

## Новые материалы, процессы и технологии

УДК 620.1+66.011

### Материалы, производимые по нанотехнологиям: потенциальный риск при получении и использовании

Г. Б. Андреев, В. М. Минашкин, И. А. Невский, А. В. Путилов

*ГРИГОРИЙ БОРИСОВИЧ АНДРЕЕВ — кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории радиоэкологических и радиационных проблем Института физической химии и электрохимии им. А. Н. Фрумкина РАН, ведущий научный сотрудник лаборатории динамики аэроколлоидов ФГУП «НИФХИ им. Л. Я. Карпова». Область научных интересов: аэрозоли, наночастицы, наноматериалы, радиохимия. E-mail grigory\_andreev@mail.ru*

*ВЯЧЕСЛАВ МИХАЙЛОВИЧ МИНАШКИН — доктор технических наук, заведующий лабораторией динамики аэроколлоидов ФГУП «НИФХИ им. Л. Я. Карпова». Область научных интересов: химия и физика атмосферы, исследования и разработка процессов получения аэрозолей с заданными свойствами, наноматериалы. E-mail minash@cc.nifhi.ac.ru*

*ИГОРЬ АЛЕКСАНДРОВИЧ НЕВСКИЙ — кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории динамики аэроколлоидов ФГУП «НИФХИ им. Л. Я. Карпова». Область научных интересов: аэрозоли, наночастицы, химия атмосферы. E-mail minash@cc.nifhi.ac.ru*

*АЛЕКСАНДР ВАЛЕНТИНОВИЧ ПУТИЛОВ — доктор технических наук, профессор, генеральный директор ВНИИНМ им. А. А. Бочвара. Область научных интересов: экология, радиохимия, нанотехнологии. E-mail aputilov@ud.faae.ru*

105064 Москва, ул. Воронцово поле, 10, НИФХИ им. Л. Я. Карпова, тел. (495)917-89-04, факс (495) 917-24-90.

123098, г. Москва, ул. Рогова, 5а, ВНИИНМ им. А. А. Бочвара.

Несмотря на впечатляющие перспективы применения нанотехнологий, на уникальные физико-химические свойства наночастиц, материалы на их основе не могут не вызывать опасений в отношении их биологической совместимости и возможных негативных последствий взаимодействия с живыми организмами. Необходима уверенность в том, что внедрение в практику нанотехнологий и использование наноматериалов не создаст дополнительных проблем в будущем, как это уже случилось прежде. Достаточно, например, вспомнить губительные для озонового слоя атмосферы последствия широкого применения хлорфторуглеродов или материалов на основе асбестовых волокон. Таким образом, для дальнейшего развития и применения нанотехнологий требуется не только изучение физико-химических свойств самих наноматериалов, но и четкое понимание механизмов их поведения в биологических системах.

Наночастицы могут существовать в свободном виде или быть фиксированы в матрице. В первом случае

ожидается более ярко выраженное их воздействие на биологические системы [1—12].

В данной статье представлены экспериментальные работы по изучению воздействия наночастиц различного химического состава и разной структуры на биологические объекты.

#### Токсикология углеродных наноматериалов

##### *Нанотрубки и нановолокна*

Углеродные нанотрубки с характерным для них высоким соотношением длина/диаметр могут проявлять свойства как наночастиц, так и волокнистых структур [13]. Поэтому токсичность углеродных нанотрубок часто рассматривается в сопоставлении с асбестовыми волокнами. В то же время такое сравнение не вполне корректно, так как производимые в настоящее время асбестовые волокна не являются наноразмерными структурами.

Токсические свойства углеродных нанотрубок зависят не только от свойств самого материала, но и от способности их к агрегации и диспергированию, в том числе и после проникновения в легкие и кровь. Наночастицы углерода могут попасть непосредственно в кровь через слизистую оболочку носоглотки или проникать через поврежденные участки кожи.

Дополнительную опасность несут частицы металлов, которые захватываются нанотрубками в процессе их производства [14]. Помимо непосредственного проникновения через респираторную систему, нанотрубки могут попадать в организм и другими путями, например, в виде супрамолекулярных комплексов или вследствие химического модифицирования их поверхности. Так, нанотрубки, модифицированные присоединением белковых функциональных групп, могут проникать через клеточную мембрану и аккумулироваться в цитоплазме, не оказывая токсического воздействия на клетку [15]. В то же время в ряде работ показано, что нанотрубки токсичны, причем токсический эффект зависит от их длины и проявляется более заметно в случае длинных трубок [16—18].

Однослойные нанотрубки способны ингибировать рост клеток. Они индуцируют снижение адгезионной способности клетки, что приводит к отделению ее и прекращению роста. Механизм этого явления заключается в том, что клетки выделяют белок, обволакивающий нанотрубку, и тем самым клетки, взаимодействующие с нанотрубкой, изолируются от других клеток [19].

