

3. Dodd M., Addison J. A. *Toxicity of methyl tert butyl ether to soil invertebrates (springtails: Folsomia candida, Proisotomaminuta, and Onychiurusfolsoni) and lettuce (Lactuca sativa)*. In: Environ. Toxicol. Chem., 2010, vol. 29, nr. 2, p. 338–346.
4. An Y. J., Lee W. M. *Comparative and combined toxicities of toluene and methyl tert-butylether to an Asian earth worm Perionyx excavatus*. In: Chemosphere, 2008, vol. 71, nr. 3, p. 407–411.
5. An Y. J., Lee W. M. *Decreased toxicity to terrestrial plants associated with a mixture of methyl tert-butyl ether and its metabolite tert-butyl alcohol*. In: Environ. Toxicol. Chem., 2007, vol. 26, nr. 8, p. 1711–1716.
6. K. Naddafi, R. Nabizadeh, A. Baiggi. *Bioassay of methyl tertiary-butyl ether (MTBE) toxicity on rainbow trout-fish*. In: J. Hazard. Mater., 2008, vol. 154, nr. 1-3, p. 403–406.

КОМПЛЕКСНАЯ ФИЗИОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ТРУДА ОПЕРАТОРОВ ПРИ ПОЛУЧЕНИИ НАНОЧАСТИЦ МЕТАЛЛОВ ФИЗИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

Александр ЯВОРОВСКИЙ¹, Татьяна ЗИНЧЕНКО¹,
Валентина ШЕВЦОВА¹, Александр МИНЧЕНКО²,
Михаил ВЕРЕМЕЙ¹, Валентина ЗЕНКИНА¹,

¹Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца МОЗ Украины, ²Институт биохимии имени А.В. Палладина НАН Украины

Summary

Comprehensive physiological-hygienic assessment of work operators upon receipt of metal nanoparticles by physical methods

To assess the working conditions at the experimental production of nanoparticles performed a complex of hygienic and toxicological researches. As a result, in the production of metal nanoparticles, found the basic harmful and potentially hazardous factors and defined the most probable mechanisms of toxicity of nanoparticles, on example of nanosilver. Also there held a health assessment of workers on nanoparticles production.

Keywords: nanoparticles, working conditions, toxicity

Резюме

Для оценки условий труда на опытном производстве наночастиц, проведен комплекс физиолого-гигиенических и токсикологических исследований. В результате, при получении наночастиц металлов, были установлены основные вредные и потенциально опасные факторы и определены наиболее вероятные механизмы токсичности нанообъектов, на примере наносеребра. Также проведена оценка состояния здоровья работников производства.

Ключевые слова: наночастицы, условия труда, токсичность

Введение

Не смотря на положительные результаты внедрения нанотехнологий в многие области человеческой деятельности [1, 2, 3], появилось значительное количество информации о негативном влиянии наночастиц на живые организмы [4–7]. Ко всему этому, остаются не раскрытыми аспекты, связанные с риском для здоровья работников в реальных условиях производства нанообъектов.

Первоочередной гигиенической проблемой, связанной с нанотехнологиями, остается не только предупреждение возможных негативных факторов влияния на здоровье работающего населения, но и обоснование полученных результатов. Это касается гигиенического нормирования наноразмерных частиц в воздухе рабочей зоны и других объектах [8].

В связи с интенсификацией наноиндустрии в мире, а также с развитием ее в Украине, нами были изучены основные физические методы получения наночастиц. Среди них – методы электронно-лучевой технологии, твердофазного механосинтеза и технология термического синтеза в неизотермических условиях [9, 10].

Материалы и методы

Исследование технологических процессов получения наночастиц серебра в соляной матрице проведено на базе Международного центра электронно-лучевых технологий Института электросварки им. Е.О. Патона НАН Украины и нанопорошка кристаллического титаната бария на базе Института проблем материаловедения имени И.Н. Францевича НАН Украины. С учетом основных неблагоприятных факторов среды были проведены хронометражные наблюдения, исследованы психофизиологические факторы, производственный шум, микроклиматические условия, рентгеновское излучение, оценены концентрации аэрозолей в воздухе рабочей зоны, которые содержат наноразмерные частицы.

