

Н.Г. Проданчук, Г.М. Балан

НАНОТОКСИКОЛОГИЯ: СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

ГП Институт экогигиены и токсикологии им. Л.И. Медведя, г. Киев

Человечество издавна подвергалось воздействию низких концентраций наночастиц (НЧ; <100 нм), содержащихся в воздухе и других объектах окружающей среды. Источниками НЧ могут быть действующие вулканы, лесные пожары, выветривание горных пород, микрослой океанической поверхности [1,3]. Повышению содержания НЧ в атмосферном воздухе способствуют такие антропогенные источники, как металлургическая, цементная промышленность, сгорание каменного угля, полимерных соединений, нефти, газа, дизельного топлива и др. [1,2,3,4].

Резко возросло воздействие НЧ на население за последние 20 лет вследствие разработки различных технологий создания более 2000 разновидностей наноматериалов. Трудно преувеличивать значение достижений нанотехнологий в различных отраслях промышленности: электронике и информационных технологиях, полупроводниковой промышленности, энергетике, оптике, автомобилестроении [1,4], химии, биологии, фармацевтике и медицине [1,2,6,9]. Многие потребительские товары и изделия, к которым относятся некоторые продукты питания (шоколад, мороженое, кремы и др.), моющие средства, предметы парфюмерии и личной гигиены (зубные пасты, кремы от загара, тональные кремы, помады, лаки, краски), напыления на одежде, обуви, бытовых предметах содержат микро- или наноструктуры [1,4,12,14]. В пищевой промышленности наноматериалы применяются в фильтрах для очистки воды, используются в качестве различных эмульгаторов, а также при получении более легких, прочных, более термически устойчивых и обладающих антимикробным действием упаковочных материалов, при обо-

гащении пищевых продуктов микронутриентами. Наночипы используются для идентификации условий и сроков хранения пищевой продукции и обнаружения патогенных микроорганизмов. Для получения разнообразных структур и материалов данного назначения разработана сложная технология получения смесей из поверхностно-активных веществ и полимерных материалов. Эта область создания наноматериалов и способов их обработки получила название "мягкой нанотехнологии" [1].

Интерес к НЧ вызван высокой степенью измельчения, при которой существенно изменяются физико-химические свойства (механические, электропроводные, каталитические, биологические и др.) практически всех химических веществ. Кроме того, размеры НЧ и свойства их поверхностей позволяют им вступать в прямой контакт на молекулярном уровне с биологическими тканями и системами, с инфекционными агентами [2,4,8,16,17,18], эндотоксинами, токсинами, в том числе микотоксинами [1,14,19,20], а также с различными химическими соединениями органической и неорганической природы, протеинами и отдельными структурами клеток (липидами, нуклеиновыми кислотами, в частности ДНК) [4, 21, 22, 23,24].

В последние годы производство и использование наноматериалов в ряде стран приобрело промышленные масштабы, что способствовало загрязнению различных объектов окружающей среды НЧ [25,26,27]. Вызывает опасения нарастающее загрязнение атмосферного воздуха и многих рабочих мест НЧ, которые в большинстве своем высокотоксичные, в связи с чем особое значение приобретают экологические и профессиональные аспекты нанотокси-

кологии [3,4,26,27]. Авторы считают, что быстрое развитие нанотехнологий сопровождается повышением уровня воздействия НЧ на биобъекты, при этом информации о их потенциальной опасности для здоровья недостаточно. Эти пробелы восполняет развивающаяся дисциплина нанотоксикология — наука, изучающая токсичность НЧ и их потенциальный риск для здоровья населения и окружающей среды. Приоритетным направлением нанотоксикологии является установление новых стандартов для химической характеристики НЧ и оценка их биологических эффектов для тестирования регуляторной токсичности. К сожалению, традиционные подходы для оценки токсичности химических веществ недостаточны для изучения веществ в нанофазе, так как размер частиц и площадь поверхности могут иметь особое значение, при этом концентрация массы может быть не самым лучшим измерением для описания зависимости доза-эффект. Большую проблему представляет отсутствие соответствующих образцов и стандартов, необходимых для проведения токсикологического тестирования наноматериалов.

Ряд исследователей высказывают опасения в связи с широким внедрением наноматериалов в медицину при недостаточной изученности их токсичности [2,4,9]. Наноматериалы сегодня уже широко используются для диагностики и лечения: различные биосенсоры, биочипы, нанолуминофоры — для выявления структур и веществ, химических и инфекционных агентов, присутствующих в организме человека и окружающей среде [2,4,22,39], устройства для детектирования определенных нуклеотидных последовательностей с целью обнаружения мутаций; применение наноточек, углеродных нанотрубок, фуллеренов, нанокристаллов и различных НЧ — для диагностики и целевой доставки лекарств, вакцин и стволовых клеток [2,4,9,11,34], липосом, позволяющих лекарственным веществам проникать в кровь не разрушаясь [2,3]. Широко применяются нанопоры, наночипы и другие системы с использованием НЧ для адсорбции или идентификации токсических веществ в лабораторной практике [2,4,31,32].

В качестве адсорбента для нейтрализации микотоксинов предложено использовать наноалмазы (НА) детонационного синтеза и другие НЧ [38]. Высокоразвитая поверхность НЧ, наличие на поверхности различных химических активных функциональных групп, углеводородных фрагментов и микропримесей металлов определяют их высокие сорбционные свойства к биомолекулам. Установлена способность детонационных НА и других НЧ адсорбировать афлатоксин В1 из водных растворов при кислых, слабощелочных и щелочных значениях pH, причем время адсорбции микотоксина НЧ не превышает 2-3 мин. Показано, что сорбционная емкость НА и других НЧ к микотоксину зависит от соотношения количеств микотоксина и сорбента [38].

НЧ углерода, серебра и др. используются при создании искусственных костных имплантантов, челюстей, протезов, противозачаточных средств, перевязочных материалов и др. для повышения их прочности и бактерицидности [2,4,9,11]. Мировой объем продаж лекарств с модифицированной системой доставки с использованием наноматериалов в настоящее время составляет 20 % от общего объема рынка фармпрепаратов [4]. Широкое применение находят наносенсоры для идентификации токсичных отходов химической и биотехнологической промышленности, наркотиков, боевых отравляющих веществ, взрывчатки и патогенных микроорганизмов, а также наночастичные фильтры и прочие очистные устройства, предназначенные для их удаления или нейтрализации [4,6,8,9]. Однако история неопровержимо свидетельствует о том, что практически все полезные изобретения и научно-технические разработки не только способствуют развитию экономики, но также ставят человечество перед новыми и подчас труднопредсказуемыми опасностями. Террористы и криминалитет, получившие доступ к нанотехнологиям, могут нанести обществу существенный урон: химическое и биологическое оружие может стать более опасным, а скрыть его будет значительно проще. Особую опасность могут представлять "нанотехнологические наркомании", так как уже созданы НЧ для целевой достав-

ки лекарственных и наркотических средств в мозг при их ингаляционном или трансдермальном использовании [28,29,33]. Разработаны эти системы для использования в анестезиологии, для повышения обезболивающего эффекта в онкологии, но существует большой риск их использования в наркобизнесе [2,4]. Кроме того, разработанные с использованием НЧ медицинские устройства, позволяющие модифицировать структуру мозга или осуществлять стимуляцию определенных его отделов для получения эффектов, имитирующих любые формы психической активности, могут стать основой "нанотехнологической наркомании" [1].

Следует отметить, что ассигнования на анализ потенциальных угроз применения и оценки токсичности наноматериалов даже в развитых странах пока что очень невелики (не превышают 4 % всех ассигнований на нанотехнологии) [1]. Ситуация осложняется тем, что многие наноструктуры производятся не одним, а несколькими способами, в связи с чем внешне одни и те же нанопродукты, изготовленные на основе различных технологий, оказывают неодинаковое воздействие на человека и его среду обитания в зависимости не только от химического состава и размера НЧ, но и от их поверхности, заряда, композиций, степени загрязнения различными химическими соединениями [1, 2, 8, 34].

В последние годы общественность стала проявлять интерес не только к НЧ и нанотехнологиям, но и к тому потенциальному риску, с которым может быть связано их широкое использование. Отмечены корреляции между промышленным использованием НЧ, уровнем загрязнения атмосферы и состоянием здоровья населения [3, 25, 26], при этом наблюдается повышение смертности по мере нарастания содержания НЧ в атмосферном воздухе, особенно от заболеваний бронхо-легочной и сердечно-сосудистой систем. В экспериментах *in vitro* показано, что разрушающее действие НЧ на альвеолярный эпителий обусловлено повреждением клеточных структур вследствие прооксидантного эффекта и зависит от состава НЧ, заряда и площади их поверхности [54]. В формировании неблагоприятных эффектов атмосферных

НЧ размером менее 2,5 нм для сердечно-сосудистой системы показана роль воспалительных реакций, а также повышение свертываемости крови и развитие коагулопатий, способствующих образованию тромбов и манифестации ИБС [4,55]. Культивирование клеток эндотелия сердечно-сосудистой системы в присутствии НЧ, выделенных из атмосферного воздуха Шанхая, в концентрации 0,05 и 0,2 мг/м³ сопровождалось повышением экспрессии мРНК интерлейкина-4 и экстаксина, обладающих провоспалительным эффектом.

Изучение воздействия водорастворимых и органических частиц пылевой бури (2,5 нм) в течение 2 час. в опытах на изолированных альвеолярных макрофагах показало повреждающее действие НЧ, зависимое от их концентрации [56]. Выявлено, что НЧ ингибируют активность Na, K и Ca, Mg — АТФаз плазматической мембраны, снижают ее текучесть, стимулируют освобождение из клеток лактатдегидрогеназы (ЛДГ), уменьшают внутриклеточное содержание Г-SH и приводят к накоплению продуктов перекисидации липидов.

При анализе фракции частиц (ФЧ) воздушного бассейна г. Дюнкерк (Франция) обнаружено присутствие Fe, Al, Ca, Na, K, Mg, Pb в нанофазе. Значения LC₁₀ и LC₅₀ цитотоксичности ФЧ в отношении культивируемых клеток легочного эпителия человека линии L₁₃₂ составляли 18,8 и 75,4 мкг / мл. Воздействие ФЧ вызывало зависимые от концентрации и продолжительности экспозиции изменения перекисидации липидов, активности супероксиддисмутазы, образования 8-гидрокси-2-дезоксигуанина, поли (АДФ)-рибозилирования, секреции фактора α-некроза опухолей, активности индуцибельной NO-синтазы и образования NO [79]. Авторы считают, что окислительный стресс и воспалительные реакции лежат в основе цитотоксических эффектов НЧ. Предпринимаются попытки оценки воздействия НЧ на окружающую среду на примере определения их оксидов металлов в воздухе и в естественных водоемах [36], при этом отмечается, что методология изучения загрязнения объектов окружающей среды НЧ требует совершенствования.

Основная и очень серьезная проблема состоит в том, что многие вещества, совершенно безопасные в обычной объемной форме, становятся чрезвычайно токсичными и опасными после измельчения их до наноразмеров [1,2], при этом в форме НЧ материалы приобретают новые, неприсущие им свойства и биологические эффекты. НЧ попадают в организм ингаляционным путем, *per os* с водой и пищей, через интактную и особенно поврежденную кожу [4,76,116], а также со средствами медицинского и косметического назначения. Показано, что НЧ способны проникать в клетки, мигрируя через барьеры (в частности гематоэнцефалический, плацентарный) и избирательно накапливаются в разных типах клеток и клеточных структурах [2,4,7,8,9,10]. НЧ способны к трансцитозу через эпителиальные и эндотелиальные клетки, распространяются по ходу дендритов и аксонов нервов, циркулируют в кровеносных и лимфатических сосудах, имеют тропность к определенным тканям [4,28,29]. Особенно токсичны нерастворимые в воде НЧ размером менее 20 нм [2,4,6,9,10]. НЧ проникают в организм ингаляционным путем, *per os*, через поврежденную кожу, а также при инъекциях лекарств с нанонесителями

[1,4]. При ингаляционном воздействии очень мелких НЧ (1 нм) 90 % их проникает через слизистую или пароксально по нервным волокнам в ткани, всасывается в кровь и уже через 2-4 часа обнаруживается в печени, почках, головном и костном мозге. Лишь 15 % более крупных НЧ депонируется в носоглотке и более 50 % — в альвеолярном регионе. Вследствие трансцитоза через эпителиальные клетки дыхательной системы и сенсорные нервные окончания НЧ проникают в кровь и лимфу [4]. Авторы отмечают, что при вдыхании НЧ они по волокнам обонятельного нерва уже через два часа проникают в головной мозг. Биоперсистенция НЧ в альвеолярном регионе наблюдается от 70 дней у крыс до 700 дней у человека [4]. Из-за неспособности альвеолярных макрофагов фагоцитировать мелкие НЧ (< 20 нм) они легко проникают через альвеолярный эпителий и продолжают внутритканевое перемещение. На примере полимерных композитов с НЧ фтора, которые широко используются в качестве нанопропелентов для доставки гормонов и бронхолитиков в бронхолегочную систему больных с обструктивными синдромами, показано, что уже через 2-6 часов НЧ фтора обнаруживаются в кровенос-

ной системе, внутренних органах и костях, особенно в зоне их роста вследствие особой тропности фтора к остеокластам [4]. В то же время отмечено влияние НЧ фтора на систему гемостаза (развитие коагулопатий и тромбоза) [4,121], что повышает риск применения данных бронхолитиков у пожилых и больных с заболеваниями сердечно-сосудистой системы. Доказано перемещение НЧ по обонятельным, тройничным, трахеобронхиальным нервам и нейро-мышечным соединениям [4]. Схема биокинетики НЧ представлена на рис.1.

