

Наноразмерные объекты и наноматериалы

УДК 504.054, 615.9

DOI: 10.25514/CHS.2017.2.10982

**ПРОБЛЕМЫ БЕЗОПАСНОСТИ НАНОМАТЕРИАЛОВ:
НАНОБЕЗОПАСНОСТЬ, НАНОТОКСИКОЛОГИЯ,
НАНОИНФОРМАТИКА**

Н. Ю. Ковалева, Е. Г. Раевская, А. В. Роцин*

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук, Москва, *e-mail: nkova@bk.ru

Поступила в редакцию 20.10.2017 г.

В обзорной статье рассмотрены проблемы безопасности наноматериалов (НМ) с точки зрения их воздействия на окружающую среду и здоровье человека. Обсуждаются такие недавно появившиеся области исследований и разработок, как нанобезопасность, нанотоксикология, наноинформатика. Представлена современная ситуация в области безопасности НМ в России и за рубежом. Рассмотрены оценка и управление рисками при обращении с промышленными НМ, оценка и контроль опасности воздействия НМ на окружающую и производственную среду. Приведены классификация и свойства НМ, механизмы их токсического воздействия, методы определения токсичности, цитотоксичность различных видов НМ. Коротко обсуждаются информационные ресурсы по НМ, которые могут быть полезны химикам и другим специалистам, работающим в данной области.

Ключевые слова: наночастицы, наноматериалы, нанотехнологии, нанобезопасность, нанотоксикология, механизмы воздействия наноматериалов, экотоксикологический эффект, методы оценки токсичности, оценка риска, наноинформатика, онтологии и базы данных по наноматериалам.

ВВЕДЕНИЕ

Материалы и частицы с ультрамалыми размерами природного и антропогенного происхождения были известны достаточно давно, однако нанотехнологии как самостоятельная область фундаментальных и прикладных исследований возникли только к концу 20-го века. Тем не менее, они развиваются необычайно стремительными темпами и находят все более широкое применение в различных областях, включая электронику, энергетику, химическую и фармацевтическую промышленность, агротехнику, медицину, производство пищевых и косметических продуктов и многие другие, и оказывают огромное влияние на развитие экономики и жизнь человека [1-4]. Такой прогресс объясняется уникальными свойствами наночастиц (в материаловедении к ним относят частицы, у которых хотя бы один размер находится в диапазоне от 1 до 100 нм) [5], коренным образом отличающимися от свойств тех же материалов макроскопических размеров.

По оценкам экспертов, к 2020 году мировое производство наноматериалов (НМ) достигнет 58000 тонн в год, что, вероятно, приведет к значительным выбросам промышленных наночастиц (НЧ) в окружающую среду [6, 7]. В мире уже сейчас выпускается более 1800 наименований НМ [8]. В связи с этим встает очень важная и актуальная задача оценить потенциальный риск использования НМ для здоровья человека и безопасности окружающей среды. Такая оценка имеет большое значение и в долгосрочной перспективе, поскольку нанотехнологии и НМ появились не так давно и последствия такого воздействия могут пока еще не проявиться.

Целью данного обзора является обобщение, систематизация и анализ современной информации, касающейся безопасности обращения с НМ, подходов к оценке рисков и токсичности НМ, мер снижения риска, механизмов токсикологического воздействия наночастиц на живые организмы, воздействия НМ на окружающую среду и здоровье человека.

АКТУАЛЬНОСТЬ И МАСШТАБ ПРОБЛЕМЫ ОЦЕНКИ БЕЗОПАСНОСТИ НМ

Общая ситуация в мире

Растущие масштабы развития нанотехнологий требуют внимания к проблемам безопасности. Проблемы оценки риска, безопасности производства и воздействия НМ носят глобальный характер. На сегодняшний день более, чем в 60 странах, таких как США, Япония, страны Евросоюза, Россия, Белоруссия и ряд стран Азии и Ближнего Востока, а также в ряде международных (ВОЗ, ФАО, ILSI и др.) и национальных (FDA и EPA в США и др.) организаций, приняты и выполняются комплексные национальные программы развития наноиндустрии. В эти программы входят фундаментальные исследования, разработка и производство нанопродукции, образование, здравоохранение, вопросы обороны и экологии [4].

Первой программой, обратившейся к исследованиям рисков наноматериалов, стала «Национальная нанотехнологическая инициатива» (National Nanotechnology Initiative, NNI), принятая в США в 2000 г. Около 5% ежегодного бюджета NNI, т.е. ~50-60 млн. долл. выделялось на разработку эффективных методов оценки токсичности НМ и их влияния на окружающую среду и здоровье человека. В 2011 г. бюджет NNI составил 1,8 млрд. долл., бюджет на 2018 г. запланирован в размере 1,2 млрд. долл. [9]. Неплохо финансируются европейские научно-исследовательские проекты, нацеленные на разработку проблем, связанных с НМ и нанобезопасностью. На исследовательские проекты программы ЕС «Горизонт 2020» в области нанотехнологий и новых материалов в 2017 г. было выделено 571,25 млн. евро, бюджет на 2018 г. должен составить 533,8 млн. евро [10]. Перечень проектов кластера ЕС по нанобезопасности (Nanosafety Cluster Compendium) в 2017 г. включает 27 научно-исследовательских программ: 17 из программы «Горизонт 2020» и 10 из FP7, рамочной научно-исследовательской программы ЕС [11].

Большая работа по координации международной деятельности осуществляется в рамках Организации экономического сотрудничества и

развития (ОЭСР, англ. Organization for Economic Cooperation and Development (OECD)) [12]. При Химическом комитете ОЭСР создана рабочая группа по промышленным наноматериалам (Working Party of Manufactured Nanomaterials, WPMN). Ее цель - содействие решению вопросов безопасности НМ для здоровья человека и окружающей среды. По итогам первого совещания рабочей группы (Лондон, октябрь 2006 года) была принята межгосударственная программа по выявлению потенциальных рисков НМ. Активные участники программы - США, Япония, Великобритания, Германия, Китай. Рабочая группа координирует восемь проектов, которые находятся на различных стадиях выполнения, например, создание базы данных по результатам научных исследований безопасности и рисков НМ; тестирование на безопасность ряда промышленных НМ; сотрудничество по оценке рисков; роль альтернативных методов исследования нанотоксичности; измерение потенциальных рисков и способы их предотвращения и снижения.

Следует подчеркнуть, что исследования по безопасности НМ существенно отстают от их разработки и коммерциализации. Несмотря на то, что наноматериалы в мире используются уже более 15 лет, ни один вид не был изучен в полном объеме на безопасность ни в одной стране мира. Вместе с тем общепризнанным является подход, согласно которому наночастицы должны рассматриваться как новые потенциально опасные материалы.

Современная ситуация в области нанотехнологий и нанобезопасности в России

В Российской Федерации развитие нанотехнологий осуществляется на национальном уровне. Начало этому было положено после выдвижения в 2007 г. Президентской инициативы «Стратегия развития nanoиндустрии» [13]. Нанотехнологии в России были признаны одним из ключевых направлений инновационного развития страны: «индустрия наносистем» входит в список приоритетных направлений развития науки, технологий и техники Российской Федерации. В Перечне критических технологий Российской Федерации 6 из 27 технологий касаются развития наноматериалов, нанотехнологий, наноустройств. Важные многопрофильные исследования и разработки велись в рамках федеральной целевой программы (ФЦП) «Развитие инфраструктуры nanoиндустрии в РФ на 2008-2011 годы». В 2008-2015 гг. действовала «Программа развития nanoиндустрии до 2015 года». В настоящее время такие работы ведутся в рамках действующей ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014-2020 годы» [14]. Работает Федеральный интернет-портал «Нанотехнологии и наноматериалы» [15].

Значительное внимание в РФ уделяется проблемам безопасности нанотехнологий и НМ. Государственный подход к вопросам безопасности НМ с точки зрения их риска для здоровья человека и состояния среды обитания наиболее полно и обоснованно изложен в основополагающем документе - Постановлении главного государственного санитарного врача РФ от 31 октября 2007 г. № 79. В нем содержится «Концепция токсикологических исследований,

методологии оценки риска, методов идентификации и количественного определения наноматериалов». В концепции определен порядок организации надзора и проведения токсикологических исследований НМ. Отмечается, что НМ могут быть токсичными, тогда как их эквивалент в обычной форме в этой же концентрации безопасен. При этом существовавшая ранее методология оценки риска может быть неприменима или только частично применима для НМ в силу ряда причин, обусловленных их особыми свойствами и недостаточным количеством информации о них. «В связи с этим необходимо, чтобы каждый индивидуальный наноматериал был в полной мере изучен в токсикологическом аспекте с определением допустимой суточной дозы или условно переносимого недельного (месячного) поступления» [8].

В концепции приведена схема путей поступления (рис. 1), распределения и выведения наноматериалов в организме человека. Как видно из рисунка, существует три основных пути поступления НМ в организм человека: ингаляционный, через кожу и перорально, а также на период опубликования концепции предполагалось существование и других путей.

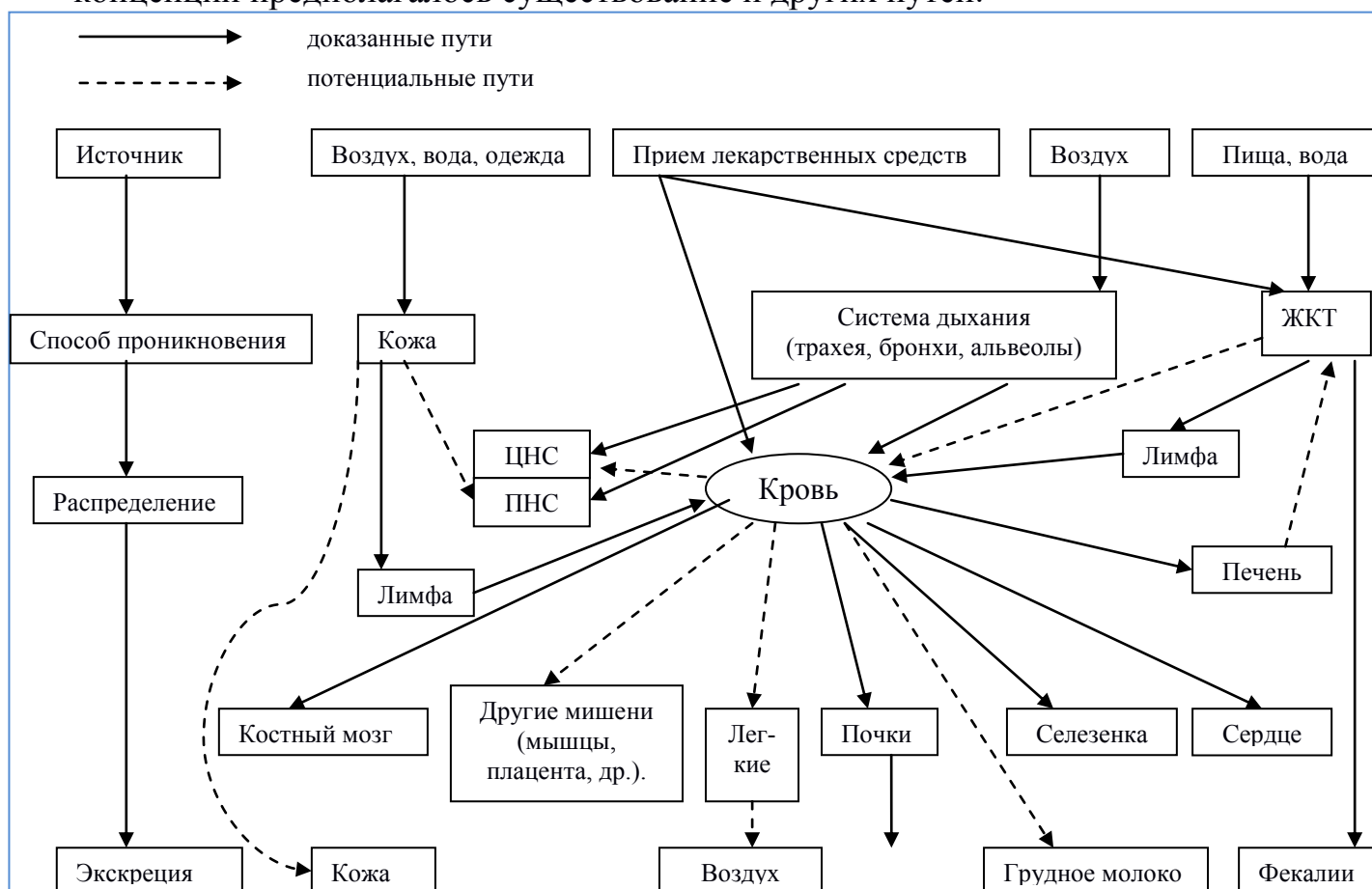


Рис. 1. Схема путей поступления, распределения и выведения наноматериалов в организме человека [8].

Сейчас в эту схему можно внести дополнения - к настоящему времени уже точно установлен интраназальный путь через ольфакторный тракт напрямую в центральную нервную систему [16, 17]. Показано также, что

многие виды НЧ, поступающие с воздухом, в дальнейшем разными путями могут попадать в различные органы и ткани, включая мозг [18]. Например, НЧ, введенные в трахею животных, через кровеносное русло распространялись в органах, богатых макрофагами (печень, селезенка, почки, семенники) [19]. Недавно обнаружена способность НЧ пробивать жировой слой альвеол и проникать глубоко в легочную ткань в искусственно созданных условиях (цель – адресная доставка лекарств) [20]. Достоверно установлено, что НЧ могут пересекать гематоэнцефалический барьер [21-23] и попадать в мозг. Показано прохождение НЧ плацентарного барьера и барьера молочной железы в экспериментах на лактирующих и кормящих крысах [24-27]. Продемонстрирована токсичность НЧ для ЦНС [23, 28, 29], цитотоксичность НЧ для микрофлоры и эпителиальных клеток кишечника [30], изучается токсичность НМ, применяемых в офтальмологии [31].

Решению проблем безопасности в сфере нанотехнологий были также посвящены многопрофильные исследования по госконтрактам в рамках ФЦП «Развитие инфраструктуры nanoиндустрии в РФ на 2008-2011 годы», некоторые результаты которых будут рассмотрены ниже в разделе «Нанобезопасность».

Совершенно очевидно, что для дальнейшего безопасного развития нанотехнологий и их внедрения во все сферы жизни необходимо углублять представления о структуре и свойствах нанообъектов и НМ, выявлять фундаментальные принципы и закономерности их поведения и воздействия на окружающую среду и живые организмы. В этой связи рассмотрим классификацию и основные свойства НМ и НЧ.

КЛАССИФИКАЦИЯ И СВОЙСТВА НАНОМАТЕРИАЛОВ

Определение и классификация НМ/НЧ

К НМ целесообразно относить лишь те материалы, которые содержат специфические группировки атомов (молекул) или структурные элементы нанометровых размеров (в диапазоне от 1 до 100 нм), определяющих и создающих качественно новый объект, существенно отличающийся по свойствам от не имеющих таковых (даже, если химический состав первых и вторых полностью тождественен).

В работах Герберта Глейтера, известного специалиста в области НМ, в основу первичной классификации положен критерий размерности: наличие у объекта хотя бы одного размера, относящегося к нанометровому диапазону, что является основанием считать его НМ [32].

На рисунке 2 представлена схема сравнения размеров НМ с размерами других известных объектов.

Как видно из рисунка, НМ занимают промежуточную область между миром отдельных атомов, управляемым законами квантовой механики и макромиром, хорошо описываемым в рамках различных теорий: упругости, гидродинамики и т.д. В то же время НЧ соизмеримы с биологическими молекулами, вирусами, и, благодаря своим размерам, могут иметь новые

химические и биологические свойства по сравнению с материалами больших размеров, могут проникать в живые организмы и взаимодействовать с клетками и тканями недоступными для больших частиц способами [33].

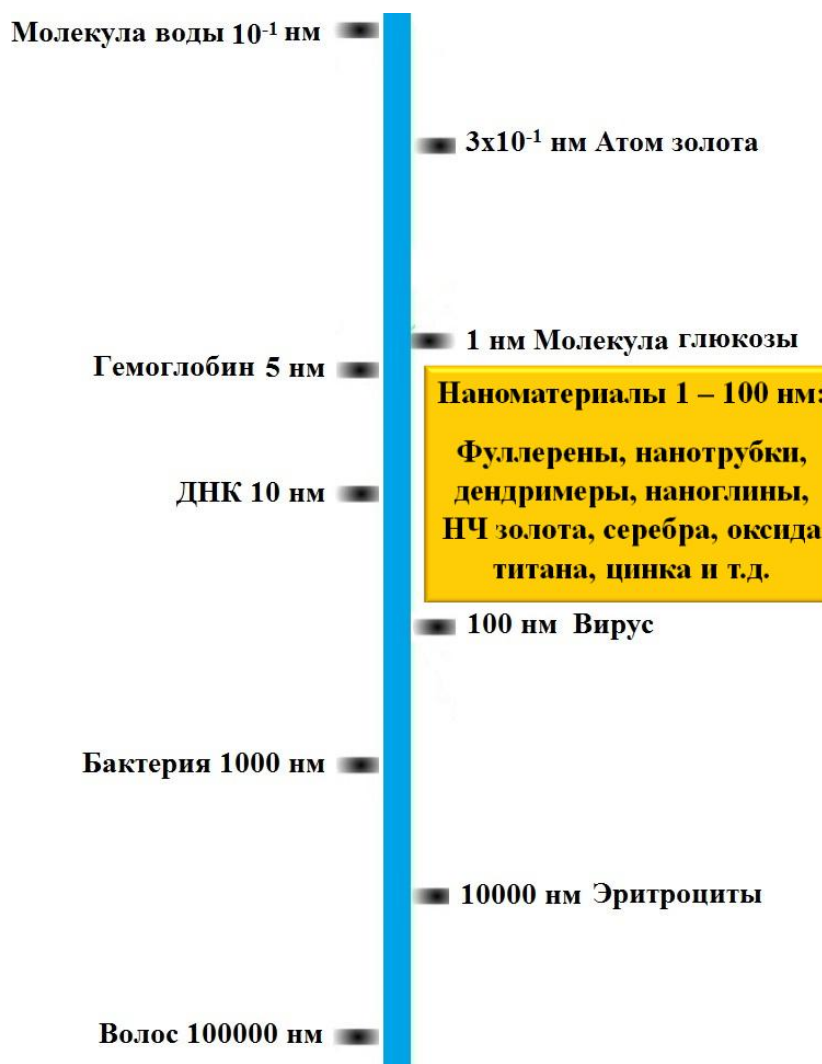


Рис. 2. Сравнение размеров НМ с размерами других распространенных объектов.

