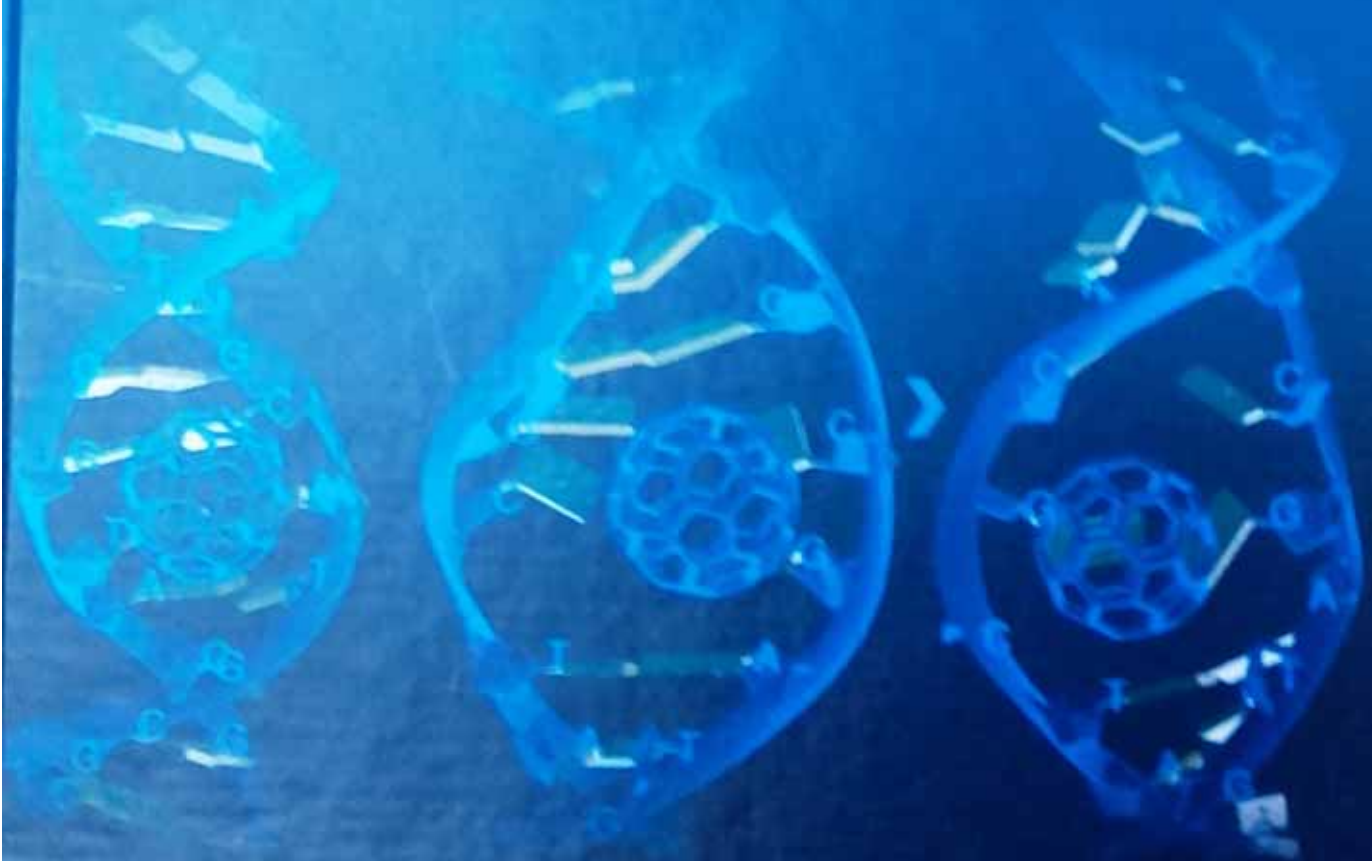




БАГАТОФУНКЦІОНАЛЬНІ НАНОМАТЕРІАЛИ ДЛЯ БІОЛОГІЇ І МЕДИЦИНИ

молекулярний дизайн,
синтез і застосування



**БАГАТОФУНКЦІОНАЛЬНІ
НАНОМАТЕРІАЛИ
ДЛЯ БІОЛОГІЇ
І МЕДИЦИНИ:
молекулярний дизайн,
синтез і застосування**

За редакцією члена-кореспондента
НАН України Р.С. СТОЙКИ

*ПРОЕКТ
"НАУКОВА КНИГА"*

КИЇВ
• НАУКОВА ДУМКА •
2017

Автори:

Р.С. Стойка, Ю.І. Прилуцький, А.Г. Наумовець, Р.О. Білий, Я.Б. Блюм, Н.М. Бойко,
 А.П. Бурлака, Ю.В. Вац, Т.Я. Вітак, А. Волошиновський, Г.З. Гайда, О. Гевусь,
 Л.Л. Гнатишина, О.І. Годована, О.В. Голованій, М.В. Гончар, І.І. Гринюк, Є.А. Гудзь,
 Н.М. Гула, О.В. Дмитренко, Л.Б. Дробот, М.П. Євстігнєєв, А.І. Ємець, Т.Б. Желтоножська,
 О.С. Заїченко, Т.О. Зінченко, М.І. Карковська, О.А. Кизима, Д.О. Климчук, О.Ю. Ключівська,
 Л.І. Кобилінська, Т.Є. Константинова, Л.Р. Куницька, О.О. Ліцис, О.В. Лобачевська,
 С.М. Лукін, В.І. Максін, О.П. Матишевська, Д.О. Мінченко, О.Г. Мінченко, Н.Є. Мітіна,
 О.С. М'якота, К.О. Паливода, Р.Р. Панчук, Н.М. Пермякова, Д.М. Петухов, С.В. Прилуцька,
 А.О. Рябцева, В.Ф. Сагач, А.І. Сененко, Ю.В. Сеньків, Р.Я. Серкіз, Н.Р. Скорохід,
 О.В. Смуток, Н.Є. Стасюк, О.Б. Столяр, А.М. Томін, Г.І. Фальфушинська, Є.З. Філяк,
 Н.С. Фінюк, Я. Хім'як, А.Є. Чапля, В.В. Черепанов, В.В. Чумак, Л.М. Шаповал,
 О.П. Яворовський, О.М. Якубчак, W. Berger, P. Heffeter, U. Ritter, P. Scharff

У монографії стисло викладено найвагоміші результати досліджень і розробок, отримані біологами у тісній співпраці з хіміками й фізиками у галузі наноматеріалів для біології, медицини, нанобіотехнологій. У шести логістично взаємопов'язаних тематичних розділах висвітлено питання молекулярного дизайну, синтезу багатофункціональних наноматеріалів для біології і медицини, доставки ліків у клітини-мішені за допомогою синтетичних наноматеріалів, використання полімерних олігоелектролітних наноматеріалів для доставки нуклеїнових кислот у клітини різного походження, описано багатофункціональні наноматеріали для діагностичних цілей і біомедицинного іміджингу, проблеми біосумісності й екологічності наноконструктивних матеріалів, наведено приклади застосування наноматеріалів для лікувальних цілей.

Для студентів та аспірантів, які цікавляться наноматеріалами різного біомедицинного призначення, а також досвідчених спеціалістів у цій галузі сучасної науки.

Рецензенти:

академік НАН України, доктор біологічних наук, професор С.О. Костерін,
 академік НАН України, доктор фізико-математичних наук, професор Л.А. Булавін,
 академік НАН України, доктор хімічних наук, професор М.Т. Картель

Рекомендовано до друку вченою радою
 Інституту біології клітини НАН України (протокол № 8 від 25 вересня 2015 р.)

Видання здійснено за кошти Цільової комплексної програми
 «Створення та розвиток науково-видавничого комплексу
 НАН України»

Науково-видавничий відділ медико-біологічної, хімічної та геологічної літератури

Редактор Н.А. Серебрякова

© Р.С. Стойка, Ю.І. Прилуцький, А.Г. Наумовець, Р.О. Білий, Я.Б. Блюм,
 Н.М. Бойко, А.П. Бурлака, Ю.В. Вац, Т.Я. Вітак, А. Волошиновський,
 Г.З. Гайда, О. Гевусь, Л.Л. Гнатишина, О.І. Годована, О.В. Голованій,
 М.В. Гончар, І.І. Гринюк, Є.А. Гудзь, Н.М. Гула, О.В. Дмитренко,
 Л.Б. Дробот, М.П. Євстігнєєв, А.І. Ємець, Т.Б. Желтоножська, О.С. Заї-
 ченко, Т.О. Зінченко, М.І. Карковська, О.А. Кизима, Д.О. Климчук,
 О.Ю. Ключівська, Л.І. Кобилінська, Т.Є. Константинова, Л.Р. Куницька,
 О.О. Ліцис, О.В. Лобачевська, С.М. Лукін, В.І. Максін, О.П. Матишев-
 ська, Д.О. Мінченко, О.Г. Мінченко, Н.Є. Мітіна, О.С. М'якота, К.О. Па-
 ливола, Р.Р. Панчук, Н.М. Пермякова, Д.М. Петухов, С.В. Прилуцька,
 А.О. Рябцева, В.Ф. Сагач, А.І. Сененко, Ю.В. Сеньків, Р.Я. Серкіз,
 Н.Р. Скорохід, О.В. Смуток, Н.Є. Стасюк, О.Б. Столяр, А.М. Томін,
 Г.І. Фальфушинська, Є.З. Філяк, Н.С. Фінюк, Я. Хім'як, А.Є. Чапля,
 В.В. Черепанов, В.В. Чумак, Л.М. Шаповал, О.П. Яворовський, О.М. Якуб-
 чак, W. Berger, P. Heffeter, U. Ritter, P. Scharff, 2017

ISBN 978-966-00-1564-7

© НВП «Видавництво "Наукова думка" НАН України», дизайн, 2017

Розділ 4. Багатофункціональні наноматеріали для діагностичних цілей і біомедичного іміджингу	143
4.1. Використання магнітних і флуоресцентних полімерних наночастинок, функціо- налізованих лектином, для детекції і видалення апоптичних клітин (А.М. То- мін, Р.С. Стойка, О.С. Заїченко, Н.Є. Мітіна, Р.О. Білий)	143
4.2. Індукування фотозбудженими багатостінними вуглецевими нанотрубками гіпертермічного ефекту у трансформованих клітинах (С.В. Прилуцька, А.П. Бур- лака, С.М. Лукін, В.В. Черепанов, Ю.І. Прилуцький)	147
4.3. Fluorescent nanoparticles of noble metals for cell imaging (G.Z. Gayda, N.Ye. Stasyuk, R.Ja. Serkiz, M.V. Gonchar)	156
4.4. Наноматеріали у конструюванні біосенсорів біомедичного призначення (М.І. Карковська, Н.Є. Стасюк, Г.З. Гайда, О.В. Смуток, М.В. Гончар)	165
Розділ 5. Біосумісність та екоотоксичність нанокompозитних матеріалів	178
5.1. Зменшення негативних побічних ефектів доксорубіцину у мишей із лімфомою NK/Ly за його доставки новими полімерними наноносіями (Н.М. Бойко, Ю.В. Сеньків, Ю.В. Вац, О.Ю. Ключівська, А.О. Рябцева, Н.Є. Мітіна, О.С. Заїченко, Р.С. Стойка)	178
5.2. Корекція біохімічних показників загальної токсичної дії доксорубіцину за його доставки у складі комплексу з поліетиленгліколевмісним полімерним наноно- сієм у щурів (Л.І. Кобилінська, А.О. Рябцева, Н.Є. Мітіна, О.С. Заїченко, Р.С. Стойка)	183
5.3. Оцінювання біобезпеки срібловмісних наноматеріалів: молекулярно-біологічні підходи (О.Г. Мінченко, О.П. Яворовський, Д.О. Мінченко, Т.О. Зінченко)	195
5.4. Екоотоксичність промислових наноматеріалів. Аналіз проблеми та методологічні засади оцінювання (О.Б. Столяр, Г.І. Фальфушинська, Л.Л. Гнатишина, Н.Є. Мі- тіна, О.С. Заїченко, Р.С. Стойка)	210
Розділ 6. Приклади застосування наноматеріалів для лікувальних цілей	237
6.1. Регенерація кісткового дефекту за допомогою полімермінеральних наноком- позитів на основі рентгеноконтрастних наночастинок $ZrO_2-Gd_2O_3$, функціо- налізованих гіалуроновою кислотою (О.І. Годована, О.Ю. Ключівська, О.В. Годо- ваний, Т.Є. Константинова, Н.Є. Мітіна, О.С. Заїченко, Р.С. Стойка)	237
6.2. Роль одностінних вуглецевих нанотрубок у регуляції серцево-судинної діяль- ності у щурів за гіпертензії (Л.М. Шаповал, В.Ф. Сагач, О.В. Дмитренко, В.В. Черепанов, Ю.І. Прилуцький)	245
6.3. Application of C_{60} fullerene-doxorubicin complex for antitumor therapy (R.R. Panchuk, S.V. Prylutska, R.S. Stoika, Yu.I. Prylutskiy, W. Berger, P. Heffeter, U. Ritter, P. Scharff)	258
6.4. Імобілізація біологічно активних компонентів до складу міцелярних наноконтей- нерів і нанореакторів та застосування створених нанокompозитів (Т.Б. Желтонож- ська, Н.М. Пермякова, Л.Р. Куницька, Н.М. Бойко, Д.О. Клімчук, В.І. Максим, О.М. Якубчак)	266
SUMMARY	301
СПИСОК ПРИЙНЯТИХ СКОРОЧЕНЬ	303
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ	308

Глава 3.4. Екотоксичність промислових наноматеріалів. Аналіз проблеми та методологічні засади оцінки

Столяр О.Б.¹, Фальфушинська Г.І.^{1,2}, Гнатишина Л.Л.^{1,2}, Мітіна Н.Є.³, Заїченко О.С.³,
Стойка Р.С.⁴

¹ – Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка

² - Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського

³ Національний Університет «Львівська Політехніка»

⁴ Інститут біології клітини НАН

3.4.1. Які види синтетичних наноматеріалів найбільш ймовірно потрапляють у довкілля?

3.4.2. Принципи оцінки екотоксичності синтетичних наночастинок

3.4.3. Біоіндикаторні організми у наноекотоксикології

3.4.4. Подолання наночастинками біологічних бар'єрів та оцінка їх здатності до біодеградації

3.4.5. Неспецифічні ефекти наночастинок та продуктів їх деградації у організмі

3.4.6. Специфічні молекулярні мішені наночастинок, їх похідних і складових в організмі

Резюме

3.4.1. Які види синтетичних наноматеріалів найбільш ймовірно потрапляють у довкілля?

Промислові або синтетичні наночастинки (manufacturing or engineering nanoparticles, ENPs) виготовляють для застосування у різноманітних сферах техніки, медицини та побуту: у електроніці, оптиці, хімічному синтезі, виробництві текстилю, медичного обладнання, біосенсорів, адресному транспортуванні лікарських засобів в організмі, косметичних засобах, упакуванні та виготовленні харчових продуктів, очистці стічних вод. Згідно досліджень в межах проекту «Project on Emerging Nanotechnologies» [81] кількість споживчих товарів на ринку, що містять наночастинки або нановолокна, на даний час перевищує 800 і швидко зростає. Паралельно із збільшенням обсягів виробництва та галузей використання наноматеріалів все більша їх кількість потрапляє у навколишнє середовище і становить потенційну небезпеку для біоти через високу реакційну здатність і біодоступність. Це зумовлює необхідність розробки нових методологічних підходів оцінки їх екологічного ризику для тварин та ефективної екстраполяції результатів для визначення рівня небезпеки для людини. Зважаючи на широке за масштабами і значне за обсягами використання багатьма країнами, наноматеріали набувають характеру нового глобального антропогенного чинника, який може характеризуватись потенційною небезпекою як для здоров'я населення, так і стану екологічних систем [40, 41, 87]. Проте наукова спільнота знаходиться лише на початку шляху розуміння, оцінки та прогнозу потенційних ризиків продуктів нанотехнологій для різноманітних форм життя.

Промислові наноматеріали потрапляють у довкілля та контактують із живими організмами в результаті недосконалих схем виробництва та утилізації, очистки повітря та стічних вод. Серед промислових наноматеріалів, з якими найбільш ймовірно контактують живі організми (рис. 3.4.1), до найбільш поширених належать наноформи оксидів металів (TiO₂, ZnO, CuO), простих речовин металів (срібла, золота) та карбону (одностінні та багатостінні карбонові нанотрубки, C₆₀-фулерени) [83]. Зокрема у переліку споживчої

продукції США у 2006 р нараховувалося 212 виробів, які містять наноматеріали: нанокарбон (фулерени та нанотрубки) – 29 продуктів, срібло – 25, кремній – 14, титан діоксид – 8, цинк оксид (8), церій оксид (1) [40, 51].

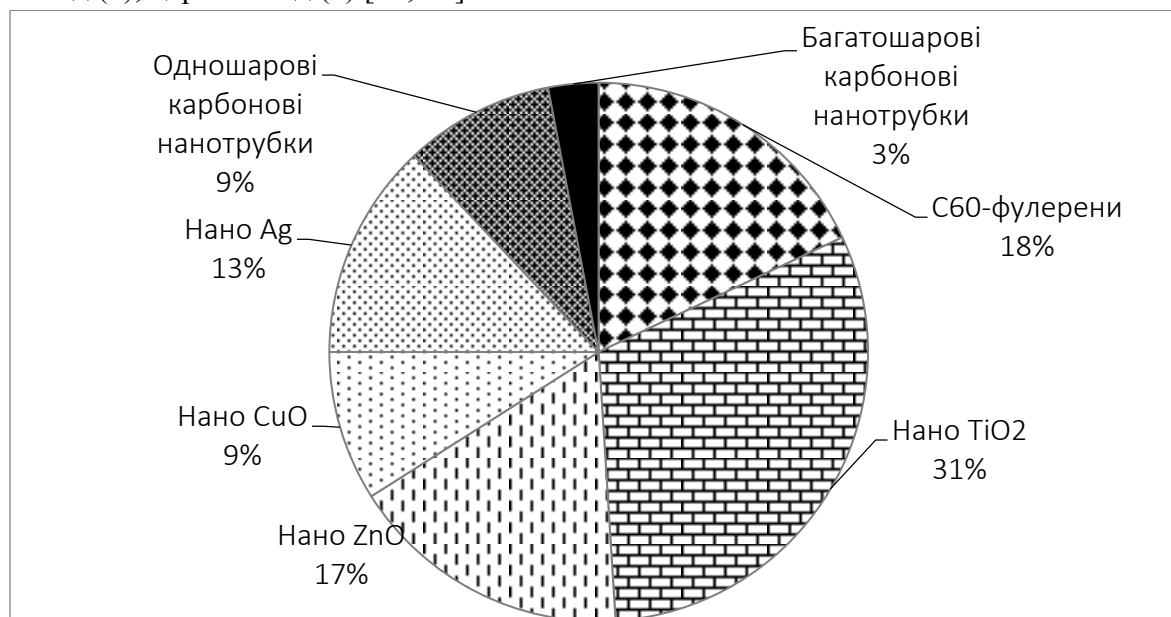


Рис. 3.4.1. Розподіл кількісних екотоксикологічних результатів для синтетичних наночастинок (за [51])

Серед прикладів потенційних забруднювачів докілья слід у першу чергу виокремити нанокристалічні квантові точки (quantum dots, QDs), які є привабливою альтернативою до органічних флуоресцентних фарб, а також володіють якостями напівпровідників [93]. До потенційно екотоксичних наноматеріалів належить також наноформа вольфрам карбїду (WC, 85 %) та металічного кобальту (Co, 5–15%) – WC–Co. Цей цементуючий наноматеріал володіє унікальним поєднанням витривалості і твердості та активно використовується у важкій індустрії для зменшення зношуваності і посилення твердості інструменту [15, 24]. У водному середовищі можна очікувати присутності нанооксиду заліза, який, внаслідок високої редокс-здатності, застосовується для очистки вод від стійких органічних забруднювачів, у тому числі хлорорганічних сполук, а також іонів токсичних металів [61, 99]. Наноформи титан діоксиду (n-TiO₂) та цинк оксиду (n-ZnO) широко використовуються у складі зубної пасти, косметичних продуктів, у сонцезахисних засобах (ультрафіолетових фільтрах). Тому у місцевостях із плавальною активністю та у стоках очисних споруд можна очікувати зростання їх концентрації [36]. Використання цих оксидів як ультрафіолетових фільтрів вважається безпечним навіть при концентрації до 25% у складі косметичного продукту, незалежно від розміру частинок та складу оболонки частинок [88].

