

## ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ПРОЯВЛЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ НАНОМАТЕРИАЛОВ

Н.С. Леоненко\*, О.Б. Леоненко

Государственное учреждение “Институт медицины труда имени Ю.И. Кундиева Национальной академии медицинских наук Украины”, Киев, Украина

\*Corresponding author: taliya@meta.ua

Received 24 January 2020; Accepted 2 March 2020

**Проблематика.** Развитие новых технологий направленного синтеза и использования наночастиц и наноматериалов, свойства которых радикально отличаются от таковых у традиционных материалов и связаны с особенностями их размерности, а также с сочетанием и диапазоном варибельности физико-химических свойств, параметров, характеристик наночастиц и поверхности их покрытия, процедур и манипуляций при проведении исследований, может привести к возникновению абсолютно разных эффектов и рисков.

**Цель.** Анализ на основе литературных данных значимости размерно-структурных факторов и их сочетаний в проявлении токсичности и опасности наноматериалов.

**Методика реализации.** Анализ и систематизация научных данных, посвященных оценке особенностей проявления токсичности и опасности наноматериалов, за последние 20 лет.

**Результаты.** Переход веществ в наноразмерное состояние делает их химически более активными: чем меньше размер наночастиц, тем сильнее проявляемое ими действие по сравнению с эквивалентными количествами данного вещества в традиционной макроформе. При контакте с биологической средой их поверхность покрывается белками. При попадании в организм они могут подвергаться агрегации, диссоциации или модификации. Процедуры и манипуляции при проведении исследований также могут оказывать влияние на свойства, а следовательно, и на токсичность наночастиц. Большинство наночастиц нестабильны в дисперсии, склонны к агрегации и седиментации, что существенно влияет на процесс поглощения наночастиц и их токсичность.

**Выводы.** Токсичность и опасность наночастиц и наноматериалов зависят от множества факторов и их сочетаний. Сложность оценки воздействия наноструктур определяется диапазоном варибельности свойств, параметров, химических, геометрических и физико-химических характеристик, размера, поверхности наночастиц. Перспективными являются усовершенствование и разработка новых подходов выявления опасности наноразмерных объектов.

**Ключевые слова:** наноматериалы; наночастицы; токсическое действие; опасность.

### Введение

В настоящее время большая часть человечества в той или иной мере подвержена воздействию различных химических веществ. Известно около 100 млн синтетических химических соединений, из которых 120 тысяч находятся в постоянном использовании. Большое количество разнообразных химических веществ негативным образом воздействуют на здоровье человека [1]. С началом XXI века стали развиваться новые технологии направленного синтеза наночастиц (НЧ) и наноматериалов (НМ), которые несут дополнительную нагрузку на окружающую среду и человека [2], причем свойства этих объектов, как химические, так и биологическое действие, радикально отличаются от таковых у традиционных материалов и могут представлять своеобразную опасность как

для живых объектов, так и для окружающей среды. Переход от макроразмеров к наноразмерам приводит к появлению качественных изменений в физико-химических свойствах отдельных соединений и получаемых на их основе системах, которые связаны с изменением расстояния между энергетическими уровнями электронов [3–5]. У наночастиц появляются так называемые квантовые размерные эффекты, что является основным отличием и одним из определяющих факторов свойств и токсического действия НЧ [6–8].

*Наноразмерные объекты* занимают промежуточное положение между объемными материалами и атомами (или молекулами) [5]. Присутствие таких объектов в материалах придает им новые физические и химические (оптические, каталитические, механические, магнитные, термические и электрические) свойства.

Ожидается, что при этом могут изменяться температуры кипения и плавления, летучесть и растворимость компонентов наноконструкций, следовательно, будет изменяться биологическая активность [9]. Последняя пропорционально повышается с ростом удельной поверхности НЧ, а удельный заряд частиц может сильно влиять на реакционную способность, каталитическую активность, физико-химические свойства (летучесть, растворимость, устойчивость наносистем). Изменение свойств при изменении размера материалов, в первую очередь – увеличение соотношения “площадь поверхности/объем”, означает, что их химическая и физиологическая активность будет в значительной степени отличаться от таковой в конденсированном, “компактном” состоянии.

Биологические молекулы, полимеры и внутриклеточные структуры также наноразмерны, однако их свойства (функции) определяются в основном структурой, а не размерностью [8, 10]. Многочисленными экспериментальными исследованиями установлено, что при взаимодействии НЧ с биообъектами важными факторами проявления их биологического действия являются размер, позволяющий проникать через внешние и внутренние барьеры организма [11], высокая реакционная способность поверхности, форма, величина доз, а также гетерогенность структуры, химический состав фаз НЧ, распределение их по размерам и формам, поверхностный заряд [9]. Все эти факторы крайне важны для описания биологического действия НМ и возможности их биотехнологического использования. От всей совокупности геометрических, химических, физико-химических характеристик, а также множества других факторов и их сочетаний зависят такие важные свойства наночастиц/наноматериалов, как способность к проникновению в ткани и клетки, механизм действия, внутриклеточная локализация, биосовместимость, скорость биодеградации и токсичность.

*Целью* работы является анализ на основе литературных данных значимости размерно-структурных факторов и их сочетаний в проявлении токсичности и опасности наноматериалов.

#### **Изменение биологической активности и токсичности при переходе веществ в наноразмерное состояние**

Согласно литературным данным за последние 20 лет установлено, что переход веществ в

наноразмерное состояние делает их химически более активными вследствие увеличения суммарной площади поверхности. Как результат, малотоксичное вещество превращается в опасное [12, 13]. В зависимости от размера НЧ могут изменяться их физико-химические свойства, а токсичность НЧ значительно отличается от таковой для микронных и более крупных частиц того же химического состава. Так, для микронных частиц Cu (17 мкм) при пероральном введении их доза ЛД<sub>50</sub> для мышей составляла 5000 мг/кг, а для НЧ (23,5 нм) она уменьшалась в 10 раз и была всего 413 мг/кг [14, 15]. ЛД<sub>50</sub> нанодисперсного SiO<sub>2</sub> составляла 4638 мг/кг, а микродисперсного – более 10000 мг/кг [16]. Определение среднесмертельных доз имеет значение для порошковых наночастиц, а суспензионные концентраты содержат обычно сотые или, максимум, десятые доли процента, что ограничивает допустимую величину объема для введения животным. Также необходимо проверять размерность НЧ при их разведении, дабы избежать агломерации за счет недостаточности стабилизатора.

Наноматериалы не всегда демонстрируют такие же эффекты, что и объемные материалы, из которых они были получены. Например, инертный в обычной форме оксид железа при его преобразовании в наночастицы приобретает выраженные нейротоксические свойства [17, 18]. НЧ Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> размером 22 нм вызывали у крыс гиперемию, гиперплазию, фиброз легочной ткани и нарушение системы свертывания крови при ингаляционном поступлении, в то время как частицы размером больше 280 нм были нетоксичными в тех же условиях [19, 20].

При сравнительной оценке токсичности частиц нано- и микрометрового размеров установлено, что первые преимущественно оказывают более выраженные повреждающие эффекты. Такая зависимость выявлена при сравнительных исследованиях Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> нанометрового (10 и 50 нм) и микрометрового диапазонов [20], Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> со средними диаметрами 10, 50 нм и 1 мкм, золота (4 или 50 нм), серебра (4, 49 нм или 1,1 мкм) [21], серебра в наноразмерном состоянии 5–50 нм [22], серебра сферической формы размером 30–50 нм по сравнению с макроформами [23], никеля оксида NiO (30 нм) и марганца оксида Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (32 нм), а также меди оксида CuO (20 и 340 нм) [21, 24], НЧ TiO<sub>2</sub> размером 20–30 нм по сравнению с частицами 200–250 нм [25–27], НЧ SiO<sub>2</sub> размером 70 нм по сравнению с микрометровыми аналогами [28]. Причем чем

меньше был размер НЧ, тем сильнее было проявляемое ими токсическое действие.

На токсичность углеродных нанотрубок влиял такой размерный фактор, как диаметр трубки. Было установлено, что существенную цитотоксичность имели нанотрубки диаметром 1,4 нм по сравнению с трубками диаметром 10–20 нм [29].