В мире к настоящему времени уже накоплен определенный экспериментальный материал по токсикологической характеристике отдельных наноматериалов, методам оценки при их ингаляционном и пероральном поступлении в организм, методам токсикологического тестирования и оценки риска. Более широко изучены неблагоприятные эффекты ингаляционного поступления отдельных наноматериалов в организм человека, при этом отмечено, что воспалительные поражения легочной ткани обусловлены преимущественно прооксидантным и генотоксическим действием НЧ [2,4,7,9,27]. Описаны результаты исследований по изучению ингаляци-

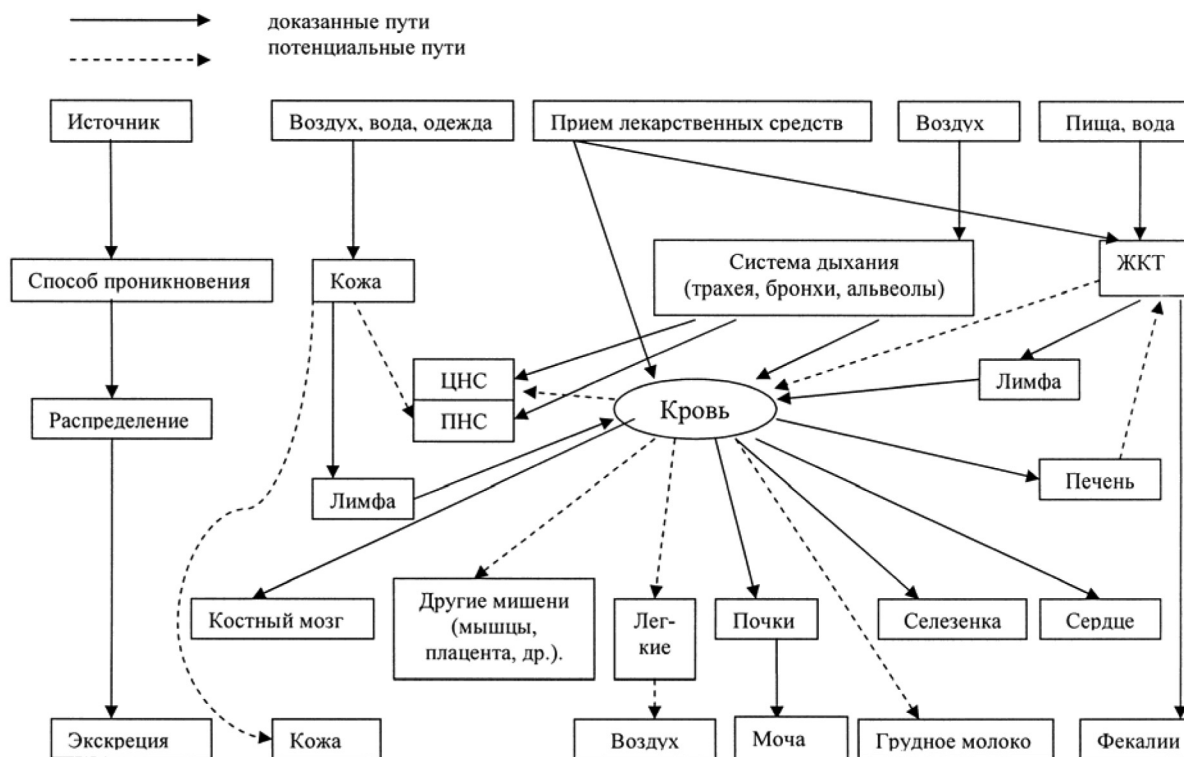


Рис. 1. Схема путей поступления, распределения и выведения наноматериалов в организме человека [4].

онной токсичности НЧ серебра, кадмия, цинка, диоксида титана, ванадия, меди, кварца и ряда других химических веществ.

Так, ингаляционная токсичность НЧ серебра размером 19,8-64,9 нм изучалась в течение 28 дней на крысах при воздействии в концентрациях: $1,73 \times 10^4$, $1,27 \times 10^5$ и $1,32 \times 10^6$ частиц/см³ [37]. Животных подвергали экспонированию по 6 ч. в течение 5 дней с двухдневным перерывом на протяжении 4 недель. Обнаружено достоверное увеличение γ -глутамилтрансферазы (ГГТ) в крови, повышение содержания нейтрофилов, эозинофилов и гемоглобина у женских особей при концентрации $1,27 \times 10^5$ частиц/см³, увеличение кальция и общего белка в сыворотке крови у крыс обоего пола при концентрации $1,27 \times 10^6$ частиц/см³. При этом НЧ серебра обладали способностью осажаться в легких, печени, почках, проникать в результате аксонального транспорта в обонятельную луковицу и другие структуры головного мозга. Сообщается о высокой стабильности НЧ серебра в окружающей среде и способности сохранять токсические свойства на протяжении нескольких лет [37].

Показано, что полупроводниковые нанокристаллы (квантовые точки), содержащие CdSe / ZnS в виде ультратонких НЧ с диаметром 3,2 нм при ингаляционном пути поступления способны проникать в головной мозг [4]. Авторы подвергали животных воздействию аэрозоля водного раствора фосфолипидных капсулированных CdSe / ZnS квантовых точек в концентрации 7 мг/м³ интраназально в течение 3 ч. с использованием ингалятора со скоростью потока 8 л/мин. В период до 2-5 часов после экспозиции было обнаружено проникновение НЧ по ольфакторному нерву через гематоэнцефалический барьер в кору головного мозга.

Ингаляционное воздействие НЧ TiO₂ размером 80-100 нм приводит к распределению НЧ в легких, стимулирует выработку свободных радикалов и оказывает выраженный прооксидантный эффект, вызывает воспаление и фиброз легких [40,41], приводит к повышению числа нейтрофилов и фагоцитов в бронхоальвеолярных смывах [44,45,46]. Отмечено, что НЧ TiO₂ обладают канцерогенным действием, тогда как ди-

оксид титана в обычном состоянии является нетоксичным индифферентным соединением и широко используется в фармацевтической, парфюмерно-косметической промышленности. Пероральное однократное введение НЧ TiO₂ размером 25 и 80 нм характеризуется еще большей токсичностью: более интенсивным проникновением в легкие, печень, селезенку, почки, большей гепато- и нефротоксичностью по сравнению с более крупными НЧ (155 нм) [4,42,47]. Авторы отмечают, что НЧ TiO₂ имеют длительный период полувыведения (более 500 дней) как при ингаляционном, так и при пероральном поступлении и практически не выводятся почками. Отмечено [4], что период полувыведения НЧ TiO₂ из легких крыс составляет от 117 до 541 дня в зависимости от размера (250-25 нм соответственно). Более длительный период полувыведения мелких НЧ (< 25 нм) связывают с тем, что мелкие НЧ практически не подвержены фагоцитозу, что значительно удлиняет их биоперсистенцию [4]. При ингаляционной экспозиции ультратонкими частицами TiO₂ (0,8 мкм, 10 мг/м³) в течение года наблюдалось снижение продолжительности жизни животных, накопление НЧ TiO₂ в организме, уменьшение массы тела крыс, повышение числа нейтрофилов и фагоцитов в бронхоальвеолярных смывах, развитие воспалительных изменений в легких и других органах, индукция эпителиальной пролиферации и фибропролиферативного повреждения легких с развитием облитерации бронхов [4,40,41]. В то же время при однократном ингаляционном воздействии 5 мг НЧ TiO₂ на крысу или пероральном воздействии 50 мг / кг [45] не выявлено патологических изменений в легких. Сравнительное изучение острой легочной токсичности, индуцируемой 3 и 20 нм НЧ TiO₂, выявило ранние биохимические сдвиги в бронхоальвеолярной лаважной жидкости [48]. Уже через три дня после ингаляционного воздействия отмечено увеличение содержания белка и щелочной фосфатазы при высокой концентрации НЧ (40 мг / кг). При низкой концентрации НЧ (4 мг / кг) отмечено лишь увеличение щелочной и кислой фосфатаз без повышения уровня белка и ЛДГ, что свидетельствует

о менее выраженном воспалении и отсутствии признаков цитолиза [48]. При ингаляционном воздействии низкой концентрации НЧ TiO₂ (0,4 мг/кг) авторы не выявили признаков острой легочной токсичности. При этом отмечено, что наряду с размером НЧ важную роль в легочной токсичности имеет их внешняя поверхность и степень их агрегации. Изучение хронического ингаляционного воздействия НЧ TiO₂ на мышью выявило развитие фиброза и эмфиземы легких [49]. Однократное пероральное введение НЧ TiO₂ размером 25 нм и 80 нм в дозе 5000 мг / кг мышам вызывает их накопление в селезенке, почках и легких, повышение в сыворотке крови ЛДГ и α -гидроксibuтиратдегидрогеназы (25 нм), а также увеличение печени и некроз гепатоцитов (80 нм). Показано, что токсичность НЧ TiO₂ определяется не только их размером, но и формой. НЧ дендрической и веретенообразной формы обладают более высокой цитотоксичностью по сравнению с частицами сферической формы [42]. Высокая токсичность НЧ TiO₂, их длительная биоперсистенция вызывают опасения за безопасность косметической и другой продукции, где НЧ диоксида титана широко применяются.

Ингаляционное воздействие НЧ ванадия на животных, а также их воздействие на культуру эпителиальных клеток легких также вызывает токсические эффекты [50]. Авторы связывают токсичность НЧ ванадия с их высокой внешней реактивностью, вызывающей развитие окислительного стресса как в легочных макрофагах, так и в эпителиальных клетках легких. Даже низкие концентрации НЧ ванадия (10 мкг / мл) при однократном воздействии почти в 10 раз снижают *in vitro* жизнеспособность эпителиальных клеток (A 549).

Ингаляционное и пероральное воздействие НЧ меди при изучении острой токсичности выявило высокую зависимость токсического эффекта от размера частиц [51, 53, 54]. Отмечено, что низкие концентрации НЧ меди потенцируют токсичность других элементарных химических веществ при воздействии на легочные клетки человека [54]. Пероральное воздействие НЧ меди нарушает кислотно-щелочной баланс крови и вызывает развитие метабо-

лического алкалоза [51,52], дегенеративные изменения в печени, мозговой ткани и в почках (признаки гломерулонефрита). Отмечено, что водорастворимые НЧ меди обладают ультравысокой токсичностью [54], вызывают генетические и морфологические изменения, характерные для болезни Вильсона [53]. НЧ и иончастицы меди в гидроксиполиметилцеллюлозе К4М, являющейся суспензирующей основой, более токсичны, чем микрочастицы. Параметры токсикометрии для крыс при пероральном введении: DL_{50} для НЧ меди — 413 мг/кг; DL_{50} для иончастиц меди — 110 мг/кг; DL для микрочастиц меди — 5000 мг/кг. У большинства животных, получавших НЧ меди, наблюдали выраженные симптомы поражения желудочно-кишечного тракта — снижение аппетита, диарею, рвоту. У животных, получавших иончастицы меди, наблюдали вялость, олигопноэ, тремор, опистотонус. При экспозиции НЧ меди в растворе гидроксиполиметилцеллюлозы К4М перорально в дозе 1080 мг/кг у экспериментальных животных при некропии отмечено изменение цвета почечной ткани на бронзовый, а также гибель клеток проксимальных канальцев, гломерулонефроз, массивный некробиоз, в селезенке — очаги атрофии и изменение цвета. Отмечены также биохимические сдвиги в виде повышения уровня в крови мочевины, креатинина, общих желчных кислот и щелочной фосфатазы, свидетельствующие о почечной и печеночной дисфункции [5].

Исследование цитотоксичности НЧ оксида цинка (71 нм) на культурах клеток бронхоальвеолярной карциномы человека выявило снижение жизнеспособности клеток и наличие дозозависимого эффекта при концентрации 10-14 мкг/мл в течение 24 ч. [37]. Выявлено, что основной цитотоксический эффект НЧ является формирование оксидативного стресса и цитоллиза, индикаторами которых были повышенный уровень малонового диальдегида и ЛДГ. Кроме того, при проведении электрофореза одиночных клеток в геле была установлена способность НЧ оксида цинка вызывать повреждения ДНК. Аналогичный дозозависимый цитотоксический эффект на фоне нарастания оксидативного стресса выявлен авторами

при экспозиции НЧ диоксида кремния размером 15 и 46 нм *in vitro* на культуре клеток бронхоальвеолярной карциномы человека. При изучении токсичности НЧ золота на эмбрионах гиреллы полосатой установлено, что НЧ золота размером 1,5 нм при экспозиции в течение 5 дней вызывают гибель эмбрионов в концентрации 10 ppm, а размером 0,8 нм. — в концентрации 400 ppm. Выраженный тератогенный эффект проявлялся уже при концентрации НЧ золота 50 ppm вне зависимости от их размера [80]. Оценка токсичности НЧ марганца показала, что их взаимодействие с клетками РС-12 вызывает снижение содержания дофамина, а при воздействии на экспериментальных животных — появление нейродегенеративных нарушений уже через 2-3 недели экспозиции [4,81].