Следует отметить, что при переходе к наноразмерам происходит гигантский рост отношения числа частиц и суммарной площади их поверхности к массе (табл. 1).

Таблица 1. Количество частиц в 1 г вещества при его плотности 1 г/см^3 в зависимости от размера частиц

диаметр частицы, нм	число частиц	суммарная площадь частиц, $\text{м}^2/\text{г}$
2000 (2 мкм)	$\sim 10^{12}$	$\sim 0,3$
200	$\sim 10^{14}$	~ 3
2	$\sim 10^{20}$	~ 300

Примечание: для сравнения - число клеток в организме человека $\sim 10^{14}$

НМ очень разнообразны и с трудом поддаются классификации. Существуют различные виды классификации НМ в зависимости от того, какие параметры положены в их основу - структура, химический состав, метод синтеза/происхождение, размер. Некоторые классификации довольно просты. Так, например, авторы обзора [34] считают, что все наночастицы можно разделить всего на три категории: органические, неорганические и гибридные. В обзоре [35] выделяют следующие категории НЧ: на основе углерода, на металлической основе (квантовые точки, нанокристаллы золота, серебра, оксидов различных металлов и оксидов металлов) и на полимерной основе (нанокompозиты и др.). В работе [5] классификация основана на структуре НМ. Предлагается выделить три класса НМ:

1. Наночастицы;
2. Нанослой, пленки и приповерхностные структуры;
3. Объемные наноструктурированные материалы.

В Концепции [8] выделены следующие основные виды наноматериалов:

- углеродные наночастицы (фуллерены, нанотрубки, графен, углеродные нанопены),
- наночастицы простых веществ (не углерода),
- наночастицы бинарных соединений,
- препараты наночастиц сложных веществ.

Известны также классификации и терминология НМ, разработанные международными организациями-разработчиками стандартов – ISO [36, 37] и ASTM [38]. При этом постоянно появляются новые, неизвестные ранее виды НМ и нанообъектов, которые трудно отнести к каким-либо классам.

Свойства НМ/НЧ

Малые размеры НЧ и НМ обуславливают присущий им комплекс физических, химических и биологических свойств, которые часто радикально отличаются от свойств тех же веществ в макроскопической форме. Эти свойства определяются известными законами квантовой физики. Можно выделить следующие основные свойства НЧ [1, 2, 5, 8, 39]:

- *увеличение химического потенциала* веществ на межфазной границе высокой кривизны. Это существенно меняет растворимость, реакционную и каталитическую способность НЧ и их компонентов;
- *большая удельная поверхность* (в расчете на единицу массы), что увеличивает их адсорбционную емкость, химическую реакционную способность и каталитические свойства;
- *небольшие размеры и разнообразие форм*;
- *высокая адсорбционная активность*;
- *высокая способность к аккумуляции* в живых организмах;
- *способность к самоорганизации и агрегации*.

Отметим, что склонность НМ/НЧ к образованию агрегатов затрудняет их использование, хранение и транспортировку и требует особых правил работы с ними.

Таким образом, сфера нанотехнологий находится на стыке многих научных дисциплин, таких как химия, биология, физика и электроника. Большую роль в установлении структуры и свойств НМ играют также прикладная математика и компьютерное моделирование.

Экспертами Межведомственной программы по правильному обращению с химическими веществами (Inter-Organization Programme for the Sound Management of Chemicals (ИОМС)) и ОЭСР разработан перечень приоритетных наночастиц для характеристики их биологического действия и изучению их безопасности. В него вошли:

1. *Углеродные НЧ*: фуллерены, одно- и многослойные нанотрубки;
2. *Металлсодержащие НЧ* серебра, золота, железа, оксида титана, оксида алюминия, оксида церия, диоксида кремния, оксида цинка;
3. *Дендримеры и наноглины*.

Большинство работ по изучению влияния НМ на здоровье человека и окружающую среду посвящено вышеперечисленным НЧ.

Сразу следует отметить, что ни в одном из приведенных выше перечней не упоминаются такие наночастицы, обладающие выраженными токсическими свойствами *в природной водной среде*, как сульфиды железа, смешановалентные оксиды марганца (III,IV).

НАНОБЕЗОПАСНОСТЬ

Оценка и управление риском и меры снижения риска при обращении с промышленными наноматериалами

Особенно важно системно и комплексно оценивать, с одной стороны, преимущества применения НМ, с другой стороны, неопределенности и риски, связанные с широким использованием НМ в нашей жизни. Поскольку скорее всего невозможно создать абсолютно безопасные материалы, следует принимать меры, чтобы удалить или уменьшить их риски [4, 40-44].

Традиционный подход к иерархии рисков воздействия инженерных НМ на здоровье и безопасность можно представить в виде пирамиды (рис. 3) [40].

На вершине пирамиды расположены наиболее эффективные меры борьбы с опасностями в виде полного удаления опасности в процессе производства (например, путем замены процесса или использования неопасного вещества). Если полное устранение опасности и риска в корне невозможно, то риск следует минимизировать путем замены способа производства или вещества менее опасными. Третьей по эффективности стратегией управления рисками является использование технических средств контроля, которые требуют физического изменения рабочего места. Далее идет административный контроль выполнения оперативных процедур с целью сведения к минимуму выбросов в рабочую зону и, наконец, применение средств индивидуальной защиты, что является наименее эффективным (т.к. зависит от поведения людей и надзора), но наиболее удобным. В идеале должно использоваться сочетание этих мер безопасности.

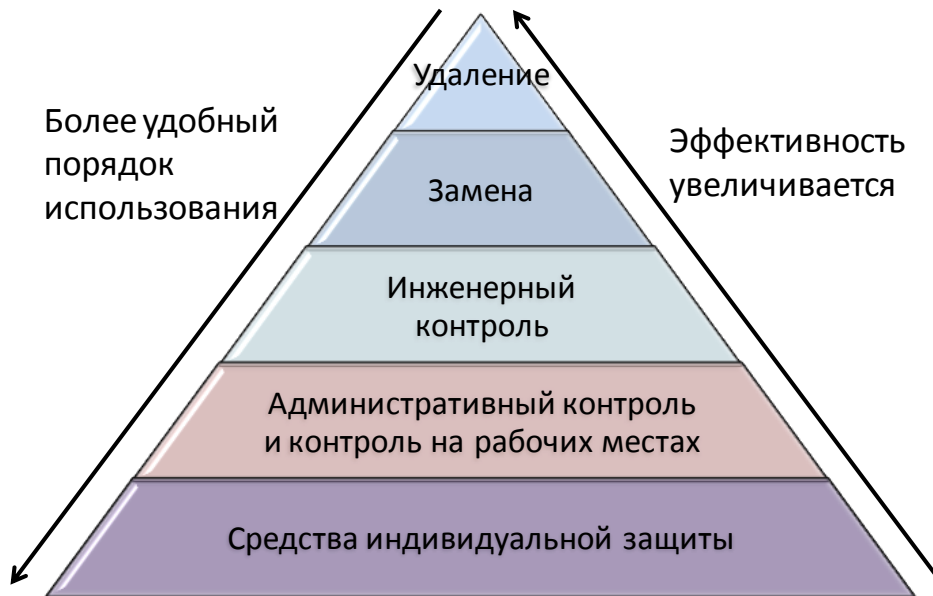


Рис. 3. Традиционная иерархия управления рисками.

Проведенные исследования показывают [35, 40, 41], что на практике, к сожалению, для снижения риска чаще всего используются только внешние меры, такие как изолирование людей от опасности и технический контроль (герметизация оборудования, вентиляция, вытяжные шкафы, соблюдение правил пожаро- и взрывобезопасности и т.п.), а также сокращение воздействия опасностей на работников с помощью защитной одежды (перчатки, респираторы, спецодежда) вместо мер по снижению опасности самого источника. Вместо этого во многих исследовательских проектах по нанобезопасности предлагается внедрять в производство НМ принцип “Safety by Design” (безопасность, заложенная в дизайне) [11, 41], согласно которому безопасность следует закладывать в дизайн НМ на стадии их разработки (например, путем использования наночастиц, инкапсулированных в микро/макроформу; модифицирования поверхности НМ или других способов модификации НЧ). Авторы работы [41] предлагают при этом использовать принципы стратегии “Drug Discovery and Development”, давно и успешно применяемые при открытии и разработке лекарственных препаратов. В другой работе предложен метод экспериментального биомоделирования для оценки рисков воздействия нанокompозитов на живой организм [44].

В одном из исследований [40] был проведен опрос в компаниях, использующих нанотехнологии и участвовавших в проекте SUN (Sustainable Nanotechnologies Project), где им было предложено оценить важность основных направлений исследований в этой области по шкале от 1 (минимум) до 4 (максимум), чтобы понять перспективу их будущих исследований (рис. 4). На первом месте оказалось накопление данных, за ним следовали стандартизация, прогноз и средства управления рисками, идентификация и классификация НМ, разработка новых методов измерения и, наконец, безопасность, заложенная в дизайне.

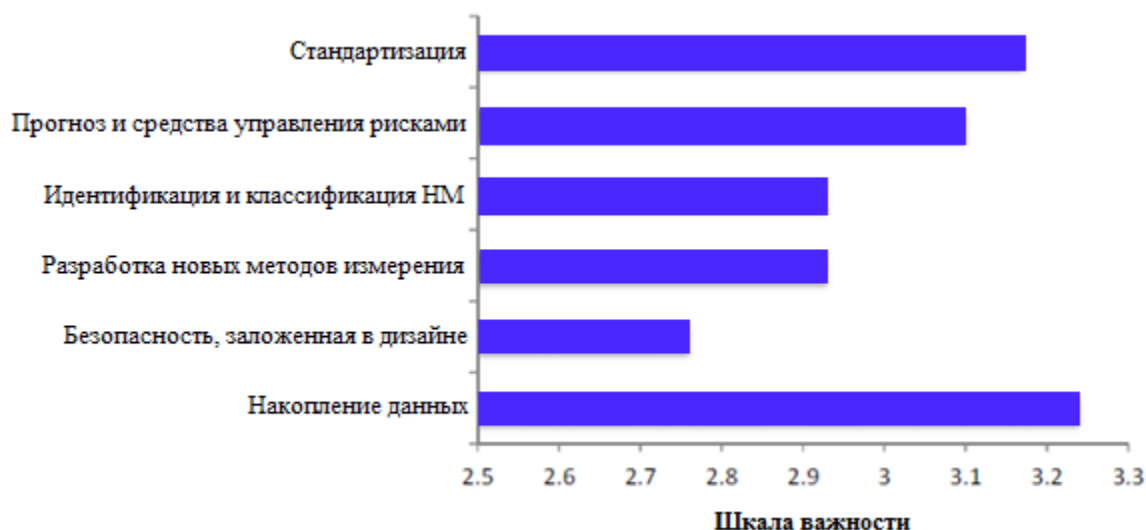


Рис. 4. Важность будущих направлений исследований снижения риска по 4-х бальной шкале по опросам производителей НМ [40].

Таким образом, при управлении рисками опасности НМ необходимо применять комплексный подход, прогнозировать риски, развивать подходы к стандартизации, накапливать, изучать и систематизировать данные.

Оценка опасности наноматериалов для окружающей среды

Анализ литературных источников показал, что проблема оценки опасности и последствий распространения наноматериалов в окружающей среде остается открытой. Существуют полярные точки зрения на проблему безопасности НЧ для живых объектов: одни заявляют о полной безвредности НМ, другие, наоборот, выражают серьезную озабоченность их распространением и быют тревогу [35, 45-50]. Во многом это обусловлено недостаточной методической обеспеченностью процедуры их идентификации в природных средах и их слабой изученностью. На сегодняшний день нет какой-либо общепринятой теории, объясняющей механизм влияния тех или иных наноразмерных структур с учетом особенностей строения их поверхности и реакционной способности.

Один из подходов к оценке токсичности для окружающей среды химических веществ, производимых в промышленном масштабе (в том числе НМ), описан в регламенте REACH (сокращение от англ. Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals – регистрация, оценка, авторизация и ограничение химических веществ) – основном документе Европейского союза, регулирующем производство и оборот всех химических веществ в странах Евросоюза [51]. Регламент предписывает оценивать потенциальный экотоксикологический эффект всех химических веществ (включая НМ), которые производятся и продаются в ЕС в объеме более 1 тонны в год [52]. При этом количество необходимых тестов зависит от объема производства. Если он превышает 1 т/год, то это краткосрочное биотестирование с участием водных беспозвоночных (предпочтительный вид *Daphnia*) и растений (предпочтительно водоросли). При объеме производства более 10 т/год должны быть проведены

дополнительные краткосрочные испытания с рыбами и тест на потребление кислорода микроорганизмами активного ила. При объеме производства более 100 т/год должны проводиться те же водные исследования, но долгосрочные; кроме того, должны проводиться тесты токсичности на ранней стадии жизни рыб, краткосрочные тесты на токсичность на зародышевых эмбрионах, мальках и испытания на молоди. При объеме производства более 100 т/год должны дополнительно проводиться наземные испытания, определяться кратковременная токсичность для беспозвоночных и растений и воздействие на микроорганизмы почвы. Наконец, если объем производства определенного вещества превышает 1000 т/год, кроме упомянутых выше испытаний должны быть выполнены долгосрочные испытания на наземную токсичность с беспозвоночными, растениями, микроорганизмами почвы и птицами.

Важно отметить, что нельзя прогнозировать вредные эффекты НЧ на основе сведений о токсичности, либо, напротив, безвредности макрочастиц одного и того же химического состава [35]. При этом необходимо также учитывать такой фактор, как растворимость НЧ, так как при оценке опасности в природной среде водорастворимые НЧ, пересекающиеся по размерам с *кластерами*, могут вносить основной вклад в токсические свойства как природных, так и сточных вод. Так, НЧ FeS способны реагировать с H_2O_2 , а микроколлоидальные частицы Mn(III,IV) высокореакционноспособны и могут приводить к разрушению биологических тканей [53-56].

Оценка воздействия НМ в условиях производства и гигиеническое нормирование

Установление допустимых уровней воздействия НМ в условиях производства является первоочередной задачей обоснования мер безопасности новых видов продукции [57-61]. На сегодняшний день еще не разработан единый согласованный критерий токсичности НМ, данные по оценке воздействия НМ в производственных условиях часто противоречивы [58], поэтому необходимо соблюдать и совершенствовать меры безопасности.

В РФ в настоящее время разрабатывается единая система нормативно-методических документов, регламентирующих процедуры оценки безопасности и контроля нанотехнологий и НМ на всех уровнях (определение приоритетов, пробоотбор, токсиколого-гигиеническая оценка, анализ и нормирование, контроль и надзор, оценка рисков) и на всех стадиях жизненного цикла НМ (разработка – производство – транспортировка – хранение – оборот – применение – утилизация) [35, 57]. В рамках ФЦП «Развитие инфраструктуры наноиндустрии в РФ на 2008–2011 годы» было разработано 11 документов внедрения (например, МР 1.2.0037-11; МР 1.2.0024-11; МУ 1.2.2875-11; МУ 1.2.2743-10, МУ 1.2.2636-10 и др.). Разработаны и утверждены отечественные гигиенические нормативы содержания приоритетных наноматериалов в объектах окружающей и производственной среды: ОБУВ в воздухе рабочей зоны диоксида титана, однослойных углеродных нанотрубок, ОДУ серебра в воде водоемов и ОДУ серебра в питьевой воде (ГН 1.2.2633-10), обоснован ОБУВ наночастиц магнетита Fe_3O_4 в воздухе рабочей зоны, равный $0,4 \text{ мг/м}^3$

[59, 60]. Для атмосферного воздуха установлены нормативы (ГН 2.1.6.2604-10) для естественно образуемых взвешенных частиц, циркулирующих в атмосфере (фракции $PM_{2,5}$ и PM_{10}).

НАНОТОКСИКОЛОГИЯ

Нанотоксикология может быть определена как «наука о воздействии наноустройств и наноструктур на живые организмы» [39, 62, 63].

Нанотоксикология занимается решением следующих задач:

1. Изучение физико-химических свойств НЧ и их поведения в различных средах;
2. Выявление и идентификация НЧ в окружающей среде, пищевых продуктах и биологических средах;
3. Определение токсических и экотоксикологических эффектов НМ.

Главным вопросом является оценка токсичности нанообъектов по отношению к человеку, биоценозу и экосистеме в целом.

Токсикологическое воздействие НМ на живые организмы и экосистему в целом отличается от воздействия объемных материалов, прежде всего, разнообразием форм и модификаций одного и того же материала (например, нанотрубки, нановолокна, фуллерены и т.д.). Помимо этого, в отличие от экотоксикологии микро- и макроматериалов (ее подходы описаны, например, в исследованиях лаборатории экотоксикологии ИХФ РАН [64-71]), где основным фактором является химическое воздействие, в нанотоксикологию входит еще и исследование специфических размерных факторов (эффекты трансформации свойств НЧ с изменением их размеров, физико-механические эффекты формы и величины поверхности)

В таком контексте очень важно понимание механизмов токсичности наноматериалов как для синтеза наиболее эффективных материалов, так и для создания биологически и/или экологически безопасного производства на всех этапах синтеза, использования и утилизации.

МЕХАНИЗМЫ ТОКСИЧНОСТИ НАНОЧАСТИЦ

Процессы, происходящие на границе между НМ и живыми системами, чрезвычайно сложны и еще недостаточно хорошо поняты, несмотря на то, что в последнее время они широко исследуются [27, 31, 72-75]. Такое положение дел значительно затрудняет использование многих нанобиотехнологий и НМ. Уже получены свидетельства того, что НЧ в силу их специфических свойств могут неблагоприятно воздействовать на живые организмы на различных уровнях – молекулярном, клеточном и системном, т.е. в последнем случае на уровне тканей, органов или даже всего организма, хотя окончательно органы-мишени пока не определены [33].