Проведенные исследования бионакопления и морфофункциональных нарушений при различных условиях экспозиции наноразмерных оксида марганца (15–29 нм) и никеля (17–45 нм) [30] сравнивались с результатами, выявленными при действии микроразмерных (в 300–1300 раз больше) аналогов. Установлено, что металлсодержащие НЧ при внутрижелудочной и ингаляционной экспозиции отличались более высокой (в 14–39 раз) проникающей способностью и низкой эффективностью выведения из организма по сравнению с макрочастицами. Также при действии НЧ дозозависимые повреждения выявлены в головном мозге, печени, селезенке, легких. Морфологических изменений в системе кровообращения, макрофагальной и лимфатической системах, а также в ткани печени, головного мозга и сердца не выявлено при действии микроразмерных аналогов, что подтверждает большую повреждающую способность металлсодержащих НЧ и зависимость степени выраженности патологического процесса от размера частиц.

В большинстве случаев чем меньше был размер НЧ, тем сильнее было проявляемое ими действие по сравнению с эквивалентными количествами данного вещества в традиционной макроформе [13]. Хотя такая зависимость может быть не однозначной. Например, это выявлено при оценке частиц на основе Zn. В частности, по отношению к почечной дисфункции микрочастицы Zn оказались токсичнее, а нарушения системы свертывания крови были более выраженными при действии НЧ Zn [31]. Предполагают, что причиной этого может быть упрочнение поверхностной оксидной пленки на металле с уменьшением размера частиц. В других же случаях понижение активности НЧ за счет естественной поверхностной пленки может быть недостаточным для предотвращения их токсического действия [32].

#### **Факторы и механизмы повреждающего действия наноматериалов**

В определении и предсказании токсичности нанообъектов существенным фактором яв-

ляется их форма. Фуллерены, нанотрубки, НЧ металлов и их оксидов, НМ с нерегулярной или дефектной структурой оказались токсичными объектами [33]. Установлено, что цитотоксичность частиц разной формы в ряду “сферические, чешуйчатые, дендритные, веретенообразные” возрастает [34]. В зависимости от соотношения длина/диаметр углеродных нанотрубок частицы могут проявлять свойства как НЧ, так и волокнистых микроструктур. За счет механического воздействия, характерного для волокнистых структур, значительно усиливается токсичность нанотрубок. Мельчайшие НЧ веретенообразной формы вызывают большее повреждение в организме, нежели подобные им частицы сферической формы. НЧ  $\text{TiO}_2$  в форме нанотрубок длиной 10 мкм повышали скорость образования тромба в цельной крови намного сильнее, чем  $\text{TiO}_2$  в нанокристаллической форме [35, 36]. Токсичность и опасность многостенных нанотрубок зависит от их длины и жесткости, что может привести к местным воспалительным реакциям, а при длительном воздействии вызвать развитие раковой опухоли [37]. Также, согласно данным литературы, НЧ серебра в форме нанопластин были более токсичны, нежели сферы и нанопроволоки [38], а наностержни оксида железа – более опасны, чем сферические частицы [39]. Таким образом, геометрические характеристики НЧ, в т.ч. форма, как и размеры, являются одними из важных детерминант токсичности, которые следует учитывать при оценке их опасности. При этом не существует закономерностей относительно их влияния на токсические свойства НЧ, поэтому эти взаимосвязи следует устанавливать отдельно в каждом конкретном случае.

Все физико-химические свойства веществ, в т.ч. и НЧ, определяются элементарным и фазовым составом. Эта зависимость лишь в большей или меньшей степени изменяется с уменьшением размеров и касается их химической, каталитической и биологической активности [17]. Как и в традиционной токсикологии, химическая природа НМ является важным фактором при определении их токсичности. При сравнительном изучении токсичности НЧ  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{SiO}_2$  и Co на эпителиальных клетках кожи человека выявлено воспаление, однако токсичность  $\text{SiO}_2$  и Co была большей по сравнению с токсичностью частиц  $\text{TiO}_2$ . Наноразмерные частицы серебра оказывали наиболее выраженное общетоксическое и раздражающее действие как на моделях *in vivo*, так и на моделях *in vitro* по

сравнению с НЧ цинка и титана диоксида [40]. При изучении влияния наночастиц Al и Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> на жизнеспособность и фагоцитоз клеток [40] обнаружено, что при одной и той же концентрации (100–250 мкг/мл) заметно снижалась жизнеспособность клеток при воздействии НЧ Al и, в меньшей степени, при воздействии Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. При повторном (21 день) введении НЧ TiO<sub>2</sub>, ZnO, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> наиболее выраженные изменения исследованных показателей окислительного стресса и гистологических изменений в различных органах у мышей отмечались при воздействии ZnO по сравнению с Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> и TiO<sub>2</sub> [41].

Квантовые точки различного химического состава и размера, содержащие такие металлы как кадмий, свинец, селен (Cd, Pb, Se, Te), опасны для человека даже в очень низких концентрациях [42, 43].

К важным факторам токсичности НЧ относится также их структура. Высокая удельная поверхность достигается как за счет уменьшения размера частиц, так и за счет увеличения пористости материала. А высокая пористость при одинаковой площади поверхности может приводить к уменьшению биоактивности, так как поверхность в порах может быть недоступна для контакта с клеточными структурами, а проникновение молекул в поры замедляется. С другой стороны, решающее значение будут иметь линейный размер пор и наличие дефектов, так называемых “концентраторов напряжений”.

Еще одним важным свойством НЧ может быть значительная кривизна их поверхности, которая в сочетании с трансформацией топологии связи атомов на поверхности ведет к существенному усилению растворимости, реакционной способности и иных физико-химических свойств [18, 44]. За счет повышенной адсорбции ими других ксенобиотиков резко расширяются возможности транспорта последних внутрь клеток и клеточных органелл, что нарушает биологические функции последних. При этом НЧ не распознаются защитными системами организма. В частности, фуллерены, как и другие НЧ, способны проникать через липидные мембраны, модулировать транспорт ионов и преодолевать гематоэнцефалический барьер организма, а также переносить токсичные соединения в виде иммобилизованных комплексов. Исследованиями *in vitro* установлена зависимость биологического действия фуллеренов от состояния их поверхности. Выявлено, что их водо- и жирорастворимые производные предотвращают окисление биосубстратов более

эффективно, чем витамин E [45]. Модифицированные фуллерены и гидроксофуллерены подавляют образование гидроксилрадикалов. Вместе с тем фуллерены и их производные оказывают проокислительное и токсическое действие на бактерии, водоросли и рыб. Большая удельная поверхность НМ обуславливает повышение химического потенциала веществ в ультрадисперсной форме, что может способствовать увеличению растворимости и реакционной способности их в составе НМ и тем самым приводит к увеличению токсичности [45, 46].

Одним из самых важных параметров токсического действия чужеродных веществ в макросостоянии при попадании в живые организмы является их удельное массовое содержание. Токсичность же НЧ имеет сложную зависимость от концентраций и доз [17]. Например, в опытах на культуре клеток бронхоальвеолярной карциномы человека, цитотоксическое действие НЧ SiO<sub>2</sub> (15 и 46 нм) усиливалось при увеличении доз в интервале 10–100 мкг/мл [47]. При исследовании частиц TiO<sub>2</sub> размером 12–250 нм обнаружено снижение воспалительного эффекта при увеличении их дозы. Это объяснили тем, что при большей дозе только 50 % вдыхаемых НЧ преодолевают легочный барьер и достигают интерстиция.

В проявлении токсических свойств НЧ важную роль играет растворимость в жидкостях: чем выше растворимость материала, тем выше среднесмертельная доза (ЛД<sub>50</sub>).

