

УДК 613.633, 331.471

ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ЭКСПОЗИЦИЙ И МЕДИКО- БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ МНОГОСТЕННЫХ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК: ОБЗОР СЕРИИ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Л.М. Фатхутдинова¹,
Т.О. Халиуллин^{1,2}, Р.Р. Залялов¹,
Е.Р. Кисин², А.А.З Шведова²

¹ФГБОУ ВО «Казанский государственный
медицинский университет»

Министерства здравоохранения
Российской Федерации, 420012,
г. Казань, Российская Федерация

²Национальный институт охраны
и медицины труда, WV 26505,
г. Моргантаун, США

Изучение поведения наночастиц в живых системах и степени безопасности новых наноматериалов путем опережающих научных исследований является одной из стратегических задач развития нанотехнологической сети. Актуальность проблемы обусловлена отсутствием достаточной информации об особенностях поведения искусственных наночастиц в живых системах, включая человека. Углеродсодержащие материалы занимают одно из ведущих мест на рынке наноматериалов. Количество предприятий, на которых производятся или применяются углеродные нанотрубки (УНТ) и другие типы углеродных наноматериалов, растет из года в год. Установление молекулярно-клеточных механизмов биологического и токсического действия УНТ при взаимодействии с различными биологическими объектами и организмом человека необходимо для последующей разработки подходов к техническому регулированию содержания наночастиц в различных объектах и предупреждению повреждающего действия на организм человека. В 2009-2015 гг. реализовывался протокол совместного российско-американского исследования по оценке экспозиции и риска здоровью от воздействия многостенных углеродных нанотрубок CNT-ERA (Carbon NanoTubes Exposure and Risk Assessment) – одно из первых в мире исследований по изучению риска здоровью человека, связанного с ингаляционным воздействием промышленных МУНТ. Исследование включало в себя гигиенический, токсикологический и эпидемиологический этапы. Концентрации респираторной фракции аэрозоля в зоне дыхания работника, усредненные за 8-часовой период, находились в диапазоне от 0,54 до 6,11 мкг/м³ (в пересчете на элементный углерод). Обнаружен профибротический потенциал нативных промышленных МУНТ, а также потенциально повышенный риск развития легочных и сердечно-сосудистых заболеваний и злокачественных новообразований легких. Установлена необходимость пересмотра отечественных подходов к методам оценки экспозиций и нормированию УНТ в воздухе рабочей зоны, организации системы профилактических мероприятий и медицинского обслуживания работников.

Ключевые слова: многостенные углеродные нанотрубки, фиброгенные эффекты, канцерогенный риск, исследования *in vitro* и *in vivo*, эпидемиологическое исследование, биомаркеры, экспрессия генов.

Введение. Изучение поведения наночастиц в живых системах и степени безопасности новых наноматериалов путем опережающих на-

учных исследований является одной из стратегических задач развития нанотехнологической сети. Потенциальными группами риска явля-

Фатхутдинова Лилия Минвагизовна (Fatkhutdinova Liliya Minvagizovna), доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой гигиены, медицины труда ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, 420012, Казань, Российская Федерация, liliya.fatkhutdinova@gmail.com

Халиуллин Тимур Оскарович (Khaliullin Timur Oskarovich), ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, 420012, Казань, РФ, Национальный институт охраны и медицины труда, WV 26505, Моргантаун, США;

Залялов Рамиль Равилевич (Zalyalov Ramil Ravilovich), ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, 420012, Казань, Российская Федерация;

Кисин Елена Рафаиловна (Kisin Elena Rafailovna), Национальный институт охраны и медицины труда, WV 26505, Моргантаун, США;

Шведова Анна Александровна (Shvedova Anna Alexandrovna), Национальный институт охраны и медицины труда, WV 26505, Моргантаун, США

