

NANOTOXICOLOGY: THE DIRECTIONS OF RESEARCH

Chekman I., Serdyuk A., Kundiyev Yu.,
Trahtenberg I., Kaplincky S., Babiy V.

НАНОТОКСИКОЛОГІЯ: НАПРЯМКИ ДОСЛІДЖЕНЬ



**ЧЕКМАН І.С.,
СЕРДЮК А.М.,
КУНДІЄВ Ю.І.,
ТРАХТЕНБЕРГ І.М.,
КАПЛІНСЬКИЙ С.П.,
БАБІЙ В.Ф.**
Національний медичний
університет
ім. О.О. Богомольця,
Державна установа "Інститут
гігієни та медичної екології
ім. О.М. Марзеева АМН
України", м. Київ,
Державна установа "Інститут
медицини праці АМН України",
м. Київ

УДК 615.9 : 616-093 : 613.27

**НАНОТОКСИКОЛОГИЯ:
НАПРАВЛЕНИЯ
ИССЛЕДОВАНИЙ**
**Чекман И.С.,
Сердюк А.М.,
Кундиев Ю.И.,
Трахтенберг И.М.,
Каплинский С.П.,
Бабий В.Ф.**

*В статье обсуждаются
приоритетные задачи
нанотоксикологии
в современных условиях,
приведены сведения
об уникальных свойствах
наночастиц.
Проанализированы данные,
полученные разными
авторами,
по фармакокинетике
наноматериалов.*

аноматеріали складаються з частинок розміром менше 100 нм, займають проміжне положення між окремими атомами (молекулами) та макрочастинами. Завдяки малому розміру, формі, хімічному складу, заряду, структурі частинки, великій площі поверхні наночастинки мають унікальні властивості, що робить їх перспективним матеріалом для застосування у різних галузях народного господарства [1, 5-7]. Це підтверджується високими темпами вивчення властивостей наноматеріалів, розробками нових нанотехнологій, швидким впровадженням їх у виробництво, а також обсягами фінансування нанотехнологій. Так, 2004 року у світі було виділено 8,6 мільярдів доларів США на розвиток нанотехнологій, а до 2012 року прогнозується витратити на ці потреби 1 трильйон доларів США [23].

Завдяки розвитку нанотехнологій, які почали активно розвиватися наприкінці 80-х років ХХ століття, синтезована значна кількість наноматеріалів. За цей період вченими світу розроблені такі наноматеріали: фулерени, ліпосоми, дендримери, наносфери, наностержні, наноплівки, нанотрубки, нанокompозити, нанокристали, нанодротинки, нанопорошки, нанороботи, нанокапсули, нанобіосенсори, нанопристрої, нанобіоматеріали, наноструктурні рідини (колоїди, міцели, гелі, полімери), фармакологічні нанопрепарати, засоби захисту від куль (спеціальні жилети) тощо [1-3, 8, 9].

У медицині наночастинки мають перспективу застосування в ультрачутливому визначенні біомолекул, діагностичній візуалізації, для фото-

динамічної терапії, цільової доставки лікарських речовин до органів-мішеней, фототермічного лікування тощо [33, 34, 11].

Швидке впровадження наноматеріалів у виробництво, все ширший і більш тісний контакт з ними живих організмів, у тому числі людини, супроводжуються відсутністю ґрунтовних знань про їхній можливий токсичний вплив [13, 22].

Питання нанотоксичності неоднозначне і багатогранне, вимагає комплексного підходу. Однією з основних проблем у цій сфері є те, що нанотоксикологією на сучасному етапі переважно займаються непрофесійні токсикологи [23]. Крім того, не розроблено стандартизованих методик ні для експериментів *in vivo*, ні для *in vitro* досліджень, не встановлено чітких критеріїв безпечності і допустимості наноматеріалів. Аналіз та інтерпретація результатів тих експериментів, що зараз проводяться, почасти утруднені через різницю у методичних підходах до постановки досліду, визначення параметрів токсичності, відсутність єдиних одиниць вимірювання кількості наночастинок, які використовуються у дослідженнях, тощо. У різних джерелах одиниці вимірювання різні: міліграм на мілілітр, молярність, міліграм на кілограм маси піддослідної тварини, кількість наночастинок на одну клітину тощо [23]. Це значною мірою пояснює розбіжності в отриманих результатах.

