

<https://doi.org/10.32782/2786-9067-2023-26-12>

УДК 615.9:616.3:576:546.3

ПОРІВНЯЛЬНА ТОКСИКОЛОГО-ГІГІЄНІЧНА ОЦІНКА НОВИХ НАНОПОРОШКІВ TiO_2 ТА TiO_2-Ag

Яворовський О.П.¹, Рябовол В.М.¹, Зазуляк Т.С.²

¹Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ, Україна

²Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, м. Львів, Україна

Анотація. Наночастинки, зокрема діоксиду титану, широко застосовуються в різних галузях, таких як медицина, електроніка, будівництво, косметична та інша промисловість. За результатами просвітлюючої електронної мікроскопії встановлено, що нанопорошок TiO_2 містить агрегати, наночастинки переважно розміром від 20 нм до 30 нм. Встановлено для наноконструкції TiO_2-Ag , що срібло локалізується на поверхні діоксиду титану, середні розміри наночастинок TiO_2 становлять від 13 нм до 20 нм і Ag – від 35 нм до 40 нм. Виявлено залежність летальності лабораторних тварин від дози введених нанопорошків TiO_2 і TiO_2-Ag внутрішньоочеревинним шляхом. Летальність виявилась вищою при введенні композиції нано- TiO_2-Ag у порівнянні з нано- TiO_2 . LD_{50} для нанопорошку TiO_2 дорівнює 4783,30 мг/кг, LD_{50} для нанопорошку TiO_2-Ag рівна 724,44 мг/кг, що дозволяє їх віднести до 3 класу (помірно небезпечні) небезпечності хімічних речовин за класифікацією ГОСТ 12.1.007-76. Нанопорошки TiO_2 і TiO_2-Ag у нативному вигляді викликають тимчасове слабо виражене запалення слизової оболонки ока. При одноразовому і повторному нанесенні мазі нано- TiO_2 і нано- TiO_2-Ag на шкіру, подразнення не спостерігалось. Нанопорошки TiO_2 і TiO_2-Ag накопичуються у печінці лабораторних тварин при внутрішньоочеревинному введенні. Встановлено, що зі збільшенням введеної дози (від 4000 мг/кг до 10000 мг/кг) в тканині печінки лабораторних мишей зростає накопичення титану (при дії нано- TiO_2) та титану і срібла (при дії нано- TiO_2-Ag). Характерними мікроскопічними ознаками токсичної дії нанопорошків TiO_2 та TiO_2-Ag після внутрішньоочеревинного введення лабораторним мишам є дистрофічні зміни гепатоцитів, некроз паренхіми печінки, тоді як запальні реакції зустрічаються рідше. В умовах *in vitro* показано, що наноматеріали у концентраціях 30 мкг/мл нано- TiO_2-Ag здатні підвищувати функціональну активність мононуклеарних клітин периферичної крові за продукцією прозапальних цитокінів $IL-1$, $IL-6$, $TNF-\alpha$ та продукцію $IL-4$ у донорів ($p < 0,05$), що свідчить про можливий потенційний вплив на формування хронічного запалення та алергічних реакцій у відповідній категорії працівників нановиробництва. При вивченні впливу наноматеріалів на статеві клітини кнурів, показано, що найбільш чутливим маркером виявився показник виживання сперміїв, значення якого достовірно знизилось за дії наночастинок TiO_2 в дозі $1/10 LD_{50}$, що є наслідком порушенням

активності мітохондріальних ензимів і, відповідно, ресинтезом АТФ. Розраховані ОБРВ р.з. математичними рівнями із врахуванням коефіцієнтів нанобезпеки і запасу на рівні для нано- $TiO_2 - 0,3 \text{ мг/м}^3$, а для нано- $TiO_2\text{-Ag} - 0,2 \text{ мг/м}^3$.

Ключові слова: нанотоксикологія, гігієна праці, наночастинки діоксиду титану

Вступ. Наночастинки, зокрема діоксиду титану, набули сьогодні широкого застосування в різних галузях, таких як медицина, електроніка, будівництво, косметична та інші промислові виробництва. Наночастинки діоксиду титану мають значний потенціал для впровадження їх у багато галузей науки та техніки, що привертає увагу дослідників та промисловців. Наприклад, наночастинкам на основі діоксиду титану властивий фотокаталіз, що дозволяє використовувати ці сполуки для очищення води та повітря від забруднень. Водночас виражена фотокаталітична активність зумовлює високу біологічну дію наночастинок TiO_2 – віруцидну, бактерицидну, фунгіцидну [1, 2]. Додавання срібла до наночастинок діоксиду титану покращує їх фотокаталітичні властивості, що забезпечує підвищені антимікробні властивості. Дані літератури та наші дослідження вказують на те, що під час виробництва і використання наночастинок, останні можуть забруднювати повітря робочої зони та інгаляційним або перекутанним шляхом потрапляти в організм операторів [1, 2].