Так, малорастворимый фуллерен C<sub>60</sub> токсичен при концентрации 0,02 части на миллион, более растворимый C<sub>60</sub>(OH)<sub>24</sub> был токсичен при концентрациях выше 5000 частей на миллион [46, 48]. Однако результаты исследований токсикологической роли растворения НЧ неоднозначны [49, 50]. Наибольшее количество работ в этом плане проведено с НЧ серебра. Некоторые исследователи предполагают, что цитотоксичность НЧ серебра не зависит от концентрации ионов серебра и обусловлена главным образом окислительным стрессом [51]. Тем не менее другими исследованиями выявлено, что механизм токсичности НЧ серебра во многом объясняется наличием ионов серебра [52]. Несмотря на то что в настоящее время большое количество исследований посвящается изучению химических превращений НЧ серебра в биологических средах, точные механизмы преобразования его внутри клеток по-прежнему не установлены. Предполагается, что растворение на наноуровне зависит от концентрации НЧ.

Скорость растворения выше для более низких концентраций НЧ. При более высоких концентрациях ключевые факторы, влияющие на растворение, такие как доступ кислорода и присутствие протонов (рН), могут быть истощены, и высокие концентрации растворенного серебра и лигандов, ингибирующие поверхностные реакции, тормозят растворение [53].

В проявлении токсичности НЧ существенным может быть ионное высвобождение. НЧ серебра состоят из элементарного серебра, которое не растворимо и не активно в чистой воде, но растворимо в кислых растворах (например, азотной кислоты) [49]. Поверхностное окисление НЧ серебра приводит к образованию высокореакционного ионного серебра, которое как адсорбируется на поверхности НЧ, так и высвобождается в окружающую среду. Поэтому коллоидные суспензии из НЧ серебра содержат по меньшей мере три формы серебра: НЧ серебра, растворенное серебро (как ионное серебро, так и растворимые серебряные комплексы) и ионное серебро, адсорбированное на поверхности НЧ [53]. На скорость высвобождения ионов серебра влияет размер НЧ. Чем меньше НЧ, тем выше скорость ионного высвобождения. Однако чем меньше размер НЧ, тем больше площадь их поверхности. Следовательно, площадь поверхности управляет скоростью высвобождения ионов серебра. Кроме того, площадь поверхности НЧ влияет на скорость их растворения.

Несмотря на многочисленность таких работ, все еще остается неопределенным, по какому механизму (механизмам) и в какой степени ионы серебра играют роль в сереброопосредованной токсичности НЧ. Кроме того, существуют исследования, свидетельствующие о том, что НЧ серебра могут влиять на клетки и более сложным способом [54]. Окислительное растворение является сложной химической реакцией, зависящей от рН, покрытия, температуры и присутствия лигандов в окружающей жидкости [55, 56]. Была показана зависимость скорости растворения от типа поверхностного покрытия наночастиц серебра и температуры. Скорость растворения и конечная степень растворения были выше для поливинилпирролидон-покрытых наночастиц серебра по сравнению с цитрат-покрытыми. Увеличение температуры приводило к увеличению растворения [56]. Другими исследованиями установлено, что присутствие цистеина или бычьего сывороточного альбумина усиливает растворение НЧ серебра [55, 57].

По мнению некоторых авторов, наиболее существенным свойством, детерминирующим специфику токсического действия НЧ, может быть их чрезвычайная стабильность в биосубстратах [17]. В силу данного свойства они практически не подвержены биотрансформации и не элиминируются из клеток, вызывая в них деструктивные процессы.

В некоторых исследованиях число НЧ было наилучшим показателем величины воздействия, в то же время как в других исследованиях степень токсичности была связана с количеством функциональных групп на поверхности НЧ.

На свойства и проявление токсичности существенное влияние может оказывать функционализация НЧ – изменение химической природы, например поверхности нанротрубок, при использовании поверхностно-активных веществ. Самые распространенные функциональные группы – ОН и СООН, реже используются  $\text{NH}_2$  и др.

В организме НЧ могут быть подвержены биомодификации за счет реакций в первую очередь с белками, а также терять атомы, что может привести к изменению их реактивности [48]. Поэтому высокая реакционная способность НЧ требует покрытия их стабилизаторами для сохранения активности. Для обеспечения стабильности НЧ часто используют поверхностное покрытие, препятствующее их агрегации и тем самым продлению периода их жизни в живом организме [58, 59]. Считается, что поверхность покрытия НЧ имеет решающее значение для определения их свойств. В частности, поверхностью покрытия можно регулировать стабильность, растворимость и адресность. Покрытие, которое является многовалентным или полимерным, дает высокую стабильность. В научной литературе существуют разрозненные, а то и противоположные результаты изучения влияния поверхностного покрытия на токсичность НЧ. Так, установлено [60], что НЧ без покрытия агрегируют с образованием кластеров, которые затрудняют их проникновение в клетки и клеточные органеллы. Покрытые же полисахаридом гуммиарабиком НЧ серебра проникают внутрь клеток и вызывают более тяжелые нарушения [60, 61]. Вместе с тем покрытие НЧ серебра поливинилпирролидоном снижает их токсичность, так как защищает эукариотические клетки от прямого токсического воздействия ионов серебра, в то время как НЧ без полимерного покрытия проявляют большую токсичность к эукариотическим клеткам [61]. Эмульсии становятся устойчивыми при покры-

тии поверхности их каплевым слоем стабилизатора не менее чем на 60 %.

Кроме того, поверхностные покрытия способны создавать различные поверхностные заряды у одних и тех же НЧ, что сказывается на проявляемой ими токсичности. Так, положительно заряженные НЧ серебра, покрытые поли(диаллилдиметиламмония) хлоридом, проявили наибольшую токсичность для мышинной макрофагальной линии RAW-264.7 по сравнению с отрицательно заряженными НЧ [62]. Частицы золота с положительно заряженной поверхностью (катионные наночастицы) умеренно токсичны, а анионные – не токсичны по отношению к микроорганизмам. Серебряные НЧ (20 нм) с покрытием из пептида являются более цитотоксичными, чем покрытые цитратом [63]. Заряд частиц влияет и на скорость проникновения их через барьерные структуры организма: отрицательно заряженные НЧ диффундируют через муциновый слой слизистых поверхностей дыхательных путей и кишечника в 20–30 раз быстрее, чем аналогичные положительно заряженные частицы [35, 64].

В других работах [62, 64, 65] обнаружено, что токсичность НЧ серебра не зависела от заряда поверхности. Авторы пришли к выводу, что токсичность обусловлена главным образом растворением НЧ серебра за счет поверхностного покрытия [65]. Последнее и поверхностный заряд влияют на биодоступность НЧ серебра и их взаимодействие с клеточными системами. Однако сложность поверхностной химии НЧ серебра заключается в том, что при контакте с биологической средой их поверхность немедленно покрывается белками. Формирование белковой короны на поверхности НЧ придает новую “биологическую идентичность” частицам в биологической среде, которая определяет последующие клеточные и тканевые ответы. Поверхность НЧ в биологических средах при попадании в живой организм полностью отличается от исходной нетронутой поверхности НЧ [66]. Формирование белковой короны представляет собой динамичный, конкурентный процесс, в результате которого образуются два слоя: “жесткая корона” (относительно неподвижный слой, состоящий из белков с более высоким сродством) и “мягкая корона” (слабосвязанный слой, строение которого менее изучено) [67, 68]. Состав и толщина белковой короны зависят от формы НЧ. Различное соотношение формы НЧ/белок создает трудности в экстраполяции результатов *in vitro*

и *in vivo*. В случае сферических НЧ серебра (16 нм) было обнаружено пять белков (серотрансферрин, сывороточный альбумин, альфа-фетопротеин, кининоген-1 и фибриноген  $\alpha$ -цепи), связанных с жесткой короной после одного часа инкубации в присутствии фетальной бычьей сыворотки [50]. Однако вопрос о динамике короны НЧ серебра в ответ на изменение концентрации белков, времени инкубации, размера НЧ и их поверхности покрытия остается открытым.

### **Зависимость токсичности наноматериалов от путей поступления в организм, концентраций, доз, времени воздействия, биотрансформации**

Следует учитывать, что для НЧ также характерна функциональная зависимость уровня токсичности от путей поступления в организм, концентрации, дозы и времени воздействия, как и для химических веществ не наноразмерных величин [17].