Визначення залежності ступеня токсичності наночастинок від їх виду є одним з пріоритетних завдань нанотоксикології. Адже різноманітність наночастинок вражає: ліпосоми, емульсії, полімери, кера-

**NANOTOXICOLOGY: THE DIRECTIONS
OF RESEARCH**

**Chekman I., Serdyuk A., Kundiyev Yu., Trahtenberg I.,
Kaplincky S., Babiy V.**

*The priori problems of nanotoxicology in the modern
conditions are considered in the article, the information
about unique properties of nanoparticles are presented.*

*The data on the pharmacokinetics of nanomaterials
obtained by different authors
has been analysed.*

мічні наноструктури, наночастинки у золотій скорині (в англомовній літературі "Gold shell nanoparticles"), вуглецеві наноматеріали — фулерени та нанотрубки (які можуть бути одно— або багатощаровими [26, 40, 32, 12, 21, 24]. Кожен вид наночастинки має, крім загальних для всіх наноматеріалів, і свої властивості, які слід вивчати у токсикологічному аспекті.

Одним з позачергових напрямків нанотоксикології має стати вивчення джерел утворення наночастинок та шляхів їх надходження в оточуюче середовище, поведінку у ньому — накопичення, перерозподіл між його складовими (повітря, ґрунт, вода); стабільності; розпаду та визначення його продуктів [23]. Відомо, що концентрація будь-якої речовини антропогенного походження в екосистемі прямо пропорційна використанню її у народному господарстві. Зважаючи на інтенсивність зростання темпів ужитку продуктів нанотехнології можна передбачити, що у найближчому майбутньому наночастинки посядуть чільне місце серед забруднювачів довкілля.

Окремими розділами нанотоксикології мають стати дослідження фармакокінетичних властивостей продуктів нанотехнології. Актуальним є вивчення шляхів потрапляння наночастинок в організм не лише людини, а й тварин і рослин, які вживаються у їжу. До цього ж розділу слід віднести виявлення особливостей абсорбції, розподілу, метаболізму та екскреції окремих видів наночастинок [22].

Певні відомості з фармакокінетики наноматеріалів уже накопичено. Нині найпошире-

нішим шляхом потрапляння наноречовин до організму є інгаляційний [13, 18]. Це пов'язано з тим, що основна маса наночастинок, які потрапляють в організм людини, — це продукти горіння на промислових об'єктах, серед яких є і частинки нанорозмірів [33]. Вважається, що завдяки своїм малим розмірам наночастинки можуть швидко долати біологічні бар'єри та розподілятися по організму. Nemmar A. зі співавторами показали, що вже через одну хвилину після інгаляції карбонів наночастинки, мічені радіоактивним ⁹⁹Tc розміром близько 100 нм, виявлялися у крові [36].

До шлунково-кишкового тракту наночастинки можуть потрапити не лише прямо з їжі чи води, а й разом зі слизом із дихальних шляхів [25].

Janі P. зі співавторами повідомляють, що наночастинки, які потрапляють до кишечника, здатні проходити його слизову та розподілятися по організму гематогенним шляхом [29]. Однак інша група вчених не виявила доказів того, що наночастинки, які потрапили per os, здатні всмоктуватися. Вони вважають, що наноматеріали виділяються з фекаліями, не потрапляючи до внутрішнього середовища [16]. Дискусійним залишається питання щодо можливості транскутанного шляху потрапляння наночастинок до організму хребетних, хоча є повідомлення про здатність квантових міток проникати у шкіру свиней. Причому проникливість залежить від розміру мітки та хімічного складу її зовнішньої оболонки [31].

