

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ АМОРФНОГО ВЫСОКОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМА НА СИСТЕМУ КРОВИ И ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЕ РАВНОВЕСИЕ ТКАНЕЙ КРЫС

В. А. Стежка
О. Б. Леоненко
В. Н. Зинченко
А. Ю. Матвеева
В. А. Мовчан

Государственное учреждение
«Институт медицины труда АМН Украины», Киев

E-mail: stezhka@ukr.net

В трехмесячном эксперименте проведено сравнительное исследование влияния на организм крыс-самцов Вистар порошков наночастиц аморфного высокодисперсного кремнезема (6–7 нм и 54–55 нм) и грубодисперсного порошка стандарта Люберецкого кварца ПК-3 после однократного интратрахеального введения в дозе 50 мг. В динамике эксперимента наблюдали: эозинофильную реакцию в периферической крови; преимущественное формирование клеточной реакции гиперчувствительности немедленного типа; нарушение прооксидантно-антиоксидантного равновесия в легких, печени, эритроцитах и плазме крови; угнетение пероксидного окисления липидов в плазме крови, легких и активацию в печени; изменение антиоксидантной защиты организма с развитием антиоксидантной недостаточности; активности холинэстеразы. Установлено нарастание повреждающего влияния порошков наночастиц на организм крыс к концу эксперимента. Сделан вывод об опасности для здоровья ингаляционного поступления наночастиц высокодисперсного кремнезема в организм работающих в условиях их производства.

Ключевые слова: наночастицы кремнезема, грубодисперсный Люберецкий кварц ПК-3, интратрахеальное введение, лейкоциты крови, пероксидное окисление липидов, антиоксидантная защита организма.

Предполагаемый механизм реализации мембранотоксического действия некоторых высокодисперсных кремнезёмов по результатам исследований в модельных системах *in vitro* сводится к электростатическому взаимодействию между отрицательно заряженной поверхностью частиц SiO_2 и несущими положительный заряд тетраалкиламмониевыми группами лецитина и сфингомиелина в составе мембранных фосфолипидов [1]. Одновременно с этим происходит образование водородных связей между силанольными группами частиц и вторичными амидными группами мембранных белков. Считают, что мелкие частицы кремнезема преимущественно блокируют определенные центры на поверхности мембраны, тогда как более крупные разрушают ее вследствие способности к сорбции (экстракции) мембранных фосфолипидов и протеинов с последующей денатурацией протеиновых молекул.

Ранее нами было подтверждено наличие мембранотоксического действия порошков стандарта грубодисперсного Люберецкого кварца ПК-3 и наночастиц аморфного высокодисперсного кремнезема А-50 и А-450, активирующее их влияние на резидентные фагоциты печени (звездчатые ретикулоэндотелиоциты) морфологическими исследованиями внутренних органов крыс после однократного интратрахеального их введения в дозе 50 мг/крысу [2], а также активирующее влияние стандарта грубодисперсного Люберецкого кварца ПК-3 на лимфоциты периферической крови крыс в системе *in vitro* [3]. Однако недостаточная изученность механизма мембранотоксического действия высокодисперсных кремнезёмов обуславливает необходимость более детального и целенаправленного его экспериментального исследования. С нашей точки зрения, для расшифровки отдельных звеньев этого меха-

низма целесообразно проведение исследований по изучению влияния высокодисперсных кремнеземов на клеточный состав периферической крови и прооксидантно-антиоксидантное равновесие тканей. Это обусловлено тем, что в механизме реализации повреждающего действия химических веществ на мембраны клеток внутренних органов и клеток крови важное значение принадлежит одному из неспецифических звеньев — активации пероксидного окисления липидов (ПОЛ) [3–6].

Целью работы было сравнительное исследование влияния порошков наночастиц аморфного высокодисперсного кремнезема различного размера, которые используются в качестве сорбентов, носителей лекарств, а также в компьютерных технологиях, и грубодисперсного порошка стандарта Люберецкого кварца ПК-3 на клеточный состав периферической крови и прооксидантно-антиоксидантное равновесие тканей крыс в хроническом эксперименте.

Материалы и методы

Исследования проведены на 40 крысах-самцах Вистар исходной массой 145–200 г, которые были разделены на контрольную и три опытные группы. Животным опытных групп однократно интратрахеально вводили во взвеси в физиологическом растворе по 50 мг порошков: стандарта грубодисперсного Люберецкого кварца ПК-3; наночастиц аморфного высокодисперсного кремнезема А-450 (диаметр первичных частиц 6–7 нм, удельная поверхность 450 м²/г); наночастиц аморфного высокодисперсного кремнезема А-50 (диаметр первичных частиц 54–55 нм, удельная поверхность 50 м²/г). Крыс выводили из эксперимента декапитацией под легким эфирным наркозом через 1 и 3 мес, соблюдая правила гуманного обращения с лабораторными животными. В эти же сроки проводили исследования клеточного состава периферической крови и биохимические исследования.

Клеточный состав периферической крови исследовали методом световой микроскопии мазков, окрашенных азурэозином по Романовскому [7]. Для суждения об особенностях формирующихся иммунных клеточных защитных реакций организма по результатам исследования лейкограммы дополнительно рассчитывали соотношения следующих популяций лейкоцитов в периферической крови: нейтрофилов/лимфоцитов (СНЛ), нейтрофилов/моноцитов (СНМ),

лимфоцитов/моноцитов (СЛМ), лимфоцитов/эозинофилов (СЛЭ) [8].

Активность ПОЛ исследовали методом регистрации спонтанного (СХЛ) и Fe²⁺-индуцированного (ИХЛ) сверхслабого свечения (хемилюминесценции) плазмы крови, гомогенатов ткани легких и печени [6]. Оценку ПОЛ в биологических субстратах проводили согласно [5, 6].

В сыворотке крови определяли содержание диеновых конъюгатов (ДК), соединений, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБКАС), сывороточного антиоксиданта — церулоплазмينا (ЦП, ЕС 1.16.3.1), а также активность печеночной холинэстеразы (ХЭ, ЕС 3.1.1.8) [9–11]. В эритроцитах определяли активность супероксиддисмутазы (СОД, ЕС 1.15.1.1) и каталазы (КТ, ЕС 1.11.1.6) [12].