У харчових продуктах наноматеріали титану та цинку забезпечують консистенцію кремоподібних рідин, які не містять жирів, покращення смаку, кольору, збільшення терміну зберігання. Річна продукція цих виробів становила у першій декаді ХХ ст. для TiO₂ 5000 т, причому до 2025 р. очікується повний перехід у виробництві TiO₂ до його наноформи [70]. Відповідно, стрімко зростає потік інформації стосовно цих нано-продуктів (рис. 3.4.2).

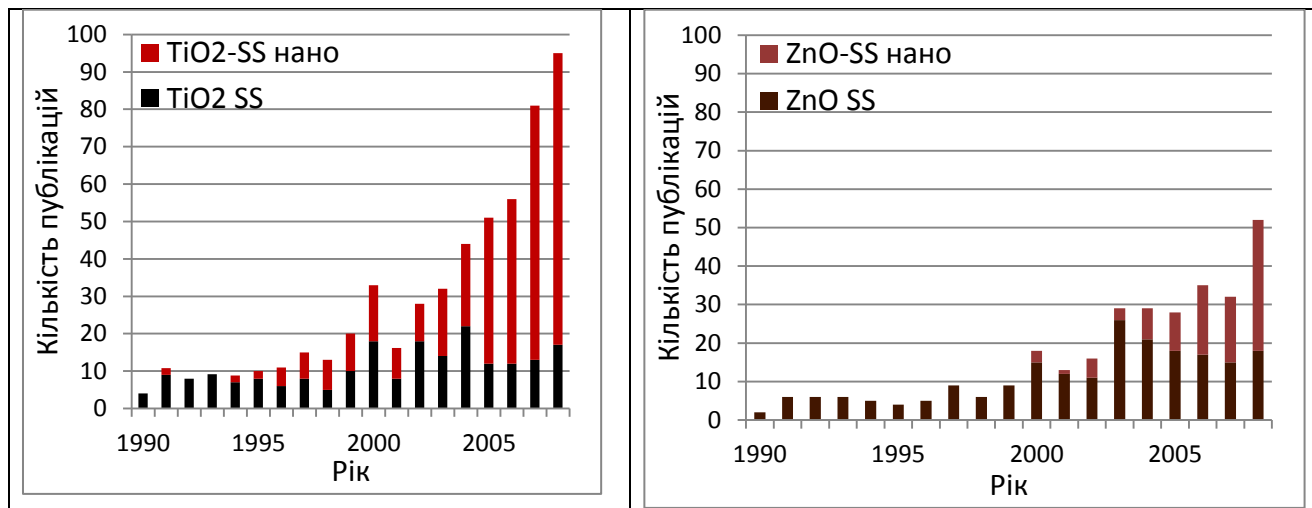


Рис. 3.4.2. Кількість публікацій, присвячених використанню титан діоксиду, цинк оксиду та їх наночастин у сонцезахисних кремах (SS) (за [88])

Останнім часом у різноманітних споживчих виробках (харчових упакуваннях, резистентному до запаху текстилі, побутових та медичних приладах) стали інтенсивно використовуватись наночастинки срібла як джерело іонів аргентуму, що володіють антимікробною активністю [50].

Деякі наноматеріали, такі як квантові точки та карбонові нанотрубки, створюються для медичних цілей – вони повинні взаємодіяти із протеїнами, нуклеїновими кислотами та мембранами з метою їх мічення або смарт-доставки ліків. Перспективними матеріалами для транспорту ліків вбачаються металовмісні композиції на основі диметиламіноетилметакрилату (ДМАЕМ), гідроксиетилметакрилату (ГЕМА) та N-полівінілпіролідону (НВП), оскільки вони відзначаються широким спектром фізико-механічних, електричних та хімічних властивостей [65]. У діагностиці запроваджують також наночастинки золота [50].

Наноматеріали, які застосовуються у медицині, харчуванні та побуті, вважаються малотоксичними для таргетних організмів. Проте слід відзначити, що застосуванню нанодобавок у їжі та побутових виробках не передувало таке ретельне тестування як, наприклад, для генно-модифікованих продуктів [40, 41]. Тому не слід виключати ймовірність непередбачених наслідків за впливу наноматеріалів на нетаргетні організми. Зокрема, на підставі розрахованих концентрацій у довкіллі прогнозують, що нанотрубки та наносрібло несуть мінімальний ризик, тоді як до найбільш небезпечних потенційно належить нанодіоксид титану [87]. Тому дуже важливо, щоби одночасно із розвитком нанотехнологій оцінювалися обсяги продукції, що потрапляє у довкілля, і забезпечувався контроль за безпекою для екосистем.

3.4.2. Принципи оцінки екотоксичності синтетичних наночастинок

Галузь, яка займається оцінкою та з'ясуванням механізмів токсичного впливу синтетичних наноматеріалів на тварини (включно із людиною), рослини та мікроорганізми як складові екосистем – наноекотоксикологія – виокремилась із нанотоксикології лише близько десяти років тому, а нагромадження і систематизація інформації у цій галузі здійснюються експоненціально з 2006 р. [51, 98]. Проте наявний на цей час досвід недостатній для розробки методів оцінки ризику токсичності наноматеріалів у довкіллі [41]. Розглянемо принципи оцінки екотоксичності промислових наноматеріалів.

Оцінюючи екотоксичність наноматеріалу, необхідно, по-перше, враховувати, що період півжиття наноформ у довкіллі може становити місяці та роки. По-друге, потрапляючи у довкілля, наночастинки проявляють тенденцію утворювати агрегати та рідко існують у мономерній формі у водному середовищі [79]. Прогнозується, що поверхневі водойми, особливо прісні водойми, естуарії, та прибережні морські ділянки є найбільш ймовірними кінцевими пунктами стоку вод, забруднених наночастинками. Саме тут хімічна поведінка наночастинок (агрегація/агломерація) та наступні перетворення можуть виявитись критичними у визначенні їх біологічного впливу [11, 16, 69]. Так, квантові точки CdTe, не стабілізовані на поверхні частинок, проявляють тенденцію до формування агрегатів [6]. Було показано, що 10 видів неорганічних та два види органічних наноконкомпозитів, у тому числі й квантові точки CdTe, які не мають покриття, утворюють агрегати, що не фільтруються [35]. Квантові точки CdTe з діаметром 4 нм не фільтруються навіть через фільтр з діаметром отворів 0,45 мкм. Наночастинки золота (5, 15, 40 нм) у морській воді також утворюють агрегати розміром >700 нм і лише незначна частка речовини залишається у нано-розмірному стані навіть після 5 хв інкубації [74]. Проте, якщо частинки містять на поверхні катіонні або аніонні полімери, або набувають їх у середовищі, вони захищені від утворення термодинамічно-стабільних агрегатів. Наприклад, наночастинками металічного срібла прогнозовано будуть окиснюватись у середовищі та, в результаті, можуть утворювати сульфід, змінюючи відповідно заряд та здатність до агрегації. По-третє, у повітрі, водному середовищі, седиментах, ґрунті наночастинки будуть взаємодіяти із іншими поверхнями, та обмінюватись з ними складовими, або адсорбувати на поверхні складові середовища, у тому числі і токсичні речовини. Зокрема, взаємодія наночастинок у водному середовищі із гуміновими речовинами призводить до вкривання частинок природним покриттям, аналогічним протеїновій оболонці у клітинному середовищі, що різко змінює агрегацію, поведінку та токсичні властивості [63]. Для УФ-фільтрів – оксидів титану та цинку – показано, що у косметичних виробках вони присутні у вигляді агрегатів первинних частинок розміром 30–150 нм [88]. Відповідно, при оцінці екотоксичності певного наноматеріалу, слід очікувати, що дію на організм спричинює не вихідний матеріал, а його модифікована у середовищі та у відповідності до специфіки цього середовища форма.

Промислові наночастинки можуть впливати на екосистеми у декілька способів: 1) безпосередній вплив наночастинок або їх продуктів перетворень у середовищі; 2) зміна біодоступності токсинів або поживних речовин; 3) зміна резистентності організмів; 4) зміна мікроструктури середовища [19]. Відтак, потенційну токсичність можуть у різний спосіб проявляти практично всі синтезовані наноматеріали. Поряд з цим, існують протиречиві результати оцінки цієї токсичності, що може бути пояснено зокрема різними моделями експерименту, концентраціями чинника, тривалістю спостережень, тощо [95, 97].

Токсичність наноматеріалів залежить від їх шляхів потрапляння у організм. До промислових наноматеріалів, які потрапляють у організм тварин через дихальні шляхи, належать у першу чергу квантові точки. Так, нано-карбід вольфраму та кобальту (WC-Co) посилює ризик професійних захворювань (у першу чергу раку легень) в результаті контакту із пилом цього наноматеріалу [23, 24]. Побутові нано-складники найвірогідніше можуть потрапляти у водойми із стічними водами і, відповідно, їх головними мішенями є водні організми. Рослини ефективно акумулюють неіонну форму наноформ металів. Наприклад, показано, що за дії неіонних колоїдних розчинів наночасток металів (Fe, Mn, Cu, Zn), отриманих диспергуванням гранул металу імпульсами електричного струму у воді, метали здатні до швидкого проникнення в рослинні клітини та оптимізації метаболічних процесів за умов передпосівної обробки насіння і позакореневої обробки 10-добових проростків пшениці

[1]. Слід відзначити, що у цьому експерименті була використана екологічно нереально висока концентрація металу у інкубаційній суміші (120 мг/л).

Варіабельність біологічної дії власне наноматеріалів може визначатись концентрацією, розміром, зарядом, природою стабілізуючих структур та природними умовами (температура, окисно-відновний потенціал середовища) тощо. Тому ключовими проблемами екотоксикології наноматеріалів є: а) ідентифікувати потенційно небезпечні наноматеріали у середовищі; б) з'ясувати характер взаємодії наноматеріалу із живим організмом – шляхи потрапляння, можливість захоплення наночастинок організмом, їх акумуляції та трансформації у ньому, вивчення взаємодій із біомолекулами, мембранами та впливом на сигнальні шляхи та метаболічні процеси; в) визначити найвразливіші групи організмів та біомаркери раннього виявлення токсичності та біоризиків.

Особливості біологічної дії власне синтетичних нанорозмірних частинок порівняно із класичними макроформами або розчинами визначаються в першу чергу малим розміром, великою активною площею поверхні у порівнянні із мікро- та макророзмірними субстанціями. Відповідно, при потрапленні наночастинок у організм це дає їм здатність взаємодіяти з багатьма органами та тканинами – мішенями. Ймовірно, слід очікувати, що наночастинки призведуть до механічних та фізичних змін (вплив на поляризацію та структурну організацію) надмолекулярних структур, зокрема біомембран та хроматину.

Залежність між розміром частинок та токсичністю наноматеріалу доведено на різних експериментальних моделях для широкого спектру наноматеріалів [54]. Із зменшенням розміру полегшується її проникність та посилюється біодоступність. Завдяки малому розміру наночастинок (звичайно 3-11 нм у діаметрі) можна передбачити посилення їх токсичності порівняно із традиційними матеріалами. Так, срібло, введене у організм у вигляді наночастинок, виводиться пізніше, ніж іонна форма. Порівняння дії наночастинок різного розміру також свідчить, що токсичність посилюється із зменшенням розміру частинок. Малий розмір збільшує співвідношення поверхні до маси частинки, що посилює поверхневу енергію та, відповідно реактивність частинок [72], їх здатність потрапляти у лімфатичну систему та кров через епітелій кишечника. У експериментах на дафнії *Daphnia magna*, за дії нано-TiO₂ розміром 200, 400 та 800 нм у концентраціях 5 і 10 мг/л лише частинки розміром між 400 та 800 нм викликали активацію глутатіонпероксидази та глутатіонтрансферази [54]. Низка експериментів, проведена для нано-золота, засвідчує, що його токсичність зростала із зменшенням розміру частинок і максимальні прояви окисного стресу були характерні для впливу частинок розміром 5 нм [75, 76, 95, 96, 97]. Наночастинки золота ((~10 нм) міцно зв'язувались із ДНК, спричиняючи конформаційні зміни молекули [38]. Разом з тим, клітини лейкемії людини лінії K562 виявились нездатними інкорпорувати частинки золота розміром 4, 12, 18 нм [21].

Форма наночастинок також відіграє принципову роль у визначенні їх взаємодії із клітинами. Так, нано-мікротетраподи ZnO (ZnO-T) у порівнянні із класичними сферичними частинками нано-ZnO у культурі клітин фібробластів шкіри людини виявились біологічно сумісними та значно менш токсичними. При цьому старіння частинок протягом кількох місяців, а також їх обробка киснем або ультрафіолетовим випромінюванням не призводить до змін у їх активності [77].

Поза цими спільними прогностичними закономірностями, обговорення екотоксичності наноматеріалів повинно носити індивідуальний характер стосовно природи наноматеріалу. Кожний індивідуальний тип наноматеріалу володіє унікальними фізико-хімічними властивостями, які, у свою чергу, визначають його потенційну токсичність [42]. До таких чинників належать також заряд частинок, здатності до окисної або фотолітичної деградації,

властивості поверхневого покриття частинки. Живі організми завдяки своїм унікальним акумуляційним та трансформаційним системам, можуть істотно вплинути на структуру наноматеріалів, здійснивши перетворення та/або розклад наноматеріалу на складові та їх модифікація, особливо компонентів органічної природи (Табл. 3.4.1). Складові наноматеріалів можуть виявляти специфічні механізми впливу на біологічні процеси, у тому числі і токсичні. Так, нанокристалічні напівпровідники квантові точки містять складники, відомі високою токсичністю (зокрема, CdTe, CdSe та PbS) [79]. Ймовірно, наноформа матеріалу, буде впливати на ступінь цих специфічних проявів, здатність до біодеградації та взаємодії із специфічними молекулярними мішенями у організмі. Відтак, слід очікувати біологічного впливу як самого наноматеріалу, так і його трансформованих продуктів.

Таблиця 3.4.1. Приклади наноматеріалів та їх типового покриття речовинами-стабілізаторами (за [63])

Наноматеріал	Типові складники покриття частинки	
	Неорганічні речовини та малі органічні молекули	Синтетичні та біоорганічні макромолекули
Цинк оксид	2-меркаптоетанол, триетоксикарприлсилан, триетаноламін, ацетат	Полівінілпіролідон (PVP), полісахариди
Церій оксид	Олеїнова кислота	PVP, полі(акрилова кислота)-октил амін
Титан диоксид	Олеїнова кислота	Полі(акрилова кислота)
Срібло	Цитрат, декантіол, танінова кислота, етилендіамінтетраоцтова кислота (ЕДТА)	Поліетиленгліколь (ПЕГ), PVP, гумарабік
Золото	Цитрат, октан тіол, цетилтриметил амоній бромід (ЦТАБ), цистеїн, танінова кислота	Біотин, бичачий сироватковий альбумін (BSA), поліпептиди
Квантові точки (CdSe, CdS)	Кремній, цинк сульфід, цитрат, меркаптопропіонова кислота	ПЕГ, амінодекстран
Оксид срібла	Додециламін, oleїнова кислота	BSA, полі(акрилова кислота), полі(метакрилова кислота), ПЕГ
Залізо	Au, Pd, Pt, Ni	Карбоксиметил целюлоза, гума ксантан, поліпропілен гліколь

Припускається, що, окрім діючої речовини наночастинок, речовина капсули (зовнішнього покриття) не лише впливає на біодоступність та токсичність наноматеріалу, але й може спричинювати особливі реакції організму. Проте ці припущення підкріплені на наш час поодинокими фактами. Наприклад, порівняння впливу природи капсули квантової точки (меркаптоундецилова кислота (MUA), цистамін та тіогліцерол) на токсичність квантових точок для клітинної лінії WTK1 [44] показало, що генотоксичність істотно зменшується в

залежності від природи капсули у ряді MUA >цистамін> тіогліцерол. Разом з тим, досліджувані концентрації були досить високими у цьому досліді (50 і 100 мкг/мл), що унеможливило екстраполяцію результатів на умови довкілля. Токсичність органічної складової метало-вмісного нанорозмірного композиту для водних тварин була продемонстрована для кобальт- і цинк- вмісних комплексів на основі вінілпіролідону за їх впливу на двостулкового молюска *Unionidae* та амфібію *Ranidae* протягом 14 діб [2, 30; 31]. Важливо, що у риб *Cyprinidae* у аналогічних умовах не спостерігали проявів токсичності полімерної субстанції, що свідчить про вищу ефективність молекулярних систем детоксикації у цього виду організмів [3, 32].