ются работники, занятые при производстве и применении нанопродукции, потребители лекарственных форм, использующих соответствующие средства адресной доставки, население, использующее нанопродукцию или подвергающееся воздействию наночастиц при загрязнении объектов окружающей среды. Актуальность проблемы обусловлена отсутствием достаточной информации об особенностях поведения искусственных наночастиц в живых системах, включая человека. Высокая проникающая способность и реактогенность позволяют предположить наличие угроз для здоровья человека и окружающей среды. Приоритет в исследованиях следует отдавать углеродсодержащим наноматериалам (углеродные нанотрубки, графен, фуллерены), металлическим наночастицам, наночастицам диоксида кремния, наноцеллюлозе, полимерным наноматериалам, что обусловлено их лидирующим положением на рынке, морфологическим и структурным разнообразием, необходимостью сравнения поведения и биологических эффектов различных модификаций одного и того же типа наночастиц для поиска и отбора наименее токсичных вариантов. При этом классические подходы не позволяют успешно решать новые задачи. Требуется переход на новый технологический уровень с использованием последних достижений физико-химических наук, оптики, молекулярной и клеточной биологии, необходимы интенсивные междисциплинарные исследования и международная кооперация. Необходим переход от экспериментальных работ, использующих очищенные лабораторные образцы, к исследованиям, изучающим нативные промышленно произведенные наночастицы. Дозы, использовавшиеся для экспериментов *in vivo* и *in vitro*, не обосновывались данными по реальным экспозициям, так как исследователи не имели достаточной информации о содержании наночастиц в различных объектах окружающей среды. Неизвестным остается эффект низких доз, а также процессы, предшествующие развитию патологических состояний, вероятность которых показана в опытах на лабораторных животных. Данные о медико-биологическом действии наночастиц на человека крайне ограничены, что затрудняет продвижение новых материалов на рынок.

Углеродсодержащие материалы занимают одно из ведущих мест на рынке наноматериалов. Количество предприятий, на которых производятся или применяются углеродные нанотрубки (УНТ) и другие типы углеродных наноматериалов, растет из года в год [1]. Установление молекулярно-клеточных механизмов биологического и токсического действия

УНТ при взаимодействии с различными биологическими объектами и организмом человека необходимо для последующей разработки подходов к техническому регулированию содержания наночастиц в различных объектах и предупреждению повреждающего действия на организм человека. В 2009-2015 гг. реализовывался протокол совместного российско-американского исследования по оценке экспозиции и риска здоровью от воздействия многостенных углеродных нанотрубок CNT-ERA (Carbon NanoTubes Exposure and Risk Assessment) – одно из первых в мире исследований по изучению риска здоровью человека, связанного с ингаляционным воздействием промышленных МУНТ. Исследование включало в себя гигиенический, токсикологический и эпидемиологический этапы. Задачи проекта были определены следующим образом: 1) характеристика возможных экспозиционных сценариев, включая математическое моделирование поступления, распределения и депонирования различных наночастиц в дыхательных путях человека, 2) поиск информативных биомаркеров в ходе экспериментов *in vitro* и *in vivo*, 3) изучение и оценка степени риска здоровью в ходе эпидемиологического исследования, 4) разработка подходов для технического регулирования содержания МУНТ в воздухе рабочей зоны, 5) разработка подходов для предупреждения повреждающего действия МУНТ на организм работников.

Характеристика экспозиций к МУНТ на рабочих местах. Задача количественной оценки содержания УНТ в воздухе может быть решена различными способами. Определение массовой концентрации УНТ по содержанию сопутствующих металлов-катализаторов является непрямым методом [2]. Однако концентрации металлов-катализаторов, встроенных в УНТ, могут оказаться очень незначительными для количественного определения; кроме того, на содержание металлов могут существенно повлиять внешние загрязнения [3, 4]. Также необходимо отметить тот факт, что количественные зависимости между содержанием металлов и массой УНТ могут быть очень переменными. Напрямую определять содержание элементного углерода, из которого состоят УНТ, в образце, отобранном из воздуха рабочей зоны, позволяет термооптический анализ [5]. Для дополнительной характеристики производственных экспозиций применялись также просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ) и некоторые другие методы (например, прямая инструментальная оценка наночастиц) [6]. Кроме того, российскими ис-

следователями был предложен прямой подсчет отдельных нанотрубок, отобранных в жидкую среду (дистиллированную воду) [7].