При цитотоксическом исследовании углеродных нанотрубок *in vitro* их обычно диспергируют в клеточной культуре и вводят в клеточную линию [19, 20]. В работе [21] было исследовано влияние однослойных углеродных нанотрубок на кератиноцит HaCaT. Клетки HaCaT инкубировали в течение 18 ч в присутствии однослойных углеродных нанотрубок (0,06—0,24 мг/мл). Наблюдалась значительная интенсификация синтеза пероксида, что приводит к снижению жизнеспособности клеток, а также к изменению их структуры. Эти эффекты были приписаны действию значительного количества (~30%) примеси железа, которое применяется в качестве катализатора в синтезе нанотрубок. Однако в работе [22] было установлено, что очищенные углеродные нанотрубки непосредственно влияют на жизнеспособность кератиноцитов. Очищенные многослойные углеродные нанотрубки (0,1—0,4 мг/мл) инкубировали в присутствии кератиноцитов в течение 48 ч. Была исследована зависимость жизнеспособности клеток от времени инкубирования и концентрации нанотрубок. При увеличении концентрации нанотрубок жизнеспособность клеток снижается.

Изучение действия однослойных нанотрубок (диаметр 1,4 нм, степень очистки 90%) и многослойных нанотрубок (диаметр 10—20 нм, степень очистки > 95%) на альвеолярные макрофаги [23] показало, что однослойные нанотрубки обладают более выраженными цитотоксическими свойствами, хотя многослойные трубки также снижают жизнеспособность клеток. Цито-

токсическое действие очищенных нанотрубок на нейтрофилы проявляется в заметном ускорении синтеза фактора некроза опухолей (TNF), а также в снижении жизнеспособности клеток [24].

В работе [25] изучали зависимость цитотоксического эффекта от степени агломерации нанотрубок по отношению к клеткам MStO-211H. Исследовали токсичность четырех различных образцов нанотрубок. Первый образец представлял собой неочищенные нанотрубки, в качестве второго образца выступали агломераты дополнительно очищенных кислотой нанотрубок. Еще два образца были приготовлены путем обработки неочищенных нанотрубок ультразвуком и добавлением неионогенных ПАВ. До и по окончании эксперимента измеряли соотношение содержания Ni и Y в образцах, которое оказалось почти неизменным во всех экспериментах, т.е. наличие этих технологических примесей в нанотрубках не влияет на процессы, протекающие в клетках. Активность клеток значительно уменьшается при увеличении концентрации нанотрубок. Наивысшую цитотоксичность показал второй образец — очищенные нанотрубки с наибольшим содержанием углерода. На основании сходства цитотоксических свойств образцов углеродных нанотрубок и асбеста (контрольный образец) сделан вывод о том, что токсичность нанотрубок не зависит от наличия примесей металлов, а определяется содержанием углерода и степенью агломерации нанотрубок.

Несмотря на то, что цитотоксичность углеродных нанотрубок доказана, в ряде исследований было выявлено, что нанотрубки могут быть биосовместимыми. Так, в работе [26] исследовали влияние на рост и функционирование костеобразующих клеток нескольких образцов нановолокон различного диаметра (< 100 нм и > 100 нм) как необработанных, так и модифицированных. Установлено, что нановолокна меньшего диаметра оказывают значительно более заметное влияние на процессы внутриклеточного синтеза белка и накопления внеклеточного кальция по сравнению с нановолокнами большего диаметра. В то же время авторы делают вывод о том, что исследованные нановолокна не проявляют цитотоксических свойств.

К такому же заключению пришли при изучении адгезии костеобразующих клеток (остеобластов), хрящевых клеток (хондроцитов) и клеток соединительной ткани (фибробластов) на поверхности нанотрубок (нановолокон) [26, 27]. Показано, что нановолокна меньшего размера обладают лучшими адгезионными свойствами при взаимодействии с костеобразующими клетками, чем волокна большего размера. В то же время адгезионные свойства нановолокон по отношению к хондроцитам и фибробластам зависят не столько от размера волокна, сколько от его поверхностной энергии. Показана также повышенная адгезия остеобластов на нановолокнах по сравнению с контрольными материалами (Ti<sub>6</sub>Al<sub>4</sub>V и сплав Mo/Co/Cr). Повышение концентрации нановолокон приводит к усилению адгезии остеобластов и ослаблению адгезии фибробластов. Авторами сделан вывод о безопасности нановолокон.

В работе [28] клетки остеобласта наносили на поверхность нанокompозита, состоящего из полимолочной кислоты и многослойных нанотрубок при массовой концентрации последних 10, 15 и 20%, и подвергали электростимуляции. Выявлено заметное ускорение роста клеток остеобласта и накопление внеклеточного кальция по сравнению с контрольным образцом.

