Б).

Все интегральные поведенческие показатели представлены, как статистически рассчитанные средние величины по экспериментальным группам животных. Интегральный показатель ИА в тесте «открытое поле» у животных контрольной группы в серии экспериментов по введению МУНТ увеличивался через 3 дня эксперимента на 16% и на 34% (от 56.81±9.41 до 76.30±15.98) за 10 дней опыта (табл.1А). У крыс, получавших МУНТ-1 (8-10нм) и МУНТ-2 (18-20 нм) зафиксировано снижение исследовательской активности в тесте «открытое поле» на 3-й и 10-й дни эксперимента на 36 и 73% (p<0,05), соответственно, при введении МУНТ-1, а при введении МУНТ-2 на 70 и 77%, соответственно.

В приподнятом крестообразном лабиринте показатель ИА крыс контрольной группы увеличился к 10 дню на 16%. У животных, получавших МУНТ-1 значение ИА по показателю «приподнятый крестообразный лабиринт» к 3-у дню практически не изменилось, а к 10-у дню снизилось на 51% (p<0,05); получавших МУНТ-2 снизилось к 3-у дню на 34%, к 10-у дню - на 62% (p<0,05).

Таблица1. Изменения интегрального показателя ориентировочно-исследовательского поведения в экспериментальных группах.

А)

Тип вводимого крысам МУНТ	Интегральный показатель исследовательской активности					
	«открытое поле»			«приподнятый крестообразный лабиринт»		
	контроль	После 3 дней	После 10 дней	контроль	После 3 дней	После 10 дней
контроль	56.81±9.41	66.02±15.82	76.30±15.98	19.80±3.50	18.65±4.33	22.94±4.25
МУНТ-1	60.07±11.55	36.18±10.68	15.95±4.73**	20.57±3.77	20.47±5.82	10.20±4.01*
МУНТ-2	84.21±18.80	25.24±7.73*	19.60±8.31*	22.60±5.55	14.97±4.22	8.67±2.52*

Б)

Тип вводимого крысам УНМ	Интегральный показатель исследовательской активности					
	«открытое поле»			«приподнятый крестообразный лабиринт»		
	контроль	После 3 дней	После 10 дней	контроль	После 3 дней	После 10 дней
Контроль	79.08±8.23	72.14±8.00	57.92±6.06	21.83±3.42	23.41±3.72	19.20±2.39
УНВ-1	84.99±7.07	76.46±12.98	53.90±10.41	22.61±3.06	20.08±4.47	18.18±2.99
УНВ-2	79.11±4.29	80.74±5.14	63.12±4.87	29.18±4.50	16.46±2.58	9.94±2.09**

Примечание: \* - при p<0,05, \*\* - при p<0,01

В экспериментах с углеродными нановолокнами исследовательская активность по показателю «открытое поле» снижалась у крыс всех трёх групп: у животных контрольной группы – на 27%, у крыс, получавших УНВ-1 – на 37%, получавших УНВ-2 – на 20% (табл. 1Б). По тесту «приподнятый крестообразный лабиринт» динамика изменений интегрального показателя ИА была иной (табл. 1Б). В крыс контрольной группы крыс и у животных, получавших УНВ-1, этот показатель к 10 дню эксперимента статистически недостоверно снижался на 12 и на 20%, соответственно. В крыс, получавших УНВ-2, статистически достоверно снижался на 66% ( $p < 0,01$ ).

Изменения интегральных показателей тревожности крыс по поведенческим тестам при употреблении углеродных наноматериалов приведены в таблице 2.

Интегральный показатель тревожности по критерию «открытое поле» увеличивался к 10-у дню эксперимента у животных всех трёх групп: у крыс контрольной группы - на 54% (статистически недостоверно), крыс, получавших МУНТ-1, - на 182% ( $p < 0,01$ ), у животных, получавших МУНТ-2, – на 92% ( $p < 0,05$ ). Интегральный показатель тревожности по критерию «приподнятый крестообразный лабиринт» к 10-у дню эксперимента у животных контрольной группы статистически недостоверно уменьшался на 9%; у крыс, получавших МУНТ-1 или МУНТ-2, практически не изменялся. Но в сравнении с контрольной группой в экспериментальных группах на 10 день по критерию Манна-Уитни зафиксированы статистически достоверные увеличения данного показателя ( $p < 0,05$ ).