Мета дослідження. Вивчити особливості токсичного впливу нанопорошків TiO_2 та $TiO_2\text{-Ag}$ в експерименті на лабораторних тваринах і моделях *in vitro* та науково обґрунтувати орієнтовні безпечні рівні впливу в повітрі робочої зони.

Матеріали та методи досліджень. Об'єктами наших досліджень слугували нанопорошки TiO_2 та $TiO_2\text{-Ag}$, одержані в Інституті проблем матеріалознавства імені І.М. Францевича НАН України [1].

Морфологію і структуру досліджуваних зразків також визначали за допомогою електронного трансмісійного мікроскопа JEM-1400 (JEOL, Японія) при інструментальному збільшенні від 2000 до 100000 та напрузі 80 кВ за стандартною методикою роботи.

Вивчення токсичності нанопорошків діоксиду титану (нано- TiO_2) та композиту діоксиду титану з наносріблом (нано- $TiO_2\text{-Ag}$) на моделях *in vivo* проводилось в гострих експериментах на лабораторних тваринах (миші, морські свинки і кролі) за стандартними токсикологічними методами.

Умови утримання і використання лабораторних тварин відповідали правилам і положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідницьких та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986) і були узгоджені комісією з питань біоетичної експертизи та етики наукових досліджень Національного медичного університету імені О.О. Богомольця № 128 від 23.12.2019 р.

У зразках печінки, нирок, селезінки, серця, легень, мозку мишей визначали вміст титану та срібла методом оптико-емісійної спектроскопії з індуктивно зв'язаною плазмою [5]. Мікропрепарати тканини печінки досліджували на світловому мікроскопі Olympus BX51.

Вивчали вплив наноматеріалів (нано- TiO_2 , нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$), для визначення їх імунологічних властивостей, на функціональну активність мононуклеарних клітин периферичної крові здорових донорів в умовах *in vitro* за продукцією цитокінів інтерлейкіну-1 (IL-1), інтерлейкіну-4 (IL-4), інтерлейкіну-6 (IL-6), фактора некрозу пухлини альфа (TNF- α) [3]. Мононуклеарні клітини інкубували при стимуляції мітогеном фітогемоглютиніном (мітоген ФГА), нано- TiO_2 , нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ в концентрації по 30 мкг/мл та без стимулюючого агента. Імуноферментним методом (ELISA) в супернатантах мононуклеарних клітин визначали концентрацію цитокінів (IL-1, IL-6, IL-4, TNF- α), тестування проводилося за допомогою імуноферментного аналізатора «Stat Fax-303 Plus».

Для оцінювання дії нано- TiO_2 і нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ на фізіолого-біохімічні характеристики статевих клітин, використовували свіжоотримані еякуляти кнурів ($n=6$) [4]. Дослідні зразки експонували наноматеріалами у дозах $1/100 \text{ LD}_{50}$, $1/10 \text{ LD}_{50}$ і $1,0 \text{ LD}_{50}$, перерахованих на мл сперми. Розраховані кількісні дози LD_{50} на мл сперми: для нано- TiO_2 – 47 мкг/мл і для нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ – 7 мкг/мл. У контрольних та дослідних зразках визначали показники дихальної активності (нг-атом $\text{O}_2/0,1$ мл за хв), активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) (од/год $\times 0,1$ мл), активність цитохромоксидази (од/год $\times 0,1$ мл) і виживання спермій (год).

Статистична обробка отриманих результатів проводилася з урахуванням перевірки показників на нормальний розподіл за критерієм-W Шапіро-Уїлка. Для статистичної обробки використовувалися параметричні критерії статистики: критерій Стьюдента, дисперсійний аналіз, метод множинних порівнянь Шеффе; непараметричні: W-критерій Вілкоксона, ранговий однофакторний аналіз Крускала-Уолліса, множинні порівняння за критерієм Данна. Відмінність вважали статистично значимою при $P<0,05$. Статистичну обробку даних проведено за допомогою пакету програм MedStat v.5.2 (Copyright © 2003-2019).

