Источники химической опасности. Опасные химические вещества

УДК [546.57:547.458.88]-026.742+615.9 DOI: 10.25514/CHS.2019.2.16003

О токсических свойствах гидрозоля наночастиц серебра, стабилизированных пектином

В. М. Василькевич[1]*, Н. Н. Михайлова[1], К. С. Гилевская[2], В. И. Куликовская[2]

[1]Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены», г. Минск, Республика Беларусь, *e-mail: sabas2004@mail.ru
[2]Институт химии новых материалов Национальной академии наук Беларуси, г. Минск, Республика Беларусь

Поступила в редакцию 13.09.2019 г.

Аннотация − В эксперименте на животных изучена острая токсичность гидрозоля наночастиц серебра, стабилизированных пектином (нанокомпозит пектин-Ag), предварительно синтезированного и очищенного в соответствии с принципами «зеленой химии». Определены параметры острой токсичности при различных путях поступления нанокомпозита в организм (внутрижелудочном, внутрибрюшинном и ингаляционном). На основании полученных результатов проведена классификация нанокомпозита пектин-Ag по степени опасности, дана характеристика видовой чувствительности, изучено кожно-раздражающее, резорбтивное и ирритативное действие.

Ключевые слова: наночастицы серебра, острая токсичность, опасность, токсикологические исследования.

Toxicity Behavior of Hydrozol Based on Silver Nanoparticles and Stabilized by Pectin

V. M. Vasilkevich[1]*, N. N. Mikhailava[1], K. S. Hileuskaya[2], and V. I. Kulikouskaya[2]

[1]Republican Unitary Enterprise “Scientific and Practical Center for Hygiene”, Minsk, Republic of Belarus, *****e-mail: sabas2004@mail.ru
[2]Institute of Chemistry of New Materials, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

Received September 13, 2019

Abstract – A series of experimental studies was performed on animal models for evaluating acute toxicity of silver nanoparticle-based hydrosol stabilized by pectin (pectin-Ag nanocomposite), which had been previously synthesized and purified in accordance with green chemistry principles. The parameters of acute toxicity were determined for multiple routes of nanocomposite administration (i.e. intragastric, intraperitoneal, and inhalation). The results obtained made it possible to classify the pectin-Ag nanocomposite for hazard degree. In addition, species sensitivity was characterized, and skin-irritating, resorptive and irritative effects were studied.

Keywords: silver nanoparticles, acute toxicity, hazard, toxicological studies.

ВВЕДЕНИЕ

Нанотехнологии позволяют получать частицы (объекты), линейные размеры которых по одному, двум или трем измерениям находятся в нанодиапозоне (до100 нм) [1], что придает им новые физические и химические свойства.

В целях обеспечения комплексного развития наноиндустрии в Республике Беларусь, согласно постановлению Совета Министров (от 18.07.2013 № 640), был создан и действует на постоянной основе межведомственный координационный совет, Республиканская ассоциация наноиндустрии, куда вовлечены ряд организаций и субъектов инновационной научно-исследовательской деятельности. Это позволило создать ряд перспективных разработок. Например, в ГНУ «Институт химии новых материалов» НАН Беларуси разработаны экобезопасные методы получения наночастиц серебра в соответствии с принципами «зеленой» химии за счет использования восстанавливающего и стабилизирующего потенциала полисахарида пектина, которые перспективны для применения в виде нанобиокомпозитов в медицине, ветеринарии и парфюмерно-косметической промышленности [2].

Наибольший интерес среди наночастиц металлов вызывают наночастицы (НЧ) серебра, история использования которых охватывает более 100 лет. В 1889 г. было описано получение коллоидного серебра, стабилизированного цитратом. В начале XX века было синтезировано и получило активное использование в медицине коллоидное серебро, известное под названием «колларгол» (средний размер частиц колларгола составляет 10 нм). Однако после открытия пенициллина и начала «эры антибиотиков» использование препаратов серебра значительно снизилось. В настоящее время частое и необоснованное использование антибиотиков приводит к проблемам развития резистентности бактериальных возбудителей инфекционных заболеваний. Одним из путей решения указанной проблемы является использование металлов в форме наночастиц, прежде всего, наночастиц серебра. Необходимо также учитывать, что препараты на основе коллоидного серебра (полиаргол, арговит, артогель, аргоника, протаргол) и применяющиеся в медицине как антисептические средства могут быть токсичными, что известно из данных литературы [3–5].

