

Влияние диоксида титана на бактериолитическую активность и собственную флуоресценцию лизоцима

Н.С. Аляхнович¹, А.С. Скоробогатова², А.И. Гончарова¹

¹ Витебский государственный ордена дружбы народов медицинский университет, Витебск, Республика Беларусь

² Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

Titanium dioxide effect on bacteriolytic activity and intrinsic fluorescence of lysozyme

N.S. Aliakhnovich¹, A.S. Skorobogatova², A.I. Goncharova¹

¹ Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Belarus

² Institute of Biophysics and Cell Engineering of NAS, Minsk, Belarus

Аннотация

Оценено влияние белого пигмента диоксида титана (TiO₂) на белок с ферментативной активностью, бактериолитический компонент врожденной системы иммунитета – лизоцим. Изучены эффекты TiO₂ в виде наночастиц, микрочастиц и частиц, применяющихся в пищевой промышленности, в концентрациях 0,001-0,0001 мг/мл, соответствующих средней расчетной суточной дозе потребления и в 10-кратном разведении. Установлено, что меньшая концентрация всех видов частиц TiO₂ (0,0001 мг/мл) действует эффективнее, – через 30 минут значительно снижая, а через 60 минут полностью блокируя собственную флуоресценцию рекомбинантного лизоцима. Частицы TiO₂ трех видов в большей концентрации (0,001 мг/мл) полностью блокируют собственную флуоресценцию рекомбинантного лизоцима через 60 минут, а через 30 минут только микрочастицы вызывают снижение собственной флуоресценции белка. Выявлено ингибирование бактериолитической активности рекомбинантного лизоцима в отношении культуры *K. pneumoniae* под действием наночастиц, микрочастиц и частиц пищевого TiO₂ в концентрациях 0,001-0,0001 мг/мл.

Ключевые слова

Диоксид титана, лизоцим, бактериолитическая активность, собственная флуоресценция.

Введение

Лизоцим (L) – белок, обладающий ферментативной активностью (мурамидаза), бактериолитический компонент врожденной системы иммунитета, иммуномодулятор многостороннего

Summary

The effect of the white pigment titanium dioxide (TiO₂) on the protein enzyme, the bacteriolytic component of the innate immune system, lysozyme, was evaluated. The effects of TiO₂ in the form of nanoparticles, microparticles and particles used in the food industry at concentrations of 0.001-0.0001 mg/ml, corresponding to the calculated average daily intake and 10-fold dilution, were studied. It was found that a lower concentration of TiO₂ (0.0001 mg/ml) of all particles types acts more efficiently, significantly reducing after 30 minutes, and completely blocking the own fluorescence of recombinant lysozyme after 60 minutes. TiO₂ particles of three types at a higher concentration (0.001 mg/ml) completely block the intrinsic fluorescence of recombinant lysozyme after 60 minutes. After 30 minutes only microparticles cause a decrease in the intrinsic protein fluorescence. The inhibition of the bacteriolytic activity of recombinant lysozyme against the culture of *K. pneumoniae* under the action of nanoparticles, microparticles and particles of food TiO₂ at concentrations of 0.001-0.0001 mg/ml was revealed.

Keywords

Titanium dioxide, lysozyme, bacteriolytic activity, intrinsic fluorescence.

действия, регулятор метаболических процессов, встречающийся во всех живых организмах [1]. L определяется в ротовой жидкости и секретах слизистых оболочек, грудном молоке, крови, клетках печени и фагоцитах [2]. Суточное коли-

чество Л, синтезируемого в организме человека, относительно постоянно и составляет около 500 мг, распределяясь между ротовой жидкостью и секретами слизистых оболочек (до 1 мг/мл), плазмой крови (0,004-0,013 мг/мл). В грудном молоке концентрация Л может достигать 0,4 мг/мл [1].

