

city of Tyumen. *Uchenyye zapiski Kazanskoj gosudarstvennoy akademii veterinarnoy meditsiny im. N.E. Baumana*. 2014. Vol. 220.

No 4. pp. 215-219 [in Russian]
10. Shustrova M.V. Demodecosis of dogs. St. Petersburg. 2001. 30 p. [in Russian]

УДК 619:615.9:620.3:636.087.72

DOI: 10.34655/bgsha.2020.59.2.013

**Е.Ю. Тарасова, Э.И. Семенов, Л.Е. Матросова, Р.М. Потехина,
О.К. Ермолаева**

ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ И КУМУЛЯТИВНЫЕ СВОЙСТВА ГАЛЛУАЗИТА ОТЕЧЕСТВЕННОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ

Ключевые слова: острая токсичность, кумулятивные свойства, нанотрубки галлуазита, микотоксины, адсорбент, нанотехнологии.

Микотоксины – токсичные метаболиты микроскопических грибов, вызывающие отравления животных и птиц. Последние тенденции в удалении микотоксинов из пищевых продуктов и кормов привели к применению различных адсорбентов в качестве кормовых и пищевых добавок. Повышенный интерес к нанотрубкам галлуазита с целью его использования для детоксификации загрязненных кормов или рационов питания объясняется набором характеристик, которые делают его дешевым, доступным, долговечным, механически прочным. Однако параметры безопасности нанотрубок галлуазита на лабораторных животных не были исследованы, поэтому целью явилось изучение острой токсичности и кумулятивных свойств недавно открытого отечественного месторождения. Опыты по изучению острой токсичности и кумулятивных свойств нанотрубок галлуазитной глины проведены на белых крысах живой массой 180-200 г. Галлуазит животным вводили внутрижелудочно в виде водной взвеси. При оценке острой токсичности нанотрубки галлуазита вводили в дозе 1000-6000 мг/кг. Суммарная доза галлуазита в опытах по изучению субхронической токсичности составила 12,8 мг/кг максимально введенной дозы. На основании проведенных нами исследований установлено, что нанотрубки галлуазитной глины с коммерческим названием НТН-90, произведенные ООО «Галлуазит-Урал», обладают низкой токсичностью со слабо выраженными кумулятивными свойствами. Из-за низкой токсичности галлуазита отечественного месторождения среднесмертельную дозу (ЛД₅₀) определить не удалось, максимально вводимая доза составила 6000 мг/кг. Следствием этого является потенциальная возможность использования галлуазита отечественного месторождения в качестве адсорбента микотоксинов благодаря его безопасности при оценке острой токсичности и кумулятивных свойств.

**E. Tarasova, E. Semenov, L. Matrosova, R. Potekhina,
O. Ermolaeva**

ACUTE TOXICITY AND CUMULATIVE PROPERTIES OF DOMESTIC FIELD HALLOYSITE

Keywords: acute toxicity, cumulative properties, halloysite nanotubes, mycotoxins, adsorbent, nanotechnology.

Mycotoxins are toxic metabolites of microscopic fungi that cause poisoning of animals and birds. Recent trends in the removal of mycotoxins from food and feed have led to the use of various adsorbents as feed and nutritional supplements. The increased interest in halloysite nanotubes for the purpose of its use for the detoxification of contaminated feeds or diets is explained by a set of characteristics that make it cheap, affordable, durable, mechanically strong. However, the safety parameters of halloysite nanotubes in laboratory animals have not been investigated, so the goal was to study the acute toxicity and cumulative properties of a recently discovered domestic deposit. Experiments to study the acute toxicity and cumulative properties of halloysite clay nanotubes were carried out on white rats with a live weight of 180-200 g. Halloysite was administered to animals intragastrically in the form of an aqueous suspension. In assessing acute toxicity, halloysite nanotubes were administered at a dose of 1000-6000 mg / kg. The total dose of halloysite in experiments on the study of subchronic toxicity was 12.8 mg / kg of the maximum dose administered. Based on our studies, it was found that galloisite clay nanotubes with the commercial name NTH-90, manufactured by LLC "Halloysite-Ural", have low toxicity with weakly expressed cumulative properties. Due to the low toxicity of the halloysite of the domestic field, the lethal dose (LD50) could not be determined, the maximum administered dose was 6000 mg / kg. The consequence of this is the potential use of halloysite from a domestic deposit as an adsorbent of mycotoxins due to its safety in assessing acute toxicity and cumulative properties.