Результаты исследований обработаны статистически по критерию t-Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Исследование клеточного состава периферической крови

Через 1 мес после интратрахеального введения крысам 50 мг порошка стандартного Люберецкого кварца ПК-3 существенных отклонений в структуре лейкограммы крови крыс не выявлено (табл. 1). Однако отмечалась тенденция к снижению СЛЭ, что указывало на некоторое преобладание в клеточных защитных реакциях организма крыс гиперчувствительности немедленного типа над замедленным ее типом (табл. 2).

После интратрахеального введения крысам в этой же дозе порошков наночастиц обоих размеров (А-50 и А-450) развивалась относительная эозинофилия и снижалось СЛЭ. Кроме того, более крупные наночастицы А-50 вызывали моноцитопению, снижение СНЛ и увеличение СНМ и СЛМ, что свидетельствовало о включении клеточных элементов специфической иммунной защиты организма с преобладанием микрофагального пула клеток и аффекторного антигенпрезентирующего звена иммунного ответа.

Через 3 мес эксперимента нарушения структуры лейкограммы у крыс были менее выраженными по сравнению с предыдущим сроком эксперимента. Однако в группах животных после интратрахеального введения порошков стандарта Люберецкого кварца ПК-3 и наночастиц кремнезема А-50 наблюдалось снижение относительного содержания в крови палочкоядерных нейтрофилов, а после введения порошка наночастиц

Таблица 1. Лейкограмма периферической крови крыс через 1 (I) и 3 (II) мес после однократного интратрахеального введения порошков стандарта грубодисперсного Люберецкого кварца ПК-3 и наночастиц аморфного высокодисперсного кремнезема А-50 и А-450 в дозе 50 мг/крысу ($M \pm m$)

Серия исследований	Лейкограмма, %					
	эозинофилы	базофилы	нейтрофилы		моноциты	лимфоциты
			п/ядерные	с/ядерные		
I. Контроль	2,9±1,8	0,3±0,2	2,0±0,6	26,6±3,0	12,8±3,0	55,4±4,7
2. Стандарт ПК-3 P _{I-2}	4,0±1,0	0,2±0,2	2,4±0,4	31,2±4,5	12,8±4,3	49,6±3,9
3. Наночастицы А-450 P _{I-3} P ₂₋₃	8,4±2,4 *** ***	0,0±0,0	1,2±0,4 **	28,2±7,3	10,2±2,8	52,0±7,0
4. Наночастицы А-50 P _{I-4} P ₂₋₄ P ₃₋₄	7,8±2,2 *** ***	0,0±0,0	1,4±0,6	25,2±5,2	5,0±1,5 ** *** ***	60,8±6,0 ***
II. Контроль	2,0±0,9	0,0±0,0	2,6±0,6	24,2±3,9	8,4±4,1	62,8±7,7
2. Стандарт ПК-3 P _{II-2}	1,8±0,6	1,8±0,6	1,2±0,2 **	27,0±2,4	5,0±1,1	64,8±3,6
3. Наночастицы А-450 P _{II-3} P ₂₋₃	1,2±0,2	0,0±0,0	2,6±0,6 **	18,8±2,8 **	11,2±3,4 ***	66,2±4,7
4. Наночастицы А-50 P _{II-4} P ₂₋₄ P ₃₋₄	2,0±0,6	0,0±0,0	1,2±0,6 *** ***	30,0±6,4 ***	5,0±0,8 ***	62,0±6,6

Примечания. В этой и последующих таблицах: * — статистически достоверные различия ($p < 0,05$) между показателями в сравниваемых группах; ** и *** — тенденции к статистически достоверным различиям (соответственно, $p < 0,1$ и $p < 0,2$) между показателями в сравниваемых группах.

кремнезема А-450 — относительный умеренный моноцитоз. Соотношение отдельных популяций лейкоцитов в периферической крови также значительно нормализовалось за исключением преобладания макрофагально-клеточной защитной реакции у животных, которым вводили порошок более мелких наночастиц А-450.

Таким образом, порошки стандарта грубодисперсного Люберецкого кварца ПК-3 и наночастиц аморфных высокодисперсных кремнеземов А-50 и А-450 после однократного интратрахеального введения в дозе 50 мг/крысу вызывают нарушения клеточной структуры лейкограммы, которые свидетельствуют о возможном участии иммунной системы в реализации защитных реакций организма. Более существенный биологический эффект исследуемых порошков кремнезема на клеточную структуру лейкограммы наблюдался через 1 мес после введения и в большей мере его оказывали более

крупные наночастицы А-50. Все исследуемые порошки вызывали относительную эозинофилию и преобладание в защитных клеточных реакциях организма гиперчувствительности немедленного типа, что может свидетельствовать об аллергизации организма крыс. На возможность влияния одного из кремнеземов — полисорба после длительного (до 90 дней) ежедневного внутрижелудочного введения в дозах 100, 330 и 1000 мг/кг в сутки на иммунную резистентность организма крыс также указано в [13]. Там же описан клинический случай аллергической реакции у человека после повторного контакта с полисорбом, сопровождавшийся развитием эозинофилии.

Исследование ПОЛ и прооксидантно-антиоксидантного равновесия в тканях крыс

Через 1 мес после интратрахеального введения крысам порошка стандарта грубодисперсного Люберецкого кварца ПК-3

Таблиця 2. Соотношения лейкоцитов в периферической крови крыс через 1 (I) и 3 (II) мес после однократного интратрахеального введения порошков стандарта грубодисперсного Люберецкого кварца ПК-3 и наночастиц аморфного высокодисперсного кремнезема А-50 и А-450 в дозе 50 мг/крысу ($M \pm m$)

Серия исследований	Соотношения лейкоцитов			
	СНЛ	СНМ	СЛМ	СЛЭ
I. Контроль	0,54±0,1	3,06±1,1	6,17±2,	50,80±25,6
2. Стандарт ПК-3 P _{I-2}	0,70±0,1	4,87±1,8	6,86±2,6	14,8±3,4 ***
3. Наночастицы А-450 P _{I-3} P ₂₋₃	0,64±0,3	3,17±0,9	5,23±1,1	7,28±1,8 *** **
4. Наночастицы А-50 P _{I-4} P ₂₋₄ P ₃₋₄	0,32±0,2 **	10,70±5,3 *** ***	24,60±13,2 *** ***	12,30±6,5 *** ***
II. Контроль	0,46±0,1	5,31±1,7	16,00±7,9	48,36±13,9
2. Стандарт ПК-3 P _{II-2}	0,44±0,1	6,31±1,2	15,45±3,8	49,05±12,5
3. Наночастицы А-450 P _{II-3} P ₂₋₃	0,34±0,1	2,51±0,7 *** *	8,67±3,6	58,60±8,6
4. Наночастицы А-50 P _{II-4} P ₂₋₄ P ₃₋₄	0,57±0,2	6,47±0,9 *	13,92±3,6	43,63±11,9