Таблица 2. Изменения интегральных показателей уровня тревожности крыс при употреблении углеродных наноматериалов.

А)

Тип вводимого крысам МУНТ	Интегральный показатель тревожности крыс					
	«открытое поле»			«приподнятый крестообразный лабиринт»		
	контроль	После 3 дней	После 10 дней	контроль	После 3 дней	После 10 дней
контроль	3.41±1.25	5.92±1.26	5.27±1.24	61.58±2.37	59.30±3.90	55.92±2.89
МУНТ 1	3.67±0.83	8.19±1.66	10.37± 0.82**	63.92±2.12	55.18±5.43	66.04±3.60*
МУНТ 2	4.63±1.76	8.44±1.62	8.91±1.69*	58.94±3.99	54.32±6.71	59.36±2.36*

Б)

Тип вводимого крысам УНМ	Интегральный показатель тревожности крыс					
	«открытое поле»			«приподнятый крестообразный лабиринт»		
	контроль	После 3 дней	После 10 дней	контроль	После 3 дней	После 10 дней
Контроль	2.23±0.49	3.19±0.58	2.43±0.34	58.94±3.98	45.08±6.92	51.96±7.68
УНВ 1	2.31±0.50	2.82±0.31	3.79± 0.74	48.92±4.23	49.98±6.17	45.02±7.48
УНВ 2	2.77±0.50	2.24±0.56	3.60±0.92	48.32±5.50	54.04±5.20	64.36±3.36

Примечание: \* - при  $p < 0,05$ , \*\* - при  $p < 0,01$

По тесту «приподнятый крестообразный лабиринт» интегральный показатель к 10-у дню эксперимента у животных, получавших УНВ-1 или УНВ-2 изменялся недостоверно по отношению к животным контрольной группы: у животных контрольной группы он снижался на 13%, у животных, получавших УНВ-1 снижался на 8%, а у крыс, получавших УНВ-2 повышался на 33%.

Таблица 3. Изменение когнитивного показателя лабораторных крыс.

А)

группа	с использованием МУНТ 1			использованием МУНТ 2			контроль		
	1 день	3 день	10 день	1 день	3 день	10 день	1 день	3 день	10 день
Когнитивный показатель (M±m)	44.92±10.96	22.71±7.38	0.00±0.00	42.55±6.58	18.71±8.05	0.00±0.00	42.89±5.01	44.68±11.09	41.03±7.10
U -критерий	P= 0,88	P=0,096	P=0,001	P= 0,88	P=0,06	P=0,001			

Б)

Группа	с использованием УНВ 1			с использованием УНВ 2			контроль		
	1 день	3 день	10 день	1 день	3 день	10 день	1 день	3 день	10 день
Когнитивный показатель (M±m)	54.90±11.99	56.60±5.95	36.10±8.18	50.60±9.11	56.60±9.37	57.20±10.91	57.20±7.86	44.30±9.02	58.90±10.00
U -критерий	P= 0,68	P=0,16	P=0,14	P= 0,45	P=0,24	P=0,94			

При изучении влияния потребления крысами МУНТ-1 и МУНТ-2 на когнитивный показатель было установлено, что у животных контрольной группы в течение 10 дней эксперимента он оставался в пределах 41.03±7.10 – 44.68±11.09 (таблица 3). У животных же получавших МУНТ-1 и МУНТ-2 этот показатель имел тенденцию к снижению к 3-у дню эксперимента, на 50 и 56%, соответственно. К 10-у дню эксперимента определить когнитивный показатель у крыс экспериментальных групп не удалось в силу отказа от поиска.

Изучение влияния потребления крысами УНВ-1 и УНВ-2 на когнитивный показатель не выявило достоверных различий по U-критерию с животными контрольной группы, кроме снижения данного показателя на 34% группы на 10-й день эксперимента у крыс, потребляющих УНВ-1.

