

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco100156>

# Наночастицы и наноматериалы — неизбежные современные токсичные агенты. Обзор.

## Часть 2. Основные направления исследований токсичности и методы измерения содержания наночастиц в биологической ткани

А.Л. Ивлиева<sup>1</sup>, И. Зиньковская<sup>2</sup>, Е.Н. Петрицкая<sup>1</sup>, Д.А. Рогаткин<sup>1</sup><sup>1</sup> Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, Москва, Российская Федерация<sup>2</sup> Объединённый институт ядерных исследований, Дубна, Российская Федерация

### АННОТАЦИЯ

Во второй части обзора рассматриваются три основных направления исследований токсичности наночастиц (НЧ): токсичность НЧ, содержащихся в окружающей среде; молекулярные механизмы токсичности; репродуктивная токсичность. Описаны исследования, проведённые на водных и почвенных модельных организмах, с рассмотрением эффектов НЧ в близких к природным концентрациям и в водах с разной солёностью, а также в сравнении с влиянием ионов. Перечислены работы, посвящённые различным аспектам вызываемого НЧ окислительного стресса, приведена оценка генотоксичности и мутагенности НЧ разными стандартными методами, рассмотрены известные на сегодняшний день сведения об образовании белковых корон вокруг НЧ. Подняты вопросы о дозозависимости эффектов и о влиянии применённого стабилизирующего покрытия. Рассмотрено влияние НЧ на пренатальное и постнатальное развитие различных модельных видов позвоночных, включая морфологические нарушения, изменения экспрессии генов и поведение выросших особей, а также на репродуктивную систему у взрослых самок и самцов. Рассмотрены также основные методы количественного определения содержания НЧ в биологических образцах как неотъемлемый этап исследований по токсичности НЧ для человека и животных.

**Ключевые слова:** наночастицы; токсичность; производство наночастиц; мозг; поведение животных; развитие мозга.

### Как цитировать:

Ивлиева А.Л., Зиньковская И., Петрицкая Е.Н., Рогаткин Д.А. Наночастицы и наноматериалы — неизбежные современные токсичные агенты. Обзор. Часть 2. Основные направления исследований токсичности и методы измерения содержания наночастиц в биологической ткани // Экология человека. 2022. Т. 29, № 3. С. 5–20. DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco100156>

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco100156>

# Nanoparticles and nanomaterials as inevitable modern toxic agents. Review. Part 2. Main areas of research on toxicity and techniques to measure a content of nanoparticles in tissues

Alexandra L. Ivlieva<sup>1</sup>, Inga Zinicovscaia<sup>2</sup>, Elena N. Petritskaya<sup>1</sup>, Dmitriy A. Rogatkin<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Moscow regional research and clinical institute named after M.F. Vladimirovsky, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup> Joint institute for nuclear research, Dubna, Russian Federation

## ABSTRACT

The second part of the review considers the following three main areas of research on the toxicity of nanoparticles (NPs): environmental toxicity, molecular mechanisms of toxicity, and reproductive toxicity. The studies carried out on aquatic and soil model organisms are described, with consideration of the effects of NPs in concentrations close to natural in water with different salinity, as well as in comparison with the effects of ions. The articles devoted to various aspects of NP-induced oxidative stress are listed, the estimations of genotoxicity and mutagenicity of NPs using different standard methods are described, and the currently known data on the formation of protein crowns around NPs are considered. Questions are stated about the dose-dependence of effects and the influence of the applied stabilizing coating. The influence of NPs on the prenatal and postnatal development of various model vertebrate species is considered, which includes morphological disturbances, changes in gene expression and in the behavior of grown animals, as well as the influence on the reproductive system in adult females and males. The main methods for the quantitative measurements of the content of NPs in biological samples are also considered as the necessary stage of research on the toxicity of NPs for humans and animals.

**Keywords:** nanoparticles; toxicity; production of nanoparticles; brain; animal behavior; brain development.

## To cite this article:

Ivlieva AL, Zinicovscaia I, Petritskaya EN, Rogatkin DA. Nanoparticles and nanomaterials as inevitable modern toxic agents. Review. Part 2. Main areas of research on toxicity and techniques to measure a content of nanoparticles in tissues. *Ekologiya cheloveka (Human Ecology)*. 2022;29(3):5–20.