Тарасова Евгения Юрьевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории микотоксинов; e-mail: Evgenechka1885@gmail.com

Evgeniya Y. Tarasova, Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher of the Mycotoxin Laboratory; e-mail: Evgenechka1885@gmail.com

Семенов Эдуард Ильясович, кандидат биологических наук, заведующий отделением токсикологии; e-mail: semyonovei@bk.ru

Eduard I. Semenov, Candidate of Biological Sciences, Head of Toxicology Department; e-mail: semyonovei@bk.ru

Матросова Лилия Евгеньевна, доктор биологических наук, заведующая лабораторией микотоксинов; e-mail: M. Lilia. Evg@yandex.ru

Lilia E. Matrosova, Doctor of Biological Sciences, Head of Mycotoxin Laboratory; e-mail: M. Lilia. Evg@yandex.ru

Потехина Рамзия Мухаметовна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории микотоксинов; e-mail: RamziyaP@yandex.ru

Ramziya M. Potekhina, Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher of Laboratory of the mycotoxins; e-mail: RamziyaP@yandex.ru

Ермолаева Ольга Константиновна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории микотоксинов; e-mail: Ermolao@list.ru

Olga K. Ermolaeva, Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher of the Mycotoxin Laboratory; e-mail: Ermolao@list.ru

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», Казань, Республика Татарстан, Российская Федерация

Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Republic of Tatarstan, Russian Federation

Введение. Микотоксины представляют собой токсичные вторичные метаболиты, вырабатываемые плесневыми грибами рода *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Claviceps*, *Alternaria*. Мико-

токсины могут вызывать расстройства центральной нервной системы, нарушение работы желудочно-кишечного тракта, обладают кардиотоксичностью, нефротоксичностью и гепатотоксично-

стью. Механизмы токсичности микотоксинов изучались в течение многих лет [3, 5, 6, 9, 11]. В настоящее время насчитывается около 500 видов микотоксинов и, по оценкам, еще около 1000 предстоит обнаружить. Большой риск представляют замаскированные микотоксины, поскольку не существует общепринятого рутинного метода их определения [7].

Хотя традиционные методы постоянно совершенствуются, современные исследовательские тенденции ищут инновационные решения. При этом нанотехнологические подходы представляются перспективным, эффективным и недорогим способом минимизации воздействия микотоксинов на здоровье человека и животных. Основной стратегией в борьбе с микотоксикозами является адсорбция микотоксинов [1, 4, 10]. Одним из наиболее перспективных методов, на наш взгляд, является использование природных материалов, например, галлуазита.

Создание и внедрение новых высокоэффективных лекарственных средств является приоритетной задачей медицинских и ветеринарных специалистов. Успешное внедрение в клиническую практику новых методов и средств лечения предполагает наличие доказанной в соответствии с современными требованиями высокой степени эффективности и безопасности применения новых лекарственных средств [2]. Использование наноматериалов в агропромышленном комплексе открывает возможности интенсификации сельскохозяйственного производства.

Малоизученным направлением использования природных минералов является создание на их основе наноразмерных лекарственных средств, препаратов, кормовых добавок с направленными, контролируемыми свойствами и действием на организм животных. В отличие от нанокompозитов, галлуазит естественным образом встречается в виде небольшого цилиндра (нанотру-

бок). Внешняя силоксан и внутренняя алюмоиольная поверхность галлуазита эффективны в качестве абсорбента или могут быть использованы в качестве носителя для лекарств, нуклеиновых кислот, антибактериальных агентов и антиоксидантов [8]. Поэтому галлуазит является эффективным адсорбентом как для катионов, так и для анионов. Кроме того, галлуазитовые нанотрубки могут быть модифицированы различными поверхностно-активными веществами для повышения их сорбционных свойств и специфичности [12]. Существуют большие перспективы использования галлуазита, особенно отечественных месторождений, как в сельском хозяйстве, так и в медицине. Однако внедрение его в практику возможно только после всестороннего изучения безопасности. В связи с этим, изучение структуры, физико-химических, фармако-токсикологических свойств нанотрубок галлуазита отечественного месторождения, определение его влияния на организм животных и разработка технологий применения в животноводстве являются актуальными, что послужило основанием для проведения серии токсикологических тестов, первым из которых является определение острой токсичности.