в плазме крови наблюдали достоверное снижение уровня СХЛ до 662 ± 37 имп/мин против 807 ± 16 имп/мин, $p < 0,05$ (табл. 3). После инициации в плазме крови крыс ПОЛ ионами Fe^{2+} выявляли тенденцию к снижению содержания в ней пероксидных продуктов свободнорадикальных реакций до 8075 ± 911 имп/мин против 10531 ± 715 имп/мин, $p < 0,1$, и достоверное укорочение латентного периода развития медленной вспышки ИХЛ до $65,0 \pm 1,1$ с против $79,0 \pm 1,1$ с, $p < 0,05$. У 40% животных этой группы выявляли феномен «тушения» хемилюминесценции плазмы крови.

После интратрахеального введения крысам в той же дозе порошка наночастиц кремнезема А-450 в этот срок эксперимента в плазме крови также выявляли существенное снижение уровня СХЛ (431 ± 55 имп/мин, $p < 0,05$). В условиях инициации ПОЛ ионами Fe^{2+} в плазме крови наблюдали снижение содержания пероксидных продуктов свободнорадикальных реакций до 3069 ± 527 имп/мин против 10531 ± 715 имп/мин, $p < 0,05$. При этом существенно возрастала резистентность липидов плазмы крови к пероксидации на фоне укорочения латентного периода раз-

вития медленной вспышки ИХЛ. У 60% животных этой группы выявляли феномен «тушения» хемилюминесценции плазмы крови.

После интратрахеального введения крысам в той же дозе порошка наночастиц кремнезема А-450 в этот срок эксперимента в плазме крови также наблюдалось существенное снижение уровня СХЛ (593 ± 136 имп/мин, $p < 0,05$), а после инициации ПОЛ ионами Fe^{2+} — снижение содержания гидропероксидов липидов до $19,2 \pm 0,8$ имп/с и пероксидных продуктов свободнорадикальных реакций (7538 ± 399 имп/мин, $p < 0,05$). При этом существенно возрастала резистентность липидов плазмы крови к пероксидации (3496 ± 124 имп/мин, $p < 0,05$) на фоне существенного укорочения латентного периода развития медленной вспышки ИХЛ ($60,0 \pm 4,3$ с, $p < 0,05$). Однако скорость ПОЛ в плазме крови не отличалась от таковой в контрольной группе, а скорость окисления липидов была существенно выше. У животных этой группы феномен «тушения» хемилюминесценции плазмы крови не выявляли.

Таблица 3. Показатели хемилюминесценции плазмы крови крыс через 1 (I) и 3 (II) мес после однократного интратрахеального введения порошков стандарта грубодисперсного Люберецкого кварца ПК-3 и наночастиц аморфного высокодисперсного кремнезема А-50 и А-450 в дозе 50 мг/крысу ($M \pm m$)

Серия исследования	СХЛ, имп/мин	Fe^{2+} -индуцированная хемилюминесценция							
		h, имп/с	H, имп/с	$I_{мин}$, имп/с	$\angle\infty, 0$	t_1, c	t_2, c	S_1 , имп/мин	S_2 , имп/мин
I. Контроль	807±16	23,2±0,8	28,0±1,7	25,0±1,7	6,0±0,4	79,0±1,1	333,0±7,5	10531±715	5687±938
Стандарт ПК-3	662±37*	21,6±0,8	30,0±1,7	30,0±1,7	7,6±1,1	65,0±1,1*	360,0±0,0	8075±911**	3538±1680
Наночастицы А-450	431±55*	19,2±0,8*	8,8±2,6*	8,8±2,6*	2,2±0,6*	70,0±3,2*	360,0±0,0	3069±527*	486±618*
Наночастицы А-50	593±136*	19,2±0,8*	26,4±1,7	26,0±1,7	12,0±2,6*	60,0±4,3*	310,0±53,6	7538±399*	3496±124*
II. Контроль	492±79	23,0±0,8	19,0±0,8	15,0±0,8	7,3±0,4	85,0±2,1	336,7±15,0	3934±185	1717±319
Стандарт ПК-3	984±158*	23,2±1,7	12,0±1,7*	12,0±1,7*	4,8±0,4*	61,0±1,1*	360,0±0,0	7956±624*	2054±130
Наночастицы А-450	730±47*	19,2±0,8*	14,4±2,6**	14,4±2,6	6,4±0,4	69,0±3,2*	360,0±0,0	4791±740	410±412*
Наночастицы А-50	867±133*	19,2±0,8*	15,2±1,7**	13,6±1,7	3,4±0,4*	110,0±5,4*	333,0±7,5	4469±554	-730±483*

Таким образом, исследуемые порошки кремнезема через 1 мес после интратрахеального введения крысам вызывали существенные изменения хемилюминесценции плазмы крови. По своей качественной характеристике последние отображали нарушение ее липидного состава [6]. Наиболее выраженными количественно они были в группе животных, которым интратрахеально вводили порошок наночастиц А-450, а наименее — после введения порошка стандарта грубодисперсного Люберецкого кварца ПК-3.

В гомогенатах органа-мишени — легких крыс в этот срок эксперимента после однократного интратрахеального введения порошка стандарта грубодисперсного Люберецкого кварца ПК-3 выявляли снижение уровня СХЛ (533±96 имп/мин против 1131±229 имп/мин, $p < 0,05$) (табл. 4). После инициации в гомогенатах легких ПОЛ ионами Fe^{2+} наблюдалось существенное уменьшение содержания продуктов ПОЛ. У 60% животных этой группы отмечался феномен «тушения» хемилюминесценции гомогенатов легких, вследствие чего показатель S_2 имел парадоксальное отрицательное значение (-970±281 имп/мин против

2018±350 имп/мин, $p < 0,05$), что указывало на нарастание резистентности липидов мембран клеток к перекислению [6].

