

© ТИМЕРБУЛАТОВА Г.А., ФАТХУТДИНОВА Л.М., 2021

Тимербулатова Г.А.^{1,2}, Фатхутдинова Л.М.¹

Методологические основы обоснования безопасных уровней воздействия искусственных наноматериалов (на примере углеродных нанотрубок) (обзор литературы)

¹ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 420012, г. Казань, Российская Федерация;²ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан», 420061, г. Казань, Российская Федерация

Введение. Уникальные физико-химические свойства углеродных нанотрубок позволяют использовать их во многих сферах. Ежегодно наблюдается рост глобального рынка наноматериалов. Важным шагом при выведении продукции на внутренний и мировые рынки является определение безопасных уровней воздействия УНТ. Предварительным этапом перед утверждением государственного гигиенического норматива может служить установление корпоративного норматива.

Материал и методы. Материалом для анализа послужили источники сведений об имеющихся нормативах содержания УНТ в воздухе рабочей зоны с использованием информации регуляторных агентств, научно-исследовательских центров, производителей УНТ, библиографических и реферативных баз данных Web of Science, Scopus, PubMed, РИНЦ.

Результаты. Разработана схема обоснования безопасных уровней воздействия УНТ (корпоративного норматива), состоящая из нескольких этапов: характеристика УНТ в воздухе на рабочих местах, подбор экспериментальных доз УНТ, подготовка дисперсий УНТ, проведение токсиколого-гигиенических экспериментов. Обоснование корпоративного норматива проводится в экспериментах *in vitro* и *in vivo*. Планирование экспериментов должно осуществляться с учётом органа-мишени при воздействии УНТ – дыхательная система. Рекомендуемый диапазон доз/концентраций для экспериментов должен включать в себя дозы/концентрации, полученные на основании расчётных и литературных данных. Необходимым этапом является получение гомогенных дисперсий, в которых УНТ становятся биодоступными для биологических систем. В ходе экспериментов *in vitro* и *in vivo* определяется уровень воздействия, при котором *не наблюдается* вредный эффект и/или наименьший уровень воздействия; при котором *наблюдается* вредный эффект на клеточные культуры/дыхательные пути животных. После этапа обоснования корпоративного норматива на предприятии в течение нескольких лет должны проводиться мероприятия по корректировке корпоративного норматива на основе данных клинко-гигиенических исследований, в ходе которых проводится мониторинг условий труда и состояния здоровья работников и расширенных токсиколого-гигиенических исследований.

Заключение. Наличие корпоративного норматива позволит предприятию-производителю УНТ провести мероприятия по разработке и реализации программы производственного контроля с внедрением мониторинга за состоянием воздуха рабочей зоны. Разработка корпоративного норматива может рассматриваться как подготовительный этап перед установкой государственного норматива.

Ключевые слова: углеродные нанотрубки; безопасные уровни воздействия; корпоративный норматив; *in vitro*; *in vivo*

Для цитирования: Тимербулатова Г.А., Фатхутдинова Л.М. Методологические основы обоснования безопасных уровней воздействия искусственных наноматериалов (на примере углеродных нанотрубок) (обзор литературы). *Токсикологический вестник*. 2021; 29(6): 5-15. <https://doi.org/10.36946/0869-7922-2021-29-6-5-15>

Для корреспонденции: *Фатхутдинова Лилия Минвагизовна*, доктор мед. наук, профессор, зав. кафедрой гигиены, медицины труда ФГБОУ ВО «Казанский ГМУ» МЗ РФ, г. Казань, 420012, Российская Федерация. E-mail: liliya.fatkhutdinova@gmail.com

Участие авторов: *Тимербулатова Г.А.* – сбор материала в библиографических базах, анализ материала, написание текста, редактирование; *Фатхутдинова Л.М.* – анализ материала, разработка методологических подходов, написание текста, редактирование. *Все соавторы* – утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Российский фонд фундаментальных исследований (проект № 19-315-90046).

Поступила в редакцию: 15.11.2021 / Принята в печать: 23.11.2021 / Опубликовано: 30.12.2021

Timerbulatova G.A.^{1,2}, Fatkhutdinova L.M.¹

Methodological foundations for substantiating safe levels of exposure to artificial nanomaterials (for example, carbon nanotubes) (literature review)

¹Kazan State Medical University, Kazan, 420012, Russian Federation;

²FBUZ «The Center of Hygiene and Epidemiology in the Republic of Tatarstan», Kazan, 420061, Russian Federation

Introduction. The unique physicochemical properties of carbon nanotubes allow them to be used in many fields. The global nanomaterials market is growing every year. An important step in introducing products to the domestic and world markets is to determine the safe exposure levels of CNTs. Establishing a corporate standard can serve as a preliminary stage before the approval of a state hygiene standard.

Material and methods. The material for the analysis was the sources of information on the available standards for the content of CNTs in the air of the working area using information from regulatory agencies, research centers, CNT manufacturers, bibliographic and abstract databases Web of Science, Scopus, PubMed, RSCI.

Results. A scheme for justifying safe levels of exposure to CNTs (corporate standard) has been developed, consisting of several stages: characterization of CNTs in the air at workplaces, selection of experimental doses of CNTs, preparation of CNT dispersions, and conducting toxicological and hygienic experiments. Justification of the corporate standard is carried out in *in vitro* and *in vivo* experiments. The planning of experiments should be carried out taking into account the target organ under the influence of CNT – the respiratory system. The recommended dose / concentration range for experiments should include doses / concentrations derived from calculated and literature data. A necessary step is to obtain homogeneous dispersions in which CNTs become bioavailable for biological systems. *In vitro* and *in vivo* experiments determine the level of exposure at which no harmful effect is observed and / or the lowest level of exposure at which there is a harmful effect on the cell culture / respiratory tract of animals. After the stage of substantiating the corporate standard, the enterprise should take measures for several years to adjust the corporate standard based on data from clinical and hygienic studies, during which the working conditions and health status of workers are monitored, and extended toxicological and hygienic studies.

Conclusion. The presence of a corporate standard will allow the manufacturer of CNTs to carry out activities for the development and implementation of a production control program with the introduction of monitoring the air condition in the working area. The development of a corporate regulation can be seen as a preparatory stage before the establishment of a government regulation.

Keywords: *carbon nanotubes; safe exposure levels; corporate standard; in vitro; in vivo*

For citation: Timerbulatova G.A., Fatkhutdinova L.M. Methodological foundations for substantiating safe levels of exposure to artificial nanomaterials (for example, carbon nanotubes) (literature review). *Toksikologicheskiy vestnik (Toxicological Review)*. 2021; 29(6): 5-15. <https://doi.org/10.36946/0869-7922-2021-29-6-5-15> (In Russian)

For correspondence: *Liliya M. Fatkhutdinova*, MD, PhD, DSc, head of the Department of Hygiene and Occupational Medicine, Kazan State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Kazan. E-mail: liliya.fatkhutdinova@gmail.com

Information about the authors:

Timerbulatova G.A., <https://orcid.org/0000-0002-2479-2474> Fatkhutdinova L.M., <https://orcid.org/0000-0001-9506-563X>

Author contribution: *Timerbulatova G.A.* – collection of material in bibliographic databases, analysis of the material, writing a text, editing; *Fatkhutdinova L.M.* – analysis of the material; development of methodological approaches, writing a text, editing. *All co-authors* – approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. RFBR, project number 19-315-90046.