В настоящее время НЧ серебра получают как физическими, так и химическими методами [6-8]. При химическом синтезе часто используют токсичные соединения, например, восстановители (гидразин, боргидрид натрия) или органические растворители (например, гексан при синтезе нанодисперсий серебра в обратных эмульсиях с помощью реактива Толленса), что ограничивает возможность применения полученных коллоидов в ветеринарии и медицине. В связи с этим в настоящее время все больше внимания уделяется экобезопасным методам синтеза наночастиц серебра. Одним из таких способов является восстановление ионов серебра (Ag^+) полисахаридами, которые одновременно выступают в качестве стабилизаторов образующихся наночастиц Ag^0 [9]. Следует отметить, что синтез и

стабилизация наночастиц серебра в водных средах с использованием полисахаридов позволяет также придать образующемуся коллоиду новые свойства, присущие биополимеру. Так, например, пектин обладает высокой адгезией к некоторым биологическим тканям организма животных и человека, что открывает дополнительные перспективы в области создания многофункциональных систем доставки биологически активных веществ (пищевых/кормовых добавок, лекарственных препаратов) в ветеринарии и таргетной терапии, профилактике и диагностике заболеваний человека [9].

На сегодняшний день НЧ серебра имеют наиболее широкое применение из всех известных наночастиц металлов и их оксидов. Объем ежегодного мирового производства наночастиц серебра составляет порядка 55 тонн. В то же время, НЧ серебра могут являться токсичными для биологических тканей и организма человека. В связи с этим многие авторы указывают на важность изучения закономерностей проявлений биологического действия наночастиц серебра в зависимости от их физико-химических особенностей (размеров, удельной поверхности частиц, свойств стабилизатора), а также дозы, пути поступления в организм и продолжительности действия [4, 5, 7, 8, 10]. Поэтому перспективность широкого внедрения нанобиокомпозитов, в т.ч. на основе серебра, требует одновременного изучения их токсичности и оценки опасности, обусловливающей возможный риск здоровью человека [10-12].

Таким образом, целью настоящего исследования было изучение токсических свойств при различных путях поступления в организм животных нанобиокомпозита, представляющего собой гидрозоль наночастиц серебра, стабилизированных пектином.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы и методы исследований

Объектом исследования являлся гидрозоль наночастиц серебра, стабилизированных высокометоксилированным пектином (степень этерификации 80,4%, средневязкостная молекулярная масса $141 \cdot 10^3$ г/моль) (далее – нанокомпозит пектин-Ag). Нанокомпозит пектин-Ag синтезировали в соответствии с принципами «зеленой» химии путем химического восстановления нитрата серебра под действием природного полисахарида пектина [9]. Для этого к водному раствору пектина при перемешивании на магнитной мешалке добавляли свежеприготовленный водный раствор $AgNO_3$ (2,0 мМ). Спустя 10 мин в реакционную смесь добавляли 3%-ный раствор гидроксида натрия и оставляли при перемешивании на 6 ч. Очистку синтезированного нанокомпозита пектин-Ag от компонентов реакционной смеси осуществили диализом в стационарном режиме против дистиллированной воды, меняя ее трижды (по 2 л) на протяжении 24 ч, с использованием целлюлозной диализной мембраны с размером пор 14 кДа (Sigma D9652-100FT). Массовое соотношение пектин : $AgNO_3$ в реакционной смеси составляло 25 : 1. Размер частиц определяли методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ).

Количество непрореагировавших катионов серебра Ag^+ после синтеза определяли в диализных водах методом атомно-абсорбционной спектроскопии (ContrAA 300, Analytik Jena AG, Германия).

Эксперименты на лабораторных животных выполнены с соблюдением принципов гуманного отношения к подопытным позвоночным животным (Хельсинки, 1986 г.).