В гомогенатах ткани легких крыс после однократного интратрахеального введения порошка наночастиц А-450 в этот срок эксперимента регистрировали существенное угнетение ПОЛ. Это проявлялось снижением уровня СХЛ до 296±49 имп/мин, $p < 0,05$, а при инициации ПОЛ-интенсивности процесса (13,6±3,4 имп/с, $p < 0,1$), содержания пероксидных продуктов ПОЛ (2162±142 имп/мин, $p < 0,05$) и повышением резистентности липидов мембран клеток к перексидации (387±758 имп/мин, $p < 0,05$). У 40% животных этой группы наблюдали феномен «тушения» хемилюминесценции гомогенатов легких.

В гомогенатах легких крыс после однократного интратрахеального введения порошка наночастиц А-50 в этот срок эксперимента выявляли аналогичные нарушения ПОЛ после введения порошка наночастиц А-450, но статистически более выраженные. Уровень СХЛ гомогенатов снижался до 344±14 имп/мин, $p < 0,05$, интенсивность ПОЛ — до 10,0±1,7 имп/с, $p < 0,05$, содержание продуктов ПОЛ — до 3850±45 имп/мин,

Таблиця 4. Показатели хемилюминесценции гомогенатов ткани легких крыс через 1 (I) и 3 (II) мес после однократного интратрахеального введения порошков стандарта грубодисперсного Люберецкого кварца ПК-3 и наночастиц аморфного высокодисперсного кремнезема А-50 и А-450 в дозе 50 мг/крысу ($M \pm m$)

Серия исследования	СХЛ, имп/мин	Fe ²⁺ -индуцированная хемилюминесценция							
		h, имп/с	H, имп/с	I _{мин} , имп/с	∠∞,0	t ₁ ,с	t ₂ , с	S ₁ , имп/мин	S ₂ , имп/мин
I. Контроль	1131±229	25,6±1,7	19,0±0,8	19,0±0,8	5,2±0,4	58,0±4,3	360,0±0,0	7600±397	2018±350
Стандарт ПК-3	533±96*	32,4±3,4*	16,4±1,3	16,4±1,3	5,4±0,4	65,0±2,1	360,0±0,0	2244±402*	-970±281*
Наночастицы А-450	296±49*	25,6±1,7	13,6±3,4**	13,6±3,4**	2,2±0,6*	170,0±15,0*	360,0±0,0	2162±142*	387±758*
Наночастицы А-50	344±14*	21,0±1,7	10,0±1,7*	10,0±1,7*	3,5±0,8*	213,8±55,8*	320,0±34,3	3850±45*	896±293*
II. Контроль	366±22	24,0±3,4	22,7±1,7	18,7±0,8	6,7±0,6	78,3±2,1	300,0±19,3	4497±708	2657±677
Стандарт ПК-3	736±126*	21,6±1,7	12,0±2,6*	12,0±2,6*	1,8±0,4*	232,5±7,5*	360,0±0,0*	7940±70*	2992±102
Наночастицы А-450	434±35**	25,0±3,0	12,0±3,4*	12,0±3,4*	1,0±0,4*	256,2±44,0*	360,0±0,0*	4184±127	1618±10*
Наночастицы А-50	480±62**	24,8±0,8	3,6±1,7*	3,6±1,7*	0,6±0,6*	291,8±36,5*	360,0±0,0*	995±153*	-1884±116*

$p < 0,05$. При этом резистентность липидов мембран клеток к пероксидации, наоборот, повышалась до 896 ± 293 имп/мин, $p < 0,05$. У 25% животных этой группы наблюдали феномен «тушения» хемилюминесценции гомогенатов легких.

Таким образом, исследуемые порошки кремнезема через 1 мес после однократного интратрахеального введения крысам вызвали угнетение ПОЛ в легких, что свидетельствовало об их повреждении [5, 6]. Этот биологический эффект количественно был более выраженным после введения крысам порошков наночастиц А-450 и А-50, чем после введения порошка стандарта грубодисперсного Люберецкого кварца ПК-3.

В гомогенатах печени крыс после однократного интратрахеального введения порошка стандарта грубодисперсного Люберецкого кварца ПК-3 в этот срок эксперимента выявлена активация ПОЛ (табл. 5). Об этом свидетельствовало увеличение уровня СХЛ до 1346 ± 182 имп/мин против 905 ± 44 имп/мин, $p < 0,05$. Однако это не сопровождалось накоплением в гомогенатах ткани печени продуктов ПОЛ или изменением резистентности липидов мембран гепатоцитов к процессу пероксидации. Более того,

наблюдали достоверное снижение активности процесса ПОЛ в гомогенатах печени ($111,0 \pm 6,9$ имп/с против $127,2 \pm 3,4$ имп/с, $p < 0,05$) и увеличение антиоксидантной защиты в них ($61,0 \pm 3,2$ с против $48,0 \pm 1,1$ с, $p < 0,05$). Отсутствие свободнорадикального повреждения печени подтверждалось нормальным содержанием в сыворотке крови низкомолекулярных маркеров оксидационного стресса (ДК, ТБКАС), сывороточного антиоксиданта — энзима ЦП, а также нормальной активностью органоспецифического печеночного энзима ХЭ (табл. 6). В то же время отмечалось изменение системы АОЗ, о чем свидетельствовало увеличение на 64,9% активности энзима СОД и достоверное снижение активности КТ ($13,7 \pm 3,3\%$ против $20,9 \pm 3,3\%$, $p < 0,05$) в эритроцитах.