Received: November 15, 2021 / Accepted: November 23, 2021 / Published: December 30, 2021

Введение

Производство различных типов углеродных нанотрубок (УНТ) растёт из года в год [1], что связано с их применением в строительстве, машиностроении [2], электронике [3], энергетике [4], космической отрасли [5] и биомедицине [6,7]. Широкое применение УНТ в промышленности и растущий спрос со стороны потребителей диктуют необходимость расширения объёмов производства УНТ и способствуют появлению новых производителей на рынке. Многие начинающие компании, имея большой потенциал для роста, выходят на внутренний и мировые рынки УНТ.

Согласно определению Европейского союза от 2011 г. [8], углеродные нанотрубки (УНТ) являются наноматериалами. В то же время морфологические параметры (длина и отношение диаметра к длине) позволяют отнести их к волокнам [9]. Физико-химические свойства УНТ обуславливают их высокую проникающую способность и реактогенность, что может привести к развитию патологических процессов [10].

Одновременно у специалистов и потребителей продукции возникает много вопросов по безопасности УНТ и технологиям их производства и применения. Введение новых наноматериалов в промышленность требует понимания влияния этих материалов на окружающую среду, биологические виды и здоровье человека. Последствиями бездействия могут быть снижение темпов развития и убытки предприятий. Вывод продукции на рынок без гарантий безопасности может ударить по репутации, привести к имиджевым потерям и утрате рынков сбыта. Получение объективной информации о потенциальных медико-биологических и экологических рисках является во многом ключевым для обеспечения устойчивого развития отрасли [11]. Таким образом, важным этапом при выведении продукции на внутренний и мировые рынки является установление безопасных уровней воздействия УНТ.

Цель работы — разработка методологических подходов к обоснованию безопасных уровней воздействия УНТ в токсиколого-гигиенических экспериментах.

Материал и методы

Проведён анализ и обобщение сведений об имеющихся нормативах содержания УНТ в воздухе рабочей зоны с использованием

информации регуляторных агентств, научно-исследовательских центров, производителей УНТ, библиографических и реферативных баз данных Web of Science, Scopus, PubMed, РИНЦ, с последующей разработкой методологических подходов к обоснованию безопасных уровней воздействия углеродных нанотрубок.

Результаты

Современные подходы к нормированию УНТ на рабочих местах. Для того, чтобы перейти к оценке степени риска на рабочих местах и в объектах окружающей среды, необходимы сведения о допустимых уровнях воздействия УНТ, но их разработка пока сталкивается с различными трудностями, включая многообразие различных типов УНТ, сложность и трудоёмкость выявления и количественной оценки во внешней среде, несовершенство методологических подходов, недостаток информации о биологических эффектах.

В настоящее время отсутствуют национальные, в том числе российские, нормативы содержания УНТ в воздухе рабочей зоны. Для углеродных нанотрубок имеются нормативы, разработанные отдельными научно-исследовательскими центрами, и корпоративные нормативы. При этом предлагаемые различными авторами безопасные уровни воздействия УНТ на рабочих местах значительно различаются [12]. В рамках европейского проекта ENRHES «Искусственные материалы: обзор влияния на здоровье и окружающую среду» Stone и соавт. (Университет Heriot-Watt, Шотландия) в 2009 г. было предложено использовать $0,67 \text{ мкг/м}^3$ в качестве референтной концентрации для УНТ [13]. Национальным институтом безопасности и гигиены труда (National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH), США) в 2010 г. рекомендовано значение 1 мкг/м^3 [14]. Nakanishi и соавт. (Национальный институт передовой промышленной науки и технологии, Япония) в 2015 г. предложили уровень, который в 30 раз больше уровня, рекомендованного NIOSH, но будет защищать работника только в течение 15 лет, тогда как значение NIOSH рассчитано на 45-летний стаж работы [15]. Кроме того, имеются корпоративные нормативы, предложенные для МУНТ Nanocyl® NC7000 (компания Nanocyl SA, Бельгия) [16] и Baytubes® (компания Bayer AG, Германия) [17].

Aschberger и соавт. (Объединённый исследовательский центр Европейской комиссии) [18] в 2010 г. предложили свое обоснование нормативов для Nanocyl® NC7000 и Baytubes®, основываясь на исходных данных Ma-Nock и соавт. [19] и Pauluhn и соавт. [20]. Роспотребнадзором РФ в 2010 г. были приняты нормативы для трех типов наноматериалов, включая УНТ, срок действия которых истёк в 2013 г.

Первые попытки компаний-производителей установить собственные безопасные уровни воздействия, основанные на ингаляционных экспериментах *in vivo*, были проведены для МУНТ Nanocyl® NC7000 (производитель Nanocyl SA, Бельгия) [16] и Baytubes® (производитель Bayer AG, Германия) [17]. Компания Nanocyl [21] использовала результаты 90-дневного ингаляционного эксперимента на крысах, опубликованного Ma-Nock и соавт. в 2009 г. [19]. Это было первое исследование токсичности при длительном ингаляционном поступлении МУНТ, проведённое в соответствии с руководством 413 Организации экономического сотрудничества и развития по испытанию химических веществ (OECD Test N 413:2017) [22]. В качестве органа-мишени оценивалось состояние дыхательной системы лабораторных животных. Исследователи установили минимальную действующую концентрацию МУНТ Nanocyl® NC7000 в воздухе рабочей зоны – 0,1 мг/м³, что соответствовало, как указано авторами, депонированной дозе за весь период ингаляции – 46,8 мкг. Проведя оценку риска и получив фактор неопределённости 40, на основе минимальных уровней токсического действия, полученных в эксперименте Ma-Nock и соавт. [19], компания Nanocyl установила предельно допустимую 8-часовую среднесменную концентрацию для МУНТ Nanocyl® NC7000 – 2,5 мкг/м³ [16, 21].

Pauluhn в 2010 г. [23] был проведён 90-дневный ингаляционный эксперимент, в ходе которого оценивались эффекты МУНТ Baytubes® на органы дыхательной системы крыс. Исходя из максимальной недействующей концентрации 0,1 мг/м³ (соответствует депонированной дозе 40 мкг) и фактора неопределённости 2 для МУНТ Baytubes®, был рекомендован корпоративный норматив – 50 мкг/м³ [20].

Позднее Aschberger и соавт. [18], используя данные экспериментов Ma-Nock и соавт. [19] и Pauluhn и соавт. [23] и применив на

основе расчётных методов факторы неопределённости 50 и 25 соответственно, предложили ОБУВ 1 мкг/м³ в воздухе рабочей зоны для МУНТ Nanocyl® NC7000 и 2 мкг/м³ для МУНТ Baytubes®.