Первоначально были поставлены острые эксперименты с нанокомпозитом пектин-Ag в которых была изучена острая токсичность. Целью изучения острой токсичности является определение переносимых, токсических и летальных доз изучаемого вещества и причин наступления гибели животных с анализом клинической картины интоксикации. Дозы для введения не должны были превышать предельно максимальные для данного вида животных [13, 14].

Острая токсичность нанокомпозитов пектин-Ag изучена на двух видах лабораторных животных обоих полов – нелинейных самок и самцов белых крыс и мышей при внутрижелудочном и внутрибрюшинных путях введения. Группе контрольных животных вводили пектин. Результаты изучения острой токсичности нанокомпозита пектин-Ag при внутрижелудочном и при внутрибрюшинном введении использовали для установления выраженности видовой чувствительности.

Для изучения острого ингаляционного воздействия использовали модель интраназального введения [15] однократно с последующим дробным введением через короткие интервалы времени (в течение 8 ч после первого введения). Наблюдение за подопытными животными (при трех различных путях поступления) осуществляли в течение 14 сут после введения препарата: в первые 30 мин после введения, через 4 ч, и затем ежедневно регистрировали особенности общего состояния животных, их поведения, потребление корма и воды, симптомы интоксикации, массу тела, наличие гибели животных и макроскопические изменения со стороны внутренних органов. По окончанию эксперимента животных умерщвляли, выделяли внутренние органы, взвешивали и проводили макроскопический анализ органов, вычисляли относительные коэффициенты массы внутренних органов (ОКМ). Токсичность и опасность оценивали по ГОСТ 12.1.007-76 [16].

Изучение местного раздражающего и кожно-резорбтивного действия наноразмерного композита пектин-Ag проведено на крысах «пробирочным» методом (20-кратные аппликации по 5 раз в неделю на 2/3 длины хвоста крысы, помещенного в пробирку с композитом) [14]. Местно-раздражающее действие определяли визуально по наличию признаков раздражения кожи (эритемы и отека). О резорбтивном эффекте могли свидетельствовать смертельные эффекты и/или клинические симптомы интоксикации, а также состояние сердечно-сосудистой (частота сердечных сокращений), нервной системы (суммационно-пороговый показатель, СПП), показатели поведенческой реактивности (ориентировочные реакции, двигательная координация, эмоциональная реактивность, норковый рефлекс) животных в тесте «открытое поле», который широко используется в токсикологических экспериментах и позволяет изучать ориентировочно-исследовательское и эмоциональное

поведение животных. Кроме того, по окончании эксперимента определяли изменения массы внутренних органов по их относительному коэффициенту.

Выявление ирритативного действия проводили на кроликах согласно Инструкции 1.1.11-12-35-2004 [14].

Статистическая обработка экспериментальных данных выполнена параметрическими методами с использованием компьютерной программы STATISTICA 10. Различия в сравниваемых группах считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Макромолекулы пектина образованы остатками D-галактуроновой кислоты в пиранозной форме, соединенных α-1,4-гликозидными связями. Следовательно, в макромолекуле пектина имеется свободная полуацетальная гидроксигруппа, обуславливающая его восстановительные свойства. Они проявляются в щелочной среде, которая способствует смещению таутомерного равновесия в сторону образования открытой формы пектина со свободной концевой альдегидной группой (цикло-оксо-таутомерия). Таким образом, при синтезе наночастиц Ag пектин одновременно выступает и в роли восстановителя катионов серебра за счет концевых альдегидных групп, и высокомолекулярного стабилизатора образующихся наночастиц. Синтезированный в данной работе бионанокомпозит представляет собой наночастицы серебра, покрытые оболочкой пектина. Средний диаметр частиц нанокомпозита пектин-Ag составляет 13 ± 7 нм, а его ζ-потенциал равен $46,0 \pm 6,1$ мВ (рис. 1). Как известно, ζ-потенциал является одним из важным параметров, характеризующих стабильность коллоидной системы. Коллоиды с высоким ζ-потенциалом (≥ 30 мВ по модулю) являются электрически стабилизированными [17]. Следовательно, синтезированные нанокомпозиты, которые представляют собой наночастицы серебра, стабилизированные оболочкой отрицательно заряженного полисахарида пектина, являются агрегационно-стабильными и их свойства при хранении будут оставаться неизменными длительное время.