В гомогенатах печени крыс после однократного интратрахеального введения порошка наночастиц кремнезема А-50 в этот срок эксперимента уровень СХЛ снижался (621 ± 72 имп/мин против 905 ± 44 имп/мин, $p < 0,05$). При этом также существенно увеличивалась антиоксидантная защита ткани печени, на что указывало удлинение латентного периода развития медленной вспышки ИХЛ и времени выхода кривой

Таблица 5. Показатели хемилюминесценции гомогенатов ткани печени крыс через 1 (I) и 3 (II) мес после однократного интратрахеального введения порошков стандарта грубодисперсного Люберецкого кварца ПК-3 и наночастиц аморфного высокодисперсного кремнезема А-50 и А-450 в дозе 50 мг/крысу ($M \pm m$)

Серия исследований	СХЛ, имп/мин	Fe ²⁺ -индуцированная хемилюминесценция							
		h, имп/с	H, имп/с	I _{мин} , имп/с	∠∞, 0	t ₁ , с	t ₂ , с	S ₁ , имп/мин	S ₂ , имп/мин
I. Контроль	905±44	34,4±0,8	127,2±3,4	93,6±10,3	48,2±1,5	48,0±1,1	210,0±10,7	43498±555	38400±616
Стандарт ПК-3	1346±182*	51,8±4,9*	111,0±6,9*	97,6±4,3	55,4±1,5*	61,0±3,2*	222,0±8,6	44578±3622	36277±2165
Наночастицы А-450	651±10*	37,0±1,7	180,8±9,4*	57,0±8,5*	70,6±1,3*	63,0±5,4*	201,0±5,4	53589±682*	49032±438*
Наночастицы А-50	621±72*	32,0±0,8	114,4±10,3	77,6±7,7	57,6±1,3*	54,4±1,1*	255,0±7,5*	44549±244	39611±382
II. Контроль	655±95	36,8±3,4	101,6±3,4	57,6±4,3	54,8±1,1	78,0±3,2	237,0±4,3	26346±648	21751±1339
Стандарт ПК-3	916±54*	25,0±0,8*	100,8±8,6	56,0±3,4	48,8±0,4*	80,0±3,2	292,0±5,4*	25691±1056	23378±1271
Наночастицы А-450	1093±44*	31,0±0,8**	113,0±4,3**	85,0±3,4*	54,8±1,3	65,2±2,1*	215,0±7,5*	34502±264*	27944±402*
Наночастицы А-50	418±42**	28,8±2,6**	112,8±4,3**	56,8±7,7	54,0±3,4	61,0±2,1*	232,0±7,5	33163±1319*	30008±795*

хемилюминесценции на плато. Другие параметры хемилюминограммы гомогенатов ткани печени у животных этой серии исследований не отличались от контрольных. Изменения содержания низкомолекулярных продуктов ПОЛ в сыворотке крови не наблюдались. Однако в системе АОЗ организма выявляли изменения в ее сывороточном и тканевом звеньях, на что указывало снижение содержания активности ЦП в сыворотке (на 13,9%) и КТ (на 13,9%) при нарастании активности СОД (на 17,5%) в эритроцитах. При этом активность ХЭ в сыворотке крови крыс увеличивалась (42,4±5,6 ммоль/г·л против 34,0±2,7 ммоль/г·л, $p < 0,1$), что свидетельствовало об изменении проницаемости клеточных мембран гепатоцитов, а следовательно, об их повреждении.

В гомогенатах печени после однократного интратрахеального введения порошка наночастиц кремнезема А-450 в этот срок эксперимента уровень СХЛ также существенно снижался (651±10 имп/мин против 905±44 имп/мин, $p < 0,05$). В условиях инициации ПОЛ ионами Fe²⁺ существенно увеличивалась интенсивность ПОЛ (180,8±9,4 имп/с против 127,2±3,4 имп/с, $p < 0,05$),

содержание пероксидных продуктов свободно-радикальных реакций (53 589±682 имп/мин против 43 498±555 имп/мин, $p < 0,05$) и снижалась резистентность липидов мембран гепатоцитов к процессу пероксидации (49 032±438 имп/мин против 38 400±616 имп/мин, $p < 0,05$). То есть, в печени животных этой группы регистрировали активацию ПОЛ [6]. При этом активность СОД в эритроцитах увеличивалась на 42,1%, КТ уменьшалась на 13,9%, а содержание ДК в сыворотке крови снижалось на 41,7% ($p < 0,05$). Выявленные нарушения в печени животных этой группы можно рассматривать как переходное состояние от активации ПОЛ к повреждению мембран гепатоцитов [5, 6].

Таким образом, через 1 мес после однократного интратрахеального введения в дозе 50 мг/крысу порошков стандарта грубодисперсного Люберецкого кварца ПК-3 и наночастиц аморфного высокодисперсного кремнезема А-50 и А-450 выявлено их влияние на прооксидантно-антиоксидантное равновесие в ткани печени. Исследуемые порошки вызывали существенные изменения активности системы ПОЛ не только в органе-мишени — легких, но и в плазме крови

Таблиця 6. Активність ензимів антиоксидантної захисти організму, індикаторних ензимів і содержание продуктів ПОЛ у крыс через 1 (I) і 3 (II) мес после однократного интратрахеального введення порошков стандарта грубодисперсного Люберецького кварца ПК-3 і наночастиц аморфного високодисперсного кремнезема А-50 і А-450 в дозе 50 мг/крысу ($M \pm m$)

Серия исследований	Активність ензимів			Концентрация веществ		
	СОД, %	КТ, %	ХЭ, ммоль/ч · л	ЦП, мг/л	ДК, ммоль/л	ТБКАС, мкмоль/л
I. Контроль	5,7±3,5	20,9±3,3	34.0±2.7	228,7±19,0	1,2±0,1	16,3±3,8
Стандарт ПК-3	9,4±3,4	13,7±3,3**	34.0±5.8	241,2±11,5	1,1±0,2	15,3±1,2
Наночастицы А-450	8,1±4,6	18,0±3,3	34.3±2.9	233,6±17,1	0,7±0,1*	17,1±1,6
Наночастицы А-50	6,7±1,5	18,0±2,4	42,4±5,6**	197,0±12,0**	1,0±0,2	14,1±1,2
II. Контроль	11,1±3,6	18,7±2,7	20,2±3,8	196,2±29,8	0,9±0,4	4,8±0,8
Стандарт ПК-3	6,8±0,8	34,3±3,7*	23,6±2,8	256,4±42,1	1,4±0,3	8,7±0,9*
Наночастицы А-450	5,5±1,8*	42,9±4,2*	21,8±2,1	217,7±8,8	1,2±0,2	8,8±1,8*
Наночастицы А-50	8,1±5,0	31,6±1,7*	16,9±1,8	206,5±29,3	0,6±0,2	10,6±1,8*

и ткани печени за счет прооксидантного влияния. Причем, если по качественной характеристике кинетики ИХЛ в гомогенатах ткани легких и плазме крови регистрировали угнетение ПОЛ, что отображало, соответственно, повреждение клеточных мембран, то в печени — активацию. Вследствие этого изменялись параметры АОЗ организма, клеточных мембран гепатоцитов, свидетельствующие об их повреждении. Количественно наиболее выраженными эти нарушения были в группе животных, которым интратрахеально вводили порошок более мелких наночастиц А-450, а наименее — после введения порошка стандарта грубодисперсного Люберецького кварца ПК-3.