Mitchell L.A. и соавт. был проведён ингаляционный эксперимент *in vivo* продолжительностью 14 дней для МУНТ, произведённых Nanotech Port Co (Китай) [24]. Были выявлены признаки системного действия на иммунную систему мышей при концентрации МУНТ 0,3 мг/м³ (депонированная доза – 2 мкг). На основе полученных данных Stone и соавт. [13] в 2009 г. был предложен безопасный уровень воздействия для МУНТ – 0,67 мкг/м³; при этом применялся фактор неопределённости 75.

В 2010 г. NIOSH США, проведя количественную оценку риска на базе предыдущих *in vivo*-исследований с ингаляционным введением УНТ (депонированные дозы от 5 мкг до 46,8 мкг/животное) [19, 23, 25], интратрахеальным введением – доза УНТ 100 мкг/животное [26], интрафарингеальным введением – доза УНТ 10 мкг/животное [25, 27], установил, что 8-часовая среднесменная концентрация УНТ 0,2–2 мкг/м³ при воздействии в течение всего рабочего стажа связана с 10% риском развития патологии дыхательной системы. Однако, учитывая несовершенство методик детекции и подсчёта количества УНТ в пробах, предложенный рекомендуемый уровень воздействия (REL – Recommended Exposure Level) составил 7 мкг/м³ (в пересчёте на элементный углерод, определённый с помощью метода термооптического анализа). В апреле 2013 г. был опубликован новый доклад этого института, который установил рекомендованный уровень воздействия к УНТ всех типов – 1 мкг/м³, что было связано с повышением точности методик и, соответственно, снижением предела детекции УНТ в пробах [14].

Morimoto и соавт. проведены 4-недельные ингаляционные эксперименты *in vivo* с последующим 90-дневным наблюдением для МУНТ (производитель Nikkiso Co Ltd, Япония) [28] и ОУНТ (производитель AIST, Япония) [29]. В обоих случаях оценивались эффекты УНТ в отношении дыхательной системы крыс. Было показано, что максимальные недействующие концентрации для МУНТ составили 0,37 мг/м³, для ОУНТ – 0,13 мг/м³, что соответствовало депонированным дозам за 4 нед ингаляционного эксперимента в 50

и 10,8 мкг для МУНТ и ОУНТ соответственно. На основании проведённых исследований Японским национальным институтом передовой промышленной науки и технологии были установлены предельно допустимые концентрации для МУНТ 80 мкг/м³ и для ОУНТ – 30 мкг/м³ [15]. Применялся фактор неопределённости 5, защитный срок норматива был установлен в 15 лет.

Роспотребнадзором РФ в 2010 г. были установлены ОБУВ для трех наноматериалов [30], включая нанотрубки в воздухе рабочей зоны. ПДК УНТ составляла 0,01 волокно в 1 см³. С 2013 г. документ утратил свою силу.

Таким образом, по данным проведённых исследований, диапазон рекомендуемых уровней воздействия УНТ на рабочих местах составляет от 0,67 до 80 мкг/м³, при этом данные были получены в 90-дневных ингаляционных экспериментах [19, 23]; 14-дневных ингаляционных экспериментах [24]; 4-недельных ингаляционных экспериментах с последующим 90-дневным наблюдением [28, 29]; 4-дневных ингаляционных экспериментах с 28-дневным наблюдением [25]; экспериментах с однократным интрафарингеальным введением с 56-дневным наблюдением [27] и интратрахеальным введением с 90-дневным наблюдением [26]. В связи с ограниченными данными по производственным экспозициям к УНТ, диапазон доз, используемых в перечисленных исследованиях, не учитывал реальные производственные экспозиции и в отдельных случаях основывался на более ранних экспериментах по оценке токсичности УНТ [19, 25]. Введение УНТ в организм животных осуществлялось с помощью сухого распыления [19, 23–25] или дисперсий на основе биосовместимых сред [25–27] и химических поверхностно-активных веществ [28, 29].

Отсутствие на сегодняшний день государственных нормативов для УНТ объясняется сложностями, с которыми приходится сталкиваться при решении этой задачи. Широкое разнообразие УНТ затрудняет процесс унификации подходов к обоснованию норматива. Не разработаны стандартизованные и общепринятые методы по оценке содержания УНТ в воздухе рабочей зоны, в связи с чем сложно оценить реальные уровни воздействия УНТ на работников. Кроме того, непростым вопросом при проведении оценки воздействия УНТ также является получение биосовместимых дисперсий УНТ для после-

дующего тестирования их на биологических объектах в экспериментах *in vivo* и *in vitro*.

Большинство предприятий-производителей УНТ являются инновационными малообъёмными производствами, при этом высокий спрос на продукцию повлечёт за собой и рост производства. Расширение объёмов производства УНТ неизбежно приведёт к необходимости разработки предприятиями норматива для выхода на внутренние и мировые рынки. В частности, в обновлённой редакции Трудового Кодекса РФ (ст. 215) указывается, что «в производстве запрещается применение вредных или опасных веществ, материалов, продукции, товаров, токсикологическая (санитарно-гигиеническая, медико-биологическая) оценка которых не проводилась» [31], что обязывает отечественных производителей УНТ проводить всестороннюю оценку выпускаемой продукции.

Промежуточным этапом перед установлением государственного норматива для УНТ может быть разработка корпоративного норматива, что позволит предприятию внедрить мониторинг условий труда и состояния здоровья работников, в дальнейшем провести мероприятия по корректировке принятого норматива и приступить к этапу разработки государственного норматива.

На основании собственных исследований ниже предлагается схема обоснования безопасных уровней воздействия УНТ (корпоративного норматива), состоящая из нескольких этапов: характеристика УНТ в воздухе на рабочих местах, подбор экспериментальных доз УНТ, подготовка дисперсий УНТ, проведение токсиколого-гигиенических экспериментов.

Методологические подходы к обоснованию безопасных уровней воздействия углеродных нанотрубок предприятиями-производителями (корпоративный норматив). Первые попытки гигиенической оценки экспозиции к УНТ на рабочих местах были предприняты одновременно с ранними токсикологическими экспериментами и были основаны на использовании косвенных методов, когда определялось содержание примесей (в первую очередь катализаторов – никеля или кобальта) в воздухе рабочей зоны [32–34]. Результаты измерений, в совокупности с данными электронной микроскопии проб, продемонстрировали реальную возможность контакта работников с УНТ.

В последующем в области гигиенической оценки произошли существенные изменения.

На смену косвенным способам определения содержания УНТ в объектах окружающей среды (по остаточным количествам катализатора) пришли прямые методы подсчета элементного неорганического углерода, входящего в состав углеродных нанотрубок [35, 36].