Экспериментальные исследования проводили на крысах-самцах линии Wistar, весом 230–240 граммов. В исследовании использовали наночастицы серебра в матрице NaCl, размерами 16 ± 5 нм, полученные методом электронно-лучевого испарения в вакууме при температуре синтеза $45 \pm 150^\circ\text{C}$. Морфологию респираторного отдела крыс изучали с применением метода электронной микроскопии ультратонких срезов, описанного Карупу В.Я. (1984 г.). Часть ультратонких срезов не контрастировали для подтверждения наличия или отсутствия наночастиц в респираторном отделе легких. Изучение и фотографирование материала проводили на электронном микро-

скопе ПЭМ-125К. Экспрессию мРНК протеинкиназы SNARK, казеинкиназы-1ε и циркадных генов исследовали методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) комплементарных ДНК (кДНК), а также методом количественной полимеразной цепной реакции (в реальном времени). Анализ результатов количественной полимеразной цепной реакции выполняли с помощью программы *Differential expression calculator*.

С целью оценки состояния здоровья работников проводили изучение данных из *медицинских карт амбулаторного больного* (ф. 025/у) и результатов периодических медицинских осмотров работников. Проводили также клинико-инструментальное обследование основных органов и систем, с заполнением специально разработанной тематической карты.

Результаты проведенных исследований обрабатывались статистически с помощью компьютерных программ *Microsoft Excel*.

Результаты и их обсуждение

Во время получения наносеребра в соляной матрице на оператора электронно-лучевой установки могут влиять производственный шум, рентгеновское излучение, показатели микроклимата. Во время проведения исследований уровни этих факторов находились в рамках допустимых. Нервная нагрузка оператора обусловлена длительным сосредоточением наблюдения – $57,8 \pm 1,5\%$ времени от рабочей смены. Потенциально опасным фактором для электронно-лучевого производства является аэрозоль матричного натрия хлорида, который включает собственно 30% наночастиц серебра (рисунок 1).

Высокие концентрации аэрозоля выявлены при отделении матрицы NaCl с наночастицами серебра от подложки и очистке вакуумной камеры электронно-лучевой установки ($0,618 \pm 0,004$ и $0,018 \pm 0,001$ мг/м³ соответственно). Наносеребро в воздухе рабочей зоны имеет неправильную или округлую форму и способно к агрегации. Наибольшее количество частиц (78,5%) имеет размер до 50 нм; среди них большинство (49,7%) попадает в диапазон от 20 до 30 нм [11].

Закрепленные концентрации наносеребра на рабочих местах операторов не превышали ПДК для металлического серебра (1 мг/м³, аэрозоль, 2 класс опасности). Однако в США и других странах для оценки содержания наноразмерного серебра в воздухе производственной зоны используют норматив для металлического серебра, который составляет 0,01 мг/м³ [12]. Исходя из этого норматива, фактическое содержание наносеребра в воздухе рабочей зоны при очистке оператором вакуумной камеры электронно-

лучевой установки превышает установленную допустимую концентрацию в 61,8 раз.

Уровни шума, оксида и диоксида углерода во время термического синтеза кристаллического нанопорошка титаната бария не превышали допустимых гигиенических нормативов. Труд по степени напряженности соответствует классу 3.1 (вредный, 1 степени опасности). Организация рабочего места при выполнении работ сидя не соответствует требованиям ГОСТ 12.2.032-78 по показателям пространства для ног и требованиям ГОСТ 21889-76 по показателям конструкции рабочего кресла.

Специфическим фактором является аэрозоль кристаллического нанопорошка титаната бария, концентрация которого колеблется в пределах от 0,3 до 1,7 мг/м³. В составе этого аэрозоля преобладают агломераты, размер которых в основном измеряется сотнями и тысячами нанометров (рисунок 2). В то же время встречаются и частицы с размерами около 40-80-100 нм и меньше. К сожалению, оценить концентрацию титаната бария не было возможно, так как отсутствуют гигиенические нормативы [13].