Через 3 мес после однократного интратрахеального введения крысам порошка стандарта грубо дисперсного Люберецького кварца ПК-3 в плазме крови наблюдали более выраженные нарушения ее липидного состава по сравнению с предыдущим сроком эксперимента (табл. 3). Об этом свидетельствовало снижение интенсивности ПОЛ ($12,0 \pm 1,7$ имп/с против $19,0 \pm 0,8$ имп/с, $p < 0,05$). У животных этой группы выявляли повышенный уровень СХЛ плазмы крови и накопление в ней пероксидных продуктов.

В этот срок опыта в плазме крови крыс, которым интратрахеально вводили порошок наночастиц А-450, выявляли аналогичные вызываемым порошком ПК-3 изменения хемилюминесценции, но они были менее выражены. Наблюдалось снижение содержания в плазме крови продуктов и скорости ПОЛ на фоне высокого уровня СХЛ. При этом у 40% животных этой группы в плазме

крови отмечался эффект «тушения» хемилюминесценции.

В плазме крови крыс, которым однократно интратрахеально вводили порошок наночастиц А-50, выраженность нарушения липидного состава в этот срок опыта по сравнению с предыдущим также существенно нарастала. Проявлением этого были: снижение содержания в ней продуктов, скорости ПОЛ окисления липидов и увеличение резистентности липидов к переокислению. При этом у 80% животных этой группы наблюдался эффект «тушения» хемилюминесценции плазмы крови.

Таким образом, в динамике эксперимента от 1 до 3 мес после однократного интратрахеального введения крысам порошков стандарта грубодисперсного Люберецького кварца ПК-3 и наночастиц А-50 выраженность нарушений липидного состава плазмы крови по результатам хемилюминесцентных исследований нарастала и уменьшалась после введения порошка наночастиц А-450.

В ткани легких крыс через 3 мес после однократного интратрахеального введения порошка стандарта грубодисперсного Люберецького кварца ПК-3, по сравнению с предыдущим сроком эксперимента, выраженность изменений ПОЛ нарастала (табл. 4). Увеличился уровень СХЛ гомогенатов легких (736 ± 126 имп/мин против 366 ± 22 имп/мин, $p < 0,05$), снизилась интенсивность ПОЛ ($12,0 \pm 2,6$ имп/с против $22,7 \pm 1,7$ имп/с, $p < 0,05$). При этом в гомогенатах ткани легких выявлялся повышенный уровень пероксидных продуктов (7940 ± 70 имп/мин против 4497 ± 708 имп/мин, $p < 0,05$).

В этот срок эксперимента в легких крыс после интратрахеального введения порошка наночастиц А-450 структурные нарушения, выявляемые методом хемилюминесцентного исследования гомогенатов, сохранялись (табл. 4). Об этом свидетельствовали: снижение ПОЛ ($12,0 \pm 3,4$, $p < 0,05$) и повышение резистентности липидов мембран клеток к перекислению (1618 ± 10 имп/мин против 2657 ± 677 имп/мин, $p < 0,05$). У 20% животных этой группы сохранялся эффект «тушения» хемилюминесценции гомогенатов тканей легких.

В группе крыс, которым интратрахеально вводили порошок наночастиц А-50, в легких в этот срок эксперимента выявлялось усиление структурных повреждений (табл. 4). Подтверждением этому были: снижение ПОЛ (до $3,6 \pm 1,7$ имп/с, $p < 0,05$), содержания в гомогенатах пероксидных продуктов (до 955 ± 153 имп/мин, $p < 0,05$) и повышение резистентности липидов мембран клеток к перекислению (-1884 ± 116 имп/мин, $p < 0,05$). У 80% животных этой группы отмечался эффект «тушения» хемилюминесценции гомогенатов легких.

Таким образом, по результатам хемилюминесцентных исследований в динамике эксперимента от 1 до 3 мес после однократного интратрахеального введения крысам исследуемых порошков кремнеземов выраженность структурных нарушений в легких нарастала. В большей мере это проявлялось в группах животных после введения порошков стандарта грубодисперсного Люберецкого кварца ПК-3 и более крупных наночастиц А-50. В группе животных после интратрахеального введения порошка более мелких наночастиц А-450 эти нарушения развивались уже через 1 мес эксперимента и стойко сохранялись до конца наблюдения.

В гомогенатах ткани печени крыс через 3 мес после однократного интратрахеального введения порошка стандарта грубодисперсного Люберецкого кварца ПК-3 наблюдались структурные повреждения мембран гепатоцитов, по-видимому, как результат предшествующей (1 мес эксперимента) активации системы ПОЛ (табл. 5). Это подтверждалось снижением содержания в гомогенатах ткани печени первичных продуктов ПОЛ, а также увеличением на 16,8% активности органоспецифического печеночного энзима ХЭ в сыворотке крови животных этой группы, увеличением содержания в сыворотке крови на 55,6% промежуточных (ДК) и на 81,2% конечных (ТБКАС) продуктов ПОЛ (табл. 6). Кроме того, у животных этой

группы выявляли изменение АОЗ организма: активность СОД в эритроцитах снижалась на 38,7%, а каталазы, наоборот, возрастала ($34,3 \pm 3,7\%$ против $18,7 \pm 2,7\%$ в контроле, $p < 0,01$), что сопровождалось увеличением на 30,7% активности церулоплазмина (табл. 6).