Концентрації наноматеріалів, застосовані у токсикологічних експериментах, здебільшого не обґрунтовані реальною або прогнозованою ситуацією у довкіллі. До недавнього часу дослідження у нанотоксикології були сфокусовані на оцінці гострої токсичності синтезованих субстанцій, експериментах *in vivo* та на культурах тканин *in vitro* за даними летальності, імунологічних параметрів або цитотоксичності [41, 51 89, 95]. Відповідно, такі дослідження не дають вичерпної інформації щодо механізмів субтоксичних ефектів наноматеріалів у фізіологічних та екологічно реальних концентраціях, а також щодо потенційних наслідків їх хронічного впливу на біоту [15]. Зокрема, традиційні тести, проведені на бактеріях, ракоподібних, водоростях та рибах засвідчили, що у концентраціях порядку мг/л наноматеріали є малотоксичними [16]. Так, у експерименті Peyrot та ін., 2009 для вивчення впливу на двостуллок (*E. complanata*, Mollusca, Bivalvia, Unionidae) були використані відносно високі концентрації квантових точок CdTe (до 8 мг Cd/л) за інкубації протягом 24 год, що пояснюється метою з'ясування початкового поглинання та токсичної дії у порівнянні із розчинною сіллю CdSO₄.

Серед досліджених наноматеріалів, екстремально токсичними визнано нано-срібло та нано ZnO (Л(Е)К50 < 0.1 мг/л), дуже токсичними названі C60 фулерени та нано-CuO (Л(Е)К50 0.1–1 мг/л), нанотрубки (Л(Е)К50 1–10 мг/л), а нано TiO₂ був класифікований як небезпечний (Л(Е)К5010–100 мг/л) [51], тобто токсичність наночастинок, визначена за традиційними у токсикології тестами, проявляється у концентраціях, яка значно перевищують екологічно реальні та відповідають ліміту розчинності. Слід також відзначити, що токсикологічні експерименти здебільшого зосереджені на вивченні неспецифічних ефектів, а не молекулярних систем біотрансформації ксенобіотиків та їх потенційних молекулярних мішеней, тоді як лише дослідження стану біомаркерів у індикаторних організмів за впливу сублетальних та екологічно сумісних концентрацій чинників може забезпечити встановлення ранніх сигналів токсичності наноматеріалів та первинних вразливих мішеней цього впливу [57].

Очевидно, існують принципові відмінності у видовій здатності до акумуляції та систем детоксикації наноматеріалів. Аналіз літератури свідчить, що залишається нез'ясованими багато питань щодо впливу синтетичних наноматеріалів на різні групи живих організмів залежно від їх положення у біосистемах, способу живлення [71]. Згідно із ймовірними шляхами потрапляння наночастинок у організм, первинна інформація у галузі наноекотоксикології була результатом дослідження ураження дихальних шляхів тварин наночастинами у лінії клітинних культур *in vitro* [51, 72]. Більшість екотоксикологічних досліджень наноматеріалів і до нашого часу зосереджено на впливі атмосферного забруднення та інгаляційного шляху потрапляння наночастинок у організм на прикладі ссавців, або на визначенні впливу наноматеріалу в умовах *in vitro* на культурах клітин ссавців [51]. Разом з тим, оскільки використання наноматеріалів у побуті та медицині призводить до їх вивільнення у водне середовище та може спричинити ризик водним екосистемам [17, 41,

69], набувають дедалі більшого поширення дослідження на водних організмах. Серед проаналізованих у 2010 р літературних джерел [51] переважна більшість екотоксикологічних досліджень наноматеріалів стосувалась ракоподібних та бактерій, а також водорослів і риб (Рис. 3.4.3).

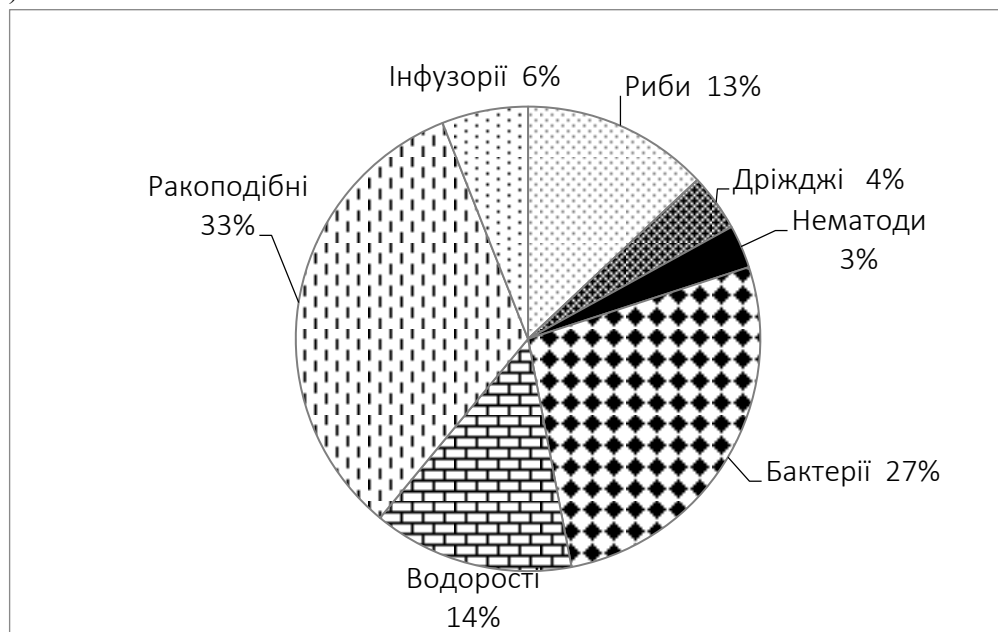


Рис 3.4.3. Розподіл кількісних екотоксикологічних даних для синтетичних наночастинок серед груп організмів (за[51])

3.4.3. Біоіндикаторні організми у наноекотоксикології

Дослідження екотоксичності наноматеріалів проводяться на індикаторних організмах, які відповідають різним рівням харчових ланцюгів (бактерії, водорості, ракоподібні, війчасті, риби, дріжджі та нематоди (Рис. 3.4.3) [51], а також культурах клітин. Класичним тестовим організмом серед водних видів є водорості [51]. Проте дослідження водоростей свідчать про їх високий концентраційний поріг чутливості до наноматеріалів. Так, згідно показників росту водоростей *Desmodesmus subspicatus* ЕС 50 нанooksиду титану становила близько 44 мг/л [45]. Для характеристики токсичності наноматеріалів у безхребетних здебільшого у дафнії (*Daphnia magna*) як тестовому організмі, використовуються фізіологічні реакції (рухливість, линяння, харчова активність). Слід відзначити, що бактерії та фітопланктон захищені від проникнення наночастинок клітинною стінкою. Відповідно, синтетичні наноматеріали титану та срібла, призначені до застосування як антибактеріальні засоби, повинні бути застосовані у досить високих концентраціях [26, 86].

Поряд з цим, існує брак інформації стосовно видів безхребетних тварин, які власне і є первинними ланками харчових ланцюгів, що контактують із наноматеріалами у довкіллі [40, 41]. У прибережних ділянках водойм на безхребетні тварини загалом припадає близько 95% видів водних тварин. Вони виконують важливі екологічні функції та є потенційними переносниками наноматеріалів у харчових ланцюгах [11, 16]. Проте станом на 2008 р. зафіксовано менше 20 публікацій у виданнях із високим рівнем рецензування, присвячених впливу промислових наноматеріалів на безхребетних тварин [11].

Очевидно, що найбільш ймовірного впливу у водоймах зазнають організми-седиментатори, а серед них – двостулкові молюски. Це широко розповсюджені види тварин, що ведуть осілий спосіб життя і є фільтраторами суспензій за способом живлення. Вони володіють високо розвиненими процесами захоплення клітинами макро- та мікророзмірних частинок шляхом ендо- і фагоцитозу, їх внутрішньоклітинного засвоєння та імунної

відповіді. В останні роки з'являється інформація щодо впливу різних типів наночастинок на різні види двостулкових, переважно, морських, особливо на види роду мідій, причому для оцінки використовуються молекулярні маркери стресу і токсичності (*Mytilus* spp) [16, 33, 73, 90]. Дослідження на двох видах безхребетних-седиментаторах, *Scrobicularia plana* та *Nereis diversicolor*, що мешкають у седиментах естуаріїв, показали, що навіть у екологічно реальній концентрації 3 мг/кг седиментів нано-⁶⁷ZnO акумулюється цими видами із однаковою інтенсивністю [14]. У дослідах з вивчення впливу різних наночастинок *in vitro* було показано вплив на гемоцити, тобто формування імунної відповіді молюсків. За експозиції *in vivo* було доведено, що агрегати наночастинок, потрапляючи через зябра, прямують у травну залозу, де у клітинах індукують лізосомальні ушкодження та окисний стрес (~~безхребетних, зокрема для двостулкових молюсків, стали з'являтися лише у останні роки~~ [34]. Проте дослідження молекулярних механізмів екотоксичності для цих груп безхребетних, зокрема для двостулкових молюсків, стали з'являтися лише у останні роки [2, 30, 34, 35, 36].

Більшість досліджень впливу наночастинок на хребетних тварин виконано на рибках. Це дослідження токсичності C60 фулеренів, карбонових нанотрубок, наночастинок оксиду титану [73]. Інформація стосовно токсичності наноматеріалів для ссавців зосереджена на дихальній системі та запальних реакціях [72]. При цьому підкреслюється, що легенева епітеліальна тканина ссавців може вважатися адекватною моделлю у екотоксикології, оскільки являє собою типовий слизовий епітелій і не має принципових відмінностей від інших аналогічних тканин, таких як зябра або шлунок водних організмів, або поверхня тіла земляних черв'яків [33, 40, 41].

Відтак, створені моделі подекуди не дозволяють оцінити потенційні наслідки хронічного впливу екологічно реальних концентрацій наночастинок для біоти. Різноманіття моделей поведінки синтетичних наночастинок у середовищі та видових особливостей організмів, які можуть зазнавати їх впливу, потребують коректної екстраполяції результатів лабораторних експериментів.

3.4.4. Подолання наночастинок біологічних бар'єрів та оцінка їх здатності до біодеградації

Першим етапом у біологічній дії наночастинок є їх адсорбція поверхнею організму, що може поєднуватися із агрегацією або преципітацією частинок, що, наприклад, було показано на прикладі взаємодії одностінних карбонових трубок із слизом у зябрах форелі [90]. Для подальшого проникнення наночастинок у організм принципове значення має природа взаємодій наночастинок із клітинними мембранами. У дослідах на двостулковому молюску було показано, що втрата структури квантових точок відбувається ще при подоланні зовнішніх бар'єрів організму [79]. У цьому експерименті для вивчення впливу на двостулкових молюсків (*E. complanata*, ~~Mollusca, Bivalvia~~, Unionidae) були використані відносно високі концентрації квантових точок CdTe (до 8 мг Cd/л) за інкубації протягом 24 год. Результати показали, що фактор біоаккумуляції кадмію у зябрах та травній залозі із непокритих (нестабілізованих - без покриття) квантових точок, що не зазнали агрегації, та розчинної солі були подібні, що доводить утилізацію лише розчинного кадмію молюсками. У цій ж експериментальній моделі [35] порівняння за сумою показників (мультиваріантний дискримінантний аналіз) показало, що дія найвищої дослідженої концентрації квантових точок (8 мг/л за кадмієм) з високою ймовірністю відповідала реакції організму на вільні іони кадмію (0,5 мг/л). З іншого боку агрегати наночастинок золота, утворені у морській воді, при потрапленні у організм морського двостулкового молюска *Scrobicularia plana* знову зазнають подрібнення, чому може сприяти низька кислотність середовища у травному тракті [74].

На різних моделях було доведено, що проникність мембран для наночастинок залежить від розміру. Так, у клітини бактерій потрапляють квантові точки розміром не більше 5 нм та

частинки срібла менше 80 нм [57, 58, 104]. Силіконові наночастинки та фулерени здатні вбудовуватись у мембрани [47, 82]. Для фулеренів C60 було показано, що вони взаємодіють із ліпідним бішаром як модельної мембрани, так і плазмалеми та у низькій концентрації у діапазоні 1.0×10^{-4} - 1.0 мг/мл вбудовуються переважно у внутрішній гідрофобний прошарок, та, у такий спосіб, підвищують його специфічну провідність та ємність. Більше того, при взаємодії із плазмалемою формуються пори, або інші види місцевих пошкоджень, через які може здійснюватись рух молекул води та, у результаті, екстерналізація молекул фосфатидилсерину із внутрішнього у зовнішній шар мембрани [82]. Карбоксифулерен спричинює підвищення проникності мембран грам-позитивної бактерії, що викликає загибель клітини [100]. Так, ймовірно, металовмісні наночастинки вивільняють іони металу, які проходять крізь специфічні транспортні системи плазмалеми, тоді як гідрофобні частинки можуть дифундувати крізь плазмалеми, подібно до ліпідних крапель у шлунку, або шляхом ендцитозу частинок або їх агрегатів [41]. Утворення ендосом та включення у лізосоми було доведено для наночастинок поліестеру у морського двостулкового молюска мідії *Mytilus edulis* [69]. Для двостулкового прісноводного молюска перлівниці *Unio tumidus* було доведено акумуляцію наноформи цинк оксиду у лізосомах травної залози із активацією катепсину D, тоді як специфічні реакції у цитозолі клітин цієї тканини не проявлялись [31]. Наноматеріали піддаються деградації й усередині клітин. Відповідно змінюється реакційна здатність, транспорт і токсичність утворених продуктів [63].

Розподіл наночастинок у тілі та їх органи-мішені практично невідомі [40]. Цей процес частково залежить від розчинності частинок у рідинах тіла. Ймовірно плазма крові, як сольовий розчин, сприяє агрегації наночастинок, проте вони можуть транспортуватись альбумінами або іншими транспортними протеїнами. В організмі тварин метали акумулюються здебільшого у метаболічно активних тканинах. Встановлено, що за дії наночастинок золота та срібла обидва метали акумулюються переважно у печінці [20]. Для безхребетних тварин, які володіють детоксикаційними механізмами ізоляції токсичних металів у вигляді гранул у гепатопанкреасі (ракоподібні, молюски), ймовірно характерне і утворення гранул наночастинок та виведення їх з організму шляхом екзоцитозу [40, 41].

Актуальною для нанорозмірних частинок є і проблема виведення їх з організму. Це стосується всіх наноматеріалів, які не можуть бути біодеградовані та повинні виводитися з організму людини, щоб запобігти довготривалій токсичності. Зокрема, у роботі Н. Choi та ін. (2010) [18] показано, що квантові точки, які за розміром менші, ніж 6 нм, та адресно можуть досягати ракових клітин, виводяться з організму нирками.

Виявлення власне наночастинок у тканинах є методологічною проблемою, пов'язаною із ймовірністю утворення агрегатів підчас виділення з тканини. Встановлено перетворення квантових точок внаслідок фотолізу із зменшенням флуоресценції, а також окиснення [41]. Для виявлення металовмісних частинок можна визначити вміст металу у тканині, проте, поперше, такий шлях найбільш доцільний для неесенціальних металів, таких як золото, введення якого є головним ресурсом його у тканині, тоді як для титану, присутнього, наприклад, у тканинах риби у мікромольних кількостях [33], а тим більше, для есенціального цинку складно встановити внесок металу у токсичність наночастинок. По-друге, таке визначення не дасть відповідь на питання про нативність діючих частинок. Поряд з цим, порівняння молекулярних відповідей на вплив наноматеріалу та його складових виявляється найбільш оптимальним шляхом з'ясування шляхів перетворення наноматеріалів у організмі. Так, доведено, що наноформа вольфрам карбїду WC і кобальту (WC-Co) токсичніша для кератиноцитів людини (HIF1a), ніж її складові [15] після дії протягом 3-х годин та 3-х діб. Разом з тим, WC-Co викликає властиві для дії катіонів кобальту ефект

гіпоксії, що проявляється у метаболізмі вуглеводів, ендокринних шляхів і реалізується через вплив на фактори транскрипції, особливо індукований гіпоксією фактор 1. Дія наночастинок срібла та іонів аргентуму принципово відрізняється [17, 55].

У випадку магнітних наноматеріалів ймовірна генерація тепла [57]. Проте конкретні механізми токсичності наноматеріалів важко виокремити, бо вони можуть сильно відрізнятися навіть у межах одного класу наноматеріалів. Klaine зі співав. [57] наводить приклад двох фулеренів – гідроксильованого (фулерол, $(C_{60}[OH]_x$ та фулерен C_{60} із покриттям вінілпіролідонем). Перший з них генерує синглетний кисень, проте не вирізняється помітною токсичністю, а другий продукує наночастинок, що також генерують синглетний кисень, проте активують пероксидне окиснення ліпідів, та інші ураження клітин. Здебільшого у токсичності наноматеріалів поєднується декілька механізмів. Проаналізуємо відомі факти впливу синтетичних наноматеріалів на молекулярні системи стресу і детоксикації у модельних організмах та системах.

3.4.5. Неспецифічні ефекти наночастинок та продуктів їх деградації у організмі

Розглянемо два напрямки ймовірної токсичної дії наноматеріалів – неспецифічний шлях ураження, опосередкований через окисний стрес і метаболічну депресію, та специфічний вплив наночастинок або продуктів їх перетворення, що реалізується шляхом їх взаємодії із молекулярними мішенями та специфічними системами детоксикації.

Можна прогнозувати, що неспецифічна токсична дія наноматеріалів полягає, у першу чергу, в окисному стресі. Ініціація утворення активних форм кисню (АФО) та поява ознак окисного стресу вважається найбільш послідовною схемою відповіді організму на модельну дію ксенобіотиків, у тому числі і наноматеріалів. За впливу наноматеріалів вона була описана у ряді робіт із використанням як клітинних ліній [15, 35], так і водних організмів, зокрема молюсків [84].

Відповідь системи антиоксидантного захисту відбувається як неспецифічна реакція на зростання рівня активних форм кисню та нітрогену (АФО та АФН), що у свою чергу призводить до окисної деструкції біомолекул та біологічних структур – біомембран та хроматину [64]. За впливом на активність чинників антиоксидантного захисту, зокрема ензимів супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази та глутатіон-S-трансферази та рівнем продуктів окисного ураження (малоновий діальдегід, пероксили ліпідів, дієнові кон'югати, карбонільні похідні протеїнів) у різних моделях експерименту відзначають широкий спектр реакцій. Так, у мешканців естуаріїв безхребетних-седиментаторів, молюска *Scrobicularia plana* та черва *Nereis diversicolor*, дія навіть у екологічно реальній концентрації 3 мг/кг нано- ^{67}ZnO протягом 16 діб викликає певні прояви реакції з боку системи антиоксидантного захисту, причому у молюска активується каталаза та зростає рівень пероксидації ліпідів, тоді як у черва зростає активність глутатіон-S-трансферази, хоча цинк акумулюється з однаковою інтенсивністю обома видами [14].