Рост и функцию астроцитов (вспомогательные клетки нервной ткани) в зависимости от диаметра нановолокон и поверхностной энергии изучали в работе [29]. Исследовали четыре различных образца на основе исходных многослойных нанотрубок диаметром 60—200 нм: два образца — немодифицированные нанотрубки диаметром 100 и 200 нм, другие два диаметром 60 и 125 нм — дополнительно обработанные с целью удаления внешнего углеводородного слоя. Эксперименты показали, что астроциты проявляют высокую адгезионную способность по отношению к нановолокнам большего диаметра, обладающим более высокой поверхностной энергией. Присутствие нановолокон большего диаметра также ускоряет рост клеток. При исследовании взаимодействия астроцитов с нанокompозитом, состоящим из полиуретана и нанотрубок (средний диаметр 60 нм), [26] наблюдалось небольшое уменьшение адгезионной способности клеток с увеличением концентрации нанотрубок.

В то же время в работах [30, 31] выявлено положительное влияние как исходных, так и химически модифицированных углеродных нанотрубок на рост нейронов. Нанотрубки наносили литографическим способом на кварцевую подложку. Полученную островковую пленку затем покрывали сплошным слоем нейронов. Через четверо суток было зафиксировано концентрирование нейронов на агрегатах нанотрубок.

В работе [32] изучали влияние структуры поверхности агрегатов нанотрубок на адгезию и рост фибробластов L929. Поверхности различной морфологии создавались окислением многослойных нанотрубок, полученных методом химического осаждения с использованием никеля в качестве катализатора, и последующим нанесением на кварцевую подложку. Клетки фибробласта наносили на поверхность образцов и инкубировали в течение 7 сут. Снимки, полученные методом сканирующей электронной микроскопии, показывают наличие изолированных клеток после первых суток инкубирования и сплошного слоя клеток через 7 сут.

Размеры нанотрубок определяют их потенциальную способность к проникновению в дыхательную систему. Известно, что морфология и поверхностные свойства частиц влияют на их токсические свойства, в том числе по отношению к дыхательной системе и, в частности, к легким [33]. В ряде работ, посвященных изучению легочной токсичности нанотрубок, выявлены гистологические проявления воспаления легких и образования гранулемы [17, 18, 34—36]. Так, в работе [17] установлена возможность проникновения в дыхательную систему однослойных нанотрубок (диаметр 1,4 нм, длина более 1 мкм), содержащих заметные количества никеля,

кобальта и сажи, что приводит к временному развитию воспаления легких.

Известно, что нанотрубки склонны к образованию агрегатов. Крупные агрегаты не проникают в легкие, а мелкие и отдельные нанотрубки способны достигать альвеол, где они могут взаимодействовать с белками и липидами. Описано [37] взаимодействие нанотрубок с белками SP-A и SP-D, основная роль которых заключается в распознавании поверхностных химических групп вдыхаемых микроорганизмов. Показано, что эффективность взаимодействия двухслойных нанотрубок с этими белками зависит от концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  и может быть нейтрализована введением комплексонов, например ЭДТА.

В работе [38] изучали зависимость токсичности нанотрубок и нановолокон от соотношения длина/диаметр и наличия различных функциональных групп на их поверхности. Установлено, что жизнеспособность клеток H596 и H446 снижается и тем сильнее, чем выше концентрация нанотрубок. Токсичность многослойных нанотрубок оказалась ниже токсичности нановолокон, причем токсичность нанотрубок возрастает с увеличением отношения длина/диаметр. Кроме того, рост токсичности нанотрубок наблюдается в случае, если на их поверхности присутствуют карбоксильные и карбонильные группы.

Углеродные нанотрубки и нановолокна могут быть более токсичными, чем кварцевые волокна. Заметная цитотоксичность однослойных нанотрубок наблюдается при 6-часовой экспозиции и увеличивается на 35% при повышении концентрации трубок до 11,3 мкг/см<sup>2</sup>.

Токсичность химически модифицированных углеродных нанотрубок не выше, чем исходных нанотрубок. Однако они могут способствовать проникновению цитотоксичных молекул в клетку [39]. Нанотрубки, модифицированные биотином, вызывают гибель клеток. Нанотрубки взаимодействуют с гидрофобной областью поверхности клетки и аккумулируются в цитоплазме. Молекулы ДНК могут захватывать нанотрубки, что является одним из факторов, способствующих проникновению нанотрубок в организм.

В работе [40] изучалось воздействие многослойных углеродных нанотрубок, покрытых слоем  $\text{TiO}_2$ , на бактериальные эндоспоры. Находящиеся в среде этих нанотрубок споры при облучении УФ светом погибают. В то же время в присутствии такого композиционного материала наблюдается агрегация спор и их частичная изоляция. Наночастицы серебра диаметром 12 нм вызывают гибель бактерий *E. coli* [41] вследствие образования впадин на стенках клеток и аккумуляции наночастиц в клеточной мембране.