Общепризнанным механизмом антибактериального действия Л является расщепление пептидогликана – основного компонента бактериальной стенки, что изменяет ее проницаемость. Однако бактерицидная активность Л не всегда полностью связана с его мурамидазными свойствами [3]. Л является катионным белком с высоким зарядом, который может разрушать бактерии, формируя поры в отрицательно заряженной бактериальной стенке, как грамположительных (Гр+), так и грамотрицательных (Гр-) бактерий [2]. Как показало исследование с нокаутом генов в районе активного центра Л, а также эксперименты с его нагреванием – при потере ферментативных свойств антибактериальная активность Л сохранялась [4]. Оказалось, что возможен не прямой лизис Гр- бактерий (*E. coli*) после контакта с Л и воздействия детергентов, солей или некоторых аминокислот (глицина, гистидина, лизина, аргинина) без усиления его ферментативной активности в отношении Гр+ *Micrococcus luteus* [5]. Л, секретиремый клетками Панета в кишечнике, напрямую влияет и видоизменяет микробиоту (угнетение лизоцим-чувствительных колоний *Ruminococcus gnavus*, *Blautia gnavus*, *Dorea formicigenerans*, ассоциированных с Болезнью Крона, и уменьшение количества *Candidatus Arthromitus*), регулирует выраженность и тип иммунного ответа на нее через распознавание бактериальных паттернов [6]. Также под действием Л происходит снижение агрегации бактерий, уменьшение их адгезии к эпителию ротовой полости и соответственно более быстрое удаление со слизистой [3].

Иммуномодулирующие эффекты Л обусловлены влиянием продуктов расщепления бактерий на врожденные рецепторы макрофагов (NOD1, NOD2, TLR), а также на формирование инфлам-масы и развитие воспаления.

Одновременно с этим Л способствует угасанию воспалительной реакции путем снижения роста бактерий и уменьшения локальной реакции иммунитета на микроорганизмы [3]. Например, описано воздействие Л на уменьшение неинфекционной боли в горле, путем ингибирования продукции IL-6, TNF-α и IL-1β, и уменьшения привлечения макрофагов в место воспаления [7].

Кроме антибактериального действия Л, в контексте противовирусных эффектов врож-

денных факторов иммунитета (предотвращение заболевания, снижение риска тяжёлых форм), обсуждается влияние Л на ВИЧ-1 (ингибирование прикрепления ВИЧ-1 к CD4⁺ клеткам) [8] и COVID-19 (подавление проникновения вируса из-за связывания с клеточными рецепторами; повреждение вирусной оболочки; подавление слипания клеток под действием вируса; активация NF-κB каскада; связывание нуклеиновых кислот) [9].

Таким образом, Л – один из наиболее важных факторов неспецифической резистентности макроорганизма, отражающий состояние системы фагоцитов и врожденного гуморального иммунитета [10]. Определение содержания и активности Л является простым, недорогим и неинвазивным биомаркером многих заболеваний, позволяющим оценить эффективность терапевтических вмешательств [1].

Диоксид титана (TiO₂) – неорганический минерал, использующийся в промышленности в качестве белого пигмента. 10% из всего получаемого TiO₂ идет на производство добавок (E171) в пищу, лекарственные средства и косметику [10, 11]. TiO₂ входит в топ-5 наиболее часто употребляемых перорально наночастиц (НЧ), которые обладают высокой реактогенностью вследствие запуска окислительного стресса [11, 12]. Этот механизм подтверждается увеличением продукции активных форм кислорода, продуктов окисления и истощением клеточных антиоксидантов после воздействия НЧ [12, 13].

С ростом промышленного производства в последние десятилетия пероральный прием нанотитана представляет собой проблему для здоровья населения. Исследования на грызунах и людях-добровольцах показывают, что после прохождения кишечного барьера TiO₂ достигает кровотока и транспортируется в жизненно важные органы. Если пероральное потребление наноформ TiO₂ постоянное и высокое (расчетное суточное поступление достигает 1-3 мг/кг массы тела), он может накапливаться в тканях и вызывать необратимые повреждения. Существует множество экспериментальных переменных, которые могут повлиять на результаты анализов токсичности при приеме внутрь, но основными из них являются концентрация и реакционная способность НЧ TiO₂ [13].

В результате пересмотра данных крупных и надежных исследований Европейский департамент пищевой безопасности (European Food Safety Authority, EFSA) в 2021 году пришел к выводу, что E171 больше не может считаться безопасным при использовании в качестве пищевой добавки [14]. Несмотря на то, что имеющаяся в литературе

информация недостаточна для установления допустимых пределов поступления TiO_2 , а в ряде исследований побочные эффекты E171 не наблюдались ни при приеме в дозе до 1000 мг/кг массы тела в день, ни при приеме TiO_2 в виде НЧ (>30 нм) вплоть до максимальной протестированной дозы 100 мг/кг массы тела в сутки, нельзя исключить его иммунотоксичность, провоспалительное действие, нейротоксичность и генотоксичность [14].