Целью изучения острой токсичности является определение переносимых, токсических и летальных доз фармакологического вещества и причин наступления гибели животных с анализом клинической картины интоксикации.

Материалы и методы. В работе использованы нанотрубки галлуазитной глины с коммерческим названием NTH-90, произведенные ООО «Галлуазит-Урал». NTH-90 представляет собой порошок от сероватого до голубоватого цвета с химической формулой $Al_2Si_2O_5(OH)_4$, молекулярной массой 294,19 г/моль, плотностью 1,8-2,6 г/см³, удельной поверхностью 65 м²/г, длиной нанотрубок в диапазоне 1000-3000 нм, показателем преломления 1,54, внутренним ди-

аметром 15-30 нм, внешним диаметром трубки 50-70 нм и следующим химическим составом (Al_2O_3 – 35,07%, SiO_2 – 48,06%, Fe_2O_3 – 0,77%, TiO_2 – 0,08, K_2O – 2,16%, Na_2O – 0,09%, MgO – 0,12%, SO_3 – 0,13%, K_2O+Na_2O – 2,25%). Число животных должно быть по 10 крыс живой массой 180-200 г, чтобы оценить характер и частоту проявления токсических эффектов и результатов исследований адекватной статистической обработке, сформированных для изучения острой токсичности нанотрубок галлуазитной глины. Водную взвесь NTH-90 вводили в фиксированное время суток с целью предупреждения ошибок, связанных с суточными ритмами.

Животным опытных групп однократно внутрижелудочно при помощи атравматического зонда с оливой вводили нанотрубки галлуазита в форме водной взвеси в возрастающих дозах (1000; 2000; 3000; 4000; 5000; 6000 мг/кг). Ограничение при введении уровнем 6000 мг/кг связано со свойствами нанотрубок галлуазита (слабая растворимость в воде и

низкий удельный вес). Объем вводимой взвеси не превышал 5 мл. Животным контрольной группы в аналогичном объеме вводили дистиллированную воду. Общая продолжительность наблюдения за животными при исследовании общей токсичности составила 14 дней, причем в первый день после введения галлуазита крысы находились под непрерывным наблюдением.

Опыты по изучению кумулятивных свойств методом субхронической токсичности нанотрубок галлуазитной глины проведены на 20 белых нелинейных крысах обоего пола. Животным задавали NTH-90 внутрижелудочно в течение 24 суток. При этом начальная доза составляла 1/10 от максимально введенной (6000 мг/кг живой массы). В каждые последующие 4 сут дозу увеличивали в 1,5 раза. Суммарная доза за 24 дня составила 12,8 максимально введенной дозы. Контрольная группа внутрижелудочно получала дистиллированную воду.

Таблица 1 - Острая токсичность нанотрубок галлуазитной глины (NTH-90)

Группа	Доза, мг/кг	Количество крыс в группе	Пало, гол.	Выжило, гол.	Процент выживших
1	контроль	10	0	10	100
2	1000	10	0	10	100
3	2000	10	0	10	100
4	3000	10	0	10	100
5	4000	10	0	10	100
6	5000	10	0	10	100
7	6000	10	0	10	100

Результаты исследований. Из данных таблицы 1 следует, что ни одна испытываемая доза галлуазита не вызвала гибели животных. Внутрижелудочное введение галлуазита в дозах от 1000 до 6000 мг/кг не вызывало изменений интегральных показателей относительно контрольной группы. При диагностическом вскрытии крыс видимых изменений в органах и тканях не обнаружено.

На основании проведенного опыта

(табл. 2) показано, что увеличение дозы нанотрубок галлуазитной глины (NTH-90) каждые 4 суток не вызвало гибели подопытных крыс. Общее состояние крыс, получавших нарастающие дозы галлуазита в течение 24 суток, было удовлетворительным.