Характеристика фактических экспозиций имеет большое значение для планирования токсикологических экспериментов, в том числе предназначенных для обоснования предельно допустимых уровней воздействия. Сотрудниками Казанского медицинского университета в сотрудничестве с исследовательской группой из Национального института охраны и медицины труда (НИОМТ США) были изучены уровни МУНТ в воздухе рабочих мест российского предприятия-производителя [8]. Исследование проводили на предприятии, использующем для синтеза МУНТ реактор каталитического пиролиза углеводородов. Отбор проб воздуха проводили в зоне дыхания работника синхронно на фильтры из смешанных эфиров целлюлозы (СЭЦ-фильтры) диаметром 37 мм с диаметром пор 0,8 мкм (для ПЭМ) и высокочистые кварцевые фильтры диаметром 25 мм (для термооптического анализа).

Концентрации респираторной фракции аэрозоля в зоне дыхания работника, усредненные за 8-часовой период, находились в диапазоне от 0,54 до 6,11 мкг/м³ (в пересчете на элементный углерод) на всех этапах производственного процесса, кроме рабочих мест в лаборатории, превышали рекомендованный НИОМТ США уровень в 1 мкг/м³. Кроме того, частицы МУНТ обнаруживались в воздухе рабочих помещений даже в нерабочее время, при выключенном оборудовании. В воздухе МУНТ присутствовали в виде агломератов размерами от 1 до 10 мкм. Наибольшие значения содержания элементного углерода в воздухе рабочей зоны, как и предполагалось, были выявлены в ходе процесса ручного сбора продукта из реактора, в то время как лабораторная работа сопровождалась наименьшими массовыми значениями содержания аэрозоля МУНТ. Полученные данные согласуются с измерениями, выполненными на разных предприятиях двумя другими международными группами (из США и Швеции) с применением аналогичных методологических подходов (ПЭМ-метод в сочетании с термооптическим анализом) [9, 10].

Изучение комплекса факторов рабочей среды и трудового процесса на современных инновационных предприятиях – производителях наноматериалов с помощью традиционных методов гигиенической оценки показало, что условия труда на могут быть оценены как безвредные и безопасные [11]. В соответствии с методикой Европейского агентства по охра-

не труда, на предприятии идентифицирован ряд опасностей, для которых риск был оценен как умеренный, но приемлемый: сосуды под давлением; электрооборудование; открытый огонь; взрывы; вредные химические вещества и пыль. Индекс ELMERI на предприятии составил 88,5 %. В отраслях с высоким уровнем травматизма (механообработка, металлургия) значения индекса варьируются в диапазоне 52-80 % и тесно коррелируют с числом случаев производственного травматизма [12]. Таким образом, результаты свидетельствуют о высоком уровне безопасности на исследуемом предприятии. В то же время, исследование специальных методов исследования позволяет выявить новые факторы риска здоровью работников (искусственные наночастицы в воздухе рабочей зоны). Последнее обстоятельство обуславливает необходимость изменения традиционных подходов с учетом специфики инновационных производств. Современные инновационные производства требуют особого подхода к оценке условий труда и профессиональных рисков. Существующая нормативно-методическая база и инструменты (как отечественные, так и зарубежные) зачастую не позволяют выявить риски здоровью и оценить их количественные характеристики.