Результати та їх обговорення. Нанопорошок діоксиду титану отримують методом термічного розкладу метатитанової кислоти, нагріваючи до температури 600°C в багатосекційній обертовій печі. Для синтезу нанокompозиту діоксиду титану зі сріблом використовують метатитанову кислоту з додаванням водного розчину нітрату срібла у кількості 4 мас. % шляхом хімічного осадження і з наступною термообробкою при температурі $500\text{-}600^\circ\text{C}$.

За результатами електронної мікроскопії, досліджено морфологічну будову нанопорошку діоксиду титану. Встановлено, що нанопорошок TiO_2 містить агрегати, наночастинки переважно розміром від 20 нм до 30 нм. Результати дослідження

нанокомпозиту $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ методом просвічуючої електронної мікроскопії зображено на рисунку 1. Як показано на рисунку 1 срібло локалізується на поверхні діоксиду титану, утворюючи «кулько-подібні» частинки срібла (обведені червоним ділянками). Встановлено, що середні розміри наночастинок TiO_2 становлять від 13 нм до 20 нм і Ag – від 35 нм до 40 нм в композитному матеріалі [1, 6].

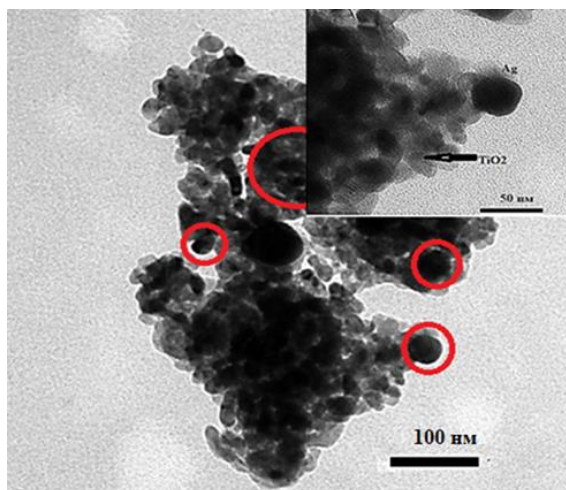


Рисунок 1. Зображення будови нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$, встановленої методом просвічуючої електронної мікроскопії за допомогою JEM-1400 при збільшенні від 2000 до 100000, шкала 100 нм і 50 нм

Нами було проведено дослідження гострої токсичності нано- TiO_2 та нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ на мишах. Для цього було випробувано різні дози з обох наноматеріалів, зокрема 7 доз нано- TiO_2 в діапазоні від 3000 мг/кг до 11000 мг/кг та 4 дози нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ в діапазоні від 1000 мг/кг до 10000 мг/кг. При введенні дози нано- TiO_2 від 5000 мг/кг та більше, а також нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ в дозі 1000 мг/кг та більше, була виявлена клініка гострого отруєння, що проявлялась втратою інтересу до їжі та води, зниженням рухової активності, загальмованістю та пригніченістю тварин. За два тижні спостереження було відзначено загибель мишей, що збільшувалась зі збільшенням введеної дози. Максимально переносимою дозою нано- TiO_2 була доза 4000 мг/кг, тоді як для нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ – доза лежала в діапазоні нижче 1000 мг/кг. Розраховані середньосмертельні дози, за даними пробіт-аналізу, становили: для нано- TiO_2 – $\text{LD}_{50} = 4783,30$ мг/кг та для нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ – $\text{LD}_{50} = 724,44$ мг/кг. За визначеними рівнями середньосмертельних доз нанопорошків TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$, вони відносяться до 3 класу небезпечності шкідливих хімічних речовин (помірно небезпечні) згідно з критеріями ГОСТ 12.1.007-76.

Введення в кон'юнктивальний мішок кролика нанопорошків TiO_2 і $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ у нативному вигляді в дозі 10 мг викликало слабе подразнення кон'юнктиви. При одноразовому і повторному нанесенні виготовленої нами мазі нано- TiO_2 і нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ (нанопорошок у вазеліні 1 : 1) на шкіру морських свинок не спостерігалось подразнення.

Розглянуто можливість накопичення нано- TiO_2 і нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ в печінці та під їх впливом гістологічні зміни тканини. Нами було встановлено, що внутрішньочеревинне введення мишам нано- TiO_2 та нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ в різних дозах (4000 мг/кг, 7000 мг/кг і 10000 мг/кг) призводить до накопичення титану, і титану та срібла в печінці. Загалом, спостерігалася тенденція до збільшення вмісту титану у тканині печінки зі збільшенням дози нанопорошків.