Слабое угнетение наблюдали на 20-е сутки эксперимента. Угнетение возникало после внутрижелудочного введения галлуазита, спустя 2-2,5 часа

Таблица 2 – Кумулятивные свойства нанотрубок галлуазитной глины (НТН-90)

Дни введения	Ежедневная доза, мг/кг	Суммарная доза за 4 дня, мг/кг	Суммарная доза по периодам введения, мг/кг	Количество павших животных
1-4	600	2400	2400	0
5-8	900	3600	6000	0
9-12	1350	5400	11400	0
13-16	2025	8100	19500	0
17-20	3037,5	12150	31650	0
21-24	4556	18224	49874	0

общее состояние становилось удовлетворительным, и крысы начинали активно пить воду.

При диагностическом вскрытии животных в конце опыта у 2 крыс была зарегистрирована слабая гиперемия слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта. Других видимых изменений органов и тканей у крыс опытной группы по сравнению с контрольными животными не наблюдалось.

Из-за низкой токсичности галлуазита Челябинского месторождения средне-смертельную дозу (LD_{50}) определить не удалось, максимально вводимая доза составила 6000 мг/кг.

Заключение. Проведенные исследования показали, что нанотрубки галлуазитной глины с коммерческим названием НТН-90, произведенные ООО «Галлуазит-Урал», обладают низкой токсичностью со слабовыраженными кумулятивными свойствами, что открывает перспективы для использования в сельском хозяйстве и медицине. В последующих наших работах будет изучена хроническая токсичность, эмбриотоксическое, тератогенное, местно-раздражающее, аллергизирующее и другие действия с целью установления возможности безопасного использования галлуазита Челябинского месторождения в качестве адсорбента агентов техногенного и природного происхождения или составляющего в линейке кормовых добавок, в которых связывание микотоксинов не является единственным эффектом.

Библиографический список

1. Поиск эффективных адсорбентов Т-2 токсина / Е. Ю. Тарасова, Э. И. Семенов, А. Р. Валиев, Л. Е. Матросова // Вестник Марийского государственного университета. – 2019. – Т. 5. – № 3. – С. 322-329.
2. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
3. Случай микоза птиц, вызванный токсигенным изолятом *Fusarium proliferatum* / Р. М. Потехина, Л. Е. Матросова, Е. Ю. Тарасова, Э. И. Семенов // Вестник Марийского государственного университета. – 2019. – Т. 5. – № 3. – С. 316-321.
4. Сравнительная оценка адсорбирующей активности дрожжей по отношению к микотоксинам / Э. И. Семенов, Л. Е. Матросова, Е. Ю. Тарасова, З. А. Канарская // Вестник КНИТУ. – 2013. – № 10. – С. 195-198.
5. Cunha S. C., Sa S. V. M., Fernandes J. O. Multiple mycotoxin analysis in nut products: Occurrence and risk characterization // Food Chem. Toxicol. – 2018. - № 114. – P. 260–269.
6. Effect of abiotic stressors on T-2-producing environmental isolates of *Fusarium sporotrichioides* / G. M. Yumangulova, E. I. Semenov, R. M. Potekhina, M. N. Mukminov, E. A. Shuralev // Journal of Pharmacy Research. - 2017. - V. 11. - P. 1226-1229.
7. Freire L., Sant'Ana A. S. Modified mycotoxins: An updated review on their formation, detection, occurrence and toxic effects // Food Chem. Toxicol. – 2018. - № 111. – P. 189–205.
8. Halloysite clay nanotubes for loading and sustained release of functional

compounds / Y. Lvov, W. C. Wang, L. Q. Zhang, R. Fakhrullin // *Adv. Mater.* – 2016. - № 28. – P. 1227–1250.

9. Joint effect of the mycotoxins T-2 toxin, deoxynivalenol and zearalenone on the weaner pigs against a background of the infection load / E. I. Semenov, M. Y. Tremasov, L. E. Matrosova, E. Y. Tarasova, M. A. Kryuchkova, S. Y. Smolentsev, V. P. Korosteleva // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences.* - 2016. - V. 7. - P. 1860-1868.