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco100156>

Received: 03.02.2022

Accepted: 24.02.2022

Published: 10.06.2022

### 3. ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ ТОКСИЧНОСТИ НАНОЧАСТИЦ

#### 3.2. Токсичность наночастиц, содержащихся в окружающей среде

Из-за широты применения наночастиц (НЧ) в промышленности, в быту и в медицине они неизбежно попадают в воду, воздух, почву, а через среду — в живые организмы, от бактерий до человека. В связи с этим динамично изучается проблема токсичности НЧ, содержащихся в окружающей среде (*environmental toxicity*). Значительную часть исследований проводят на распространённых модельных организмах (крысы, мыши, данио-рерио *Danio rerio*, дафния *Daphnia* sp., почвенная нематода *Caenorhabditis elegans*), а также на разных видах небольших рыб, фито- и зоопланктоне [1].

В частности, пресноводный рачок дафния *Daphnia* sp. (чаще используют вид *Daphnia magna*) является признанным организмом-индикатором токсичности воды. Существуют стандартизованные процедуры по оценке токсичности веществ из окружающей среды на дафниях [2]. С их помощью в ряде работ было выявлено, что после острого контакта (двое суток) с коллоидным раствором НЧ серебра (без покрытия) в стандартной среде для содержания дафний (Elendt M4 medium) поведение рачков становилось абнормальным [3, 4]. Были нарушены вертикальные и горизонтальные миграции, многие рачки плавали бессистемно. НЧ накапливались у рачков в пищеварительном тракте и на карапаксе. Смертность возрастала с увеличением содержания НЧ в среде. Было отмечено, что токсичность при применении растворов, приготовленных путём смешивания порошка НЧ с водой для дафний, была ниже, чем при использовании разведённых готовых коллоидных растворов НЧ [3]. При отсутствии нарушений плавания дафнии, контактировавшие с НЧ серебра (цитрат в качестве покрытия), не реагировали на присутствие хищника [4]. Выживаемость рачков значительно падала в присутствии хищника независимо от наличия НЧ в среде. Однако средний уровень репродукции у контактировавших с НЧ дафний возрос: на треть при отсутствии хищника и почти вдвое — при его наличии.

Изучалось влияние содержания солей в воде водоема на токсические эффекты НЧ серебра без покрытия и дозозависимость эффекта [5]. Молодые радужные форели *Oncorhynchus mykiss* провели в среде с НЧ серебра 14 дней при различной солёности воды: низкой (0,4 ppt), средней ( $6 \pm 0,3$  ppt) или высокой ( $12 \pm 0,2$  ppt). Содержание НЧ серебра составляло 0,032; 0,1; 0,32 и 1,0 ppt при низкой солёности. При средней и высокой солёности воды содержание НЧ серебра составляло 3,2; 10; 32 и 100 ppt. Агломерации и осаждения НЧ не наблюдалось при низкой солёности воды, но обнаруживалось при средней

и высокой солёности. При всех уровнях солёности накопление серебра в органах и тканях было дозозависимым. Больше всего серебра накопилось в печени, а также в почках, жабрах; меньше всего — в белых мышечных волокнах. Отношение массы печени к массе тела возрастало с увеличением концентрации НЧ.

Влияние солёности среды обитания, а также сравнительные эффекты влияния НЧ серебра, его стабилизирующего покрытия и ионов серебра ( $\text{Ag}^+$ ) подробно описаны в ряде работ [6, 7]. Обитатели эстуариев, устрицы *Scrobicularia plana*, провели некоторое время в растворах НЧ серебра с концентрацией 10 мкг/л, его стабилизирующего покрытия и соединения сорбитана монолаурата с полиоксидиленом, или в содержащем серебро в виде ионов растворе при двух различных концентрациях солей в воде [6]. Содержание серебра, как НЧ, так и иона, в пищеварительной железе экспериментальных устриц было выше, чем в контрольной группе и в группе с раствором покрытия, но выше при меньшей солёности. В клетках экспериментальных моллюсков серебро накапливалось преимущественно в цитозоле, в то время как в остальных двух группах — в нерастворимой фракции. Во всех группах, кроме контрольной, были выявлены признаки окислительного стресса, т.е. пониженное содержание антиоксидантов и окисление липидов. Наиболее выражены эти признаки были при более низкой солёности (развился апоптоз), а также у моллюсков, экспонированных НЧ серебра, что связано с повышенным накоплением серебра при низкой солёности. Во всех группах, кроме контрольной, проявились нарушения поведения при обоих уровнях солёности: например, устрицы реже зарывались в грунт.