Нез'ясованими залишаються питання залежності фармакокінетики наноматеріалів

від виду наночастинки, окремих її властивостей. Було показано, що абсорбція та розподіл по організму квантових міток залежить від форми, заряду та хімічного складу зовнішньої оболонки, шляхів уведення тощо [23]. Подібні експерименти провадилися із застосування багатощарових вуглецевих нанотрубок. Виявилось, що їхня властивість проникати через біобар'єри залежить від розміру та форми трубок [16]. Однак ця проблема повною мірою не висвітлена у літературі.

Актуальним є вивчення механізмів розподілу наночастинок по організму та механізмів проникнення до клітини. Як і для будь-якої речовини, для наночастинок основним механізмом "доставки" до органів є гематогенний шлях. Однак вже встановлено, що принаймні деякі наночастинки здатні переміщатися аксональним транспортом та лімфатичними шляхами [33]. Так, у дослідах на щурах показано, що при інгаляції мічених мітками фулеренів [36] та карбонів наночастинок з середнім діаметром близько 35 нм [37] останні накопичувалися у нюховій цибулині мозку щурів, що вказувало саме на нейрональний транспорт як шлях їх потрапляння до ЦНС. У цьому аспекті значний інтерес викликає здатність наночастинок зв'язуватися з білками під час свого перебування в організмі. Було показано, що у білках, які абсорбуються на наночастинках, відбуваються конфірмаційні зміни [37]. Невідомо, як впливає на властивості наночастинок зв'язування з білками плазми крові. Чи мають наночастинки антигенні властивості, також до кінця не з'ясовано. Водночас більш детальних відомостей щодо фармакокінетичних властивостей інших наночастинок знайти не вдалося. Вже з цих небагатьох даних видно визначальні особливості наноматеріалів, що вимагає поглибленого вивчення їх.

Особливої уваги у фармакокінетичних дослідженнях нанотоксичності має посісти метаболізм наночастинок у живому організмі. Відомо-

стей у літературі щодо перетворення наночастинок *in vivo* набагато менше, ніж про інші фармакокінетичні характеристики. Невідомо, наскільки безпечними чи, навпаки, небезпечними є для людини продукти їх біодеградації. У літературних джерелах є повідомлення про те, що полімерні наночастинок та суперпарамагнетичні наноструктури оксиду заліза здатні розпадатися в організмі. Дослідження деяких авторів доводять, що ядро квантових міток, яке складалося із сульфідів кадмію та цинку, залишається інтактним протягом місяця в організмі лабораторних щурів [23]. Даних про можливість метаболізму інших наночастинок знайти не вдалося. Якщо наночастинок здатні розпадатися в організмі чи в оточуючому середовищі, важливо визначити можливі токсикологічні особливості продуктів цього розпаду. Так, було показано, що квантові мітки, в яких відбувся фотоліз, є більш токсичними для культури клітин порівняно з інтактними наноструктурами [23].

Серед першочергових завдань токсикодинаміки наноматеріалів стоїть питання вивчення загальних закономірностей взаємодії наночастинок з живими організмами. Зовсім недослідженими є типові патологічні процеси, що можуть викликатися наночастинок у живому організмі. Із сучасних джерел відомо, що одним з основних механізмів ушкодження (якщо не головним), спричиненого наноструктурами, є оксидативний стрес, що призводить до активації різних факторів транскрипції, які, у свою чергу, підвищують синтез прозапальних речовин [42]. Так, активація мітоген-активуючої протеїнази та ядерного фактора KB наночастинок, які утворюються при згорянні, підвищують транскрипцію таких прозапальних речовин, як IL-8, IL-6 та фактора некрозу пухлин- α [39, 43]. Інші автори наводять дані про активізацію процесів апоптозу за дії на клітини нирок *in vitro* одношарових карбонових нанотрубок [15].



ФУНДАМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Показано можливість ушкодження ДНК наночастинокми кобальту. Це виявляється у пошкодженні хроматину вільними радикалами, які утворюються під впливом згаданих наноматеріалів, порушенням процесів репарації, утворенням анеуплоїдних клітин [15].