Токсичность НЧ может зависеть от целого ряда факторов, среди которых наиболее существенными являются размер частиц, химическая структура, кристаллическая структура, свойства поверхности, наличие заряда и др. [3]. НМ очень разнообразны и единого механизма действия для всех типов НЧ нет. При рассмотрении литературы о токсичности самих частиц и механизмах их

токсического воздействия на живые организмы, следует иметь в виду два важных фактора. Во-первых, необходимо всегда соотносить токсичность с дозой, т.к. в соответствии с принципом Парацельса «Все в мире есть яд, и лишь только доза делает вещество безопасным». Во-вторых, следует учитывать растворимость НЧ, так как растворимые и нерастворимые НЧ при контакте с живыми системами ведут себя по-разному [35].

Анализ литературных источников позволяет обобщить предлагаемые на сегодняшний день механизмы токсического воздействия НЧ на живые организмы и свести их к трем основным типам:

- Физическое взаимодействие НЧ с клетками или компонентами клеток.
- Генерирование активных форм кислорода, что приводит к индуцированию окислительного стресса.
- Токсическое действие ионов, высвобожденных из НЧ (в случае НЧ на основе металлов/металлоксидов).

В случае НЧ металлической природы идут дискуссии, вызывается ли токсичность самими наночастицами или ионами металла, которые из них выделяются. В некоторых исследованиях было высказано предположение о том, что токсичность НМ на основе Ag, CuO и ZnO может быть, по крайней мере, частично вызвана самими НЧ [76-79]. Однако в этих исследованиях использовались нерастворимые частицы, которые тестировались в более высоких концентрациях по сравнению с теми, которые обычно сообщаются, как токсичные. Поэтому можно заключить, что в большинстве случаев наблюдаемая токсичность этих трех типов инженерных НМ была вызвана токсичными ионами металлов.

В данном разделе более подробно будут рассмотрены механизмы поведения и токсичного воздействия НЧ на уровне биологических молекул и клеток живого организма.

Адсорбция белков на поверхности наночастиц («Белковая корона»)

Прежде всего, следует рассмотреть механизм, который имеет место при непосредственном контакте НЧ с биологическими молекулами живого организма (размеры НЧ сопоставимы с размерами биомолекул). Всякий раз, когда НЧ входят в живой организм, белки и другие биомолекулы в биологических жидкостях быстро связываются с поверхностью НЧ, образуя адсорбционный слой из биомолекул, обычно называемый «белковой короной» (рис. 5) [80-82]. Таким образом, далее живые организмы взаимодействуют с НЧ, покрытыми белками, а не с «голыми» НЧ, и вследствие этого их биологические реакции, включая клеточную интернализацию, биораспределение и токсичность, зависят от природы белковой короны [83-87]. Хотя модификация поверхности НЧ, например, полиэтиленгликолем в случае их использования для доставки лекарственных препаратов, может уменьшить неспецифическое связывание белков, полностью подавить адсорбцию белков чрезвычайно сложно [88, 89].

Для прогнозирования влияния образования «белковой короны» необходимо изучить следующие аспекты:

- кинетику и динамику формирования короны;
- идентификацию типов адсорбированных белков и их количество;
- структурные свойства и биологические эффекты этих белков;
- основные физико-химические свойства НЧ, определяющие образование белковой короны (размер и форма НЧ, химия поверхности и т. д.);
- взаимосвязь между природой белковой короны и биологическими эффектами *in vitro* и *in vivo*.

Эти данные являются необходимыми для правильной оценки нанотоксичности при разработке безопасных наномедицинских препаратов.

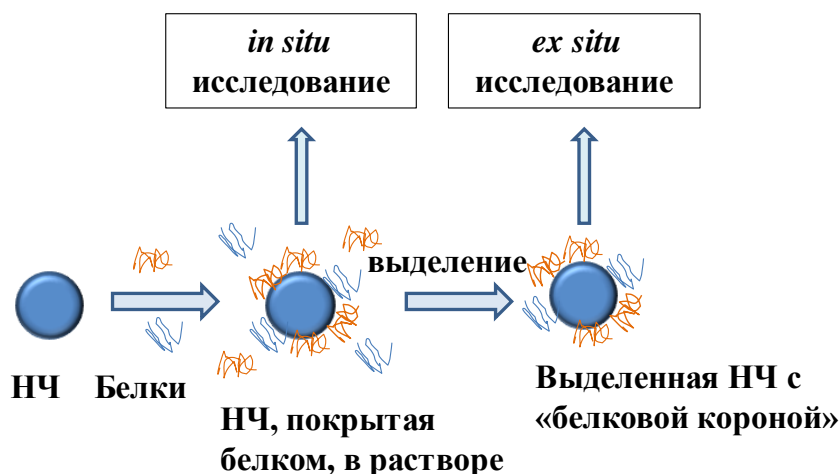


Рис. 5. Схема формирования белковой короны вокруг НЧ в биологических жидкостях организма и ее последующее исследование методами *in situ* и *ex situ*. Голубым и оранжевым цветом показаны два разных белка.

Для характеристики адсорбции белков на НЧ разработаны самые разнообразные аналитические методы. Используются *ex-situ* методы (такие как просвечивающая электронная микроскопия, гель-электрофорез и масс-спектрометрия), в этом случае «белковая корона» может быть изучена после отделения комплекса НЧ-белок от несвязанных белков. Для того чтобы непосредственно контролировать адсорбцию белков, когда НЧ погружены в биологические жидкости, применяются методы *in situ* (такие как флуоресцентная спектроскопия, круговой дихроизм и динамическое рассеяние света) [90-92]. Одним из таких методов *in situ* является флуоресцентная корреляционная спектроскопия (ФКС), которая позволяет с точностью на уровне субнанометров измерять увеличение гидродинамического радиуса НЧ при формировании короны в зависимости от концентрации белка.

Авторы работы [93] использовали ФКС как метод *in situ*, помогающий избежать изменения состава и структуры белковой короны. Проведенные исследования адсорбции сывороточных белков на водорастворимых люминесцентных НЧ с помощью ФКС показали ступенчатое увеличение радиуса НЧ в зависимости от концентрации белка при связывании (адсорбции) белка независимо от типа НЧ и специфических функциональных свойств их

поверхности (рис. 6). Это наблюдение указывает на образование на НЧ белкового монослоя.

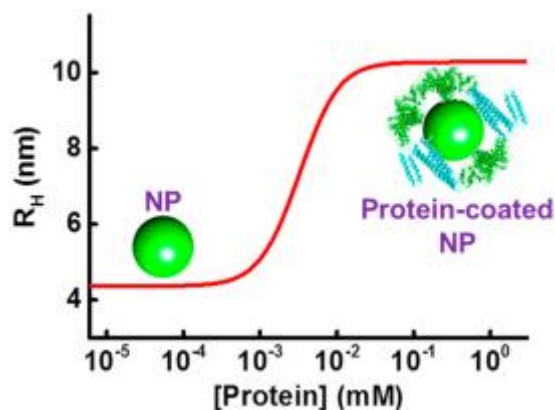


Рис. 6. Зависимость гидродинамического радиуса НЧ от концентрации белка при образовании белковой короны [93].

Проведенные авторами этой работы структурные расчеты потенциалов поверхности белка показали, что положительно заряженные участки на белковой поверхности НЧ электростатически взаимодействуют с отрицательно заряженными участками, а наблюдаемая толщина белкового слоя всегда соответствует известным размерам молекул белков, связывающихся в определенной ориентации. Температура и функциональные свойства поверхности НЧ также были идентифицированы как важные параметры, контролирующие образование белковой короны. Примечательно, что корона, образованная из одного типа белков сыворотки крови, была обратимой, в то время как адсорбция сывороточных белков другого типа была совершенно необратимой.

Два следующих механизма имеют место уже при вхождении НЧ в клетки организма. Такое вхождение может происходить двумя способами. На рис. 7 представлена схема общего механизма токсичности металлических НЧ, когда они проникают в клетки с помощью активных процессов интернализации (эндоцитоз) или без эндоцитоза.

Эффект «Троянского коня»

Один из таких механизмов называют «эффектом Троянского коня». НЧ, входящие в клетки в энергетически зависимых процессах (опосредуемых клатрином, кавеолином, липидами и др.) [94], быстро окружаются и включаются в везикулярные структуры, эндосомы и, наконец, в лизосомы. Кислые значения рН в лизосомах запускают эффект «Троянского коня», включающий в себя обильную активную интернализацию НЧ клетками с последующим усиленным высвобождением довольно токсичных ионов (например, Ag^+ , Cd^{2+} , $\text{Fe}^{2+/3+}$, $\text{Au}^{1+/3+}$) [75, 95]. Значительное количество ионов НЧ, просочившихся внутрь клетки, может далее оказывать токсическое действие (например, истощение/инактивацию ферментов, денатурацию белков и т. д.) на некоторые клеточные мишени, например, митохондрии и/или вызывает повреждение/дисфункцию лизосом. Это в конечном итоге приводит к

повышению содержания АФК, апоптозу, повреждению ДНК [96, 97] и клеточной мембраны.

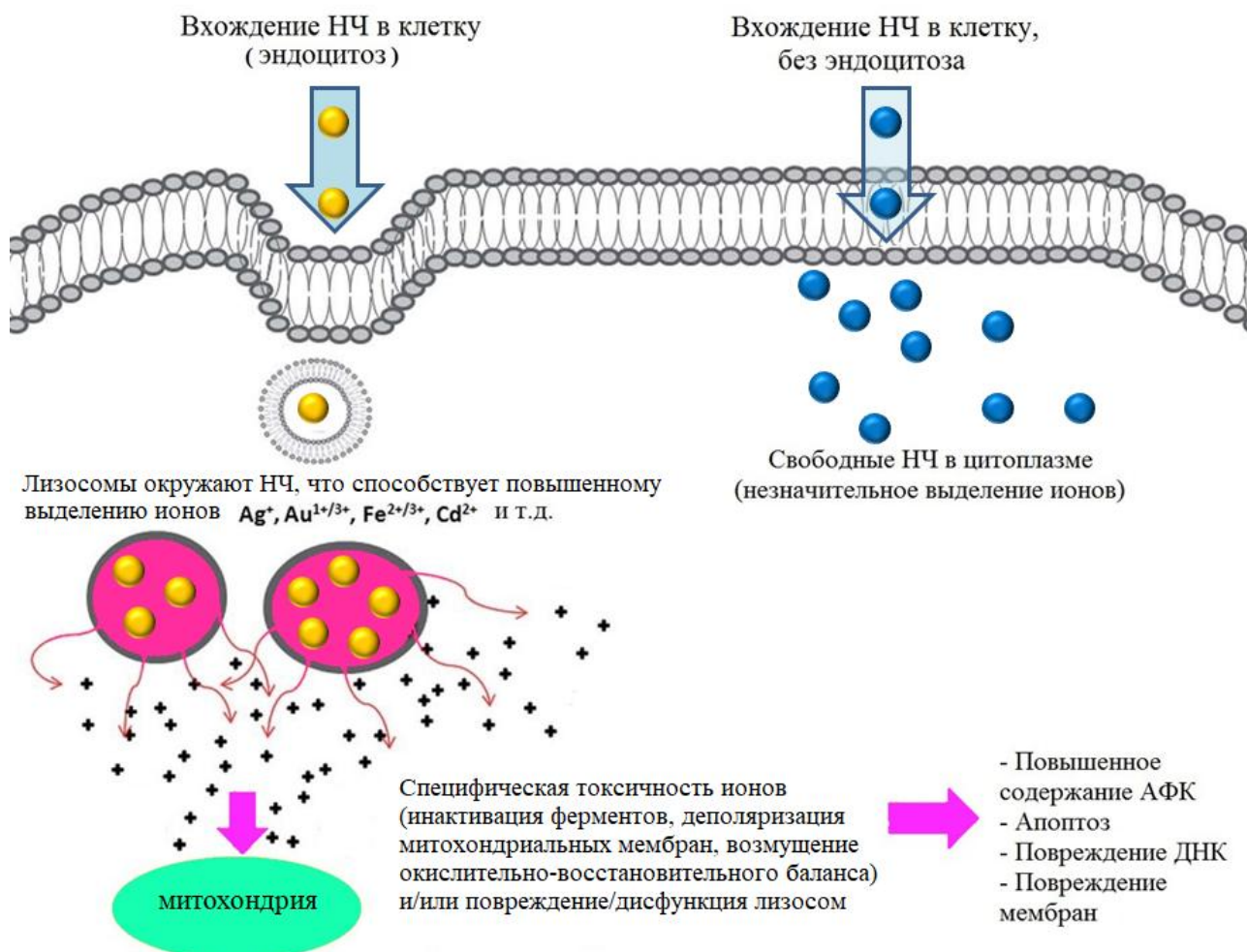


Рис. 7. Схема основных механизмов токсичности, вызываемой металлическими НЧ при их вхождении в клетки живого организма (АФК – активные формы кислорода).

Окислительный стресс

Другим механизмом токсичности НЧ с участием эндоцитоза является окислительный стресс – процесс повреждения клетки в результате окисления. Физико-химическая активность проникших в клетку НЧ (рис. 7) способствует образованию свободных радикалов или активных форм кислорода (АФК), включая супероксидные радикальные анионы и гидроксильные радикалы, которые напрямую или посредством активации окислительных ферментативных процессов, приводят к окислительному стрессу клеток (рис. 8) [98-103].

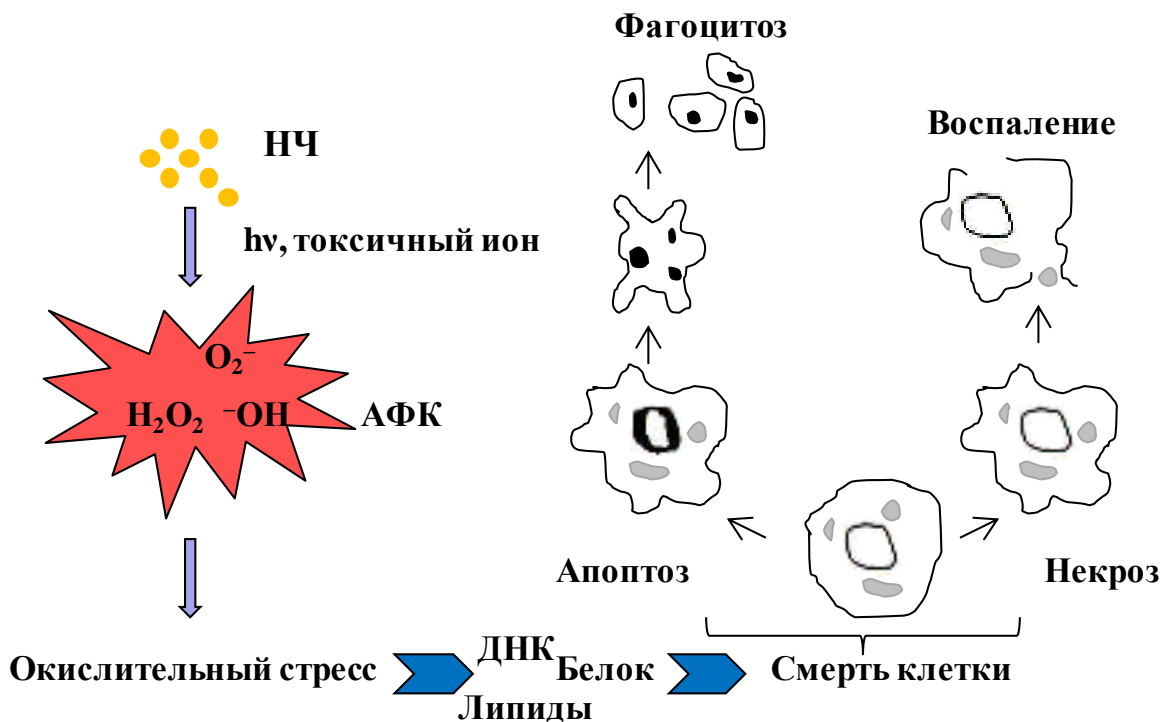


Рис. 8. Механизм окислительного стресса, индуцированного наночастицами.

В целом, в этом случае можно выделить несколько источников АФК, способных привести к окислительному стрессу:

- Способность самих клеток к генерированию свободных радикалов $\cdot OH$, $O_2^{\cdot-}$ [104] как интегральный ответ клетки на присутствие наночастиц.
- Наночастицы на основе переходных металлов или неметаллические НЧ с примесями переходных металлов (используемых в качестве катализаторов при производстве НЧ), проникая в клетку, могут участвовать в иницировании свободных радикалов.
- На поверхности НЧ, в белковой короне, образуются относительно стабильные свободные радикальные интермедиаты, участвующие в дальнейшем в иницировании АФК.
- Окислительно-восстановительные группы в составе наночастиц, участвующие во внутриклеточных окислительно-восстановительных процессах с участием O_2 , H_2O_2 [104].

Механическое разрушение физических барьеров клетки и клеточных мембран

В заключение рассмотрим механическое разрушение физических барьеров клетки и клеточных мембран наночастицами различной формы. Такой механизм был установлен по отношению к разным клеткам (*Escherichia coli*, *Pseudomonas putida*, *Vibrio fischeri* и др.) на примере частиц Ag (1-40 нм), фуллерена C_{60} (25-500 нм), ZnO, SiO_2 , TiO_2 (200-480 нм), CuO, ZnO, TiO_2 (50-70 нм), углеродных нанотрубок и др. [105-107]. Механические разрушения в

клетках могут вызывать активацию макрофагов и нейтрофилов в тканях и развитие воспаления.

МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ НЧ

Методы оценки цитотоксичности НЧ можно разделить на тесты *in vivo* и *in vitro*. Методы оценки токсичности *in vivo* требуют много времени и затрат и затрагивают этические проблемы, а тесты на токсичность *in vitro* быстрее, удобнее, дешевле и свободны от этических проблем [74]. Благодаря этим преимуществам анализы *in vitro* являются основными при оценке токсичности большинства НМ [108].

Оценка целостности клеточной мембраны является одним из наиболее распространенных подходов к измерению жизнеспособности клеток. Среди методов *in vitro* для оценки цитотоксичности НЧ наиболее широко используются колориметрические методы ЛДГ, МТТ и МТС [109] (таблица 2).