Имеется несколько возможных первичных и вторичных путей воздействия НМ, связанных с нынешними и потенциальными применениями нанотехнологий, которые приводят к росту их экспозиции как в производственных условиях, так и в сфере потребления. Такое воздействие может иметь место при вдыхании, проглатывании или поглощении НМ через кожу [18, 69, 70]. Важным фактором опасности НМ также могут быть уникальные пути их поступления в организм (гематоэнцефалический, трансплацентарный, поступление в лимфу, через грудное молоко). Последнее особенно опасно в плане контакта их с малышами, для которых характерна высокая скорость обмена веществ, высокие темпы деления клеток, плохая способность к метаболизму, незрелая выделительная способность [71, 72].

В зависимости от способа попадания НЧ в организм их токсическое действие может отличаться [17]. Например, НЧ двуокиси титана гораздо безопаснее при поступлении через кожу или с пищей, чем при вдыхании их с воздухом. Впрочем не только легкие могут быть чувствительны к НЧ. Предполагается, что влияние НЧ на сердечно-сосудистую систему может быть связано с поступлением их непосредственно в вегетативную нервную систему через нервные окончания в дыхательных путях.

Токсичность углеродных нанотрубок зависит от пути введения: при пероральном поступлении их в желудок грызунов (с едой,

питьем) средне-смертельная доза ( $LD_{50}$ ) превышала 600 мг/кг, при введении в спинную мышцу  $LD_{100}$  составляла 20 мг/кг, а при внутривенном введении 40 мг/кг смерть наступала только у 10 % животных [73, 74]. При вдыхании грызунами НЧ Ag (20–65 нм,  $10^4$ ,  $10^6$  частиц/см<sup>3</sup> около  $4,42 \cdot 10^{-8}$  мг/мл) в течение 28 дней в сыворотке крови у женских особей отмечались увеличение активности биохимических показателей периферической крови и содержания общего гемоглобина, а также повышение уровня кальция и общего белка в сыворотке крыс обоего пола. Согласно большинству публикаций, наибольшую опасность представляют НЧ, попадающие в организм при вдыхании.

Наименее опасным путем поступления НЧ в организм считается желудочно-кишечный тракт, по-видимому, из-за быстрого выведения их из организма. Большой вред может быть при попадании НЧ в организм через кожу. Предполагают, что причиной увеличения заболеваемости раком кожи в последнее десятилетие на 90 % может быть применение кремов для омоложения кожи, содержащих наноразмерные липосомы, и кремов для загара, содержащих НЧ  $TiO_2$  и  $ZnO$  [75].

В ряде исследований, посвященных изучению различных видов НМ (в том числе фуллерена  $C_{60}$ , одно- и многостенных углеродных нанотрубок), было выявлено, что чем выше доза, которой подвергались лабораторные животные, тем сильнее проявлялось наблюдаемое неблагоприятное действие. НЧ  $TiO_2$  в определенных дозах, при любом способе введения, оказывали токсическое действие. Однократное пероральное воздействие НЧ  $TiO_2$  (25 и 80 нм, доза 5000 мг/кг) приводило к накоплению их в селезенке, почках и легких, изменению активности ферментов в крови (для частиц меньшего размера), а также к увеличению массы печени и некрозу гепатоцитов (для частиц 80 нм) у лабораторных животных.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что токсичность НЧ зависит как от величины доз, так и от их физических и химических свойств, которые обычно не учитываются в исследованиях соответствующих макроформ [58, 59, 76]. В частности, применительно к плохо растворимым и малотоксичным частицам площадь поверхности НЧ является лучшим предиктором выраженности повреждения с точки зрения воспалительных реакций. Токсичность НЧ *in vivo* напрямую связана с адсорбцией, распределением, метаболизмом и

эксекрецией их в живых организмах. Эти процессы также зависят от размера, заряда, концентрации, материала и присутствия функциональных групп в оболочке, от окислительных, фотолитических процессов, механической стабильности и окружения. На активность НМ могут влиять свойства и состояние биологической системы, на которой проводятся испытания. Но таких исследований очень мало, и сделать утвердительные выводы достаточно трудно. Классические органы-мишени для НЧ в зависимости от пути поступления – легкие, печень, почки, селезенка, головной мозг, желудочно-кишечный тракт.

Любое вещество, попав в организм, в большинстве случаев не останется неизменным. Оно подвергается различным видам разрушения (биодegradации) и изменения (биотрансформации). Образующиеся продукты могут быть как менее, так и более опасными, чем исходное вещество. Особенностью НЧ является то, что при попадании в организм они могут подвергаться агрегации, диссоциации или модификации [48]. В биологической среде на их поверхности может формироваться так называемая корона, состоящая из биологических макромолекул, преимущественно белков (иммуноглобулинов, белков системы комплемента, факторов свертывания крови, провоспалительных белков, сывороточного альбумина, гемоглобина и др.) [35, 77, 78]. В результате существенным образом изменяются физические свойства НЧ, в т.ч. поверхностный заряд, эффективный размер, стабильность в биологической среде и т.д., что может влиять на такие характеристики, как механизм поглощения НЧ клетками, их распределение в органах, время нахождения в организме и эффективность выведения из него.

Процедуры и манипуляции при проведении исследований также могут оказывать влияние на свойства, а следовательно, и на токсичность НЧ [79, 80]. Так, рутинное разведение препаратов НЧ, например фосфатным буфером, зачастую приводит к их выраженной агрегации с образованием макроформ и, соответственно, потерей наносвойств [81, 82]. Добавление сыворотки крови [83, 84] или сывороточного альбумина [85, 86], которые используют для повышения биосовместимости, приводит к изменению физико-химических свойств НЧ. Как в условиях организма, так и в культуре клеток на поверхности НЧ могут адсорбироваться ионы или биомолекулы с образованием слоя разной толщины, который называется, соответственно, ионной [87] или же белковой

“коронай” [88, 89]. Формирование “короны” вокруг НЧ неизменно ведет к увеличению их размеров и изменению композиционного состава, а также может способствовать стабилизации НЧ в богатых солевых растворах, предотвращая их агрегацию и выпадение в осадок [83], либо, наоборот, вызывать агломерацию НЧ [90]. Формирование “короны” на поверхности НЧ является важным фактором, влияющим на взаимодействие НЧ с биологическим окружением и, в результате, определяющим “судьбу” НЧ в организме [91, 92].

Кроме того, большинство НЧ нестабильны в дисперсии, склонны к агрегации и седиментации, что существенно влияет на процесс поглощения НЧ и их токсичность [93, 94]. Увеличение поглощения НЧ клеткой при образовании агломератов можно объяснить тем фактом, что последние быстрее достигают поверхности клетки путем осаждения, чем отдельные НЧ [95]. Степень агломерации и размеры агломератов определяют не только скорость седиментации, но и скорость транспорта НЧ в клетки, а также способ, которым клетки будут обрабатывать полученные НЧ. При этом увеличение размеров агломератов может препятствовать их поглощению клетками [96].

Еще одним важным фактором возникновения различий в оценке нанотоксичности является использование различных сред, в которых диспергируются НЧ. Среда может вызвать агрегацию НЧ, что в свою очередь определяет поведение НЧ в дисперсии, а также в процессах поглощения НЧ и развития токсичности [97], а условия проведения экспериментов влияют на уровень поглощения НЧ клетками и обуславливают различия во внутриклеточной локализации НЧ и их воздействии на клетки [98–100].

В целом, согласно данным литературы [101–103], в наноразмерном состоянии выделяют следующие физико-химические особенности, влияющие на реактивность веществ и степень их опасности:

- с увеличением химического потенциала растворимость, реакционная и каталитическая способность значительно изменяются;

- реакционная способность и каталитические свойства могут варьироваться в зависимости от размера, удельной поверхности и служить пусковым механизмом повреждающих эффектов;

- взаимодействие с клеточными структурами приводит к изменениям их свойств и функций;

- увеличение адсорбционной активности НЧ по сравнению с макроскопическими дисперсиями облегчает транспорт контаминантов внутрь клетки;

- из-за неспособности защитных систем организма распознавать наноразмерные объекты последние не претерпевают изменений и накапливаются в организме.