Цитотоксические эффекты НЧ широко обсуждаются и зависят от дисперсности, размера, формы и заряда. НЧ TiO_2 могут запускать различные формы апоптоза клеток, однако следует учитывать то, что их эффекты могут меняться в биологических средах, вследствие связи с белками и другими компонентами. При прямом взаимодействии НЧ с белками биологических жидкостей человеческого организма (показано на моделях желудочного и кишечного сока, сыворотки и плазмы крови) происходит изменение физических свойств взвеси TiO_2 [15]. «Корона» из белков может предотвращать прямые токсические эффекты НЧ, но интерес представляет воздействие частиц TiO_2 на белки [16].

НЧ изменяли свертывание и агрегацию белков: при адсорбции на Л снижалось количество α -спиралей и его ферментативная активность, при связывании с РНКазой А наблюдалось уменьшение ее термодинамической стабильности [17].

Токсичность НЧ TiO_2 по отношению к сердечно-сосудистой системе с появлением аритмии связывали с повышенной экспрессией воспалительных цитокинов (TNF- α , INF-g и IL-8), а также со снижением активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ), α -гидроксibuтиратдегидрогеназы (альфа-ГБДГ) и креатинкиназы [18].

Таким образом, изучение влияния TiO_2 на белки человеческого организма представляется крайне актуальным и позволяет оценить патологические эффекты пищевого красителя в условиях его постоянного поступления различными путями.

Материалы и методы

1. Исследовали влияние частиц TiO_2 разного размера на параметры собственной флуоресценции раствора рекомбинантного Л (рЛ) человека (0,05 мг/мл).

В работе использовали частицы TiO_2 в концентрации 0,001 и 0,0001 мг/мл, соответствующей средней расчетной суточной дозе потребления и в 10-кратном разведении. Эксперименты проводили с частицами TiO_2 трех видов: коммерческими наночастицами, микрочастицами и частицами,

применяющимися в пищевой промышленности (далее «пищевой TiO_2 »). Суспензии частиц TiO_2 перед каждым использованием в течение 15 минут обрабатывались ультразвуком 40 Гц для снижения вероятности образования крупных комплексов.

Растворы белка и взвесь частиц готовили в фосфатном буфере, pH 7.2.

Свежеприготовленный раствор рЛ V=1 мл вносили в кювету (длина оптического пути кюветы 1 см) и измеряли собственную флуоресценцию при $\lambda_{ex}=256$ нм ($\lambda_{em}=310-450$ нм – нулевая точка) на спектрофлуориметре CM2203 «Солар», Беларусь.

К раствору рЛ добавляли обработанные в УЗ-ванне и на вортекс-миксере частицы TiO_2 и измеряли собственную флуоресценцию при той же длине волны возбуждения. Эксперимент повторялся для каждого типа частиц.

Затем образцы помещали в термостат при 37°C и инкубировали. Через каждые 30 минут определяли собственную флуоресценцию раствора белка.

Для того чтобы избежать вклада флуоресценции самих частиц в полученный результат, отдельно определяли собственную флуоресценцию всех растворов частиц в тех же экспериментальных условиях.

2. Оценивалось влияние частиц TiO_2 на бактериолитическую активность рЛ *in vitro*.

Методика (эффективные концентрации Л, чувствительные культуры микробов) частично заимствована из статьи о сравнении антимикробной и мурамидазной активности мышинового лизоцима М и Р [19].

Наибольшая антибактериальная активность рЛ установлена путем сравнения его влияния на штаммы *Ps. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *C. albicans*, *St. aureus* и *Str. agalacea*.

В дальнейшем все эксперименты ставились на наиболее чувствительной к рЛ культуре *K. pneumoniae* в фазе экспоненциального роста. Музейный штамм выращивался на чашках Петри в течение 16 часов при 37°C и далее разводился до 0,5 единиц по стандарту мутности МакФарланда, что равнялось $1,5 \times 10^8$ колониеобразующих единиц (КОЕ)/мл в 10 мМ стерильном калий-фосфатном буфере (КФБ), pH 7,2 (исходная концентрация).

Бактериолитическая активность рЛ установлена после инкубации в течение 6 часов в термостате при 37°C 20 мкл 0,05 мг/мл (конечная концентрация рЛ 2 мкг/мл) с 500 мкл *K. pneumoniae*, разведенной в 10000-1000000 раз до расчетного количества 15000-15 КОЕ/мл. Параллельно ставились пробы с добавлением частиц TiO_2 (0,001

и 0,0001 мг/мл) и контрольные для каждого вида проб. Пробы ставились в дублях и после 6 часов инкубации переносились на чашки Петри с питательной средой Мюллера-Хинтона. Количественный учет КОЕ проводился на чашках Петри после 24 часов роста в термостате при 37°C.