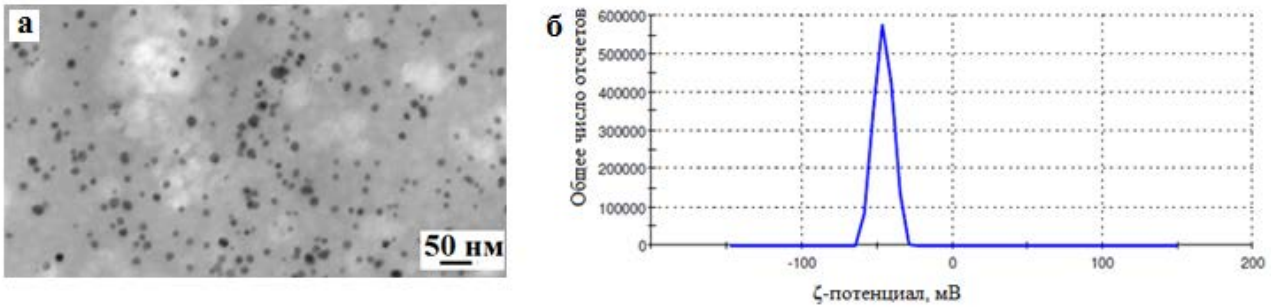


Рис. 1. ПЭМ-изображение нанокомпозита пектин-Ag и его ζ-потенциал.

Установлено, что при восстановлении катионов серебра в водных средах пектином выход реакции равен 97%, при этом концентрация наночастиц

серебра в синтезированном гидрозоле составляет 1,65 ммоль/л, а содержание пектина в нанокомпозите – 7,5 мг/мл.

Острая токсичность и потенциальная опасность гидрозоля нанокомпозита пектин-Ag была изучена при различных способах поступления (внутрижелудочном, внутрибрюшинном, ингаляционном) в организм экспериментальных животных.

Введение в желудок крыс и мышей гидрозоля нанокомпозита пектин-Ag в возрастающих дозах от 5000 до 25000 мг/кг не приводило к гибели подопытных животных. Нанокомпозит пектин-Ag не оказывал отрицательного влияния на общее состояние крыс и мышей. Поведение, подвижность, пищевая и питьевая активность среди животных подопытных и контрольной групп на протяжении эксперимента не отличались. При введении животным максимальной дозы – 25 г/кг у белых крыс отмечалось беспокойство, возбуждение. Постепенно указанные явления в поведении животных проходили и восстанавливалась прежняя активность, поэтому данные изменения могут быть интерпретированы как следствие первичной реакции организма животных на активное поступлении в организм чужеродной субстанции. В течение двух недель после введения наблюдали положительный прирост массы тела у крыс и мышей. По окончании эксперимента органы крыс при макроскопическом осмотре не имели патологических особенностей и не отличались от таковых у животных контрольной группы. Анализ значений ОКМ внутренних органов белых крыс, подвергшихся воздействию максимальной тестируемой дозы, свидетельствует об отсутствии статистически значимых различий в контрольной и опытной группах (таблица 1).

Таблица 1. Масса тела и ОКМ внутренних органов белых крыс при внутрижелудочном введении максимальной тестируемой дозы (25 г/кг) гидрозоля нанокомпозита пектин-Ag

Изучаемые показатели, единицы измерения	Контроль (пектин) (M ± m)	Нанокомпозит пектин-Ag (M ± m)
Масса исходная, г	202,0 ± 28,0	200,0 ± 30,0
Масса через 14 сут, г	266,0 ± 38,2	253,0 ± 37,0
Прирост массы тела, %	31,6 ± 6,3	26,5 ± 7,2
Относительные коэффициенты массы внутренних органов, $кг^{-3}$/кг		
Печень	35,50 ± 3,90	36,00 ± 1,96
Почки	6,84 ± 1,11	7,25 ± 0,87
Селезенка	6,21 ± 1,70	6,02 ± 1,92
Сердце	3,58 ± 0,32	3,64 ± 0,52
Легкие	8,41 ± 2,91	9,70 ± 2,20

Примечание: M – среднее значение показателя; m – ошибка среднего значения показателя

Установлено, что половые различия к действию гидрозоля нанокомпозита пектин-Ag у животных одного вида, а также видовая чувствительность (крысы/мыши) не выражены.