Методы оценки целостности клеточной мембраны

Метод ЛДГ

Метод основан на измерении активности во внеклеточных средах такого вещества, как лактатдегидрогеназа (ЛДГ), которое обычно находится внутри клеток. Метод ЛДГ является колориметрическим анализом, который количественно измеряет ЛДГ, высвобожденную из поврежденных клеток в культуральную среду. Таким образом, ЛДГ является маркером целостности клеточной мембраны. Этот анализ является быстрым, простым и надежным методом определения цитотоксичности НЧ [110].

Биолюминесцентные методы

Биолюминесцентные методы широко используются для оценки жизнеспособности клеток, при этом определяют количество выживших клеток путем измерения поглощения и накопления красителей - нейтрального красного и трипанового синего после воздействия на клетку токсического вещества. Таким образом, эти красители являются маркерами целостности мембраны, поскольку они не могут попасть в живые клетки, но легко проникают в поврежденные клетки, окрашивая внутриклеточные компоненты [101-113].

Метод МТТ

Метод измерения цитотоксичности НЧ с использованием 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолийбромидом (МТТ). МТТ представляет собой вещество желтого цвета, которое превращается в фиолетовые нерастворимые кристаллы формазана под действием сукцинатдегидрогеназ митохондрий жизнеспособных клеток. Этот метод напрямую связан с числом жизнеспособных клеток [114].

Метод МТС

В этом методе используется (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-5-(3-карбоксиметоксифенил)-2-(4-сульфофенил)-2Н-тетразолий (МТС).

Жизнеспособные клетки превращают соль тетразолия в окрашенный растворимый продукт формазан ферментами митохондриальной дегидрогеназы, т.е. здесь так же, как в методе МТТ, образуется колориметрический продукт. Количество получаемого формазана прямо пропорционально числу живых клеток в культуре [115].

Таблица 2. Некоторые методы оценки токсичности *in vitro* для разных видов НЧ и типов клеток

Метод	Вид НЧ	Тип клеток (систем)	Ссылки
МТТ	КТ	Человеческие эмбриональные клетки почек	[116]
	TiO ₂	Эритроциты/лимфоциты человека	[117]
Биолюминесценция/ Нейтральный красный	TiO ₂	Зародышевые клетки данио	[118]
ЛДГ	TiO ₂	Клетки почек человека	[119]
	УНТ	Пневмоциты человека	[120]
	НЧС	Фибробласты эмбриона мыши	[121]
МТС	НЧЗ	Клетки млекопитающих	[122]
	НЧЗ	Фибробласты мыши	[123]
Биолюминесценция/ Трипановый синий	TiO ₂	Эпителиальные клетки легких человека	[124]

Примечание: КТ – квантовые точки, УНТ – углеродные нанотрубки, НЧС – наночастицы серебра, НЧЗ – наночастицы золота

ДРУГИЕ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ТОКСИЧНОСТИ НЧ

Одноклеточный гель-электрофорез (comet assay) может применяться для оценки **генотоксичности** НЧ. Он представляет собой простой и чувствительный метод оценки повреждения ДНК на уровне одной клетки. Это важный метод генетических токсикологических исследований. Гель-электрофорез, проводимый в щелочных условиях (alkaline comet assay, pH > 13), считается оптимальным вариантом для идентификации агентов с генотоксической активностью. Этот метод способен обнаруживать двухцепочечные и одноцепочечные разрывы ДНК, щелочно-лабильные участки, сшивание ДНК-ДНК/ДНК-белок и участки неполного восстановления разрывов. Метод может применяться в различных клетках как *in vitro* так и *in vivo* [125].

Флуоресцентная микроскопия и электронная микроскопия могут эффективно применяться для изучения поглощения и распределения наночастиц внутри организма [102, 126-129]. На рис. 9 представлены микрофотографии НЧ различной природы и размеров, полученные методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ).

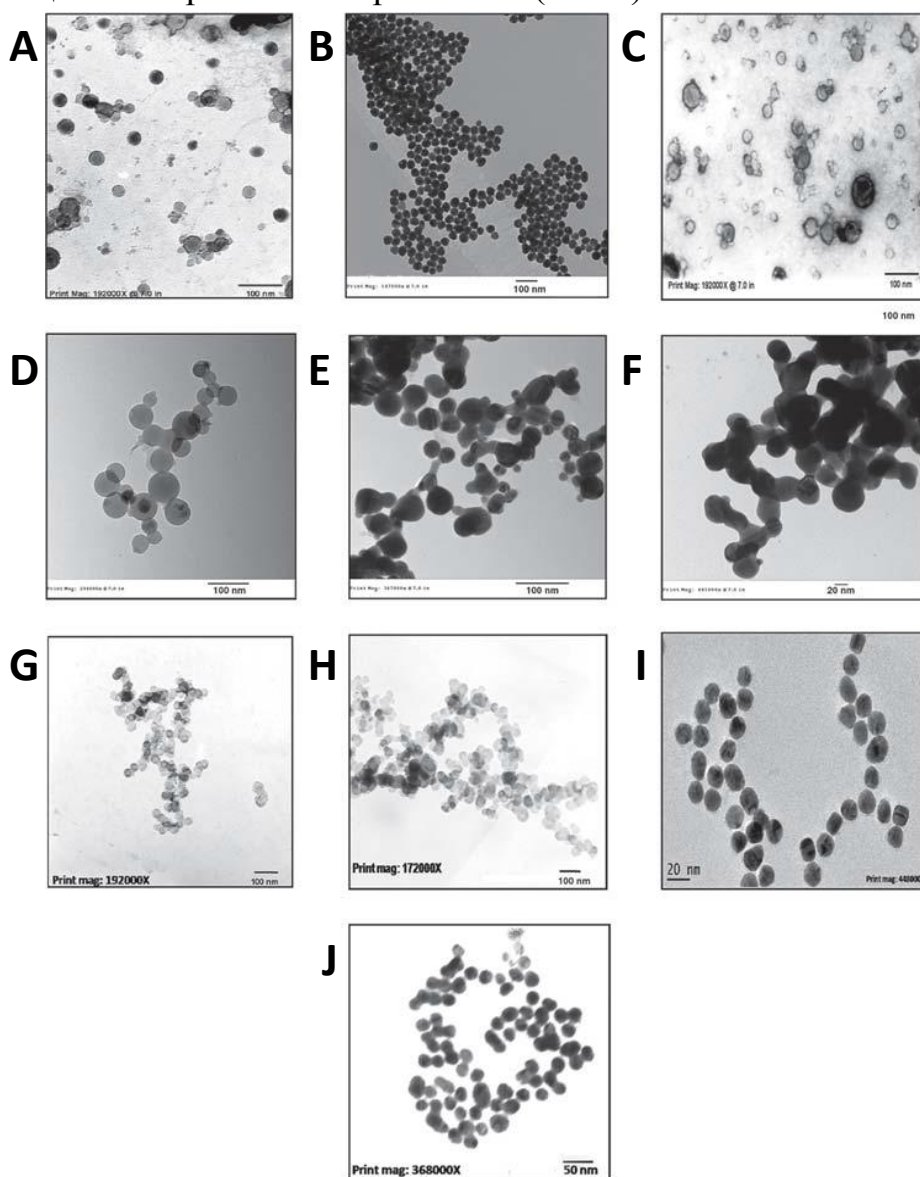


Рис. 9. Микрофотографии НЧ, полученные просвечивающей электронной микроскопией. Показаны наночастицы: серебра - 15 нм, 40 нм (А, В); алюминия-20 нм, 50 нм (С, D); серебра, покрытого углеродом - 25 нм, 45 нм (Е, F); углеродной сажи - 20 нм, 40 нм (G, H) и золота - 20 нм, 40 нм (I, J). Образцы для ПЭМ были приготовлены путем размещения капли раствора НЧ, непосредственно на медной сетке, обработка изображений проводилась при 100-200 кВ [102].

Так, например, метод ПЭМ позволил установить проникновение НЧ Ag в слизистую оболочку тонкой кишки, печень и селезенку крыс [126]. С помощью четырехмерной электронной микроскопии удалось проследить за динамикой движения фотовозбужденных НЧ золота [130].

Часто при исследовании токсичности НЧ применяется комбинация методов, например, флуоресценции и электронной микроскопии для визуализации, идентификации и количественного определения НЧ [127].

Ниже приведены данные по цитотоксичности некоторых видов НЧ, таких как углеродные нанотрубки, фуллерены, НЧ на основе диоксида титана, квантовые точки, НЧ золота и серебра, дендримеры и наноглины, и предполагаемые механизмы их воздействия.

Цитотоксичность углеродных нанотрубок

Углеродные нанотрубки (УНТ) - это волокнистые наноструктуры, являющиеся аллотропами углерода, представляющие собой одностенные или многостенные полые графитовые цилиндры, имеющие в поперечнике наноразмеры, а в длину достигающие нескольких микрон. Их делят на одностенные углеродные нанотрубки (ОСУНТ) и многостенные углеродные нанотрубки (МСУНТ). Помимо их использования в промышленности, в последнее время УНТ находят все большее применение в биомедицине благодаря их уникальным электрическим, физическим и тепловым качествам [131-133]. Из-за волокнистой структуры УНТ обладают асбестоподобными эффектами [72]. Установлено, что они могут вызывать воспаление и окислительный стресс, способствовать развитию фиброза и гранулем [134]. ОСУНТ могут повреждать кожу [135], вызывать генотоксичность и апоптоз [136], МСУНТ способны также оказывать токсическое воздействие, даже не проникая в клетку [137].

Механизмы токсичности УНТ неоднозначны. Многочисленные исследования показали, что УНТ могут способствовать образованию АФК в различных клеточных линиях и активировать АФК-ассоциированные внутриклеточные сигнальные процессы зависимым от дозы способом в мезотелиальных клетках [138-141].

Сообщалось, что МСУНТ способны стимулировать выделение провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6, IL-8) и фактора некроза опухолей (TNF- α) из мезотелиальных клеток и макрофагов. В работе [142] продемонстрировано, что непосредственное воздействие МСУНТ в зависимости от их длины вызывает выделение цитокинов из макрофагов, а не из мезотелиальных клеток. При этом обработка мезотелиальных клеток кондиционированной средой на основе обработанных УНТ макрофагов, привела к усилению секреции цитокинов. В другом исследовании было обнаружено, что МСУНТ стимулируют макрофаги продуцировать бета-трансформирующий фактор роста (TGF- β 1) и фактор роста тромбоцитов (PDGF), что способствует превращению легочных фибробластов в миофибробласты и является основным фактором развития фиброза [142].

Токсичность фуллеренов

Крайне противоречивые данные опубликованы по нанобезопасности фуллеренов. По одним данным, фуллерены C₆₀ считаются малотоксичными

(1200-2500 мг/кг) [33, 72], по другим – представляют серьезную опасность для человека [143], имеют общую токсичность на уровне 2500 мг/кг [33].

Хотя в экспериментах *in vivo* не было отмечено ни острой, ни хронической токсичности,стораживает факт накопления фуллеренов в организме. В обзоре [144] проведен подробный анализ токсического действия фуллеренов *in vivo* при поступлении через дыхательную систему (ингаляционно и интратрахеально), желудочно-кишечный тракт (перорально и внутривентриально), кожу и слизистые оболочки, а также при парентеральном введении (внутрибрюшинно, внутривенно). Было показано, что при ингаляционном поступлении фуллерена местно развивались незначительные и кратковременные воспалительные эффекты, а серьезные патологические нарушения в тканях легких были обусловлены высокими дозами НЧ. Фуллерены не раздражали кожные покровы и слизистую оболочку глаз, не проявляли сенсibiliзирующих свойств и не проникали в глубокие слои кожи. При пероральном поступлении не наблюдалось значимых токсических эффектов, поэтому был сделан вывод о низкой степени абсорбции фуллерена из желудочно-кишечного тракта и его эффективной экскреции.

Были получены модифицированные C₆₀ фуллерены, проявляющие высокую избирательную токсичность [33]. Предполагается токсичность и водорастворимого фуллерена C₆₀ [145].

В работе [146] для фуллеренов предлагается в качестве механизма токсичности окислительный стресс.

Цитотоксичность наночастиц TiO₂

Широкое применение наночастиц диоксида титана (НЧ TiO₂) в товарах потребления, включая косметические средства, краски, фармацевтические препараты, пищевые добавки и т.д., является результатом их способности придавать непрозрачность и белизну [147, 148]. В последние годы большой интерес вызвал фотокатализируемый эффект уничтожения наночастицами TiO₂ раковых клеток [149-151].

Потенциальный механизм цитотоксичности, вызванной нерастворимыми НЧ TiO₂, вызывает споры. В работе [152] эти НЧ даже считаются нетоксичным природным наноматериалом. И, наоборот, в некоторых сообщениях указана потенциальная токсичность НЧ TiO₂, включая их способность индуцировать окислительный стресс, генотоксичность и иммунотоксичность [153, 154]. Однако механизмы этих токсических эффектов все еще не ясны, поэтому важна оценка цитотоксичности НЧ TiO₂ как методами *in vivo* так и *in vitro*. В отличие от других НЧ, таких как ZnO, квантовые точки и т.п., НЧ TiO₂ не выделяют токсичных ионов, поэтому токсичность этих частиц можно объяснить зависящим от размера НЧ взаимодействием между наночастицами и внутриклеточными биомолекулами, адсорбированными на НЧ, т.е. образованием «белковой короны» [155-157]. Эти взаимодействия приводят к генерации АФК, деполяризации митохондрий, прорыву цитоплазматической мембраны, внутриклеточному притоку кальция и выделению цитокинов [158-160].

В работе [156] исследовали влияние размеров НЧ TiO_2 на их фототоксичность. Результаты показали, что гибель клеток, обработанных 10 нм НЧ TiO_2 после фотоактивации ультрафиолетовым светом, была значительно выше, чем у клеток, обработанных более крупными частицами 20 и 100 нм. Более того, цитотоксичность нефотоактивированных НЧ размером 10, 20 и 100 нм была значительной для клеток, обработанных этими НЧ. Кроме того, клетки, обработанные фотоактивированными НЧ размером 10 нм, демонстрировали более высокую генерацию митохондриального супероксида по сравнению с НЧ размером 20 и 100 нм.

Более высокая цитотоксичность более мелких НЧ, связана с их большей площадью поверхности и, следовательно, содержанием большего количества молекул, подвергшихся воздействию. Фототоксичность этих НЧ можно снизить с помощью покрытия их поверхности хитозаном или сополимером этилена с малеиновым ангидридом (РЕМА) за счет предотвращения адсорбции биомолекул с образованием гидроксильных радикалов ($\cdot\text{OH}$) в процессах фотоактивации [156].

В другой работе была изучена токсичность, зависящая от размера НЧ, как TiO_2 , так и сополимера молочной и гликолевой кислот (PLGA). Было показано, что биомедицинские НЧ PLGA не проявляют заметного цитотоксического эффекта по сравнению с НЧ TiO_2 . Тем не менее, меньшие наночастицы PLGA могут инициировать высвобождение $\text{TNF-}\alpha$, а 200 нм наночастицы PLGA не вызывали отрицательного ответа от клеток. Более значимый цитотоксический эффект наблюдался в клетках, обработанных НЧ TiO_2 , особенно при концентрациях выше 100 мкг/мл. Зависимость цитотоксичности от размера, как наночастиц PLGA, так и TiO_2 можно объяснить меньшими размерами и большей удельной поверхностью и, следовательно, воздействием на большее число поверхностных молекул, что приводит к адсорбции большего числа биомолекул, например, окружающих их белков [161].

Цитотоксичность квантовых точек

Квантовые точки (КТ), коллоидные полупроводниковые наночастицы, являются перспективным типом НЧ. Они обладают уникальными оптическими свойствами, включая высокий квантовый выход флуоресценции, широкое поглощение, узкую эмиссию и высокую фотостабильность. Эти свойства делают КТ привлекательным кандидатом для визуализации *in vivo* вместо флуоресцентных красителей [162, 163]

Как и другие НЧ, цитотоксичность КТ зависит от таких параметров, как размер, форма, концентрация, заряд, окислительно-восстановительная способность, покрытие поверхности и механическая стабильность этих частиц. Токсичность непокрытого ядра CdSe и CdTe КТ была исследована в нескольких работах. Воздействие токсичности этих неорганических наночастиц происходит по двум основным механизмам [164-167]:

1. Ионы Cd^{+2} , существующие в структуре КТ:

Эти токсичные ионы вызывают токсические эффекты несколькими способами, такими как вмешательство в репарацию ДНК и замещение физиологического

Zn. Ионы Cd^{+2} усиливают окислительный стресс, но они не могут непосредственно генерировать свободные радикалы.

2. Образование свободных радикалов:

КТ CdSe и CdTe являются высокореактивными, поэтому фотоактивация этих КТ с помощью видимого или ультрафиолетового света приводит к их окислению. Действительно, фотон света может генерировать возбуждение КТ, которое переносится на молекулярный кислород, образуя синглетный кислород. Реакция синглетного кислорода с биологическими молекулами может приводить к образованию свободных радикалов.

На примере КТ CdSe и CdS было показано [168], что изменение состава ядра и химии поверхности КТ, приводит к их различной цитотоксичности. Первые давали радикалы $\cdot\text{OH}$ сразу после активации светом, в то время как вторые требовали интенсивного облучения для получения эквивалентного количества радикалов. Следовательно, токсичность, наблюдаемая для КТ CdSe, может быть непосредственно связана с образующимися радикалами $\cdot\text{OH}$.

Таким образом, цитотоксичность коллоидных НЧ можно контролировать и устранять путем выбора подходящего материала для ядра КТ и подходящих условий облучения [168].

Цитотоксичность наночастиц золота

Наночастицы золота (НЧЗ) являются одними из наиболее перспективных неорганических НЧ, которые вызывают научный и технологический интерес благодаря простоте их синтеза, химической стабильности и превосходным оптическим свойствам. Эти уникальные свойства НЧЗ делают их привлекательным инструментом для диагностики и лечения рака [169-171].

Большинство научных исследований *in vitro* свидетельствует о том, что НЧЗ нетоксичны для клеток. Оценка цитотоксичности НЧЗ имеет важное значение из-за широкого применения НЧЗ в биомедицине. Степень цитотоксичности НЧЗ зависит от их размера, формы и окружающих лигандов [172, 173]. Анизотропные НЧЗ потенциально имеют большую способность к окислению, чем изотропные, из-за высокой площади поверхности воздействия и дефектов. Сферические НЧЗ, как показано в некоторых работах, пригодны для биомедицинского применения [174-176].