При изучении токсичности НЧ серебра (Ag), алюминия (Al), молибдена (Mo) и других веществ выявлен достаточно четкий дозозависимый эффект. Культивирование клеток печени крысы линии BRL 3A в течение 24 ч. в присутствии НЧ Ag (15 и 10 нм) в концентрации 5-50 мкг/мл вызывает нарушение функционального состояния митохондрий [82,83]. НЧ Fe_3O_4 (30 и 47 нм), Al (30 и 103 нм), MgO_3 (30 и 150 нм) и TiO_2 (40 нм) в концентрации 10-50 мкг/мл не влияли на состояние

культивируемых клеток, а в концентрации 100-250 мкг/мл снижали их жизнеспособность и стимулировали выход ЛДГ в культуральную среду. НЧ Ag индуцировали генерацию активных форм кислорода, снижение содержания Г-SH и мембранного потенциала митохондрий. Авторы считают, что цитотоксические эффекты НЧ серебра, алюминия и оксидов металлов опосредуются оксидативным стрессом.

Особая цитотоксичность НЧ серебра выявлена при их воздействии на стволовые сперматогониальные клетки млекопитающих (предшественники сперматозоидов) и стволовые клетки, находящиеся в волосяных фолликулах, поражение которых может вызвать тотальную алопецию и полное отсутствие ногтевых пластинок [84]. Авторы предложили использовать в качестве модели для оценки цитотоксичности НЧ Ag и ряда других НЧ сперматогониальные клетки яичек 6-ти дневных мышей. Сравнительная оценка цитотоксичности НЧ серебра, молибдена, алюминия и кадмия при экспозиции со стволовыми клетками яичек в течение 48 ч. выявила наиболее высокую токсичность у НЧ серебра и кадмия (рис.2).

Если при инкубации клеток с любой концентрацией НЧ молибдена морфологические изменения почти не зафиксированы, то при

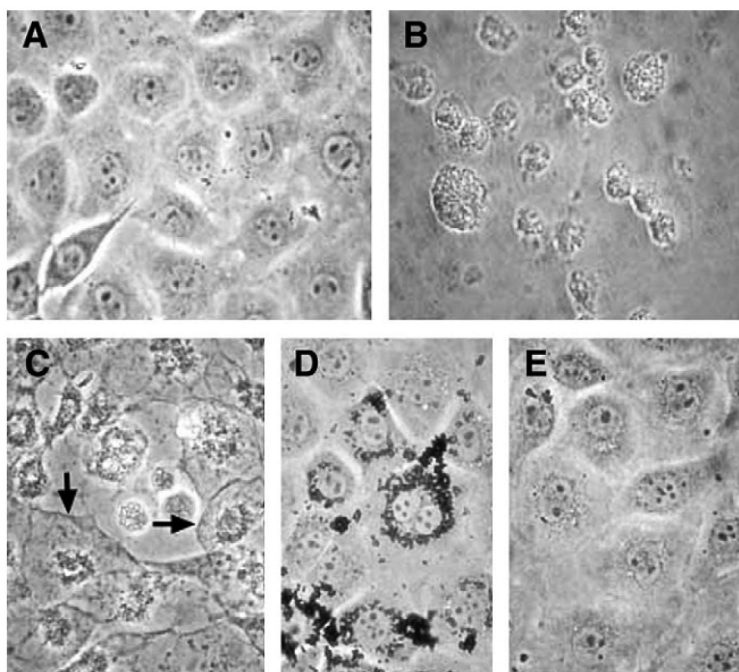


Рис. 2. Морфологические нарушения в сперматогониальных стволовых клетках яичка после инкубации с НЧ (10 мкг/мл). А — контроль, В — НЧ окиси кадмия, С — НЧ серебра, D — НЧ алюминия, E — НЧ молибдена [84].

воздействии НЧ кадмия выявлен четкий дозозависимый цитотоксический эффект. Уже при концентрации их 1 мкг/мл сперматогониальные клетки сморщивались, их количество уменьшалось. В концентрации НЧ кадмия выше 5 мкг/мл наблюдалась гибель большинства клеток. НЧ алюминия в концентрациях ниже 10 мкг/мл не вызывали некроз, однако наблюдалось их скопление и агрегация в цитоплазме клеток без проникновения в ядро. Наиболее выраженные морфологические сдвиги с гибелью большинства сперматогониальных клеток выявлены при их инкубации с НЧ серебра в концентрации 10 мкг/мл. Уже через сутки после воздействия выявлялись нарушения митохондриальной функции клеток и их жизнеспособности. Токсическое воздействие НЧ серебра и кадмия на сперматогенез выявлено также у экспериментальных животных [84,85]. Токсические эффекты частиц серебра в нанофазе вызывают особые опасения, так как НЧ серебра с бактерицидной целью более 10 лет применяются в медицине в костных имплантатах, перевязочных и других материалах [85]. Так как НЧ чрезвычайно биоперсистентны, нельзя исключить их роль в формировании, а в последующем нарушении сперматогенеза у мужчин, что несомненно требует дальнейшего доклинического изучения. В нашей практике встречались больные с тотальной алопецией и полным отсутствием ногтевых пластинок у рабочих, которые в течение 6-20 лет занимались переплавкой серебра или платины. Нельзя исключить, что развитие тотальной алопеции у этих лиц возникало вследствие воздействия НЧ серебра и платины, образующихся при высокотемпературных процессах, на стволовые клетки волосяных фолликулов.

Изучение влияния НЧ кадмия на культуру крысиных остеобластов показало, что НЧ кадмия ингибируют пролиферацию, дифференциацию и минерализацию клеток, а также активируют апоптоз, препятствуя таким образом формированию кости [100]. Изучение воздействия НЧ и малых кварцевых частиц показало, что токсичность больше связана не с размером частиц, а со свойствами их поверхности [43]. При

ингаляционном введении крысам частиц кварца диаметром от 12 до 500 нм и последующем анализе бронхоальвеолярного лаважа выявлены признаки цитотоксичности и воспалительных изменений, больше коррелирующие с поверхностной активностью НЧ. При исследовании легочной ткани через 24 часа — 3 мес. после воздействия обнаружено накопление макрофагов, воспалительные изменения, признаки фиброза паренхимы легких и формирование гранулем [43]. Отмечено, что мезопористые кварцевые НЧ вызывают зависимость от их размера изменения в дендритных клетках человека [76].

Изучение цитотоксичности НЧ диоксидов кобальта, никеля, титана и кремния на культуре эндотелиальных клеток человека *in vitro* выявило дозозависимое снижение жизнеспособности клеток больше при воздействии НЧ кобальта и никеля, что сопровождалось экспрессией провоспалительных цитокинов (интерлейкина-8, Е-селектина и ICAM-1) [122]. Одновременно у НЧ кобальта выявлен проангиогенный эффект, который может способствовать формированию канцерогенеза. Изучение влияния данных НЧ на функцию макрофагов при воздействии липополисахаридов показало снижение антибактериальной фагоцитарной активности [122,123]. Кроме того, крысам в мышцы спины были имплантированы металлические диски, содержащие диоксиды кобальта, никеля, титана, кремния в виде обычных образцов и диски, содержащие наноматериалы. Гистологическое исследование через 6 и 12 месяцев показало, что диски, содержащие кобальт и никель в

нанофазе индуцировали в мышцах спины крыс развитие рабдомиосаркомы, тогда как в месте обычных металлических имплантатов всех испытанных металлов наблюдался лишь фиброз капсулы [125].

А. Gatti et al [124,125,129] изучали также наличие НЧ и их спектральный состав в гистологических препаратах биопсий раковой ткани печени, легких, толстой кишки и лимфоузлов у 400 прооперированных онкологических больных, трудовая деятельность которых чаще всего была связана с воздействием канцерогенов. Авторам удалось обнаружить наличие НЧ в цитоплазме или ядре раковых клеток и получить спектральную характеристику их химического состава. Фотографии данных НЧ представлены на рис. 3 — 10. При этом авторы отмечают, что нельзя убедительно утверждать или отрицать роль именно этих НЧ в развитии злокачественных заболеваний у прооперированных больных. Во всяком случае, при профессиональном раке идентификация НЧ в гистологических препаратах опухоли может быть дополнительным диагностическим тестом. Авторы подчеркивают, что в тканях опухолей с НЧ чаще выявлялись более злокачественные низкодифференцированные формы рака.

Эти же исследователи изучали наличие НЧ в крови, сперме и фолликулярной жидкости у солдат войны в Персидском заливе с необычной патологией, не укладывающейся в синдромологию известных заболеваний [123,125]. Авторы обнаружили НЧ углерода, вольфрама, свинца, кобальта и др. в биосредах солдат и считают, что их заболевания являются "нанопатологией",

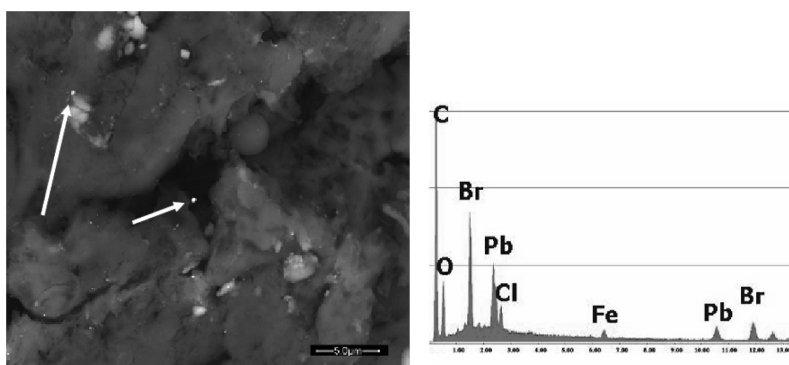


Рис. 3. Наночастицы свинца в лимфоузле у больного с лимфомой Ходжкина [125]

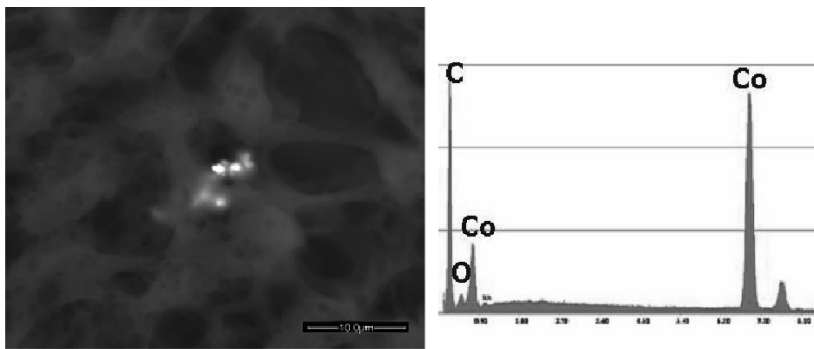


Рис. 4. а. Наночастицы кобальта в раковой ткани мочевого пузыря [125]

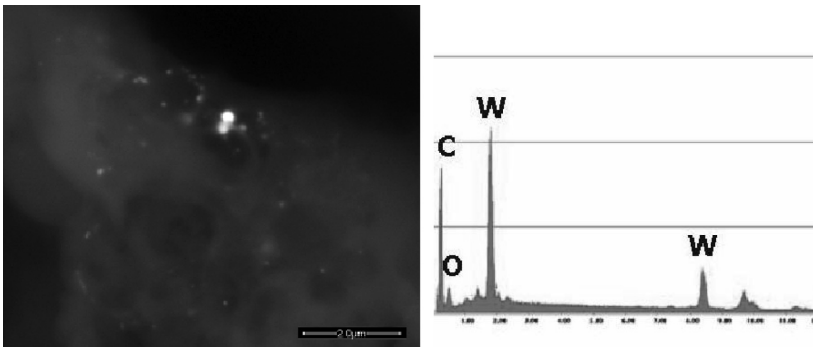


Рис. 4 б. Наночастицы вольфрама в раковой ткани мочевого пузыря [125]



Рис. 5. Силикатная гранулема печени у больного, связанного с профессиональным воздействием наносиликата [125]

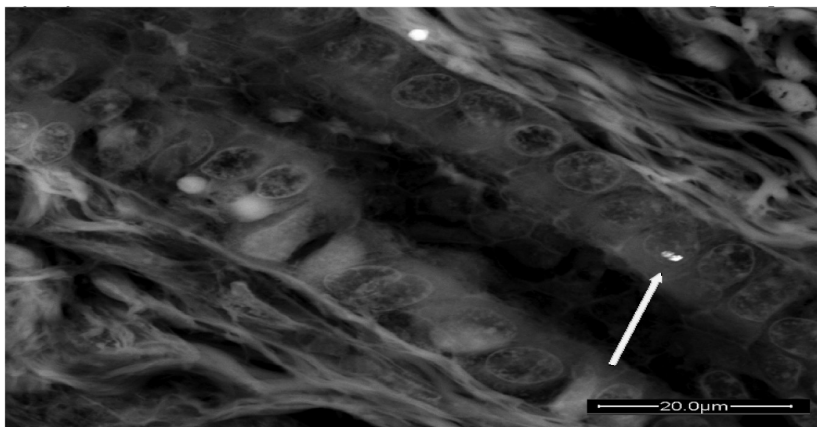


Рис. 6. Наночастицы титана в ядрах клеток раковой ткани печени [124]

обусловленной воздействием НЧ, которые возможно образовывались при взрывах бомб с небогащенным ураном, а также при взрывах вольфрамового оружия или при горении нефтяных скважин.