В работе [42] клетки различных типов инкубировали в течение 24 ч в среде нанотрубок, модифицированных посредством реакций 1,3-диполярного присоединения и окисления. Во всех экспериментах наноструктуры были обнаружены в цитоплазме, что свидетельствует о захвате нанотрубок клетками или их диффузии через клеточные мембраны. В ряде случаев наблюдалась агломерация нанотрубок вокруг клеток. Заметных изменений жизне-

способности клеток при экспозиции до 48 ч и концентрации нанотрубок до 50 мкг/мл не было выявлено, и это свидетельствует о том, что модифицированные нанотрубки не вызывают гибели клеток. Данное исследование подтверждает потенциальную возможность применения модифицированных водорастворимых нанотрубок для безопасного транспорта биологически активных молекул в клетку.

#### Фуллерены

Сведения об окислительных свойствах фуллеренов и их биологическом действии носят противоречивый характер. Так, в ряде исследований показано, что фуллерены могут обладать антиоксидантными свойствами. Установлено, что водо- и жирорастворимые производные фуллеренов предотвращают пероксидное окисление более эффективно, чем естественный антиоксидант (витамин Е) [39]. Модифицированные фуллерены и гидроксифуллерены подавляют образование гидроксил-радикалов [43]. Фуллерены и однослойные нанотрубки не стимулируют синтез NO клетками [44].

В то же время по результатам других исследований фуллерены и их производные обладают прооксидантными и токсическими свойствами. Фуллерен  $C_{60}$  оказался цитотоксичным по отношению к трем изученным видам клеток [45] при концентрации выше 50 ppb; токсическая доза  $LC_{50}$  зависит от вида клеток. Воздействие фуллеренов на клетки приводит к разрушению клеточной мембраны и образованию пероксидного радикала.

В работе [46] изучали биологическую активность двух производных  $C_{60}$ : дендритный аддукт заметно замедляет рост клеток (19% за две недели), но не оказывает влияния на их жизнеспособность, а второе производное — трис(малоновый) аддукт — не влияет на развитие клеток. Процесс ингибирования роста клеток дендритным аддуктом обратим — способность к росту клеток в отсутствие фуллерена восстанавливается. В то же время трис(малоновый) аддукт более фототоксичный. Исследованные производные взаимодействуют с клеточной мембраной по разным схемам. Дендритный аддукт имеет разветвленную сеть функциональных групп, которые препятствуют непосредственному взаимодействию фуллерена с клеткой и способствуют образованию агрегатов фуллеренов. Другое производное фуллерена проникает через клеточную мембрану и локализуется внутри клетки [47].

Исследование действия моно-, ди- и трималонатов фуллерена  $C_{60}$  на клетки HeLa [48] показало, что степень замедления роста клеток зависит как от концентрации производного фуллерена, так и от времени экспозиции, и максимальна при влиянии монопроизводного, минимальна в случае триспроизводного фуллерена. Маннитол, который способен предотвращать разрушение клетки гидроксил-радикалом, не ослабляет воздействия рассмотренных производных фуллерена на клетки.

Наименее растворимые (слабомодифицированные) производные фуллерена  $C_{60}$  наиболее токсичны по отношению к фибробластам. Они разрушают мембраны, что приводит к гибели клетки, в то же время не оказы-

вают значительного влияния на ДНК и белки. Наиболее вероятной причиной разрушения мембраны является действие супероксидных анионов, которые, как полагают авторы, могут образовываться при агрегации молекул  $C_{60}$  в воде. Более растворимые производные фуллерена значительно менее токсичны. Например, исходный фуллерен  $C_{60}$  токсичен при концентрации 0,02 ppb, а  $C_{60}(OH)_{24}$  проявляет токсичность при концентрациях выше 5000 ppb [45].

Взаимодействие водорастворимых фуллеренов с двойным липидным слоем, состоящим из цвиттер-ионного DMPC (димиристоилфосфатидилхолин) и катионного DMTAP (димиристоилтриметиламмоний пропан), изучали в работе [49]. Показано, что водорастворимые фуллерены адсорбируются на двойном слое, причем образование агрегатов на поверхности слоя, сформированного из катионных головных групп, более ярко выражено, чем на поверхности слоя из цвиттер-ионных групп. Предполагается, что агрегаты фуллеренов взаимодействуют только с головными группами липидов и не проникают внутрь липидных углеводородных цепей, о чем свидетельствует неизменность толщины двойного слоя, температуры фазового перехода и морфологии слоя. Установлено, что фуллерены с немодифицированной поверхностью значительно менее токсичны, чем гидроксофуллерены  $C_{60}(OH)_{24}$ .

#### Токсикология металлических и оксидных наноматериалов

Токсический эффект, вызываемый металлическими и оксидными наночастицами, зависит от их размеров: большую токсичность обнаруживают частицы меньшего размера. Такую особенность проявляют в том числе материалы, не обладающие высокой токсичностью, например, наночастицы оксида титана  $TiO_2$  [50]. В работе [51] показано, что молекулы ДНК в клетке разрушаются при облучении светом в присутствии наночастиц  $TiO_2$ .