#### **2.4. Исследование биохимических показателей крови при воздействии углеродных наноматериалов**

Из данных, приведенных в таблице 4 следует, что потребление крысами МУНТ в течение 10 дней не оказывает достоверного влияния на состояние прооксидантно-антиоксидантной системы крови.



Таблица 4. Показатели ПОЛ сыворотки крови лабораторных белых крыс.

Тип вводимого крысам МУНТ	Показатели крови крыс (M ±m)				
	гидроперекиси липидов нмоль/мл	Витамин Е мкг/мл	церулоплазмин мг/100мл	дienesые конъюгаты нмоль/мл	МДА нмоль/мл
Контроль	35.99±1.722	46.38±1.66	20.22±0.59	37.65±1.62	4.93±0.31
МУНТ 1	35.69±1.18	48.35±1.70	20.30±0.90	39.06±1.45	5.06±0.12
МУНТ 2	33.21±1.12	47.56±2.18	21.35±0.94	38.85±0.91	5.00±0.25

Данные, приведенные в таблице 5 свидетельствуют о том, что потребление крысами УНВ в течение 10 дней приводит к достоверному увеличению в крови крыс интерлейкинов ИЛ-6 и ИЛ-10.

Таблица 5. Интерлейкины крови крыс, употреблявших углеродные нановолокна (пг/мл).

Тип вводимого крысам УНВ	Содержание интерлейкинов крови крыс (M ±m)					
	ИЛ-4	ИЛ-6	ИЛ-8	ИЛ-1В	ИЛ-10	ИЛ-18
Контроль	0.00±0.00	0.019±0.01	0.00±0.00	3.05±0.76	0.838±0.19	125.57±13.70
УНВ 1	0.00±0.00	0.688±0.19*	0.128±0.14	4.60±0.99	2.019±0.36*	202.60±49.52
УНВ 2	0.00±0.00	0.306±0.03*	0.080±0.08	4.74±1.41	2.817±0.33*	202.97±83.97

Отсутствие естественных процессов биодegradации, высокая кумулятивная способность углеродных наноматериалов, увеличивает риски передачи высшим животным по пищевым цепям.

Угнетение показателей ИА, по нашим предположениям, может быть обусловлено развитием воспалительных процессов в ЖКТ, увеличением продукции провоспалительных интерлейкинов с сопутствующим снижением стрессоустойчивости животных, проявляющемся в угасании мотивированного поведения, исследовательской и двигательной активностей, снижении памяти, усилении тревожности, потери аппетита.

Разрозненные изменения когнитивного показателя и компонентов исследовательской активности при употреблении углеродных нановолокон позволяют предположить, что причиной позитивных изменений качественных характеристик поведенческой сферы (увеличение когнитивного показателя) является компенсация снижения количественных характеристик поведенческой активности в силу соматических причин. Результаты полученных данных дают нам основание предполагать запуск компенсаторных механизмов в рамках физиологической нормы. Таким образом, можно считать, что в течение 10 дней выраженные цитотоксические эффекты в структурах головного мозга не успевают сформироваться.

## ВЫВОДЫ

1. Углеродные нанотрубки и углеродные нановолокна из-за неоднородности своей поверхности при попадании в водную среду в течение не менее 24 часов находятся в ней в состоянии взвеси, в дальнейшем агрегируют и стремятся к осаждению.

2. Углеродные нановолокна при пероральном краткосрочном введении крысам, транзитивно проходят через желудочно-кишечный тракт, вызывая морфологические изменения в органах желудочно - кишечного тракта животных.

3. Потребление крысами многослойных углеродных нанотрубок в дозировке 500 мг/кг, в течение 10 дней не влияет на состояние проокислительно-антиоксидантной системы крови.

4. Углеродные нановолокна в течение 10 дней перорального употребления крысами, способствуют повышению уровня интерлейкинов -6 и -10 в крови у крыс.

5. Углеродные наноматериалы снижают показатели исследовательской активности. В частности, многослойные углеродные нанотрубки способствуют развитию депрессии поискового поведения, вплоть до полного отказа от поиска. Углеродные нановолокна подобного эффекта не вызывают.