Метод определения УНТ на основе просвечивающей электронной микроскопии и термооптического анализа. Данный метод основан на комбинации визуализации УНТ и/или их агломератов при помощи просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) и определения концентрации элементного углерода при помощи термооптического анализа. Этот методический подход был предложен NIOSH США и является модификацией метода NIOSH 5040 [37, 38], разработанного для определения элементного углерода в выхлопных газах дизельных двигателей внутреннего сгорания, и метода NIOSH 7402 [39], разработанного изначально для подсчёта волокон асбеста при помощи просвечивающей электронной микроскопии. Сегодня это один из наиболее распространённых методов, использующихся для определения концентрации различных УНТ и углеродных нановолокон (УНВ) в воздухе рабочей зоны [36, 40].

В ходе термооптического анализа определяется содержание элементного углерода в образце путём окисления его в условиях высокой температуры на подложке диоксида марганца, восстановления в метанаторе и измерения итоговых концентраций метана пламенно-ионизационным детектором (ПИД). Особенностью метода является постоянный контроль температуры и коэффициента пропускания исследуемого кварцевого фильтра с помощью лазера, что позволяет в итоге получить отдельные данные по содержанию углерода органического происхождения (ОУ) и элементного углерода (ЭУ) [37, 41]. Преимуществом метода является возможность получить количественные характеристики для концентраций различных типов УНТ и УНВ в воздухе рабочей зоны на основе определения элементного углерода. Ограничениями метода являются: 1) необходимость визуально подтвердить присутствие УНТ и/или их агломератов; 2) использование редкого и дорогостоящего оборудования (термооптический анализатор углерода, Sunset Laboratory Inc., USA); 3) снижение точности метода в присутствии других источников элементного углерода, например, выхлопных газов. Необходимо также учитывать, что автоматическое раз-

деление на элементный и органический углерод, как это предусмотрено методом NIOSH 5040, при 920–940 °С, без предварительной проверки термооптического профиля исходного материала, может привести к занижению концентраций УНТ из-за размера агломератов. Эту проблему можно предупредить ручной настройкой температуры разделения с учётом температурного профиля исходного материала и, при необходимости, проб аэрозоля, отобранных из контрольных зон.

Результаты термооптической оценки содержания элементного углерода в каждой исследуемой пробе учитываются только в случае подтверждения наличия УНТ в параллельной пробе (согласно данным ПЭМ) на фильтры из смешанных эфиров целлюлозы (СЭЦ-фильтры). В случае затруднения идентификации в качестве контрольного материала могут выступать отобранные образцы продукта. ПЭМ не позволяет давать количественную оценку содержания УНТ в воздухе рабочей зоны, но используется как способ визуализации агломерированных УНТ.

Метод определения УНТ на основе Рамановской спектроскопии. В 2017 г. компания Stat Peel (Швейцария – США) разработала новый метод экспресс-оценки содержания УНТ в воздухе рабочей зоны, основанный на применении Рамановской спектроскопии. Метод основан на сборе аэрозоля в течение рабочей смены с последующей детекцией собранной фракции аэрозоля. Метод, как сообщают авторы, успешно дифференцирует ОУНТ, МУНТ и сажу [42]. Измеряя Рамановские спектры УНТ, отобранных на фильтры, возможно достичь селективности, не достигаемой при использовании стандартного метода оценки на основе определения элементного углерода. Углеродные нанотрубки и графен можно отличить от пыли или других частиц, которые обычно встречаются в профессиональных условиях, таких, как сажа.

Разработанное компанией Stat Peel оборудование представляет собой носимый портативный пробоотборник с системой фильтрации воздуха. Пробоотборник имеет форму бейджа, оснащён насосом, датчиками состояния окружающей среды и фильтрационной пластиной. После отбора проб бейдж-пробоотборник вставляется в ридер, оборудованный Рамановским спектрометром, который автоматически анализирует собранные образцы. Как заявляют разработчики, система позволяет обнаруживать УНТ

в количествах до 1 нг. Важным преимуществом этого метода является возможность, используя Рамановскую спектроскопию, однозначно различать углеродные нанотрубки от фоновых аэрозолей и сажи, присутствующих в воздухе. Исследования, проведенные разработчиком, показывают 96% эффективность захвата аэрозоля УНТ бейджем-проботборником.

Несмотря на то, что метод является перспективным, на сегодняшний день этот подход не нашёл широкого распространения среди исследователей.

Подбор доз для исследований. Выбор дозы, которая имитирует воздействие на человека тестируемых наноматериалов, является непростой задачей, поскольку общая экспозиция включает в себя различные способы воздействия на организм через дыхательную систему, желудочно-кишечный тракт, кожу. Таким образом, необходимо рассматривать каждый случай воздействия индивидуально.

При оценке воздействия на дыхательные пути подбор доз УНТ для экспериментов *in vitro* и *in vivo*, рекомендуется осуществлять на основе расчёта количества и массы осевших частиц в дыхательных путях человека при различных сценариях его нахождения в запылённой воздушной среде с использованием результатов полевых исследований загрязнения воздуха рабочей зоны УНТ на рабочих местах предприятия-производителя и/или на основе данных, имеющихся в открытых источниках, о загрязнении воздуха рабочей зоны УНТ. Компьютерное моделирование оседания аэрозольных частиц в различных зонах дыхательных путей человека можно проводить с использованием программного обеспечения Multiple-Path Particle Dosimetry (MPPD) в зависимости от концентрации аэрозоля в воздухе рабочей зоны и дисперсности аэрозоля [43]. Также необходимо учитывать имеющиеся в открытых источниках литературы данные о результатах токсикологических экспериментов на клеточных культурах и в экспериментах с использованием животных [44, 45]. Таким образом, рекомендуемый диапазон доз/концентраций для экспериментов должен включать в себя дозы/концентрации, полученные на основании расчётных и литературных данных: для экспериментов *in vitro* рекомендуемый диапазон концентраций составляет 0,0001–10 мкг/мл среды при культивировании клеток; диапазон доз для экспериментов *in vivo* – 1–40 мкг/животное).

Подготовка дисперсий УНТ. Важной задачей при оценке воздействия УНТ является получение гомогенных дисперсий, в которых УНТ становятся биодоступными для биологических систем. Основной проблемой при выборе диспергантов для исследований *in vitro* и *in vivo* является подбор нетоксичного соединения, способного переводить УНТ в гомогенную дисперсию, в том числе для процесса аэрозолизации УНТ. По данным нашего предыдущего исследования [46], применение стерильных культуральных сред с использованием ультразвуковой обработки представляется наиболее оптимальным для приготовления дисперсий УНТ при проведении экспериментов на клеточных культурах. Для проведения исследования на лабораторных животных средой выбора может служить 1% бычий сывороточный альбумин.

Эксперименты *in vitro*. Обоснование корпоративного норматива проводится в экспериментах *in vitro* (на клеточных культурах) и *in vivo* (с использованием лабораторных животных).