Реакцію системи антиоксидантного захисту прийнято вважати неспецифічною відповіддю на стрес [64], проте слід визнати, що генерація високореактивних форм АФО та АФН може бути специфічною реакцією на хімічну природу чинника, як такого, що безпосередньо проявляє редокс-активність, так і такого, дія якого опосередкована. Так, традиційно потенційну токсичність редокс-активних металовмісних наноматеріалів пов'язують із їхньою здатністю до трансформації у організмі із вивільненням іонів, якщо вони містили оксиди металів (цинку, кадмію, титану, феруму, купруму), або із окисненням атомів металів для наночастинок золота та срібла [74, 75, 76, 95, 96, 97]. Відповідно, редокс-активні метали (мідь, залізо, срібло, золото, титан) можуть викликати генерацію АФО та

наступну низку молекулярних подій, які реалізуються через утворення продуктів окисного ураження макромолекул [24, 101] із використанням клітинної лінії миші показали, що дія нано-карбїду вольфраму та кобальту (WC-Co) (0, 25, 37.5, та 50 мкг/см² протягом 6 годин інкубації клітин) генерує утворення гідроксил-радикалів та, відповідно, окисний стрес, який проявляється у зниженні рівня GSH.

Прооксидантну дію може зумовити не лише безпосередня зміна у інтенсивності утворення вільних радикалів, але й у зв'язку із вплив на тіоли, що було продемонстровано для впливу нано-золота (частинки розміром 5 нм) на двостулкового морського моллюска *Mytilus edulis* [95, 97]. У моллюска спостерігали значне зменшення вмісту тіолових груп (очевидно, внаслідок окиснення у результаті прямої дії АФО) у протеїнах у порівнянні із контролем та тваринами, яких піддавали дії іонів кадмію. Останній аспект особливо важливий, оскільки нано-золото виявилось більш потужним чинником щодо тіолів, ніж кадмій, який відомий високою спорідненістю до цих груп. Також значно посилювалось перекисне окиснення ліпідів та зменшувався час утримування барвника нейтрального червоного лізосомами, що свідчить про ураження мембран. Для нано-золота (5 нм) повідомляється також здатність до генерації АФН з ендогенних S-нітрозопохідних із тіоловими групами протеїнів плазми крові [48]. Наночастинки золота (~5 нм) викликали значно більший окисний стрес, ніж частинки більшого діаметру [74, 75, 76, 95, 96, 97]. У двостулкового морського моллюска *Scrobicularia plana* інкубація з наночастинками золота (розміром 5, 15, 40 нм, у концентрації 100 мг/л) протягом 16 діб спостерігалась акумуляція золота у тканинах, яка поєднувалась із активацією ензимів антиоксидантного захисту каталази (15, 40 нм), супероксиддисмутази (40 нм) та глутатіон-S-трансферази (всі три розміри). Безумовно, як і відзначають автори, досліджувані концентрації наноматеріалу були значно вищі тих, що можуть траплятись реально у середовищі [74].

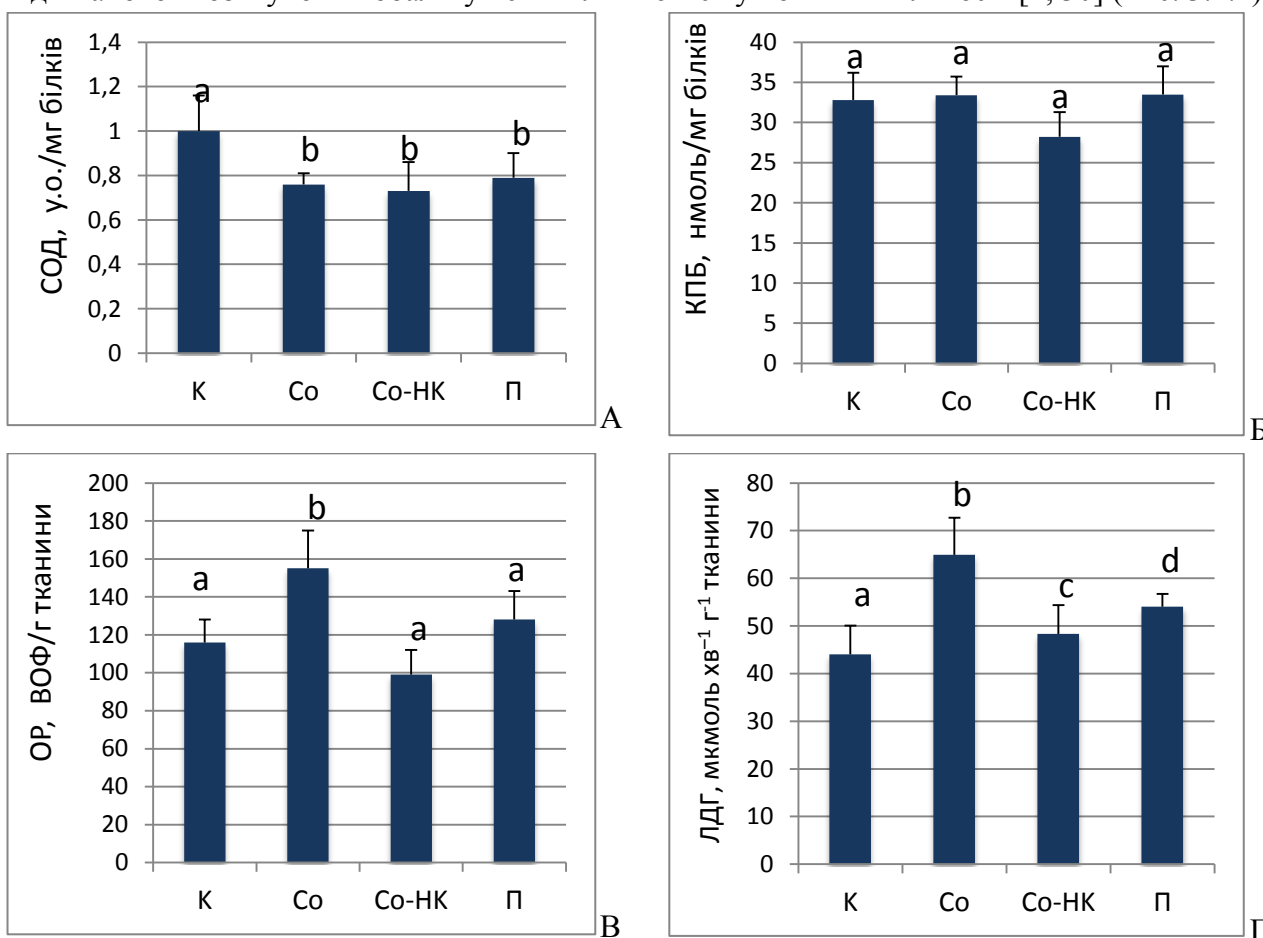
На прикладі біологічної дії наночастинок срібла можна переконатись, що наявність певного впливу на чинники антиоксидантного захисту не є достатнім аргументом на користь механізму їх біодеградації. Так, використовуючи катіонообмінну обробку, було доведено, що у розчині наночастинок срібла практично відсутні вільні іони аргентуму [55]. Порівняння дії наносрібла та іонів аргентуму на рибу медаку (*Oryzias sp.*) також виявило відмінність [17]. Разом з тим, наночасточки срібла із поверхневим шаром вінілпіролідону вивільняли іони аргентуму у астроцитах, досліджених *in vitro* [65]. У цьому досліді утримування срібла клітинами протягом 7 діб не призвело до ознак токсичності, таких як зміни у споживанні глюкози чи продукції лактату, або редокс-статусі глутатіону. Проте за допомогою Вестерн-блот та імуноцитохімічного аналізу, було продемонстровано, що наносрібло у цьому випадку значно посилювало експресію метал-депонувальних протеїнів металотіонеїнів, що, на думку авторів, запобігло токсичності завдяки зв'язуванню срібла з цими протеїнами. У клітинах гепатоми людини дія наносрібла була зумовлена окисним стресом, оскільки його токсичності можна запобігти антиоксидантом N-ацетилцистеїном. Реакція проявлялася в активації ензимів антиоксидантного захисту [55]. Вивчення впливу наночастинок плюмбум оксиду показало, що як наноматеріал, так і іонна форма плюмбуму активували пероксидне окиснення ліпідів у клітинних моделях [22].

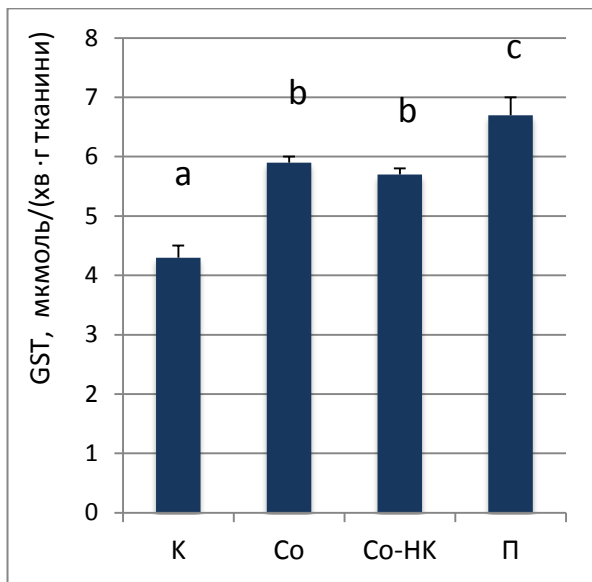
Прооксидантний вплив частинок атомарного нано-заліза водного середовища, захищеного від іонізації (розмір близько 30 нм, концентрація 0,5, 5, 50 мкг/мл), проявлявся у ембріонів риби медаки (*Oryzias latipes*) протягом різного періоду інкубації (від 12 год до 8 діб) як концентраційно-залежне пригнічення супероксиддисмутазної активності та зростання рівня малонового діальдегіду. У дорослих риб ознаки окисного стресу (інактивація супероксиддисмутази та зменшення вмісту відновленого глутатіону) спостерігалися лише на

ранніх етапах інкубації. Концентрація 0,5 мкг/мл нанозаліза практично не викликала змін показників як у ембріонів, так і у дорослих риб [61].

Низький рівень чутливості проявила до впливу титан нанооксиду система антиоксидантного захисту *Daphnia magna*. Дія наноматеріалу у концентраціях 5 та 10 мг/л у хронічному експерименті викликав смертність серед тварин, проте активність ензимів антиоксидантного захисту каталази, глутатіонпероксидази та глутатіон-S-трансферази зростала, а активність супероксиддисмутази не змінювалася [54].

Порівняння впливу на організм прісноводного двостулкового молюска *Anodonta cygnea* нанокмозиту кобальту з лігандом на основі кополімеру вінілпіролідону (VNP) та складових – іонів кобальту (відомого прооксиданту) [94] та власне VNP у концентраціях, що відповідають 50 мкг/л за кобальтом та містяться у діапазоні екологічно реальних концентрацій для іонів кобальту у водоймах та у діапазоні концентрацій кобальту у крові пацієнтів із застарілими імплантатами, свідчить про спільні ознаки для всіх трьох груп, виявлені після 14 діб інкубації. До того ж і ознака переходу до анаеробіозу, яка свідчить про стресову ситуацію у водних тварин, проявляється також у всіх групах. У всіх групах знижується активність супероксиддисмутази, зменшується редокс-індекс глутатіону, але зростає активність глутатіон-S-трансферази. Проте цей стрес має більш сигнальний, ніж руйнівний характер, оскільки у молюсків не спостерігаються ознаки окисного ураження протеїнів. Єдиною ознакою серед показників стресу, яка свідчить про принципову відмінність між групами, є посилене утворення оксирадикалів за дії Co^{2+} . Ця ознака відповідає інформації про прооксидантну активність іонів кобальту [101] та свідчить, що за дії нанокмозиту іони кобальту не вивільняються у помітній кількості [2, 30] (Рис. 3.4.4).





Д

Рис. 3.4.4. Показники системи антиоксидантного захисту травної залози двостулкового молюска *Anodonta cygnea* за впливу кобальт-вмісного нанокompatиту (Co-НК) та його складових – іонів кобальту (Co) та полімерної субстанції на основі вінілпіролідону (П): А – супероксиддисмутазна активність, Б – карбонільні похідні білків, В – утворення оксирадикалів, Г - лактатдегідрогеназна активність, Д - глутатіонтрансферазна активність. $M \pm m$, $n=8$; Однаковими буквами позначаються ряди даних, які між собою вірогідно не відрізняються, $p > 0,05$ (за [2]).

Як відомо, іони кобальту збільшують рівень утворення активних форм кисню та апоптотичну активність у клітинах ендотелію, експресію генів, продукти яких відповідальні за гіпоксію та обмін вуглеводів у кератиноцитах людини [15, 34]. Згідно результатів дослідження Фальфушинської та ін. [2], дія полімерної субстанції та, особливо іонів Co^{2+} , також викликає прооксидантні зміни у травній залозі молюсків, однак їх поєднання у нанокompatиті дає відмінні результати та не зумовлює появи ознак оксидативного ураження у тварин (рис. 3.4.4). Подібну модель відповіді спостерігали у лінії клітин HaCaT та *C. fluminea* за дії фізіологічних концентрацій Co-НК та Au-НК на рівні експресії генів та генних кластерів, продукти яких відповідальні за оксидативний стрес [37, 84]. Такий ефект може бути наслідком високої стійкості комплексу Co-НК принаймні у організмі даного виду гідробіонта.

Вивчення впливу нанокompatитів кобальту та цинку на аналогічній полімерній основі похідного вінілпіролідону на карася сріблястого *Carassius auratus gibelio* у концентраціях, відповідних 50 мкг кобальту/л або 100 мкг цинку/л протягом 14 діб також виявило, що окисний стрес є спільною ознакою впливу як нанокompatитів, так і їх складових [3, 32]. За всіх видів впливів спостерігається зменшення вмісту відновленого глутатіону, активація анаеробного обміну, Mn-супероксиддисмутази та зниження вмісту продуктів окисної деструкції білків і ліпідів у тканині печінки. Разом з тим, встановлено, що реакція окисного стресу є високо специфічною до природи металу, як у вигляді іонів, так і Me-НК: вплив Co і Co-НК викликає активацію антиоксидантного захисту, а Zn і Zn-НК – пригнічення антиоксидантного захисту (Рис. 3.4.5, 3.4.6). Відтак, спостерігається суттєва відмінність між двома видами водних тварин за показниками окисного стресу у створених моделях експерименту. Одержані дані вказують на те, що у карася, на відміну від двостулкового молюска [30, 32], відбувається часткова біодеградація Me-НК.

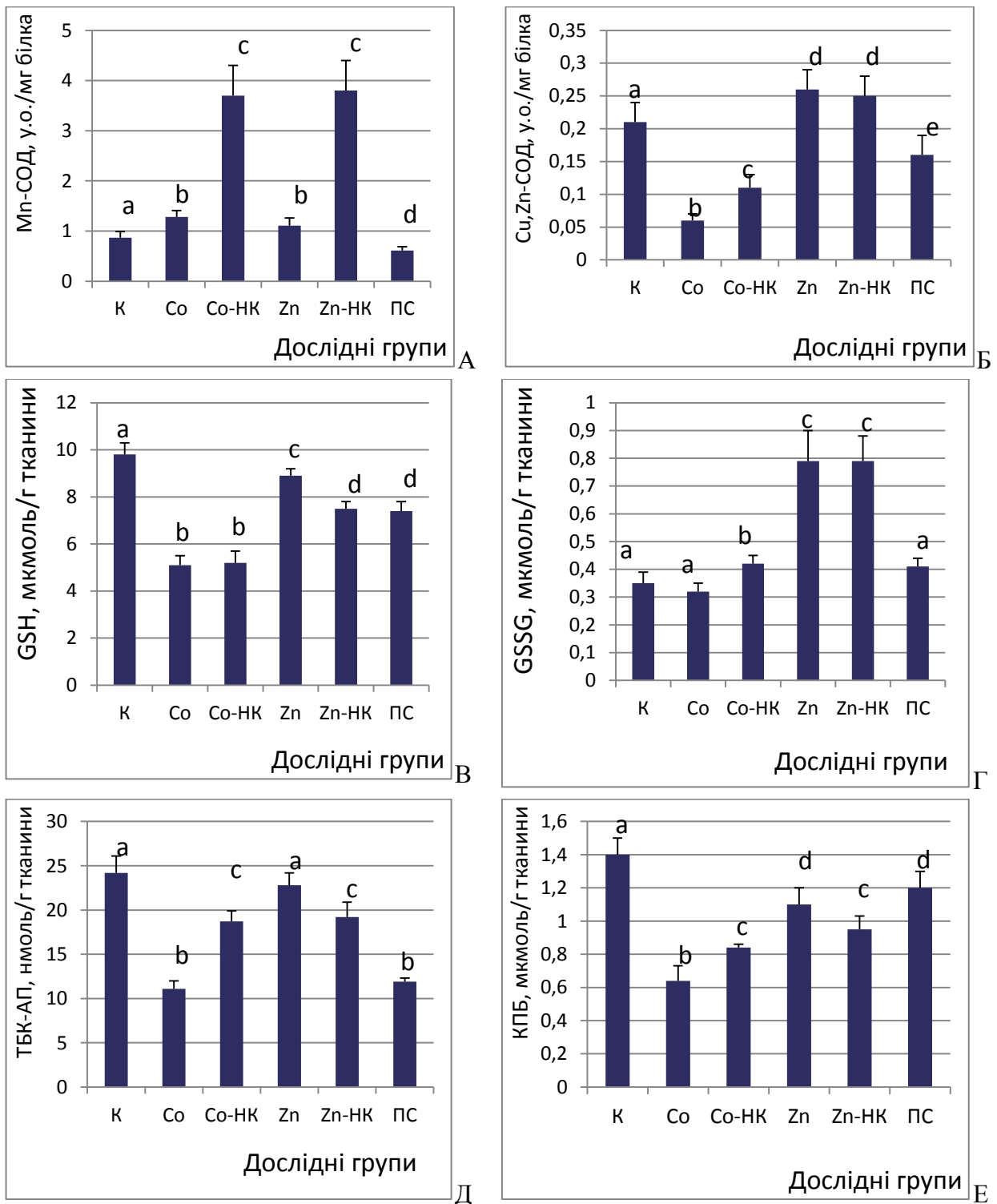


Рис. 3.4.5. Показники системи оксидативного стресу печінки карася за впливу кобальт- та цинк-вмісного нанокompозиту (Co-NK, Zn-NK) та його складових – іонів відповідних металів (Co та Zn) та полімерної субстанції на основі вінілпіролідону (ПС). А – Mn-супероксиддисмутазна активність, Б – Cu,Zn- супероксиддисмутазна активність; В – концентрація загального глутатіону; Г - концентрація окисненого глутатіону; Д – рівень утворення ТБК-активних продуктів; Е – утворення карбонільних похідних білків. Однаковими буквами позначаються ряди даних, які між собою вірогідно не відрізняються, $p > 0,05$ (за [3]).