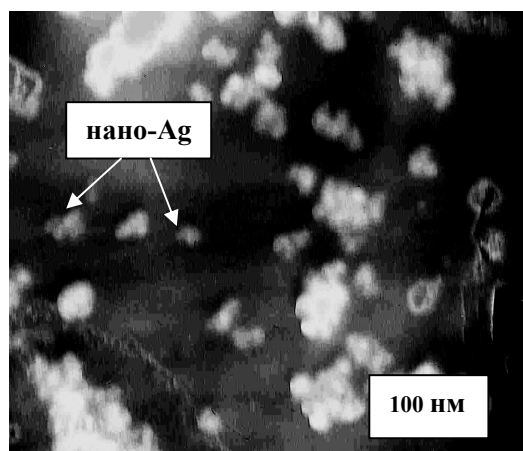


Рисунок 1. Наночастицы серебра. Электронно-грамма. Ув.: 80 000

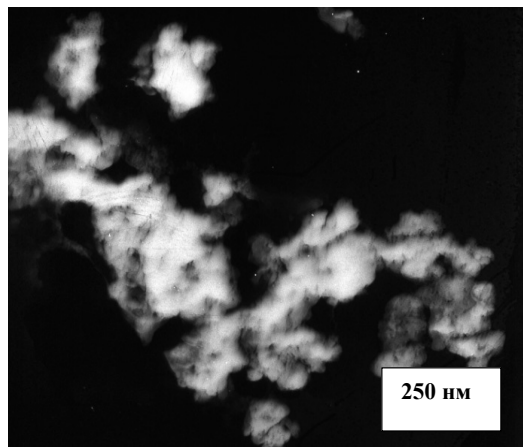


Рисунок 2. Нанопорошок BaTiO₃. Электронно-грамма. Ув.: 40 000

Изучение технологического процесса и гигиенических условий труда при электронно-лучевом испарении в вакууме показало, что труд оператора, согласно ГН 3.3.5-3.3.8; 6.6.1-083-2001 *Гигиеническая классификация труда по показателям вредности и опасности факторов производственной среды, тяжести и напряженности трудового процесса* по степени тяжести соответствует классу 2 (допустимый), напряженности – класса 3.1 (вредный, напряженный труд 1 степени).

Оценка труда оператора при получении кристаллического нанопорошка титаната бария по критериям ГН 3.3.5-3.3.8; 6.6.1-083-2001 *Гигиеническая классификация труда по показателям вредности и опасности факторов производственной среды, тяжести и напряженности трудового процесса* свидетельствует, что тяжесть труда соответствует классу 1 (оптимальный, легкая физическая нагрузка), а напряженность – классу 3.1. (вредный, 1 степени) по показателям количества объектов одновременного наблюдения и эмоциональной нагрузки.

В результате проведения исследования ультраструктуры легких подопытных животных после интратрахеального введения наносеребра были выявлены деструктивные изменения на ранних сроках и нарушения в системе синтеза сурфактанта на поздних сроках. Такие нарушения могут приводить к развитию признаков хронического неспецифического заболевания легких, что и подтвердили описанные выше данные клинико-инструментальных исследований. Скопление частиц в альвеолярных макрофагах обнаружили лишь через 3 часа и на 3 сутки (рисунок 3) [14].

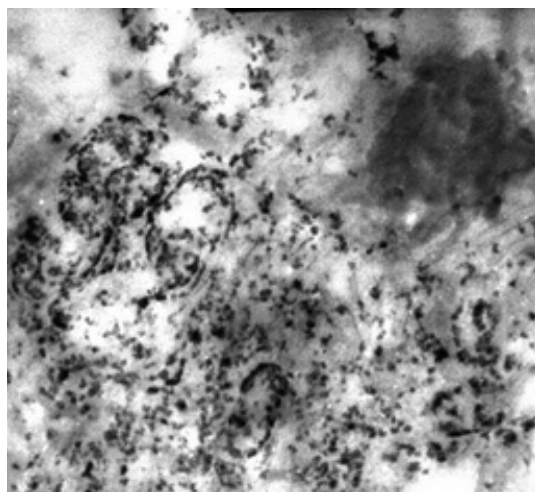


Рисунок 3. Электронноплотные частицы в макрофагах. Электронное микрофото. Ув.: 64000

Повышение уровня экспрессии генов *BMal1b* в головном мозге и легких (рисунок 4), *Per2* – только в головном мозге, *Clock* – в печени и легких,

казеинкиназы-1ε и *Per1* – во всех исследуемых органах свидетельствует о нарушении важнейших для жизнедеятельности организма циркадных ритмов, что в свою очередь может спровоцировать возникновение различных патологических состояний и активацию процессов онкогенеза. О молекулярных механизмах нарушения процессов метаболизма свидетельствуют изменения уровня экспрессии протеинкиназы *SNARK* в легких, головном мозге, сердце, семенниках, печени и почках крыс [15–17].