Методами гістології було виявлено морфологічні зміни у тканині печінки. При дії нано- TiO_2 спостерігались дистрофічні зміни на рівні 67,7% (цитоплазматична вакуолізація в гепатоцитах), а при впливі нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ – початкові некротичні зміни на рівні 70% (гепатоцити з пікнозом ядер). Слід зазначити, що токсична дія нано- TiO_2 і нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ проявлялась менш часто фокальними некрозами та запальними реакціями (фокальна інфільтрація), в окремих випадках спостерігалися адаптаційні зміни, що проявлялися збільшенням кількості бінуклеарних гепатоцитів. У зразках печінки було виявлено агломерати чужорідного матеріалу (кристалічні вclusions), які були досліджені спектрально та показали високий вміст титану (Ti).

Результати вивченого впливу наноматеріалів (нано- TiO_2 , нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$) на функціональну активність мононуклеарних клітини периферичної крові здорових донорів в умовах *in vitro* представлено на рисунку 2. Як видно з рисунка 2, спонтанна продукція ІЛ-1 мононуклеарними клітинами периферичної крові в системі *in vitro* склала середнє (M) \pm середнє квадратичне відхилення (SD) $33,65 \pm 12,83$ пкг/мл. При додаванні мітогена фітогемоглютиніна (мітоген ФГА) продукція клітинами ІЛ-1 підвищувалася до $118,1 \pm 14,73$ пкг/мл. При стимуляції мононуклеарних клітин наноматеріалами у відповідних концентраціях нано- TiO_2 продукція ІЛ-1 підвищилася до $60,38 \pm 9,04$ пкг/мл (в 1,79 разів $p < 0,01$), для нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ – $91,75 \pm 11,49$ пкг/мл (в 2,73 рази $p < 0,01$) в порівнянні з спонтанною продукцією. Порівнюючи вплив наноматеріалів на функціональну активність мононуклеарних клітин під дією нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$ між собою спостерігаємо збільшення продукції ІЛ-1 в 1,52 рази ($p < 0,01$) порівняно з нано- TiO_2 .

Відповідно до рисунку 2 спонтанна продукція ІЛ-4 клітинами мононуклеарного ряду характеризувалася рівнем 17,6 (ВІ 16,1-18,7) пкг/мл. Під впливом мітогену ФГА відзначалося підвищення продукції ІЛ-4 до рівня 84 (ВІ 78-98,8) пкг/мл. При стимуляції мононуклеарних клітин наноматеріалами у відповідних концентраціях нано- $\text{TiO}_2\text{-Ag}$

продукція IL-4 збільшилась до 60,8 (ВІ 52,8-77,6) пкг/мл (в 3,45 рази $p<0,01$) проти контролю. Під впливом Нано-TiO₂-Ag цей показник збільшується в 2,07 рази ($p<0,01$) по відношенню до нано-TiO₂.

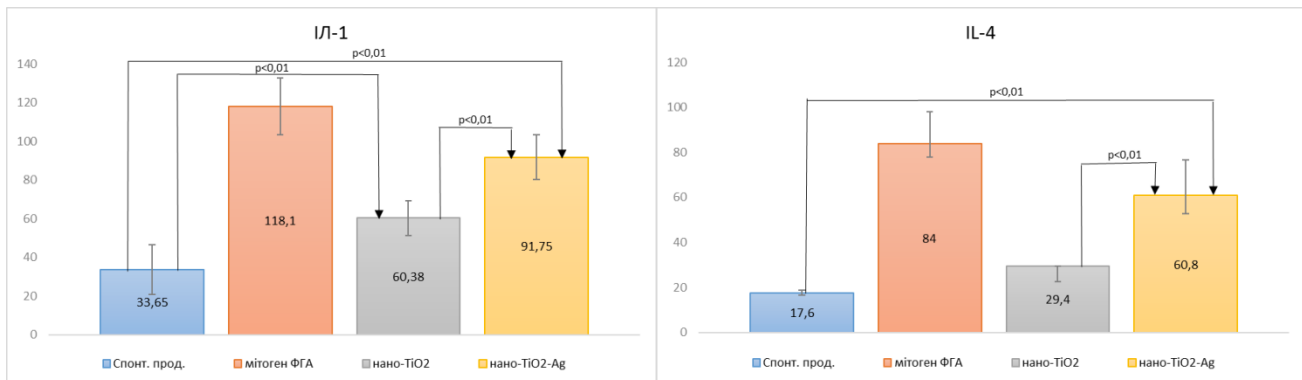


Рисунок 2. Порівняльна продукція IL-1 та IL-4 мононуклеарними клітинами *in vitro* у донорів під впливом наноматеріалів