В настоящее время при оценке токсичности широко используются методы, альтернативные классическим тестам на экспериментальных животных, – модели с использованием культур клеток. Широкое распространение получила концепция «3Rs» (Refinement, Reduction, and Replacement) или концепция «меньше животных – меньше болезненных процедур – применение альтернативных методов», согласно которой правильная организация эксперимента должна основываться на методах, снижающих стрессовые воздействия и уменьшающих число животных, необходимых для проведения теста, или заменяющих животных моделями, например, клеточными культурами *in vitro* [47]. Использование клеточных культур позволяет не только решить этические проблемы, связанные с использованием и гибелью лабораторных животных в ходе экспериментов, но и значительно снизить стоимость предварительных исследований токсичности новых материалов. Кроме этого, сокращаются сроки полного цикла токсикологических исследований.

Общая схема, которая сегодня используется при оценке токсичности, включает теоретическую оценку активности тестируемого вещества на основании анализа его структуры с оценкой токсичности УНТ на *in vitro*-моделях [48]. Характеризация УНТ может дать информацию о химических и физических

свойствах тестируемого вещества, путях его возможного метаболизма и воздействия на клеточном уровне. С помощью клеточных культур определяют цитотоксичность, биосовместимость, генотоксическую активность, орган-специфичность тестируемого вещества [49].

При планировании экспериментов *in vitro* важно выбрать линию клеток, которая наилучшим образом соответствует предполагаемому маршруту воздействия и органу-мишени. Для моделирования ингаляционного пути воздействия УНТ как наиболее вероятного пути поступления его в организм человека рекомендуется использовать в первую очередь клеточные линии, представляющие дыхательные пути человека. Тестирование воздействия УНТ следует начать с вторичных клеток, являющихся клеточными линиями, способными к длительной пролиферации: например, клеточная линия BEAS-2B – клетки эпителия бронхов человека; клеточная линия A549 – клетки карциномы лёгкого человека [50]. Проведение экспериментов на вторичных клеточных культурах позволит определить наиболее вероятный сценарий воздействия на клетки, концентрации, время экспозиции и оптимальный набор тестов для дальнейшего исследования действия УНТ. Недостатком при использовании вторичных клеточных линий может служить то, что долгоживущие (вторичные) клеточные линии демонстрируют нестабильный фенотип, изменения в котором могут быть индуцированы в процессе длительного культивирования спонтанно или целенаправленно в процессе иммортализации.

После серии экспериментов на вторичных клеточных культурах необходимо продолжить исследования на первичных культурах клеток, наилучшим образом отражающих сценарий воздействия на человека и позволяющих изучить механизм воздействия УНТ на клетки конкретных органов-мишеней: например, клеточная линия HLF – фибробласты лёгких человека; HVerC – клетки эпителия бронхов человека; клеточная линия HMDM – макрофаги, полученные из первичных человеческих моноцитов.

Наряду с клетками человека также допускается использовать клеточные линии, представленные клетками животных: например, клеточная линия RAW 264.7 – мышинные макрофаги; клеточная линия 3T3 – эмбриональные фибробласты мыши; клеточная линия V79 – фибробласты лёгких хомяка.

Для оценки цитотоксичности существует группа методов, принцип которых заключается в окраске клетки или специфических клеточных компонентов клеточным красителем, антителами с флуоресцентной меткой или введением молекулярных зондов, которые взаимодействуют с конкретными биомолекулами. Примерами таких тестов являются тест MTS и тест на измерение активности фермента лактатдегидрогеназы в среде клеточной культуры [48].

Существуют также группы методов для оценки пролиферативной активности клеток. Они включают в себя гистохимические, иммуногистохимические методы и проточную цитометрию.

В более сложных подходах оценки токсичности используются флуоресцентные зонды. Использование таких меток делает тесты очень чувствительными и позволяет оценивать изменения межклеточных параметров, потенциал мембраны, изменения pH.

Оценку токсичности *in vitro* проводят не только на культурах клеток, но и на срезах культур высокой точности, которые получают из однородных тканей в стерильных условиях. Такие системы имеют ряд преимуществ по сравнению с культурами однородных клеток. В срезах культур присутствуют все виды клеток исследуемого органа, кроме этого сохраняется система межклеточной коммуникации, которая позволяет дать оценку степени воздействия наноматериалов на конкретные клетки. Существенным недостатком срезов культур высокой точности является их быстрая дегенерация. Срок жизни таких систем составляет не более 24 ч.

Проведение экспериментов *in vitro* позволит уточнить наиболее вероятный механизм воздействия УНТ, диапазон доз и оптимальный набор тестов для экспериментов *in vivo*.

Эксперименты *in vivo*. *In vivo*-исследования можно проводить как на линейных (крысы линий Wistar, Sprague-Dawley и др.; мыши линий CBA, C57BL/6 и др.), так и нелинейных здоровых половозрелых животных. Наиболее обоснованным методом оценки воздействия УНТ является хронический ингаляционный эксперимент, общей продолжительностью до 4 мес [51]. Ингаляционные эксперименты наиболее точно имитируют лёгочную экспозицию, однако техническая сложность и высокая стоимость выполнения подобных исследований ограничивают применение данного метода затравки [51]. Оценка инга-

ляционного воздействия УНТ также может проводиться при однократном интратрахеальном введении для крыс или фарингеальной аспирации для мышей с последующим наблюдением в течение 90 [22] или 180 [51] дней. Ранее Shvedova и соавт. установили, что распределение УНТ в лёгких и ответные реакции организма при однократной инстиляции сопоставимы с ингаляционным экспериментом [25].

После завершения периода наблюдений при однократном интратрахеальном/интрафарингеальном введении через 24 ч, после 30, 90 и 180 (при обосновании) дней, проводится запланированный объём исследований. Объём исследований включает в себя изучение функционального состояния центральной нервной системы и высшей нервной деятельности исследуемых животных; оценку клеточного состава бронхоальвеолярного лаважа и биохимического состава надосадочной жидкости бронхоальвеолярного лаважа [51]; клеточного и биохимического состава крови; цитологические и морфологические исследования органов (лёгкие и окологёлочные лимфатические узлы, печень, почки, селезёнка, головной мозг, сердце, аорта); определение коллагена/оксипролина (лёгкие и окологёлочные лимфатические узлы); оценку генотоксичности УНТ. Учитывая, что основным органом-мишенью являются лёгкие, рекомендуется проведение прижизненной МРТ лёгких экспериментальных животных для определения лёгочной нагрузки УНТ, а также определение маркеров лёгочного воспаления, фиброза и канцерогенеза.

В ходе экспериментов *in vivo* определяется уровень воздействия, при котором не наблюдается вредный эффект и/или наименьший уровень воздействия (пороговая концентрация), при котором наблюдается вредное воздействие на животных. Для перехода от пороговой концентрации УНТ к величине корпоративного норматива рекомендуется использовать фактор неопределённости (коэффициент запаса) 10, учитывающий различия между разными видами животных и человеком (коэффициент 2 – переход между различными видами животных, 5 – переход от животных к человеку).