Важливим аспектом з'ясування впливу наноматеріалів на систему антиоксидантного захисту є встановлення залежності її реакції від вихідного редокс-статусу клітини. Такі знання необхідні, зокрема, у клініці, оскільки наявність запальних процесів в організмі

асоціюється з активацією прооксидантних проявів, що, у свою чергу, може змінити чутливість клітин до цитотоксичних наночастинок. У дослідженнях на клітинній лінії епітелію бронхів людини BEAS-2B було з'ясовано вплив попередньої інкубації у розчині прооксиданта (пероксиду водню у діапазоні 5 та 10 мкМ, 45 хв) на прояви окисного стресу за дії нано-ZnO (частинки розміром 10 нм, діапазон концентрацій 0,5–25 мкг/мл, 24 год). Виявилось, що за попередньої дії пероксиду, життєздатність клітин, яких піддавали впливу нано- ZnO, суттєво пригнічується. За дії 10 мкг/мл ZnO, життєздатність клітин, які були інкубовані у 5 та 10 мкМ розчині пероксиду, становить $72.8 \pm 2.0\%$ та $40,6 \pm 2,0\%$ відповідно, тоді як у негативному контролі (без попередньої інкубації у пероксиді) – $99,9 \pm 1,1\%$ (Heng et al., 2010).

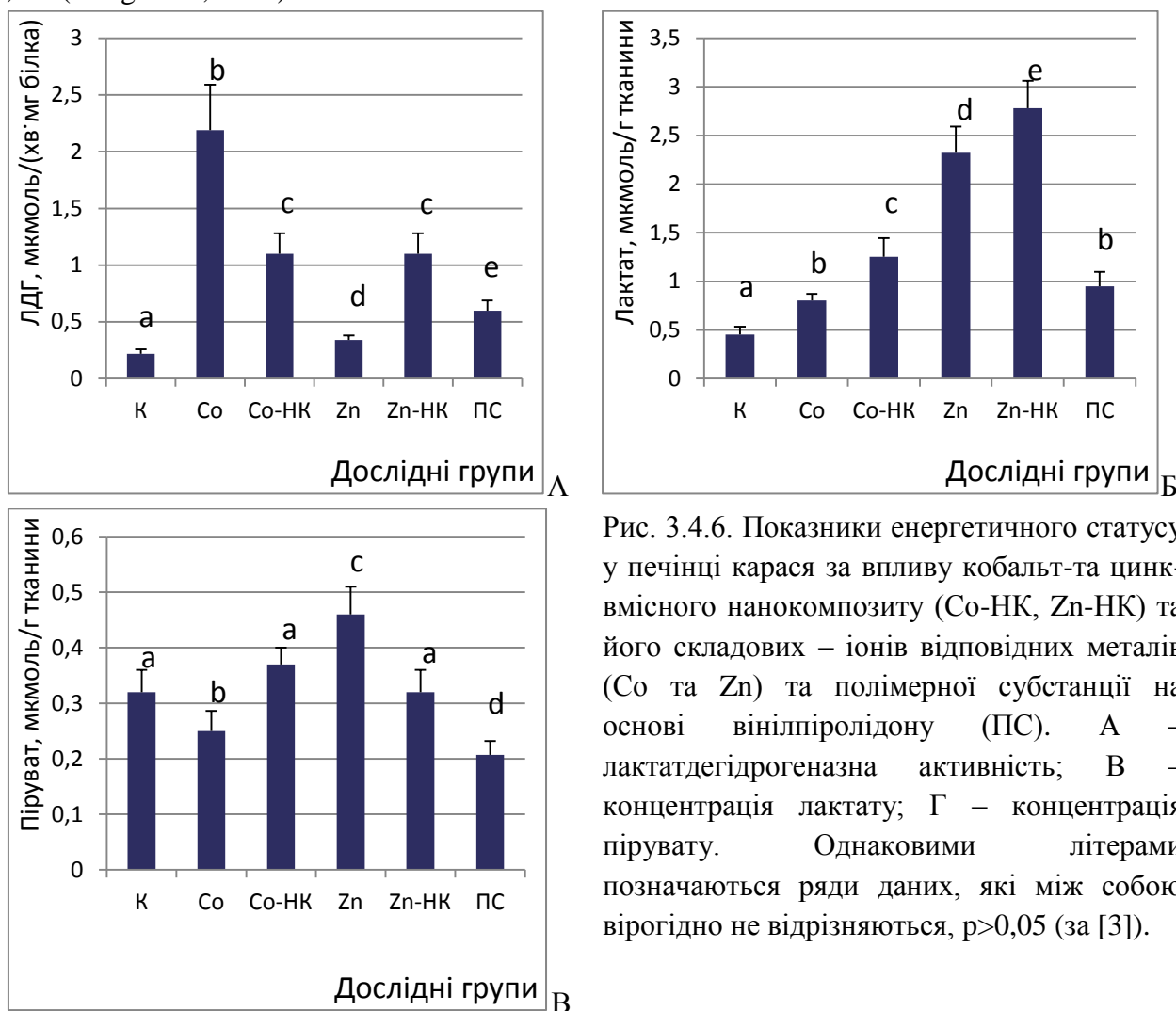


Рис. 3.4.6. Показники енергетичного статусу у печінці карася за впливу кобальт-та цинк-вмісного наноконструктиву (Co-НК, Zn-НК) та його складових – іонів відповідних металів (Co та Zn) та полімерної субстанції на основі вінілпіролідону (ПС). А – лактатдегідрогеназна активність; В – концентрація лактату; Г – концентрація пірувату. Однаковими літерами позначаються ряди даних, які між собою вірогідно не відрізняються, $p > 0,05$ (за [3]).

3.4.6. Специфічні молекулярні мішені наночастинок, їх похідних і складових в організмі

Для наноматеріалів, що створюються для медичних цілей (квантові точки, карбонові нанотрубки, нано-срібло) передбачається, що вони повинні взаємодіяти із протеїнами, нуклеїновими кислотами та мембранами з метою їх флуоресцентного мічення, цільової доставки ліків, або ураження (патогенна мікрофлора, ракові клітини. [57, 68]. Проте слід оцінювати такі взаємодії і у нецільових організмах, тканинах, клітинах, а також здатність організму до трансформації та детоксикації цих специфічних форм ксенобіотиків.

Вплив на експресію генів. Власне використання наноматеріалів у медицині ґрунтується на утворенні кон'югатів із ДНК. Це стосується квантових точок, зокрема фоточутливих металів та їх оксидів. Зокрема, ферум нано-оксид використовується для мічення невірусних

векторів [25, 27, 85]. Вивчення генотоксичності повинно бути обов'язковим елементом встановлення екоотоксичності наноматеріалів, ґрунтуючись на знаннях про здатність хімічних складових промислових наночастинок взаємодіяти із хроматином. Зокрема це стосується іонів металів [103] та циклічних органічних сполук (фулеренів) [43, 49]. Методологія оцінки генотоксичності добре відпрацьована із визначенням ступеня фрагментації ДНК та частки клітин із аномальними ядрами та мікроядрами [9, 102]. Незважаючи на це, інформація про генотоксичність, мутагенний та тератогенний ефекти наноматеріалів досить обмежена [57].

Так, дослідження наночастинок золота (~10 нм) показало, що вони міцно зв'язуються із ДНК, спричинюючи конформаційні зміни молекули і, як наслідок, викликають генотоксичність та пригнічення транскрипції [38]. Висувають припущення, що спорідненість ДНК-полімерази до ДНК зменшується, можливо, внаслідок переваг нано-золота у зв'язуванні з ДНК, що може мати перспективи застосування для лікування пухлин [50]. Наночасточки срібла, досліджені у двох концентраціях (1 мкг/л та 25 мкг/л) за впливу на рибу медаку, викликали ушкодження клітин і ДНК [17]. Разом з тим, для УФ-фільтрів – оксидів титану та цинку у тестах *in vitro* встановлено відсутність генотоксичності [88].

Для багаточарових карбонових нанотрубок показано, що у нормальних фібробластах інкубація із очищеними функціоналізованими багаточаровими карбоновими нанотрубками у концентраціях 40, 200 та 400 мкг/мл викликає посилення токсичного ефекту із збільшенням концентрації матеріалу. У всіх концентраціях нанотрубки викликали ураження ДНК, ознаки апоптозу та масову втрату життєздатності клітин [78]. Для фулеренів доведена їх здатність взаємодіяти із ДНК із деформацією ланцюга [106].

Найбільш загальна інформація про вплив наноматеріалів на експресію генів стосується активації генів протеїнів, залучених до відповіді на стрес. Griffitt та колеги (2009) [39] показали, що іони срібла та міді спричиняють такий самий вплив на рибу-зебру *Danio rerio*, як і відповідні наночастинки, проте наночастинки впливають на більшу кількість генів.

Наночасточки срібла, досліджені у двох концентраціях (1 мкг/л та 25 мкг/л) за впливу на рибу медаку, поряд із ушкодженням ДНК індукують стрес-залежні гени (металотіонеїнів, HSP 70, GST, p53, CYP 1A та трансферину). Важливо, що ці реакції відрізнялися від відповіді на вплив іонів аргентуму [17]. У клітинах гепатоми людини дія наносрібла проявлялася у активації ензимів антиоксидантного захисту. Так, наносрібло не індукувало мРНК металотіонеїну 1b (MT1b), на відміну від аргентум нітрату [55].

У досліджах [15] вивчався вплив найменшої концентрації наноформи вольфрам карбїду WC та кобальту (WC-Co) – 30 мкг/мл – на HaCaT клітини людини протягом 3-х годин та 3-х діб. Аналіз виділеної РНК дозволив ідентифікувати 1956 генів, експресія яких змінилась суттєво, а з них – 1146 генів змінювали експресію більше як удвічі. Найбільш помітні зміни викликали іони кобальту (373 та 826 генів за 3 год та 3 доби відповідно). WC-Co викликав зміни відповідно 37 та 248 генів, а WC – 28 та 49. Для деяких генів рівень експресії змінився більш як у п'ять разів, особливо індукованого гіпоксією фактору 1 [15] після дії протягом 3-х годин та 3-х діб.

Окисні зміни та ураження геному призводять до активації процесу апоптозу. Механізм цієї активації проте реалізується по різному залежно від природи чинника. Так, у дослідженнях Hussain та ін. (2010) [46] було показано, що наночастинки як чорного вугілля (13 нм), так і TiO₂ (15 нм) у клітинах бронхіального епітелію викликають типові морфологічні ознаки апоптозу (зменшення розміру клітин, набрякання мембран, конденсація периферійного хроматину, формування апоптичних тілець), а також типові для апоптозу біохімічні зміни (активація каспаз та фрагментація ДНК), але низка подій, що призводить до цих проявів була різною залежно від природи частинок. У обох випадках посилювалась

продукція АФО із певними особливостями їх складу. У випадку вугілля, АФО індукували мітохондріальний шлях апоптозу, оскільки проявлялося типове ураження мітохондрій із вивільненням цитохрому *c*, зменшенням мембранного потенціалу мітохондрій, активацією Вах. Вплив нано- TiO_2 здійснювався через посилення ПОЛ, дестабілізацію лізосомальних мембран та вивільнення катепсину В.

Відсутність генотоксичності було відзначено для впливу на організм молюска *Anodonta cygnea* нанокompозиту кобальту (50 мкг/л по кобальту) після 14 діб інкубації [30], тоді як іони кобальту активували ензим апоптозу каспазу-3 та зменшували стабільність мембран лізосом [30]. У карася за дії аналогічних нанокompозитів (НК) кобальту та цинку збільшується кількість еритроцитів з ядерними аномаліями, що свідчить про вищий рівень токсичності цих композитів, ніж для молюска [3, 32]. При цьому, дія кобальту та Со-НК викликає активацію апоптозу, а дія Zn і Zn-НК – його пригнічення.

Молекулярні системи детоксикації наночастинок. Для розуміння біологічного ефекту наночастинок принципове значення має виявлення специфічних молекулярних мішеней, які забезпечують вибіркоче зв'язування та детоксикацію цих речовин. Для іонів металів зменшення токсичності полягає у їх депонуванні у складі специфічних функціональних груп та молекул. Воно реалізується завдяки особливостям констант зв'язування іонів металів з певними лігандами, у більшості випадків тіоловими групами [91, 102]. Для багатьох металів, що використовується у синтезі наночастинок такими зв'язувальними (буферними або депонувальними) молекулами є внутрішньоклітинні протеїни металотіонеїни [4, 91]. Для органічних сполук детоксикація пов'язана з хімічним перетворенням, зокрема частковим окисненням молекули монооксигеназами [4].

Металотіонеїни – це надродина низькомолекулярних, термостабільних стрес-залежних металодепонувальних протеїнів, які виявляються у всіх тваринних організмах, значної кількості видів грибів, рослин і бактерій. Характерною особливістю їх складу є високий вміст цистеїну (близько 33 %) та відсутність ароматичних амінокислот і гістидину. МТ, завдяки високому вмісту сульфгідрильних нуклеофільних груп, можуть реагувати з електрофільними субстанціями, такими як іони d-металів і вільні радикали [7, 12, 29, 67, 91, 102]. У фізіологічних умовах вони зв'язують у метал-тіолатні домени іони цинку, кадмію та, у безхребетних, часто – купруму (I), а у експериментальних дослідженнях повідомляється про зв'язування ними широкого кола металів, у тому числі срібла, кобальту та заліза (Рис. 3.4.7). Експресія цих протеїнів посилюється під впливом різноманітних стресорних чинників, а за умов хронічно токсичного середовища у водних тварин – пригнічується [52, 53, 67]. В результаті зв'язування із металотіонеїнами іони металів, гіпотетично їх токсичність зменшується, тоді як незв'язані із металотіонеїнами іони можуть вступати у інші взаємодії, які визначають їх есенціальні функції (для цинку і купруму) та/або токсичність (за надлишкової акумуляції есенціальних металів та для неесенціальних металів) [7, 10, 12, 66].

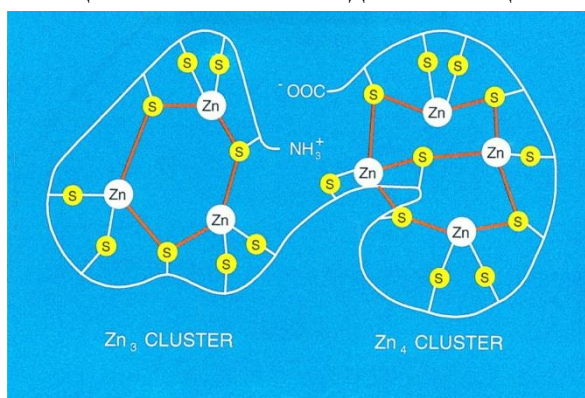


Рис. 3.4.7. Дводоменна структура металотіонеїнів

Стосовно здатності металовмісних наноматеріалів бути джерелом металів для акумуляції у клітинах, зокрема у складі металотіонеїнів, відомі лише окремі факти. Так, за дії наночастинок напівпровідника CdTe у водному середовищі на молюска *E. complanata* (Unionidae) було виявлено, що ефект на організм спричиняють власне іони кадмію, які вивільнилися з наноматеріалу. Типово для кадмію спостерігалася індукція металотіонеїнів у травній залозі та гонадах. Проте у зябрах дія як CdTe, так і CdSO₄ призводила до зменшення вмісту металотіонеїнів. Автори припускають, що така реакція може бути зумовлена окисним стресом [79].

З іншого боку, для квантових точок CdSe, захищених покриттям, утвореним ZnS та функціональними групами полі-L-лізину, або поліетиленгліколю з термінальними метокси-, карбокси- або аміногрупами, було показано відсутність вивільнення кадмію у організмі ембріону риби даніо (*Danio rerio*) за дії протягом 5 діб у концентрації, еквівалентній 0,2–200 мкМ кадмію, та, відповідно, не спостерігалась індукція експресії металотіонеїнів, що відрізняло цю реакцію від відповіді на дію іонів кадмію та незахищених покриттям квантових точок. Разом з тим, дія окремих складових цього матеріалу була токсичною, викликаючи аномалії розвитку [56]. Дія нано-золота у концентрації 100 мкг/л на двостулкового молюска *Scrobicularia plana* викликала акумуляцію золота у м'яких тканинах та індукцію металотіонеїнів.

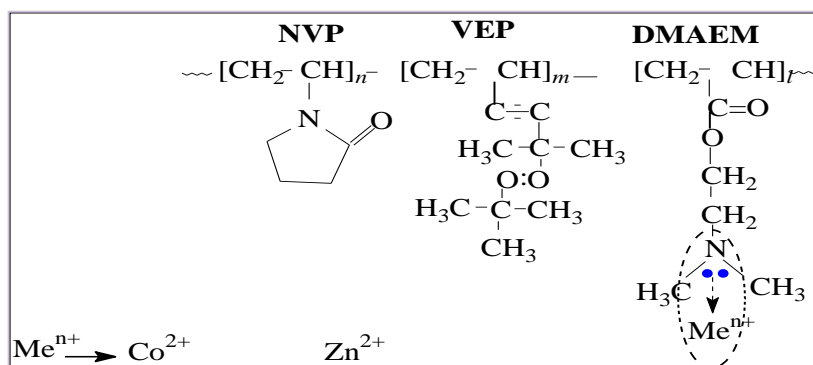


Рис. 3.4.8. Структурна формула нанорозмірного металокомплексу з лігандом на основі ко-полімера вінілпіролідону

Порівняння впливу металокомплексу кобальту з лігандом на основі ко-полімера вінілпіролідону (Рис. 3.4.8) та вільних іонів металу на молюска *A. anatina* за мультимаркерним набором показників стресу та детоксикації показало, що власне характеристики металотіонеїнів розрізняють вплив наноконкомпозиту від впливу його складових: вплив іонів кобальту призводить до зменшення вмісту металотіонеїнів, Со-наноконкомпозиту – до його збільшення, а за дії полімерної субстанції вміст металотіонеїнів не зазнає змін [2, 30]. Вміст металотіонеїнів, визначений за їх тіоловими групами (Рис. 3.4.9), був головним чинником, що розрізняє групи у цьому дослідженні, обраним за допомогою диференційного аналізу набору показників. Інші ж показники, особливо характеристики стресу, слабо розрізняли групи тварин. Більше того, визначення акумуляції металів у складі металотіонеїнів (Рис. 3.4.9, 3.4.10) доводить, що анодонта не в стані акумулювати кобальт з наноконкомпозиту, тоді як вплив іонів кобальту приводять до різкого зростання вмісту кобальту, а також купруму, цинку та кадмію у складі фракції металотіонеїнів [30].