В ходе исследований было установлено, что рекомендованный МР 1.2.2639-10 подсчет количества индивидуальных МУНТ, отобранных из воздуха на дистиллированную воду, не применим, так как МУНТ присутствовали в воздухе в виде агломератов размером 0,5-10 мкм [7]. Проведенные исследования свидетельствуют о необходимости пересмотра отечественных подходов к методам оценки экспозиций и нормированию УНТ в объектах окружающей среды. Нами предлагается пересмотреть временный допустимый уровень УНТ в воздухе рабочей зоны и выразить его в весовых единицах, соответствующих содержанию элементного углерода в единице объема воздуха. Необходимо также разработать новые методические рекомендации по методам контроля УНТ в объектах окружающей среды, учитывая закономерности поведения этих наночастиц во внешней среде.

Биологические маркеры воздействия МУНТ в экспериментах *in vitro* и *in vivo*. Нами была проведена сравнительная оценка токсических эффектов промышленных однослойных и многослойных УНТ (ОУНТ/МУНТ) в культурах макрофагов (RAW 264.7) и клеток бронхиального эпителия (BEAS-2B) [13, 14]. Макрофаги RAW 264.7 оказались гораздо более чувствительны к воздействию различных типов УНТ, чем клетки бронхиального

эпителия. Внесение МУНТ не сопровождалось достоверным снижением жизнеспособности макрофагов, но вызвало повреждение клеточных мембран; оксидативный стресс имел дозо- и времязависимый характер. ОУНТ вызвали значительное снижение жизнеспособности и индукцию оксидативного стресса. Улучшенная темнопольная микроскопия (CytoViva) выявила адсорбцию и накопление МУНТ и ОУНТ на поверхности и внутри макрофагов. Клетки бронхиального эпителия BEAS-2В оказались мало восприимчивы к экспозиции МУНТ. Внесение ОУНТ в культуру BEAS-2В вызвало небольшое статистически достоверное дозо- и времязависимое снижение жизнеспособности и выраженное снижение уровня восстановленного глутатиона только при самой высокой концентрации наночастиц. Результаты исследования свидетельствуют о различиях в токсическом действии различных УНТ и о необходимости вдумчивого подхода к оценке токсичности наноматериалов и разработке отечественной нормативной документации с учетом особых физико-химических свойств углеродных наноматериалов.

В исследованиях на мышах нами был обнаружен профибротический потенциал нативных промышленных МУНТ, причем гистологическая картина легочного фиброза сопровождалась достоверным дозо- и времязависимым повышением уровней таких биологических маркеров, как TGF- β и остеоонтин в сыворотке крови и бронхоальвеолярном лаваже [15].

Для исследований были взяты двухмесячные мыши линии C57BL/6J, самки, масса тела 18 ± 2 граммов. Животные были разделены на контрольную и три опытные группы по 40 мышей в каждой. Опытные группы путем фарингеальной аспирации получили по 20, 40 и 80 мкг МУНТ в 0,001 % растворе ДПФХ; контрольной группе тем же способом был введен фосфатно-буферный раствор. Затравочная доза была выбрана с учетом собственных данных оценки содержания МУНТ в воздухе на рабочих местах предприятия-производителя. Специфических моделей депонирования УНТ в легких человека не существует, поэтому для установления ориентировочных депонированных доз применялась модель MPPD [16]. Среднесменная концентрация аэрозоля МУНТ достигала 29 мкг/м^3 , что соответствует накопленной за 25 лет рабочего стажа депонированной дозе в 980 мкг на 1 м^2 поверхности эпителия легких. При расчете были использованы следующие входные данные: концентрация аэрозоля МУНТ 29 мкг/м^3 , размер агломератов МУНТ в воздухе $1,5 \text{ мкм}$, минутный

объем дыхания 20 л/мин для легкой физической нагрузки, модель распределения частиц аэрозоля по Yeh-Schum, площади поверхности эпителия легких 102 м^2 . Затравочные дозы в 20, 40 и 80 мкг/мышь соответствуют депонированным дозам 400, 800 и 1600 мкг на 1 м^2 альвеолярного эпителия соответственно.