Этап уточнения и корректировки корпоративного норматива. После этапа обоснования корпоративного норматива на предприятии в течение нескольких лет должны проводиться мероприятия по корректировке

корпоративного норматива на основе данных клинико-гигиенических исследований, в ходе которых проводится мониторинг условий труда и состояния здоровья работников, и расширенных токсиколого-гигиенических исследований.

В случае получения данных, свидетельствующих о периодическом превышении корпоративного норматива в зоне дыхания рабочих, вопрос о необходимости корректировки корпоративного норматива УНТ должен решаться с учётом величины и частоты превышения концентраций.

В план токсиколого-гигиенических исследований, необходимых для корректировки корпоративного норматива УНТ, рекомендуется включить проведение 13-недельного ингаляционного эксперимента в соответствии с требованиями OECD Test N 413:2017 [22].

Для установления отклонений в состоянии здоровья работающих при корректировке корпоративного норматива могут быть использованы следующие материалы: а) результаты анализа случаев профессиональных отравлений; б) результаты периодических и углублённых медицинских осмотров и диспансерного наблюдения; в) результаты углублённого изучения заболеваемости с временной утратой трудоспособности, смертности; г) биомониторинг биологических маркеров воспаления, фиброза, канцерогенных эффектов. Методы оценки состояния здоровья должны включать физикальный осмотр с участием пульмонолога, кардиолога, оториноларинголога, дерматовенеролога, онколога, аллерголога (ежегодно), изучение функции внешнего дыхания (ежегодно), рентгенографию грудной клетки (ежегодно), по показаниям – компьютерную томографию грудной клетки, биохимические анализы содержания маркеров воспаления, фиброза, канцерогенных эффектов в сыворотке крови и индуцированной мокроте (1 раз в 6 мес), нагрузку УНТ в индуцированной мокроте.

Необходимо собирать и накапливать банк биологических образцов (цельная кровь, сыворотка крови, супернатант индуцированной мокроты) для обеспечения возможности проведения дополнительных исследований при получении новых экспериментальных данных. Сбор биологических образцов необходимо проводить с учётом прав работников на защиту персональной информации. В последующем полученные данные по токсиколого-гигиеническим и клинико-гигиеническим

исследованиям могут быть использованы для установления государственных гигиенических нормативов условий труда при ингаляционном воздействии УНТ.

Следует отметить, что в настоящее время работники при контакте с углеродными нанотрубками могут проходить медицинские осмотры по пункту 3.1.9 «углерода пыли» Приказа Минтруда России №988н, Минздрава России №1420н от 31.12.2020 «Об утверждении перечня вредных и (или) опасных производственных факторов и работ, при выполнении которых проводятся обязательные предварительные медицинские осмотры при поступлении на работу и периодические медицинские осмотры». Однако в ситуации, когда массовые концентрации наночастиц в воздухе рабочей зоны намного ниже ПДК, установленных для микроразмерных аэрозолей, вероятность того, что работники, контактирующие с УНТ, будут проходить в соответствии с существующим законодательством предварительные и периодические медицинские осмотры, невысокая или даже практически нулевая. Для введения наноразмерных аэрозолей в Перечень вредных и (или) опасных производственных факторов и

работ необходимо иметь утверждённые государственные нормативы и соответствующие методы контроля; в настоящее время и то, и другое пока отсутствует. Одним из вариантов решения данной проблемы является внесение изменений в Приказ Минздрава России от 28.01.2021 N 29н, например, добавление положения о том, что для ряда производств (инновационные, с новыми факторами риска и т.д.) медосмотры нужны для организации долгосрочного мониторинга и биомониторинга.

Заключение

Наличие корпоративного норматива позволит предприятию-производителю УНТ провести мероприятия по разработке и реализации программы производственного контроля с внедрением мониторинга за состоянием воздуха рабочей зоны. Разработка корпоративного норматива может рассматриваться как подготовительный этап перед установкой государственного норматива, что станет необходимым при расширении объёма производства и будет способствовать повышению конкурентоспособности предприятий-производителей УНТ на мировом рынке.

ЛИТЕРАТУРА

(пп. 1–29, 32–39, 41–48 см. в References)

30. Гигиенические нормативы ГН 1.2.2633-10 «Гигиенические нормативы содержания приоритетных наноматериалов в объектах окружающей среды» (утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 25.05.2010 г. № 60).
31. Трудовой кодекс Российской Федерации от 30 декабря 2001 года № 197-ФЗ (с изменениями и дополнениями по состоянию на 28.06.2021 г.).
32. Халиуллин Т.О., Залялов 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.
33. Тиммербулатова Г.А., Дунаев П.Д., Димиев А.М., Габидинова Г.Ф., Хаертдинов Н.Н., Фахруллин Р.Ф., Бойчук С.В., Фатхутдинова Л.М. Сравнительная характеристика различных волокнистых материалов в экспериментах *in vitro*. *Казанский медицинский журнал*. 2021; 102 (4): 501-9. <https://doi.org/10.17816/KMJ2021-501>
34. Методические указания МУ 1.2.3699-21 «Подходы к экспериментально-токсикологическому обоснованию предельно допустимых концентраций наночастиц в воздухе рабочей зоны» (утв. Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 30.08.2021 г.)
1. Global Markets and Technologies for Carbon Nanotubes – 2015. BCC Research. Market forecasting. Available at: <https://www.bccresearch.com/market-research/nanotechnology/carbon-nanotubes-global-markets-technologies-report-nan024f.html> (accessed: 25 October 2021).
2. Chae H., Choi Y., Marilyn L. Minus, Satish Kumar. Carbon nanotube reinforced small diameter polyacrylonitrile based carbon fiber. *Composites Science and Technology*. 2009; 69 (3-4): 406-13. <https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2008.11.008>
3. Behabtu N., Young C.C., Tsentelovich D.E., Kleinerman O., Wang X., Ma A.W., Bengio E.A., ter Waarbeek R.F., de Jong J.J., Hoogerwerf R.E., Fairchild S.B., Ferguson J.B., Maruyama B., Kono J., Talmon Y., Cohen Y., Otto M.J., Pasquali M. Strong, light, multifunctional fibers of carbon nanotubes with ultrahigh conductivity. *Science*. 2013; 339(6116): 182-6. <https://doi.org/10.1126/science.1228061>
4. Dai L., Chang D.W., Baek J.B., Lu W. Carbon nanomaterials for advanced energy conversion and storage. *Small*. 2012; 8(8):1130-66. <https://doi.org/10.1002/sml.201101594>. Epub 2012 Mar 2
5. Future Needs and Opportunities in Nanotechnology for Aerospace Applications – A NASA Perspective. Available at: <https://www.nianet.org/wp-content/uploads/2014/04/Meador.Mike-Keynote.pdf> (accessed: 25 October 2021).
6. Saito N., Haniu H., Usui Y., Aoki K., Hara K., Takanashi S., Shimizu M., Narita N., Okamoto M., Kobayashi S., Nomura H., Kato H., Nishimura N., Taruta S., Endo M. Safe clinical use of carbon nanotubes as innovative biomaterials. *Chem Rev*. 2014; 114(11): 6040-79. <https://doi.org/10.1021/cr400341h>. Epub 2014 Apr 10
7. Wang W., Zhu Y., Liao S., Li J. Carbon nanotubes reinforced composites for biomedical applications. *Biomed Res Int*. 2014; 2014: 518609. <https://doi.org/10.1155/2014/518609>. Epub 2014 Feb 24
8. Commission Recommendation of 18 October 2011 on the definition of nanomaterial Text with EEA relevance. Available at: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:32011H0696> (accessed: 25 October 2021).
9. Monteiro-Riviere N.A., Nemanich R.J., Inman A.O., Wang Y.Y., Riviere J.E. Multi-walled carbon nanotube interactions with human epidermal keratinocytes. *Toxicol Lett*. 2005; 155(3): 377-84. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2004.11.004>
10. Magdolenova Z., Collins A., Kumar A., Dhawan A., Stone V., Dusinska M. Mechanisms of genotoxicity. A review of *in vitro* and *in vivo* studies with engineered nanoparticles. *Nanotoxicology*. 2014; 8(3):233-78. <https://doi.org/10.3109/17435390.2013.773464>
11. Guseva Canu I., Schulte P.A., Riediker M., Fatkhutdinova L., Bergamaschi E. Methodological, political and legal issues in the assessment of the effects of nanotechnology on human health. *J Epidemiol Community Health*. 2018; 72(2): 148-53. <https://doi.org/10.1136/jech-2016-208668>
12. Mihalache R., Verbeek J., Graczyk H., Murashov V., van Broekhuizen P. Occupational exposure limits for manufactured nanomaterials, a systematic review. *Nanotoxicology*. 2016; 11(1). <https://doi.org/10.1080/17435390.2016.1262920>
13. Stone V., Hankin S., Aitken R., Aschberger K., Baun A., Christensen F., Fernandes T., Hansen S., Hartmann N., Hutchison G., Johnston H., Peters S., Micheletti C., Ross B., Sokull-Kluettgen B., Stark D., Tran C. Engineered Nanoparticles: Review of Health and Environmental Safety (ENRHES). *Final Report. United Kingdom*. 2009. Available at: <https://ihcp.jrc.ec.europa.eu/whatsnew/enrhес-final-report> (accessed: 15 October 2021).
14. NIOSH Current intelligence bulletin 65. Occupational exposure to carbon nanotubes and nanofibers. Available at: <https://www.cdc.gov/niosh/docs/2013-145/pdfs/2013-145.pdf?id=10.26616/NIOSH PUB2013145> (accessed: 15 October 2021).