Отже, експерименти в умовах *in vitro* показали, що наноматеріали у концентраціях 30 мкг/мл нано-TiO₂-Ag здатні підвищувати функціональну активність мононуклеарних клітин периферичної крові за продукцією прозапальних цитокінів IL-1, IL-6, TNF- α та продукцію IL-4 у донорів ($p<0,05$), що свідчить про можливий потенційний вплив на формування хронічного запалення та алергічних реакцій у відповідній категорії працівників нановиробництва. Під впливом наноматеріалу у концентрації 30 мкг/мл нано-TiO₂ на мононуклеарні клітини периферичної крові спостерігаємо статистично значиме збільшення продукції IL-1 ($p<0,01$), а продукція IL-6, TNF- α , IL-4 не є статистично значимою в порівнянні із спонтанною продукцією. Функціональна активність мононуклеарних клітин периферичної крові за продукцією цитокінів (IL-1, IL-6, TNF- α , IL-4) зростає більш інтенсивно під впливом нано-TiO₂-Ag ніж нано-TiO₂, що свідчить про відносно більшу потенційну небезпеку імунотоксичності нано-TiO₂-Ag для працівників, що працюють у відповідних умовах нановиробництва.

Як показали наші дослідження пошкоджуючої дії наночастинок діоксиду титану та діоксиду титану зі сріблом на статеві клітини кнурів *in vitro* [4], дихальна активність спермійів під впливом наночастинок діоксиду титану достовірно знижується проти контролю, починаючи з дози 1/10 LD₅₀ і вище. Так, значення дихальної активності за дії нано-TiO₂ достовірно зменшується на 57,3 % проти контролю ($p<0,05$) з $1,03\pm 0,17$ до $0,44\pm 0,143$ (нгатом O₂/0,1 мл за хв). Наночастинки TiO₂ з додаванням срібла на рівні згаданої дози на дихальну активність достовірно не впливають – за дії нано-TiO₂-Ag дихальна активність, яка

становить $0,60 \pm 0,312$ зменшується (на 23,3 %) проти контролю, що становить $(1,03 \pm 0,17)$. В дозі $1,0 LD_{50}$ достовірний вплив на дихальну активність сперміїв чинять обидва нанопорошки: за дії нано- TiO_2 величина дихальної активності зменшується на 90,3 % ($p < 0,001$) з $0,10 \pm 0,040$ (нг-атом $O_2/0,1$ мл за хв) проти контролю $(1,03 \pm 0,17)$ та за дії нано- TiO_2-Ag величина дихальної активності зменшується на 87,4 % ($p < 0,001$) з $0,13 \pm 0,045$ проти контролю $(1,03 \pm 0,17)$. Пригнічення дихальної активності сперміїв під впливом наночастинок на основі діоксиду титану, ймовірно, зумовлене порушенням використання субстратів і транспорту електронів у дихальному ланцюзі мітохондрій клітин, що характеризується змінами активності мітохондріальних ензимів.

За результатами дослідження встановлено, що під впливом нано- TiO_2 в дозі $1/10 LD_{50}$ у зразках підвищувалась активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) з $9,5 \pm 2,57$ (контроль) до $17,8 \pm 3,69$ (на 87,4 %; $p < 0,05$). В дозі $1,0 LD_{50}$ підвищувалась активність СДГ до $24,2 \pm 2,98$ проти контролю на 154,7 % ($p < 0,01$). Зокрема, встановлено достовірне дозозалежне підвищення активності СДГ, про що свідчить величина кореляції η^2 рівна 0,415. Нано- TiO_2-Ag на рівень згаданого фермента (СДГ) достовірно не впливав, що підтверджується, зокрема, низьким кореляційним відношенням (величина η^2 рівна 0,017).

Встановлено, що обидва нанопорошки в дозі $1/10 LD_{50}$ однозначно впливали на величину фізіологічного показника виживання. За додавання нано- TiO_2-Ag виживання знижується з $86,0 \pm 4,39$ до $73,3 \pm 9,87$ год (на 14,8 %). А за додавання нано- TiO_2 – знижується до $58,0 \pm 3,37$ год проти контролю (на 34,6 %; $p < 0,001$). При застосуванні максимальної дози ($1,0 LD_{50}$) у всіх зразках виживання сперміїв було вірогідно нижчим ніж у контролі. За дії нано- TiO_2 – знижувалось до $50,0 \pm 5,23$ год (на 41,9 %; $p < 0,001$). За дії нано- TiO_2-Ag – знижувалось до $40,0 \pm 9,24$ год (на 53,5 %, $p < 0,001$). Показники виживання статевих клітин та дози досліджуваних нанопорошків мають середню за силою негативну кореляцію. Кореляційне відношення (η^2) за пропорційно зростаючих доз нано- TiO_2 становить 0,589 і доз нано- TiO_2-Ag – $\eta^2 = 0,542$.