Таким образом, изученный гидрозоль нанокомпозита пектин-Ag при однократном внутрижелудочном введении в организм белых крыс и мышей в дозах от 5 до 25 г/кг не вызывал их гибели, что не позволило рассчитать средне смертельную дозу (LD_{50}), поэтому нанокомпозит пектин-Ag по параметрам острой токсичности при однократном внутрижелудочном введении может быть классифицирован в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76 [16] к веществам 4 класса опасности (малоопасные).

Внутрибрюшинное введение гидрозоля нанокомпозита пектин-Ag в дозах от 500 до 15000 мг/кг не приводило к гибели подопытных животных. В интервале действующих доз от 4000 до 15000 мг/кг регистрировали проявление клинических признаков интоксикации, которые были обратимы и проходили в течение 2–3 ч после введения. Хотя величины испытуемых доз были достаточно высоки, значение LD_{50} для исследуемого нанокомпозита установить не удалось, поскольку при введении препарата в максимально допустимом объеме (для белых крыс при внутрибрюшинном введении – 5,0 мл), в дозах до 15 г/кг не отмечалось гибели экспериментальных животных (таблица 2).

Таблица 2. Результаты определения острой токсичности у белых крыс при внутрибрюшинном введении гидрозоля нанокомпозита пектин-Ag

Доза, мг/кг	Общее количество животных	Количество павших животных	Клиника интоксикации
500	6	0	Отсутствует
1000	6	0	Отсутствует
2000	6	0	Отсутствует
4000	6	0	Возбуждение, беспокойство
8000	6	0	Заторможенность, снижение реакции на внешние раздражители
10000	6	0	Заторможенность, апатичность, затрудненное дыхание
15000	6	0	Заторможенность, затрудненное дыхание, мелкая дрожь в теле

Отсутствие гибели в течение 14 дней наблюдения животных при однократном внутрибрюшинном введении белым крысам доз гидрозоля нанокомпозита пектин-Ag в пределах от 500 до 15000 мг/кг позволяет отнести изучаемый наноразмерный композит по показателю среднесмертельной дозы (LD_{50}) к практически нетоксичным/безвредным веществам (5 класс опасности по классификации Сидорова К.К. (1977) [18] и VI классу по классификации Организации экономического сотрудничества и развития (OECD) [19].

Изучение острой ингаляционной токсичности гидрозоля нанокомпозита пектин-Ag было проведено на модели ингаляционного введения белым крысам в дозах от 10000 мг/м^3 до 50000 мг/м^3 (дробное введение). Гибели животных не

было установлено, клинические проявления интоксикации отсутствовали. Результаты определения параметров острой ингаляционной токсичности нанокомпозита пектин-Ag позволили установить значения среднесмертельных концентраций (CL_{50}) и классифицировать изучаемый препарат по данному параметру к веществам 4 класса опасности по ГОСТ 12.1.007-76 (вещества малоопасные) [16].

При однократных четырехчасовых аппликациях гидрозоля нанокомпозита пектин-Ag на кожу спины белых крыс не выявлено признаков интоксикации животных на протяжении всего периода наблюдений. Нанокомпозит пектин-Ag не вызывает проявлений раздражения кожи, таких как эритема и отек, индекс кожно-раздражающего действия на кожу (I_{cut}) равен 0 баллам, из чего можно сделать заключение, что гидрозоль нанокомпозит пектин-Ag не обладает кожно-раздражающим действием.

