

doi: <https://doi.org/10.15407/knit2018.06.069>

**Т. О. Борисова, Н. В. Крисанова, Н. Г. Позднякова, А. О. Пастухов,
А. А. Борисов, М. В. Дударенко, К. О. Палієнко, О. Я. Шатурський**
Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна Національної академії наук України, Київ, Україна

ПРОЕКТ: РОЗРОБЛЕННЯ НОВОЇ УНІВЕРСАЛЬНОЇ МЕТОДИКИ ОЦІНЮВАННЯ ТОКСИЧНОСТІ ПЛАНЕТАРНОГО ПИЛУ ДЛЯ ПЕРСПЕКТИВНИХ КОСМІЧНИХ МІСІЙ

Пілотовані позаземні місії та освоєння нових планет вимагають оцінки ризику токсичності планетарного пилу. Підготовка перспективних місій (особливо найближчі плани створення навколomisячної станції) вимагають якнайшвидшого розроблення методології експрес-аналізу токсичності компонентів навколишнього середовища. Нещодавно робочою групою проекту вперше показано відсутність суттєвого нейротоксичного впливу симулянтів місячного та марсіанського пилу, але токсичні властивості суміші частинок симулянта марсіанського пилу та карбонових наночастинок. Ці експериментальні дані опубліковані у роботах Pozdnyakova et al., 2017 та Dunne et al., 2010. Запропонований проект передбачає розроблення нової методології, алгоритму оцінки та обладнання, а також відповідних моделей, які можуть передбачувати, прогнозувати та визначати біобезпеку частинок пилу.

Ключові слова: *пілотовані позаземні місії; планетарний та міжзоряний пил; оцінки ризиків; біобезпека; токсичність пилу; методики оцінювання токсичності пилу.*

ВСТУП

Пілотовані позаземні місії та плани освоєння нових планет вимагають оцінки ризику токсичності планетарного пилу. Підготовка перспективних місій (особливо найближчі плани створення навколomisячної станції) вимагають якнайшвидшого розроблення методології експрес-аналізу токсичних компонентів навколишнього середовища.

Дані літературних джерел свідчать, що частинки місячного пилу сорбуються на скафандрах

© Т. О. БОРИСОВА, Н. В. КРИСАНОВА, Н. Г. ПОЗДНЯКОВА,
А. О. ПАСТУХОВ, А. А. БОРИСОВ, М. В. ДУДАРЕНКО,
К. О. ПАЛІЄНКО, О. Я. ШАТУРСЬКИЙ, 2018

і потрапляють всередину космічних кораблів [23, 26]. В результаті прямого контакту з частинками місячного пилу протягом декількох місій «Apollo» спостерігалось подразнення очей, дихальних шляхів та шкіри. Формування, склад і фізичні властивості місячного, марсіанського та іншого планетарного пилу та його вплив на здоров'я людини недостатньо охарактеризовані [18, 19, 23]. В організмі ссавців ультрадисперсні частинки можуть тривалий час зберігатись у носовій порожнині, бронхах та альвеолах. Окрім перерозподілу між різними органами, вони транспортуються вздовж сенсорних аксонів нюхового нерва до центральної нервової системи [12, 14, 20]. *In vitro* поглинання ультрадисперсних

частинок у клітинах відбувається шляхом дифузії або адгезії. Ці частинки проникають крізь клітинні мембрани без фагоцитозу в легенях і в культурі клітин. У клітинах вони знаходяться у незв'язаній з мембраною формі і можуть безпосередньо взаємодіяти з внутрішньоклітинними білками, органелами і ДНК, що може значно підвищити їхній токсичний потенціал.

НОВА УНІВЕРСАЛЬНА МЕТОДИКА ОЦІНЮВАННЯ ТОКСИЧНОСТІ ПЛАНЕТАРНОГО ПИЛУ

Проект розроблення нової універсальної методики оцінювання токсичності планетарного пилу для перспективних космічних місій ґрунтується на результатах наших попередніх досліджень. Робоча група виконавців проекту має значний досвід роботи з частинками пилу. Нещодавно робочою групою проекту вперше показано відсутність суттєвого нейротоксичного впливу місячного та марсіанського пилу [15] та суттєві токсичні властивості суміші частинок марсіанського пилу та карбонових наночастинок [21], вперше було відкрито нейротоксичні властивості карбонових точок [10] та наноалмазів [22], а також виявлено певні нейротоксичні властивості наночастинок магеміту $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ [7, 13].