Отже, нанопорошки діоксиду титану (нано- TiO_2 і нано- TiO_2-Ag), що характеризуються подібною морфологічною характеристикою, починаючи з дози $1/10 LD_{50}$, можуть чинити пошкодуючу дію на статеві клітини кнурів, яка проявляється зниженням дихальної активності сперміїв та збільшенням активності сукцинатдигідрогенази. Найбільш чутливим маркером виявився показник виживання сперміїв, значення якого достовірно знизилось за дії наночастинок TiO_2 в дозі $1/10 LD_{50}$, що є наслідком порушення активності мітохондріальних ензимів і, відповідно, ресинтезом АТФ.

Відповідно до методичних рекомендацій «Гігієнічне нормування та контроль наноматеріалів у виробничому середовищі» величини ОБРВ р.з./ГДК р.з. наноматеріалів

металів, їх оксидів та малорозчинних сполук розраховували трьома математичними формулами за показниками гострої токсичної дії на моделях *in vivo*, які передбачають використання середньосмертельної дози LD_{50} , молекулярної маси сполуки, кількості атомів металу в сполуці та із застосуванням запропонованих цим документом коефіцієнтів нанобезпеки і запасу. Ми пропонуємо визначити, як ОБРВ р.з. середню величину, одержану з трьох математичних рівнянь, застосованих для кожного нанопорошку: для нано- TiO_2 – $0,3 \text{ мг/м}^3$ а для нано- TiO_2 -Ag – $0,2 \text{ мг/м}^3$. Варто зазначити, що Національний інститут професійної безпеки та здоров'я США (National Institute for Occupational Safety and Health, NIOSH) встановив ОБРВ для наночастинок діоксиду титану на рівні $0,3 \text{ мг/м}^3$. Запропоновані нами значення ОБРВ є наближеними до нормативу NIOSH для наночастинок діоксиду титану.

Висновки та перспективи

1. За результатами просвітлюючої електронної мікроскопії, встановлено, що нанопорошок TiO_2 містить агрегати, наночастинки переважно розміром від 20 нм до 30 нм. Встановлено для нанокompозиту TiO_2 -Ag, що срібло локалізується на поверхні діоксиду титану, середні розміри наночастинок TiO_2 становлять від 13 нм до 20 нм і Ag – від 35 нм до 40 нм.

2. Виявлено залежність летальності лабораторних тварин від дози введених нанопорошків TiO_2 і TiO_2 -Ag внутрішньоочеревинним шляхом. Летальність виявилась вищою при введенні композиту нано- TiO_2 -Ag у порівнянні з нано- TiO_2 . LD_{50} для нанопорошку TiO_2 дорівнює $4783,30 \text{ мг/кг}$, LD_{50} для нанопорошку TiO_2 -Ag рівна $724,44 \text{ мг/кг}$, що дозволяє їх віднести до 3 класу (помірно небезпечні) небезпечності хімічних речовин за класифікацією ГОСТ 12.1.007-76.

3. Нанопорошки TiO_2 і TiO_2 -Ag у нативному вигляді викликають тимчасове слабко виражене запалення слизової оболонки ока. При одноразовому і повторному нанесенні мазі нано- TiO_2 і нано- TiO_2 -Ag на шкіру, подразнення не спостерігалось.

4. Нанопорошки TiO_2 і TiO_2 -Ag накопичуються у печінці лабораторних тварин при внутрішньоочеревинному введенні. Встановлено, що зі збільшенням введеної дози (від 4000 мг/кг до 10000 мг/кг) в тканині печінки лабораторних мишей зростає накопичення титану (при дії нано- TiO_2) та титану і срібла (при дії нано- TiO_2 -Ag). Характерними мікроскопічними ознаками токсичної дії нанопорошків TiO_2 та TiO_2 -Ag після внутрішньоочеревинного введення лабораторним мишам є дистрофічні зміни гепатоцитів, некроз паренхіми печінки, тоді як запальні реакції зустрічаються рідше.