В экспериментах на кроликах в условиях однократного воздействия на слизистые оболочки изучено ирритативное действие нанокомпозита пектин-Ag. После внесения гидрозоля нанокомпозита пектин-Ag в нижний конъюнктивальный свод глаз кроликов у животных возникали слабая гиперемия и слезотечение, проходящие на вторые сутки наблюдения. В последующий период наблюдения изменений со стороны конъюнктивы и других структур глаза не отмечалось. Максимальный среднегрупповой суммарный балл выраженности ирритативного действия составил 1,0. Таким образом, нанокомпозит пектин-Ag индуцирует слабое раздражающее действие на слизистые оболочки глаз в условиях однократного воздействия (1 класс, согласно [14]).

Кожно-резорбтивное действие нанокомпозита пектин-Ag было изучено в субхроническом эксперименте «пробирочным» методом. Проявление токсического эффекта по окончании эксперимента оценивалось по комплексу физиологических и морфофункциональных показателей, количественные значения которых представлены в таблице 3.

На протяжении эксперимента и по его окончании внешних признаков интоксикации и гибели животных не установлено. Прирост массы тела опытных животных соответствовал контрольной группе. Относительные коэффициенты массы печени, сердца, почек, селезенки, легких в опытной группе оставались на уровне контрольных величин. Показатели поведенческих реакций и СПП у животных при эпикутанном воздействии гидрозоля нанокомпозита пектин-Ag были в пределах колебаний средних величин в контрольной группе, что свидетельствует об отсутствии токсического действия на организм.

Следовательно, в условиях повторного эпикутанного воздействия гидрозоль нанокомпозита пектин-Ag не обладает кожно-резорбтивным действием.

Таблица 3. Физиологические и морфофункциональные показатели белых крыс при изучении гидрозоля нанокомпозита пектин-Ag в «пробирочном» тесте

Изучаемые показатели, единицы измерения	Время изучения, сут	Контроль (M ± m)	Опыт (M ± m)
Прирост массы тела, %	30	50,5 ± 1,95	49,4 ± 2,12
ОКМ внутренних органов, $кг^{-3}$/кг			
Легкие	30	9,39 ± 0,48	9,74 ± 0,55
Сердце	30	4,10 ± 0,35	4,15 ± 0,29
Почки	30	7,25 ± 0,61	7,12 ± 0,24
Печень	30	32,88 ± 0,68	31,69 ± 0,95
Селезенка	30	5,57 ± 0,39	5,38 ± 0,25
Частота сердечных сокращений, ударов/мин	Исходная	427,3 ± 6,21	428,5 ± 5,09
	30	426,0 ± 1,89	421,1 ± 3,08
Ректальная температура, °С	Исходная	37,9 ± 0,09	37,9 ± 0,05
	30	38,1 ± 0,04	38,0 ± 0,02
Объем хвостов, мл	Исходная	6,01 ± 0,09	6,06 ± 0,08
	30	6,03 ± 0,12	6,09 ± 0,07
Суммационно-пороговый показатель, вольт	Исходный	5,21 ± 0,07	5,23 ± 0,08
	30	5,22 ± 0,14	5,14 ± 0,11
Вертикальная стойка, усл. ед.	30	4,10 ± 0,30	3,20 ± 0,14
Норковый рефлекс, усл. ед.	30	2,20 ± 0,20	2,10± 0,30
Фризинг, усл. ед.	30	3,40 ± 0,20	3,20± 0,20
Груминг, усл. ед.	30	4,20 ± 0,30	4,10 ± 0,20
Горизонтальная активность, усл. ед.	30	18,1 ± 0,40	19,60 ± 0,40

Примечание: M – среднее значение показателя; m – ошибка среднего значения показателя

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований установлено, что по параметрам острой внутрижелудочной и ингаляционной токсичности гидрозоль нанокомпозита пектин-Ag относится к малоопасным веществам (4 класс опасности) в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76 [16], видовая чувствительность не выражена. По параметрам внутрибрюшинной токсичности гидрозоль нанокомпозита пектин-Ag относится к практически нетоксичным/безвредным веществам (5 класс опасности по классификации Сидорова К.К. (1977) [18] и VI классу по классификации Организации экономического сотрудничества и развития (OECD) [19]. Гидрозоль нанокомпозита пектин-Ag не обладает кожно-раздражающим, резорбтивным и проявляет слабое ирритативное действие при тестировании на животных.