Результаты

1. Установлено, что все виды частиц TiO_2 в обеих концентрациях снижают собственную флуоресценцию рЛ (рис. 1).

НЧ TiO_2 в концентрации 0,0001 мг/мл уже через 30 минут инкубации полностью подавляли собственную флуоресценцию Л ($I_{фл} \sim 0$ отн. ед.), в сравнении с контрольными измерениями флуоресценции чистого Л ($I_{фл} \sim 350$ отн. ед.). При воздействии на Л наночастицы TiO_2 в концентрации 0,001 мг/мл наблюдался такой же эффект, но только через 60 минут инкубации (рис. 1.1, 1.2).

Микрочастицы в обеих концентрациях значительно снижали собственную флуоресценцию Л через 30 минут ($I_{фл} \sim 100$ отн. ед.), полностью подавляли – через 60 минут ($I_{фл} \sim 0$ отн. ед.) (рис. 1.3, 1.4).

Пищевой TiO_2 в концентрации 0,0001 мг/мл через 30 минут инкубации снижал собственную флуоресценцию Л ($I_{фл} < 200$ отн. ед.), в сравнении с контрольными измерениями флуоресценции чистого Л ($I_{фл} \sim 350$ отн. ед.), а через 60 минут – полностью ингибировал ($I_{фл} \sim 0$ отн. ед.). В концентрации 0,001 мг/мл пищевой TiO_2 значительно снижал собственную флуоресценцию Л ($I_{фл} \sim 50$ отн. ед.) только через 60 минут инкубации, но не через 30 (рис. 1.5, 1.6).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что наночастицы, микрочастицы и частицы пищевого TiO_2 в концентрации 0,0001 мг/мл через 30 минут снижают, а через 60 минут полностью ингибируют собственную флуоресценцию Л.

При повышении концентрации трех видов частиц TiO_2 в 10 раз (0,001 мг/мл) полная блокировка собственной флуоресценции Л происходит лишь через 60 минут, а через 30 минут – снижение под воздействием микрочастиц, но не наночастицы или пищевого TiO_2 .

2. Показано ингибирующее действие TiO_2 на бактериолитическую активность рекомбинантного лизоцима.

Наибольшая антимикробная активность рЛ наблюдалась в отношении *K. pneumoniae*. После 6-часовой инкубации разведенной в 10000 раз исходной микробной взвеси с 2 мкг/мл рЛ происходило

снижение количества КОЕ на 76% с 167 (Кл л-) до 41 (Кл л+). Рост *K. pneumoniae* без 6 часовой инкубации составил 297 КОЕ (Кл.Рн.«-») (рис. 2). Учитывая этот факт, дальнейшие эксперименты проводились с микробной культурой *K. pneumoniae*.

Эксперимент повторили в тех же условиях, но с добавлением в опытные с рЛ и контрольные пробы по 20 мкл 0,01 мг/мл TiO_2 в виде суспензии наночастиц (НЧ), микрочастиц (МЧ) и пищевого (пищ.) (конечная концентрация 0,0004 мг/мл). Результаты количественного учета КОЕ представлены в таблице 1.

Обнаружено значительное ингибирование бактериолитической активности рЛ всеми видами частиц TiO_2 в концентрации 0,0004 мг/мл.

Далее изучалась антимикробная активность рЛ в присутствии различных концентраций НЧ TiO_2 . Для этого разведенную в 10000 раз микробную культуру *K. pneumoniae* инкубировали с рЛ с добавлением или без 50 мкл суспензии НЧ TiO_2 в концентрациях 1,0; 0,1; 0,01 и 0,001 мг/мл (конечная концентрация 0,1; 0,01; 0,001; 0,0001 мг/мл) в тех же условиях. Количественный учет проводился на чашках Петри после 24 часов роста (табл. 2).

Антибактериальная активность рЛ проявилась не полностью (количество КОЕ после инкубации с рЛ снизилось на 21% от контрольных проб). Сделан вывод о том, что рЛ теряет антимикробную активность при хранении в растворе при 4°C ($t_{1/2} = 30$ часов) (табл. 2).

НЧ TiO_2 в концентрациях 0,001 и 0,0001 мг/мл вызывал полное ингибирование противомикробной активности рЛ. На чашках «рЛ* + TiO_2 0,001» происходило увеличение количества КОЕ на 57% с зонами сплошного роста (ЗСР); на чашках «рЛ* + TiO_2 0,0001» – на 33% с ЗСР, по сравнению с рЛ (табл. 2).