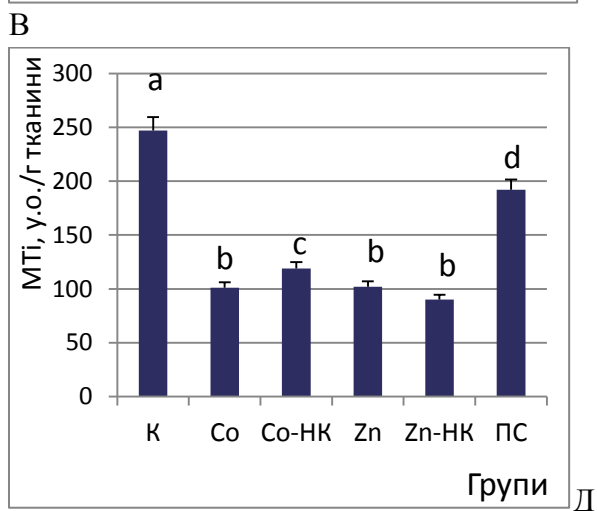
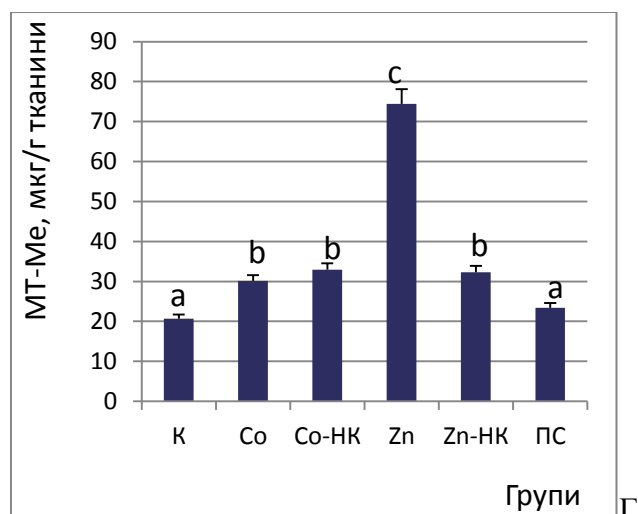
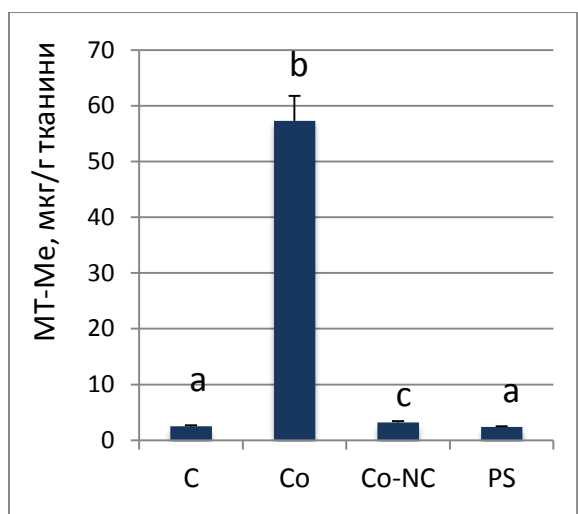
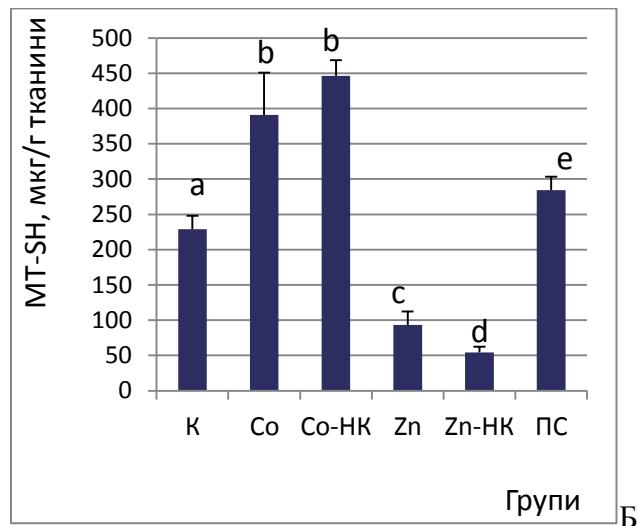
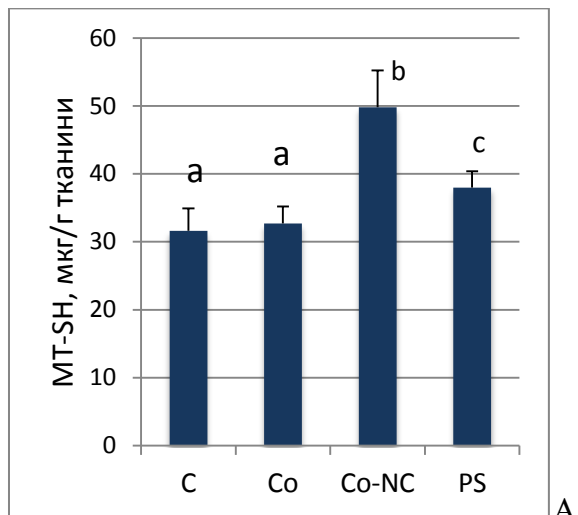


Рис 3.4.9. Характеристика металотіонеїнів травної залози двостулкового молюска *Anodonta cygnea* (А, В) та печінки карася *Carassius sp.* (Б, Г, Д) за впливу кобальт-та цинк-вмісного нанокompозиту (Co-НК, Co-NC, Zn-НК) та його складових – іонів відповідних металів (Co та Zn) та полімерної субстанції на основі вінілпіролідону (ПС, PS) за кількістю тіолових груп (MT-SH), металів у протеїні (MT-Me) та даними імуноферментного аналізу (MTi). Однаковими літерами позначаються ряди даних, які між собою вірогідно не відрізняються, $p > 0,05$ (за [2, 3, 30, 32]).

Порівняння здатності до біодеградації Me-НК за аналогічних умов у карася [3, 32] і двостулкового молюска *Unionidae* [2, 30] засвідчило ряд принципових відмінностей між цими видами тварин. Якщо у молюска дія кожного з чинників – Co, Co-НК і ПС – була достатньо специфічною, то у карася виявлено суттєву подібність між наслідками дії Me-НК і відповідного металу як за окремими показниками, так і за інтегральною характеристикою [3, 32]. Можна припустити, що в організмі карася відбувається вилучення металу із нанокompозиту і проявляється ефект від дії вивільнених іонів металу. Це узгоджується з

даними, які свідчать про вищий рівень розвитку ферментних систем біотрансформації ксенобіотиків у риби, ніж у безхребетних гідробіонтів [62]

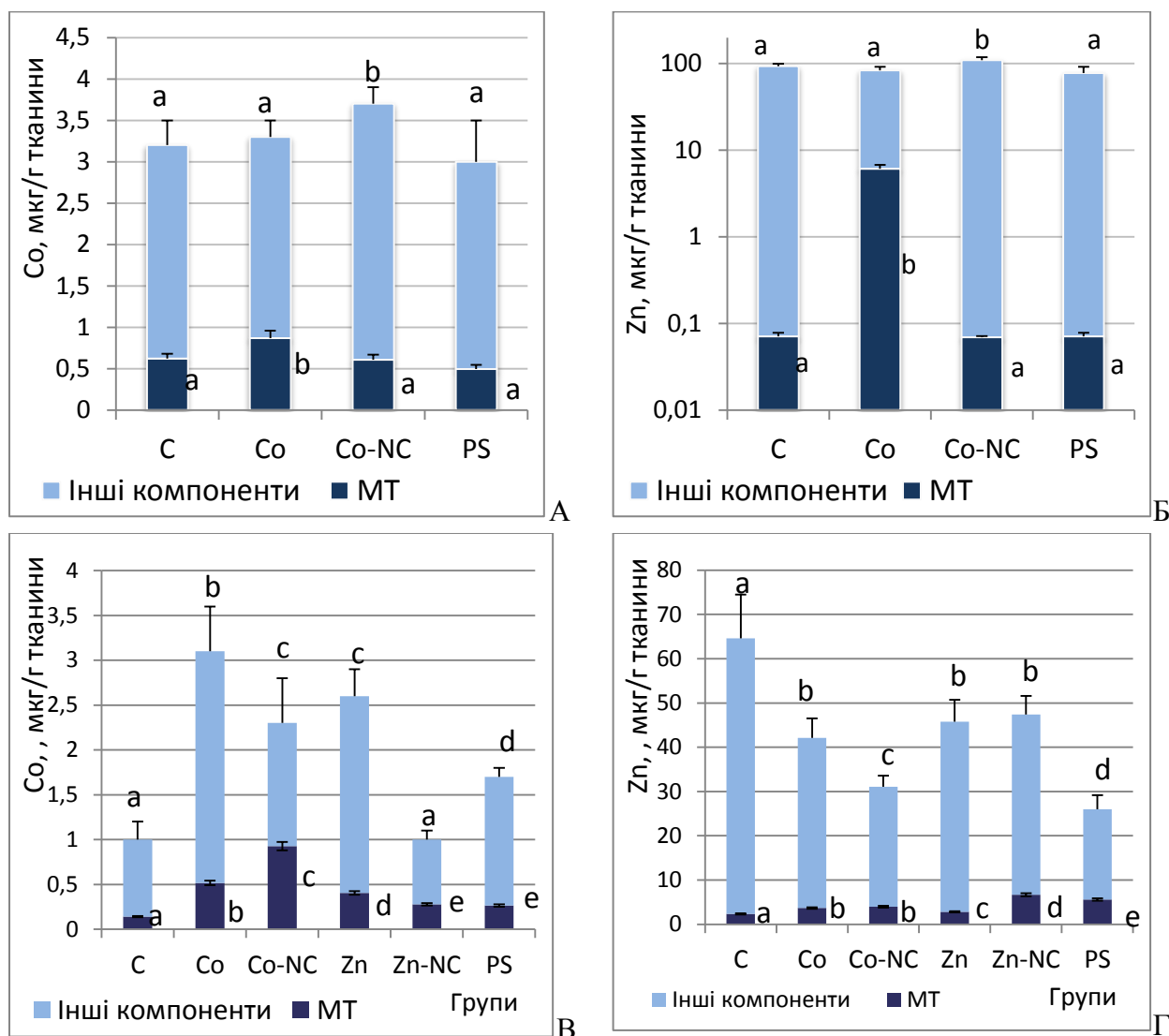


Рис. 3.4.10. Вміст кобальту (А, В) та цинку (Б, Г) у травній залозі двостулкового молюска *Anodonta cygnea* (А, Б) та печінці карася *Carassius sp.* (В, Г) та їх металотіонеїнах за впливу кобальт-та цинк-вмісного нанокompозиту (Co-NC, Zn-NC) та його складових – іонів відповідних металів (Co та Zn) та полімерної субстанції на основі вінілпіролідону (PS). Однаковими літерами позначаються ряди даних, які між собою вірогідно не відрізняються, $p > 0,05$ (за [30, 32]).

Аналіз одержаних результатів також свідчить про принципову відмінність між впливом Co і Zn, як у вільній формі, так і в складі НК. У визначенні цієї відмінності головним критерієм був рівень металотіонеїнів (MT-SH) [3, 32]. Очевидно, кобальт діє як індуктор експресії металотіонеїнів, тоді як есенціальний для цих білків метал цинк, навпаки, пригнічує їхню експресію. Здатність кобальту слугувати індуктором металотіонеїнів описана для хребетних тварин [13]. З іншого боку, пригнічення синтезу металотіонеїнів за дії цинку і Zn-НК не суперечить існуючим уявленням, оскільки відомо [13], що цинк індуктує металотіонеїни за значно вищих його концентрацій, ніж ті, які використовували в даній роботі. Так, якщо у випадку дії іонів кадмію значне збільшення концентрації металотіонеїнів у культурі клітин гепатоми мишей RH-35 досягалось вже за концентрації 0,18 мг/л, то для Zn – лише за концентрації 12 мг/л [105].

Разом з тим, причиною зменшення вмісту імунореактивної форми металотіонеїнів (MTi) (рис. 3.4.9), що спостерігалось у кожній дослідній групі, може бути спонтанна модифікація, полімеризація і втрата металу, що призводить до втрати білком імунологічної активності [8]. Як відомо, нехелатована або апоформа металотіонеїну в клітинах є досить стабільною [92]. Якщо у молюсків головною функцією металотіонеїнів є депонування іонів металів, то у риб металотіонеїни виконують у першу чергу функції стрес-респонсивних білків, які індукуються численними чинниками, зокрема прооксидантів, проте механізм реалізації їх антистресорної дії залишається гіпотетичним [13, 30, 59]. Металотіонеїни діють як потужні протектори від оксидативного стресу і здатні знешкоджувати оксирадикали значно ефективніше за інші білки [59, 67, 80]. При цьому, реакційна здатність SH-груп цистеїну зростає після вивільнення металу з металотіонеїнів, що повинно сприяти їхній участі в антиоксидантному захисті [59, 67]. Показано, що надекспресія металотіонеїнів захищає ендотелій легеневої артерії від впливу прооксидантів, безпосередньо знешкоджуючи пероксид-радикали у незалежний від металу спосіб і запобігаючи пероксидації ліпідів у клітинах [80]. Слід зазначити, що більшість таких досліджень виконано *in vitro*, тоді як наше дослідження показників системи антиоксидантного захисту та металотіонеїнів свідчить, що ця функція реалізується і за умов цілісного організму за дії кобальту та Со-НК, коли надекспресія MT-SH може найбільш ефективно забезпечувати антиоксидантний захист. Як свідчать результати дослідження генотоксичності та показників енергетичного обміну, за дії кобальту і Со-НК зміни цих характеристик є найменшими, що підтверджує успішну реалізацію антиоксидантного потенціалу MT-SH.

Отже саме поєднання визначення MT-SH і MTi дозволило нам запропонувати новий біохімічний механізм для пояснення антагонізму біологічної дії кобальту та цинку на рівні цих стресочутливих протеїнів. Протилежний вплив Со та Zn продемонстрований також під час дослідження їхньої проапоптичної активності [5]. На користь цього антагонізму свідчать і результати багатофакторного аналізу, який показав, що характеристика MT-SH належить до головних ідентифікаторів специфіки груп [3, 32].

Нами не виявлено нейротоксичної дії досліджуваних чинників у вигляді пригнічення холінергетичної активності, що свідчить про відсутність їхнього гостротоксичного впливу [28]. Разом з тим, хоча використані нами концентрації чинників були на декілька порядків нижчими за традиційні для вивчення впливу іонів металів на організм риби [60], за дії усіх досліджуваних чинників було виявлено й деякі спільні для двох видів тварин (риби і двохстулкові молюски) негативні ефекти, а саме активацію анаеробного перетворення клітинних субстратів. Здатність Со викликати гіпоксію і стимулювати експресію залежного від гіпоксії фактора HIF-1 α було продемонстровано і у культурі епітеліальних клітин слинної залози людини [5].

Відтак, реакційна здатність металовмісних наноконструкцій у організмі суттєво залежить не лише від властивостей цих матеріалів, але й від виду тестованого організму, причому специфіка відповіді MT у карася пов'язана із активацією їх антиоксидантного потенціалу за впливу прооксидантних чинників. Карась сріблястий становить зручну і коректну експериментальну модель для оцінки потенційних біоризиків використання Me-НК для людини. Характеристика метал-депонувальної функції у поєднанні з визначенням вмісту білка металотіонеїнів дозволяє вибірково оцінити специфіку впливу різних метал-вмісних чинників на організм

Вплив металокомплексів кобальту та цинку на основі ко-полімеру вінілпіролідону на карася призвів до протилежних результатів – у цього виду спостерігались явні ознаки вивільнення іонів з комплексу та високий рівень подібності відповіді на дію іонів і НК. При

цьому, дія цинку та кобальту викликала протилежний тип відповіді: вплив кобальту і Со-НК викликає збільшення загального вмісту МТ-SH й активацію антиоксидантного захисту, а цинку і Zn-НК – зменшення вмісту МТ-SH і пригнічення антиоксидантного захисту [3, 32]. Проте важливо, що побудова класифікаційного дерева дозволила встановити і у цього виду серед набору молекулярних маркерів стресу та токсичності саме характеристика металотіонеїнів визначила специфіку відповіді організму на дію чинника. Використання методу багатофакторного (групового центроїдного) аналізу дозволило довести ступінь спорідненості між змінами окремих досліджуваних показників за дії різних чинників на підставі утворення спільних кластерів між екземплярами, які піддавалися дії певного металу та відповідного нанокompозита [3, 32].

Дослідження молюска *Scrobicularia plana*, що мешкає у естуаріях, показали, що навіть у екологічно реальній концентрації 3 мг/кг седиментів нано-⁶⁷ZnO акумулюється протягом 16 діб цим видом [14]. Проте, цікаво, що ця акумуляція не призводить до збільшення вмісту металотіонеїнів, тоді як вплив окремо складової цих наночасточок диетиленгліколю викликала збільшення вмісту металотіонеїнів [14]. При цьому, вміст металотіонеїнів виявився єдиним маркером, який зазнав змін за дії етиленгліколю, тоді як вплив наноксиду цинку призвів до помітних змін у антиоксидантному захисті.

Конкуренція за центри зв'язування між есенціальними металами та металом наночастинок може призводити до дисбалансу співвідношення окремих металів, заміщення їх іонів у специфічних центрах зв'язування, порушення розподілу між окремими функціональними формами, тощо [36] дослідили вплив екологічно реальної концентрації (2 мкг/л) наноформи (наноZnO) у порівнянні із цинк хлоридом, а також продуктами хімічної та фізичної обробки стічних вод очисних споруд окремо та у поєднанні із вказаними сполуками цинку на склад металів у організмі прісноводного двостулкового молюска *Elliptio complanata* протягом 21-ї доби. У тканинах зябер, травної залози і гонад визначали вміст Ag, Al, As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, V та Zn (металом), а також вміст металотіонеїнів та рівень пероксидації ліпідів у травній залозі як показники токсичної дії. Результати показали, що наноZnO викликає у травній залозі молюсків зростання загального вмісту цинку, металотіонеїнів та продуктів пероксидації ліпідів. Встановлено відмінності у впливі наноZnO та іонів цинку із найкращою дискримінацією за вмістом Al, As та Mo у травній залозі. Цікаво, що у присутності стічних вод ефект наноZnO на металом наближався до ефекту іонів цинку. Особливо це проявлялось у вмісті Ni, Cu, Se та Zn у травній залозі.