В работе [52] изучали воздействие наночастиц оксида титана на клетки BV2, вырабатывающие активные формы кислорода. Наблюдалась быстрая агрегация наночастиц в структуры размерами 826—2638 нм в зависимости от концентрации. Биологический отклик клеток BV2 заключался в быстром (< 5 мин) и продолжительном (120 мин) синтезе активных форм кислорода. В то же время клетки остаются жизнеспособными при любых концентрациях наночастиц.

Наночастицы оксида цинка ZnO (диаметр ~15 нм) влияют на рост бактерий *Escherichia coli* [53]. Такие наночастицы были синтезированы путем окисления солей цинка в диэтиленгликоле. На подложку наносили наночастицы ZnO и различные соединения, а именно три-*n*-октилфосфиноксид, додецилсульфат натрия, полиоксиэтиленстеарат и бычий сывороточный альбумин (технологические примеси в искусственных наноматериалах). Обнаружено, что рост бактерий замедляется в присутствии додецилсульфата натрия, в то время как три-*n*-октилфосфиноксид и полиоксиэтиленстеарат спо-

способствуют росту бактерий. Аналогичные эксперименты проводились и в отсутствие адсорбированных молекул при концентрации наночастиц ZnO 1—10 мМ. При концентрациях ZnO выше 1,3 мМ наблюдается повреждение бактерий. Полная гибель бактерий наступает при концентрациях 3—10 мМ.

Токсическое воздействие наночастиц золота на клетки HeLa, Sk-Mel-28, L929 и J774A1 изучали в работе [54]. Токсичность частиц определялась по величине IC<sub>50</sub> (концентрация, которая вызывает 50%-ное ингибирование роста клеток). Установлено, что независимо от размера частиц на логарифмической стадии роста клетки в 1,5—3,3 раза более чувствительны к токсическому воздействию наночастиц золота, чем на стационарной стадии. Наночастицы золота диаметром 15 нм не токсичны даже при высоких концентрациях, в то время как наночастицы диаметром 1,2 нм вызывают гибель клеток при воздействии в течение 12 ч.

Влияние золотых наночастиц с модифицированной поверхностью на жизнеспособность клеток Cos-1 и бактерий *E. Coli* исследовалось в работе [55]. Поверхность частиц была модифицирована присоединением четвертичных аминных или карбоксильных группировок. Были получены соответственно катионные и анионные наночастицы. Показано, что катионные наночастицы умеренно токсичны, анионные наночастицы не проявляют токсических свойств. Таким образом, токсичность наночастиц золота определяется их взаимодействием с клеточными мембранами, в том числе и электростатическим взаимодействием с отрицательно заряженным двойным слоем.

Захват и выделение наночастиц золота сферической и стержневидной форм, покрытых трансферинном, при взаимодействии с клетками STO и SNB19 исследовали в работе [56]. Наночастицы захватываются клетками путем опосредованного рецепторами клатринзависимого эндоцитоза. Показано, что скорость высвобождения наночастиц, в отличие от скорости их захвата, линейно зависит от размера частиц. Скорость захвата сферических частиц больше, чем стержневидных. Таким образом, форма и размеры наночастиц значительно влияют на скорость и степень захвата частиц клетками.

При изучении влияния наночастиц алюминия и оксида алюминия на жизнеспособность и фагоцитоз клеток [57] (альвеолярные макрофаги NR8383) были получены следующие результаты. В присутствии клеток наблюдается заметная агрегация наночастиц. Наночастицы Al при концентрации 25 мкг/мл (диаметр 50, 80 и 120 нм) не влияют на жизнеспособность клеток, но фагоцитоз заметно затрудняется. При концентрации 100 мкг/мл и времени экспозиции 24 ч наночастицы алюминия не оказывают влияния на жизнеспособность клеток. Значительное снижение их жизнеспособности было зафиксировано при концентрации 100—250 мкг/мл. Что касается наночастиц Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, то они не оказывают заметного влияния на фагоцитоз. Таким образом, наночастицы алюминия более токсичны, чем наночастицы оксида алюминия.

В работе [58], где изучали воздействие на эпителиальные клетки кремниевых нанопроволок, было установлено, что они не обладают токсическими свойствами при концентрации до 190 мг/мл, но цитотоксичны при более высокой концентрации. В то же время, в отличие от нанопроволоки, кремниевые наночастицы не проявляют цитотоксического действия при любой концентрации. Таким образом, форма наноразмерных частиц может играть решающую роль при взаимодействии с клетками. Незначительная токсичность кремниевых сферических наночастиц подтверждается и результатами работы [59], в которой исследовали взаимодействие частиц с клетками A549.

По данным исследования [60], цитотоксичность частиц Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> и ZrO<sub>2</sub> (диаметр 500—700 нм) по отношению к клеткам фибробласта выше, чем наночастиц TiO<sub>2</sub> (диаметр 130—180 нм). Токсичность частиц TiO<sub>2</sub> и частиц TiO<sub>2</sub>, покрытых слоем Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, примерно одинакова. Показано, что при увеличении размера наночастиц их цитотоксичность возрастает. Что касается влияния формы наночастиц, то наибольшую цитотоксичность показали дендритные частицы TiO<sub>2</sub>. Наблюдается также значительное усиление цитотоксических свойств при увеличении количества ребер дендритной частицы.