Добавление НЧ TiO_2 в концентрации 0,01 мг/мл к пробам с *K. pneumoniae* не угнетало их рост (табл. 2).

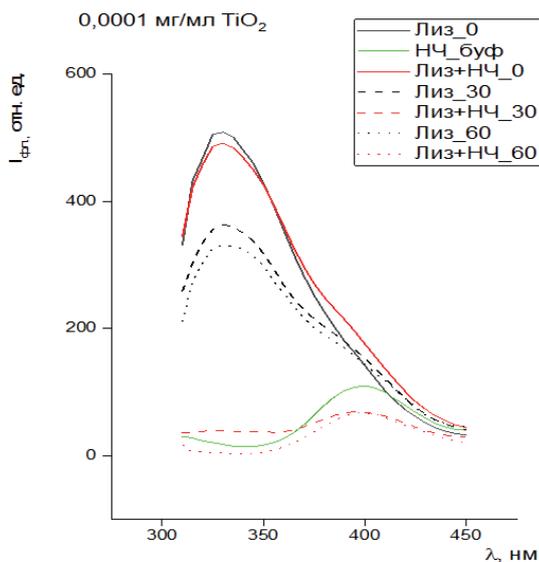
Эксперимент повторили в дублях со свежеприготовленным рЛ и с НЧ TiO_2 в наиболее эффективных концентрациях, соответствующих средним расчетным суточным дозам употребления.

Пробы ставили в дублях и смешивали компоненты по схеме (табл. 3).

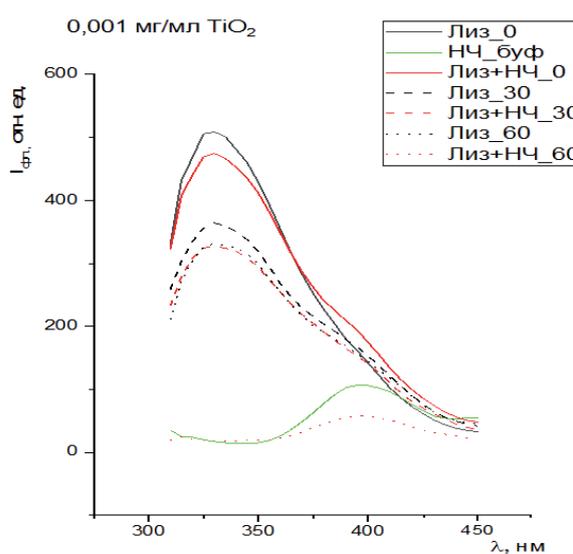
Все пробы перемешивали на вортекс-миксере и оставляли в термостате при 37°C на 15 минут, после чего добавляли к 500 мкл разведенной в 1000000 раз *K. pneumoniae*, встряхивали и оставляли в термостате на 6 часов. После инкубации переносили на чашки Петри. Количественный учет проводился подсчетом КОЕ после 24 часов роста (табл. 4).

Рекомбинантный лизоцим ингибировал рост бактерий *K. pneumoniae* на 61%, уменьшая число КОЕ с 27 до 11 ($Chi-Square = 21,74841$ $df = 1$