Згідно одержаних нами результатів, вплив металокомплексу Со з лігандом на основі кополімера вінілпіролідону (Со-НК) та його складових на *Anodonta sp.* показало, що всі ці чинники однаково активують холінестеразу [2]. Як відомо, холінестеразу є функціональною мішенню дії карбаматних та органофосфатних сполук, зокрема низки біоцидів і нервово-паралітичних речовин, які вважаються квазі-незворотними інгібіторами ферменту. Інгібіторна дія на холінестеразну активність була також показана і для низки металів, а саме Zn²⁺, Cd²⁺, Hg²⁺, Ni²⁺, Cu²⁺ та Pb²⁺ [27]. З іншого боку, Mg²⁺, Ca²⁺, Mn²⁺, La³⁺, Sc³⁺, V⁵⁺ та Na⁺ виступають активаторами ферменту, оскільки здатні зв'язуватися з його периферичними центрами [27, 28]. У будь-якому разі, на рівні цього показника активності детоксифікаційних систем не проявлялась специфічність дії нанокompозиту на молюска. Разом з тим, Система монооксигеназного окиснення (етоксирезоруфіндеетилазна активність (ЕРОД), [102] була чутливою до впливу полімерної субстанції на основі вінілпіролідону, проте не змінювалась за дії іонів кобальту або кобальт-вмісного наноматеріалу [30].

Висновки. Аналіз результатів досліджень в галузі наноекотоксикології свідчить, що промислові наночастинки становлять реальну загрозу впливу на екосистеми. При цьому

загроза їх потрапляння у повітря може бути обмежена із вдосконаленням виробничих технологій, а небезпека витоку у водойми зростає із прогресуючим використанням наноматеріалів у побуті, медицині та технологіях очистки води. Токсичність наночастинок досліджують традиційно на клітинних моделях та шляхом встановлення гостро токсичних концентрацій. Дослідження специфічної екотоксичності наночастинок забруднювачів у екологічно реальних умовах практично відсутні з низки причин, у першу чергу, в результаті відсутності коректних методів оцінки агрегатного стану та трансформації частинок у системі. Аналіз біологічної дії наноматеріалів, які гіпотетично можуть проявляти екотоксичність, на підставі модельних експериментів свідчить, що результат залежить від виду наночастинок, їх розміру, форми, заряду, концентрації, шляху надходження у організм та виду організму. Доцільним методичним підходом у випадку металовмісних наноматеріалів є порівняння впливу цього матеріалу та його складових. На підставі аналізу застосування традиційного мультимаркерного набору у водних тварин – двостулкового моллюска (*Unionidae*) та риби (*Cyprinidae*) – було доведено, що у випадку метал-вмісних нанорозмірних нанокompatитів саме характеристика вмісту метал-депонувальних протеїнів металотіонеїнів є визначальною у виявленні можливостей вивільняти іони металу із нанокompatиту у певному біоіндикаторному організмі та, відповідно, спричинювати біологічний ефект, характерний для даного виду іонів металу, або ж для нанорозмірних частинок із специфічними властивостями.

Література

1. *Ксенобіотики: накопичення, детоксикація та виведення з живих організмів* / Б.О. Цудзевич, О.Б. Столяр, І.В. Калінін, В.Г. Юкало. – Тернопіль, вид-во ТНТУ ім. І. Пулюя, 2012. – 384 с.
2. *Таран Н.Ю.* Вплив неіонного колоїдного розчину наночастинок біогенних металів на вміст елементів металів у рослинних тканинах / Н.Ю. Таран, Л.М. Бацманова, К.Г. Лопатько, А.О. Мелешко, Є.О. Конотоп // *Фізика живого*. – 2011. – Т. 19. – С. 9–11.
3. *Фальфушинська Г.І.* Оцінка біологічної дії кобальтвмісного нанокompatиту із використанням біохімічних маркерів двостулкового моллюска *Anodonta cygnea* / Г.І. Фальфушинська, Л.Л. Гнатишина, О.Б. Столяр, Н.Є. Мітіна, О.С. Заїченко, Є.З. Філяк, Р.С. Стойка // *Український біохімічний журнал*. – 2011. – Т. 83. – С. 14–21.
4. *Фальфушинська Г.І.* Функції металотіонеїнів та системи антиоксидантного захисту за дії кобальт- та цинк-вмісних нанокompatитів на карася сріблястого *Carassius auratus gibelio* / Г.І. Фальфушинська, Л.Л. Гнатишина, О.О. Турта, О.Б. Столяр, Н.Є. Мітіна, О.С. Заїченко, Р.С. Стойка // *Український біохімічний журнал*. – 2013. – Т. 85. – С. 52–61.
5. *Akita K.* Cobalt chloride induces apoptosis and zinc chloride suppresses cobalt-induced apoptosis by Bcl-2 expression in human submandibular gland HSG cells / K. Akita, H. Okamura, K. Yoshida, H. Morimoto, H. Ogawa-Iyehara, T. Haneji // *International Journal of Oncology*. – 2007. – Vol. 31. – P. 923–929.
6. *Aldana J.* Size-dependent dissociation pH of thiolate ligands from cadmium chalcogenide nanocrystals / J. Aldana, N. Lavelle, Y. Wang, X. Peng // *Journal of the American Chemical Society*. – 2005. – Vol. 127. – P. 2496–2504.
7. *Amiard J.C.* Metallothioneins in aquatic invertebrates: Their use as biomarkers / J.C. Amiard, C. Amiard-Triquet, S. Barka, J. Pellerin, P.S. Rainbow // *Aquatic Toxicology*. – 2006. – Vol. 76. – P. 160–202.

8. Andersen R.A. Preparation of metallothionein from rat liver and studies of its properties with respect to use as a standard in gel permeation chromatography, polyacrylamide gel systems, autoradiography and Western blotting / R.A. Andersen, H.L. Daae // Comparative Biochemistry and Physiology. Part B: Comparative Biochemistry. – 1988. – Vol. 90. – P. 59–67.
9. Baršienė J. Cytogenetic damage in perch (*Perca fluviatilis* L.) and duck mussel (*Anodonta anatina* L.) exposed to crude oil / J. Baršienė, L. Andreikenaite, A. Rybakovas // Ekologija. – 2006. – Vol. 1. – P. 25–31.
10. Baudrimont V. The key role of metallothioneins in the bivalve *Corbicula fluminea* during the depuration phase, after *in situ* exposure to Cd and Zn / V. Baudrimont, S. Andres, G. Durrieu, A. Boudou // Aquatic Toxicology. – 2003. – Vol. 63. – P. 89–102.
11. Baun A. Ecotoxicity of engineered nanoparticles to aquatic invertebrates: a brief review and recommendations for future toxicity testing / A. Baun, N.B. Hartmann, K. Grieger, K.O. Kusk // Ecotoxicology. – 2008. – Vol. 17. – P. 387–395.
12. Binz P.-A. Metallothionein: Molecular evolution and classification / P.-A. Binz, J. H. R. Kagi // Metallothionein IV / [ed. by C.D. Klaassen]. – 1999. – Vol. 4. – P. 7–13.
13. Bracken W.M. Induction of metallothionein in rat primary hepatocyte cultures: evidence for direct and indirect induction / W. M. Bracken, C.D. Klaassen // Journal of Toxicology and Environmental Health. – 1987. – Vol. 22. – P. 163–174.
14. Buffet P.E. Fate of isotopically labeled zinc oxide nanoparticles in sediment and effects on two endobenthic species, the clam *Scrobicularia plana* and the ragworm *Hediste diversicolor* / P.E. Buffet, C. Amiard-Triquet, A. Dybowska, C. Risso-de Faverney, M. Guibolini, E. Valsami-Jones, C. Mouneyrac // Ecotoxicology and Environmental Safety. – 2012. – Vol. 84. – P. 191–198.
15. Busch W. Tungsten carbide cobalt nanoparticles exert hypoxia-like effects on the gene expression level in human keratinocytes / W. Busch, D. Kühnel, K. Schirmer, S. Scholz // BMC Genomics. – 2010. – Vol. 11. – P. 65–86.
16. Canesi L. Bivalve molluscs as a unique target group for nanoparticle toxicity / L. Canesi, C. Ciacci, R. Fabbri, A. Marcomini, G. Pojana, G. Gallo // Marine Environmental Research. – 2012. – Vol. 76. – P. 16–21.
17. Chae Y.J. Evaluation of the toxic impact of silver nanoparticles on Japanese medaka (*Oryzias latipes*) / Y.J. Chae, C.H. Pham, J. Lee, E. Bae, J. Yi, M.B. Gu // Aquatic Toxicology. – 2009. – Vol. 94. – P. 320–327.
18. Choi H.S. Design considerations for tumour-targeted nanoparticles / H.S. Choi, W. Liu, F. Liu, K. Nasr, P. Misra, M.G. Bawendi, J.V. Frangioni // Nature Nanotechnology. – 2010. – Vol. 5. – P. 42–47.
19. Christian P. Nanoparticles: structure, properties, preparation and behavior in environmental media / P. Christian, F. Von der Kammer, M. Baalousha, Th. Hofmann // Ecotoxicology. – 2008. – Vol. 17. – P. 326–343.
20. Cohen M.S. *In vitro* analysis of a nanocrystalline silver-coated surgical mesh / M.S. Cohen, J.M. Stern, A.J. Vanni, R.S. Kelley, E. Baumgart, D. Field, J.A. Libertino, I.C. Summerhayes // Surgical Infections. – 2007. – Vol. 8. – P. 397–403.
21. Connor E.E. Gold nanoparticles are taken up by human cells but do not cause acute cytotoxicity / E.E. Connor, J. Mwamuka, A. Gole, C.J. Murphy, M.D. Wyatt // Small. – 2005. – Vol. 1. – P. 325–327.

22. *Cornejo-Garrido H.* Oxidative stress, cytotoxicity, and cell mortality induced by nano-sized lead in aqueous suspensions / H. Cornejo-Garrido, D. Kibanova, A. Nieto-Camacho, J. Guzmán, T. Ramírez-Apan, P. Fernández-Lomelín, M.L. Garduño, J. Cervini-Silva // *Chemosphere*. – 2011. – Vol. 84. – P. 1329–1335.
23. *De Boeck M.* *In vitro* genotoxic effects of different combinations of cobalt and metallic carbide particles / M. De Boeck, N. Lombaert, S. De Backer, R. Finsy, D. Lison, M. Kirsch-Volders // *Mutagenesis*. – 2003. – Vol. 18. – P. 177–186.
24. *Ding M.* Size-dependent effects of tungsten carbide–cobalt particles on oxygen radical production and activation of cell signaling pathways in murine epidermal cells / M. Ding, E.R. Kisin, J. Zhao, L. Bowman, Y. Lu, B. Jiang, S. Leonard, V. Vallyathan, V. Castranova, A.R. Murray, B. Fadeel, A.A. Shvedova // *Toxicology and Applied Pharmacology*. – 2009. – Vol. 241. – P. 260–268.
25. *Dubertret B.* *In vivo* imaging of quantum dots encapsulated in phospholipid micelles / B. Dubertret, P. Skourides, D.J. Norris, V. Noireaux, A.H. Brivanlou, A. Libchaber // *Science*. – 2002. – Vol. 298. – P. 1759–1762.
26. *Duran N.* Antibacterial effect of silver nanoparticles produced by fungal process on textile fabrics and their effluent treatment / N. Duran, P.D. Marcato, G.I.H. De Souza, O. Alves, E. Esposito // *Journal of Biomedical Nanotechnology*. – 2007. – Vol. 3. – P. 203–208.
27. *Dyadyusha L.* Quenching of CdSe quantum dot emission, a new approach for biosensing / L. Dyadyusha, H. Yin, S. Jaiswal, T. Brown, J.J. Baumberg, F.P. Booy, T. Melvin // *Chemical Communications*. – 2005. – Vol. 25. – P. 3201–3203.
28. *Falfushynska H.* Evaluation of biotargeting and ecotoxicity of Co²⁺-containing nanoscale polymeric complex by applying multi-marker approach in bivalve mollusk *Anodonta cygnea* / H. Falfushynska, L. Gnatyshyna, O. Stoliar, N. Mitina, T. Skorokhoda, Y. Filyak, A. Zaichenko, R. Stoika // *Chemosphere*. – 2012. – Vol. 88. – P. 925–936.
29. *Falfushynska H.* Hepatic metallothioneins in molecular responses to cobalt, zinc, and their nanoscale polymeric composites in frog *Rana ridibunda* / H. Falfushynska, L. Gnatyshyna, O. Fedoruk, N. Mitina, A. Zaichenko, O. Stoliar, R. Stoika // *Comparative Biochemistry and Physiology. Part C: Toxicology & Pharmacology*. – 2015. – Vol. 172-173. – P. 45-56.
30. *Falfushynska H.* Responses of hepatic metallothioneins and apoptotic activity in *Carassius auratus gibelio* witness a release of cobalt and zinc from waterborne nanoscale composites / H. Falfushynska, L. Gnatyshyna, O. Turta, O. Stoliar, N. Mitina, A. Zaichenko, R. Stoika // *Comparative Biochemistry and Physiology. Part C: Toxicology & Pharmacology*. – 2014. – Vol. 160. – P. 66–74.
31. *Falfushynska H.I.* Reactivity of metallothioneins in frog *Rana ridibunda* treated by copper and zinc ions / H.I. Falfushynska, L.D. Romanchuk, O.B. Stoliar // *Ukrainian Biochemical Journal*. – 2010. – Vol. 82. – P. 17–26.
32. *Falfushynska H.I.* Various responses to copper and manganese exposure of *Carassius auratus gibelio* from two populations / H.I. Falfushynska, L.L. Gnatyshyna, O.B. Stoliar, Y.K. Nam // *Comparative Biochemistry and Physiology. Part C: Toxicology & Pharmacology*. – 2011. – Vol. 154. – P. 242–253.
33. *Federici G.* Toxicity of titanium dioxide nanoparticles to rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*): gill injury, oxidative stress, and other physiological effects / G. Federici, B.J. Shaw, R.D. Handy // *Aquatic Toxicology*. – 2007. – Vol. 84. – P. 415–430.
34. *Gagné F.* Aquatic nanotoxicology: a review / F. Gagné, C. Gagnon, C. Blaise // *Research Trends*. – 2008 b. – Vol. 4. – P. 1–14.

35. *Gagne F.* Ecotoxicity of CdTe quantum dots to freshwater mussels: Impacts on immune system, oxidative stress and genotoxicity / F. Gagne, J. Auclair, P. Turcotte, M. Fournier, C. Gagnon, S. Sauvé, C. Blaise // *Aquatic Toxicology*. – 2008 a. – Vol. 86. – P. 333–340.
36. *Gagné F.* The effects of zinc oxide nanoparticles on the metallome in freshwater mussels / F. Gagné, P. Turcotte, J. Auclair, C. Gagnon // *Comparative Biochemistry and Physiology. Part C: Toxicology & Pharmacology*. – 2013. – Vol. 158. – P. 22–28.
37. *Gault N.* Cobalt toxicity: Chemical and radiological combined effects on HaCaT keratinocyte cell line / N. Gault, C. Sandre, J.-L. Ponc, C. Moulin, J.L. Lefaix, C. Bresson // *Toxicology in Vitro*. – 2010. – Vol. 24. – P. 92–98.
38. *Goodman C.M.* DNA-binding by functionalized gold nanoparticles: mechanism and structural requirements / C.M. Goodman, N.S. Chari, G. Han, R. Hong, P. Ghosh, V.M. Rotello // *Chemical Biology and Drug Design*. – 2006. – Vol. 67. – P. 297–304.
39. *Griffitt R.J.* Comparison of molecular and histological changes in zebrafish gills exposed to metallic nanoparticles / R.J. Griffitt, K. Hyndman, N.D. Denslow, D.S. Barber // *Toxicology Sciences*. – 2009. – Vol. 107. – P. 404–415.
40. *Handy R.D.* The ecotoxicology and chemistry of manufactured nanoparticles / R.D. Handy, F. von der Kammer, J.R. Lead, M. Hassellöv, R. Owen, M. Crane // *Ecotoxicology*. – 2008. – Vol. 17. – P. 287–314.
41. *Handy R.D.* The ecotoxicology of nanoparticles and nanomaterials: current status, knowledge gaps, challenges, and future needs / R.D. Handy, R. Owen, E. Valsami-Jones // *Ecotoxicology*. – 2008. – Vol. 17. – P. 315–325.
42. *Hardman R.A.* A toxicologic review of quantum dots: toxicity depends on physicochemical and environmental factors / R.A. Hardman // *Environmental Health Perspectives*. – 2006. – Vol. 114. – P. 165–172.
43. *Hendry L.B.* Small molecule intercalation with double stranded DNA: implications for normal gene regulation and for predicting the biological efficacy and genotoxicity of drugs and other chemicals / L.B. Hendry, V.B. Mahesh, E.D. Jr. Bransome, D.E. Ewing // *Mutation Research*. – 2007. – Vol. 623. – P. 53–71.
44. *Hoshino A.* Physicochemical properties and cellular toxicity of nanocrystal quantum dots depend on their surface modification / A. Hoshino, K. Fujioka, T. Oku, M. Suga, Y.F. Sasaki, T. Ohta, M. Yasuhara, K. Suzuki, K. Yamamoto // *Nano Letters*. – 2004. – Vol. 4. – P. 2163–2169.
45. *Hund-Rinke K.* Ecotoxic effect of photocatalytic active nanoparticles TiO₂ on algae and daphnids / K. Hund-Rinke, M. Simon // *Environmental Science and Pollution Research International*. – 2006. – Vol. 13. – P. 225–232.
46. *Hussain S.* Carbon black and titanium dioxide nanoparticles elicit distinct apoptotic pathways in bronchial epithelial cells / S. Hussain, L.C. Thomassen, I. Ferecatu, M.-C. Borot, K. Andreau, J.A. Martens, J. Fleury, A. Baeza-Squiban, F. Marano, S. Boland // *Particle and Fibre Toxicology*. – 2010. – Vol. 7. – P. 1–17.
47. *Jang H.* Photoluminescence quenching of silicon nanoparticles in phospholipid vesicle bilayers / H. Jang, L.E. Pell, B.A. Korgel, D.S. English // *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. – 2003. – Vol. 158. – P. 111–117.
48. *Jia H.Y.* Potential oxidative stress of gold nanoparticles by induced-NO releasing in serum / H.Y. Jia, Y. Liu, X.J. Zhang, L. Han, L.B. Du, Q. Tian, Y.C. Xu // *Journal of the American Chemical Society*. – 2009. – Vol. 131. – P. 40–41.