6. Многослойные углеродные нанотрубки вызывают значительное повышение тревожности лабораторных животных, тогда как углеродные нановолокна в течение 10 дней эксперимента оказывают неоднозначное влияние на показатели тревожности.

## РЕКОМЕНДАЦИИ ДЛЯ ПРАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Полученные результаты могут быть использованы в учебном процессе и в дальнейших научных исследованиях в Дальневосточном федеральном университете, Амурской государственной медицинской академии и ряде академических и отраслевых НИИ Сибири и Дальнего Востока.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### **Работы, опубликованные в изданиях, рекомендуемых ВАК Минобрнауки РФ**

1. Саяпина Н.В., Сергиевич А.А., Баталова Т.А., Новиков М.А., Асадчева А.Н., Чайка В.В., Голохваст К.С. Экологическая и токсикологическая опасность углеродных нанотрубок: обзор российских публикаций // Известия Самарского научного центра РАН, 2014. - Т. 16, № 5(2). - С. 949-953.

2. Чайка В.В., Саяпина Н.В., Баталова Т.А., Сергиевич А.А., Мишаков И.В., Ведягин А.А., Новиков М.А., Голохваст К.С. Морфологическая оценка влияния разных типов углеродных нановолокон на некоторые внутренние органы (почки, селезенка) крыс линии Вистар // Известия Самарского научного центра РАН, 2014. - Т. 16, №5 (4). - С. 1247-1250.

3. Sayapina, N.V., Batalova, T.A., Chaika, V.V., Kuznetsov, V.L., Sergievich, A.A., Kolosov, V.P., Perel'man, Y.M., Golokhvast, K.S. Multi-walled carbon nanotubes increase anxiety levels in rats and reduce exploratory activity in the open field test // Doklady Biological Sciences, 2015. Vol. 464, Issue 1. Pages 223-225

### **Работы, опубликованные в иностранных журналах**

4. Chaika V.V., Sayapina N.V., Batalova T.A., Sergievich A.A., Mishakov I.V., Vedyagin A.A., Novikov M.A., Drozd V.A., Ugay S.M., Golokhvast K.S. Morphological Assessment of Influence of Carbon Nanofibers on Digestive Organs of Wistar Rats Upon Oral Administration // Biology and Medicine, 2015. Vol. 7(1): BM-075-15, 5 pages.

5. Sayapina N.V., Sergievich A.A., Kuznetsov V.L., Chaika V.V., Khoroshikh P.P., Batalova T.A., Tsatsakis A.M., Golokhvast K.S. Influence of multi-walled carbon nanotubes on the cognitive abilities of wistar rats // Experimental and Theoretical Medicine, 2016. Vol. 12 (3), pp. 1311-1318.

#### Работы, опубликованные в других изданиях

6. Голохваст К.С., Чайка В.В., Сергиевич А.А., Саяпина Н.В., Баталова Т.А., Мишаков И.В., Ведягин А.А., Новиков М.А. Морфологическая оценка влияния углеродных нановолокон на органы пищеварения крыс линии Вистар при пероральном введении в течении 14 дней // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2016. №4. 2-1.

7. Sayapina N.V., Batalova T.A., Chaika V.V., Kuznetsov V.L., Krasnikov D.V., Golokhvast K.S. Carbon nanotubes reduce research activity of rats in the open field test // Abstracts of the Sixteen International Conference on the Science and Application of Nanotubes. June 28 – July 3, 2015, Nagoya, Japan. P. 478.

#### Список сокращений

УНМ – углеродные наноматериалы

УНВ – углеродные нановолокна

УНВ-1 – углеродные нановолокна типа 56ОБР

УНВ-2 – углеродные нановолокна типа КМ2-56БР

УНТ – углеродные нанотрубки

УНТ-1 – углеродные нанотрубки диаметром 8-10 нм

УНТ-2 – углеродные нанотрубки диаметром 18-20 нм

АгУНВ – агрегаты углеродных нановолокон

АгУНМ – агрегаты углеродных наноматериалов

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ИА – исследовательская активность

ПА – поисковая активность

УТ – уровень тревожности

ИЛ - интерлейкин