Были исследованы эффекты цитотоксичности НЧЗ размером 5 и 15 нм *in vitro* на линии клеток эмбриональной фибробласты мыши (Balb/3T3). Чтобы понять наблюдаемые различия в цитотоксичности двух различных размеров НЧЗ, авторы работы [177] исследовали поглощение и внутриклеточное распределение НЧ на Balb/3T3.

Результаты показали, что цитотоксичность НЧЗ проявляется только для клеток, обработанных НЧЗ размером 5 нм, в то время, как для НЧЗ размером 15 нм не было обнаружено никакой токсичности. Этот эффект связан с большим количеством НЧЗ размером 5 нм, поглощенным клетками по сравнению с более крупными частицами (15 нм) [177].

Цитотоксичность наночастиц серебра

Благодаря антимикробным свойствам, наночастицы серебра (НЧС) широко используются в большом ряде потребительских товаров, включая косметику, электронику, бытовую технику, текстильные изделия и продукты питания [178, 179]. В последнее десятилетие НЧС использовались в медицинских целях, например, для доставки лекарств, проектирования биодатчиков, как контрастные вещества для визуализации и т. д. [180-182]. НЧС являются актуальными претендентами на роль альтернативы современным антибиотикам [183]. Соответственно, анализ токсичности НЧС является важным фактором, который следует учитывать при их применении в биомедицинских целях. Цитотоксичность НЧС связана с окислением НЧ до ионов Ag^+ , которые очень токсичны для биологических систем и клеточных компонентов [184-187].

В работе [188] показано, что НЧС в водной системе более токсичны по сравнению с объемным серебром из-за присутствия растворенного кислорода, восстановление которого на поверхности НЧ приводит к выделению H_2O_2 . Кроме того, результаты показали, что генерация АФК наночастицами Ag протекает эффективней, чем НЧС крупного размера.

В работе [129] была изучена токсичность тщательно охарактеризованных НЧС в зависимости от их размера и покрытия поверхности при воздействии на клетки легких человека. В этом исследовании рассматривались аспекты, которые часто упускаются из внимания в исследованиях нанотоксикологии, такие как зависимость от времени, степени агломерации и выделения ионов. Исследования показали зависящую от размера цитотоксичность НЧС, поскольку из исследованных концентраций НЧ (5-50 мг/мл) только частицы размером 10 нм могли влиять на жизнеспособность клеток легких человека. Несмотря на различия в агломерации частиц размером 10 нм в случае покрытия из цитрата и поливинилпирролидона (ПВП), цитотоксичность не зависела от вида покрытия поверхности частиц.

Все тестируемые НЧС (размером 10, 40, 50 и 75 нм) через 24 часа проявляли генотоксичность, т.е. вызывали увеличение общего повреждения ДНК. Измерения проводились методом щелочного одноклеточного геля электрофореза. Полученные результаты свидетельствуют о разных механизмах цитотоксичности и генотоксичности. Однако при этом не наблюдалось увеличения образования внутриклеточного АФК; поэтому наблюдаемое взаимодействие с тиол- и аминокеттогруппами биомолекул и появление эффекта токсичности на клеточные компоненты, по-видимому, были результатом внутриклеточного поглощения Ag . Таким образом, это исследование показывает, что НЧС размером 10 нм являются цитотоксичными для клеток легких человека и что наблюдаемая токсичность связана со скоростью внутриклеточного выделения Ag - эффектом «троянского коня» [129].

В работе [21] было показано формирование отека мозга при нарушении гематоэнцефалического барьера при введении наночастиц серебра и меди *in vivo* на модели крыс при внутривенном введении (доза 30 мг/кг).

Цитотоксичность дендримеров

Дендримеры представляют собой наноразмерные (диапазон размеров от 1 до 10 нм), радиально-симметричные полимерные молекулы с четко определенной, однородной и монодисперсной структурой, которая имеет симметричное ядро, внутреннюю оболочку и внешнюю оболочку [189, 190]. Они имеют древообразную структуру с регулярными ответвлениями, все ветви дендримера имеют общую центральную группу. Дендример первого поколения (первой генерации) имеет одну точку ветвления (G1) в каждой ветви, второго поколения (G2) - две точки ветвления и т. д. Такое строение дендримеров получают в ходе многостадийного процесса их синтеза (рис. 10).

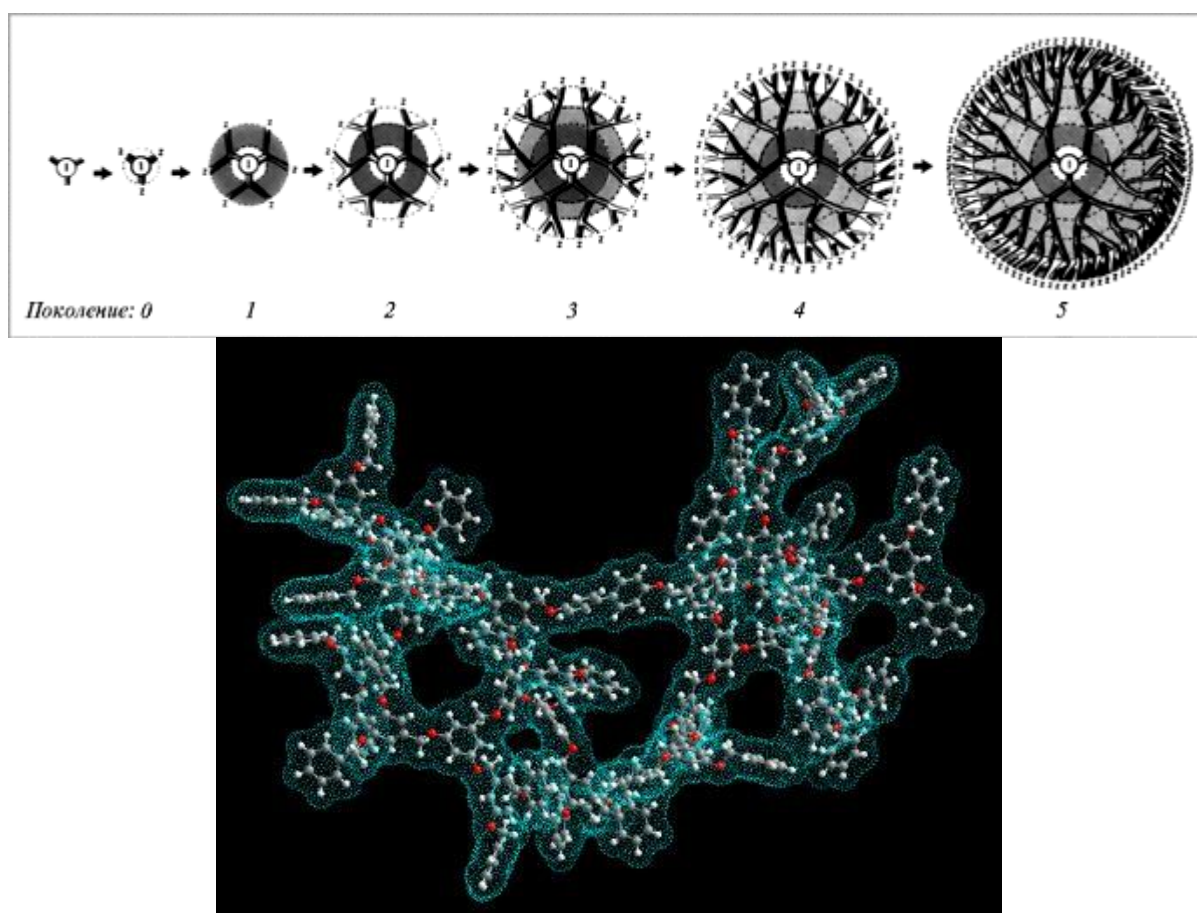


Рис. 10. Схема синтеза дендримера, растущего с сердцевины, и объемная структура дендримера.

Дендримеры имеют уникальный комплекс физико-химических свойств, что позволяет использовать их в самых разных областях, они активно исследуются с 1980-х гг. и на сегодняшний день получены уже сотни макромолекул различного типа. Например, дендримеры могут служить своеобразными контейнерами для создания системы металлических НЧ практически одинакового размера, которые могут использоваться как катализаторы химических реакций, при изготовлении электронных устройств, специальных покрытий. Дендримеры с фотохромными группами применяются в оптических устройствах. Способность к образованию комплексов с другими

молекулами с контролируемой стабильностью и отсутствием иммуногенности дает возможность использовать дендримеры в медицине в качестве носителей для адресной доставки генов и лекарственных препаратов.

Благодаря контролируемым и воспроизводимым с большой точностью размерам макромолекул, дендримеры используются для калибровки в масс-спектрометрии, электронной и атомной спектроскопии, ультрафильтрации. Дендримеры, содержащие тяжелые металлы, используются в медицинской диагностике в качестве рентгеноконтрастных реагентов. Предлагается использование дендримеров для диагностики и лечения рака [191]. Получены данные, свидетельствующие о том, что у нейтральных фосфор-содержащих дендримеров поколений G3-G4 существует потенциальная возможность применения в противовоспалительной терапии и, вероятно, лечении аутоиммунных заболеваний [192].

Большинство исследователей считает, что дендримеры не обладают сколь-нибудь значительной цитотоксичностью и не вызывают необратимых повреждений при накоплении в живом организме.

В обзоре [193] рассматриваются биораспределение, токсичность и фармакокинетика чистых дендримеров и их комплексов с нуклеиновыми кислотами (дендриплексы) на животных моделях, включая мышей, крыс, кроликов и морских свинок. Хотя дендримеры и дендрипсы накапливались в печени, поджелудочной железе, сердце и почках временно, они не наносили необратимых повреждений. После введения немодифицированных катионных дендримеров наблюдались нежелательные эффекты, которые уменьшались при длительном дозировании вследствие развития противодействующих механизмов. После того, как дендримеры переставали вводить животным, появившиеся нарушения обычно возвращались к нормальному уровню в течение периода восстановления. Авторы пришли к заключению, что почти все дендримеры ранних и средних поколений нетоксичны *in vivo*, несмотря на проявление некоторых цитотоксических эффектов *in vitro*. Поздние поколения немодифицированных катионных дендримеров имеют некоторую токсичность *in vivo* при высоких дозах.

Утверждается, что токсический эффект дендримеров можно обнаружить только у катионных дендримеров, в частности, дендримера PAMAM G3 при исследованиях *in vitro* культуры клеток аденокарциномы легких A549. Исследование механизма токсичности показало, что дендример запускает программу гибели клетки – аутофагию. Токсичность удалось снизить с помощью ингибитора аутофагии 3-метиладенина - исследования как *in vitro*, так и *in vivo* у мышей показали, что на фоне приёма PAMAM G3 животные меньше страдали от токсического действия дендримера [194].

В случае появления токсичности, ее можно снизить с помощью модификации дендримеров, например, нейтрализация поверхностного заряда дендримеров в дендрипсах приводила к меньшей токсичности *in vivo*. В целом, цитотоксичность дендримеров зависит от уровня поколения, количества и природы поверхностных групп. Чем больше уровень поколения и количество положительных зарядов на поверхности, тем выше цитотоксичность.

Цитотоксичность дендримеров можно уменьшить с помощью химической модификации наномолекул - введение в молекулу привитых групп ПЭГ, ацетильных, карбогидратных и других фрагментов не влияло на жизнеспособность клеток или влияло незначительно, при этом другие полезные свойства сохранялись [195].

Цитотоксичность наноглины

К наноглинам относят глинистые минералы с филлосиликатной или листовой структурой, толщина листов которых имеет порядок размеров около 1 нм, а линейные размеры поверхности составляют 50–150 нм. Их используют для создания полимерных нанокомпозитов с улучшенными свойствами: повышенной механической прочностью и пониженными газопроницаемостью и воспламеняемостью для применения в пищевой упаковке, автомобильной и медицинской промышленности [196, 197]. Наиболее распространенным типом наноглин является монтмориллонит, получаемый из глинистой фракции почвы.

Поскольку композиты, в состав которых входят наноглины, используются в потребительских товарах, важно исследовать взаимодействие полученных продуктов с биологическими системами.

Авторы статьи [198] исследовали возможную токсичность образцов Cloisite Na⁺ (чистый монтмориллонит) и Cloisite 30В (органически модифицированный монтмориллонит) и продуктов их термического разложения на модели эпителиальных клеток легких человека. Было обнаружено, что наноглины вызывали значительные токсические эффекты, при этом Cloisite 30В показал зависящее от времени уменьшение количества живых клеток и жизнеспособности клеток по сравнению с контролем и немодифицированной наноглиной, соответственно. Продукты термического разложения вызывали менее сильные токсичные эффекты, во всех случаях наблюдались изменения в морфологии клеток. Морфологические, поведенческие клеточные изменения и изменения жизнеспособности клеток, по мнению авторов, показывают, что наноглины могут оказывать токсикологическое воздействие как при использовании их в промышленности, так и при попадании в окружающую среду. Предполагаемые механизмы токсического воздействия НЧ монтмориллонита подтверждают биочувствительность клеток, аналогичную воздействию других НМ (рис. 11).

Анализ данных, полученных в работе [199] показал, что химический состав органических модификаторов влияет как на физические, так и на химические характеристики наноглин, а также на их токсичность.

В то же время исследования токсичности глинистых НЧ (монтмориллонит, галлуазит, каолин и бентонит), проведенные на простейшем модельном организме *P. caudatum* показали, что в отношении этого организма изученные НЧ наноглин проявляли очень низкую токсичность или их токсичность отсутствовала, тогда как оксид графена был токсичен [200].

В работе [201] было показано, что внутрижелудочное введение крысам в течение 28 дней наноглины приводит к снижению относительной массы печени, активности конъюгирующих ферментов печени и антагонистической

активности бифидофлоры, гиперпродукции дрожжевой микрофлоры толстой кишки и сделан вывод, что наноглины, присутствие которых возможно в пищевых продуктах, должны стать объектом гигиенического нормирования.

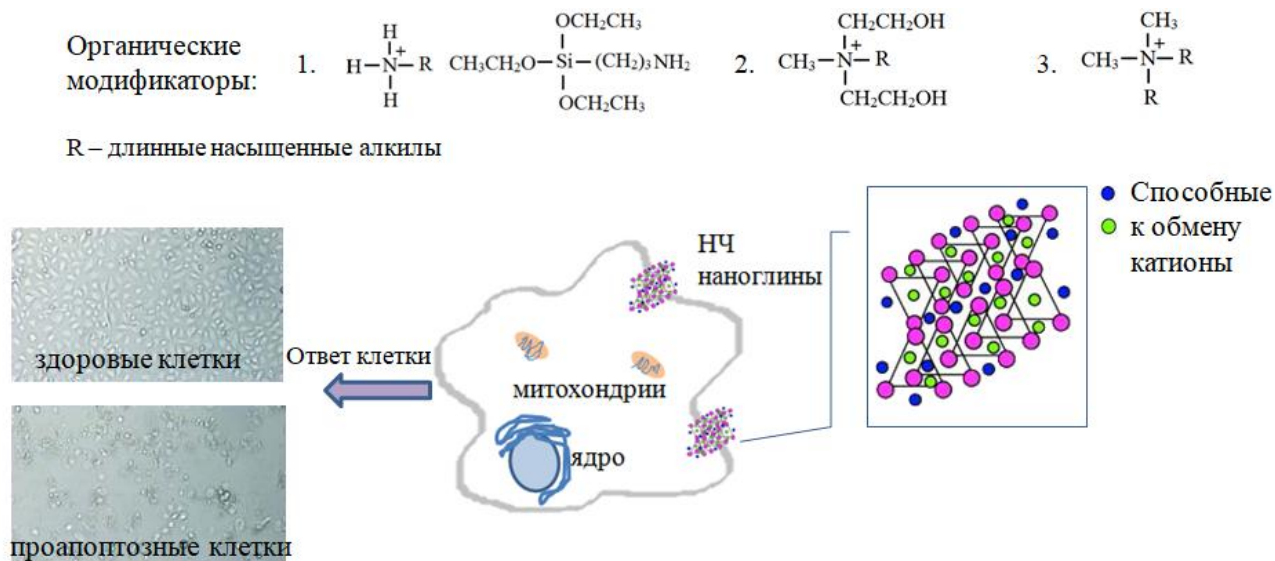


Рис 11. Схематическое изображение механизма токсического воздействия органически модифицированной наноглины на клетку. Фотографии клеток взяты из [199].

НАНОИНФОРМАТИКА

Наноинформатика это возникшая с 2010 г. дисциплина, включающая в себя методы сбора, обработки и распространения данных по наноматериалам и нанотехнологиям [34, 202, 203]. Авторы обзора [202] подчеркивают, что наноинформатика не может рассматриваться как простое применение информатики к нанотехнологиям в силу ее междисциплинарного характера, перманентной эволюции структуры данных, многофакторности описания материалов и устройств, вариации номенклатуры свойств при переходе к новым объектам. Ниже коротко рассмотрены наиболее популярные информационные ресурсы по свойствам НМ.

Описание современных баз данных и онтологий по наноматериалам и нанотехнологиям

Информационные ресурсы по НМ подробно рассмотрены в обзорах [34, 202, 203]. Большинство из них ориентировано на медико-биологическую тематику (англ. EHS – Environment, Health and Safety) и включают информацию о воздействии наноструктур на всех уровнях (молекулярном, клеточном и всего организма) и связанные с этим проблемы токсикологии и гигиены, использование наноматериалов для диагностики и терапии и т.п. По-видимому, это объясняется высоким уровнем информатизации экологии и здравоохранения.

В таблице 3 представлен обзор баз данных по НМ и нанотехнологиям.