5. В умовах *in vitro* показано, що наноматеріали у концентраціях 30 мкг/мл нано- TiO_2 -Ag здатні підвищувати функціональну активність мононуклеарних клітин периферичної крові за продукцією прозапальних цитокінів IL-1, IL-6, TNF- α та продукцію

IL-4 у донорів ($p < 0,05$), що свідчить про можливий потенційний вплив на формування хронічного запалення та алергічних реакцій у відповідній категорії працівників нановиробництва.

6. При вивченні впливу наноматеріалів на статеві клітини кнурів, показано, що найбільш чутливим маркером виявився показник виживання сперміїв, значення якого достовірно знизилось за дії наночастинок TiO_2 в дозі $1/10 LD_{50}$, що є наслідком порушення активності мітохондріальних ензимів і, відповідно, ресинтезом АТФ.

7. Розраховані ОБРВ р.з. математичними рівнями із врахуванням коефіцієнтів нанобезпеки і запасу для нано- TiO_2 – на рівні $0,3 \text{ мг/м}^3$, а для нано- $TiO_2\text{-Ag}$ – $0,2 \text{ мг/м}^3$.

8. Одержані результати експериментальних досліджень будуть враховані при обґрунтуванні гранично допустимого вмісту нанопорошків TiO_2 та $TiO_2\text{-Ag}$ в повітрі робочої зони підприємств з їх виробництва та застосування.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Загорний М.М., Яворовский О.П., Рябовол В.Н. та ін. Морфологічні, спектральні й токсикологічні особливості нового композитного матеріалу нанодіоксиду титану з наносріблом для використання в медицині та біології. *Медичні перспективи*. 2022. т. 27, №1. С. 152-159. DOI: <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2022.1.254381>.
2. Паньківська Ю.Б., Білявська Л.О., Повниця О.Ю. та ін. Антиаденовірусна активність наночастинок діоксиду титану. *Мікробіологічний журнал*. 2019. т. 81, № 5. С. 73-84. DOI: <https://doi.org/10.15407/microbiolj81.05.073>.
3. Рябовол В.М., Курченко А.І., Яворовський О.П., Савченко В.С., Таран Н.В. Дослідження функціональної активності моноклеарних клітин крові за продукцією цитокінів під впливом фотоактивних титановмісних наноматеріалів *in vitro*. *Імунологія та алергологія: наука і практика*. 2021. № 3. С. 23-30. DOI: <https://doi.org/10.37321/immunology.2021.3-03>.
4. Яворовський О.П., Зазуляк Т.С., Остапів Д.Д., Рябовол В.М., Демецька О.В. Порівняльна оцінка пошкоджуючої дії наночастинок на основі діоксиду титану на статеві клітини кнурів в експерименті *in vitro*. *Медичні перспективи*. 2022. Т. 27, № 4. С. 13-19. DOI: <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2022.4.271117>.
5. Яворовський О.П., Андрусина І.М., Рябовол В.М. Особливості розподілу титану та срібла у внутрішніх органах лабораторних щурів та мишей, експонованих високими дозами наночастинок діоксиду титану та його композиту з наносріблом. *Медичні перспективи*. 2023. Т.28, № 1. С. 173-178. DOI: <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2023.1.276213>.
6. Рябовол В.М. Особливості будови, фізико-хімічних і токсикологічних властивостей наночастинок діоксиду титану, одержаного за технологією термічного розкладу

(літературний огляд і власні дослідження). *Довкілля та здоров'я*. 2020. №4(97). С. 63-70.
DOI: <https://doi.org/10.32402/dovkil2020.04.063>.