В некоторых работах изучалась сравнительная токсичность НЧ серебра со стабилизирующим покрытием и  $\text{Ag}^+$  [8]. Взрослых самок небольшой рыбы, чёрного толстоголова *Pimephales promelas*, подвергали экспозиции НЧ (покрытие — поливинилпирролидон (PVP), 61,4 мкг/л) или  $\text{Ag}^+$  (4,8 мкг/л) в течение трёх суток. Транскриптомный анализ показал, что обе формы серебра повлияли на биохимические пути, связанные с гомеостазом ионов натрия, калия и водорода, а также с окислительным стрессом. Обе формы серебра затронули несколько путей, ведущих к неврологическим нарушениям, а среди подверженных влиянию рецепторов и лигандов были обнаружены рецептор эстрогена GPER, рецептор серотонина HTR2A, рецептор уротензина 2 UTS2R, дофамин, трийодтирозин, бета-эстрадиол, норэпинефрин и прогестерон. В печени биохимические пути, затронутые влиянием серебра, тоже были сходны в группах с НЧ и с  $\text{Ag}^+$ . Однако высказано предположение, что токсические эффекты в печени были обусловлены главным образом влиянием  $\text{Ag}^+$ . Наночастицы и  $\text{Ag}^+$  разным образом оказывали и нейротоксические эффекты. В мозге воздействие НЧ серебра было более выражено, чем действие ионов  $\text{Ag}^+$ .

Для НЧ других материалов также получено много данных об их токсичности. Например, молодых нематод

дикого типа и мутантных по генам белков, связанных с окислительным стрессом и клеточным ответом на него, подвергали острому контакту с НЧ диоксида титана ( $TiO_2$ ). Размер частиц соли титана составлял порядка 10 нм в концентрации 20 мкг/л (близкой к оценочному содержанию  $TiO_2$  в водах — 16–24 мкг/л) или 25 мг/л (близкой к содержанию наночастиц  $TiO_2$  в жевательной резинке — 10–25 мг/л). Все мутантные черви демонстрировали сходную с диким типом выживаемость и нормальное развитие. Размер выводка и локомоция у мутантов также не отличались от таковой у дикого типа. Так, даже при уменьшении размера выводка у червей дикого типа при высокой концентрации НЧ у большинства мутантов произошли сходные изменения. Окислительный стресс не развивался при малой концентрации НЧ, однако при большом содержании НЧ у четырёх мутантов он всё же был значимо выражен [9].

### 3.3. Молекулярные механизмы токсичности наночастиц

Самое многогранное направление исследований — изучение молекулярных и биохимических механизмов цитотоксичности НЧ, в т.ч. генотоксичности [10, 11]. Большинство работ проводят на образцах тканей экспериментальных животных. Однако расширяется применение клеточных культур человека, мышей, данио-рерио и др. К примеру, N. Yin с соавт. [12] с помощью клеточных культур смогли системно рассмотреть влияние НЧ серебра (размер — 34 нм, покрытие — цитрат) и  $Ag^+$  на развитие культивируемых эмбриональных стволовых клеток мыши по нейрональному пути. Сначала в среду к клеткам, содержащую ингибитор дифференциации, добавляли от 0,001 до 1 мкг/мл коллоидного раствора НЧ, раствора цитрата или нитрата серебра и инкубировали 2, 4, 12, 24, 48 или 96 ч. После окрашивания культур угнетения пролиферации клеток не наблюдали ни в одном из образцов. Увеличение содержания кальция в клетках как один из признаков клеточного стресса произошло только в культуре, контактировавшей с НЧ серебра в концентрации 1 мкг/мл. Затем клетки культивировали 28 дней в среде, не содержащей ингибитор дифференциации, с добавлением 0,01 или 0,1 мкг/мл указанных выше веществ. В таких условиях клетками были сформированы эмбриоидные тельца (embryoid bodies) — сферические структуры, состоящие из слоёв клеток всех трёх эмбриональных листков, что моделирует ранние стадии эмбрионального развития. Экспрессия маркёров эндодермы, мезодермы и нейроэктодермы почти не отличалась от таковой у контрольной группы.