Для того, чтобы оценить фиброгенные эффекты МУНТ, в сыворотке крови методами ИФА определялись TGF- β (основной маркер) и остеоонтин. Последний был выбран в качестве маркера сравнения с TGF- β . В гомогенатах легких были измерены уровни восстановленного глутатиона и миелопероксидазы (МПО). У половины мышей из каждой подгруппы легкие были извлечены, зафиксированы, гистологические срезы окрашены гематоксилином-эозином, а также трихромом по Массону.

На 28-й и 56-й дни эксперимента гистологическая картина в легких характеризовалась наличием гранулем, в центре которых определялись агломерированные МУНТ, многочисленные альвеолярные макрофаги, гигантские клетки и фибробласты. В лаважной жидкости через 2 месяца после затравки все еще наблюдались макрофаги с хорошо заметными включениями нанотрубок. Окраска срезов легких трихромом по Массону выявила нарастание количества коллагеновых волокон во всех опытных группах. Было выявлено, что содержание TGF- β в сыворотке является чувствительным показателем биологического действия МУНТ, значительно повышаясь уже через 24 часа после экспозиции; уровень остеоонтина достоверно повысился в крови на 28-й день. На момент публикации это были первые полученные данные такого рода; в последующем результаты экспериментов *in vivo* были использованы для планирования эпидемиологических исследований.

Эпидемиологическое биомаркерное исследование с участием работников, экспонированных к МУНТ. В ходе эпидемиологического исследования с участием экспонированных к МУНТ работников (10 человек) и контрольной группы (12 человек) было установлено, что контакт с аэрозолем МУНТ на рабочих местах может приводить к изменению содержания некоторых маркеров фиброгенных изменений в сыворотке крови и образцах индуцированной мокроты. В частности, уровни TGF- $\beta 1$ в сыворотке крови и KL-6 в образцах мокроты оказались достоверно зависимыми от экспозиции к МУНТ [17]. Кроме того, анализ профиля экспрессии мРНК выявил значимое повышение экспрессии генов, кодирующих KL-6, и ряда других генов, регулирующих его активность

(IL6, EGFR, TGF β , ERK, PDGFA, CASP8).

Сравнение профилей экспрессии некодирующих и матричных РНК в группе работников, подвергавшихся воздействию МУНТ, и контрольной группе выявило достоверные различия, свидетельствующие о том, что профессиональные экспозиции к МУНТ могут потенциально повышать риски развития легочных и сердечно-сосудистых заболеваний, а также злокачественных новообразований, согласуясь с данными, полученными ранее исследователями в экспериментах *in vivo* [18].

В отсутствие убедительных данных о безопасности МУНТ для здоровья человека и исходя из принципа разумной предосторожности, на производствах необходимо внедрять систему профилактических мероприятий. Экспозиции могут быть уменьшены за счет проектирования закрытых технологических процессов, контроля уровней МУНТ в различных технологических зонах и в зоне дыхания работников, санитарно-технических мероприятий, применения средств индивидуальной защиты. Биологический мониторинг и медицинские осмотры работников позволят выявить ранние признаки нарушений здоровья и накопить банк биологических образцов для по-

следующих исследований. Основываясь на результатах проведенных исследований, следует рекомендовать включение в «Перечень вредных и (или) опасных производственных факторов, при наличии которых проводятся обязательные предварительные и периодические медицинские осмотры» отдельного пункта «Углеродные нанотрубки» с периодичностью медицинского осмотра 1 раз в год, участием оториноларинголога, дерматовенеролога, онколога, аллерголога, онколога и проведением спирометрии, рентгенографии и биохимических анализов содержания маркеров фиброза (TGF- β , остеокальцин) в сыворотке крови и индуцированной мокроте.