Дискусійним залишається питання про пряму цитотоксичну дію наноматеріалів. У дослідженні Lovric зі співавторів було показано, що квантові мітки, ядро яких складалося з CdTe, які вкриті меркаптопропіоновою кислотою, спричиняли прямий цитотоксичний ефект на клітини феохромоцитоми *in vitro* за концентрації 10 мг/мл у той час, як лише ядра цих же наночастинок були цитотоксичними вже у концентрації 1 мг/мл. Загиблі клітини мали всі ознаки апоптозу — конденсацію хроматину при інтанктних мембранах. У досліджах цієї групи вчених ураженість цитолізу залежала від розміру, покриття, заряду квантових міток. Зменшення токсичності спостерігалось при додаванні до культури антидоту кадмію N-ацетилцистеїну. Застосування антиоксидантів (вітаміну E) не впливало на цитотоксичність у цих експериментах [34]. Ці дослідження вказують на те, що квантові мітки, які містять кадмій, підлягають, принаймні частково, біодеградації, а їхні токсичні ефекти можуть залежати і від хімічних елементів чи сполук — продуктів їх розпаду. Водночас деякі дослідники не відзначали цитотоксичності наночастинок [34, 10, 19, 27, 28, 30].

Абсолютно не висвітлене питання про фактори, що сприяють підвищенню токсичності наноматеріалів, або

ж навпаки, її зменшують. Недослідженою також є взаємодія наноматеріалів та хворого організму, адже досліди проводили *in vivo* і виконували на здорових статевозрілих тваринах.

Важливим аспектом є і залежність токсикодинаміки наночастинок від стадії індивідуального розвитку. Передусім інтерес викликає дія наночастинок на ембріон та плід. Робіт з цього приводу знову ж таки обмаль. Хоча Dubertret зі співавторами довели, що ін'єкція квантових міток з ядром з CdSe/ZnS та гідрофільною оболонкою у бластомери *Xenopus* викликала зміну фенотипу клітин у дозі 5×10^9 квантових міток на клітину. У дозі 2×10^9 квантових міток на клітину змін фенотипу не відзначалося [19]. Недоліком цього дослідження є те, що не вивчалися наслідки такого впливу наночастинок на фенотип новонародженої тварини та на хід постнатального розвитку. Знаючи особливості та вищу сприйнятливості дитячого та старечого організму, важливо дослідити взаємодію наноматеріалів саме за таких умов. Наявність патологічного процесу або стану робить свої корективи у метаболізм взагалі та, скоріше за все, і взаємодію з наночастинокми зокрема. Однак цією проблемою ніхто не займався.

Переважну більшість робіт спрямовано на вивчення гострої токсичності наночастинок, у той час як віддалені наслідки масивного надходження наноматеріалів до організму або ж хронічного їх потрапляння в організм протягом тривалого часу не вивчалися, хоча і являють надзвичайний інтерес та актуальність.