Запропонований проект передбачає розроблення нової методології, алгоритму оцінки та обладнання, а також відповідних моделей, які можуть передбачувати, прогнозувати та визначати біобезпеку частинок пилу. На основі проведених досліджень передбачається розроблення та створення макету (а згодом і польотного зразка) установки для експрес-аналізу токсичності пилу.

Оцінку токсичних ризиків для здоров'я буде проведено відповідно до рекомендацій з оцінки ризику нейротоксичності (US Environmental Protection Agency, 1998 року, згідно з пунктом 3 Оцінка небезпеки: 3.1.2 Дослідження на тваринах; 3.1.2.3 Нейрохімічні наслідки нейротоксичності; 3.1.3.4. In vitro дані нейротоксикології). Експериментальну підготовку космічного експерименту буде проведено у рамках співробітництва з міжнародною групою дослідників Європейського космічного агентства (ЄКА) та Національного управління з повітроплавання і дослідження космічного простору (НАСА).

Завданнями даного проекту є:

1) оцінювання токсичності різних класів частинок, а саме місячного та марсіанського пилу, який включає неорганічні наночастинки (JSC-1a, Lunar Soil Simulant; JSC, Mars-1A, ORBITEC Orbital Technologies Corporation, Медісон, штат Вісконсин, США), до якого планується додати вуглецеві частинки різного типу гібридизації (нанодіаманти та вуглецеві точки), а також магнітні частинки, кристали рідкоземельних елементів. Для створення «предиктивних» моделей необхідними є знання щодо впливу розміру, форми, структури поверхні та наявності функціональних груп на поверхні мікро- та нанорозмірних частинок на їхню токсичність;

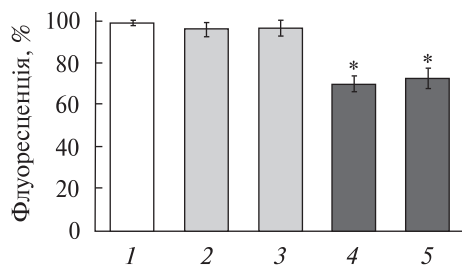
2) оцінювання ризиків для здоров'я від впливу симулянтів місячного та марсіанського пилу відповідно до рекомендацій з оцінки ризику нейротоксичності US EPA;

3) верифікація даних, отриманих з використанням біохімічних методів (радіоізотопного аналізу транспорту нейромедіаторів у нервових терміналях, мембранного потенціалу нервових клітин та тромбоцитів, а також ацидифікації синаптических везикул та секреторних гранул тромбоцитів), з даними, отриманими з використанням спеціального електрофізіологічного обладнання;

4) розробка методології та алгоритму швидкого оцінювання токсичності частинок пилу при використанні цього обладнання, та введення за потреби кореляційних показників;

5) розробка технічних пропозицій щодо створення макету установки з експрес-аналізу токсичності пилу.

Верифікація експериментальних даних, розробка методології та алгоритму оцінювання токсичного потенціалу частинок пилу створять базу для розроблення та оптимізації польотної космічної установки. Передбачається, що це обладнання буде використано у непілотованих та пілотованих космічних місіях. У обох випадках установка дозволить проводити моніторинг потенційної загрози з боку пилового оточення космічного апарата та частинок пилу, які згідно з даними літературних джерел здатні сорбуватися на скафандрах і потрапляти всередину косміч-



Рівень флуоресценції АО після додавання до синаптосом: 1 — стандартного сольового середовища для встановлення контрольного рівня флуоресценції; 2 — місячного пилу (2.0 мг/мл); 3 — марсіанського пилу (2.0 мг/мл); 4 — місячного пилу (2.0 мг/мл) з додаванням карбонових частинок (0.5 мг/мл); 5 — марсіанського пилу (2.0 мг/мл) з додаванням карбонових частинок (0.5 мг/мл). Зірочкою позначено значення, що суттєво відрізняються від контрольних при рівні значимості $P < 0.05$

них кораблів [23, 26]. Також установка може бути використана для оцінки біобезпеки та ризиків використання пилу *in situ* в космічних технологіях.

Технічні пропозиції для створення установки для оцінювання токсичності планетарного пилу базуватимуться на даних попередньої роботи. У даний час запропонована методика вимірювання токсичності пилу проходить рецензування закордонними експертами та патентування.