В последние годы появился ряд исследований, свидетельствующих о токсических эффектах НЧ углерода как при ингаляционном, так и при пероральном воздействии. Атом углерода обладает особой уникальностью, так как в отличие от других элементов способен образовывать различные типы химической связи за счет гибридизации S- и P-орбиталей. Еще Д.И. Менделеев отметил, что среди летучих соединений углерода хорошо известны такие, частицы которых содержат C_2 , C_{10} , C_{20} , C_{30} и до C_n , где n может быть весьма велико, и ни в одном из элементов не развита в такой мере способность к усложнению как в углероде. Этим определяется свойство углерода к образованию значительного числа аллотропов. В настоящее время разработаны и широко используются во многих отраслях промышленности и нанотехнологии различные углеродные наноматериалы: фуллерены и фуллериты, содержащие пяти- (пентагоны C_5) и шестичленные (гексагоны C_6) циклы, нанотрубки (одно- и многослойные) цилиндры, стенки которых образованы гексагонами C_6 , графитовые ленты, кристаллообразующие кластеры C_{16} , C_{24} , C_{60} и т.д., шварциты, шварцаны, торроиды, нанотубулярные кристаллы, наноалмазы и другие наноматериалы [1, 58], производство которых в различных странах уже составляет сотни и тысячи тонн в год, что повышает остроту проблемы безопасности рабочих мест, производственных отходов и объектов окружающей среды.

В медицине углеродные наноматериалы широко используются как для целевой доставки лекарств и вакцин, так и для дозированного их поступления в организм, а также в качестве носителей определенных локусов генов, биосенсоров, био-датчиков и др. [1, 4, 59]. Особенно широко используются углеродные нанотрубки (УНТ). УНТ обладают уникальными свойствами: их прочность в 100 раз больше стали, упругость значительно больше, чем у резины, теплопроводность в 2 раза выше, чем у алмаза, электропровод-

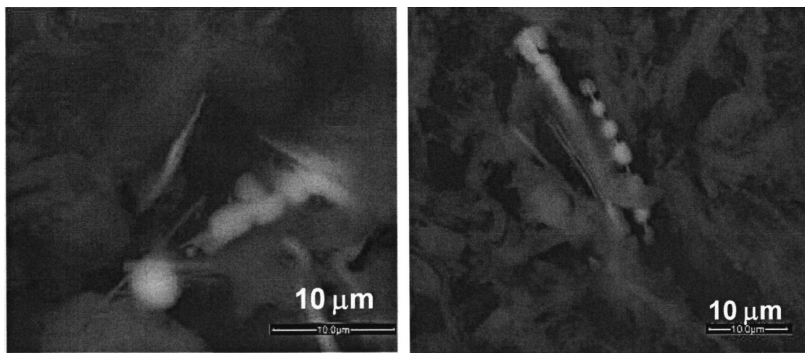


Рис. 7. Нановолокна асбеста в ткани мезотелиомы плевры [125]

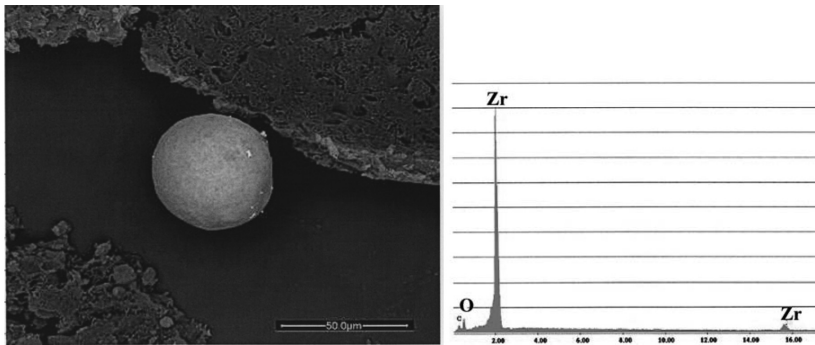


Рис. 8. Наночастицы циркония в ткани аденокарциномы желудка [125]

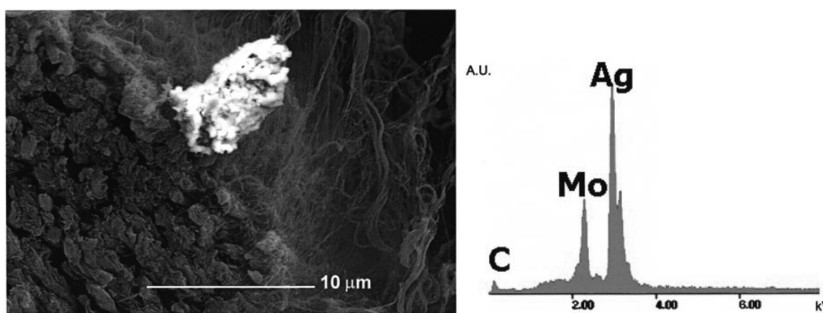


Рис. 9. Наночастицы серебра и молибдена в ткани аденокарциномы кишечника, "индустриальный гамбургер" [129]

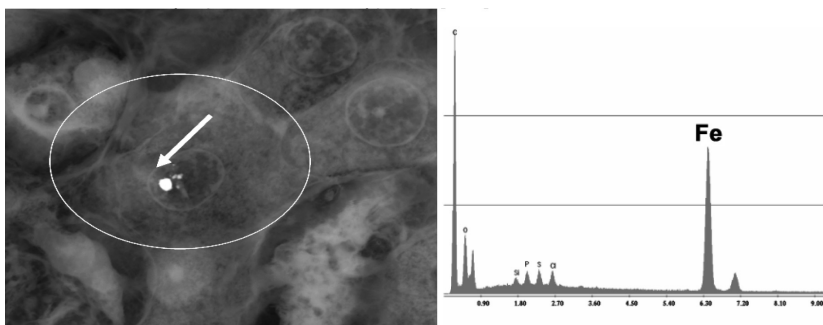


Рис. 10. Наночастицы железа в раковой ткани печени у сварщика [124]

ность в 100 раз выше, чем у меди и при этом отмечена высокая тугоплавкость УНТ (температура плавления — 2700°C) [1,66]. Показано, что распространение, метаболизм, выделение и токсичность УНТ зависит от их длины, диаметра, поверхности, растворимости, способности к накоплению в организме, содержа-

ния в них в виде примесей металлов (Ni, Co, Cr и др.) [1, 4, 61, 62]. Показано, что при однократном интратрахеальном введении образца УНТ, содержащих Ni (25,99 %) и йод (5,01 %) в дозе 1 мг/кг, никаких клинических и патоморфологических изменений у животных не выявлено [60, 61]. Однако при введении этих

же образцов веществ в дозе 5 мг/кг 50 % животных гибло на 7 день и 60 % — на 90 день. У животных наблюдалась вялость, снижение аппетита и массы тела до 30 %. В легочной ткани у всех животных, подвергшихся экспозиции УНТ в дозе 5 мг/кг, при некропии на 90 день обнаружены широко распространенные равномерные вкрапления частиц черного цвета, генерализованное поражение легких с признаками фиброза и некроза, явлениями интерстициального и перибронхиального воспаления с вовлечением в воспалительный процесс альвеол. В легочной ткани животных, погибших на 7 и 90 день, отмечалась агрегация частиц черного цвета на макрофагах в альвеолярном пространстве, а также формирование в легких множественных гранул. Большинство микроскопических гранул локализовалось под эпителием бронхов, а некоторые — на бронхах в виде полипов. Гранулы представляли собой конгломерат макрофагов, нагруженных черными частицами, с небольшим количеством лимфоцитов и лейкоцитов (преимущественно сегментоядерных нейтрофилов) [61]. При исследовании токсичности УНТ, содержащих железо (26,9 %), в дозе 5 мг / кг случаев летальности среди животных не отмечалось, наблюдались средней степени выраженности вялость, гипотермия, тремор при прикосновении, пилоэрекция, которые наиболее ярко проявились через 8-12 ч. после экспозиции. В легочной ткани у животных при некропии также были обнаружены гранулы.

Обобщение результатов исследований патогенных эффектов одностенных УНТ показало [63], что при их интратрахеальном введении морским свинкам на протяжении 3 месяцев возникает развитие облитерирующего бронхолита и неспецифической интерстициальной пневмонии с умеренным перибронхиальным фиброзом. Отмечено накопление в бронхоальвеолярном лаваже клеток воспаления и интерлейкина-8, выраженность которого зависела от типа наноматериала. Интратрахеальное введение однослойных УНТ мышам также приводит к формированию фиброзных изменений в легких через 90 дней [63]. В то же время при исследовании цитотоксичности различных образцов

УНТ при однократном воздействии на клетки эпителия пупочной вены человека не выявлено цитотоксического действия ни у одного из изученных образцов [65]. Donaldson K. et al. [66] отмечают неординарную легочную токсичность УНТ. Особое внимание уделяют специфической способности УНТ к стимулированию пролиферации мезенхимальных клеток, индуцированию формирования гранул как в легких, так и в печени, развитию фиброза и высказывают опасения об их потенциальном канцерогенном риске (обнаружили признаки формирования мезотелиомы брюшины). Авторы также связывают токсические эффекты УНТ с формированием окислительного стресса и воспаления и высказывают мнение о необходимости углубленного изучения их токсикологии и создания специфических средств защиты у работающих [112, 113, 115, 116, 117]. Особое внимание уделяют важности доклинического изучения их токсических эффектов при использовании в медицине (особенно в качестве носителей лекарств, стволовых клеток и др.). Отмечено, что среди разных параметров углеродных наноматериалов площадь их поверхности является наиболее важной в прогнозировании цитотоксического эффекта [115, 116, 118], причем наиболее сильным данный эффект с возникновением апоптоза/некроза оказывался в опытах с применением очищенных одностенных УНТ [67, 68, 69, 70, 118, 119, 120].

Изучены структура и функционирование белков при контакте с углеродными наноматериалами (НЧ, нанопроволокой и УНТ), в том числе при иммобилизации на носителях [71]. Показана возможность использования таких взаимодействий для: 1) создания биосенсоров, диагностической визуализации; 2) сборки наноматериалов с помощью белков и белковых структур; 3) изучения и терапевтического применения взаимодействия клеток с наноматериалами (при доставке лекарств, исследовании фармакокинетики). В то же время показано, что токсичность углеродных материалов, обработанных белком, значительно возрастает вследствие повышения их способности проникать в клетки, что нужно учитывать при использовании их в качестве носителей [71, 72].

Раздражающие и аллергизирующие эффекты УНТ на кожу изучены недостаточно. Предпринята попытка изучения влияния на кожу сажи, содержащей УНТ [74]. У 40 добровольцев проводили аппликационный тест, а также у 4 кроликов-альбиносов проведено исследование влияния УНТ на слизистую оболочку глаз животных. Однократное воздействие не выявило патологических реакций, что позволило авторам сделать вывод, что сажа, содержащая УНТ с неизвестной концентрацией, не вызывает раздражающей или аллергической реакции.

Изучение влияния углеродных наноматериалов на культуру клеток кожи показало зависимость их цитотоксичности от размера, поверхности, растворимости, степени биоперсистенции [73, 116]. Авторы отмечают различия во влиянии отдельных видов наноматериалов на культивируемые кератиноциты в следующих тестах оценки токсического воздействия: в тесте захвата нейтрального красного, в тетразолиевом тесте, при использовании трансмиссионной электронной микроскопии, что обуславливает необходимость комплексного тестирования при оценке токсических эффектов углеродных наноматериалов.

В настоящее время в медицине изучено проникновение через интактную кожу НЧ, изготовленных из углеродных и полимерных материалов, которые могут использоваться для трансдермальной доставки лекарственных средств. Методом конфокальной микроскопии при нанесении на кожу эллипсоидных наносфер (4,6x12 нм), покрытых полиэтиленгликолем, показано их проникновение через роговой слой и накопление в эпидермисе и дерме через 8 часов [76]. Покрытие наносфер оболочкой из карбоновых кислот замедляет их проникновение в глубокие слои кожи [116].

Исследование *in vitro* биосовместимости УНТ показало, что при культивировании фибробластов и остеобластов в присутствии УНТ снижения жизнеспособности клеток не обнаружено [68]. Секретиции интерлейкина-6 и генерации свободных радикалов в присутствии УНТ не отмечено, но воздействие УНТ индуцировало повышенный синтез фибробластами и остеобластами коллагена [68], что способствует

ет развитию фиброза. Показано, что подвергнутая воздействию УНТ кровь проявляет повышенную способность индуцировать миграцию макрофагов [69]. НЧ углерода индуцируют образование в крови хематоксического фактора с участием механизма, сопряженного с индукцией активных форм кислорода. Наноматериалы на основе углерода и содержащие в своем составе многочисленные УНТ, нановолокна и НЧ токсичны также в отношении клеток легких в условиях *in vitro*, причем цитотоксическое действие этих материалов зависит от их размера, и этот эффект усиливается после кислотной обработки их поверхности [61, 70]. При воздействии УНТ на макрофаги крысы и клетки легких человека в течение 24 ч. в концентрации 10-100 мкг/мл сопровождается проникновением УНТ в цитоплазму клеток и снижением их жизнеспособности, регистрируемой в тетразолиевом тесте [78]. Инкубация клеток с УНТ приводит к внутриклеточному накоплению активных форм кислорода и к снижению мембранного потенциала митохондрий. Авторы считают, что обнаруженные эффекты УНТ в определенной степени связаны с присутствием в них следов металлов. Выявлены повреждения ДНК, индуцируемые УНТ в эмбриональных стволовых клетках мышей [78], что должно настораживать исследователей, пытающихся использовать УНТ в качестве носителей стволовых клеток. Показано, что одностенные УНТ токсичнее многослойных УНТ и фуллеренов [66], причем их высокая цитотоксичность (с нарушением морфологии клеток, митохондриальной и фагоцитарной функции) обнаруживается даже в низкой концентрации (0,38 мкг/см²).