### Выводы

На количественные параметры свойств веществ, их биологическую активность (реакционную способность), токсичность и опасность в наноразмерном состоянии, в противоположность микро- и макроматериалам, оказывают влияние достаточно большое число самых различных факторов, величин и их комбинаций (в т.ч. размер, форма, концентрация, химическая и физическая природа, состав, заряд, свойства поверхности, структура, способы и пути поступления в организм, дозы, биологическая модель, на которой проводятся исследования). Воздействие НМ на организмы и разные биологические системы обуславливается сочетанием указанных выше физических и химических (абиотических) факторов.

В организме НЧ подвергаются биомодификации за счет реакций в первую очередь с белками, а также теряют атомы, что может привести к изменению их реактивности. Сложность оценки воздействия наноструктур определяется также диапазоном варибельности свойств, параметров и характеристик (химических, геометрических, физико-химических), размера, поверхности НЧ. Предполагается, что количество вариантов связей между состоянием НЧ и биологическими эффектами может быть непредсказуемым.

Таким образом, изменения тех или других параметров, характеристик, свойств НМ могут привести к возникновению абсолютно разных эффектов и рисков, а вопрос, какие факторы и их сочетания определяют и влияют на опасность НЧ, остается пока не полностью раскрытым.



## References

- [1] Goldyreva TP. Biomedical foundations of life safety: educational-methodical manual: part 2. Perm: CPI Prokrost; 2014. 155 p.
- [2] Demin VF, Belushkina NN, Pal'cev MA. Health risk assessment from impact of nano-, nanobiomaterials: methods of evaluation and practical application. *Molekuljarnaja Medicina*. 2012;4:7-17.
- [3] Bulanov EN. Obtaining and research of nanostructured biocompatible materials based on hydroxyapatite. Nizhny Novgorod: Nizhny Novgorod State University; 2012. 103 p.
- [4] Smirnov VI. Physical foundations of nanotechnology and nanomaterials. Ulyanovsk: UISTU, 2017. 240 p.
- [5] Shatorna VF. Nanotechnology, nanomedicine, nanobiology – a look at the problem. *Visnyk Problem Biologii i Medycyny*. 2013;2:40-4.
- [6] Roduner E. World of materials and technologies. Size effects in nanomaterials. Moscow: Technosphere; 2010. 352 p.
- [7] Chang XL, Yang ST, Xing G. Molecular toxicity of nanomaterials. *J Biomed Nanotechnol*. 2014;10(10):2828-51. DOI: 10.1166/jbn.2014.1936
- [8] Syrma OI. Physical properties of nanoparticles and their biological effects. *Integratyvna Antropologija*. 2013;1:30-3.
- [9] Kutsan AT, Romanko ME, Orobchenko AL. Safety and toxicity assessment of metal nanoparticles as prototypes of veterinary nanonutriceutics, according to the definition of systemic biomarkers in *in vitro* and *in vivo* experiments. In: *Materiály VIII Mezinárodní vědecko-praktická konference "Moderní vymoženosti vědy -2012"*. Díl 22. *Biologické vědy. Zvěrolékařství*; 2012; Praha. p. 84–87. Available from: [http://www.rusnauka.com/4\\_SND\\_2012/Veterenaria/1\\_100160.doc.htm](http://www.rusnauka.com/4_SND_2012/Veterenaria/1_100160.doc.htm)
- [10] Rusanov AI. The wonderful world of nanostructures. *J General Chem*. 2012;72(4):532-49.
- [11] Pavlygo TM, Serdjuk GG, Pavlygo IJ. Danger nanomaterials and standardized methods of its evaluation. *Naukovi Notatky*. 2015;49:114-8.
- [12] Polenov YV. Physico-chemical foundations of nanotechnology. Ivanovo: Ivanovo State University of Chemistry and Technology; 2013. 196 p.
- [13] Kazak AA, Stepanov EG, Gmshinsky IV, Khotimchenko SA. Comparative analysis of modern approaches to risk estimation from artificially created nanoparticles and nanomaterials. *Voprosy Pitanija*. 2012;81(4):11-7.
- [14] Hejazy M, Koochi MK, Bassiri MPA, Najafi D. Toxicity of manufactured copper nanoparticles – a review. *Nanomed Res J*. 2018;3(1):1-9. DOI: 10.22034/nmrj.2018.01.001
- [15] Derjabina TD. The toxicity of ions, nano- and microparticles of copper in biotests of various levels of organization. *Mikroelementy v Medicine*. 2013;14(2):47-9.
- [16] Akafieva TI, Zvezdin VN. Hygienic and toxicological safety assessment of nano-dispersed silicon oxide. *Vestnik Permskogo Universiteta Biologija Mediko-Biologicheskie Nauki*. 2012;2:71-4.
- [17] Latyshevskaya NI, Strekalova AS. Ecological and hygienic problems of the nanotechnological process. *Gigiena i Sanitarija*. 2012;5:8-11.
- [18] Seyfulla RD, Kim EK. Problems of toxicity of nanopharmacological preparations. *Jekspierimental'naja i Klinicheskaja Farmakologija*. 2013;76(2):43-8.
- [19] Zhu MT, Feng WY, Wang B, Wang TC, Gu YQ, Wang M, et al. Comparative study of pulmonary responses to nano- and submicron-sized ferric oxide in rats. *Toxicology*. 2008;247(2-3):102-11. DOI: 10.1016/j.tox.2008.02.011
- [20] Katsnelson BA, Privalova LI, Kuzmin SV, Degtyaryova TD, Sutunkova MP, Minigaliyeva IA, et al. Experimental data pertaining to pulmotoxicity and absorptive toxicity of magnetite (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) particles within nano- and micrometric ranges. *Toksikologicheskij Vestnik*. 2010;2:17-24.
- [21] Katsnelson BA, Privalova LI, Sutunkova MP, Gurvich VB, Loginova NV, Minigaliyeva IA, et al. Some inferences from *in vivo* experiments with metal and metal oxide nanoparticles: the pulmonary phagocytosis response, subchronic systemic toxicity and genotoxicity, regulatory proposals, searching for bioprotectors (a self-overview). *Int J Nanomed*. 2015;10:3013-29. DOI: 10.2147/IJN.S80843
- [22] Lewinski N, Colvin V, Drezek R. Cytotoxicity of nanoparticles. *Small*. 2008 Jan;4(1):26-49. DOI: 10.1002/sml.200700595
- [23] Beer C, Foldbjerg R, Hayashi Y, Sutherland DS, Autrup H. Toxicity of silver nanoparticles – nanoparticle or silver ion? *Toxicol Lett*. 2012;208(3):286-92. DOI: 10.1016/j.toxlet.2011.11.002
- [24] Kushnina DA. The study of the toxicity of nano- and microparticles of copper on a culture of human fibroblasts. *Fundamental'nye i Prikladnye Issledovanija Problemy i Rezul'taty*. 2015;21:7-11.
- [25] Oberdorster G, Oberdorster E, Oberdorster J. Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ Health Perspect*. 2005;113(7):823-39. DOI: 10.1289/ehp.7339
- [26] Prodanchuk NG, Balan GM. Titanium dioxide nanoparticles and their potential risk to health and the environment. *Sovremennye Problemy Toksikologii Pishhevoj i Himicheskoy Bezopasnosti*. 2011;4(54):11-27.