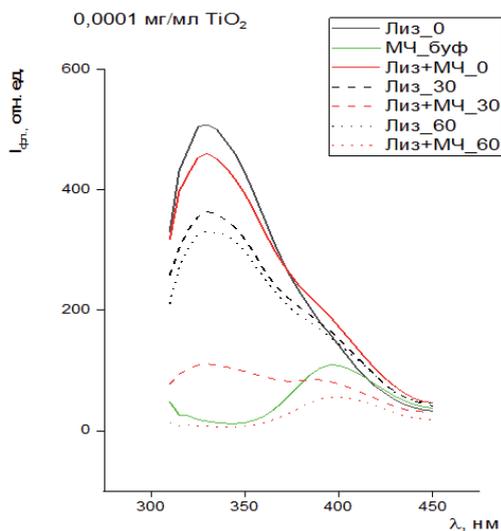
1.1



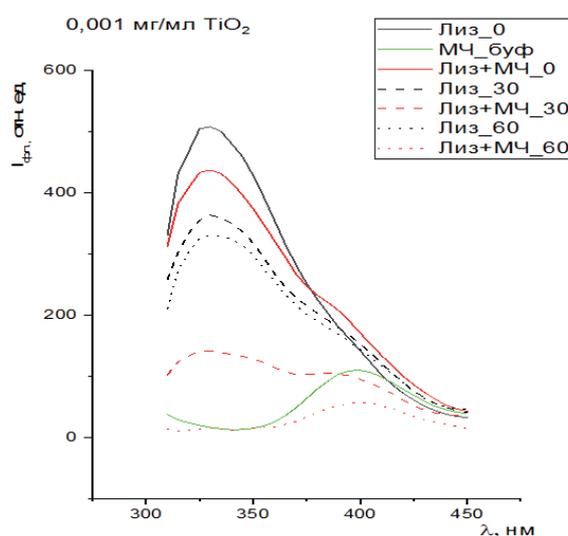
1.2



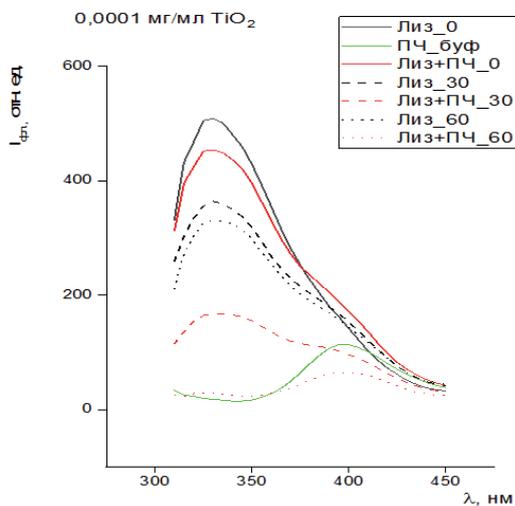
1.3



1.4



1.5



1.6

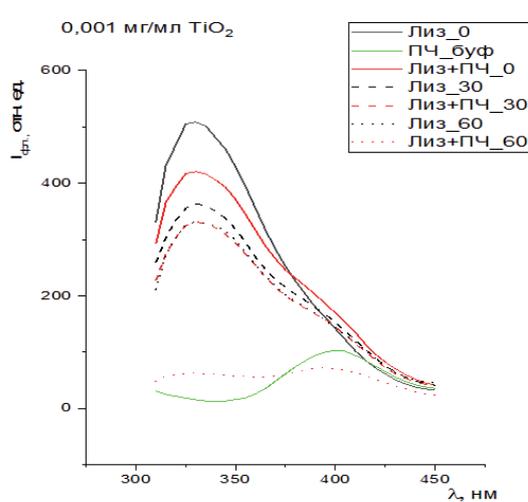


Рис. 1. Изменение собственной флуоресценции лизоцима под действием TiO_2

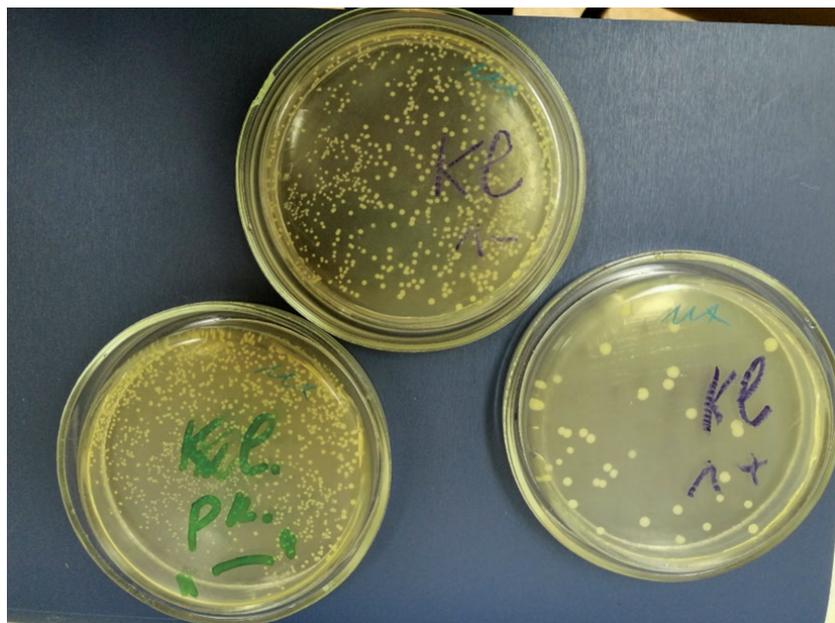


Рис. 2. Антимикробное действие рекомбинантного лизоцима на *K. pneumoniae*

Таблица 1. Антибактериальная активность рекомбинантного лизоцима в присутствии различных форм диоксида титана (0,0004 мг/мл)