DOI: <https://doi.org/10.36946/0869-7922-2021-29-6-5-15>
Обзорная статья

15. Risk Assessment of the Carbon Nanotube Group. *Risk Anal.* 2015; 35(10): 1940-56. <https://doi.org/10.1111/risa.12394>
16. Nanocyl. Responsible care and nanomaterials case study Nanocyl. Available at: https://www.cfc.org/Documents/ResponsibleCare/04_Nanocyl.pdf. (accessed: 25 October 2021).
17. Baytubes. Available at: <https://foresight.org/baytubes/> (accessed: 25 October 2021).
18. Aschberger K., Johnston H., Stone V., Aitken J., Hankin S., Read S., Tran K., Christensen F. Review of carbon nanotubes toxicity and exposure—Appraisal of human health risk assessment based on open literature. *Critical Reviews in Toxicology.* 2010; 40(9): 759–90. <https://doi.org/10.3109/10408444.2010.506638>
19. Ma-Hock L., Treumann S., Strauss V., Brill S., Luiz F., Mertler M., Wiench K., Gamer A.O., van Ravenzwaay B., Landsiedel R. Inhalation toxicity of multiwall carbon nanotubes in rats exposed for 3 months. *Toxicol Sci.* 2009; 112(2): 468-81. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfp146>
20. Pauluhn J. Multi-walled carbon nanotubes (Baytubes): approach for derivation of occupational exposure limit. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2010; 57(1): 78-89. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2009.12.012>
21. Nanocyl SA. Available at: <https://www.nanocyl.com/product/nc7000/> (accessed: 25 October 2021).
22. OECD Test Guideline 413: Subchronic Inhalation Toxicity: 90-day Study Available at: <https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/feddocs/oced/oced-tg413.pdf> (accessed: 25 October 2021).
23. Pauluhn, J. Subchronic 13-week inhalation exposure of rats to multiwalled carbon nanotubes: toxic effects are determined by density of agglomerate structures, not fibrillar structures. *Toxicol. Sci.* 2010; 113: 226–42. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfp247>
24. Mitchell L.A., Lauer F.T., Burchiel S.W., McDonald J.D. Mechanisms for how inhaled multiwalled carbon nanotubes suppress systemic immune function in mice. *Nat Nanotechnol.* 2009; 4(7): 451-6. <https://doi.org/10.1038/nnano.2009.151>
25. Shvedova A.A., Kisin E., Murray A.R., Johnson V.J., Gorelik O., Arepalli S., Hubbs A.F., Mercer R.R., Keohavong P., Sussman N., Jin J., Yin J., Stone S., Chen B.T., Deye G., Maynard A., Castranova V., Baron P.A., Kagan V.E. Inhalation vs. aspiration of single-walled carbon nanotubes in C57BL/6 mice: inflammation, fibrosis, oxidative stress, and mutagenesis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2008; 295(4): 552-65. <https://doi.org/10.1152/ajplung.90287.2008>
26. Lam C.W., James J.T., McCluskey R., Hunter R.L. Pulmonary toxicity of single-wall carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation. *Toxicol Sci.* 2004; 77(1): 126-34. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kgf243>
27. Porter D.W., Hubbs A.F., Mercer R.R., Wu N., Wolfarth M.G., Sriram K., Leonard S., Battelli L., Schwegler-Berry D., Friend S., Andrew M., Chen B.T., Tsuruoka S., Endo M., Castranova V. Mouse pulmonary dose- and time course-responses induced by exposure to multi-walled carbon nanotubes. *Toxicology.* 2010; 269(2-3): 136-47. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2009.10.017>
28. Morimoto Y., Hirohashi M., Ogami A., Oyabu T., Myojo T., Todoroki M., Yamamoto M., Hashiba M., Mizuguchi Y., Lee B.W., Kuroda E., Shimada M., Wang W.N., Yamamoto K., Fujita K., Endoh S., Uchida K., Kobayashi N., Mizuno K., Inada M., Tao H., Nakazato T., Nakanishi J., Tanaka I. Pulmonary toxicity of well-dispersed multi-wall carbon nanotubes following inhalation and intratracheal instillation. *Nanotoxicology.* 2012; 6(6): 587-99. <https://doi.org/10.3390/ma5122833>
29. Morimoto Y., Hirohashi M., Kobayashi N., Ogami A., Horie M., Oyabu T., Myojo T., Hashiba M., Mizuguchi Y., Kambara T., Lee B.W., Kuroda E., Shimada M., Wang W.N., Mizuno K., Yamamoto K., Fujita K., Nakanishi J., Tanaka I. Pulmonary toxicity of well-dispersed single-wall carbon nanotubes after inhalation. *Nanotoxicology.* 2012; 6(7): 766-75. <https://doi.org/10.3109/17435390.2011.620719>
30. Hygienic standards GN 1.2.2633-10 «Hygienic standards for the content of priority nanomaterials in environmental objects». [Gigienicheskie normativy GN 1.2.2633-10 «Gigienicheskie normativy soderzhaniya prioritnykh nanomaterialov v ob'ekтах okruzhayushchej sredy»]. (in Russian).
31. Labor Code of the Russian Federation of December 30, 2001 No. 197-FZ (with amendments and additions as of June 28, 2021). [Trudovoj kodeks Rossijskoj Federacii ot 30 dekabrja 2001 goda № 197-FZ (s izmeneniyami i dopolneniyami po sostoyaniyu na 28.06.2021)]. (in Russian).
32. Baron P.A., Maynard A.D., Foley M. Evaluation of aerosol release during the handling of unrefined single walled carbon nanotube materials. *Carbon Nanotube Aerosol Generation.* 2003; 11: 1-22.
33. Joseph G. Industrial hygiene air monitoring report. *DuPont Co. internal report.* 2002.