Заключение. Современные инновационные нанотехнологические производства требуют особого подхода к оценке условий труда и профессиональных рисков. Существующая нормативно-методическая база и инструменты (как отечественные, так и зарубежные) зачастую не позволяют выявить риски здоровью и оценить их количественные характеристики. Необходимы интенсивные исследования и регулярный пересмотр нормативной базы с использованием актуальной научной информации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Global markets and technologies for carbon nanotubes. BCC Research. Market forecasting. - <http://www.bccresearch.com/market-research/nanotechnology/carbon-nanotubes-global-markets-technologies-report-nan024f.html>. [Электронный ресурс]
2. Baron P.A., Maynard A.D., Foley M. Evaluation of aerosol release during the handling of unrefined single walled carbon nanotubes material. NIOSH Report. NIOSH DART - 02-191. 2002.
3. Birch M.E., Ku B.K., Evans D.E., Ruda-Eberenz T. Exposure and emissions monitoring during carbon nanofiber production. Part I: elemental carbon and iron-soot aerosols. Ann. Occup. Hyg. 2011; 55: 1016-1036.
4. Birch M.E. Exposure and emissions monitoring during carbon nanofiber production. Part II: polycyclic aromatic hydrocarbons. Ann. Occup. Hyg. 2011; 55: 1037-1047.
5. Birch M.E. Occupational monitoring of particulate diesel exhaust by NIOSH method 5040. Appl. Occup. Environ. Hyg. 2002; 17: 400-405.
6. Dahm M.M., Evans D.E., Schubauer-Berigan M.K., Birch M.E., Daddens J.A. Occupational exposure assessment in carbon nanotube and nanofiber primary and secondary manufacturers: mobile direct-reading sampling. Ann. Occup. Hyg. 2013; 57: 328-344.
7. МР 1.2.2639-10. Использование методов количественного определения наноматериалов на предприятиях нанотехнологической промышленности. [Электронный ресурс] Доступ из справочно-правовой системы «ГАРАНТ».
8. Fatkhutdinova L.M., Khaliullin T.O., Zalyalov R.R., Tkachev A.G., Birch M.E., Shvedova A.A. Assessment of airborne multiwalled carbon nanotubes in a manufacturing environment. Nanotechnologies in Russia. 2016; 11: 110-116.
9. Dahm M.M., Schubauer-Berigan M.K., Evans D.E., Birch M.E., Fernback J.E., Daddens J.A. Carbon nanotube and nanofiber exposure assessments: an analysis of 14 site visits. Ann. Occup. Hyg. 2015; 59: 1135-1151.
10. Hedmer M., Isaxon C., Nilsson P.T., Ludvigsson L., Messing M.E., Genberg J., Skaug V., Bohgard M., Tinnerberg H., Pagels J.H. Exposure and emission measurements during production, purification, and functionalization of arc-discharge-produced multi-walled carbon nanotubes. Ann Occup Hyg. 2014; 58: 355-379.
11. Халиуллин Т.О., Залаялов Р.Р., Шведова А.А., Ткачев А.Г., Фатхутдинова Л.М. Гигиеническая оценка производства многослойных углеродных нанотрубок. Медицина труда и промышленная экология. 2015; 7:37-41.
12. Laitinen H., Vuorinen M., Simola A., Yrjänheikki E. Safety Science. 2013; 54: 69-79.
13. Халиуллин Т.О., Кисин Е.Р., Мюррей Р.Э., Залаялов Р.Р., Шведова А.А., Фатхутдинова Л.М. Токсические эффекты углеродных нанотрубок в культурах клеток макрофагов и бронхиального эпителия. Вестник Томского государственного университета. Биология. 2014; 1: 199-210.
14. Khaliullin T.O., Fatkhutdinova L.M., Zalyalov R.R., Kisin E.R., Murray A.R., Shvedova A.A. In vitro toxic effects of different types of carbon nanotubes. IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng. 98 012021. 2015; <http://dx.doi.org/10.1088/1757-899X/98/1/012021>.
15. Khaliullin T.O., Zalyalov R.R., Fatkhutdinova L.M., Shvedova A.A., Kisin E.R. Evaluation of fibrogenic potential of industrial multi-walled carbon nanotubes in acute aspiration experiment. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2015; 158: 684-687.
16. de Winter-Sorkina R., Cassee F.R. National Institute for Public Health and the Environment (RIVM) Report; Bilthoven, Netherlands. 2002.
17. Fatkhutdinova L.M., Khaliullin T.O., Vasil'yeva O.L., Zalyalov R.R., Mustafin I.G., Kisin E.R., Birch M.E., Yanamala N., Shvedova A.A. Toxicol. Fibrosis biomarkers in workers exposed to MWCNTs. Appl. Pharmacol. 2016; 229: 125-131.
18. Shvedova A.A., Yanamala N., Kisin E.R., Khaliullin T.O., Birch M.E., Fatkhutdinova L.M.. Integrated analysis of dysregulated ncRNA and mRNA expression profiles in humans exposed to carbon nanotubes. PLOS ONE. 2016; <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0150628>.