- [27] Wang J, Fan Y. Lung injury induced by TiO<sub>2</sub> nanoparticles depends on their structural features: size, shape, crystal phases, and surface coating. *Int J Mol Sci*. 2014;15(12):22258-78. DOI: 10.3390/ijms151222258
- [28] Napierska D, Thomassen LC, Lison D, Martens JA, Hoet PH. The nanosilica hazard: another variable entity. *Part Fibre Toxicol*. 2010;7(39):1-32. DOI: 10.1186/1743-8977-7-39
- [29] Jia G, Wang H, Yan L, Wang X, Pei R, Yan T, et al. Cytotoxicity of carbon nanomaterials. *Environ Sci Technol*. 2005;39(5):1378-83. DOI: 10.1021/es048729l
- [30] Zaitseva NV, Zemlyanova MA, Zvezdin VN, Dovbysh AA. Toxicological and hygiene characterization of some metal-containing nanoparticles at various exposition methods: bioaccumulation and morphofunctional exposure features. *Toxicolog Rev*. 2017;142(1):27-34. DOI: 10.36946/0869-7922-2017-1-27-34
- [31] Wang B, Feng WY, Wang TC, Jia G, Wang M, Shi JW, et al. Acute toxicity of nano- and micro-scale zinc powder in healthy adult mice. *Toxicol Lett*. 2006;161(2):115-23. DOI: 10.1016/j.toxlet.2005.08.007
- [32] Lyscov VN, Murzin NV. The nanotechnology security problems. Moscow: MIFI; 2007. 70 p.
- [33] Islamov RA, Nersesjan AK. Toxicological and pharmacological aspects of research on nanomaterials and nanocomposites. In: *Proceedings of the International Conference dedicated to the 50th anniversary of the Research Institute for biological Safety Problems*; 2008; Almaty. p. 128-30.
- [34] Wang J, Zhou G, Chen C, Yu H, Wang T, Ma Y, et al. Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration. *J Phys Chem*. 2007;168(2):176-85. DOI: 10.1016/j.toxlet.2006.12.001
- [35] Ivanisenko VA, Podkolodnyj NL, Demenkov PS, Ivanisenko TV, Podkolodnaja OA, Ignat'eva EV, et al. Extracting knowledge from texts of scientific publications and creating knowledge bases in the field of nanobiotechnology. *Rossiiskie Nanotehnologii*. 2011;6(7-8):14-21.
- [36] Roy SC, Paulose M, Grimes CA. The effect of TiO<sub>2</sub> nanotubes in the enhancement of blood clotting for the control of hemorrhage. *Biomaterials*. 2007;28(31):4667-72. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2007.07.045
- [37] Krug HF. Nanosafety research – are we on the right track? *Angew Chem Int Ed Engl*. 2014;53(46):12304-19. DOI: 10.1002/anie.201403367
- [38] George S, Lin S, Ji Z, Thomas CR, Li L, Mecklenburg M, et al. Surface defects on plate-shaped silver nanoparticles contribute to its hazard potential in a fish gill cell line and zebrafish embryos. *ACS Nano*. 2012;6(5):3745-59. DOI: 10.1021/nn204671v
- [39] Lee JH, Ju JE, Kim BI, Pak PJ, Choi EK, Lee HS, et al. Rod-shaped iron oxide nanoparticles are more toxic than sphere-shaped nanoparticles to murine macrophage cells. *Environ Toxicol Chem*. 2014;33(12):2759-66. DOI: 10.1002/etc.2735
- [40] Gus'kova OA, Zav'jalov NV, Skvorcova EL. Nanoparticles of silver, titanium, zinc. Review of current toxicological data. *Sanitarnyj Vrach*. 2014;6:47-52.
- [41] Shrivastava R, Raza S, Yadav A, Kushwaha P, Flora SJ. Effects of sub-acute exposure to TiO<sub>2</sub>, ZnO and Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparticles on oxidative stress and histological changes in mouse liver and brain. *Drug Chem Toxicol*. 2014 Jul;37(3):336-47. DOI: 10.3109/01480545.2013.866134
- [42] Lovrić J, Bazzi HS, Cuie Y, Fortin GR, Winnik FM, Maysinger D. Differences in subcellular distribution and toxicity of green and red emitting CdTe quantum dots. *J Mol Med (Berl)*. 2005;83(5):377-85. DOI: 10.1007/s00109-004-0629-x
- [43] Zhang T, Wang Y, Kong L, Xue Y, Tang M. Threshold dose of three types of quantum dots (QDs) induces oxidative stress triggers DNA damage and apoptosis in mouse fibroblast L929 cells. *Int J Environ Res Public Health*. 2015;12(10):13435-54. DOI: 10.3390/ijerph121013435
- [44] Putsillo EV. A systematic approach to assessing the impact of nanotechnology on the health of the nation. In: *Proceedings of XII International Scientific Conference Modernization of Russia: Key Problems and Solutions*; 2011 Dec 15–16. 14 p.
- [45] Trineeva OV. Methods of analysis of vitamin E (review). *Vestnik VSU Ser Chem Biol Pharm*. 2013;1:212-24.
- [46] Fortner JD, Lyon DY, Sayes CM, Boyd AM, Falkner JC, Hotze EM, et al. C60 in water: nanocrystal formation and microbial response. *Environ Sci Technol*. 2005;39(11):4307-19. DOI: 10.1021/es048099n
- [47] Glushkova AV, Radilov AS, Dulov SA The manifestations of toxicity of nanoparticles (a review). *Gigiena i Sanitarija*. 2011;2:81-6.
- [48] Gendrikson, OD, Zherdev AV, Gmshinskij IV, Dzantiev BB. Fullerenes: *in vivo* studies of biodistribution, toxicity and biological effects. *Rossiiskie Nanotehnologii*. 2014;9(9-10):42-54.
- [49] Kalmantavaeva OV, Firstova VV, Potapov VD, Zyrina EV, Gerasimov VN, Ganina EA, et al. Silver-nanoparticle exposure on immune system of mice depending on the route of administration. *Nanotechnologies in Russia*. 2014;9(9-10):571-6. DOI: 10.1134/s1995078014050061
- [50] Liu J, Sonshine DA, Shervani S, Hurt RH. Controlled release of biologically active silver from nanosilver surfaces. *ACS Nano*. 2010;4(11):6903-13. DOI: 10.1021/nn102272n
- [51] Kim S, Choi JE, Choi J, Chung KH, Park K, Yi J, et al. Oxidative stress-dependent toxicity of silver nanoparticles in human hepatoma cells. *Toxicol in Vitro*. 2009;23(6):1076-84. DOI: 10.1016/j.tiv.2009.06.001