49. *Jin K.S.* Effect of C(60) fullerene on the duplex formation of i-motif DNA with complementary DNA in solution / K.S. Jin, S.R. Shin, B. Ahn, S. Jin, Y. Rho, H. Kim, S.J. Kim, M. Ree // *The Journal of Physical Chemistry B (ACS Publications)*. – 2010. – Vol. 114. – P. 4783–4788.
50. *Johnston H.J.* A review of the in vivo and in vitro toxicity of silver and gold particulates: Particle attributes and biological mechanisms responsible for the observed toxicity / H.J. Johnston, G. Hutchison, F.M. Christensen, S. Petersd, S. Hankind, V. Stonea // *Critical Reviews in Toxicology*. – 2010. – Vol. 40. – P. 328–346.
51. *Kahru A.* From ecotoxicology to nanoecotoxicology / A. Kahru // *Toxicology*. – 2010. – Vol. 269. – P. 105–119.
52. *Kang Y.J.* Metallothionein redox cycle and function / Y.J. Kang // *Experimental Biology and Medicine*. – 2006. – Vol. 231. – P. 1459–1467.
53. *Kelly E.* Peptide folding, metal-binding mechanisms, and bindingsitestructures in metallothioneins / E. Kelly, R. Duncan, T.T. Ngu, M.T. Salgado, M.E. Merrifield, M.J. Stillman // *Experimental Biology and Medicine*. – 2006. – Vol. 231. – P. 1488–1499.
54. *Kim K.T.* Oxidative stress responses of *Daphnia magna* exposed to TiO₂ nanoparticles according to size fraction / K.T. Kim, S.J. Klaine, J. Cho, S.H. Kim, S.D. Kim // *Science of the Total Environment*. – 2010. – Vol. 408. – P. 2268–2272.
55. *Kim S.* Oxidative stress-dependent toxicity of silver nanoparticles in human hepatoma cells / S. Kim, J.E. Choi, J. Choi, K.H. Chung, K. Park, J. Yi, D.Y. Ryu // *Toxicology In Vitro*. – 2009. – Vol. 23. – P. 1076–1084.
56. *King-Heiden T.C.* Quantum dot nanotoxicity assessment using the zebrafish embryo / T.C. King-Heiden, P.N. Wicinski, A.N. Mangham, K.M. Metz, D. Nesbit, J.A. Pedersen, R.J. Hamers, W. Heideman, R.E. Peterson // *Environmental Science & Technology*. – 2009. – Vol. 43. – P. 1605–1611.
57. *Klaine S.J.* Nanomaterials in the environment: Behavior, fate, bioavailability, and effects / S.J. Klaine, P.J.J. Alvarez, G.E. Batley, T.F. Fernandes, R.D. Handy, D.Y. Lyon, S. Mahendra, M.J. McLaughlin, J.R. Lead // *Environmental Toxicology and Chemistry*. – 2008. – Vol. 27. – P. 1825–1851.
58. *Kloepfer J.A.* Uptake of CdSe and CdSe/ZnS quantum dots into bacteria via purine-dependent mechanisms / J.A. Kloepfer, R.E. Mielke, J.L. Nadeau // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2005. – Vol. 71. – P. 2548–2557.
59. *Krezel A.* Different redox states of metallothionein/thionein in biological tissue / A. Krezel, W. Maret // *Biochemical Journal*. – 2007. – Vol. 402. – P. 551–558.
60. *Kubrak O.I.* Cobalt-induced oxidative stress in brain, liver and kidney of goldfish *Carassius auratus* / O.I. Kubrak, V.V. Husak, B.M. Rovenko, J.M. Storey, K.B. Storey, V.I. Lushchak // *Chemosphere*. – 2011. – Vol. 85. – P. 983–989.
61. *Li H.* Effects of waterborne nano-iron on medaka (*Oryzias latipes*): Antioxidant enzymatic activity, lipid peroxidation and histopathology / H. Li, Q. Zhou, Y. Wu, J. Fu, T Wang, G. Jiang // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2009. – Vol. 72. – P. 684–692.
62. *Livingstone D.R.* The fate of organic xenobiotics in aquatic ecosystems: quantitative and qualitative differences in biotransformation by invertebrates and fish / D.R. Livingstone // *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A: Molecular & Integrative Physiology*. – 1998. – Vol. 120. – P. 43–49.

63. *Lowry G.V.* Transformations of nanomaterials in the environment / G.V. Lowry, K.B. Gregory, S.C. Apte, J.R. Lead // *Environmental Science & Technology*. – 2012. – Vol. 46. – P. 6893–6899.
64. *Lushchak V.I.* Adaptive response to oxidative stress: Bacteria, fungi, plants and animals / V.I. Lushchak // *Comparative Biochemistry and Physiology. Part C: Toxicology & Pharmacology*. – 2011. – Vol. 153. – P. 175–190.
65. *Luther E.M.* Upregulation of metallothioneins after exposure of cultured primary astrocytes to silver nanoparticles / E.M. Luther, M.M. Schmidt, J. Diendorf, M. Epple, R. Dringen // *Neurochemical Research*. – 2012. – Vol. 37. – P. 1639–1648.
66. *Machado J.* Calcification mechanism in freshwater mussels: potential targets for cadmium / J. Machado, M. Lopes-Lima // *Toxicological and Environmental Chemistry*. – 2011. – Vol. 93. – P. 1778–1787.
67. *Maret W.* Molecular aspects of human cellular zinc homeostasis: redox control of zinc potentials and zinc signals / W. Maret // *Biometals*. – 2009. – Vol. 22, № 1. – P. 149–157.
68. *Medintz I.L.* Quantum dot bioconjugates for imaging, labeling and sensing / I.L. Medintz, H.T. Uyeda, E.R. Goldman, H. Mattoussi // *Nature Materials*. – 2005. – Vol. 4. – P. 435–446.
69. *Moore M.N.* Do nanoparticles present ecotoxicological risks for the health of the aquatic environment? / M.N. Moore // *Environment International*. – 2006. – Vol. 32. – P. 967–976.
70. *Muller N.C.* Exposure modeling of engineered nanoparticles in the environment / N.C. Muller, B. Nowack // *Environmental Science & Technology*. – 2008. – Vol. 42. – P. 4447–4453.
71. *Navarro E.* Environmental behavior and ecotoxicity of engineered nanoparticles to algae, plants, and fungi / E. Navarro, A. Baun, R. Behra, N.B. Hartmann, J. Filser, A.J. Miao, A. Quigg, P.H. Santschi, L. Sigg // *Ecotoxicology*. – 2008. – Vol. 17. – P. 372–386.
72. *Oberdörster G.* Correlation between particle-size, in vivo particle persistence, and lung injury / G. Oberdörster, J. Ferin, B.E. Lehnert // *Environmental Health Perspectives*. – 1994. – Vol. 102. – P. 173–179.
73. *Oberdörster G.* Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles / G. Oberdörster, E. Oberdörster, J. Oberdörster // *Environmental Health Perspectives*. – 2005. – Vol. 113. – P. 823–839.
74. *Pan J.F.* Size dependent bioaccumulation and ecotoxicity of gold nanoparticles in an endobenthic invertebrate: the Tellinid clam *Scrobicularia plana* / J.F. Pan, P.E. Buffet, L. Poirier, C. Amiard-Triquet, D. Gilliland, Y. Joubert, P. Pilet, M. Guibbolini, C. Risso de Faverney, M. Roméo, E. Valsami-Jones, C. Mouneyrac // *Environmental Pollution*. – 2012. – Vol. 168. – P. 37–43.
75. *Pan Y.* Gold nanoparticles of diameter 1.4 nm trigger necrosis by oxidative stress and mitochondrial damage / Y. Pan, A. Leifert, D. Ruau, C.J. Murphy, M.D. Wyatt // *Small*. – 2009. – Vol. 5. – P. 2067–2076.
76. *Pan Y.* Size-dependent cytotoxicity of gold nanoparticles / Y. Pan, S. Neuss, A. Leifert, M. Fischler, F. Wen, U. Simon, G. Schmid, W. Brandau, W. Jahnen-Dechent // *Small*. – 2007. – Vol. 3. – P. 1941–1949.
77. *Papavlassopoulos H.* Toxicity of functional nano-micro zinc oxide tetrapods: impact of cell culture conditions, cellular age and material properties / H. Papavlassopoulos, Y.K. Mishra, S. Kaps, I. Paulowicz, R. Abdelaziz, M. Elbahri, E. Maser, R. Adelung, C. Röhl // *PLoS ONE*. – 2014. – Vol. 9. – P. e0084983.

78. Patlolla A. Evaluation of cell viability, DNA damage, and cell death in normal human dermal fibroblast cells induced by functionalized multiwalled carbon nanotube / A. Patlolla, B. Patlolla, P. Tchounwou // *Molecular and Cellular Biochemistry*. – 2010. – Vol. 338. – P. 225–232.
79. Peyrot C. Effects of cadmium telluride quantum dots on cadmium bioaccumulation and metallothionein production to the freshwater mussel, *Elliptio complanata* / C. Peyrot, C. Gagnon, F. Gagné, K.J. Wilkinson, P. Turcotte, S. Sauvé // *Comparative Biochemistry and Physiology. Part C: Toxicology & Pharmacology*. – 2009. – Vol. 150. – P. 246–251.
80. Pitt B.R. Overexpression of metallothionein decreases sensitivity of pulmonary endothelial cells to oxidant injury / B.R. Pitt, M. Schwarz, E.S. Woo, E. Yee, K. Wasserloos, S. Tran, W. Weng, R.J. Mannix, S.A. Watkins, Y.Y. Tyurina, V.A. Tyurin, V.E. Kagan, J.S. Lazo // *American Journal of Physiology*. – 1997. – Vol. 273. – P. 856–865.
81. Project on Emerging Nanotechnologies. An inventory of nanotechnology-based consumer products introduced on the market [Electronic resources]. – Access mode : <http://www.nanotechproject.org/inventories/consumer/>
82. Prylutska S. Water-soluble pristine fullerenes C60 increase the specific conductivity and capacity of lipid model membrane and form the channels in cellular plasma membrane / S. Prylutska, R. Bilyy, M. Overchuk, A. Bychko, K. Andreichenko, R. Stoika, V. Rybalchenko, Y. Prylutsky, N.G. Tsierkezos, U. Ritter // *Journal of Biomedical Nanotechnology*. – 2012. – Vol. 8. – P. 522–527.
83. Rejeski D. Nanotechnology field observations: scouting the new industrial west / D. Rejeski, D. Lekas // *Journal of Cleaner Production*. – 2008. – Vol. 16. – P. 1014–1017.
84. Renault S. Impacts of gold nanoparticle exposure on two freshwater species: a phytoplanktonic alga (*Scenedesmus subspicatus*) and a benthic bivalve (*Corbicula fluminea*) / S. Renault, M. Baudrimont, N. Mesmer-Dudons, P. Gonzalez, S. Mornet, A. Brisson // *Gold Bull.* – 2008. – Vol. 41. – P. 116–126.
85. Sapsford K.E. Biosensing with luminescent semiconductor quantum dots / K.E. Sapsford, T. Pons, I.L. Medintz, H. Mattoussi // *Sensors*. – 2006. – Vol. 6. – P. 925–953.
86. Scarano G. Properties of phytochelatin-coated CdS nanocrystallites formed in a marine phytoplanktonic alga (*Phaeodactylum tricorutum*, Bohlin) in response to Cd / G. Scarano, E. Morelli // *Plant Science*. – 2003. – Vol. 165. – P. 803–810.
87. Scherlinger M. Nanoecotoxicology: Environmental risks of nanomaterials / M. Scherlinger // *Nature Nanotechnology*. – 2008. – Vol. 3. – P. 322.
88. Schilling K. Human safety review of “nano” titanium dioxide and zinc oxide / K. Schilling, B. Bradford, D. Castelli, E. Dufour, J.F. Nash, W. Pape, S. Schulte, I. Tooley, J. van den Bosch, F. Schellauf // *Photochemical and Photobiological Sciences*. – 2010. – Vol. 9. – P. 495–509.
89. Shaw B.J. Physiological effects of nanoparticles on fish: A comparison of nanometals versus metal ions / B.J. Shaw, R.D. Handy // *Environment International*. – 2011. – Vol. 37. – P. 1083–1097.
90. Smith C.J. Toxicity of single walled carbon nanotubes on rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*): respiratory toxicity, organ pathologies, and other physiological effects / C.J. Smith, B.J. Shaw, R.D. Handy // *Aquatic Toxicology*. – 2007. – Vol. 82. – P. 94–109.
91. Stoliar O.B. Metallothionein of aquatic animals as a biomarker: Coverage of vulnerability / O.B. Stoliar, H.I. Falfushynska // *Global Journal of Environmental Science and Technology*. – 2012. – Vol. 2:5. – P. 115.

92. Sutherland D.E. Noncooperative metalation of metallothionein 1a and its isolated domains / D.E. Sutherland, K.L. Summers, M.J. Stillman // *Biochemistry*. – 2012. – Vol. 51. – P. 6690–6700.
93. Talapin D.V. Synthesis of surface-modified colloidal semiconductor nanocrystals and study of photo induced charge separation and transport in nanocrystal-polymer composites / D.V. Talapin, S.K. Poznyak, N.P. Gaponik, A.L. Rogach, A. Eychmüller // *Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures*. – 2002. – Vol. 14. – P. 237–241.
94. Tan C.B. Protective effects of salidroside on endothelial cell apoptosis induced by cobalt chloride / C.B. Tan, M. Gao, W.R. Xu, X.Y. Yang, X.M. Zhu, G.H. Du // *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. – 2009. – Vol. 32. – P. 1359–1363.
95. Tedesco S. Exposure of the blue mussel, *Mytilus edulis*, to gold nanoparticle and the pro-oxidant menadione / S. Tedesco, H. Doyle, J. Blasco, G. Redmond, D. Sheehan // *Comparative Biochemistry and Physiology. Part C: Toxicology & Pharmacology*. – 2010 b. – Vol. 151. – P. 167–174.
96. Tedesco S. Gold nanoparticles and oxidative stress in *Mytilus edulis* / S. Tedesco, H. Doyle, G. Redmond, D. Sheehan // *Marine Environmental Research*. – 2008. – Vol. 66. – P. 131–133.
97. Tedesco S. Oxidative stress and toxicity of gold nanoparticles in *Mytilus edulis* / S. Tedesco, H. Doyle, J. Blasco, G. Redmond, D. Sheehan // *Aquatic Toxicology*. – 2010 a. – Vol. 100. – P. 178–186.
98. Tinkle S.S. Editorial Nanotechnology: collaborative opportunities for ecotoxicology and environmental health / S.S. Tinkle // *Environmental Toxicology and Chemistry*. – 2008. – Vol. 27. – P. 1823–1824.
99. Tratnyek P.G. Nanotechnologies for environmental cleanup / P.G. Tratnyek, R.L. Johnson // *Nano Today*. – 2006. – Vol. 1. – P. 44–48.
100. Tsao N. Inhibition of Escherichia coli-induced meningitis by carboxyfullerene / N. Tsao, P.P. Kanakamma, T.Y. Luh, C.-K. Chou, H.-Y. Lei // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 1999. – Vol. 43. – P. 2273–2277.
101. Valko M. Metals, toxicity and oxidative stress / M. Valko, H. Morris, M.T. Cronin // *Current Medicinal Chemistry*. – 2005. – Vol. 12. – P. 1161–1208.
102. Viarengo A. The use of biomarkers in biomonitoring: a 2-tier approach assessing the level of pollutant-induced stress syndrome in sentinel organisms / A. Viarengo, D. Lowe, C. Bolognesi, E. Fabbri, A. Koehler // *Comparative Biochemistry and Physiology. Part C: Toxicology & Pharmacology*. – 2007. – Vol. 146. – P. 281–300.
103. Xie H. Genotoxicity of metal nanoparticles / H. Xie, M.M. Mason, J.P. Sr. Wise // *Reviews on Environmental Health*. – 2011. – Vol. 26. – P. 251–268.
104. Xu X.H. Real-time probing of membrane transport in living microbial cells using single nanoparticle optics and living cell imaging / X.H. Xu, W.J. Brownlow, S.V. Kyriacou, Q. Wan, J.J. Viola // *Biochemistry*. – 2004. – Vol. 43. – P. 10400–10413.
105. Yang J. Determination of metallothionein content in hepatoma cells by differential pulse polarography / J. Yang, Y. Cao, M.S. Yang // *Chemico-Biological Interactions*. – 1998. – Vol. 114. – P. 109–116.
106. Zhao X. C60 binds to and deforms nucleotides / X. Zhao, A. Striolo, P.T. Cummings // *Biophysical Journal*. – 2005. – Vol. 89. – P. 3856–3862.

Резюме. У главі проаналізовано інформацію про наноекотоксичність промислових наноматеріалів. Подано перелік найбільш ймовірних серед наноматеріалів забруднювачів довкілля, шляхи їх потрапляння у довкілля та у організм. Обговорюється коректність методів оцінки екотоксичності наноматеріалоці та на прикладі власного досвіду дослідження механізмів впливу металовмісних нанорозмірних поліелектролітів для водних тварин доводиться коректність методичного підходу, що ґрунтується на порівнянні впливу наноматеріалу та його складових на метал-депонувальні протеїни металотіонеїни.

Список скорочень (за алфавітом)

Україномовні

АФН - активні форми нітрогену
АФО - активні форми кисню
ГЕМА – гідроксиетилметакрилат
ДМАЕМ – диметиламіноетилметакрилат
ЕДТА - етилендіамінтетраоцтова кислота
ЕРОД - етоксирезорифіндеетилаза
Л(Е)К50 - 50-процентна летальна концентрація речовини
Ме-НК – метал-вмісний наноккомпозит
MT-SH – металотіонеїни, визначені за кількістю SH-груп
MTi - імунореактивна форма металотіонеїнів
MT-Ме - металотіонеїни, визначені за вмістом металів
n-ZnO - наноформа цинк оксиду
НК - наноккомпозит
n-TiO₂ - наноформа титан діоксиду
ПЕГ – поліетиленгліколь
ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів
ПС (PS) - полімерна субстанція на основі вінілпіролідону
УФ-фільтри – ультрафіолетові фільтри
ЦТАБ - цетилтриметил амоній бромід

Англомовні

BEAS-2B - клітини епітелію бронхів людини
BSA - бичачий сироватковий альбумін
C60[OH]_x – фулерол
CYP 1A - цитохром P450, родина 1, субродина A
Co-НК - кобальт-вмісний наноккомпозит
Co-НК - металокомплекс Co з лігандом на основі кополімера вінілпіролідону
ENPs - індустриальні наночастинки
EC 50 - ефективна концентрація речовини
GSH – відновлений глутатіон
GST – глутатіон-S-трансфераза
HaCaT – лінія клітин кератиноцитів людини
HIF1a – фактор1-альфа, індукований гіпоксією
HSP 70 – протеїни теплового шоку 70 кілодальтон
MUA - меркаптоундецилова кислота
NBП - N-полівінілпіролідон
p53 – пухлинний протеїн
PVP – полівінілпіролідон
QDs - quantum dots
SS - сонцезахисні креми
VNP – вінілпіролідон
WC - наноформа вольфрам карбїду
WC-Co - наноформа вольфрам карбїду та металічного кобальту
ZnO-T - нано-мікротетраподи ZnO
Zn-НК – цинк-вмісний наноккомпозит