Проба	Контроль	Лизоцим	Лизоцим TiO ₂ НЧ	Лизоцим TiO ₂ МЧ	Лизоцим TiO ₂ пищ.	Контроль TiO ₂ НЧ
КОЕ	575	0	232	455	322	572

Таблица 2. Антибактериальная активность рекомбинантного лизоцима в присутствии наночастиц диоксида титана в диапазоне концентраций 0,1-0,0001 мг/мл

Проба	контроль	рЛ*	рЛ* +TiO ₂ 0,1	рЛ* +TiO ₂ 0,01	рЛ* +TiO ₂ 0,001	рЛ* +TiO ₂ 0,0001	TiO ₂ 0,01
КОЕ	255 и зоны сплошного роста (ЗСР)	202	234	191	468 и ЗСР	270 и ЗСР	345 и ЗСР

Примечание: * – до эксперимента раствор лизоцима хранился в холодильнике 3 суток; ЗСР – зоны сплошного роста.

Таблица 3. Схема постановки эксперимента

	Контроль	рЛ	рЛ + TiO ₂ 0,001	рЛ+ TiO ₂ 0,0001	TiO ₂ 0,001	TiO ₂ 0,0001
рЛ 0,05, мкл	–	20	20	20	–	–
TiO ₂ 0,001, мкл	–	–	20	–	20	–
TiO ₂ 0,0001, мкл	–	–	–	20	–	20
КФБ, мкл	60	40	20	20	40	40

Таблица 4. Бактериолитическая активность рекомбинантного лизоцима в присутствии наночастиц титана диоксида в диапазоне концентраций 0,001 и 0,0001 мг/мл

Проба	контроль	рЛ	рЛ + TiO ₂ 0,001	рЛ + TiO ₂ 0,0001	TiO ₂ 0,001	TiO ₂ 0,0001
КОЕ	(11+43)/2=27	(8+13)/2=10,5	(35+62)/2 =48,5	(75+41)/2=58	1104	228

$p=0,000003$). Добавление НЧ диоксида титана в концентрациях 0,001 и 0,0001 мг/мл вызывало полную блокаду противомикробного действия лизоцима и способствовало росту колоний *K. pneumoniae*, по сравнению с контролем +80% и +115% соответственно (Chi-Square=275,8173 df=1 $p=0,000000$; Chi-Square=621,4327 df=1 $p=0,000000$).

На чашках с добавлением только НЧ TiO_2 0,001 мг/мл происходило увеличение количества *K. pneumoniae* в 40 раз, с 0,0001 мг/мл НЧ TiO_2 в 8 раз по сравнению с контролем.

Выводы

1. Установлено, что наночастицы, микрочастицы и частицы пищевого TiO_2 в концентрациях 0,001-0,0001 мг/мл ингибируют собственную флуоресценцию рекомбинантного лизоцима.

Меньшая концентрация TiO_2 (0,0001 мг/мл) всех видов частиц действует эффективнее, – через 30 минут значительно снижая, а через 60 минут полностью блокируя собственную флуоресценцию рекомбинантного лизоцима. При повышении концентрации трех видов частиц TiO_2 в 10 раз (0,001 мг/мл) полная блокировка собственной флуоресценции рекомбинантного лизоцима происходит через 60 минут, а через 30 минут – снижение флуоресценции наблюдается только под воздействием микрочастиц, но не наночастиц или пищевого TiO_2 .

2. Выявлено снижение бактериолитической активности рекомбинантного лизоцима в отношении культуры *K. pneumoniae* под действием наночастиц, микрочастиц и частиц пищевого TiO_2 в концентрациях 0,001-0,0001 мг/мл.