Механизм токсического действия углеродных и других НЧ изучен недостаточно. Большинство авторов связывают токсические эффекты НЧ с формированием окислительного стресса и накоплением свободнорадикальных продуктов [2, 4, 113, 114, 117]. При изучении токсичности НЧ углерода установлен более высокий уровень экспрессии факторов некроза опухоли (TNF α , NF- κ B) в лимфоцитах, непосредственно подвергнутых воздействию углеродных НЧ после их выделения из крови, по отношению к уровню

экспрессии этих факторов в необработанных НЧ лимфоцитах [88]. В лимфоцитах, выделенных из крови, подвергнутой обработке углеродными НЧ, изменение экспрессии белков TNF α и NF- κ B было несколько меньше. Можно предположить, что активация экспрессии белков TNF α и NF- κ B в лимфоцитах индуцируется на транскрипционном уровне и является звеном в цепи возникновения и передачи генотоксического сигнала, инициируемого углеродными НЧ. G. Oberdorster et al [4,119] считают, что в механизме цито- и генотоксичности НЧ участвуют кальцийзависимые реакции и металлы с переходной валентностью, при этом могут быть задействованы такие патогенетические пути: а) реактивная поверхность НЧ, взаимодействуя с рецептором клетки, вызывает окисление протеинов и липидов клеточной мембраны, накопление продуктов перекисидации на фоне истощения антиоксидантов, приводящее к повышению внутриклеточного кальция и активации гена; б) в результате окислительного стресса освобождаются металлы с переходной валентностью, вызывающие повышение внутриклеточного кальция и активацию гена; в) рецепторы клеточных мембран активизируют металлы с переходной валентностью, что сопровождается активацией гена; г) внутриклеточный транзитоз НЧ в митохондрии индуцирует внутриклеточный окислительный стресс и экспрессию гена. Предполагаемый механизм клеточного взаимодействия в развитии воспаления при воздействии НЧ представлен на рис. 11.

При воздействии углеродных НЧ — фуллеренов (Ф) в митохондриях накапливается их производное — фуллеренкарбоновая кислота [92]. Ф включаются в молекулы белков, это происходит в комплексе с полимерами, например, с поливинилпирролидоном. И это свойство присуще только конкретному Ф. Показано, что молекулы Ф в таких комплексах имеют разные размеры, заряды, гидрофобность, что свидетельствует о необходимости оценки токсичности каждого образца Ф в отдельности. Токсичность Ф повышается при световом облучении, что связано с генерацией свободнорадикальных форм кислорода. Ф снижают активацию сигнальных молекул

отдельных клеток. Это их свойство пытаются использовать для снижения аллергических реакций. Исследовано влияние Ф (C₆₀Ф) на аллергические реакции тучных клеток (ТК) и базофилов (Бф) человека в культуре *in vitro* [93]. Показано, что C₆₀Ф оказывают угнетающее действие на зависимое от IgE освобождение медиаторов ТК и Бф. Эффект реализуется через снижение активации сигнальных молекул, вовлекаемых в освобождение медиаторов и индукцию окислительного стресса. Под влиянием Ф угнетается фосфорилирование тирозина в клетках, подвергнутых воздействию аллергена. Предварительная инкубация ТК и Бф с Ф подавляет зависимое от IgE увеличение уровня цитоплазматических реактивных форм кислорода. На модели анафилактики показано, что Ф подавляют освобождение гистамина и температурную реакцию [93]. В то же время отдельные авторы предупреждают об опасности применения углеродных НЧ (УНТ, фуллеренов и других) с лечебной целью, особенно с целью биодетоксикации [94]. Известно, что для лечения многих отравлений химической этиологии специфичных антидотов не существует и терапия базируется на промывании желудка, назначении активированного угля или других энтеросорбентов и обычных мерах детоксикации.

Перспективной стратегией лечения отравлений является инъекция или пероральное применение наноносителей, способных экстрагировать токсины из пораженных тканей. Авторы считают, что для того чтобы быть эффективными, такие наноматериалы должны оставаться в кровеносном русле достаточно долго, чтобы сорбировать токсины и их метаболиты, а комплексы с токсинами должны быть стабильными, вплоть до удаления из кровяного потока. Отмечено, что на сегодняшний день еще нет безопасных и эффективных наноносителей для биодетоксикации, в том числе и на основе углеродных НЧ.

Как *in vivo*, так и *in vitro* показано, что цитотоксичность НЧ углерода (фуллеренов, УНТ, квантовых точек и других наноструктур), а также НЧ других химических веществ, особенно при воздействии ультрафиолетового облучения или в присутствии металлов с переходной валентностью, обусловлена формированием реактивных свободнорадикальных форм кислорода вследствие окисления белков и перекисидации липидов [4, 89, 90, 91, 116, 117, 118]. Если низкие концентрации НЧ вызывают умеренный прооксидантный эффект на фоне активации факторов антиоксидантной защиты: каталазы, окисленного и восстановленного глутатиона, су-

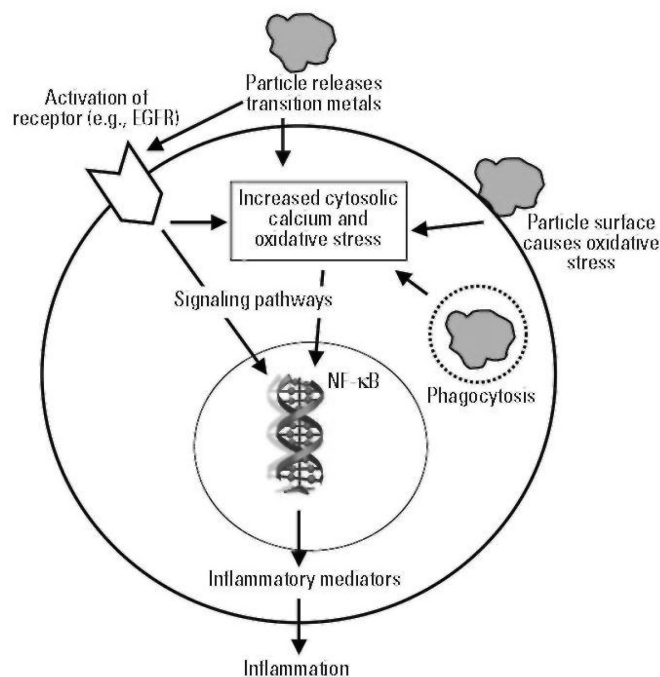


Рис. 11. Схема клеточного взаимодействия при воздействии наночастиц [4].

пероксидазы и активной индукции синтеза мощного антиоксиданта — металлотиионеина [79, 113, 114, 117], то высокие концентрации НЧ вызывают окислительный стресс и угнетение большинства факторов антиоксидантной системы, при этом уровень металлотиионеина может быть высоким, схематично эти процессы представлены на рис. 12. Выражение "доза делает яд" при воздействии НЧ может быть перефразировано на выражение "доза делает механизм", при этом токсичность с формированием воспалительных реакций зависит не столько от дозы, сколько от поверхности и химического состав НЧ. Установлено также существенное влияние на цитотоксичность водорастворимости НЧ, неводорастворимые НЧ (особенно менее 25 нм) нередко обладают ультратоксичностью [78]. Уровень цитотоксичности НЧ оксидов железа, циркония, церия или титана также зависит от растворимости НЧ и степени выраженности прооксидантных эффектов.

териалы, такие как магнетит (Fe_3O_4) широко используются в методах визуализации, разделения или лечения онкопатологии [95, 96], но учитывая их ферментоподобную активность и длительную биоперсистенцию, нельзя исключить их влияние и на метаболические процессы.

Выявленная зависимость от действия НЧ железа дестабилизация лизосом инициирует вызываемый кремнеземом апоптоз макрофагов мыши [98]. Показано, что инкубация мышинных макрофагов линии J 774 в течение 6 час. в присутствии α -частиц кварца в концентрации 100 мкг/см² сопровождается развитием некротических изменений клеток с развитием в последующие 6-12 час. апоптоза, при этом проникновение частиц внутрь не обнаружено. При инкубации клеток с покрытыми сывороткой α -частицами кварца отмечено их активное проникновение внутрь клеток, интенсивность которого зависела от количества связанного с сывороткой железа. В эти сроки отмечено

Установлено, что частицы модифицированных наноалмазов (МНА) вызывают разнообразные токсические эффекты, включая гибель животных [97]. В длительных экспериментах пероральное введение гидрозолей МНА вызывает повышение уровня лейкоцитов в крови мышей, выраженность этого процесса зависит от концентрации МНА. Обнаруженный эффект связывают с иммунным ответом, который реализуется через взаимодействие МНА с макрофагами.

В медицине используются наноструктуры различной формы, размера и состава. Остается неясным, как клетки взаимодействуют с наноструктурами на молекулярном уровне. Показано, что НЧ золота и серебра, покрытые антителами, могут регулировать процесс проникновения в ткани через мембранные рецепторы [39]. Связывание, активация мембранных рецепторов и последующая экспрессия белков в значительной степени зависят от размера НЧ [39], при этом все НЧ из-

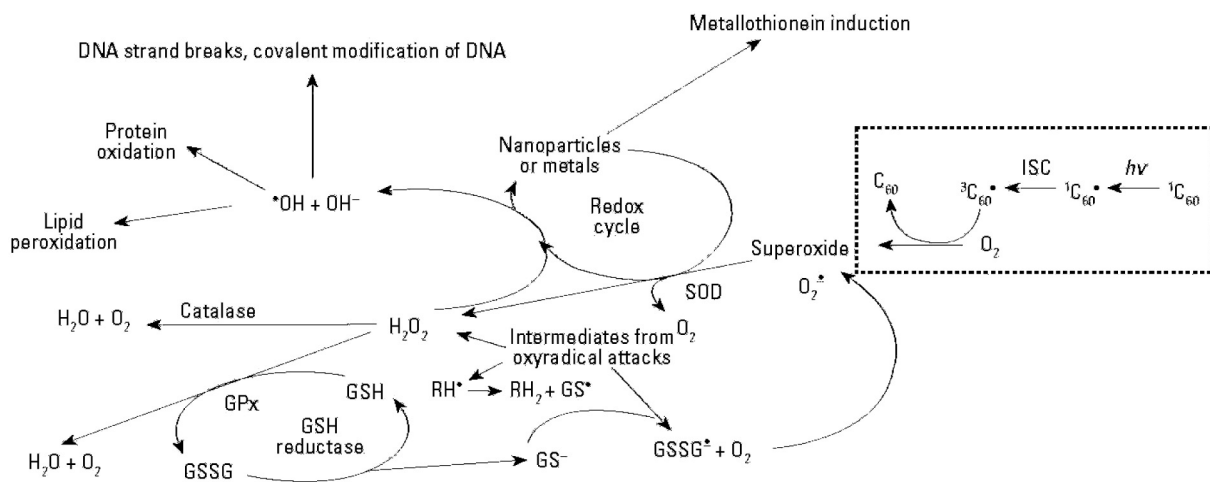


Рис. 12. Оксидантные и антиоксидантные эффекты НЧ [4]

Обнаружено, что магнитные НЧ обладают ферментоподобной активностью, аналогичной активности пероксидаз, применяемых для очистки сточных вод и в методах детекции [95]. Разработан новый иммуноанализ, в котором модифицированные антителами или белком А магнитные НЧ выполняют три функции: захвата, разделения и детекции. Изучение механизмов пероксидазной активности НЧ Fe_3O_4 показало, что ключевую роль играют ионы железа Fe^{2+} [95]. НЧ, содержащие магнитные ма-

также возникновение структурных нарушений лизосом, что было обусловлено индукцией окислительных реакций фентоновского типа, катализируемых железом. Преинкубация клеток с хелаторами Fe предотвращала дестабилизацию лизосом и развитие апоптоза при последующем воздействии α -частиц кварца, покрытых содержащей Fe сывороткой. Авторы считают, что повреждение лизосом является пусковым механизмом развития апоптоза при воздействии НЧ.

меняют сигнальную трансдукцию. Наибольшее влияние оказывают НЧ размером 40-50 нм [4, 128, 129].

В механизме токсического действия НЧ меди определенную роль играет формирование метаболического алкалоза [4]. Показано, что НЧ меди длительно сохраняются в желудке, где реагируют с желудочным соком, вызывают истощение H^+ и способствуют развитию метаболического алкалоза с повышением рН артериальной крови. Эти процессы сопровождаются дис-

функцией почек с развитием гломерулонефрита. Особенно высокая токсичность выявлена у композитных наноматериалов. Биомедицинское применение композитных наноматериалов в ряде случаев ограничивается из-за их цитотоксичности [99].