Таблица 3. Зарубежные базы знаний и базы данных, включающие информацию о НМ и нанотехнологиях

№	Название	Описание	Ссылка
1	Nanomaterial Biological Interactions Knowledgebase (NBI)	База знаний содержит аннотированные данные по характеристикам НМ (чистота, размер, форма, заряд, состав, функциональные свойства, агрегация), методам синтеза и биологическим взаимодействиям НМ	[204]
2	InterNano	Охватывает не только EHS-область, но и другие виды промышленно-производимых НМ	[205]
3	Nano-EHS Database Analysis Tool	Содержит краткое и полное описание базы данных по НМ и их потенциальному воздействию на здоровье человека	[206]
4	Nanoparticle Information Library (NIL)	Целью NIL является помощь специалистам в области гигиены труда, работникам промышленности и исследователям в обмене информацией по НМ, включая их влияние на здоровье и вопросы, связанные с безопасностью обращения с НМ	[207]
5	Nanomaterials Registry	БД физико-химических свойств НМ и данных о биологических и экологических последствиях их использования	[208]
6	National Toxicology Program Database	База данных для разработки и применения современных инструментов токсикологии и молекулярной биологии для идентификации в окружающей среде веществ, которые могут влиять на здоровье человека	[209]
7	Nano-HUB	Поисковая база данных по нанобио-инструментам	[210]
8	National Center for Biomedical Ontology Bioportal	Использованию биомедицинских онтологий для помощи по управлению и анализу данных, полученных из сложных экспериментов	[211]
9	ISA-TAB-Nano	Стандарт, устанавливающий формат для представления и обмена информацией о НМ, малых молекулах и биологических пробах, включает данные испытаний в форме электронных таблиц или текстовых данных с разделением табуляцией	[212]
10	caNanoLab	Портал для обмена данными по биомедицинским нанотехнологиям	[213]
11	Toxicology Data Network (TOXNET)	Сеть, включающая базы данных по токсикологии, опасным химическим веществам, гигиене окружающей среды и токсичным выбросам	[214]
12	Nanotechnology Characterization Laboratory	Лаборатория по характеристике нанотехнологий выполняет и стандартизирует доклинические испытания НМ, предназначенных для лечения и диагностики рака	[215]
13	Collaboratory for	Сервис по сбору, систематизации и	[216]

	Structural Nanobiology)	соотнесению структурных, физико-химических, биологических и биомедицинских данных НМ	
14	Toxicology Literature Online	Литература по токсикологии	[217]
15	OECD	База данных по исследованию безопасности промышленно получаемых наноматериалов	[218]
16	NanoE-Tox	База данных по экотоксикологии 8 типов инженерных НМ	[73]

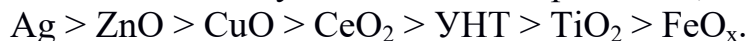
На рис.12 представлена диаграмма, показывающая распределение информации, доступной в БД NanoLab по различным типам НМ.



Рис. 12. Диаграмма распределения информации, доступной в БД saNanoLab по различным типам НМ.

В качестве примера рассмотрим небольшую БД из табл. 3 - NanoE-Tox, которая включает в себя информацию по экотоксикологии восьми типов инженерных НМ различного химического состава: углеродных нанотрубок, фуллеренов, НЧ серебра (Ag), диоксида титана (TiO_2), оксида цинка (ZnO), диоксида церия (CeO_2), оксида меди (CuO) и оксидов железа (FeO_x , Fe_2O_3 , Fe_3O_4). NanoE-Tox объединяет данные из 224 статей и содержит 1518 значений токсичности ($\text{EC}_{50}/\text{LC}_{50}/\text{NOEC}$) с соответствующими условиями испытаний и физико-химическими параметрами НМ, а также с предполагаемыми

механизмами токсичности и поглощения НМ в организмах. 35% данных в NanoE-Tox относится к экотоксичности НЧ Ag, за ними следуют НЧ TiO₂ (22%), CeO₂ (13%) и ZnO (10%). Большая часть данных получена из исследований на ракообразных (26%), бактериях (17%), рыбах (13%) и водорослях (11%). Порядок токсичности НМ, определенный на основе средних значений токсичности наиболее чувствительного организма, был следующим:



Онтология в информатике это попытка всеобъемлющей и подробной формализации некоторой области знаний с помощью концептуальной схемы. Обычно такая схема состоит из структуры данных, содержащей все релевантные классы объектов, их связи и правила (теоремы, ограничения), принятые в этой области. Для наноразмерных объектов и нанотехнологий также разрабатываются онтологии, наиболее полезные и удобные из них представлены в таблице 4.

Таблица 4. Онтологии по НМ

№	Название	Описание	Ссылка
1	Nano Partical Ontology	Ресурс, разработанный для получения информации по наноматериалам и нанотехнологиям (описание, получение, характеристики), используемым в области онкологических исследований	[219]
2	Chemical Entities of Biological Interest (ChEBI)	База данных и онтология химических объектов, представляющих биологический интерес.	[220]
3	eNanoMapper	Онтология включает словарь основных терминов, применяемых в исследованиях по безопасности НМ	[221]

БД и онтологии по экотоксичности широкого спектра НМ позволяют вместо использования дорогостоящих и этически проблемных биоанализов применять методы прогнозирования биологического и экотоксикологического воздействия НМ на основе известного принципа количественного соотношения структура-активность (Quantitative Structure-Activity Relationship, QSAR). Одно из новых направлений в этой области - разработка принципа QSAR, применительно к наночастицам - QNARs (Quantitative Nanostructure-Activity Relationships, QNARs) [222-226]. Модели QSAR/QNARs являются альтернативой испытаниям на животных, они сокращают время экспериментов и минимизируют затраты [227].

Единая компьютерная база данных по наноматериалам и нанотехнологиям, используемым в Российской Федерации (реестр) представлена на сайте [228]. Описано применение разработанной авторами работы [229] реляционной базы данных «Биобезопасность наноматериалов» для экотоксикологической оценки потенциальной опасности углеродного наноструктурного материала.

Для того, чтобы представленные в нашем исследовании базы данных способствовали безопасному развитию нанотехнологий необходимо, чтобы:

- в исследованиях, связанных с нанотехнологиями, использовались согласованные стандарты и термины онтологий;
- журналы приняли единые форматы для обеспечения единообразного представления информации;
- авторы размещали свои результаты в базах данных;
- к данным по НМ был свободный и неограниченный доступ, что позволит специалистам по наноинформатике создавать инструменты, которые принесут пользу широкому кругу специалистов в области нанотехнологий;
- был открытый доступ к научным публикациям по нанотехнологиям для более полного анализа информации в области нанотехнологий.
- более интенсивно развивались альтернативные расчетные методы и модели для прогнозирования и оценки токсичности НМ, такие как, например, QSAR/QNARs, которые не требуют испытаний на животных и минимизируют затраты.

ВЫВОДЫ

Совокупность всей представленной информации по нанобезопасности, нанотоксикологии, наноинформатике свидетельствует о том, что нет оснований ограничивать развитие нанотехнологий, так как это весьма перспективное направление науки и техники, которое, несомненно, уже приносит и принесет в будущем много выгоды и пользы. Некоторые типы НМ в определенных дозах и условиях проявляют токсичность, как для природной среды, так и для живых организмов, в том числе для человека, но это можно и нужно контролировать.

Для обеспечения безопасности и контроля необходимо разрабатывать меры по нанобезопасности, минимизировать риски, применять более безопасный дизайн НМ, накапливать и анализировать экспериментальные данные и другую информацию, изучать механизмы токсического воздействия НЧ, разрабатывать нормативы, методы и приборы определения токсичности, расширять и использовать для исследований НМ базы данных, онтологии, современные методы моделирования рисков и прогнозирования свойств НМ на основе соотношений структура-активность. Главное – применять в вопросах безопасности комплексный подход, определять приоритетные направления и задачи, своевременно реагировать на возникающие проблемы, и тогда все это будет способствовать поддержанию безопасной и экологически чистой среды и защите здоровья человека.

Список литературы:

1. *Лысцов В.Н., Мурзин Н.В.* Проблемы безопасности нанотехнологий. М.: МИФИ, 2007. 70с.
2. Nanoengineering: Global Approaches to Health and Safety Issues. Ed. by P.I. Dolez. Elsevier. 2015. 736 p. <https://www.elsevier.com/books/nanoengineering/dolez/978-0-444-62747-6> (дата обращения.20.10.2017).
3. Approaches to safe nanotechnology. Managing the health and safety concerns associated with engineered nanomaterials. 2009. DHHS (NIOSH) publication No.009-125. 104 p.
4. Нанотехнологии и здоровье населения: научные данные и управление рисками. Отчет о совещании экспертов ВОЗ 10-11 декабря 2012 г., Бонн, Германия.

- http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0004/242788/e96927r.pdf (дата обращения 20.10.2017).
5. *Витязь П.А., Свидинович Н.А., Куис Д.В.* Наноматериаловедение. Минск: Высш. школа, 2015. 511с.
 6. *Jones C.F., Grainger D.W.* *In vitro* assessments of nanomaterial toxicity // *Adv. Drug Deliver. Rev.* 2009. V. 61. P. 438-56.
 7. *Kunhikrishnan A. et al.* Sources, distribution, environmental fate, and ecological effects of nanomaterials in wastewater streams // *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 2015. V. 45. P. 277-318.
 8. Об утверждении Концепции токсикологических исследований, методологии оценки риска, методов идентификации и количественного определения наноматериалов. Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 31 октября 2007 г. № 79. <https://rg.ru/2007/12/01/konceptsiya-doc.html> (дата обращения 20.10.2017).
 9. National Nanotechnology Initiative. <https://www.nano.gov/2018budgetsupplement> (дата обращения 20.10.2017).
 10. Horizon 2020. <https://ec.europa.eu/programmes/horizon2020/en/h2020-section/nanotechnologies> (дата обращения 20.10.2017).
 11. Nanosafety Cluster Compendium <https://www.nanosafetycluster.eu/home/european-nanosafety-cluster-compendium.html> (дата обращения 20.10.2017).
 12. <http://www.oecd.org> (дата обращения 20.10.2017).
 13. Президентская инициатива «Стратегия развития nanoиндустрии» от 24.04.07 № ПР-668 <http://www.rusnor.org/pubs/reviews/7454.htm> (дата обращения 20.10.2017).
 14. http://www.fcpir.ru/about/priorities_and_critical_technologies/priority_lines/ (дата обращения 20.10.2017).
 15. www.portalnano.ru (дата обращения 20.10.2017).
 16. *Elder A. et al.* Translocation of inhaled ultrafine manganese oxide particles to the central nervous system // *Environ. Health Perspect.* 2006. V. 114(8). P. 1172-1178.
 17. *Wang J. et al.* Potential neurological lesion after nasal instillation of TiO₂ nanoparticles in the anatase and rutile crystal phases // *Toxicol. Lett.* 2008. V. 183(1-3). P. 72-80.
 18. *Зайцева Н.В. и др.* Токсиколого-гигиеническая характеристика некоторых металлосодержащих наночастиц при различных способах экспозиции: бионакопление и морфофункциональные особенности воздействия // *Токсикол. вестник.* 2017. № 1. С. 27-34.
 19. *Zhu M.T. et al.* Particokinetics and extrapulmonary translocation of intratracheally instilled ferric oxide nanoparticles in rats and the potential health risk assessment // *Toxicol. Sci.* 2009. V. 107(2). P. 342-351.
 20. *Morozov V.N. et al.* Ballistic Penetration of Highly Charged Nanoaerosol Particles through a Lipid Monolayer // *Langmuir.* 2017. V. 33 (32). P. 7829-7837.
 21. *Sharma H.S. et al.* Influence of Nanoparticles on Blood–Brain Barrier Permeability and Brain Edema Formation in Rats // *Brain Edema XIV. Acta Neurochirurgica Supplementum.* 2010. V. 106. P. 359-364.
 22. *Tagami T., Taki M., Ozeki T.* Nanoparticulate Drug Delivery Systems to Overcome the Blood-Brain Barrier. In: Lu ZR., Sakuma S. (eds) *Nanomaterials in Pharmacology. Methods in Pharmacology and Toxicology.* New York: Humana Press, 2016. P. 333-347.
 23. *Betzer O. et al.* The effect of nanoparticle size on the ability to cross the blood–brain barrier: an *in vivo* study // *Nanomedicine.* 2017. V. 12. No. 13. P. 1533-1546.
 24. *Zhang C. et al.* Induction of size-dependent breakdown of blood-milk barrier in lactating mice by TiO₂ nanoparticles // *PLoS ONE.* 2015. V. 10. P. e0122591.
 25. *Gao X. et al.* Effects of developmental exposure to TiO₂ nanoparticles on synaptic plasticity in hippocampal dentate gyrus area: an *in vivo* study in anesthetized rats // *Biol. Trace Elem. Res.* 2011. V. 143. P. 1616-1628.

26. *Melnik E.A. et al.* Transfer of silver nanoparticles through the placenta and breast milk during *in vivo* experiments on rats // *Acta Naturae*. 2013. V. 5. P. 107-115.
27. *Higashisaka K. et al.* Nano-safety Research: Examining the Associations among the Biological Effects of Nanoparticles and Their Physicochemical Properties and Kinetics // *Biol. Pharm. Bull.* 2017. V. 40. No. 3. P. 243-248.
28. *Leite P.E.C., Pereira M.R., Granjeiro J.M.* Hazard effects of nanoparticles in central nervous system: Searching for biocompatible nanomaterials for drug delivery // *Toxicology In Vitro*. 2015. Vol. 29. No. 7. P. 1653-1660.
29. *Feng X. et al.* Central nervous system toxicity of metallic nanoparticles // *Int. J. Nanomedicine*. 2015. V. 10. No. 1. P. 4321-4340.
30. *Fröhlich E.E., Fröhlich E.* Cytotoxicity of Nanoparticles Contained in Food on Intestinal Cells and the Gut Microbiota // *Int. J. Mol. Sci.* 2016. V. 17(4). P. 509.
31. *Mehra N.K. et al.* Safety and toxicity of nanomaterials for ocular drug delivery applications // *Nanotoxicology*. 2016. V. 10(7). P. 836-860.
32. *Gleiter H.* Nanostructured materials: basic concepts and microstructure // *Acta Materialia*. 2000. V. 48. P. 1-29.
33. *Каркищенко Н.Н.* Нанобезопасность: новые подходы к оценке рисков и токсичности наноматериалов // *Биомедицина*. 2009. № 1. С. 5-27.
34. *Panneerselvam S., Choi S.* Nanoinformatics: Emerging Databases and Available Tools // *Int. J. Mol. Sci.* 2014. V. 15. P. 7158-7182.
35. *Потапов А.И. и др.* Безопасность наночастиц и наноматериалов для окружающей и производственной среды // *Гигиена и санитария*. 2013. № 3. С. 8-14.
36. International Organization of Standardization: Nanotechnologies – Vocabulary, ISO/TS 80004: 2010-2016. [www.iso.org/obp/ui/#iso:std: iso:ts:80004:-1:ed-1:v1:en](http://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:ts:80004:-1:ed-1:v1:en) (дата обращения 20.10.2017).
37. ISO/TR 11360:2010. Nanotechnologies - Methodology for the classification and categorization of nanomaterials.
38. ASTM International: E 2456-06 Terminology for Nanotechnology. ASTM International, West Conshohocken, USA (2008).
39. *Oberdörster G. et al.* An emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles // *Environ. Health Persp.* 2005. V. 113. P. 823-839.
40. *Oksel C. et al.* Evaluation of existing control measures in reducing health and safety risks of engineered nanomaterials // *Environ. Sci.: Nano*. 2016. Issue 4. P. 869-882.
41. *Hjorth R., van Hove L., Wickson F.* What can nanosafety learn from drug development? The feasibility of “safety by design” // *Nanotoxicology*. 2017. V. 11, No. 3, P. 305-312.
42. *Горюнов В.А., Чуйков А.М., Плотников Д.С.* Вопросы безопасности наноматериалов. Оценка рисков воздействия наноматериалов // *Межд. научно-практ. конф. Комплексные проблемы техносферной безопасности*. 2017. Воронеж. <http://www.xn---9sbb.su/stat.html> (дата обращения 20.10.2017).
43. *Горбунова Н.А., Туниева Е.К.* Риски и безопасность использования нанотехнологий пищевых продуктов: обзор // *Теория и практика переработки мяса*. 2016. № 3. С. 35-47.
44. *Соседова Л.М.* Некоторый опыт оценки воздействия на организм факторов окружающей среды в экспериментальных условиях // *Гигиена и санитария*. 2014. № 6. С. 94-98.
45. *Терехова В.А., Гладкова М.М.* Инженерные наноматериалы в почве: проблемы оценки их воздействия на живые организмы // *Почвоведение*. 2014. № 1. С. 82-90.
46. *Deng R. et al.* Nanoparticle interactions with co-existing contaminants: Joint toxicity, bioaccumulation and risk // *Nanotoxicology*. 2017. V. 11. No. 5. P. 591-612.
47. *Якушева Е.В. и др.* Действие наночастиц Al₂O₃ на почвенный микробиоценоз, состояние антиоксидантной системы и микрофлору кишечника красного калифорнийского червя (*Eisenia foetida*) // *Сельскохозяйств. биол.* 2017. Т. 52. № 1. С. 191-199.