В работе [61] было проведено исследование цитотоксических свойств широкого круга металлооксидных наночастиц (диаметр 500—3000 нм) по отношению к фибробластам (клетки инкубировали в присутствии наночастиц в течение 24 ч). Частицы Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, TiO<sub>2</sub>, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, Co<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, NiO, SnO и SnO<sub>2</sub> не проявили цитотоксического действия, в то время как частицы CoO, Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Cu<sub>2</sub>O, CuO, ZnO и Ni<sub>2</sub>O<sub>3</sub> оказались токсичными. Цитотоксичность частиц GeO<sub>2</sub> изучали в работе [62]: клетки обрабатывали наночастицами в течение 12 ч, затем инкубировали 24 ч. Установлено, что при увеличении концентрации наночастиц жизнеспособность клеток снижается.

Наночастицы SiO<sub>2</sub> диаметром 100 нм не цитотоксичны при концентрации до 30 мкг/мл, однако при увеличении концентрации цитотоксичность возрастает [63]. В работах [64, 65] также показана цитотоксичность частиц SiO<sub>2</sub> и их способность к разрушению клеточной мембраны.

Во многих случаях токсичность наночастиц определяется не свойствами материала наночастиц, а присутствием на их поверхности различных молекул, адсорбированных в процессе синтеза. Например, переходные металлы и различные органические молекулы на поверхности частиц могут стимулировать окислительный стресс клеток [66]. Адсорбированные на поверхности наночастиц хинон и ароматические соединения вызывают митохондриальную дисфункцию в макрофагах [67]. В то же время нанесение на поверхность наночастиц слоя некоторых молекул может снижать токсичность наночастиц и делать их биосовместимыми. Например, слой полиэтиленгликоля на поверхности наночастиц подавляет их токсические свойства, а карбоксилированная поверхность усиливает цитотоксичность наночастиц [68].

Влияние химического состава поверхностного слоя наночастиц на их цитотоксичность изучали также в работе [69]. Клетки фибробласта инкубировали в присутствии наночастиц маггемита  $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ , покрытых слоем 2,3-димеркаптоянтарной кислоты, в течение 24 ч при температуре 37 °С. Показано почти полное отсутствие цитотоксического эффекта (концентрация наночастиц составляла 0—0,1 г/л), что обусловлено устойчивостью покрытия наночастицы, исключающего непосредственный контакт с клеткой материала частицы, который обладает сильными окислительными свойствами.

### Заключение

Проявление токсических свойств искусственных наноматериалов при взаимодействии с биологическими объектами определяется необычными физико-химическими свойствами, структурными особенностями и размерами наночастиц. Например, с уменьшением размера частицы возможно увеличение количества структурных дефектов, что в свою очередь является причиной изменения электронной конфигурации молекул, образующих наноматериал, и возникновения реакционных центров на поверхности. Влияние таких изменений зависит от свойств материала. Так, взаимодействие кислорода окружающей среды с электронодонорным активным центром может привести к захвату электрона и генерированию супероксидного радикала  $\text{O}_2^-$  с последующим образованием активных форм кислорода, оказывающих токсическое действие на биологические системы.

Токсическое воздействие наночастиц может усиливаться такими факторами, как нанесение покрытий на их поверхность, химическое модифицирование поверхности, облучение УФ светом, агрегирование наночастиц. Наночастицы могут содержать атомы переходных металлов или органические молекулы в качестве примесей, которые могут усиливать реакционную способность частиц. Возможно проявление токсического эффекта при выделении частицами различных молекул (например, адсорбированных на поверхности).