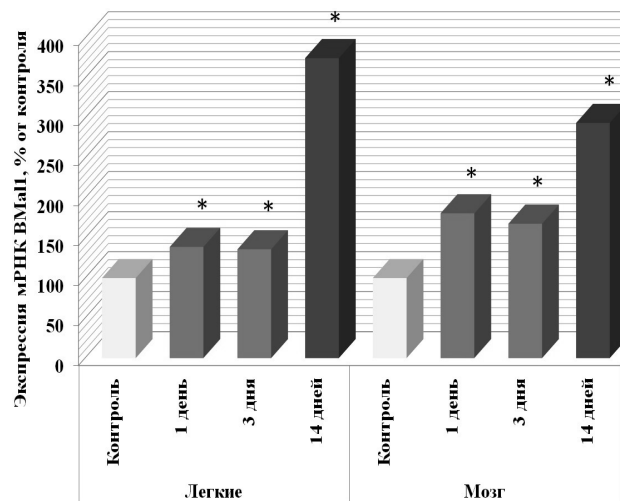


Рисунок 4. Уровни экспрессии генов *BMal1b* в головном мозге и легких подопытных крыс

Состояние здоровья работников, занятых твердофазным механоинтезом и термическим синтезом в неизотермических условиях, характеризуется высокой распространенностью болезней дыхательной системы, системы кровообращения, мочеполовой системы, которые в структуре заболеваемости 2005–2011 гг. занимают соответственно 1, 2 и 3 ранговые места. Клинико-инструментальные исследования показали изменения в бронхолегочной системе и опорно-двигательном аппарате.

Имели место астенический синдром с явлениями церебрального ангиоспазма и функциональные нарушения деятельности головного мозга. Также были установлены признаки развития хронических обструктивных заболеваний легких (жесткое дыхание в легких при аускультации, достоверное увеличение размера правого желудочка при ЭхоКГ).

Полученные результаты гигиенических и токсикологических исследований дают возможность обосновать целесообразность осуществления гигиенической оценки условий труда при производстве наночастиц по принципу потенциальной опасности по ГН 3.3.5-3.3.8; 6.6.1-083-2001 и априори относить их к высокой степени вредности.

Выводы

Операторы во время исполнения своих профессиональных обязанностей подвергаются воздействию вредных факторов производственной среды. Потенциально опасными и специфическими факторами являются аэрозоли, которые имеют в составе наночастицы.

Труд операторов согласно ГН 3.3.5-3.3.8; 6.6.1-083-2001 характеризуется как напряжённый класса 3.1 по показателям *длительное сосредоточение внимания и эмоциональной нагрузке*.

Существует необходимость разработки и внедрения новых гигиенических подходов по установлению ПДК наночастиц с учетом их абсолютного количества в единице объема воздуха, размеров, удельной поверхности и других физико-химических параметров.

Установлена необходимость динамического наблюдения за состоянием здоровья работников для выявления закономерных изменений, обусловленных влиянием наночастиц.

Результаты клинико-инструментальных исследований и морфологический анализ респираторной системы подтвердили возможность развития обструктивных заболеваний легких у работников, контактирующих с нанообъектами.

Изменения уровней экспрессии циркадных и других генов не только свидетельствуют о негативном воздействии наночастиц на молекулярном уровне, но и могут служить генетическими маркерами их повреждающего действия на организм.