Таким образом, результаты проведенных исследований позволяют сделать вывод о том, что представляет интерес дальнейшее изучение токсических свойств нанокомпозита пектин-Ag в суб- и хронических

экспериментах на более низких уровнях воздействия, близких к реальным, при целевом применении нанокомпозита пектин-Ag, например, в медицине, ветеринарии и парфюмерно-косметической промышленности.

Список литературы:

1. ГОСТ ISO/TS 27687-2014. Нанотехнологии. Термины и определения нанообъектов. Наночастица, нановолокно и нанопластина. М: Стандартинформ, 2015. С. 1.
2. *Гилевская К.С., Игнатович Ж.В., Голубева М.Б. и др.* // Химико-фармацевтический журнал. 2017. Т. 51. № 10. С. 42.
3. *Гилевская К.С., Красковский А.Н., Ладутько Е.И. и др.* // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. 2018. Т. 62. № 4. С. 432. DOI: https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-4-432-438.
4. *Silva G.A.* Introduction to nanotechnology and its applications to medicine // Surg. Neurol. 2004. V. 61. No. 3 P. 216. DOI: 10.1016/j.surneu.2003.09.036.
5. *Проданчук Н.Г., Балан Г.М.* // Современные проблемы токсикологии. 2009. № 3. С. 4.
6. *Станишевская И.Е., Стойнова А.М., Марахова А.И., Станишевский Я.М.* // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2016. № 1. С. 66.
7. *Рахманин Ю.А., Хрипач Л.В., Михайлова Р.И. и др*. // Гигиена и санитария. 2014. № 1. С. 45.
8. *Хотимченко С.А., Гмошинский И.В., Зайцева Н.В.* Оценка риска наноматериалов для здоровья населения. В сб. IV съезд токсикологов России. М., 2013. С. 530.
9. *Al-Muhanna Muhanna K.A., Гилевская К.С., Куликовская В.И. и др.* // Коллоидный журнал. 2015. Т. 77. № 6. С. 683. DOI: 10.7868/S0023291215060026.
10. *Duran N., Silveira C.P., Duran M., Martinez D.S.T.* // Journal of Nanobiotechnology. 2015. V. 13. Article number: 55. DOI: https://doi.org/10.1186/s12951-015-0114-4.
11. *Василькевич В.М., Соболь Ю.А.* Современные проблемы оценки, прогноза и управления экологическими рисками здоровью населения и окружающей среды, пути их рационального решения: материалы III Междунар. Форума Науч. совета Рос. Федерации по экологии человека и гигиене окружающей среды. М., 2018. С. 48.
12. *Vasilkevich V., Bogdanov R., Bondarenko L.* Proceedings of the 6th Belarus-Korea Forum Science. Innovation. Production. Minsk: BNTU, 2019. P. 33.
13. *Авдеева О.И., Макаренко И.Е., Макарова М.Н. и др.* // Международный вестник ветеринарии. 2015. № 1. С. 103.
14. Инструкция 1.1.11-12-35-2004. Требования к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ. Утв. Министерством здравоохранения Республики Беларусь 14.12.2004. Минск, 2004. С. 38.
15. Методические указания № 5789 по экспериментальному обоснованию ПДК микроорганизмов-продуцентов и содержащих их готовых форм препаратов в объектах производственной и окружающей среды. М., 1993. С. 19.
16. ГОСТ 12.1.007-76. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности. М.: Стандартинформ, 2007. С. 5.
17. Наноструктуры в биомедицине. Под ред. К. Гонсалвес, К. Хальберштадт, К. Лоренсин, Л. Наир; пер. с англ. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012. 519 с.
18. *Измеров Н.Ф., Саноцкий И.В., Сидоров К.К.* Параметры токсикометрии промышленных ядов при однократном воздействии: справочник. М.: Медицина, 1977. 240 с.
19. ТКП 125-2008. Надлежащая лабораторная практика. Минск, 2008. 34 с.

References:

1. GOST ISO/TS 27687-2014 [State Standard]. Nanotechnology. Terms and definitions for nano-objects. Nanoparticle, nanofibre and nanoplate. M: Standartinform, 2015. P. 1 [in Russian].