Наноматериалы находят все более широкое применение. В то же время очевидно, что искусственные нанообъекты могут обладать токсическими свойствами. Причем степень такого воздействия не может быть оценена, исходя из знаний о токсичности материалов, из которых они изготовлены. Для дальнейшего развития нанотехнологий необходимо более четкое понимание как свойств самих наноматериалов, так и механизмов их взаимодействия с биологическими объектами.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Brayner R. *Nanotoday*, 2008, v. 2, p. 48.
2. Nel A., Xia T., Madler L., Li N. *Science*, 2006, v. 311, p. 622.
3. Service R. *Ibid.*, 2005, v. 310, p. 1609.
4. Jain A., Mehra N., Lodhi N., Dubey V., Mishra D., Jain P., Jain N. *Nanotoxicol.*, 2007, v. 1, p. 167.
5. Donaldson K., Aitken R., Tran L., Stone V., Duffin R., Forrest G., Alexander A. *Toxicol. Sci.*, 2006, v. 92, p. 5.
6. Stern S.T., McNeil S.E. *Ibid.*, 2008, v. 101, p. 4.
7. Fadeev B., Kagan V., Krug H., Shvedova A., Svartengren M., Tran L., Wiklund L. *Nanotoxicol.*, 2007, v. 1, p. 74.
8. Albrecht M.A., Evans C.W., Raston C.L. *Green Chem.*, 2006, v. 8, p. 417.
9. Choi S.J., Oh J.M., Cho J.H. *J. Mater. Chem.*, 2008, v. 18, p. 615.
10. Englert B.C. *J. Environ. Monit.*, 2007, v. 9, p. 1154.
11. Oberdorster G., Stone V., Donaldson K. *Nanotoxicol.*, 2007, v. 1, p. 2.
12. Maysinger D. *Org. Biomol. Chem.*, 2007, v. 5, p. 2335.
13. Donaldson K., Tran C.L. *Mutat. Res.*, 2004, v. 553, p. 5.
14. Maynard A., Baron P.A., Foley M., Shvedova A.A., Kisin E.R., Castranova V. *J. Toxicol. Environ. Health*, 2004, v. 67, p. 87.
15. Panterotto D., Briand J.-P., Prato M., Bianco A. *Chem. Commun.*, 2004, v. 16.
16. Hoet P.H., Nemmar A., Nemery B. *Nat. Biotechnol.*, 2004, v. 22, p. 19.
17. Warheit D.B., Laurence B.R., Reed K.L., Roach D.H., Reynolds G.A.M., Webb T.R. *Toxicol. Sci.*, 2004, v. 77, p. 117.
18. Lam C.W., James J.T., McCluckey R., Hunter R.L. *Ibid.*, 2004, v. 77, p. 126.
19. Cui D., Tian F., Oskan C.S., Wang M. *Toxicol. Lett.*, 2005, v. 155, p. 73.
20. Bottini M., Bruckner S., Nika K., Bottini N., Bellucci S., Margrini A., Bergamaschi A., Mustelin T. *Ibid.*, 2006, v. 160, p. 121.
21. Shvedova A.A., Castranova V., Kisin E.R., Schwegler-Berry D., Murray A.R., Gandelsman V.Z., Maynard A., Baron P. *J. Toxicol. Environ. Health*, v. 66, p. 1909.
22. Monteiro-Riviere N.A., Nemanich R.J., Inman A.O., Wang Y.Y., Riviere J.E. *Toxicol. Lett.*, 2005, v. 155, p. 377.
23. Jia G., Wang H.F., Yan L., Wang X., Pei R.J., Yan T., Zhao Y.L., Guo X.B. *Environ. Sci. Technol.*, 2005, v. 39, p. 1378.
24. Tamura K., Takashi N., Akasaka T., Roska I.D., Uo M., Totsuka Y., Watari F. *Key Eng. Mater.*, 2005, v. 254, p. 919.
25. Wick P., Manser P., Ludwig K.L., Krumeich F., Roth S., Stark W.J., Bruinink A. *Toxicol. Lett.*, 2007, v. 168, p. 121.
26. Webster T.J., Waid M.C., McKenzie J.L., Price R.L., Ejiogor J.U. *Nanotechnol.*, 2004, v. 15, p. 48.
27. Price R.L., Waid M.C., Webster T.J. *Biomaterials*, 2003, v. 24, p. 1877.
28. Supronowicz P.R., Ajayan P.M., Arulanandam B.P., Metzger D.W., Bizios R. *J. Biomed. Mater. Res.*, 2002, v. 59, p. 499.
29. McKenzie J.L., Waid M.C., Shi R., Webster T.J. *Biomaterials*, 2004, v. 25, p. 309.
30. Erlanger B.F., Chen B.X., Zhu M., Brus L. *Nano Lett.*, 2001, v. 1, p. 465.
31. McKnight T.E., Melechko A.V., Merkulov V.I., Serna F., Hensley D.K., Doktycz M.J., Lowndes D.H., Simpson M.L. *Nanotechnol.*, 2003, v. 14, p. 551.