48. Короткова А.М. и др. Морфофизиологические изменения у пшеницы (*Triticum vulgare* L.) под влиянием наночастиц металлов (Fe, Cu, Ni) и их оксидов (Fe₃O₄, CuO, NiO) // Сельскохозяйств. биол. 2017. Т. 52. № 1. С. 172-182.
49. Великородная Ю.И., Почепцов Ф.Я. Наночастицы как потенциальный источник неблагоприятного воздействия на окружающую среду // Медицина экстремальных ситуаций. 2015. № 3(53). С. 73-77.
50. Шульгина Т.А., Нечаева О.В., Торгашиова А.С. Оценка токсического воздействия водных дисперсий металлических наночастиц на тест-объекты *Daphnia magna* straus // Экологические проблемы промышленных городов : сб. науч. тр. по материалам 8-й межд. науч.-практ. конф. СГТУ. Саратов, 2017. С. 101-104.
51. REACH-18. <https://echa.europa.eu/reach-2018> (дата обращения.20.10.2017).
52. Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH) // Official J. Europ. Union, L396. 2006. P. 1-849.
53. Байкова И.С., Штамм Е.В., Вичутинская Е.В., Скурлатов Ю.И. Механизм окисления наночастиц FeS молекулярным кислородом и пероксидом водорода в разбавленных водных растворах // Хим. физика. 2009. Т. 28. № 4. С. 86-91.
54. Штамм Е.В., Скурлатов Ю.И. и др. Природа токсического воздействия сточных вод предприятий целлюлозно-бумажного производства на водные экосистемы // Хим. физика. 2015. Т. 34. № 6. С. 22-29.
55. Фрог.Б.Н., Скурлатов Ю.И. и др. Влияние водорастворимых соединений восстановленной серы на токсические свойства природных и сточных вод // Вестник МГСУ. 2012. № 6. С 105-112.
56. Швыдкий В.О., Штамм Е.В., Скурлатов Ю.И. и др. Интоксикация природной водной среды как следствие разбалансировки внутриводоемных окислительно-восстановительных и свободно-радикальных процессов // Хим. физика. 2017. Т. 36. № 8. С. 23-33.
57. Онищенко Г.Г. и др. Развитие системы оценки безопасности и контроля наноматериалов и нанотехнологий в Российской Федерации // Гигиена и санитария. 2013. № 1. С. 4-11.
58. Mihalache R. et al. Occupational exposure limits for manufactured nanomaterials, a systematic review // Nanotoxicology. 2017. V. 11. No. 1. P. 7-19.
59. Гмоцинский И.В., Хотимченко С.А. Нанотехнологии в производстве пищевых продуктов: оценка рисков // Вопросы питания. 2014. Т. 83. № S3. С. 174.
60. Сутункова М.П. Экспериментальные данные и методические соображения к обоснованию предельно допустимой концентрации железо-оксидных наночастиц в воздухе рабочей зоны // Токсикол. вестник. 2016. № 6. С. 11-17.
61. Кацнельсон Б.А. и др. Анализ некоторых результатов экспериментального изучения токсикологии наночастиц с позиций гигиенического нормирования // Уральский мед. ж. 2011. № 9. С. 35-38.
62. Walters C., Pool E., Somerset V. Nanotoxicology: A Review. Chapter in Toxicology - New Aspects to This Scientific Conundrum. Ed. by Larramendy M. InTech, 2016.
63. Ai J. et al. Nanotoxicology and nanoparticle safety in biomedical designs // Int. J. Nanomedicine. 2011. V. 6. P. 1117-1127.
64. Лейкин Ю.А., Кумпаненко И.В., Роцин А.В. и др. Электрокинетический метод очистки почв, загрязненных соединениями ртути (II) // Рос. Хим. Ж. (Ж. Рос. Хим. Об-ва им. Д.И. Менделеева). 2013. Т. 57. № 1. С. 52-59.
65. Зубаиров М.М., Селянинов Ю.О., Егорова И.Ю., Роцин А.В. и др. Исследование свойств бесхлорных биоцидных агентов на основе нетоксичных или слаботоксичных соединений класса азаадамтанов // Хим. физика. 2015. Т 34. № 6. С. 75-84.

66. Кумпаненко И.В., Роцин А.В. и др. Применение макроциклических полиэфиров для интенсификации процесса сухой очистки поверхности от радионуклидов // Хим. физика. 2015. Т. 34. № 2. С. 82-90.
67. Лейкин Ю.А., Черкасова Т.А., Кумпаненко И.В., Роцин А.В. Высокоселективные гемо- и энтеросорбционные системы на основе полимерных ионитов для оперативной детоксикации организма // Рос. хим. ж. 2006. Т. 1. № 5. С. 69-76.
68. Струков О.Г., Завалишина И.В., Власова З.В., Фокин Е.А., Роцин А.В., Мясоедов Б.Ф. Моделирование биологической активности некоторых конформационно неоднородных фосфорорганических соединений // Докл. акад. наук. 2007. Т. 416. № 3. С. 351-355.
69. Струков О.Г., Кондратьев В.Б., Власова З.В., Фокин Е.А., Цехмистер В.И., Роцин А.В., Блошенко А.В., Мясоедов Б.Ф. Исследование поведения 2-хлорвинилдихлорарсина в почвах // Хим. физика. 2010. Т. 29. № 9. С. 61-64.
70. Патент 2402351 РФ, 2009.
71. Патент 2312705 РФ, 2006.
72. Фатхутдинова Л.М., Халиуллин Т.О., Залялов Р.Р. Токсичность искусственных наночастиц // Казанский мед. ж. 2009. Т. 90. № 4. С. 578-584.
73. Juganson K. et al. NanoE-Tox: new and in-depth database concerning ecotoxicity of nanomaterials // Beilstein J. Nanotechnol. 2015. V. 6. P. 1788-1804.
74. Fard J.K., Jafari S., Eghbal M.A. A Review of Molecular Mechanisms Involved in Toxicity of Nanoparticles // Adv. Pharm. Bull. 2015. V. 5(4). P. 447-454.
75. Mao B.-H. et al. Mechanisms of silver nanoparticle-induced toxicity and important role of autophagy // Nanotoxicology. 2017. V. 10. No. 8. P. 1021-1040.
76. Ribeiro F. et al. Silver nanoparticles and silver nitrate induce high toxicity to *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Daphnia magna* and *Danio rerio* // Sci. Total Environ. 2014. V. 466. P. 232-241.
77. Macken A., Byrne H.J., Thomas K.V. Effects of salinity on the toxicity of ionic silver and Ag-PVP nanoparticles to *Tisbe battagliai* and *Ceramium tenuicorne* // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2012. V. 86. P. 101-110.
78. Kumar D. et al. Qualitative toxicity assessment of silver nanoparticles on the fresh water bacterial isolates and consortium at low level of exposure concentration // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2014. V. 108. P. 152-160.
79. Zhang D. et al. Uptake and accumulation of CuO nanoparticles and CdS/ZnS quantum dot nanoparticles by *Schoenoplectus tabernaemontani* in hydroponic mesocosms // Ecol. Eng. 2014. V. 70. P. 114-123.
80. Cedervall T. et al. Understanding the nanoparticle-protein corona using methods to quantify exchange rates and affinities of proteins for nanoparticles // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2007. V. 104. P. 2050-2055.
81. Nel A.E. et al. Understanding biophysicochemical interactions at the nano-bio interface // Nat. Mater. 2009, 8, 543-557.
82. Mahmoudi M. et al. Protein-Nanoparticle Interactions: Opportunities and Challenges // Chem. Rev. 2011. V. 111. P. 5610-5637.
83. McNeil S.E. Nanoparticle interaction with plasma proteins as it relates to particle biodistribution, biocompatibility and therapeutic efficacy // Adv. Drug Delivery Rev. 2009. V. 61. P. 428-437.
84. Monopoli M.P. et al. Physical-chemical aspects of protein corona: relevance to *in vitro* and *in vivo* biological impacts of nanoparticles // J. Am. Chem. Soc. 2011. V. 133. P. 2525-2534.
85. Tenzer S. et al. Rapid formation of plasma protein corona critically affects nanoparticle pathophysiology // Nat. Nanotechnol. 2013. V. 8. P. 772-781.
86. Salvati A. et al. Transferrin-functionalized nanoparticles lose their targeting capabilities when a biomolecule corona adsorbs on the surface // Nat. Nanotechnol. 2013. V. 8. P. 137-143.
87. Fleischer C.C., Payne C.K. Nanoparticle-Cell Interactions: Molecular Structure of the Protein Corona and Cellular Outcomes // Acc. Chem. Res. 2014. V. 47. P. 2651-2659.

88. *Pelaz B. et al.* Surface Functionalization of Nanoparticles with Polyethylene Glycol: Effects on Protein Adsorption and Cellular Uptake // *ACS Nano* 2015. V. 9. P. 6996-7008.
89. *Schöttler S. et al.* Protein adsorption is required for stealth effect of poly(ethylene glycol)- and poly (phosphoester)-coated nanocarriers // *Nat. Nanotechnol.* 2016. V. 11. P. 372-377.
90. *Li L. et al.* Analytical strategies for detecting nanoparticle-protein interactions // *Analyst.* 2010. V. 135. P. 1519-1530.
91. *Docter D. et al.* The nanoparticle biomolecule corona: lessons learned - challenge accepted? // *Chem. Soc. Rev.* 2015. V. 44. P. 6094-6121.
92. *del Pino P. et al.* Protein corona formation around nanoparticles - from the past to the future // *Mater. Horiz.* 2014. V. 1. P. 301-313.
93. *Shang L., Nienhaus G.U.* *In Situ* Characterization of Protein Adsorption onto Nanoparticles by Fluorescence Correlation Spectroscopy // *Acc. Chem. Res.* 2017. V. 50. P. 387-395.
94. *Conner S.D., Schmid S.L.* Regulated portals of entry into the cell // *Nature.* 2003. V. 422. P. 3744.
95. *Sabella S. et al.* A general mechanism for intracellular toxicity of metal-containing nanoparticles // *Nanoscale.* 2014. V. 6. P. 7052-7061.
96. *Ahamed M. et al.* DNA damage response to different surface chemistry of silver nanoparticles in mammalian cells // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2008. V. 233(3). P. 404-410.
97. *Sharma V. et al.* DNA damaging potential of zinc oxide nanoparticles in human epidermal cells // *Toxicol. Lett.* 2009. V. 185(3). P. 211-218.
98. *Cho W.S. et al.* Zeta potential and solubility to toxic ions as mechanisms of lung inflammation caused by metal/metal oxide nanoparticles // *Toxicol. Sci.* 2012. V. 126(2). P. 469-477.
99. *Donaldson K., Poland C.A., Schins R.P.* Possible genotoxic mechanisms of nanoparticles: Criteria for improved test strategies // *Nanotoxicology.* 2010. V. 4(4). P. 414-420.
100. *Stern S.T., Adisheshaiah P.P., Crist R.M.* Autophagy and lysosomal dysfunction as emerging mechanisms of nanomaterial toxicity // *Part. Fibre Toxicol.* 2012. V. 9(1). P. 20.
101. *Li Y. et al.* Surface-coating-dependent dissolution, aggregation, and reactive oxygen species (ros) generation of silver nanoparticles under different irradiation conditions // *Environ Sci. Technol.* 2013. V. 47(18). P. 10293-10301.
102. *Nishanth R.P. et al.* Inflammatory responses of raw 264.7 macrophages upon exposure to nanoparticles: Role of ros-nfkb signaling pathway // *Nanotoxicology.* 2011. V. 5(4). P. 502-516.
103. *Luna-Velasco A. et al.* Inorganic nanoparticles enhance the production of reactive oxygen species (ros) during the autoxidation of L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-dopa) // *Chemosphere.* 2011. V. 85(1). P. 19-25.
104. *Лукьянова Л.Д., Балмуханов Б.С., Уголев А.Т.* Кислородзависимые процессы в клетке и ее функциональное состояние. М.: Наука, 1982. 301 с.
105. *Gou N., Gu A. Z.* A New Transcriptional Effect Level Index (TELI) for Toxicogenomics-based Toxicity Assessment // *Environ. Sci. Technol.* 2011. V. 45. P. 5410-5417.
106. *Fabrega J., Renshaw J.C., Lead J.R.* Interactions of Silver Nanoparticles with *Pseudomonas putida* Biofilms // *Environ. Sci. Technol.* 2009. V. 43. P. 9004-9009.
107. *Hu C. et al.* Ecotoxicity of silver nanoparticles on earthworm *Eisenia fetida*: responses of the antioxidant system, acid phosphatase and ATPase // *Toxicol. Environ. Chem.* 2012. V. 94. P. 732-741.
108. *Mahmoudi M. et al.* Assessing the *in vitro* and *in vivo* toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles // *Chem. Rev.* 2012. V. 112(4). P. 2323-2338.
109. *Asare N. et al.* Cytotoxic and genotoxic effects of silver nanoparticles in testicular cells // *Toxicology.* 2012. V. 291(1-3). P. 65-72.
110. *Korzeniewski C., Callewaert D.M.* An enzyme-release assay for natural cytotoxicity // *J. Immunol. Methods.* 1983. V. 64(3). P. 313-320.
111. *Crouch S.P.M. et al.* The use of atp bioluminescence as a measure of cell proliferation and cytotoxicity // *J. Immunol. Methods.* 1993. V. 160(1). P. 81-88.

112. Schiewe M.H. et al. Use of a bacterial bioluminescence assay to assess toxicity of contaminated marine sediments // Can. J. Fish Aquat. Sci. 1985. V. 42(7). P. 1244-1248.
113. Benton M.J. et al. Influence of sediment composition on apparent toxicity in a solid-phase test using bioluminescent bacteria // Environ. Toxicol. Chem. 1995. V. 14(3). P. 411-414.
114. van Meerloo J., Kaspers G.J., Cloos J. Cell sensitivity assays: The MTT assay. In: Cree IA, editor. Cancer cell culture. Hatfield: Springer; 2011. P. 237-45.
115. Malich G., Markovic B., Winder C. The sensitivity and specificity of the mts tetrazolium assay for detecting the *in vitro* cytotoxicity of 20 chemicals using human cell lines // Toxicology. 1997. V. 124(3). P. 179-192.
116. Sanwlan S. et al. Cellular uptake induced biotoxicity of surface-modified cdse quantum dots // J. Nanopart. Res. 2014. V. 16. P. 2382.
117. Ghosh M., Chakraborty A., Mukherjee A. Cytotoxic, genotoxic and the hemolytic effect of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles on human erythrocyte and lymphocyte cells *in vitro* // J. Appl. Toxicol. 2013. V. 33(10). P. 1097-1110.
118. Vicario-Pares U. et al. Comparative toxicity of metal oxide nanoparticles (CuO, ZnO and TiO₂) to developing zebrafish embryos // J. Nanopart. Res. 2014. V. 16. P. 2550.
119. Pujalte I. et al. Cytotoxicity and oxidative stress induced by different metallic nanoparticles on human kidney cells // Part. Fibre Toxicol. 2011. V. 8. P. 10.
120. Ursini C.L. et al. Differences in Cytotoxic, Genotoxic, and Inflammatory Response of Bronchial and Alveolar Human Lung Epithelial Cells to Pristine and COOH-Functionalized Multiwalled Carbon Nanotubes // Biomed. Res. Int. 2014. V. 2014. P. 359506.
121. Lee Y.H. et al. Cytotoxicity, oxidative stress, apoptosis and the autophagic effects of silver nanoparticles in mouse embryonic fibroblasts // Biomaterials. 2014. V. 35(16). P. 4706-4715.
122. Chueh P.J. et al. Differential cytotoxic effects of gold nanoparticles in different mammalian cell lines // J. Hazard. Mater. 2014. V. 264. P. 303-12.
123. Coradeghini R. et al. Size-dependent toxicity and cell interaction mechanisms of gold nanoparticles on mouse fibroblasts // Toxicol. Lett. 2013. V. 217(3). P. 205-216.
124. Grabowski N. et al. Toxicity of surface-modified plga nanoparticles toward lung alveolar epithelial cells // Int. J. Pharm. 2013. V. 454(2). P. 686-694.
125. Pu X., Wang Z., Klaunig J.E. Alkaline Comet Assay for Assessing DNA Damage in Individual Cells // Curr. Protoc. Toxicol. 2015. V. 65. P. 3.12.1-11.
126. Платонова Т.А. и др. Идентификация наночастиц серебра в тканях слизистой оболочки тонкой кишки, печени и селезенки крыс методом просвечивающей электронной микроскопии // Бюлл. эксп. биол. и мед. 2013. Т. 155. № 2. С. 204-209.
127. Анциферова И.В., Макарова Е.Н., Фефилова И.В. Исследование флуоресцентных свойств нанопорошка системы ZrO₂-2Y₂O₃-4CeO₂+3%Al₂O₃ для дальнейшего изучения распределения наночастиц методом визуализации *in vivo* // Вестник ПНИПУ. 2014. Т. 16. № 4. С. 49-56.
128. Saffarian S., Kirchhausen T. Differential evanescence nanometry: live-cell fluorescence measurements with 10-nm axial resolution on the plasma membrane // Biophys. J. 2008. V. 94. P. 2333-2342.
129. Gliga A.R. et al. Size-dependent cytotoxicity of silver nanoparticles in human lung cells: The role of cellular uptake, agglomeration and Ag release // Part. Fibre Toxicol. 2014. V. 11(1). P. 11.
130. Fu X. et al. Photoinduced nanobubble-driven superfast diffusion of nanoparticles imaged by 4D electron microscopy // Sci. Adv. 2017. V. 3. No. 8. P. e1701160.
131. Shao W. et al. Carbon nanotubes for use in medicine: Potentials and limitations. In: Suzuki S. Syntheses and Applications of Carbon Nanotubes and Their Composites. Croatia: InTech, 2013. P. 285-311.
132. De Volder M.F. et al. Carbon nanotubes: Present and future commercial applications // Science. 2013. V. 339(6119). P. 535-539.