Усі вище вказані аспекти нанотоксикології мають бути вивчені як *in vivo*, так і *in vitro*. Якщо експерименти на культурах клітин провадяться відносно інтенсивно, то дослідження на цілісних організмах — рідкість серед робіт з цієї сфери.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гусев А.И. Наноматериалы, наноструктуры, нанотехнологии. — 2-е изд., испр. — М.: ФИЗМАТЛИТ, 2007. — 416 с.
2. Кац Е.А. Фуллерены, углеродные нанотрубки и нанокластеры: родословная форм и идей. — М.: Изд-во ЛКИ, 2008. — 296 с.
3. Кобаяси Н. Введение в нанотехнологию. — Пер. с японск. — М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2007. — 134 с.
4. Пул Ч., Оуенс Ф. Нанотехнологии. — Пер. с англ. — М.: Техносфера, 2006. — 334 с.
5. Розенфельд Л.Г., Москаленко В.Ф. та ін. Нанотехнології, наномедицина: перспективи наукових досліджень та впровадження їх результатів у медичну практику // Укр. мед. часопис. — 2008. — № 5/67. — С. 63-68.
6. Сергеев Г.Б. Нанохимия. — 2-е изд., испр. и доп. — М.: Изд-во МГУ, 2007. — 336 с.
7. Трефилов В.И. Фуллерены — основа материалов будущего. — К.: Изд-во АДЕФ-Украина, 2001. — 148 с.
8. Фостер Л. Нанотехнологии. Наука, инновации и возможности. — Пер. с англ. — М.: Техносфера, 2008. — 352 с.
9. Чекман І.С. Нанофармакологія: експериментально-клінічний аспект // Лікарська справа. — 2008. — № 3-4. — С. 104-109.
10. Ballou B., Lagerholm B.C. et al. Noninvasive imaging of quantum dots in mice // *Bioconjugates Chemistry*. — 2004. — Vol. 15, № 1. — P. 79-86.
11. Caruthers S.D., Wickline S.A., Lanza G.M. Nanotechnological applications in medicine // *Current Opinion Biotechnology*. — 2007. — Vol. 18. — P. 26-30.
12. Cherian A.K., Rana A.C., Jain S.K. Self-assembled carbohydrate stabilized ceramic nanoparticles for the parenteral delivery of insulin // *Drug Development Pharmacology*. — 2000. — Vol. 26. — P. 459-463.
13. Clancy L., Goodman P., Sinclair H. et al. Effect of air-pollution control on death rates in Dublin, Ireland: an intervention study // *Lancet*. — 2002. — Vol. 360. — P. 1210-1214.
14. Colvin V.L. The potential environmental impact of engineered nanomaterials // *Natural Biotechnology*. — 2000. — Vol. 21. — P. 1166-1170.
15. Cui D., Tian F., Ozkan C. S. et al. Effect of single wall carbon nanotubes on human HEK293 cells // *Toxicological Letters*. — 2005. — Vol. 155. — P. 73-85.
16. De M., You C., Srivastava S. Biomimetic interaction of proteins with functionalized nanoparticles: a thermodynamic study // *Journal of American Chemistry Society*. — 2007. — Vol. 129. — P. 10747-10753.
17. Deng X., Jia G., Wang H. et al. Translocation and fate of multi-walled carbon nanotubes *in vivo* // *Carbon*. — 2007. — Vol. 45. — P. 1419-1424.
18. Donaldson K., Tran L., Jimenez L. et al. Combustion-derived nanoparticles: a review of their toxicology following inhalation exposure // *Part Fibre Toxicol*. — 2005. — Vol. 2. — P. 10-14.
19. Dubertret B., Skourides P. et al. *In vivo* imaging of quantum dots encapsulated in phospholipid micelles // *Science*. — 2002. — Vol. 298, № 5599. — P. 1759-1762.
20. Fisher H., Liu L., Pang K. et al. Pharmacokinetics of nanoscale quantum dots: *in vivo* distribution, sequestration, and clearance in rat // *Adv. Funct. Mater.* — 2006. — Vol. 16. — P. 1299-1305.
21. Gupta A.K., Gupta M. Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications // *Biomaterials*. — 2005. — Vol. 26. — P. 3995-4021.
22. Hans C.F., Warren C.W. Nanotoxicity: the growing need for *in vivo* study // *Current opinion in Biotechnology*. — 2007. — Vol. 18. — P. 565-571.
23. Hardman R.A. Toxicologic Review of Quantum Dots: Toxicity Depends on Physicochemical and Environmental Factors // *Environmental Health Perspectives*. — 2006. — Vol. 114, № 2. — P. 165-172.
24. Hirsch L.R., Gobin A.M., Lowery A.R. et al. Metal nanoshells // *Annual Biomedicine*. — 2006. — Vol. 34. — P. 15-22.
25. Hoet P., Bruske-Hohfeld I., Salata O. Nanoparticles — known and unknown health risks // *Journal of Nanobiotechnology*. — 2004. — Vol. 2. — P. 12-15.
26. Hofheinz R.D., Gnad-Vogt S.U. et al. Liposomal encapsulated anti-cancer drugs // *Anticancer Drugs*. — 2005. — Vol. 16. — P. 691-700.
27. Hoshino A., Fujioka K. et al. Physicochemical properties and cellular toxicity of nanocrystal quantum dots depend on their surface modification // *Nano Letters*. — 2004. — Vol. 4, № 11. — P. 2163-2169.
28. Jaiswal J.K., Mattoussi H. et al. Long-term multiple color imaging of live cells using quantum dot bioconjugates // *Natural Biotechnology*. — 2003. — Vol. 21. — P. 47-51.
29. Jani P., Halbert G.W., Langridge J. Nanoparticle uptake by the gastrointestinal mucosa: quantitation and particle size dependency // *Journal of Pharmacology*. — 1990. — Vol. 42. — P. 821-826.
30. Larson D.R., Zipfel W.R., et al. Water-soluble quantum dots for multiphoton fluorescence imaging *in vivo* // *Science*. — 2003. — Vol. 300, № 5624. — P. 1434-1436.
31. Lee H., Imran M., et al. Biodistribution of quantum dot nanoparticles in perfused skin: evidence of coating dependency and periodicity in arterial extraction // *Nano Letters*. — 2007. — Vol. 7. — P. 2865-2870.
32. Lee L.J. Polymer nano-engineering for biomedical applications // *Annual Biomedicine*. — 2006. — Vol. 34. — P. 75-88.
33. Medina C., Santos-Martinez M.J., Radomski A. et al. Nanoparticles: pharmacological and toxicological significance //