Затем сформировали две разные модели нейронального развития культуры. В первой модели в среду к эмбриональным тельцам или недифференцированным стволовым клеткам после четырёх дней инкубации добавляли ретиноевую кислоту в течение ещё четырёх дней. Другая модель заключалась в том, что после четырёх

дней инкубации клетки или тельца перемещали ещё на 4 дня в среду, содержащую факторы нейронального развития (N2B27 medium). Концентрация 1 мкг/мл НЧ серебра и  $Ag^+$  вызывала гибель образцов. В модели с ретиноевой кислотой уровни экспрессии шести разных маркёров нейроэктодермы были дозозависимо повышены после контакта с НЧ серебра, но не с  $Ag^+$ . Во второй модели оценили морфологию клеток путём иммунофлуоресцентного окрашивания, ассоциированного с микротрубочками белка-2 (microtubule-associated protein 2, MAP2), важного для формирования цитоскелета отростков нервных клеток. После контакта с НЧ серебра в культурах было выявлено больше морфологически нормальных предшественников нейронов, чем в контроле, т.е. можно говорить о стимуляции нейрогенеза в присутствии НЧ. Напротив, после контакта с  $Ag^+$  очень малое количество клеток производило рассматриваемый протеин (группа 0,1 мкг/мл) или получавшиеся предшественники нейронов отличались искривленными синапсами (группа 0,01 мкг/мл). Были также обнаружены свидетельства влияния серебра на нейрональное развитие через высококонсервативный сигнальный путь Notch, т.е. после контакта с  $Ag^+$  в клетках значительно возросли уровни экспрессии гена трансмембранного рецепторного белка NOTCH1, гена его лиганда и его таргетного гена. После контакта с цельными НЧ серебра эти уровни экспрессии были тоже изменены по сравнению с таковыми в контрольных образцах.

C.-L. Huang с соавт. [13] описывали, как инкубировали с НЧ серебра (размер 3–5 нм, без покрытия) три клеточные культуры мыши: астроциты, клетки микроглии и предварительно подвергнутые дифференциации до нейроноподобной структуры клетки нейробластомы. На 24 ч добавляли НЧ в питательную среду, где содержались клетки, в концентрациях 1, 5, 10 и 12,5 мкг/мл. Было выявлено снижение пролиферации астроцитов и нейроноподобных клеток по сравнению с контрольными культурами, а также выделение клетками всех трёх экспериментальных культур провоспалительного цитокина интерлейкина-1-бета. Увеличение экспрессии генов, связанных с развитием воспаления белков, наблюдали в культурах, подвергшихся влиянию НЧ в концентрациях 5,0–12,5 мкг/мл. В нейроноподобных клетках, экспонированных при содержании НЧ 12,5 мкг/л, после иммунофлуоресцентного окрашивания были обнаружены блоки бета-амилоидов, связанных с развитием болезни Паркинсона. Кроме того, в экспериментальных культурах возросли экспрессия и содержание предшественника амилоидов (APP).

В настоящее время как основной механизм клеточной и молекулярной токсичности НЧ, включая генотоксичность, выделяют развивающийся в присутствии НЧ окислительный стресс [14–16]. Обнаружено, что в эукариотических клетках образование активных форм кислорода, включая свободные радикалы, возрастает в присутствии НЧ. Одновременно снижаются уровень экспрессии

генов и содержание антиоксидантных белков, нарастают повреждения ДНК [17–19], падает содержание и уровень экспрессии структурных белков (миелин в клетках миелиновых оболочек) и регуляторов развития (например, нейронального) [20, 21]. Возрастают уровни экспрессии регуляторов апоптоза, и в конечном итоге клетка его претерпевает. На тканевом уровне развиваются воспаление, отёчность и как крайний исход — некроз [22].

Ряд работ посвящён оценке мутагенности и/или канцерогенности НЧ, степень которых заметно различается между типами НЧ [23–29]. Например, стандартными методами оценивания мутагенности не было обнаружено свидетельств таковой у НЧ золота [23, 27], в то время как НЧ асбеста являются доказанным канцерогенным фактором [25]. Данные о мутагенной активности НЧ серебра значительно различаются при выборе разных методов её оценки. Так, проверка частоты обратных мутаций у граммотрицательных бактерий (тест Эймса — Ames test) не выявила отклонений от контрольного образца, но позже была признана недействительной: наночастицы (размер >10 нм) не были обнаружены в клетках [26, 28].