REFERENCES

1. Zahornyi MM, Yavorovskyi OP, Riabovol VN, Tyshchenko NI, Lobunets TF, Tomyla at al. Morphological, spectral and toxicological features of new composite material of titanium nanodioxide with nanosilver for use in medicine and biology. *Medicni perspektivi*. 2022; 27 (1):152-159 [in Ukrainian]. DOI: <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2022.1.254381>.
2. Pankivska YuB, Biliavska LO, Povnytsia OІu. at al. Antiadenoviral Activity of Titanium Dioxide Nanoparticles. *Mikrobiol. Z.* 2019;81(5):73-84 [in Ukrainian]. DOI: <https://doi.org/10.15407/microbiolj81.05.073>.
3. Riabovol VM, Kurchenko AI, Yavorovskyi OP, Savchenko VS, Taran NV. A study of the influence of photoactive titanium composite nanoparticles on the functional activity of cytokine-producing mononuclear blood cells in vitro. *Imunolohiia ta alerholohiia: nauka i praktyka*. 2021;3: 23-30 [in Ukrainian]. DOI: <https://doi.org/10.37321/immunology.2021.3-03>.
4. Iavorovskyi OP, Zazuliak TS, Ostapiv DD, Riabovol VM, Demetska OV. Comparative assessment of the effect of titanium dioxide – based nanoparticles on boar germ cells in vitro. *Medicni perspektivi*. 2022;27(4):13-19. [in Ukrainian]. DOI: <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2022.4.271117>.
5. Iavorovskyi OP, Andrusyshyna IM, Riabovol VM. Features of distribution of titanium and silver in the internal organs of laboratory rats and mice exposed to high doses of titanium dioxide nanoparticles and its composite with nanosilver. *Medicni perspektivi*. 2022;28(1):173-178 [in Ukrainian]. DOI: <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2023.1.276213>.
6. Riabovol VM. Peculiarities of the structure, physicochemical and toxicological properties of titanium dioxide nanoparticles obtained by thermal decomposition technology (literature review and own research). *Dovkillia ta zdorovia*. 2020;4(97):63-70 [in Ukrainian]. DOI: <https://doi.org/10.32402/dovkil2020.04.063>.

COMPARATIVE TOXICOLOGICAL AND HYGIENE ASSESSMENT OF NEW TiO₂ AND TiO₂-AG NANOPOWDERS

Yavorovsky O.P., Riabovol V.M., Zazuliak T.S.

Abstract. *Nanoparticles, particularly titanium dioxide, have a wide range of applications in various fields, such as medicine, electronics, construction, cosmetics, and other industries. Electron microscopy reveals that TiO₂ nanopowder contains aggregates and nanoparticles predominantly ranging in size from 20 nm to 30 nm. For the TiO₂-Ag nanocomposite, it has been determined that silver is localized on the surface of titanium dioxide, with average nanoparticle sizes of TiO₂ ranging from 13 nm to 20 nm and Ag ranging from 35 nm to 40 nm. The lethal dose of TiO₂ and*

TiO₂-Ag nanopowders administered intraperitoneally in laboratory animals varies, with higher lethality observed in animals receiving the nano-TiO₂-Ag composite compared to nano-TiO₂ alone. The LD₅₀ for TiO₂ nanopowder is 4783,30 mg/kg, and the LD₅₀ for TiO₂-Ag nanopowder is 724,44 mg/kg, placing them in hazard class 3 (moderately hazardous) according to GOST 12.1.007-76. Native TiO₂ and TiO₂-Ag nanopowders cause temporary, mildly expressed inflammation of the mucous membrane of the eye. No irritation was observed after single or repeated application of nano-TiO₂ and nano-TiO₂-Ag ointments to the skin. TiO₂ and TiO₂-Ag nanopowders accumulate in the livers of laboratory animals following intraperitoneal administration. The accumulation of titanium (with nano-TiO₂ treatment) and titanium and silver (with nano-TiO₂-Ag treatment) in the liver tissue of laboratory mice increases with the administered dose (from 4000 mg/kg to 10000 mg/kg). The characteristic microscopic signs of the toxic effects of TiO₂ and TiO₂-Ag nanopowders following intraperitoneal administration to laboratory mice are dystrophic changes in hepatocytes and necrosis of the liver parenchyma, while inflammatory reactions are less common. In conditions in vitro, it has been shown that nanomaterials at concentrations of 30 µg/mL of nano-TiO₂-Ag can increase the functional activity of peripheral blood mononuclear cells by producing pro-inflammatory cytokines IL-1, IL-6, TNF-α, and IL-4 in donors (p<0.05), indicating a potential impact on the formation of chronic inflammation and allergic reactions in the corresponding category of nanotechnology workers. When studying the effect of nanomaterials on the germ cells of male rats, it was shown that the most sensitive marker was the sperm survival rate, which significantly decreased under the action of TiO₂ nanoparticles at a dose of 1/10 LD₅₀, which is a consequence of impaired activity of mitochondrial enzymes and, accordingly, ATP resynthesis. OELs were calculated using mathematical equations, taking into account the nanosafety coefficients and margins at the level of 0,3 mg/m³ for nano-TiO₂ and 0,2 mg/m³ for nano-TiO₂-Ag.

Keywords: *nanotoxicology, occupational hygiene, titanium dioxide nanoparticles.*

Яворовський О.П. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4573-8039>

Рябовол В.М.

Зазуляк Тетяна Степанівна ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5896-0475>, +38 0502094871, tetyanazazulyak@gmail.com

Надійшла до редакції / Receiv: 30.03.2023