На основании анализа результатов исследований по оценке токсичности наноматериалов [4, 8, 9, 10, 43, 61, 66, 125] в табл.1 представлены обобщенные данные по изучению их токсических и патофизиологических эффектов.

Обобщение результатов исследований по изучению содержания 413 токсичных химических веществ в

что свидетельствует о необходимости совершенствования подходов к оценке риска. Особую настороженность вызывает факт обнаружения НЧ в продуктах питания: из 200 изученных продуктов различные НЧ обнаружены в более 100 наименованиях продуктов животного и растительного происхождения [125].

Следует отметить, что до настоящего времени отсутствуют стандартизованные индикаторы нанотоксичности, которые должны учитывать такие характеристики: площадь поверхности, размер, форма, состав, химическая реактивность составляющих их частиц. Имеются лишь отдельные сведения об органах-мише-

их проникновению через биологические мембраны и барьеры организма, распределению по органам, накоплению в жировой ткани и др. органах, выведению из организма. Токсикологическая оценка НЧ должна проводиться с изучением острой, подострой и хронической токсичности с проведением комплекса специальных исследований, включающих тестирование генотоксичности, мутагенности, тератогенности, канцерогенности и репродуктивной токсичности, а также оценку влияния наноматериалов на геномный (экспрессия генов), протеомный и метаболомный профиль организма.

Таблица 1

Основные токсические и патофизиологические эффекты НЧ и наноструктур

Токсические эффекты	Патофизиологические реакции
Окисление белков и липидов, развитие окислительного стресса, ингибция антиоксидантов	Нарушения клеточных и внутриклеточных мембран, увеличение внутриклеточного кальция, экспрессия протеаз, энзиматические сдвиги, образование аутоантигенов
Повреждение митохондрий	Апоптоз, апонекроз, энергодефицит, цитотоксичность
Воспаление	Клеточная инфильтрация тканей, экспрессия провоспалительных белков острой фазы, цитокинов и протеаз, фиброз, грануломатоз, атерогенез
Биоперсистенция в ретикуло-эндотелиальной системе	Нарушения полиморфизма систем детоксикации, дисфункция печени, селезенки, лимфатических узлов
Проникновения в ядра клеток	Повреждения ДНК, экспрессия генов, генотоксические эффекты, нарушение синтеза нуклеопротеинов, образование аутоантигенов
Нейрональный и аксональный транспорт НЧ	Нейродегенеративные нарушения
Эндотелиальная дисфункция, нарушения системы гемостаза	Атерогенез, коагулопатии, тромбоз, риск инфарктов, инсультов
Нарушения иммунного гомеостаза и генерация неоантигенов	Адьювантные эффекты, аутоиммунные и аллергические реакции, иммунодефицит
Нарушения регуляции клеточного цикла	Пролиферация, ангиогенез, остановка клеточного цикла, старение, апоптоз
Повреждения ДНК	Мутагенез, метаплазия, канцерогенез

крови пуповины 10 новорожденных и в крови группы взрослых лиц [107] показало, что 329 веществ обнаружено в крови у взрослых и 287 — в крови пуповины, в том числе и ряд веществ в нанофазе. Отмечено, что 212 обнаруженных веществ относятся к запрещенным или к резко ограниченными для применения в США,

в действия конкретных НЧ. Недостаточно разработаны методы выявления, идентификации и количественного определения НЧ в объектах окружающей среды, пищевых продуктах и биосредах. Изучение уровня потенциальной опасности наноматериалов должно включать полный комплекс исследований по

Оценка потенциального риска влияния наноматериалов разной природы на здоровье человека неразрывно связана с изучением закономерностей проявления их биологических и токсических эффектов. Уже сегодня доказано, что токсичность изученных НЧ зависит от формы, размера, исходного матери-

ала, площади поверхности, заряда, дозы, пути введения, концентрации в области органа-мишени, растворимости и продолжительности воздействия [2,4,5,6,9,10]. До настоящего времени практически отсутствуют сведения по оценке возможных отдаленных эффектов НЧ, недостаточно изучено влияние на геном.

Особое внимание обращается на возможность формирования длительно существующих комплексов НЧ с белками с последующим изменением их функциональных свойств, проникновение в ЦНС и неподверженность НЧ размером меньше 20 нм фагоцитозу [4, 35, 126, 127]. Авторы считают, что целесообразно обратить внимание на необходимость оценки токсичности НЧ, используемых в медицине, на этапе их доклинического исследования как на культуре клеток *in vitro*, так и в

остром и хроническом эксперименте на животных, особенно перед использованием их в медицине в качестве носителей лекарств и в других целях. Важным является не только изучение вопросов потенциальной опасности использования наноматериалов и нанотехнологий, но и разработка критериев их безопасности для здоровья человека. В ряде стран Евросоюза, в США и России уже начаты работы по разработке нормативной и методической базы, направленной на оценку безопасности производства и использования продуктов нанотехнологий [4,6,12,13,14,130,131]. Авторы отмечают, что важнейшим объектом при оценке риска для здоровья, связанного с воздействием НЧ, является использование нанотехнологий при производстве электронной техники, строительных материалов, пищевых продуктов, парфюмерно-космети-

ческой продукции, носителей для лекарств и вакцин, как при непосредственном их использовании или употреблении, так и опосредованно вследствие поступления НЧ и наноматериалов в окружающую среду в процессе их производства. Оценка потенциального риска НЧ для здоровья человека должна базироваться на междисциплинарном подходе, иметь государственные рычаги управления. Несмотря на то, что наноматериалы уже используются более 10 лет, ни один вид наноматериалов не изучен в полном объеме на безопасность ни в одной из стран мира. Выявленные за последние 5 лет токсические и патофизиологические эффекты отдельных НЧ свидетельствуют о том, что выживаемость человечества в XXI веке в значительной степени будет зависеть от безопасности нанотехнологий и наноматериалов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Фостер Л. Нанотехнологии. Наука, инновации и возможности / Л. Фостер ; [пер. с англ.] — М : Техносфера, 2008. — 350 с.
2. Kagan V.E. Nanomedicine and nanotoxicology: two sides of the same coin / V.E. Kagan, H. Bayir, A.A. Shvedova // *Nanomedicine: nanotechnology, biology and medicine*. — 2005. — 1. — P. 313 — 316.
3. Dockery D.W. An Association between Air-Pollution and Mortality in 6 United States Cities / D.W. Dockery, X.P. Xu, J.D. Spengler // *New England J. of Medicine*. — 1993. — 329. — P. 1753 — 1759.
4. Oberdorster G. Nanotoxicology: An Emerging Discipline Evolving from Studies of Ultrafine Particles / G. Oberdorster, E. Oberdorster, J. Oberdorster // *Environmental Health Perspectives*. — 2005. — 7 (13). — P. 823 — 839.
5. Chen Z. Acute toxicological effects of copper nanoparticles *in vivo* / Z. Chen, H. Meng, G. Hing // *The J. of physical chemistry. Toxicology Letters*. — 2006. — 163. — P. 109 — 120.
6. Hoet P.M. Nanoparticles — known and unknown health risks / P.M. Hoet, I. Bruske-Hohlfeld, O.V. Salata // *J of Nanobiotechnology*. — 2004. — 2. — P. 12 — 18.
7. Chin-Wing Lam. Pulmonary toxicity of single-wall carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation / Chin-Wing Lam, John T. James, R. McCluskey // *Toxicol. Science*. — 2006. — 77. — P. 126 — 134.
8. Powers Kevin W. Characterization of nanoscale particles for toxicological evaluation / Kevin W. Powers, Scott C. Brown // *Toxicol. Science*. — 2006. — 90. — № 2. — P. 296 — 303.
9. El-Ansary A. On the toxicity of therapeutically used nanoparticles / A. El-Ansary, S. AL-Daihan // e-mail: clasary@ksu.edu.sa.
10. Fischer H.C. Nanotoxicity: the growing need for *in vivo* study / H.C. Fischer, W.C. Chan // *Curr. Opin. Biotechnol.* — 2007. — 18 (6) — P. 565 — 571.
11. Peek L.J. Nanotechnology in vaccine delivery / L.J. Peek, C.R. Middaugh // *Adv. Drug. Deliv. Rew.* — 2008. — 60 (8). — P. 915 — 928.
12. Thomas Karluss. Research strategies for safety evaluation for safety evaluation for nanomaterials / Karluss Thomas, Pilar Aquar // *Toxicol. Science*. — 2006. — 92. — № 1. — P. 23 — 32.
13. Holsapple Michael P. Toxicological and safety evaluation of nanomaterials / Michael P. Holsapple, William H. Farland // *Toxicol. Science*. — 2005. — 88. — № 1. — P. 12 — 17.
14. Tsuji Joyce S. Risk assessment of nanoparticles / Joyce S. Tsuji, Andrew D. Maynard // *Toxicol. Science [КЭ]*. — 2006. — 89. — № 1. — P. 42 — 50.
15. Hofmann H. Supraparamagnetic nanoparticles, a multifunctional tool for medical imaging, drug and gene delivery and cancer treatment / H. Hofmann // *Australian Research Council Nanotechnology Network International Conference on Nanoscience and Nanotechnology*; 2006 Jul 3-7; Brisbane, Australia.
16. Gras S.L. Functionalized amyloid fibrils for bionanotechnology / S.L. Gras, A.M. Squires, C.M. Dobson // *Australian Research Council Nanotechnology Network International Conference on Nanoscience and Nanotechnology*; 2006 Jul 3-7; Brisbane, Australia.
17. Roy I. Optical tracking of organically modified silica nanoparticles as DNA carriers: a nonviral, nanomedicine approach for gene delivery / I. Roy, T.Y. Ohulchanskyy, D.J. Bharali [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA* — 2005. — 102. — P. 279 — 284.
18. Lipin D.L. Processing and *in vitro* assembly of virus-like-particles / D.L. Lipin, Y.P. Chuan, M. Neibert [et al.] // *Australian Research Council Nanotechnology Network International Conference on Nanoscience and Nanotechnology*; 2006 Jul 3-7; Brisbane, Australia.
19. Elder A.C.P. Systemic interactions between inhaled ultrafine particles and endotoxin / A.C.P. Elder, R. Gelein, M. Azadniv, M. Frampton // *Ann Occup Hyg*. — 2002 (Suppl 1) — P. 231 — 234.
20. Oberdorster G. Systemic effects of inhaled ultrafine particles in two compromised, aged rat strains / G. Oberdorster // *Inhal Toxicol*. — 2004. — 16 (6/7). — P. 461 — 471.
21. Lynch I. The nanoparticle-protein complex as a biological entity; a complex fluids surface science challenge for the 21 st century / I. Lynch, T.