REFERENCES:

1. Global markets and technologies for carbon nanotubes. BCC Research. Market forecasting. - <http://www.bccresearch.com/market-research/nanotechnology/carbon-nanotubes-global-markets-technologies-report-nan024f.html>. [Электронный ресурс]
2. Baron P.A., Maynard A.D., Foley M. Evaluation of aerosol release during the handling of unrefined single walled carbon nanotubes material. NIOSH Report. NIOSH DART - 02-191. 2002.
3. Birch M.E., Ku B.K., Evans D.E., Ruda-Eberenz T. Exposure and emissions monitoring during carbon nanofiber production. Part I: elemental carbon and iron-soot aerosols. Ann. Occup. Hyg. 2011; 55: 1016-1036.
4. Birch M.E. Exposure and emissions monitoring during carbon nanofiber production. Part II: polycyclic aromatic hydrocarbons. Ann. Occup. Hyg. 2011; 55: 1037-1047.
5. Birch M.E. Occupational monitoring of particulate diesel exhaust by NIOSH method 5040. Appl. Occup. Environ. Hyg. 2002; 17: 400-405.
6. Dahm M.M., Evans D.E., Schubauer-Berigan M.K., Birch M.E., Daddens J.A. Occupational exposure assessment in carbon nanotube and nanofiber primary and secondary manufacturers: mobile direct-reading sampling. Ann. Occup. Hyg. 2013; 57: 328-344.
7. МР 1.2.2639-10. Using the methods of quantifying nanomaterials in nanotechnology enterprises. [Electronic resource]. Access from legal system «GARANT» (in Russian).
8. Fatkhutdinova L.M., Khaliullin T.O.,