Через 3 мес после однократного интратрахеального введения крысам порошка наночастиц А-450 в гомогенатах ткани печени по сравнению с предыдущим сроком эксперимента ПОЛ существенно возрастало (табл. 5): СХЛ гомогенатов ткани печени (1093 ± 44 имп/мин против 655 ± 95 имп/мин, $p < 0,05$), содержание пероксидных продуктов (34502 ± 264 имп/мин, $p < 0,05$). Причиной этого являлась антиоксидантная недостаточность в ткани печени, на что указывало укорочение латентного периода развития медленной вспышки ИХЛ ($65,2 \pm 2,1$ с против $78,0 \pm 3,2$ с, $p < 0,05$) и времени выхода кривой хемилюминесценции на плато ($215,0 \pm 7,5$ с против $237,0 \pm 4,3$ с, $p < 0,05$). Наличие антиоксидантной недостаточности у крыс этой группы подтверждалось изменениями АОЗ организма: угнетением активности СОД ($5,5 \pm 1,8\%$ против $11,1 \pm 3,6\%$ в контроле, $p < 0,05$) и активацией каталазы ($42,9 \pm 4,2\%$ против $18,7 \pm 2,7\%$ в контроле, $p < 0,05$) в эритроцитах. При этом наблюдали изменение ПОЛ, что подтверждалось увеличением содержания в сыворотке крови продуктов ПОЛ: промежуточных — ДК (на 33,3%) и конечных — ТБКАС ($8,8 \pm 1,8$ мкмоль/л против $4,8 \pm 0,8$ мкмоль/л, $p < 0,05$). Однако активность ХЭ в крови не отличалась от контроля (табл. 6).

После однократного интратрахеального введения крысам порошка наночастиц А-50 в этот срок эксперимента по сравнению с предыдущим в гомогенатах ткани печени активность ПОЛ также возрастала (табл. 5). Это проявлялось интенсификацией ПОЛ ($112,8 \pm 4,3$ имп/с, $p < 0,1$) и увеличением содержания пероксидных продуктов (33163 ± 1319 имп/мин, $p < 0,05$). При этом в сыворотке крови снижалось содержание промежуточных продуктов ПОЛ — ДК и увеличивалось в 2,2 раза ($p < 0,01$) содержание конечных его продуктов — ТБКАС. То есть, в организме животных этой группы выявлялся своеобразный сдвиг в сторону нарастания конечных продуктов ПОЛ на фоне дефицита первичных. Наблюдалось снижение на 16,3% активности ХЭ в сыворотке крови (табл. 6), снижение активности СОД (на 27,0%) и нарастание активности каталазы (на 69,0%, $p < 0,05$) в эритроцитах.

Следовательно, в динамике эксперимента от 1 до 3 мес после однократного интратрахеального введения крысам исследуемых порошков кремнеземов по результатам хемилюминесцентных исследований гомогенатов печени установлено нарастание их повреждающего действия. При этом, если биологический эффект порошка стандарта грубодисперсного Люберецкого кварца ПК-3 на печень через 3 мес эксперимента характеризовался повреждением гепатоцитов, то порошков наночастиц А-50 и А-450 — активацией ПОЛ и развитием антиоксидантной недостаточности, приводящих к повреждению печени.

Установлено также нарастание повреждающего действия исследуемых порошков кремнезема на организм крыс после однократного интратрахеального введения в дозе 50 мг/крысу в динамике эксперимента от 1 до 3 мес. Это в большей мере было характерным для групп животных, которым вводили стандарт грубодисперсного Люберецкого кварца ПК-3 и более крупные наночастицы А-50, что проявлялось увеличением выраженности нарушений ПОЛ в плазме крови и легких. В группе животных, которым вводили более мелкие наночастицы А-450, аналогичные нарушения развивались раньше (через 1 мес) и стойко сохранялись до 3 мес эксперимента. Через 3 мес эксперимента наблюдалось также усиление токсического действия исследуемых порошков на ткань печени. Это реализовалось активацией ПОЛ (наночастицы А-50, А-450).

Таким образом, интратрахеальное введение крысам-самцам Вистар порошков стандарта кремнезема (грубодисперсный Люберецкий кварц ПК-3) и наночастиц аморфных высокодисперсных кремнеземов А-50 и А-450 в дозе 50 мг/крысу в динамике эксперимента до 3 мес вызывало значительную ответную реакцию организма, которая может быть объяснена их взаимодействием с тканью легких, печени и клетками крови.

Порошки наночастиц кремнезема А-50 и А-450 вызывали нарушение структуры лейкограммы, что проявлялось развитием у животных относительной эозинофилии и преобладанием в защитных клеточных реакциях гиперчувствительности немедленного типа, что свидетельствует об алергизации организма крыс. Более существенный биологический эффект на клеточный состав крови наблюдался через 1 мес постэкспозиционного периода и в большей степени его оказывали более крупные (54-55 нм) наночастицы кремнезема А-50, активируя клеточные элементы специфической иммунной

защиты и аффлекторного антигенпрезентирующего звена иммунной системы.

Через 1 мес после интратрахеального введения крысам стандартного порошка грубодисперсного Люберецкого кварца ПК-3 и наночастиц аморфных высокодисперсных кремнеземов А-50 и А-450 выявлено их существенное влияние на прооксидантно-антиоксидантное равновесие. Исследуемые порошки за счет своего прооксидантного влияния изменяли ПОЛ не только в органемишени — легких, но и в плазме крови и ткани печени. По характеристике кинетики ИХЛ в гомогенатах ткани легких и плазме крови регистрировали угнетение ПОЛ, что, по-видимому, отобразило повреждение клеточных мембран клеток и нарушение липидного состава плазмы крови. В печени выявляли активацию ПОЛ.

Были обнаружены изменения АОЗ и антиоксидантная недостаточность. Количественно наиболее выраженными эти нарушения были в группе животных, которым вводили более мелкие наночастицы кремнезема А-450, а наименее — после введения стандарта грубодисперсного Люберецкого кварца ПК-3.

Установлено нарастание повреждающего действия исследуемых порошков кремнезема на организм крыс после их однократного интратрахеального введения в динамике эксперимента до 3 мес. В большей мере это проявлялось в группах животных, которым вводили стандарт грубодисперсного кварца ПК-3 и более крупные наночастицы кремнезема А-50. В группе животных, которым вводили более мелкие наночастицы кремнезема А-450, нарушения развивались раньше (через 1 мес) и стойко сохранялись до конца эксперимента.

Через 3 мес эксперимента отмечалось усиление повреждающего действия исследуемых порошков на ткань печени. Это реализовалось активацией ПОЛ.