В рамках виконання зазначених вище завдань проекту у попередніх дослідженнях нами виявлено наступні факти. З використанням рН-чутливого флуоресцентного зонда акридинового оранжевого (АО) було проаналізовано вплив місячного (JSC-1a, Lunar Soil Simulant) та марсіанського пилу (JSC, Mars-1A), до яких були додані карбонові частинки (вуглецеві точки, синтезовані з тіосечовини та цитринової кислоти) на ацидифікацію синаптичних везикул у нервових терміналях головного мозку щурів (синаптосомах). АО здатний накопичуватися в кислих компартментах клітин згідно з рН-градієнтом. В нервових терміналях до таких структур належать синаптичні везикули, всередині яких рН = 5, що значно нижче за рН цитозолю. Використання цього методичного підходу дає можливість оцінювати здатність везикул до акумуляції нейромедіатора.

На рисунку показано вплив місячного та марсіанського пилу на ацидифікацію синап-

тичних везикул. Додавання до суспензії синаптосом АО (5 мкМ) супроводжувалося гасінням флуоресценції зонда внаслідок його накопичення всередині синаптичних везикул. Стабільний рівень флуоресценції встановлювався за 5 хв, після чого він приймався за 100 % для подальших розрахунків. Виявилось, що додавання стандартного сольового середовища майже не вплинуло на інтенсивність флуоресцентного сигналу (стовпчик 1). Місячний та марсіанський пил, додані у концентрації 2.0 мг/мл у стандартному сольовому середовищі, не впливали на інтенсивність флуоресцентного сигналу (стовпчики 2 і 3), що свідчило про відсутність їхнього впливу на ацидифікацію синаптичних везикул. Додавання карбонових частинок (0.5 мг/мл) до місячного та марсіанського пилу призводило до зниження ацидифікації, і, таким чином, до дисипації протонного градієнта синаптичних везикул під впливом одержаних препаратів (стовпчики 4 і 5).

Отже, карбонвмісний місячний та марсіанський пил є токсичним для нервової системи.

ВИСНОВОК

Виконавцями проекту є п'ять молодих вчених під керівництвом завідувача відділу нейрохімії Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України. Науковий колектив цього проекту та інститут у цілому мають необхідний науковий досвід, моделі та обладнання для виконання наземної частини експериментів в рамках даного проекту [1—11, 13, 15—17, 21, 22, 24, 25]. Виконавцями проекту опубліковано більш ніж 10 статей у фахових міжнародних журналах з космічних досліджень [1—6, 8, 9, 11, 15, 21]. Також автори проекту мають дві спільні статті у міжнародних виданнях з німецькими колегами, науковими партнерами даного проекту [11, 15]. Запропонований проект визнано переможцем конкурсу молодіжних проєктів, який проводився Інститутом космічних досліджень НАН України і ДКА України у 2017 році в рамках Цільової комплексної програми НАН України з наукових космічних досліджень.