- Cedervall, M. Lundqvist // *Adv Colloid Interface Sci.* — 2007. — 31. — P. 167 — 74.
22. Dutta D. Adsorbed proteins influence biological activity and molecular targeting of nanomaterials / D. Dutta, S.K. Sundaram, J.G. Teeguarden, B.J. Riley // *Toxicol Sci.* — 2007. — 100 (1). — P. 303 — 15.
 23. Kabanov A.V. Polymer genomics: an insight into pharmacology and toxicology of nanomedicines / A.V. Kabanov // *Adv. Drug Deliv. Rev.* — 2006. — 58 (15). — P. 1597 — 1621.
 24. Nighswonger G. A Medical Device Link MD & DI column: New polymers and nanotubes add muscle to prosthetic limbs [on line]. Available From URL: <http://www.devicelink.com/mddi/archive/99/08/004.html> [Assessed 2006 Jan 25].
 25. Denison R.A. Environmental and safety impacts on nanotechnology: what research is needed? [on line]. Available from URL: www.environmentaldefense.org/documents/5136_DenisonHouse_testimony_On_Nan_o.pdf [Assessed 2006 April 4].
 26. Oberdorster G. Toxicology of airborne environment and occupational particles [on line]. Available from URL: <http://www2.enrmed.Rochester.Edu/envmed/tox/faculty/oberdorster.htm> [assessed 2006 Jan 25].
 27. Elder A.C.P. Pulmonary inflammatory response to inhaled ultrafine particles is modified by age, ozone exposure, and bacterial toxin / A.C.P. Elder, R. Gelein, J.N. Finkelstein [et al.] // *Inhal Toxicol.* — 2000. — 12 (suppl 4). — P. 227 — 246.
 28. Muller R.H. Drug delivery to the brain-realization by novel drug carriers / R.H. Muller, C.M. Keck // *J. Nanosci. Nanotech.* — 2004. — 4. — C. 471 — 483.
 29. Moghimi S.M. Long-circulating and target-specific nanoparticles / S.M. Moghimi, A.C. Hunter, J.C. Murray // *Theory to Practice. Pharmacol. Rev.* — 2001. — 53. — P. 283 — 318.
 30. Vasir J.K. Targeted drug delivery in cancer therapy / J.K. Vasir, V. Labhasetwar // *Technol Cancer Res T.* — 2005. — 4 (4). — P. 363 — 374.
 31. Cedervall T. Detailed identification of plasma proteins adsorbed on copolymer nanoparticles / T. Cedervall, I. Lynch, T. Berggard // *Angew Chem Int Ed Engl.* — 2007. — 46 (30). — P. 5754 — 5756.
 32. Lynch I. Protein — nanoparticle interactions / I. Lynch, K.A. Dawson // *Nanotoday.* — 2008. — 3 (1 — 2). — P. 40 — 48.
 33. Borm P.J.A. Toxicological hazards of inhaled nanoparticles-potential implications for drug delivery / P.J.A. Borm, W. Kreylin // *J. Nanosci. Nanotech.* — 2004. — 4 (6). — P. 1 — 11.
 34. Bottini M. Biomedical platforms based on composite nanomaterials and cellular toxicity / M. Bottini, A. Magrini // *J. Phys. Conf. Ser.* — 2007. — 61. — P. 95 — 98.
 35. Donaldson K. Nanotoxicology / K. Donaldson, V. Stone, C.L. Tran // *Occup. an. Environ. Med.* — 2004. — 61. — № 9. — P. 727 — 728.
 36. Boxall Alistair B.A. Assessing environmental exposure to engineered nanoparticles / Alistair B.A. Boxall // *ICP Inf. Newslett.* — 2007. — 32. — № 12. — P. 1262 — 1264.
 37. Sahoo S.K. The present and future of nanotechnology in human health care / S.K. Sahoo, S. Parveen, J.J. Panda // *Nanomedicine: Nanotechnology in human health care.* — 2007. — 3. — P. 20 — 31.
 38. Пузырь А.П. Адсорбция афлатоксина В₁ наноалмазами детонационно-го синтеза / А.П. Пузырь, К.В. Пуртов, О.А. Шендерова // *Докл. РАН.* — 2007. — 417. — № 1. — С. 117 — 120.
 39. Jiang Wen. Nanoparticles — mediated cellular response in size — dependent / Wen Jiang, Betty Y.S Kim // *Nanotechnol.* — 2008. — 3. — № 3. — P. 145 — 150.
 40. Bermudez E. Long-term pulmonary responses of three laboratory rodent species to subchronic inhalation of pigimentary titanium dioxide particles / E. Bermudez, J.B. Mangum, B. Asgharian // *Toxicol. Sci.* — 2002. — 70. — P. 86 — 97.
 41. Warheit D.B. Pulmonary toxicity studies with TiO₂ particles containing various commercial coatings / D.B. Warheit, T.R. Webb, K.L. Reed // *Toxicologist.* — 2003. — 72 (1). — P. 298 — 300.
 42. Wang J. Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration / J. Wang, G. Zhou, C. Chan // *The journal of physical chemistry.* — 2007. — 168. — P. 176 — 185.
 43. Warheit D.B. Pulmonary bioassay studies with nanoscale and fine quarts particles in rats: Toxicity is not dependent upon particle size but on surface characteristics / D.B. Warheit, T.R. Webb // *Toxicol. Sci.* — 2007. — 95. — № 1. — P. 86 — 97.
 44. Driscoll K.E. Pulmonary response to silica or titanium dioxide: inflammatory cells, alveolar macrophage-derived cytokines, and histopathology / K.E. Driscoll, R.C. Lindenschmidt, J.K. Maurer // *AM. J. Repair. Cell Mol. Bio.* — 1990. — 2. — P. 381 — 390.
 45. Ferin J. Biological effects and toxicity assessment of titanium dioxides: anatase and rutile / J. Ferin, G. Oberdorster // *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* — 1985. — 46. — P. 69 — 72.
 46. Bermudez E. Pulmonary responses of mice, rats, and hamsters to subchronic inhalation of ultrafine titanium dioxide particles / E. Bermudez, J.B. Mangum, B.A. Wong // *Toxicol. Sci.* — 2004. — 77. — P. 347 — 357.
 47. Warheit D.B. Pulmonary toxicity study in rats with three forms of ultrafine-TiO₂ particles: differential responses related to surface properties / D.B. Warheit, T.R. Webb, K.L. Reed // *Toxicology.* — 2007. — 230. — P. 90 — 104.
 48. Li J. Comparative study on the acute pulmonary toxicity induced by 3 and 20 nm TiO₂ primary particles in mice / J. Li, Q. Li, J. Xu, J. Li // *Environ. Toxicology and Pharmacology.* — 2007. — 24. — P. 239 — 244.
 49. Chen H.W. Titanium dioxide nanoparticles induce emphysema-like lung injury in mice / H.W. Chen, S.F. Su, C.T. Chien, W.H. Lin // *FASEB J.* — 2006. — 20. — P. 2393 — 2395.
 50. Knirsch W. Nanoparticulate vanadium oxide potentiated vanadium toxicity in human lung cells / W. Knirsch, K. Kern, C. Schleh, C. Adelhelm // *Environ Sci Technol.* — 2006. — 41 (1). — P. 331 — 336.
 51. Galla J.H. Metabolic alkalosis / J.H. Galla // *J. Am. Soc. Nephrol.* — 2000. — 11. — P. 369 — 375.
 52. Williams A.J. Assessing and interpreting arterial blood gases and acid-base balance / A.J. Williams // *BMJ.* — 2005. — 317. — P. 1213 — 1216.
 53. Tao T.Y. The copper toxicosis gene product Murr 1 directly interacts with the Wilson disease protein / T.Y. Tao, F.L. Liu, L. Klomp // *Biol. Chem.* — 2004. — 278. — P. 41593 — 41596.
 54. Meng H. Ultra-high reactivity provokes nanotoxicity: Explanation of oral toxicity of nanocopper particles / H. Meng, Z. Chen, G. Xing, C. Yuan [et al.] // *Toxicology Letters.* — 2007. — 175. — P. 102 — 110.
 55. Yacobi Nazanin R. Nanoparticle effects on rat alveolar epithelial cell monolayer barrier properties / Nazanin R. Yacobi, Harish C. Phuleria // *Toxicol. in vitro.* — 2007. — 21. — № 8 — P. 1373-1381.
 56. Zhang Yun-hui. Zhongguo huanjing kexue / Yun-hui Zhang, Shen Cao // *China Environ. Sci.* — 2006. — 26. — № 1 — P. 16 — 19.
 57. Geng Hong. Zhongguo huanjing kexue / Hong Geng, Zi-wiang Meng // *China Environ. Sci.* — 2006. — 26. — № 1 — P. 20 — 24.
 58. Покропивный В.В. Новые наночормы углерода и нитрида бора. В.В. Покропивный, А.Л. Ивановский // *Успехи химии.* — 2008. — т 77. — 10. — С. 897 — 992.
 59. Чекман І.С., Карбонови нанотрубки: методи отримання та перспективи застосування в медицині / І.С. Чекман, О.В. Швець, О.О. Нагорна // *Український медичний часопис.* — 2008. — № 3/65. — С. 86 — 93.
 60. Chiu-Wing Lam, James John T., McCluskey R. Pulmonary toxicity of single-wall carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instilla-

- tion / Lam Chiu-Wing, John T. James, R. McCluskey // *Toxicol. Science.* — 2004. — 77. — P. 126 — 134.
61. Warheit D.B. Comparative pulmonary assessment of single-wall carbon nanotubes in rats / D.B. Warheit, B.R. Laurence, R.L. Reed // *Toxicol. Science.* — 2004. — 77. — P. 117 — 125.
 62. Lacerda L., Bianco A., Prato M. Carbon nanotubes as Nanomedicines: from toxicology to pharmacology / L. Lacerda, A. Bianco, M. Prato // *Adv. Drug. Deliv. Rev.* — 2006. — 58 (14). — P. 1460 — 1470.
 63. Yrubeck-Jaworska H. Preliminary results on the pathogenic effects of intratracheal exposure to one — dimensional nanocarbons / H. Yrubeck-Jaworska, P. Nejman, K. Cruminska // *Carbon.* — 2006. — 44. — № 6. — P. 1057 — 1067.
 64. Dreher Kevin L. Health and environmental impact of nanotechnology: Toxicological assessment of manufactured nanoparticles / Kevin L. Dreher // *Toxicol. Science.* — 2004. — 77. — № 1 — P. 3 — 5.
 65. Flahaut E. Study nanocytotoxicity of CCVD carbon nanotubes / E. Flahaut, M.C. Durriu // *J. Mater. Sci.* — 2006. — 41. — № 8. — P. 2411 — 2416.
 66. Donaldson K., Aitken R. Carbon nanotubes: A review of their properties in relation to pulmonary toxicology and workplace safety / K. Donaldson, R. Aitken // *Toxicol. Science.* — 2006. — 92. — № 1 — P. 5 — 22.
 67. Tian Furong, Cui Daxiang. Citotoxicity of single-wall carbon nanotubes on human fibroblasts / Furong Tian, Daxiang Cui // *Toxicol. in vitro.* — 2006. — 20. — № 7 — P. 1202 — 1212.
 68. Chlopek J., Czajkowska B. In vitro studies of carbon nanotubes biocompatibility / J. Chlopek, B. Czajkowska // *Carbon.* — 2006. — 44. — № 6. — P. 1106 — 1111.
 69. Barlow P.Y., Donaldson K. Serum exposed to nanoparticle carbon black displays increased potential to induce macrophage migration / P.Y. Barlow, K. Donaldson // *Toxicol. Lett.* — 2005. — 155. — № 3 — P. 397 — 401.
 70. Magrez Arnaud, Kasas Sandor. Cellular toxicity of carbon — based nanomaterials / Arnaud Magrez, Sandor Kasas // *Nano Lett.* — 20056. — 6. — P. 1112 — 1125.
 71. Kane Ravi S. Nanobiotechnology: Protein — nanomaterial interactions / Ravi S. Kane, Abraham D. Strook // *Biotechnol. Progr.* — 2007. — 23. — № 2. — P. 316 — 319.
 72. Kashiwada Shosaku. Distribution of nanoparticles in the see-through medaka / Shosaku Kashiwada // *Environ. Health Perspect.* 2006. — № 11. — P. 16971702.
 73. Monteiro-Riviere Nancy A. Challenges for assessing carbon nanomaterial toxicity to the skin / Nancy A. Monteiro-Riviere, Alfred O. Inman // *Carbon.* — 2006. — 44. — № 6. — P. 1070 — 1078.
 74. Huczko A. Carbon nanotubes: experimental evidence for a null risk of skin irritation and allergy / A. Huczko, A. Lange // *Fullerene Sci. Tech.* — 2001. — 9 (2). — P. 247 — 250.
 75. Huczko A. Pulmonary toxicity of 1-D nanocarbon nanomaterials / A. Huczko, H. Lange, M. Bystzzejewski // *Fuller Nanotub. Car.* — 2005. — 13. — P. 141 — 145.
 76. Vallhov H. Mesoporous silica particles induce size dependent effects on human dendritic cells / H. Vallhov, S. Gabrielsson // *Nano Lett.* — 2007. — 7. — № 12. — P. 3576 — 3582.
 77. Pulskamp Karin. Carbon nanotubes show no sign of acute toxicity but induce intracellular reactive oxygen species in dependence on contaminants / Karin Pulskamp, Silvia Diabate // *Toxicol Lett.* — 2007. — 168. — № 1. — P. 58 — 74.
 78. Zhu Lin. DNA damage induced by multiwalled carbon nanotubes in mouse embryonic stem cells / Lin Zhu, Dong Chang // *Nano Lett.* — 2007. — 7. — № 12. — P. 3592 — 3597.
 79. Garcon Guillaume. Dunkerque City air pollution particulate matter — induced cytotoxicity, oxidative stress and inflammation in human epithelial lung cells / Guillaume Garcon, Zeina Dagher // *Toxicol. in vitro.* — 2006. — 20. — № 4 — P. 519 — 529.
 80. Крутько В.Н. Проблема оценки рисков нанотехнологий: методологические аспекты. / В.Н. Крутько, Е.В. Пуцилло // *Вестник РУДН. Сер. Экол. и. безопас. жизнедеят.* — 2008. — № 4. — P. 55 — 61.
 81. Hussain Saber M. The interaction of manganese nanoparticles with PC-12 cells induces dopamine depletion / Saber M. Hussain, Amanda K Jovorina // *Toxicol. Science.* — 2006. — 92. — № 2 — P. 456 — 463.
 82. Hussain S.M. In vitro toxicity of nanoparticles in BRL3A rat liver cells / S.M. Hussain, K.L. Hess // *Toxicol. in vitro.* — 2005. — 19. — № 7. — P. 975 — 983.
 83. Lok C.N., Ho C.M. Silver nanoparticles partial oxidation and antibacterial activities / C.N. Lok, C.M. Ho // *J. Biol. Inorg. Chem.* — 2007. — 12 (4). — P. 527 — 534.
 84. Braydich-Stolle L., Hussain Saber. In vitro toxicity of nanoparticles in mammalian germline stem cells / L. Braydich-Stolle, Saber Hussain // *Toxicol. Sci.* — 2005. — 88. — № 2. — P. 412 — 419.
 85. Alt V., Bechert T., Steinrucke P. An in vitro assessment of the antibacterial properties and cytotoxicity of nanoparticulate silver bone cement / V. Alt, T. Bechert, P. Steinrucke // *Biomaterials.* — 2004. — 25. — P. 4383 — 4391.
 86. Aoyagi T. Cadmium-induced testicular damage in a rat model of subchronic intoxication / T. Aoyagi, H. Ishikawa, K. Miyaji // *Reprod. Med. Biol.* — 2002. — 1. — P. 59 — 63.
 87. Ryman-Rasmussen Jessica P., Riviere Jim E. Penetration of intact skin by quantum dots with diverse physicochemical properties / Jessica P. Ryman-Rasmussen, Jim E. Riviere // *Toxicol. Sci.* — 2006. — 91. — № 1. — P. 159 — 165.
 88. Жорник Е.В. Роль TNF α и NF κ B в трансдукции генотоксического сигнала в лимфоцитах человека в ответ на действие углеродных наночастиц / Е.В. Жорник, Л.А. Баранова // *Матер. конф. "Рецепция и внутриклеточная сигнализация". Пушкино (Моск. обл.).* — 2007. — С. 306 — 308.
 89. Brunner Tobias J. In vitro cytotoxicity of oxide nanoparticles: Comparison to asbestos, silica, and the effect of particle solubility / Tobias J. Brunner, Peter Wick, Pius Mauser // *Environ. Sci. And Technol.* — 2006. — 40. — № 14. — P. 4374 — 4381.
 90. Yamakoshi Y. Active oxygen species generated from photoexcited fullerene (C₆₀) as potential medicines: O₂ — versus O₂/Y. Yamakoshi, N. Umezawa, A. Ryu [et all.] // *J. Am. Chem. Soc.* — 2003. — 125. — P. 12803 — 12809.
 91. Zhou Y-M. Oxidative stress and NF κ B activation in the lungs of rats: a synergistic interaction between soot and iron particles / Y-M. Zhou, C-Y. Zhong, I.M. Kennedy [et all.] // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* — 2003. — 190. — P. 157 — 169.
 92. Л.Б. Пиотровский. Будьте осторожны — следующая остановка "НАНО-ЭРА" или проблема токсичности наночастиц / Л.Б. Пиотровский // *Экологический вестник России.* — 2008. — 11. — С. 31.
 93. Ryan John J., Bateman Henry. Fullerene nanomaterials inhibit the allergic response / John J. Ryan, Henry Bateman // *J. Immunol.* — 2007. — 179. — № 1. — P. 665 — 672.
 94. Leroux Jean-Christophe. Injectable nanocarriers for biodetoxification / Jean-Christophe Leroux // *Nature Nanotechnol.* — 2007. — 2. — № 11. — P. 679 — 684.
 95. Gao Lizeng. Intrinsic peroxidase-like activity of ferromagnetic nanoparticles / Lizeng Gao, Jie Zhuang, Leng Nie // *Nanotechnol.* — 2007. — 2. — № 9. — P. 577 — 583.
 96. Pisanic T.R. Nanotoxicity of iron oxide nanoparticle internalization in growing neurons / T.R. Pisanic, Well J.D. Black // *Biomaterials.* — 2007. — 28 (16). — P. 2572 — 2581.
 97. Пузырь А.П. Воздействие детонационных наноалмазов in vitro и in vivo