Принимая во внимание результаты этих и ранее проведенных нами исследований, можно констатировать, что порошки кремнезема (ПК-3, А-50, А-450) после однократного интратрахеального введения крысам-самцам Вистар в дозе 50 мг/крысу оказывали отчетливое повреждающее действие на ткани внутренних органов, в патогенезе которого существенная роль принадлежит нарушению прооксидантно-антиоксидантного равновесия вследствие реализации их прооксидантного влияния. Следовательно, ингаляционное поступление наночастиц высокодисперсного кремнезема в организм работающих в условиях их производства представляет опасность для здоровья.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния* / Под ред. акад. НАН Украины А. А. Чуйко. — К.: Наук. думка, 2003. — 230 с.
2. *Стежка В. А., Диденко М. Н., Зинченко В. Н., Матвеева А. Ю.* Исследование некоторых биологических эффектов наночастиц аморфного высокодисперсного кремнезема в хроническом эксперименте на крысах // *Охорона здоров'я України.* — 2007. — №1. — С. 20 — 24.
3. *Стежка В. А., Дмитруха Н. Н., Мельник Ю. П., Билько Т. А.* Применение метода люминол-усиленной хемилюминесценции для исследования механизма токсического и иммунотоксического влияния тяжелых металлов // *Гигиена населенных мест.* — К., 2001. — Том. II, вып. 38. — С. 302–307.
4. *Величковский Б. Т., Коркина Л. Г., Суслев Т. Б. и др.* Основные молекулярные механизмы цитотоксического действия фиброгенных пылей // *Вестн. АМН СССР.* — 1988. — №1. — С. 7–14.
5. *Стежка В. А.* Функциональное состояние системы свободнорадикального окисления как патогенетически обоснованный критерий гигиенической оценки воздействия на организм факторов производственной и окружающей среды // *Довкілля і здоров'я.* — 1999. — № 1. — С. 2–9.
6. *Пат. 14624 UA, МПК (2006) G01N 21/76; G01N 33/52.* Спосіб визначення активності вільнорадикального перекисного окислення ліпідів у біологічних субстратах / *Стежка В. А.* — Заявл. 09.12.2006; Опубл. 15.02.2006, Бюл. № 5.
7. *Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник/ Под ред. В. А. Меньшикова.* — М.: Медицина, 1987. — 145 с.
8. *Кундиев Ю. И., Стежка В. А., Крыжановская М. В. и др.* Особенности адаптационных реакций у женщин, подвергающихся воздействию неблагоприятных факторов производственной и окружающей среды в сельской местности (медико-биологический мониторинг) // *Жур. АМН Украины.* — 1997. — № 4. — С. 624–642.
9. *Биохимические, иммунологические и биофизические методы в токсикологическом эксперименте: Метод. руководство.* — К., 1989. — 120 с.
10. *Колб В. Г., Камышиников В. С.* Справочник по клинической химии. — Минск: Беларусь, 1982. — С. 290–292.
11. *Методы определения активности холинэстеразы в цельной крови, плазме, тканях: Метод. рекомендации.* — К., 1984. — 9 с.
12. *Чевари С., Андял Т., Штрэнгер Я.* Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте // *Лаб. дело.* — 1991. — №10. — С. 9–13.
13. *Однорогов Ю. В., Луцюк Н. Б., Бакай Э. А. и др.* Полисорб и иммунологические реакции // *Кремнеземы в медицине и биологии.* — Киев–Ставрополь, 1993. — С. 115–118.

**ВПЛИВ НАНОЧАСТИНОК АМОРФНОГО
ВИСОКОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМУ
НА СИСТЕМУ КРОВІ
ТА ПРООКСИДАНТНО-
АНТИОКСИДАНТНУ РІВНОВАГУ
ТКАНИН ЩУРІВ**

*В. А. Стежка
О. Б. Леоненко
В. М. Зінченко
О. Ю. Матвеева
В. О. Мовчан*

Державна установа
«Інститут медицини праці АМН України»,
Київ

E-mail: stezhka@ukr.net

У тримісячному експерименті проведено порівняльне дослідження впливу на організм щурів-самців Вістар порошоків наночастинок аморфного високодисперсного кремнезему (6–7 нм і 54–55 нм) та порошку стандарту грубодисперсного Люберецького кварцу ПК-3 після одноразового інтратрахеального введення у дозі 50 мг. У динаміці експерименту спостерігали: еозинофільну реакцію в периферичній крові; переважне формування клітинної реакції гіперчутливості негайного типу; порушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги у легенях, печінці, в еритроцитах і плазмі крові; пригнічення пероксидного окиснення ліпідів у плазмі крові й легенях та активацію в печінці; зміни антиоксидантного захисту організму з розвитком антиоксидантної недостатності; клітинних мембран гепатоцитів та активності холінестерази. Встановлено зростання ушкоджувального впливу порошоків наночастинок на організм щурів до кінця експерименту. Зроблено висновок про небезпечність для здоров'я інгаляційного надходження наночастинок високодисперсного кремнезему до організму працюючих в умовах їх виробництва.

Ключові слова: наночастинок кремнезему, Люберецький кварц ПК-3, інтратрахеальне введення, лейкоцити крові, пероксидне окиснення ліпідів, антиоксидантний захист організму.

**EFFECT OF NANOPARTICLES
OF AMORPHOUS HIGHLY DISPERSED
SiO₂ ON BLOOD SYSTEM
AND PROOXIDANT-ANTIOXIDANT
BALANCE OF THE RATS TISSUES**

*V. A. Stezhka
O. B. Leonenko
V. M. Zinchenko
O. Yu. Matveeva
V. O. Movchan*

State Institution
«Institute for Occupational Health of AMS
of Ukraine», Kyiv

E-mail: stezhka@ukr.net

The comparative study on the effect of powders of amorphous highly dispersed SiO₂ nanoparticles (6–7 nm and 54–55 nm) and powder of standard large-disperse Lyuberets quartz PQ-3 after single intratracheal administration in the dose of 50 mg in 3-month experiment was carried out. During the experiment it was observed: eosinophilic reaction in peripheric blood; preferred formation of cell hypersensitivity reaction of immediate action; disorders in prooxidant-antioxidant balance in lungs, liver, erythrocytes and blood plasma; inhibition of lipid peroxidation in blood plasma and in lung and activation in liver; changes of antioxidant defence and cholinesterase activity. Damaging effects rising of the nanoparticles powders on the rats organism by the end of the experiment was established. There was concluded that inhalation of amorphous highly disperse SiO₂ nanoparticles into a worker's organism in working conditions is dangerous for health.

Key words: SiO₂ nanoparticles, large-disperse Lyuberets quartz PQ-3, intratracheal administration, blood leucocytes, lipid peroxidation, antioxidant defence.