10. Nanoparticles as a solution for eliminating the risk of mycotoxins / P. Horky, S. Skalickova, D. Baholet, J. Skladanka // *Nanomaterials.* – 2018. - № 8(9). – P. 727.

11. Toxicological interactions between mycotoxins from ubiquitous fungi: Impact on hepatic and intestinal human epithelial cells / M. Madalena, C. Sobral, M.A. Faria, S.C. Cunha, I. Ferreira // *Chemosphere.* – 2018. – № 202. – P. 538–548.

12. Use of modified halloysite nanotubes in the feed reduces the toxic effects of zearalenone on sow reproduction and piglet development / Y. Y. Zhang, R. Gao, M. Liu, B. M. Shi, A. S. Shan, B. J. Cheng // *Theriogenology.* –2015. - № 83. – P. 932–941.

1. Tarasova E. Yu., Semenov E. I., Valiev A. R., Matrosova L. E. Search for effective T-2 toxin adsorbents. *Vestnik Mariyskogo gosudarstvennogo universiteta.* 2019. Vol 5. No 3. pp. 322-329. [in Russian]

2. Guidelines for preclinical studies of drugs. Part one. Moscow. *Grif and K.* 2012. 944 p. [in Russian]

3. Potekhina R.M., Matrosova L.E., Tarasova E.Yu., Semenov E.I. The case of poultry mycosis caused by *Fusarium proliferatum* isolate. *Vestnik Mariyskogo gosudarstvennogo universiteta.* 2019. Vol 5. No 3. pp. 316-321. [in Russian]

4. Semenov E. I., Matrosova L. E., Tarasova E. Yu., Kanarskaya Z. A. Comparative evaluation of the adsorbing activity of yeast in relation to mycotoxins. *Vestnik KSRTU.* 2013. No 10. pp. 195-198 [in Russian]

5. Cunha S.C., Sa S.V.M., Fernandes J.O.

Multiple mycotoxin analysis in nut products: Occurrence and risk characterization. *Food Chem. Toxicol.* 2018. No 114. Pp. 260–269 [in Russian]

6. Yumangulova G.M., Semenov E.I., Potekhina R.M., Mukminov M.N., Shuralev E.A. Effect of abiotic stressors on T-2-producing environmental isolates of *Fusarium sporotrichioides*. *Journal of Pharmacy Research.* 2017. V. 11. Pp. 1226-1229 [in Russian]

7. Freire L., Sant'Ana A. S. Modified mycotoxins: An updated review on their formation, detection, occurrence and toxic effects. *Food Chem. Toxicol.* 2018. No 111. pp. 189–205 [in Russian]

8. Lvov Y., Wang W.C., Zhang L.Q., Fakhrullin R. Halloysite clay nanotubes for loading and sustained release of functional compounds. *Adv. Mater.* 2016. No 28. pp. 1227–1250 [in Russian]

9. Semenov E.I., Tremasov M.Y., Matrosova L.E., Tarasova E.Y., Kryuchkova M.A., Smolentsev S.Y., Korosteleva V.P. Joint effect of the mycotoxins T-2 toxin, deoxynivalenol and zearalenone on the weaner pigs against a background of the infection load. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences.* 2016. V. 7. pp. 1860-1868 [in Russian]

10. Horky P., Skalickova S., Baholet D., Skladanka J. Nanoparticles as a solution for eliminating the risk of mycotoxins. *Nanomaterials.* 2018. No 8(9). pp. 727 [in Russian]

11. Madalena M., Sobral C., Faria M.A., Cunha S.C., Ferreira I. Toxicological interactions between mycotoxins from ubiquitous fungi: Impact on hepatic and intestinal human epithelial cells. *Chemosphere.* 2018. No 202. pp 538–548

12. Zhang Y. Y., Gao R., Liu M., Shi B. M., Shan A. S., Cheng B. J. Use of modified halloysite nanotubes in the feed reduces the toxic effects of zearalenone on sow reproduction and piglet development. *Theriogenology.* 2015. No 83. pp. 932–941.