Литература

1. Овсянников В.Г., Торопкина Ю.Е., Краскевич В.В. и др. Лизоцим – грани возможного. Современные проблемы науки и образования. 2020; №3.
2. Nancy J.L., Greg R. Bactericidal Activity of Human Lysozyme, Muramidase-Inactive Lysozyme, and Cationic Polypeptides against *Streptococcus sanguis* and *Streptococcus faecalis*: Inhibition by Chitin Oligosaccharides, 1984.
3. Ragland S.A., Criss A.K. From bacterial killing to immune modulation: Recent insights into the functions of lysozyme, 2017.
4. Levashov P.A. The bacteriolytic activity of native and covalently immobilized lysozyme against Gram-positive and Gram-negative bacteria is differentially affected by charged amino acids and glycine, 2019.
5. Yu S., Balasubramanian I., Laubitz D. et al. Paneth Cell-Derived Lysozyme Defines the Composition of Mucolytic Microbiota and the Inflammatory Tone of the Intestine. *Immunity* 2020; 53: 398–416. doi: 10.1016/j.immuni.2020.07.010.
6. Glamočlija U., Mehić M., Šukalo A. et al. Lysozyme in the treatment of non-infectious sore throat. *Bosn J Basic Med Sci.* 2020;20(2):281-282. doi: 10.17305/bjbm.2019.4619.
7. Behbahani M., Nosrati M., Mohabatkar H. Inhibition of human immunodeficiency type 1 virus (HIV-1) life cycle by different egg white lysozymes. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2018;185:786–798. doi: 10.1007/s12010-017-2678-y.
8. Mann J.K., Ndung'u T. The potential of lactoferrin, ovotransferrin and lysozyme as antiviral and immunomodulating agents in COVID-19. *Future Virology.* 2020; 15 (9): 609-624. doi: 10.2217/fvl-2020-0170.
9. Гончарова А.И., Окулич В.К., Земко В.Ю. и др. Анти-микробная активность лизоцима как фактор неспецифической резистентности. *Вестник ВГМУ.* 2019; Т. 18, №4: 40-45.
10. Hong F, Yu X., Wu N. et al. Progress of in vivo studies on the systemic toxicities induced by titanium dioxide nanoparticles. *Toxicol Res.* 2017;6:115–133. doi: 10.1039/c6tx00338a.
11. Аляхнович Н.С., Новиков Д.К. Красители в лекарствах и пищевых продуктах – потенциальные иммуномодуляторы. *Медицинская Иммунология.* 2019; Т. 21, №2: 312-322. doi: 10.15789/1563-0625-2019-2-313-322.
12. Shabbir S., Kulyar M.Fe.A., Bhutta Z.A. et al. Toxicological Consequences of Titanium Dioxide Nanoparticles (TiO_2NPs) and Their Jeopardy to Human Population. *BioNanoSci.* 2021; 11: 621–632. doi: 10.1007/s12668-021-00836-3.
13. Racovita A.D. Titanium Dioxide: Structure, Impact, and Toxicity. *Int J Environ Res Public Health.* 2022;19(9):5681. doi: 10.3390/ijerph19095681.
14. Younes M., Aquilina G., Castle L. et al. EFSA FAF Panel (EFSA Panel on Food Additives and Flavourings). Scientific Opinion on the safety assessment of titanium dioxide (E171) as a food additive. *EFSA Journal.* 2021;19(5):6585. doi: 10.2903/j.efsa.2021.6585.
15. Mohammadinejad R., Moosavi M.A., Tavako S. et al. Necrotic, apoptotic and autophagic cell fates triggered by nanoparticles. *Autophagy.* 2019; 15, 1: 4-33. doi: 10.1080/15548627.2018.1509171.
16. Аляхнович Н.С., Новиков Д.К. Взаимодействие диоксида титана с биологическими средами организма. *Иммунопатология, аллергология, инфектология.* 2016; №1: 37-42. doi: 10.14427/jipai.2016.1.37.
17. Fei L., Perrett, S. Effect of Nanoparticles on Protein Folding and Fibrillogenesis. *Int J Molec. Scienc.* 2009; №10 (2): 646-655.
18. Baranowska-Wójcik E., Szwajgier D., Oleszczuk P. et al. Effects of Titanium Dioxide Nanoparticles Exposure on Human Health-a Review. *Biol Trace Elem Res.* 2020;193(1):118-129. doi: 10.1007/s12011-019-01706-6.
19. Markart P., Faust N., Graf T. et al. Comparison of the microbicidal and muramidase activities of mouse lysozyme M and P. *Biochem J.* 2004 Jun 1;380(Pt 2):385-392. doi: 10.1042/BJ20031810. PMID: 14977423; PMCID: PMC1224176.

Сведения об авторах

Аляхнович Н.С. - к.м.н., доцент кафедры клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК Витебского государственного медицинского университета.
Скоробогатова А.С. - к.б.н., ученый секретарь Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси.
Гончарова А.И. - к.м.н., доцент кафедры челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии с курсом ФПК и ПК ВГМУ.

Поступила 20.04.2022 г.