В растительных клетках (тест с луком репчатым — Allium test) мутагенного действия (различных хромосомных нарушений, в том числе микроядрышек) не обнаружено при концентрациях НЧ серебра до 50 мг/л включительно. Однако при 50 мг/л наблюдали значимую стимуляцию митоза [24]. В клетках костного мозга НЧ серебра вызывали заметное возрастание частоты возникновения хромосомных нарушений (*in vitro* тест на микроядрышки — micronucleus test) и разрывов ДНК. Такое действие НЧ серебра прямо зависело от дозы НЧ и обратно пропорционально их размерам, т.е. чем НЧ меньше, тем выше их генотоксичность и мутагенность [26, 28, 29]. Наночастицы, покрытые цитратом, оказывали более заметное воздействие, чем покрытые PVP [28].

Активному рассмотрению сегодня также подвергается такой аспект взаимодействия НЧ с биополимерами, как образование так называемой белковой короны (protein crown). Биополимеры, в основном белки, адсорбируются на поверхности наночастицы, окружая её и тем самым значительно увеличивая её гидродинамический диаметр, что может приводить на уровне организма к тромбированию мелких артерий и вен [30–32]. Белковая корона начинает формироваться еще до поступления НЧ внутрь клетки. Даже минутные инкубации различных магнитных НЧ в среде для культивирования клеток могут приводить к пятикратному увеличению гидродинамических размеров частиц, не прошедших в клетки [33]. Значение белковой короны настолько велико, что, по мнению ряда исследователей, характер взаимодействия живых систем с НЧ зависит в первую очередь от состава белковой короны, а не от поверхностных характеристик самих НЧ [34]. К тому же поверхность НЧ может вызывать в адсорбированных белковых молекулах конформационные изменения, которые могут привести к появлению

у белков новых, нефизиологических функций, а также повлиять на характер взаимодействия НЧ с клетками [35]. Формирование белковых корон способно не только влиять на уровни поступления НЧ в клетки и их накопление там, потенциально снижая токсичность НЧ для клеток, но и вызывать деградацию самих НЧ и воспалительную реакцию в ткани из-за активации макрофагов [36]. Образование белковой короны вокруг НЧ из аморфного кремния, например, смягчает токсический эффект самого кремния [37]. Как считают некоторые ученые [37], в настоящее время никто не может предсказать состав белковых корон и биологические последствия их образования. Поскольку белковые композиции питательных сред отличаются от белковых композиций биологических жидкостей организмов, то и данные о токсичности белковой короны, полученные *in vitro*, нельзя автоматически экстраполировать на НЧ *in vivo*. В связи с вышеизложенным установление характера и особенностей воздействия образующейся белковой короны, в том числе *in vivo*, является одним из передовых направлений изучения механизмов молекулярной токсичности НЧ [36].

Значительное внимание в работах по изучению токсичности уделено роли материала НЧ, размера НЧ, стабилизирующего их в растворе покрытия (например, для серебра), формы кристаллов (например, для TiO<sub>2</sub>), концентрации НЧ в растворе и/или дозы НЧ, а также применённого в работе способа поступления НЧ в организм и длительности экспозиции. В ряде публикаций обсуждается дозозависимое влияние данных факторов на наблюдаемые токсические эффекты [22, 28, 38, 39]. Подтверждено, например, что чем НЧ меньше, тем выше их способность к проникновению в ткани. НЧ размером менее 100 нм могут попадать в мозг благодаря их способности проходить через гематоэнцефалический барьер. Токсические эффекты НЧ серебра, стабилизированных цитратом натрия, считаются менее выраженными, чем у НЧ, покрытых PVP или полиэтиленгликолем-5000 (PEG-5000), потому покрытые цитратом НЧ чаще выбирают в работах, где на влиянии покрытия фокус не заостряется [20, 40, 41]. Известна работа, в которой указана меньшая токсичность НЧ серебра, стабилизированных полифенолами в составе экстракта бузины черной (*Sambucus nigra*), по сравнению с покрытыми цитратом НЧ [42]. Много публикаций посвящено сравнению токсичности НЧ и ионов, причём ионы более токсичны [3, 8, 12, 28, 43]. Из кристаллических форм TiO<sub>2</sub> в исследованиях применяют преимущественно чистый анатаз размерами в пределах 20 нм, а рутил или смесь рутила и анатаза выбирают только при моделировании токсичности промышленных красок, так как они обладают менее выраженными цитотоксическими эффектами [44].