32. *Correa-Duarte M.A., Wagner N., Rojas-Chapana J., Morszeck C., Thie M., Gierzig M.* Nano Lett., 2004, v. 4, p. 2233.
33. *Lippmann M.* Ann. Occup. Hyg., 1994, v. 38, p. 459.
34. *Huczko A., Lange H., Jaworska H.G., Droszcz P.* Fullerene Sci. Tech., 2001, v. 9, p.251.
35. *Muller J., Huaux F., Moreau N., Misson P., Heilier J.-F., Delos M., Arras M., Fonseca A., Nagy J.B., Lison D.* Toxicol. Appl. Pharmacol., 2005, v. 207, p. 221.
36. *Huczko A., Lange H., Baranowski M.P., Grubek-Jaworska H., Nejman P., Przybylowski T., Czaminska K., Glapinski J., Walton D.R.* Fuller. Nanotub. Carbon Nanostruct., 2005, v. 13, p. 141.
37. *Morales C.S., Townsend P., Flahaut E., Bryan C.V., Malcolm L.H., Robert B.S.* Carbon, 2007, v. 45, p. 607.
38. *Magrez A., Kasas S., Salicio V., Pasquier N., Seo J.W., Celio M., Catsicas S., Schwaller B., Forro L.* Nano Lett., 2006, v. 6, p. 1121.
39. *Kam N.W.S., Jessop T.C., Wender P.A., Dai H.* J. Am. Chem. Soc., 2004, v. 126, p. 6850.
40. *Lee S.H.* Colloid Surface, 2005, v. 42, p. 93.
41. *Sondi I., Salopek-Sondi B.* J. Colloid. Interface. Sci., 2004, v. 275, p. 177.
42. *Dumortier H., Lacotte S., Marega R., Wu W., Bonifazi D., Briand J.-P., Muller S., Bianco A.* Nano Lett., 2006, v. 6, p. 3003.
43. *Xiao L., Takada H., Maeda K., Haramoto M., Miwa N.* Biomed. Pharmacother., 2005, v. 59, p. 351.
44. *Fiorito S., Serafino A., Andreola F., Bernier P.* Carbon, 2006, v. 44, p. 1100.
45. *Sayes C.M., Fortner J.D., Guo W., Lyon D., Tao Y.J., Sitharaman B., Wilson L.J., Colvin V.L.* Nano Lett., 2004, v. 4, p. 1881.
46. *Rancan F., Rosan S., Boehm F., Cantrell A., Brellreich M., Schoenberger H., Moussa F.* J. Photochem. Photobiol., 2002, v. 67, p. 157.
47. *Foley S., Crowley C., Smaih M., Bonfils C., Erlanger B.F., Seta P., Larroque C.* Biochem. Biophys. Res. Commun., 2002, v. 294, p. 116.
48. *Yang X.L., Fan C.H.* Toxicol. in vitro, 2002, v. 16, p. 41.
49. *Spurlin T., Gewirth A.* Nano Lett., 2007, v. 7, p. 531.
50. *Wilson M.R., Lightbody J.H., Donaldson K., Sales J., Stone V.* Toxicol. Appl. Pharmacol., 2002, v. 184, p. 175.
51. *Dunford R., Cai L., Horikoshi S., Hidaka H., Knowland J.* FEBS Lett., 1997, v. 418, p. 87.
52. *Long T., Saleh N., Tilton R.D., Veronesi B.* Environ. Sci. Technol., 2006, v. 40, p. 4346.
53. *Brayner R., Ferrari-Iliou R., Djediat S., Fievet F.* Nano Lett., 2006, v. 6, p. 866.
54. *Pan Y., Neuss S., Fischler M., Wen F., Simon U., Brandau W., Jahnen-Dechent W.* Small, 2007, v. 4, p. 1942.
55. *Goodman C.M., McCusker C.D., Yilmaz T., Rotello V.* Bioconjugate Chem., 2004, v. 15, p. 897.
56. *Chithrani B.D., Chan W.C.W.* Nano Letters, 2007, v. 7, p. 1542.
57. *Wagner A.J., Bleckmann C.A., Murdock R.C., Schrand A.M., Schlager J.J., Hussain S.M.* J. Phys. Chem. B, 2007, v. 111, p. 7353.
58. *Adili A., Crowe S., Beaux M., Cantrell T., Shapiro P., McIlroy D.* Nanotoxicol., 2008, v. 2, p. 2.
59. *Jin Y., Kannan S., Wu M., Zhao J.* Chem. Res. Toxicol., 2007, v. 20, p. 1126.
60. *Yamamoto A., Honma R., Sumita M., Hanawa T.* J. Biomed. Mater. Res., 2004, v. 68, p. 244.
61. *Hanawa T., Kaga M., Itoh Y., Echizenya T., Oguchi H., Ota M.* Biomaterials, 1992, v. 13, p. 20.
62. *Chiu S., Lee M., Chen H., Chou W., Lin L.* Chem. Biol. Interact., 2002, v. 141, p. 211.
63. *Pigott G., Pinto P.* Environ. Health Perspect, 1983, v. 51, p. 173.
64. *Davies R.* In: The In Vitro Effect of Mineral Dusts. London: Academic Press, 1980, p. 67.
65. *Pigott G.* Ibid., 1980, p. 53.
66. *Li N., Sioutas C., Schmitz D., Misra C., Sempf J., Wang M., Oberley T.* Environ. Health Perspect., 2003, v. 111, p. 455.
67. *Xia T., Korge P., Weiss J.N., Li N., Venkatesen M.I., Sioutas C.* Ibid., 2004, v. 112, p. 1347.
68. *Ryman-Rasmussen J.P., Riviere J.E.* Toxicol. Sci., 2006, v. 91, p. 159.
69. *Auffan M., Decome L., Rose J., Orsiere T., Demeo M., Briois V., Chaneac C., Berge-Lefranc J.-L., Botta A., Wiesner M., Bottero J.-Y.* Environ. Sci. Technol., 2006, v. 40, p. 4367.