- [52] McShan D, Ray PC, Yu H. Molecular toxicity mechanism of nanosilver. *J Food Drug Anal.* 2014;22(1):116-27. DOI: 10.1016/j.jfda.2014.01.010
- [53] Liu J, Hurt RH. Ion release kinetics and particle persistence in aqueous nano-silver colloids. *Environ Sci Technol.* 2010;44(6):2169-75. DOI: 10.1021/es9035557
- [54] Foldbjerg R, Irving ES, Hayashi Y, Sutherland DS, Thorsen K, Autrup H, et al. Global gene expression profiling of human lung epithelial cells after exposure to nanosilver. *Toxicol Sci.* 2012;130(1):145-57. DOI: 10.1093/toxsci/kfs225
- [55] Liu J, Wang Z, Liu FD, Kane AB, Hurt RH. Chemical transformations of nanosilver in biological environments. *ACS Nano* 2012;6(11):9887-99. DOI: 10.1021/nn303449n
- [56] Kittler S, Greulich C, Diendorf J, Köller M, Epple M. Toxicity of silver nanoparticles increases during storage because of slow dissolution under release of silver ions. *Chem Materl.* 2010;22(16):4548-54. DOI: 10.1021/cm100023p
- [57] Gondikas A, Morris A, Reinsch B, Marinakos S, Lowry G, Hsu-Kim H. Cysteine-induced modifications of zero-valent silver nanomaterials: implications for particle surface chemistry, aggregation, dissolution, and silver speciation. *Environ Sci Technol.* 2012;46(13):7037-45. DOI: 10.1021/es3001757
- [58] Li Y, Zhou Y, Wang HY, Perrett S, Zhao Y, Tang Z, et al. Chirality of glutathione surface coating affects the cytotoxicity of quantum dots. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2011;50(26):5860-64. DOI: 10.1002/anie.201008206
- [59] Tolaymat TM, El Badawy AM, Genaidy A, Scheckel KG, Luxton TP, Suidan M. An evidence-based environmental perspective of manufactured silver nanoparticle in syntheses and applications: a systematic review and critical appraisal of peer-reviewed scientific papers. *Sci Total Environ.* 2010;408(5):999-1006. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2009.11.003
- [60] Ahamed M, Karns M, Goodson M, Rowe J, Hussain S, Schlager J, et al. DNA damage response to different surface chemistry of silver nanoparticles in mammalian cells. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2008;233(3):404-10. DOI: 10.1016/j.taap.2008.09.015
- [61] Nymark P, Catalán J, Suhonen S, Järventaus H, Birkedal R, Clausen P, et al. Genotoxicity of polyvinylpyrrolidone-coated silver nanoparticles in BEAS 2B cells. *Toxicology.* 2013;313(1):38-48. DOI: 10.1016/j.tox.2012.09.014
- [62] Suresh A, Pelletier D, Wang W, Morrell-Falvey J, Gu B, Doktycz M. Cytotoxicity induced by engineered silver nanocrystals is dependent on surface coatings and cell types. *Langmuir.* 2012;28(5):2727-35. DOI: 10.1021/la2042058
- [63] Haase A, Tentschert J, Jungnickel H, Graf P, Manton A, Draude F, et al. Toxicity of silver nanoparticles in human macrophages: uptake, intracellular distribution and cellular responses. *J Phys Conf Ser.* 2011;304:012030. DOI: 10.1088/1742-6596/304/1/012030
- [64] Crater J, Carrier R. Barrier properties of gastrointestinal mucus to nanoparticle transport. *Macromol Biosci.* 2010;10(12):1473-83. DOI: 10.1002/mabi.201000137
- [65] Yang X, Gondikas AP, Marinakos SM, Auffan M, Liu J, Hsu-Kim H, et al. Mechanism of silver nanoparticle toxicity is dependent on dissolved silver and surface coating in *Caenorhabditis elegans*. *Environ Sci Technol.* 2012;46(2):1119-27. DOI: 10.1021/es202417t
- [66] Monopoli M, Åberg C, Salvati A, Dawson K. Biomolecular coronas provide the biological identity of nanosized materials. *Nature Nanotechnol.* 2012;7(12):779-86. DOI: 10.1038/nnano.2012.207
- [67] Monopoli MP, Walczyk D, Campbell A, Elia G, Lynch I, Bombelli FB, et al. Physical-chemical aspects of protein corona: relevance to *in vitro* and *in vivo* biological impacts of nanoparticles. *J Am Chem Soc.* 2011;133(8):2525-34. DOI: 10.1021/ja107583h
- [68] Ashkarran A, Ghavami M, Aghaverdi H, Stroeve P, Mahmoudi M. Bacterial effects and protein corona evaluations: crucial ignored factors in the prediction of bio-efficacy of various forms of silver nanoparticles. *Chem Res Toxicol.* 2012;25(6):1231-42. DOI: 10.1021/tx300083s
- [69] Hansen SF. Exposure pathways of nanomaterials. In: WHO Workshop on Nanotechnology and Human Health: Scientific Evidence and Risk Governance; 2012 Dec 10-11; Bonn, Germany. Available from: <http://www.nanopartikel.info/files/downloads/WHO-Report-Nanotechnology-and-Health-2012.pdf>
- [70] Poland C. Nanoparticles: possible routes of intake. WHO Workshop on Nanotechnology and Human Health: Scientific Evidence and Risk Governance; 2012 Dec 10-11; Bonn, Germany. Available from: <http://www.nanopartikel.info/files/downloads/WHO-Report-Nanotechnology-and-Health-2012.pdf>
- [71] Howard V. General toxicity of NM. In: WHO Workshop on Nanotechnology and Human Health: Scientific Evidence and Risk Governance; 2012 Dec 10-11; Bonn, Germany. Available from: <http://www.nanopartikel.info/files/downloads/WHO-Report-Nanotechnology-and-Health-2012.pdf>
- [72] Vogel U. Pulmonary and reproductive effects of nanoparticles. In: WHO Workshop on Nanotechnology and Human Health: Scientific Evidence and Risk Governance; 2012 Dec 10-11; Bonn, Germany. Available from: <http://www.nanopartikel.info/files/downloads/WHO-Report-Nanotechnology-and-Health-2012.pdf>

- [73] Chiaretti M, Mazzanti G, Bosco S, Bellucci S, Cucina A, Le Foche F, et al. Carbon nanotubes toxicology and effects on metabolism and immunological modification *in vitro* and *in vivo*. *J Phys Condensed Matter*. 2008;20(47):474203-7. DOI: 10.1088/0953-8984/20/47/474203
- [74] Ji JH, Jung JH, Kim SS, Yoon JU, Park JD, Choi BS, et al. Twenty-eight-day inhalation toxicity study of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats. *Inhal Toxicol*. 2007;19(10):857-71. DOI: 10.1080/08958370701432108
- [75] Shumakova AA, Smirnova VV, Tananova ON, Trushina JeN, Kravchenko LV, Aksenov IV, et al. Toxicological and hygienic characteristics of silver nanoparticles introduced into the gastrointestinal tract of rats. *Voprosy Pitanija*. 2011;80(6):9-18.
- [76] Loft S. Cardiovascular and other systemic effects of nanoparticles. In: WHO Workshop on Nanotechnology and Human Health: Scientific Evidence and Risk Governance; 2012 Dec 10–11; Bonn, Germany. Available from: <http://www.nanopartikel.info/files/downloads/WHO-Report-Nanotechnology-and-Health-2012.pdf>
- [77] Nel AE, Mädler L, Velegol D, Xia T, Hoek EM, Somasundaran P, et al. Understanding biophysicochemical interactions at the nano-bio interface. *Nat Mater*. 2009;8(7):543-57. DOI: 10.1038/nmat2442
- [78] Lundqvist M, Stigler J, Elia G, Lynch I, Cedervall T, Dawson KA. Nanoparticle size and surface properties determine the protein corona with possible implications for biological impacts. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008;105(38):14265-70. DOI: 10.1073/pnas.0805135105
- [79] Razum KV, Troitski SY, Pyshnaya IA, Bukhtiyarov VI, Ryabchikova EI. Macrophages and epithelial cells differently respond to palladium nanoparticles. *Micro Nanosyst*. 2014;6(2):133-41. DOI: 10.2174/187640290602141127115839
- [80] Pyshnaya IA, Razum KV, Poletaeva JE, Pyshnyi DV, Zenkova MA, Ryabchikova EI. Comparison of behaviour in different liquids and in cells of gold nanorods and spherical nanoparticles modified by linear polyethyleneimine and bovine serum albumin. *BioMed Res Int*. 2014;2014:1-13. DOI: 10.1155/2014/908175
- [81] Arsentieva IP, Baitukalov TA, Glushchenko NN, Dzidziguri JeL, Sidorova EN, Bogoslovskaja OA, et al. Certification of nanoparticles of copper and magnesium and their application in medicine. *Materialovedenie*. 2007;4:54-6.
- [82] Jiang J, Oberdörster G, Biswas P. Characterization of size, surface charge, and agglomeration state of nanoparticle dispersions for toxicological studies. *J Nanopart Res*. 2009;11(1):77. DOI: 10.1007/s11051-008-9446-4
- [83] Elder A, Yang H, Gwiazda R, Teng X, Thurston S, He H, et al. Testing nanomaterials of unknown toxicity: an example based on platinum nanoparticles of different shapes. *Adv Mater*. 2007;19:3124-9. DOI: 10.1002/adma.200701962
- [84] Pelka J, Gehrke H, Esselen M, Türk M, Crone M, Bräse S, et al. Cellular uptake of platinum nanoparticles in human colon carcinoma cells and their impact on cellular redox systems and DNA integrity. *Chem Res Toxicol*. 2009;22(4):649-59. DOI: 10.1021/tx800354g
- [85] Casals E, Pfaller T, Duschl A, Oostingh GJ, Puentes V. Time evolution of the nanoparticle protein corona. *ACS Nano*. 2010;4(7):3623-32. DOI: 10.1021/nn901372t
- [86] Dominguez-Medina S, Blankenburg J, Olson J, Landes CF, Link S. Adsorption of a protein monolayer via hydrophobic interactions prevents nanoparticle aggregation under harsh environmental conditions. *ACS Sustain Chem Eng*. 2013;1(7):833-42. DOI: 10.1021/sc400042h
- [87] Xu L, Liu Y, Chen Z, Li W, Liu Y, Wang L, et al. Surface-engineered gold nanorods: promising DNA vaccine adjuvant for HIV-1 treatment. *Nano Lett*. 2012;12(4):2003-12. DOI: 10.1021/nl300027p
- [88] Cedervall T, Lynch I, Lindman S, Berggård T, Thulin E, Nilsson H, et al. Understanding the nanoparticle-protein corona using methods to quantify exchange rates and affinities of proteins for nanoparticles. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007;104(7):2050-5. DOI: 10.1073/pnas.0608582104
- [89] Monopoli MP, Walczyk D, Campbell A, Elia G, Lynch I, Bombelli FB, et al. Physical-chemical aspects of protein corona: relevance to *in vitro* and *in vivo* biological impacts of nanoparticles. *J Am Chem Soc*. 2011;133(8):2525-34. DOI: 10.1021/ja107583h
- [90] Verma A, Stellacci F. Effect of surface properties on nanoparticle-cell interactions. *Small*. 2010;6(1):12-21. DOI: 10.1002/sml.200901158
- [91] Schäffler M, Semmler-Behnke M, Sarioglu H, Takenaka S, Wenk A, Schleh C, et al. Serum protein identification and quantification of the corona of 5, 15 and 80 nm gold nanoparticles. *Nanotechnology*. 2013;24(26):265103. DOI: 10.1088/0957-4484/24/26/265103
- [92] Fleischer CC, Payne CK. Nanoparticle-cell interactions: molecular structure of the protein corona and cellular outcomes. *Acc Chem Res*. 2014;47(8):2651-9. DOI: 10.1021/ar500190q
- [93] Cho EC, Zhang Q, Xia Y. The effect of sedimentation and diffusion on cellular uptake of gold nanoparticles. *Nat Nanotechnol*. 2011;6:385-91. DOI: 10.1038/nnano.2011.58
- [94] Allouni ZE, Cimpan MR, Høl PJ, Skodvin T, Gjerdet NR. Agglomeration and sedimentation of TiO<sub>2</sub> nanoparticles in cell culture medium. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2009;68(1):83-7. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2008.09.014