### 3.4. Репродуктивная токсичность наночастиц

В последние 10 лет активно изучалось влияние НЧ на репродуктивную функцию и на развитие организма

(*reproductive and developmental toxicity*). Это представляет особенный интерес в свете возможного контакта молодых женщин с НЧ на производстве. Наиболее часто для исследований в данной области выбирают НЧ серебра и модельные виды позвоночных, таких как данио-рерио и мелкие лабораторные грызуны. К. Park с соавт. [45] оценивал выживаемость эмбрионов данио-рерио в воде для аквариумных рыб с разной степенью солёности воды после контакта с НЧ серебра (8–120 ч после оплодотворения); покрытием служил цитрат. НЧ вызывали задержку вылупления из икринки, замедление сердечного ритма, отёк перикарда и гибель эмбрионов. При этом эффекты были более выражены в воде с низкой солёностью, что могло быть обусловлено агрегацией НЧ при высокой солёности. В сходном эксперименте других исследователей подобное токсическое влияние оказывали как НЧ серебра, покрытые полиакрилатом, так и ионы, однако у  $Ag^+$  эффекты были выражены сильнее [38]. Генерация окислительного стресса произошла у всех экспериментальных животных. Содержание неокисленного глутатиона наиболее сильно снизилось у контактировавших с  $Ag^+$  животных, а общие уровни окисленного глутатиона росли с увеличением содержания серебра в среде. Если в среду к эмбриону одновременно с серебром добавляли L-цистеин, образующий с ионом серебра хелатный комплекс, токсичность обеих форм серебра значительно уменьшалась, что говорит в первую очередь о токсичности  $Ag^+$ . Например, смертность животных в группе ионов серебра с L-цистеином составляла 37% против 77% при отсутствии L-цистеина. Содержание неокисленного глутатиона также было значительно выше, чем без L-цистеина, а содержание окисленного глутатиона оставалось дозозависимым от количества серебра.

Представляет интерес исследование [46], в котором эмбрионы данио-рерио подвергли острому контакту с коллоидным раствором НЧ серебра (покрытием служила олеиновая кислота) двух размеров — 4 и 10 нм, а также с ионами серебра на протяжении разных периодов развития — от 4 до 96 ч после оплодотворения. Концентрации НЧ в растворе составили 0,481; 0,963; 1,925; 3,850; 7,700; 11,550 и 23,100 мг/л, в то время как содержание ионов серебра было выбрано на два порядка меньшим: 0,0015; 0,003; 0,006; 0,018; 0,036 и 0,072 мг/л. Накопление серебра обнаружено преимущественно в голове эмбриона. Количество дефектов у эмбрионов возрастало с увеличением дозы НЧ, при этом НЧ меньшего размера оказывали большее токсическое влияние и в большем объёме накапливались в организме, возможно, благодаря их поступлению через жабры. Однако для  $Ag^+$  схожие по характеру токсические эффекты были обнаружены при концентрациях в 300 раз меньших, хотя и на два порядка превышавших содержание  $Ag^+$  в растворах с НЧ и в чистой воде у контрольной группы. Были обнаружены заметные нарушения развития: экспериментальные эмбрионы отличались маленькой головой с уменьшенными глазами и недоразвитым задним мозгом, отёчностью

сердца и замедленным сердечным ритмом, согнутым нотохордом и деформациями желточного мешка. Также были рассмотрены уровни экспрессии нескольких генов, связанных с нейрональным развитием, после 24 ч экспозиции НЧ. Уровень экспрессии гена раннего маркера нейрональных клеток HUC (ELAVL3) был заметно снижен при НЧ размером 10 нм, но несколько повышен при НЧ размером 4 нм. Аналогичным образом изменилась экспрессия гена глиального фибриллярного кислого белка GFAP, характерного для астроцитов и признанного одним из ранних маркеров окислительного стресса. Уровни экспрессии гена нейрогена-1 (*NGN1*) — регулятора дифференциации нейронов — оказались повышены по сравнению с контролем. Авторы полагают, что деформации головы эмбриона и недоразвитость глаз были обусловлены нарушениями дифференциации нейрональных клеток, так как не было найдено изменений уровней экспрессии генов *otx* и *rx1*, регулирующих развитие сетчатки. Уровень экспрессии гена металлотионеина был снижен при НЧ размером 4 нм при любых концентрациях НЧ, а в остальных группах при малых концентрациях НЧ или  $Ag^+$  он возрастал, но при увеличении концентрации снижался. В пути воздействия серебра на клетки также были вовлечены АТФ-связывающие кассетные белки-транспортеры (ATP-binding cassette transporters), участвующие в том числе в детоксификации тяжёлых металлов, при этом уровни экспрессии их генов возросли.