ЛІТЕРАТУРА

1. Nervous system injury in response to contact with environmental, engineered and planetary micro- and nano-sized particles // *Front Physiol.* — 2018. — **9**. — P. 728. — DOI: 10.3389/fphys.2018.00728
2. *Borisova T., Himmelreich N.* Centrifuge-induced Hypergravity: [³H]GABA and L-[¹⁴C]glutamate Uptake, Exocytosis and Efflux Mediated by High-Affinity, Sodium-Dependent Transporters // *Adv. Sp. Res.* — 2005. — **36**. — P. 1340—1345.
3. *Borisova T., Kasatkina L.* Glutamate transporters of blood platelets as potential peripheral markers to analyze changes of glutamate transport activity in brain under altered gravity conditions // *J. Gravit. Physiol.* — 2007. — **14**. — P. 81—82.
4. *Borisova T., Krisanova N.* Ground-based hypergravity simulated modeling changed the effects of the glutamate transporter inhibitor on the carrier-mediated glutamate release in low [Na⁺] media from rat brain nerve terminals // *J. Gravit. Physiol.* — 2006. — **13**. — P. 137—138.
5. *Borisova T., Krisanova N.* Presynaptic transporter-mediated release of glutamate evoked by the protonophore FCCP increases under altered gravity conditions // *Adv. Sp. Res.* — 2008. — **42**. — P. 1971—1979.
6. *Borisova T., Krisanova N.* Presynaptic release of glutamate by heteroexchange under altered gravity conditions // *Microgravity Sci. Tec.* — 2009. — **21**. — P. 197—201.
7. *Borisova T., Krisanova N., Borysov A., Sivko R., Ostapchenko L., Babic M., Horak D.* Manipulation of brain nerve terminals by an external magnetic field using D-mannose-coated γ -Fe₂O₃ nano-sized particles and their effects on glutamate transport // *Beilstein J. Nanotechnol.* — 2014. — **5**. — P.778—788.
8. *Borisova T., Krisanova N., Himmelreich N.* Exposure of animals to artificial gravity conditions leads to the alteration of the glutamate release from rat cerebral hemispheres nerve terminals // *Adv. Sp. Res.* — 2004. — **33**. — P. 1362—1367.
9. *Borisova T., Krisanova N., Himmelreich N.* Artificial gravity loading increases the effects of the glutamate transporter inhibitors on the glutamate release and uptake in rat brain nerve terminals // *Microgravity Sci. Tec.* — 2006. — **XVIII-3/4**. — P. 230—233.
10. *Borisova T., Nazarova A., Dekaliuk M., Krisanova N., Pozdnyakova N., Borysov A., Sivko R., Demchenko A. P.* Neuromodulatory properties of fluorescent carbon dots: effect on exocytotic release, uptake and ambient level of glutamate and GABA in brain nerve terminals // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* — 2015. — **59**. — P. 203—215.
11. *Dunne M., Sadhukhan A., Rehders M., Brix K., Vogt P. M., Jokuszies A., Mirastschijski U., Borisova T., Slenzka K., Vogt J., Rettberg P., Rabbow E.* Effects of different space relevant environmental stressors including Lunar Dust on microorganisms and human cells of different tissues // 40th International Conference on Environmental Systems, Published by the American Institute of Aeronautics and Astronautics, Inc., AIAA 2010-6076. — P. 1—21.
12. *Genc S., Zadeoglulari Z., Fuss S. H., Genc K.* The adverse effects of air pollution on the nervous system // *J. Toxicol.* — 2012. — P.782462.
13. *Horák D., Beneš M., Procházková Z., Trchová M., Borysov A., Pastukhov A., Paliienko K., Borisova T.* Effect of O-methyl- β -cyclodextrin-modified magnetic nanoparticles on the uptake and extracellular level of l-glutamate in brain nerve terminals // *Colloids Surf B Biointerfaces.* — 2017. — **149**. — P. 64—71
14. *Kao Y.-Y., Cheng T.-J., Yang D.-M., et al.* Demonstration of an olfactory bulb-brain translocation pathway for zno nanoparticles in rodent cells in vitro and in vivo // *J. Mol. Neurosci.* — 2012. — **2**. — P. 464—71.
15. *Krisanova N., Kasatkina L., Sivko R., Borysov A., Nazarova A., Slenzka K, Borisova T.* Neurotoxic potential of lunar and martian dust: influence on em, proton gradient, active transport, and binding of glutamate in rat brain nerve terminals // *Astrobiology.* — 2013. — **13**. — P. 679—692.
16. *Krisanova N., Sivko R., Kasatkina L., Borysov A., Borisova T.* Excitotoxic potential of exogenous ferritin and apoferritin: Changes in ambient level of glutamate and synaptic vesicle acidification in brain nerve terminals // *Cell. Mol. Neuroscience.* — 2014. — **58**. — P. 95—104.
17. *Krisanova N., Triakash I., Borisova T.* Synaptopathy under conditions of altered gravity: Changes in synaptic vesicle fusion and glutamate release // *Neurochem. Int.* — 2009. — **55**. — P. 724—731.
18. *Lam C.-W., James J. T., McCluskey R., et al.* Pulmonary toxicity of simulated lunar and martian dusts in mice: i. histopathology 7 and 90 days after intratracheal instillation // *Inhal. Toxicol.* — 2002. — **9**. — P. 901—916.
19. *Linnarsson D., Carpenter J., Fubini B., et al.* Toxicity of lunar dust Planet // *Space Sci.* — 2012. — **1**. — P. 57—71.
20. *Oberdörster G., Sharp Z., Atudorei V., et al.* Extrapulmonary translocation of ultrafine carbon particles following whole-body inhalation exposure of rats // *J. Toxicol. Environ. Heal. Part A.* — 2002. — **20**. — P. 1531—1543.
21. *Pozdnyakova N., Pastukhov A., Dudarenko M., Borysov A., Krisanova N., Nazarova A. Borisova T.* Enrichment of Inorganic Martian Dust Simulant with Carbon Component can Provoke Neurotoxicity // *Microgravity Sci. Tec.* — 2017. — **29**. — P. 133—144.
22. *Pozdnyakova N., Pastukhov A., Dudarenko M., Galkin M., Borysov A., Borisova T.* Neuroactivity of detonation nanodiamonds: dose-dependent changes in transporter-mediated uptake and ambient level of excitatory/inhibitory neurotransmitters in brain nerve terminals // *J. Nanobiotechnol.* — 2016. — **14**. — P. 25. — DOI: 10.1186/s12951-016-0176-y.
23. *Rehders M., Grossh user B. B., Smarandache A., et al.* Effects of lunar and mars dust simulants on hacat keratino-