- Zalyalov R.R., Tkachev A.G., Birch M.E., Shvedova A.A. Assessment of airborne multiwalled carbon nanotubes in a manufacturing environment. *Nanotechnologies in Russia*. 2016; 11: 110-116.
9. Dahm M.M., Schubauer-Berigan M.K., Evans D.E., Birch M.E., Fernback J.E., Deddens J.A., Carbon nanotube and nanofiber exposure assessments: an analysis of 14 site visits. *Ann. Occup. Hyg.* 2015; 59: 1135-1151.
10. Hedmer M., Isaxon C., Nilsson P.T., Ludvigsson L., Messing M.E., Genberg J., Skaug V., Bohgard M., Tinnerberg H., Pagels J.H. Exposure and emission measurements during production, purification, and functionalization of arc-discharge-produced multi-walled carbon nanotubes. *Ann Occup Hyg.* 2014; 58: 355-379.
11. Khaliullin T.O., Zalyalov R.R., Shvedova A.A., Tkachev A.G., Fatkhutdinova L.M. Hygienic evaluation of the production of multi-walled carbon nanotubes // *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya*. 2015; 7:37-41 (in Russian).
12. Laitinen H., Vuorinen M., Simola A., Yrjänheikki E. *Safety Science*. 2013; 54: 69-79.
13. Khaliullin T.O., Kisin E.R., Myurey R.E., Zalyalov R.R., Shvedova A.A., Fatkhutdinova L.M. Toxic effects of carbon nanotubes in macrophages and bronchial epithelial cell cultures. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya*. 2014; 1: 199-210 (in Russian).
14. Khaliullin T.O., Fatkhutdinova L.M., Zalyalov R.R., Kisin E.R., Murray A.R., Shvedova A.A. In vitro toxic effects of different types of carbon nanotubes. *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.* 98 012021. 2015: <http://dx.doi.org/10.1088/1757-899X/98/1/012021>.
15. Khaliullin T.O., Zalyalov R.R., Fatkhutdinova L.M., Shvedova A.A., Kisin E.R. Evaluation of fibrogenic potential of industrial multi-walled carbon nanotubes in acute aspiration experiment. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2015; 158: 684-687.
16. de Winter-Sorkina R., Cassee F.R. National Institute for Public Health and the Environment (RIVM) Report; Bilthoven, Netherlands. 2002.
17. Fatkhutdinova L.M., Khaliullin T.O., Vasil'yeva O.L., Zalyalov R.R., Mustafin I.G., Kisin E.R., Birch M.E., Yanamala N., Shvedova A.A. Toxicol. Fibrosis biomarkers in workers exposed to MWCNTs. *Appl. Pharmacol.* 2016; 229: 125-131.
18. Shvedova A.A., Yanamala N., Kisin E.R., Khaliullin T.O., Birch M.E., Fatkhutdinova L.M. Integrated analysis of dysregulated ncRNA and mRNA expression profiles in humans exposed to carbon nanotubes. *PLOS ONE*. 2016: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0150628>

L.M. Fatkhutdinova¹, T.O. Khaliullin^{1,2}, R.R. Zalyalov¹, E.R. Kisin², A.A. Shvedova².

OCCUPATIONAL EXPOSURE AND MEDICO-BIOLOGICAL EFFECTS OF MULTI-WALLED CARBON NANOTUBES: OVERVIEW OF AUTHORS' RESEARCHES

¹Kazan State Medical University, RF Ministry of Healthcare, 420012 Kazan, Russian Federation

²National Institute for Occupational Safety and Health, WV 26505, Morgantown, USA

Advanced studies on the behavior of nanoparticles in living systems and safety degree of new nanomaterials is one of the strategic objectives of the development of nanotechnology network. The urgency of the issue is due to the lack of sufficient information about behavior of engineered nanoparticles in living systems, including humans. Carbonaceous materials occupy one of the leading position on the market of nanomaterials. The number of enterprises, which produce or use carbon nanotubes (CNT) and other types of carbon nanomaterials is growing from year to year. The establishment of molecular cellular mechanisms of CNTs biological and toxic effects in interaction between various biological objects and the human organism is necessary for further development of approaches to technical regulation of the nanoparticles content in various objects and prevention of damaging effects on the human organism. In 2009-2015. the protocol was implemented of a joint Russian-American investigation into exposure assessment and health risk from effects of multi-walled carbon nanotubes CNT-ERA (Carbon NanoTubes Exposure and Risk Assessment), one of the first world research of human health risks associated with industrial exposure to inhaled MWCNT. The study included hygienic, toxicological and epidemiological stages. Respirable fractions concentration of aerosol in the worker's breathing zone, averaged over an 8-hour period, were in the range of 0.54 to 6.11 $\mu\text{g} / \text{m}^3$ (calculated as elemental carbon). Profibrotic potential of native MWCNTs used in industry, as well as potentially increased risk of pulmonary and cardiovascular diseases and malignant lung tumors were identified. The necessity of revision of domestic approaches to assessment methods of exposures and regulation of MWCNTs in the working area, development of a system of preventive measures and health service for workers were proved..

Keywords: multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs), fibrogenic effects, carcinogenic risk, studies in vitro and in vivo, epidemiological study, biomarkers, gene expression.

Материал поступил в редакцию 18.11.2016 г.