133. O'connell M.J. Carbon nanotubes: Properties and applications. Boca Raton: CRC Press; 2012. 360 p.
134. Barna B.P., Judson M.A., Thomassen M.J. Carbon Nanotubes and Chronic Granulomatous Disease // *Nanomaterials* (Basel). 2014. V. 4(2). P. 508-521.
135. Shvedova A.A. et al. Exposure to carbon nanotube material: assessment of nanotube cytotoxicity using human keratinocyte cells // *J. Toxicol. Environ. Health A*. 2003. V. 66(20). P. 1909-1926.
136. Patlolla A., Knighten B., Tchounwou P. Multi-Walled Carbon Nanotubes Induce Cytotoxicity, Genotoxicity And Apoptosis In Normal Human Dermal Fibroblast Cells // *Ethn. Dis*. 2010. V. 20(1 Suppl. 1). P. S1 - 65-72.
137. Tabet L., Bussy C., Amara N. Adverse effects of industrial multiwalled carbon nanotubes on human pulmonary cells // *J. Toxicol. Environ. Health*. 2009. V. 72(2). P. 60-73.
138. Shvedova A.A. et al. Mechanisms of carbon nanotube-induced toxicity: Focus on oxidative stress // *Toxicol. Appl. Pharmacol*. 2012. V. 261(2). P. 121-133.
139. Johnston H.J. et al. A critical review of the biological mechanisms underlying the *in vivo* and *in vitro* toxicity of carbon nanotubes: The contribution of physico-chemical characteristics // *Nanotoxicology*. 2010. V. 4(2). P. 207-246.
140. Campagnolo L. et al. Biodistribution and toxicity of pegylated single wall carbon nanotubes in pregnant mice // *Part. Fibre Toxicol*. 2013. V. 10(1). P. 21.
141. Clift M.J. et al. A comparative study of different *in vitro* lung cell culture systems to assess the most beneficial tool for screening the potential adverse effects of carbon nanotubes // *Toxicol. Sci*. 2014. V. 137(1). P. 55-64.
142. Murphy F.A. et al. Length-dependent retention of carbon nanotubes in the pleural space of mice initiates sustained inflammation and progressive fibrosis on the parietal pleura. *Am. J. Pathol*. 2011. V. 178(6). P. 2587-2600.
143. Загинайченко С.Ю. и др. О токсичности фуллеренов и их производных // *Альтернативная энергетика и экология (ISJAEE)*. 2016. № 7-8. С. 69-92.
144. Гендриксон О.Д. и др. Фуллерены: *in vivo* исследования биораспределения, токсичности и биологического действия // *Рос. нанотехнологии*. 2014. Т. 9. № 11-12. С. 5-17.
145. Соломадин И.Н. и др. Токсическое действие Аβ25-35 и фуллерена С60 на эритроциты // *Изв. РАН. Сер. биол*. 2008. № 4. С. 507-512.
146. Klaper R. et al. Toxicity biomarker expression in daphnids exposed to manufactured nanoparticles: Changes in toxicity with functionalization // *J. Environ. Pollut*. 2009. V. 157. P. 1152-1156.
147. Yin Z.F. et al. Recent progress in biomedical applications of titanium dioxide // *Phys. Chem. Chem. Phys*. 2013. V. 15(14). P. 844-858.
148. Weir A. et al. Titanium dioxide nanoparticles in food and personal care products // *Environ Sci Technol*. 2012. V. 46(4). P. 2242-2250.
149. Sha B. et al. Potential application of titanium dioxide nanoparticles in the prevention of osteosarcoma and chondrosarcoma recurrence // *J. Nanosci. Nanotechnol*. 2013. V. 13(2). P. 1208-1211.
150. Wu Q. et al. UVB irradiation enhances TiO₂ nanoparticle-induced disruption of calcium homeostasis in human lens epithelial cells // *Photochem. Photobiol*. 2014. V. 90(6). P. 1324-1331.
151. Pierzchala K. et al. Photocatalytic and phototoxic properties of TiO₂-based nanofilaments: ESR and AFM assays // *Nanotoxicology*. 2012. V. 6(8). P. 813-824.
152. Petkovi C.J. et al. DNA damage and alterations in expression of DNA damage responsive genes induced by TiO₂ nanoparticles in human hepatoma hepg2 cells // *Nanotoxicology*. 2011. V. 5(3). P. 341-353.
153. Gerloff K. et al. Distinctive toxicity of TiO₂ rutile/anatase mixed phase nanoparticles on Caco-2 cells // *Chem. Res. Toxicol*. 2012. V. 25(3). P. 646-655.

154. *Montiel-Davalos Al. et al.* TiO₂ nanoparticles induce dysfunction and activation of human endothelial cells // *Chem. Res. Toxicol.* 2012. V. 25(4). P. 920-930.
155. *Jin C. et al.* Cellular toxicity of TiO₂ nanoparticles in anatase and rutile crystal phase // *Biol. Trace Elem. Res.* 2011. V. 141(1-3). P. 3-15.
156. *Xiong S. et al.* Size of TiO₂ nanoparticles influences their phototoxicity: An *in vitro* investigation // *Arch. Toxicol.* 2013. V. 87(1). P. 99-109.
157. *Ivask A. et al.* Profiling of the reactive oxygen species-related ecotoxicity of CuO, ZnO, TiO₂, silver and fullerene nanoparticles using a set of recombinant luminescent escherichia coli strains: Differentiating the impact of particles and solubilised metals // *Anal. Bioanal. Chem.* 2010. V. 398(2). P. 701-716.
158. *Chen E.Y. et al.* A mixture of anatase and rutile TiO₂ nanoparticles induces histamine secretion in mast cells // *Part. Fibre Toxicol.* 2012. V. 9. P. 2.
159. *Scherbart A.M. et al.* Contrasting macrophage activation by fine and ultrafine titanium dioxide particles is associated with different uptake mechanisms // *Part. Fibre Toxicol.* 2011. V. 8. P. 31.
160. *Fu J., Rong G., Deng Y.* Mammalian cell cytotoxicity and genotoxicity of metallic nanoparticles // *Adv. Sci. Lett.* 2012. V. 5(1). P. 294-298.
161. *Xiong S. et al.* Size influences the cytotoxicity of poly (lactic-co-glycolic acid) (PLGA) and titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles // *Arch. Toxicol.* 2013. V. 87(6). P. 1075-1086.
162. *Osinski M. et al.* Colloidal Quantum Dots for Biomedical Applications V // SPIE Int. Symposium on Biomedical Optics BiOS 2010. V. 7575. Paper 75750Z. San Francisco, California, 23-25 January 2010.
163. *Kaviyarasu K. et al.* Antiproliferative effects on human lung cell lines A549 activity of cadmium selenide nanoparticles extracted from cytotoxic effects: Investigation of bio-electronic application // *Mat. Sci. Eng. C.* 2017. V. 76. P. 1012-1025.
164. *Chen N. et al.* The cytotoxicity of cadmium-based quantum dots // *Biomaterials.* 2012. V. 33(5). P. 1238-1244.
165. *Hoshino A., Hanada S., Yamamoto K.* Toxicity of nanocrystal quantum dots: The relevance of surface modifications // *Arch. Toxicol.* 2011. V. 85(7). P. 707-720.
166. *Zheng X. et al.* Cytotoxicity of cadmium-containing quantum dots based on a study using a microfluidic chip // *Nanotechnology.* 2012. V. 23(5). P. 055102.
167. *Singh B.R. et al.* ROS-mediated apoptotic cell death in prostate cancer LNCaP cells induced by biosurfactant stabilized CdS quantum dots // *Biomaterials.* 2012. V. 33(23). P. 5753-5767.
168. *Kauffer F.A. et al.* Incidence of the core composition on the stability, the ROS production and the toxicity of CdSe quantum dots // *J. Hazard. Mater.* 2014. V. 268. P. 246-255.
169. *Lim Z.Z.J. et al.* Gold nanoparticles in cancer therapy // *Acta Pharmacol. Sin.* 2011. V. 32(8). P. 983-390.
170. *Jain S., Hirst D.G., O'sullivan J.M.* Gold nanoparticles as novel agents for cancer therapy // *Br. J. Radiol.* 2012. V. 85(1010). P. 101-113.
171. *Heo D.N. et al.* Gold nanoparticles surface-functionalized with paclitaxel drug and biotin receptor as theranostic agents for cancer therapy // *Biomaterials.* 2012. V. 33(3). P. 856-866.
172. *Khlebtsov N., Dykman L.* Biodistribution and toxicity of engineered gold nanoparticles: A review of *in vitro* and *in vivo* studies // *Chem. Soc. Rev.* 2011. V. 40(3). P. 1647-1471.
173. *Taylor U. et al.* Toxicity of gold nanoparticles on somatic and reproductive cells. In: Zahavy E, Ordentlich A, Yitzhaki S, Shafferman A, editors. *Nano-biotechnology for biomedical and diagnostic research.* New York: Springer, 2012. P. 125-33.
174. *Loumaigne M. et al.* Ligand-induced anisotropy of the two-photon luminescence of spherical gold particles in solution unraveled at the single particle level // *Nano Lett.* 2010. V. 10(8). P. 2817-2824.
175. *Arnida A. et al.* Geometry and surface characteristics of gold nanoparticles influence their biodistribution and uptake by macrophages // *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2011. V. 77(3). P. 417-423.

176. *Pissuwan D., Niidome T., Cortie M.B.* The forthcoming applications of gold nanoparticles in drug and gene delivery systems // *J. Control. Release.* 2011. V. 149(1). P. 65-71.
177. *Coradeghini R. et al.* Size-dependent toxicity and cell interaction mechanisms of gold nanoparticles on mouse fibroblasts // *Toxicol. Lett.* 2013. V. 217(3). P. 205-216.
178. *Chaloupka K., Malam Y., Seifalian A.M.* Nanosilver as a new generation of nanoparticle in biomedical applications // *Trends Biotechnol.* 2010. V. 28(11). P. 580-588.
179. *Garcia-Barrasa J., Lopez-de-Luzuriaga J.M., Monge M.* Silver nanoparticles: Synthesis through chemical methods in solution and biomedical applications // *Cent. Eur. J. Chem.* 2011. V. 9(1). P. 7-19.
180. *Wang Y., Newell B.B., Irudayaraj J.* Folic acid protected silver nanocarriers for targeted drug delivery // *J. Biomed. Nanotechnol.* 2012. V. 8(5). P. 751-759.
181. *Zhou W. et al.* A label-free biosensor based on silver nanoparticles array for clinical detection of serum p53 in head and neck squamous cell carcinoma // *Int. J. Nanomedicine.* 2011. V. 6(1). P. 381-386.
182. *Wang J. et al.* Design and performances of immunoassay based on spr biosensor with Au/Ag alloy nanocomposites // *Chem.* 2011. V. 157(2). P. 547-553.
183. *Гладких П.Г.* Эффект наночастиц серебра в отношении биопленок микроорганизмов (литературный обзор) // *Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание.* 2015. №1. doi: 10.12737/8117.
184. *Mei N. et al.* Silver nanoparticle-induced mutations and oxidative stress in mouse lymphoma cells // *Environ. Mol. Mutagen.* 2012. V. 53(6). P. 409-4119.
185. *Kim S., Ryu D.Y.* Silver nanoparticle-induced oxidative stress, genotoxicity and apoptosis in cultured cells and animal tissues // *J. Appl. Toxicol.* 2013. V. 33(2). P. 78-89.
186. *Xin L. et al.* Increased oxidative stress and activated heat shock proteins in human cell lines by silver nanoparticles // *Hum. Exp. Toxicol.* 2015. V. 34(3). P. 315-323.
187. *Yang X. et al.* Mechanism of silver nanoparticle toxicity is dependent on dissolved silver and surface coating in *Caenorhabditis elegans* // *Environ. Sci. Technol.* 2012. V. 46(2). P. 1119-1127.
188. *Batchelor-McAuley C. et al.* Why are silver nanoparticles more toxic than bulk silver? Towards understanding the dissolution and toxicity of silver nanoparticles // *Int. J. Electrochem. Sci.* 2014. V. 9(3). P. 1132-1138.
189. *Abbasi E. et al.* Dendrimers: synthesis, applications, and properties // *Nanoscale Res. Lett.* 2014. V. 9(1). P. 247.
190. *Vögtle F., Richardt G., Werner N.* Dendrimer Chemistry Concepts, Syntheses, Properties, Applications. Weinheim: Wiley-VCH, 2009.
191. *Soni N. et al.* Recent Advances in Oncological Submissions of Dendrimer // *Curr. Pharm. Des.* 2017. V. 23. No. 21. P. 3084-3098.
192. *Posadas I. et al.* Neutral high-generation phosphorus dendrimers inhibit macrophage-mediated inflammatory response *in vitro* and *in vivo*. // *Proc. Nat. Acad. Sci.* 2017. V. 114. No. 37. P. E7660-E7669.
193. *Shcharbin D. et al.* How to study dendrimers and dendriplexes III. Biodistribution, pharmacokinetics and toxicity *in vivo* // *J. Control. Rel.* 2014. V. 181, P. 40-52.
194. *Брачкова Д.С.* Зависимость токсичности наночастиц от их размера, формы, свойств поверхности // VII Межд. студ. электронная науч. конф. «Студенческий научный форум». 2015. <https://www.scienceforum.ru/2015/1027/14511> (дата обращения 20.10.2017).
195. *Janaszewska A. et al.* Cytotoxicity of Dendrimers // *Curr. Biotechnol.* 2017. V. 3. doi: 10.2174/2213529403666170220113554.
196. *Kovaleva N.Y. et al.* Synthesis of polyethylene-layered silicate nanocomposites by intercalation polymerization // *Polym. Sci. Ser. A.* 2004. V. 46. No. 6. P. 651-656.
197. *Yilmaz O. et al.* Nanocomposites based on montmorillonite/acrylic copolymer for aqueous coating of soft surfaces // *Solid State Phenomena.* 2009. V.151. P. 129-134].

198. *Wagner A. et al.* Toxicity evaluations of nanoclays and thermally degraded byproducts through spectroscopical and microscopical approaches // *Biochimica et Biophysica Acta, General Subjects*. 2017. V. 1861. No. 1. Part A. P. 3406-3415.
199. *Wagner A. et al.* Early Assessment and Correlations of Nanoclay's Toxicity to Their Physical and Chemical Properties // *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2017. V. 9 No. 37. P. 32323.
200. *Kryuchkova M. et al.* Evaluation of toxicity of nanoclays and graphene oxide *in vivo*: a *Paramecium caudatum* study // *Environ. Sci.: Nano*. 2016. V. 3. No. 2. P.442-452.
201. *Смирнова В.В. и др.* Токсиколого-гигиеническая характеристика наноструктурированной бентонитовой глины // *Гигиена и санитария*. 2012. № 3. С. 76.
202. *Еркимбаев А.О. и др.* Наноинформатика: задачи, методы и технологии // *НТИ. Сер. 1. Орг. и методика информ. работы*. 2016. № 10. С. 1-18.
203. *Thomas D.G. et al.* Informatics and Standards for Nanomedicine Technology // *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol.* 2011. V. 3. No. 5. P. 511-532.
204. Nanomaterial-Biological Interactions Knowledge base. <http://nbi.oregonstate.edu/> (дата обращения 20.10.2017).
205. Internano - Resources for Nanomanufacturing. <http://www.internano.org/> (дата обращения 20.10.2017).
206. Nano-EHS Database Analysis Tool. <http://icon.rice.edu/report.cfm> (дата обращения 20.10.2017).
207. Nanoparticle Information Library. <http://nanoparticlelibrary.net/> (дата обращения 20.10.2017).
208. Nanomaterial Registry. <https://www.nanomaterialregistry.org/> (дата обращения 20.10.2017).
209. National Toxicology Program Database. http://tools.niehs.nih.gov/ntp_tox/ (дата обращения 20.10.2017).
210. Nano-HUB Database. <http://nanohub.org/resources/databases> (дата обращения 20.10.2017).
211. National Center for Biomedical Ontology. <http://www.bioontology.org/> (дата обращения 20.10.2017).
212. ISA-TAB-Nano. <https://wiki.nci.nih.gov/display/ICR/ISA-TAB-Nano> (дата обращения 20.10.2017).
213. caNanoLab. <https://cananolab.nci.nih.gov/caNanoLab/> (дата обращения 20.10.2017).
214. Toxicology Data Network. <http://toxnet.nlm.nih.gov/> (дата обращения 20.10.2017).
215. Nanotechnology Characterization Laboratory. http://ncl.cancer.gov/objectives_ncl_obj5.asp (дата обращения 20.10.2017).
216. The Collaboratory for Structural Nanobiology. http://csn.ncifcrf.gov/Advanced_Structure_Analysis/HOME.html (дата обращения 20.10.2017).
217. Toxicology Literature Online. <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?TOXLINE> (дата обращения 20.10.2017).
218. OECD Database on Research into the Safety of Manufactured Nanomaterials. <http://webnet.oecd.org/NANOMATERIALS/Pagelet/Front/Default.aspx> (дата обращения 20.10.2017).
219. NanoParticle Ontology for Cancer Nanotechnology Research. <http://www.nano-ontology.org/> (дата обращения 20.10.2017).
220. The Database and Ontology of Chemical Entities of Biological Interest. <http://www.ebi.ac.uk/chebi/> (дата обращения 20.10.2017).
221. eNanoMapper. <http://www.enanomapper.net> (дата обращения 20.10.2017).
222. *Völker C. et al.* Comparative Toxicity Assessment of Nanosilver on Three *Daphnia* Species in Acute, Chronic and Multi-Generation Experiments // *J. PLoS One*. 2013. V. 8. P. e75026.
223. *Römer I. et al.* The critical importance of defined media conditions in *Daphnia magna* nanotoxicity studies // *J. R. Toxicol. Lett.* 2013. V. 223. P. 103-108.
224. *Li T. et al.* Comparative toxicity study of Ag, Au, and Ag-Au bimetallic nanoparticles on *Daphnia magna* // *Anal. Bioanal. Chem.* 2010. V. 398. P. 689-700.

225. *Lapied E. et al.* Silver nanoparticle exposure causes apoptotic response in the earthworm *Lumbricus terrestris* (Oligochaeta) // *J. Nanomedicine*. 2010. V. 5. P. 975-984.
226. *Farkas J. et al.* Effects of silver and gold nanoparticles on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes // *Aquat. Toxicol.* 2010. V. 96. P. 44-52.
227. *Rani P.U., Rajasekharreddy P.* Green synthesis of silver-protein (core-shell) nanoparticles using *Piper betle* L. leaf extract and its ecotoxicological studies on *Daphnia magna* // *Colloids Surf. A*. 2011. V. 389. P. 188-194.
228. Единая компьютерная база данных по наноматериалам и нанотехнологиям, используемым в Российской Федерации (реестр). http://web.ion.ru/GM_1/GM.aspx (дата обращения 20.10.2017).
229. *Гусев А.А. и др.* Применение метода математического моделирования и электронной базы данных в экотоксикологической оценке потенциальной опасности углеродного наноструктурного материала // *Научные ведомости. Сер. Естеств. науки*. 2012. № 9 (128). Вып. 19. С. 140-146.

ASPECTS OF NANOMATERIAL SAFETY: NANOSAFETY, NANOTOXICOLOGY, NANOINFORMATICS

N. Yu. Kovaleva, E. G. Raevskaya, and A. V. Roshchin*

Semenov Institute of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia,
*e-mail: nkova@bk.ru

Received October 20, 2017

Abstract – Safety issues related to nanomaterials (NMs) are reviewed in terms of their impact on the environment and human health. A series of emerging disciplines of research and development is discussed, i.e. nanosafety, nanotoxicology, and nanoinformatics. Present-day situation in Russia and abroad in the field of safety of NMs is described. The assessment and management of risks associated with industrial NM handling; evaluation and regulation of hazardous environmental and occupational exposure of NMs are considered. Classification and properties of NMs, mechanisms of their toxic action, methods for determining toxicity, as well as cytotoxicity of various types of NMs are presented. Information resources on data related to NMs are briefly discussed, which can be useful for chemists and other specialists working in this field.

Keywords: nanoparticles, nanomaterials, nanotechnologies, nanosafety, nanotoxicology, nanomaterial toxic action mechanisms, ecotoxicological effect, toxicity assessment methods, risk assessment, nanoinformatics, ontologies and databases on nanomaterials.