- cytes and cho-k1 fibroblasts // Adv. Sp. Res. — 2011. — 7. — P. 1200—1213.
24. *Shatursky O. Y., Kasatkina L. A., Rodik R. V., Cherenok S. O., Shkrabak A. A., Veklich T. O., Borisova T. A., Kosterin S. O., Kalchenko V. I.* Anion carrier formation by calix[4]arene-bis-hydroxymethylphosphonic acid in bilayer membranes // Org. Biomol. Chem. — 2014. — 12. — P. 9811—9821.
25. *Soldatkin O., Nazarova A., Krisanova N., Borysov A., Kucherenko D., Kucherenko I., Pozdnyakova N., Soldatkin A., Borisova T.* Monitoring of the velocity of high-affinity glutamate uptake by isolated brain nerve terminals using amperometric glutamate biosensor // Talanta. — 2015. — 135. — P. 67—74.
26. *Wallace W. T., Taylor L. A., Liu Y., et al.* Lunar dust and lunar simulant activation and monitoring // Meteorit. Planet. Sci. — 2009. — 7. — P. 961—970.

Стаття надійшла до редакції 12.12.2017

*Т. А. Борисова, Н. В. Крысанова, Н. Г. Позднякова,
А. О. Пастухов, А. А. Борисов, М. В. Дударенко,
К. О. Палиенко, О. Я. Шатурский*

Институт биохимии им. А. В. Паладина Национальной академии наук Украины, Киев, Украина

ПРОЕКТ: РАЗРАБОТКА НОВОЙ УНИВЕРСАЛЬНОЙ МЕТОДИКИ ОЦЕНКИ ТОКСИЧНОСТИ ПЛАНЕТАРНОЙ ПЫЛИ ДЛЯ ПЕРСПЕКТИВНЫХ КОСМИЧЕСКИХ МИССИЙ

Пилотируемые внеземные миссии и освоение новых планет требуют оценки риска токсичности планетарной пыли. Подготовка перспективных миссий (особенно ближайшие планы по созданию окололунной станции) требуют скорейшей разработки методологии экспресс-анализа токсичности компонентов окружающей среды. Недавно рабочей группой проекта впервые показано отсутствие существенного нейротоксического влияния симулянта лунной и марсианской пыли, но токсические свойства смеси частиц симулянта марсианской пыли и карбоновых наночастиц. Эти экспериментальные данные опубликованы в работах Pozdnyakova et al., 2017 и

Dunne et al., 2010. Предложенный проект предусматривает разработку новой методологии, алгоритма оценки и оборудования, а также соответствующих моделей, которые могут предусматривать, прогнозировать и определять биобезопасность частиц пыли.

Ключевые слова: пилотируемые внеземные миссии, планетарная и межзвездная пыль, оценки рисков, биобезопасность, токсичность пыли, методики оценки токсичности пыли.

*Т. А. Борисова, Н. В. Крысанова, Н. Г. Позднякова,
А. О. Пастухов, А. А. Борисов, М. В. Дударенко,
К. О. Палиенко, О. Я. Шатурский*

Palladin Institute of Biochemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

PROJECT: DEVELOPMENT OF A NEW METHOD FOR ANALYSIS OF PLANETARY DUST TOXICITY AIMING AT PERSPECTIVE SPACE MISSIONS

The manned extraterrestrial missions and planetary exploration require an assessment of the toxicity of planetary dust. Preparation of perspective space missions (especially Lunar station-related upcoming plans) requires urgent development of a methodology for the rapid assessment of toxicity of environmental compounds. Recently, the working group of the project was the first who showed the absence of significant neurotoxic effects of Lunar and Martian dust simulants, but the toxic properties of a mixture of Martian dust simulant particles and carbon nanoparticles. These experimental data were published in peer-reviewed journals, such as Microgravity Science and Technology (Pozdnyakova et al., 2017) and in the special issue of American Institute of Aeronautics and Astronautics (Dunne et al., 2010). The proposed project involves the development of a new methodology, evaluation algorithm, and equipment, as well as relevant models that can predict and determine the biosecurity of dust particles.

Keywords: manned extraterrestrial missions, planetary and interstellar dust, risk assessment, biosafety, toxicity of dust, method for dust toxicity evaluation.