British Journal of Pharmacology. — 2007. — Vol. 150. — P. 552-558.

34. Lovric J., Bazzi H.S., Cuie Y. et al. Differences in subcellular distribution and toxicity of green and red emitting CdTe quantum dots // Journal of Molecular Medicine. — 2005. — Vol. 83, № 5. — P. 377-385.

35. Medintz I.L. Quantum dot bioconjugates for imaging, labeling and sensing // Natural Materials. — 2005. — Vol. 4. — P. 435-446.

36. Nemmar A., Hoet P.M., Vanquickenborne B. et al. Passage of inhaled particles into the blood circulation in humans // Circulation. — 2002. — Vol. 105. — P. 411-414.

37. Oberdorster E. Manufactured nanomaterials (fullerenes, C₆₀) induce oxidative stress in the brain of juvenile largemouth bass // Environmental and Health Perspectives. — 2004. — Vol. 112. — P. 1058-1062.

38. Oberdorster G., Sharp Z., Atudorei V. et al. Translocation of inhaled ultrafine particles to the brain // Inhalation Toxicology. — 2004. — Vol. 16. — P. 437-445.

39. Salvi S.S., Nordenhall C., Blomberg A. et al. Acute exposure to diesel exhaust increases IL-8 and GRO-alpha production in healthy human airways // American Journal of Respiratory Care Medicine. — 2000. — Vol. 161. — P. 550-557.

40. Sarker D.K. Engineering of nanoemulsions for drug delivery // Current Drug Delivery. — 2005. — Vol. 2. — P. 297-310.

41. Service R.F. Nanotechnology grows up // Science. — 2004. — Vol. 304. — P. 1732-1734.

42. Schins R.F., McAlinden A., MacNee W. et al. Persistent depletion of I kappa B alpha and interleukin-8 expression in human pulmonary epithelial cells exposed to quartz particles // Toxicological Application of Pharmacology. — 2000. — Vol. 167. — P. 107-117.

43. Steerenberg P.A., Zonnenberg J.A., Dormans J.A. et al. Diesel exhaust particles induced release of interleukin 6 and 8 by (primed) human bronchial epithelial cells (BEAS 2B) in vitro // Lung Research. — 1998. — Vol. 24. — P. 85-100.

Надійшло до редакції 12.12.08.