- [95] Limbach LK, Li Y, Grass RN, Brunner TJ, Hintermann MA, Muller M, et al. Oxide nanoparticle uptake in human lung fibroblasts: effects of particle size, agglomeration, and diffusion at low concentrations. *Environ Sci Technol.* 2005;39:9370-6. DOI: 10.1021/es051043o
- [96] Drescher D, Orts-Gil G, Laube G, Natte K, Veh RW, Österle W, et al. Toxicity of amorphous silica nanoparticles on eukaryotic cell model is determined by particle agglomeration and serum protein adsorption effects. *Anal Bioanal Chem.* 2011;400:1367-73. DOI: 10.1007/s00216-011-4893-7
- [97] Teeguarden JG, Hinderliter PM, Orr G, Thrall BD, Pounds JG. Particokinetics in vitro: dosimetry considerations for *in vitro* nanoparticle toxicity assessments. *Toxicol Sci.* 2007;95:300-12. DOI: 10.1093/toxsci/kfl165
- [98] Maiorano G, Sabella S, Sorce B, Brunetti V, Malvindi MA, Cingolani R, et al. Effects of cell culture media on the dynamic formation of protein-nanoparticle complexes and influence on the cellular response. *ACS Nano.* 2010;4(12):7481-91. DOI: 10.1021/nn101557e
- [99] Liopo A, Avdejchik SV, Jejsymont EI, Struk VA, Voroncov AS. Assessment of dimensional parameters of material objects. *Nauchnye Vedomosti Serija Matematika Fizika.* 2013;33:194-203.
- [100] Radaica A, Pugliesea GO, Campesea GC, Pessineb FBT, de Jesusa MB. Studying the interactions between nanoparticles and biological systems. *Quimica Nova.* 2016;39(10):1236-44. DOI: 10.21577/0100-4042.20160146
- [101] On approval of the Concept of toxicological studies, risk assessment methodology, identification methods and quantitative determination of nanomaterials. Moscow: Ministry of Justice of the Russian Federation; 2007. No. 10528.
- [102] Onishhenko GG, Zajceva NV, Zemljanova MA. Hygienic indication of health effects during environmental exposure to chemical factors. Perm': Knizhnyj Format; 2011. 532 p.
- [103] Anciferov VN, Anciferova IV. Nanotechnology and nanomaterials, risks. Yekaterinburg: Ural Branch of the Russian Academy of Sciences; 2014. 222 p.

Н.С. Леоненко, О.Б. Леоненко

#### ФАКТОРИ, ЩО ВПЛИВАЮТЬ НА ПРОЯВ ТОКСИЧНОСТІ ТА НЕБЕЗПЕЧНОСТІ НАНОМАТЕРІАЛІВ

**Проблематика.** Розвиток нових технологій спрямованого синтезу та використання наночастинок і наноматеріалів, властивості яких радикально відрізняються від таких у традиційних матеріалів і пов'язані з особливостями їх розмірності, а також з поєднанням і діапазоном варіабельності фізико-хімічних властивостей, параметрів, характеристик наночастинок та поверхні їх покриття, процедур і маніпуляцій при проведенні досліджень, може привести до виникнення абсолютно різних ефектів та ризиків.

**Мета.** Аналіз на основі літературних даних значимості розмірно-структурних факторів та їх поєднань на прояви токсичності й небезпечності наноматеріалів.

**Методика реалізації.** Аналіз і систематизація сучасних наукових даних, присвячених оцінці особливостей прояву токсичності та небезпечності наноматеріалів, за останні 20 років.

**Результати.** Перехід речовин у нанорозмірний стан робить їх хімічно активнішими: чим менший розмір наночастинок, тим сильніше проявляється їх дія порівняно з еквівалентними кількостями речовини в традиційній макроформі. При контакті з біологічним середовищем їх поверхня покривається білками. При потрапленні в організм вони можуть піддаватися агломерації, дисоціації або модифікації. Процедури та маніпуляції при проведенні досліджень також можуть впливати на властивості, а отже, і на токсичність наночастинок. Більшість наночастинок нестабільні в дисперсії, схильні до агрегації та седиментації, що суттєво впливає на процес поглинання наночастинок та їх токсичність.

**Висновки.** Токсичність і небезпечність наночастинок і наноматеріалів залежать від безлічі факторів і їх поєднань. Складність оцінки впливу наноструктур визначається діапазоном варіабельності властивостей, параметрів, хімічних, геометричних і фізико-хімічних характеристик, розміру, поверхні наночастинок. Перспективними є удосконалення і розробка нових підходів виявлення небезпечності нанорозмірних об'єктів.

**Ключові слова:** наноматеріали; наночастинки; токсична дія; небезпечність.

N.S. Leonenko, O.B. Leonenko

#### FACTORS INFLUENCING THE MANIFESTATION OF TOXICITY AND DANGER OF NANOMATERIALS

**Background.** The development of new technologies of the directed synthesis and use of nanoparticles and nanomaterials with properties that are radically different from those of traditional materials, related to peculiarities of their dimensions and to the combination and variability range of physicochemical properties, parameters, characteristics of nanoparticles and their coating surface, procedures and manipulations when conducting studies, can result in development of quite different effects and risks.

**Objective.** The purpose of the paper is analysis of the significance of dimensional and structural factors, and their combinations in the manifestation of toxicity and danger of nanomaterials based on published data.

**Methods.** Analysis and systematization of scientific data on the assessment of manifestations of toxicity and hazard of nanomaterials over the past 20 years.

**Results.** The transition of substances to the nanoscale state makes them chemically more active – the smaller the size of the nanoparticles, the stronger the effect they show in comparison with equivalent amounts of this substance in a traditional macro form. On contact with the biological environment, their surface is covered with proteins. When entering the body, they may undergo agglomeration, dissociation, or modification. Procedures and manipulations in the research can also affect the properties and, consequently, the toxicity of

nanoparticles. Most nanoparticles are unstable in dispersion, prone to aggregation and sedimentation, which significantly affects the process of absorption of nanoparticles and their toxicity.

**Conclusions.** The toxicity and danger of nanoparticles and nanomaterials depend on many factors and their combinations. The complexity of assessing the impact of nanostructures is determined by the range of variability of properties, chemical, geometric, physico-chemical properties and characteristics, size, surface of nanoparticles. The improvement and development of new approaches to identifying the danger of nanoscale objects is a promising direction of scientific investigations.

**Keywords:** nanomaterials; nanoparticles; toxic effect; danger.