34. Maynard A.D., Baron P.A., Foley M., Shvedova A.A., Kisin E.R., Castranova V. Exposure to carbon nanotube material: Aerosol release during the handling of unrefined single-walled carbon nanotube material. *J. Toxicol. Environ. Health A.* 2004; 67: 87–107. <https://doi.org/10.1080/15287390490253688>
35. Debia M., Bakhiyi B., Ostiguy C., Verbeek J.H., Brouwer D.H., Murashov V.A. Systematic Review of Reported Exposure to Engineered Nanomaterials. *Ann. Occup. Hyg.* 2016; 1–20. <https://doi.org/10.1093/annhyg/mew041>
36. Guseva Canu I., Bateson T.F., Bouvard V., Debia M., Diond Ch., Savolainen K., Yu I.J. Human exposure to carbon-based fibrous nanomaterials: A review. *International Journal of Hygiene and Environmental Health.* 2016; 219: 166–75. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2015.12.005>
37. Birch M.E. Occupational monitoring of particulate diesel exhaust by NIOSH method 5040. *Appl Occup Environ Hyg.* 2002; 17(6): 400-5. <https://doi.org/10.1080/10473220290035390>
38. Ashley K. NIOSH Manual of Analytical Methods 5th Edition and Harmonization of Occupational Exposure Monitoring. *Gefahrst Reinhalt Luft.* 2015; 2015(1–2): 7-16. PMID: 26309348.
39. Eller P.M., Cassinelli M.E. Method 7402 asbestos by TEM (modified for carbon nanotubes). In NIOSH method of analytical methods 4th ed. *Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Institute for Occupational Safety and Health, DHHS (NIOSH).* 2006; 94-113.
40. Haliullin T.O., Zalyalov R.R., Shvedova A.A., Tkachov A.G., Fathutdinova L.M. Hygienic evaluation of multilayer carbon nanotubes. [Medicina truda i promyshlennaya ekologiya]. 2015; (7): 37-41. PMID: 26470480. (in Russian).
41. William I. G., Dewar R.A. Flame Ionization Detector for Gas Chromatography. *Nature.* 1958; 181(4611): 760. <https://doi.org/10.1038/181760a0>
42. Bieri R., Borek-Donten J., Bürgi T., Cattaneo S., Celikkol Zijlstra B. Sensing Solution for Airborne Carbon Nanotube Exposure in Workplaces Based on Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *TechConnect Briefs.* 2017; 275–8.
43. Multiple-Path Particle Dosimetry Model (MPPD v. 3.04). Available at: <https://ara.com/products/multiple-path-particle-dosimetry-model-mppd-v-211> (accessed: 25 October 2021).
44. Ema M., Gamo M., Honda K. A review of toxicity studies of single-walled carbon nanotubes in laboratory animals. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2016; 74: 42-63. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2015.11.015>
45. Lam C.W., James J.T., McCluskey R., Arepalli S., Hunter R.L. A review of carbon nanotube toxicity and assessment of potential occupational and environmental health risks. *Crit Rev Toxicol.* 2006; 36(3): 189-217. <https://doi.org/10.1080/10408440600570233>
46. Timerbulatova G., Dimiev A.M., Khamidullin T., Boichuk S.V., Dunaev P., Fakhrullin R., Khaertdinov N.N., Porfiriyeva N.N., Khaliullin T., Fatkhutdinova L. Dispersion of Single-Walled Carbon Nanotubes in Biocompatible Environments. *Nanotechnologies in Russia.* 2020; 15: 437-44. <https://doi.org/10.1134/S1995078020040163>
47. Russell W.M.S., Burch R. The Principles of Humane Experimental Technique. *Medical Journal of Australia.* 1(13): 500–500. <https://doi.org/10.5694/j.1326-5377.1960.tb73127.x>
48. NANoREG framework for the safety assessment of nanomaterials. Available at: <https://ec.europa.eu/jrc/en/publication/eur-scientific-and-technical-research-reports/nanoreg-framework-safety-assessment-nanomaterials> (accessed: 25 October 2021).
49. Timerbulatova G.A., Fatkhutdinova L.M. Assessment of the Toxicity of Single-Wall Carbon Nanotubes Using Different Types of Cell Cultures: Review of the Current State of Knowledge. *Nanotechnologies in Russia.* 2018; 13(5-6): 240-245. <https://doi.org/10.1134/S1995078018030187>
50. Timerbulatova G.A., Dunaev P.D., Dimiev A.M., Gabidinova G.F., Khaertdinov N.N., Fakhrullin R.F., Boichuk S.V., Fatkhutdinova L.M. Comparative characteristics of various fibrous materials in in vitro experiments. [Kazanskij medicinskij zhurnal]. 2021; 102 (4): 501-509. <https://doi.org/10.17816/KMJ2021-501> (in Russian).
51. Methodical instructions MU 1.2.3699-21 «Approaches to the experimental and toxicological substantiation of the maximum permissible concentrations of nanoparticles in the air of the working area». [Metodicheskie ukazaniya MU 1.2.3699-21 «Podhody k eksperimental'no-toksikologicheskomu osnovaniyu predel'no dopustimyh koncentracij nanochastich v vozduhe rabochej zony»]. (in Russian).

ОБ АВТОРАХ:

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

Тимербулатова Гузель Абдулхалимовна (Timerbulatova Guzel Abdulkhalimovna), ассистент кафедры гигиены, медицины труда ФГБОУ ВО Казанский государственный медицинский университет Минздрава России (420012, г. Казань, Российская Федерация), врач по общей гигиене отдела социально-гигиенического мониторинга ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан)» (420061, г. Казань, Российская Федерация), ragura@mail.ru