2. *Gileuskaya K.S., Ignatovich J.V., Golubeva M.B. et al.* // Khimiko-farmatsevticheskyi zhurnal [Pharmaceutical Chemistry Journal]. 2017. V. 51. No. 10. P. 42 [in Russian].
3. *Hileuskaya K.S., Kraskouski A.N., Ladutska A.I. et al.* // Doklady Nacional'noj akademii nauk Belarusi [Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus]. 2018. V. 62. No. 4. P. 432 [in Russian].
4. *Silva G.A.* // Surg. Neurol. 2004. V. 61. No. 3. P. 216. DOI: https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-4-432-438.
5. *Prodanchuk N.G., Balan G.M.* // Sovremennye problemy tokcikologii [Modern problems of toxicology]. 2009. No 3. P. 4 [in Russian].
6. *Stanishevskaya I.E., Stoinova A.M., Marakhova A.I., Stanishevskiy Y.M.* // Razrabotka i registraciâ lekarstvennykh sredstv [Drug development & registration]. 2016. No. 1. P. 66 [in Russian]. DOI: https://doi.org/10.30906/0023-1134-2017-51-10-42-47.
7. *Rakhmanin Yu.A., Khripach L.V., Mikhaylova R.I. et al.* // Gigiena i sanitariya [Hygiene and Sanitation]. 2014. No. 1. P. 45 [in Russian].
8. *Khotimchenko S.A., Gmoshinsky I.V., Zaitseva N.V.* // Proceedings of IV Congress of Russian Toxicologists. M., 2013. P. 530 [in Russian].
9. *Al-Muhanna M.K.A., Hileuskaya K.S., Kulikouskaya V.I. et al.* // Kolloidnyi zhurnal [Colloid Journal]. 2015. V. 77. No. 6. P. 677 [in Russian]. DOI: 10.1134/S1061933X15060022.
10. *Duran N., Silveira C.P., Duran M., Martinez D.S.T.* // Journal of Nanobiotechnology. 2015. V. 13. Article number: 55. DOI: https://doi.org/10.1186/s12951-015-0114-4.
11. *Vasilkevich V.M., Sobol Yu.A* // Proceedings of III Intern. Forum Sci. Council of Rus. Federation of Human Ecology and Environmental Health. Modern problems of assessing, forecasting and managing environmental risks to public health and the environment, ways to rationally solve them. M., 2018. P. 48 [in Russian].
12. *Vasilkevich V., Bogdanov R., Bondarenko L.* // Proceedings of the 6th Belarus-Korea Forum. Science. Innovation. Production. Minsk: BNTU, 2019. P. 33 [in Russian].
13. *Avdeeva O.I., Makarenko I.E., Makarova M.N. et al.* // Mezhdunarodnyi vestnik veterinarii [International Journal of Veterinary Medicine]. 2015. No. 1. P. 103 [in Russian].
14. Guidelines 1.1.11-12-35-2004. Requirements for designing experimental study for initial toxicological assessment and hygienic regulation of substances. Approved by Ministry of Health of the Republic of Belarus dated 12.14.2004. Minsk, 2004. P. 38 [in Russian].
15. Methodological guidelines No. 5789 for experimental substantiation of maximum concentration limit for microorganisms-producers and finished products containing them in industrial and environmental facilities. M., 1993. P. 19 [in Russian].
16. GOST [State Standard] 12.1.007-76. Harmful substances. Classification and general safety requirements. M.: Standartinform, 2007. P. 5 [in Russian].
17. Biomedical Nanostructures. Editors: K. Gonsalves, K. Hal'bershtadt, K. Lorensin, L. Nair. Wiley & Sons, 2008. DOI:10.1002/9780470185834.
18. *Izmerov N.F., Sanotsky I.V., Sidorov K.K.* Toxicometry parameters of industrial poisons in a single exposure: a reference book. M.: Medicine, 1977. 240 p. [in Russian].
19. TKP 125-2008. Good laboratory practice. Minsk, 2008. 34 p. [in Russian].