Литература

1. Киреев В.А. *Нанотехнологии: история возникновения и развития*. В: Российские нанотехнологии, 2007, т. 2, № 7–8, с. 1-5.
2. Андриевский Р.А. *Наноструктурные материалы – состояние разработок и применение*. В: Перспективные материалы, 2001, № 6, с. 5-11.
3. Б.М.Балоян, А.Г.Колмаков, М.И.Алымов, А.М.Кротов. *Наноматериалы: классификации, особенности свойств, применение и технологии получения*: учеб. пособие [для студ. высш. учеб. завед.]. Москва: АгроПрессДизайн, 2007, 102 с.
4. Z. Chen, H. Meng, G. Xing et al. *Toxicological and biological effects of nanomaterials*. In: International Journal of Nanotechnology, 2007, № 4 (1-2), p. 179-196.
5. V.E. Kagan, H. Bayir, A.A. Shvedova. *Nanomedicine and nanotoxicology: two sides of the same coin*. In: Nanomedicine: nanotechnology, biology and medicine, 2005, nr. 1, p. 313–316.
6. M. G. Perrone, M. Gualtieri, V. Consonni, et al. *Particle size, chemical composition, seasons of the year and urban, rural or remote site origins as determinants of biological effects of particulate matter on pulmonary cells*. In: Environmental Pollution, vol. 176, p. 215–227, 2013.
7. I. Levy, D. Diez, Y. Dou, C. D. Barr, and F. Dominici. *A meta-analysis and multisite time-series analysis of the differential toxicity of major fine particulate matter constituents*. In: American Journal of Epidemiology, vol. 175, nr. 11, p. 1091–1099, 2012.
8. Москаленко В.Ф., Яворовський О.П. *Екологічні і токсиколого-гігієнічні аспекти біологічної нанотехнології, наночастинок та наноматеріалів*. В: Науковий вісник Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, 2009, № 3, с. 25–35.
9. Мовчан Б. А., Яковчук К. Ю. *Новый подход к получению микропористых материалов и покрытий электронно-лучевым испарением неорганических веществ*. В журнале: Современная электротехнология, 2001, № 2.
10. Рагуля А.В., Васильків О.О., Скороход В.В. *Синтез и спекание нанокристаллического порошка титаната бария в неизометрических условиях. I. Управление дисперсностью титаната бария в процессе его синтеза из титанил-оксалата бария*. В: Порошковая металлургия, 1997, № 3/4, с. 59-65.
11. *Silver Nanoparticles. Material Safety Data Sheet*. US Research Nanomaterials to OSHA and ANSI, 2010, 7 p.
12. О.П. Яворовський, В.П. Ширококов, В.М. Шевцова, Г.А. Шкурко, В.В. Бобир, М.В. Вертеленко, Т.О. Зінченко. *Фізіолого-гігієнічна оцінка умов праці операторів при одержанні наночастинок срібла за допомогою електронно-променевої технології*. В журнале: Академії медичних наук України, 2009, № 3, с. 543–554.
13. О. П. Яворовський, М.І. Веремей, В.М. Шевцова та ін. *Фізіолого-гігієнічна характеристика умов праці при виробництві нанокристалічного порошку титанату барію методом безперервного термічного синтезу*. В: Український журнал з проблем медицини праці, 2011, № 1(25), с. 28–34.
14. Яворовський О.П., Зінченко Т.О., Куфтарева Т.П. *Ультроструктурні зміни респіраторного відділу щурів на ранніх етапах після введення наносрібла*. В журнале Академії медичних наук України, 2010, № 3, с. 474–482.
15. D. Minchenko, I. Bozhko, T. Zinchenko, O. Yavorovsky, O. Minchenko. *Expression of SNF1/AMP-activated protein kinase and casein kinase-1 epsilon in different rat tissues is a sensitive marker of in vivo silver nanoparticles action*. In: Materialwissenschaft und Werkstofftechnik, 2011, v. 42, № 2, p. 21–25.
16. Д.О. Мінченко, І.В. Божко, Т.О. Зінченко, О.П. Яворовський, О.Г. Мінченко. *Зміни у рівні експресії циркадіальних генів Per1, Clock і Bmal1 у печінці, легенях, сім'яниках, нирках та серці щурів за дії на організм наночастинок срібла*. В: Біологічні студії/ Studia Biologica, 2010, т. 4, № 1, с. 5–14.
17. О.П. Яворовський, О.Г. Мінченко, Д.О. Мінченко, Т.О. Зінченко. *Експресія кazeїнкiнази-1ε та Per2 у печінці, легенях, нирках, сім'яниках та міокарді при дії на організм щурів наночастинок срібла*. В журн. АМН України, 2010, т. 16, № 1, с. 160-167.