- на биологические объекты / А.П. Пузырь, В.С. Бондарь // Сложные системы в экстремальных условиях: Матер. 12 Междун. симпоз. Саяны. Красноярск. — 2005. — С. 229 — 240.
98. Persson H. Lennart. Iron-dependent lysosomal destabilization initiates silica-induced apoptosis in murine macrophages / H. Lennart Persson // *Toxicol Lett.* — 2005. — 159. — № 2. — P. 124 — 133.
 99. Bellucci Stefano. Biomedical platforms based on composite nanomaterials and cellular toxicity / Stefano Bellucci, A. Bergamashi // *J. Phus. Conf. Ser.* — 2007. — 61. — P. 95 — 98.
 100. Chen Xiao. Fudan xuebao. Yixue ban / Xiao Chen, Guo-Ying Zhu // *J. Med. Sci.* — 2007. — 34. — № 4. — P. 513 — 517.
 101. Brown D.M. Size-dependent proinflammatory effects of ultrafine polystyrene particles: a role for surface area and oxidative stress in the enhanced activity of ultrafines / D.M. Brown, M.R. Wilson, W. MacNee [et al.] // *Toxicol Appl Pharmacol.* — 2001. — 175. — P. 19 — 9.
 102. Borm P. Research strategies for safety evaluation of nanomaterials, part V: role of dissolution in biological fate and effects of nanoscale particles / P. Borm, F.C. Klaessig, T.D. Landry // *Toxicol Sci.* — 2006. — 90. — P. 23 — 32.
 103. Gamett M.C. Nanomedicines and nanotoxicology: Some physiological principles / M.C. Gamett, P. Kallinteri // *Occup. Med.* — 2006. — 56 (5). — P. 307 — 311.
 104. Curtis J. Nanotechnology and nanotoxicology: a primer for clinicians / J. Curtis, M. Greenberg, J. Kester [et al.] // *Toxicol. Sci.* — 2006. — 25 (4). — P. 245 — 260.
 105. Villa K.R. Clinical toxicities of nanocarrier systems / K.R. Villa, J.K. Takemoto, J.A. Yanez // *Advanced Drug Delivery Reviews.* — 2008. — 60. — P. 929 — 938.
 106. Kurath M. Toxicology as a nanoscience? — Disciplinary identities reconsidered / M. Kurath, S. Massen // *Part Fibre Toxicol.* — 2006. — 3. — P. 6.
 107. Houlihan J. Body Burden: The Pollution in Newborns / J. Houlihan, T. Kropp, R. Wiles [et al.] // Washington. DC: The Environmental Work Group. — 2005. — P. 1 — 77.
 108. Poland C.A. Carbon nanotubes introduced into the abdominal cavity of mice show asbestos-like pathogenicity / C.A. Poland, R. Duffin, I. Kinloch // *Nature Nanotechnology.* — 2008. — 3. — P. 423 — 428.
 109. Mroz R.M. Nanoparticle — driven DNA damage mimics irradiation by inducing growth arrest and phosphorylation of 53 BP-1, BRCA 1 and H₂A.X. / R.M. Mroz, R.P. Schins, K. Donaldson // *Nature Nanotechnology.* — 2008. — 3. — P. 429 — 434.
 110. Oberdorster G. Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy / G. Oberdorster, A. Maynard, K. Donaldson, V. Castranova // *Particle and Fibre Toxicology* — 2005. — 2(8). — P. 1 — 35.
 111. Oberdorster G. Translocation of inhaled ultrafine particles to the brain / G. Oberdorster, Z. Sharp, V. Atudorei, A. Elder // *Inhal Toxicol.* — 2004. — 16. — P. 437 — 445.
 112. Lam C.W. Pulmonary toxicity of single-wall carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation / C.W. Lam, J.T. James, R. McCluskey // *Toxicol. Sci.* — 2004. — 77. — P. 126 — 130.
 113. Nel A. Toxic potential of materials at the nanolevel / A. Nel, T. Xia, L. Madler // *Science.* — 2006. — 311. — P. 622 — 626.
 114. Li N. Ultrafine particulate pollutants induce oxidative stress and mitochondrial damage / N. Li, C. Sioutas, A. Cho, D. Schmitz // *Environ. Health Perspec.* — 2003. — 111. — P. 455 — 459.
 115. Sayes C.M. Functionalization density dependence of single-walled carbon nanotubes cytotoxicity in vitro / C.M. Sayes, F. Liang, J.L. Hudson // *Toxicol. Lett.* — 2006. — 161. — P. 135 — 138.
 116. Shvedova A.A. Cytotoxic and genotoxic effects of single wall carbon nanotube exposure on human keratinocytes and bronchial epithelial cells / A.A. Shvedova, E. Kisin, N. Keshava // 227th American Chemical Society National Meeting. — 2004. — P. 130 — 135.
 117. Shvedova A.A. Exposure of human bronchial cells to carbon nanotubes caused oxidative stress cytotoxicity / A.A. Shvedova, E. Kisin, A.R. Murray // *Proceedings of the Society for free radical research meeting. European Section.* — 2004. — P. 91 — 103.
 118. Jia G. Cytotoxicity of carbon nanomaterials: single-wall nanotube, and fullerene / G. Jia, H. Wang, L. Yan // *Environ. Sci. Technol.* — 2005. — 39. — P. 1378 — 1380.
 119. Oberdorster G. Pulmonary effects of inhaled ultrafine particles / G. Oberdorster // *Int Arch Occup Environ Health.* — 2001. — 74. — P. 1 — 8.
 120. Nemmar A. Passage of inhaled particles into the blood circulation in humans / A. Nemmar, P.H. Hoet, B. Vanquickenborne // *Circulation.* — 2002. — 105. — P. 411 — 414.
 121. Nemmar A. Ultrafine particles affect experimental thrombosis in an in vivo hamster model / A. Nemmar, M.F. Hoylaerts, P.H. Hoet // *Am J Respir Crit Care Med.* — 2002. — 166. — P. 998 — 1004.
 122. Peters Unger. Effects of nano-scaled particles on endothelial cell function in vitro: Studies on viability, proliferation and inflammation / Unger Peters, A.M. Gatti // *J. of Material Science: Mat. in Medicine.* — 2004. — 15 (4). — P. 321 — 325.
 123. Gatti A.M. Detection of micro and nanosized biocompatible particles in blood / A.M. Gatti, M. Montana // *J. of Mat. Sci. Mat in Med.* — 2004. — 15 (4). — P. 469 — 472.
 124. Gatti A.M. Biocompatibility of micro- and nanoparticles Part I in liver and kidney / A.M. Gatti, F. Rivasi // *Biomaterials.* — 2002. — 23 (11). — P. 2381 — 2387.
 125. Gatti A.M. Risk assessment of micro and nanoaprticles and the human health / A.M. Gatti // Chapter of Handbook of Nanostructured biomaterials and their applications ed American Scientific Publisher USA. — 2005. — 12. — P. 347 — 369.
 126. Nemmar A. Passage of inhaled particles into the blood circulation in humans / A. Nemmar, P.H. Hoet, B. Vanquickenborne // *Circulation.* — 2002. — 105. — P. 411 — 414.
 127. Oberdorster G. Extrapulmonary translocation of ultrafine carbon particles following whole-body inhalation exposure of rats / G. Oberdorster, Z. Sharp, V. Atudorei // *J. Toxicol Environ Health A.* — 2002. — 65. — P. 1531 — 1543.
 128. Igarashi E. Factors affecting toxicity and efficacy of polymeric nanomedicines / E. Igarashi // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* — 2008. — 229 (1). — P. 121 — 134.
 129. Gatti A.M. Biocompatibility of micro- and nano-particles in the colon (part II) / A.M. Gatti // *Biomaterials.* — 2004. — 25 (3). — P. 385 — 392.
 130. Oberdorster G. Principals for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterial: elements of a screening strategy / G. Oberdorster, A. Maynard, K. Donaldson, J. Carter // *Particle Fibre Toxicol.* — 2005. — 2. — P. 1 — 35.
 131. Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации. Оценка безопасности наноматериалов // *Экол. ведомости.* — 2007. — № 12. — С. 17 — 44.

НАНОТОКСИКОЛОГІЯ: СТАН ТА ПЕРСПЕКТИВИ ДОСЛІДЖЕНЬ

У формі наночасток (НЧ) різні матеріали набувають нових, раніше не притаманних властивостей і біологічних ефектів. У роботі узагальнено дані щодо токсичності НЧ оксиду титану, цинку, срібла, кобальту, кадмію, нікелю, міді, заліза, азбесту, нанодіамантів, вуглецевих нанотрубочок та ін. Наведено дані щодо депонування нанотрубочок за механізмом трансцитозу та дифузії в різних шарах шкіри, дихальної системи та інших органах. Підкреслено роль потрапляння НЧ у структури центральної та периферійної нервової системи із залученням механізмів аксонального транспорту. Узагальнено дані щодо мембрано- і цитотоксичності, прооксидантних, прозапальних, генотоксичних, мутагенних та частково канцерогенних ефектах НЧ, що залежать від їх складу, розмірів, водорозчинності, форми, площі поверхні, заряду тощо. Найтоксичнішими є нерозчинні у воді НЧ розмірами менше за 20 нм, що мають пролонговану персистенцію, оскільки вони не розпізнаються фагоцитами. Наведено дані стосовно більш вираженої токсичності та подовженої біоперсистенції речовин у нанофазі. Обговорено принципи оцінки токсичних ефектів НЧ, їх потенційний екологічний та професійний ризик. Наголошено на відсутності гігієнічних нормативів вмісту НЧ на робочих місцях та об'єктах довкілля.

NANOTOXICOLOGY: STATE AND INVESTIGATION PERSPECTIVES

Different substances in the form of nanoparticles (NP) are obtaining the new properties and biologic effects that are unusual and not seen with larger particles. In this review we summarize findings from a toxicity NP: titanium oxide, zinc, silver, cobalt, cadmium, nickel, copper, iron, asbestos, nanodiamonds, carbon nanotubes and ctr. Nanotubes can gain deposit by means of transcytosis and diffusion into skin layers, respiratory system and others. We accentuate the NP ability to penetrate the structures of central and peripheral nervous system using axonal transport mechanism. Summarising data according to membranotoxicity, cytotoxicity, pro-oxidative, pro-inflammatory, genotoxic, mutagenic and carcinogenic effects of NP are presented in the review. The properties of NP that influence toxicity include: chemical composition, size, solubility, shape, surface area, surface charge and so on. Insoluble NP <20 nm diameter have more toxic properties and more biopersistent as they unrecognizable for phagocytes. Finally, it was discussed the assessment principles of NP toxicity and potential environmental an occupational risk and accentuated the absence of a regulatory framework to assess risks and hygienic standarts.