Изучено влияние контакта в течение 4–120 ч с момента оплодотворения с НЧ серебра разного размера (10 или 50 нм) и с разным покрытием (PVP, цитрат) [47], а также с  $Ag^+$ , на выживаемость и морфологию эмбрионов данио-рерио. Рассмотрено влияние НЧ и ионов серебра на плавание мальков (возраст 7 сут) и поведенческий ответ рыб на изменения освещённости. НЧ, покрытые цитратом, и ионы вызывали токсические эффекты, в частности задержку вылупления, повышенную смертность и морфологические нарушения. В этом исследовании влияние ионов  $Ag^+$  было выражено сильнее. Мальки, контактировавшие с покрытыми цитратом НЧ, демонстрировали нормальные поведенческие реакции на изменения освещённости, в то время как подвергшиеся воздействию  $Ag^+$  рыбы отличались гиперактивностью при любой освещённости, кроме постоянного яркого света. При этом зрение ни у кого не пострадало, так как изменения в освещённости замечали все рыбы и порог освещённости, запускавший смену поведения, был одинаков для всех особей в каждой части тестирования. Аналогичным образом НЧ, покрытые PVP, не оказали влияния ни на выживаемость, ни на морфологию эмбрионов, что может говорить об ингибировании PVP токсического эффекта НЧ серебра.

Проведено исследование с покрытыми PEG-500 наночастицами серебра и с широким спектром концентраций (от 2,15 нг/мл до 2,15 мг/л) [48]. При этом было обнаружено, что высокие концентрации как НЧ, так и  $Ag^+$ , наоборот, обуславливали подавление локомоторной активности

у мальков, вызвав при этом сходные с предыдущим примером токсические эффекты для эмбриона. Одновременно с этим низкие, сопоставимые с естественными, концентрации  $Ag^+$  вызывали у мальков гиперактивность.

В эксперименте Е.А. González и соавт. [49] рассмотрено влияние именно низких, близких к природным, уровней содержания НЧ серебра (покрытие — альгинат; содержание 0,03; 0,1; 0,3; 1 и 3 ppm) на эмбрионы данио-рерио. Экспонирование составляло 4–120 ч после оплодотворения. При этом не было обнаружено негативных изменений выживаемости, вылупления или морфологии. Однако в возрасте 3 сут рыбы из групп с концентрациями НЧ от 0,3 до 3 ppm были гиперактивны в своих реакциях на изменения освещённости. После 4 сут жизни гиперактивными оставались только представители группы с концентрацией НЧ 3 ppm, а в возрасте 5 сут отклонения от нормы в поведении исчезали у всех экспериментальных особей.

Как видим, результаты исследований разных авторов с эмбрионами данио-рерио и НЧ серебра в некоторой части результатов противоречивы. Вероятно, это связано с тем, что не все методики стандартизированы и не все внешние факторы принимаются во внимание. Не полностью однородны результаты исследований и на грызунах, и с другими типами НЧ. У самок мышей, например, которым во время беременности были сделаны разовые внутривенные инъекции НЧ кремния или  $TiO_2$ , наблюдались осложнения беременности. Размер плода у них был меньше, чем у контрольных животных, и НЧ были обнаружены в плаценте, печени и мозге плода [50]. После многократных подкожных инъекций наночастиц  $TiO_2$ , сделанных беременным мышам, у мышат мужского пола была снижена масса тела, а НЧ обнаружены в черепных нервах и в тестикулах. В образцах мозга были выявлены маркёры апоптоза, наблюдались нарушения структуры тестикул и снижение количества зрелой спермы [51]. В сходных экспериментах были обнаружены маркёры апоптоза в мозге плодов и новорожденных мышат [52], а также уменьшение размера плаценты, плода и анатомические нарушения в мозге и печени плода [53]. При интрагастральном введении наночастиц  $TiO_2$  беременным крысам у потомства обнаруживаются маркёры апоптоза и угнетение нейрогенеза в гиппокампе [18]. У потомства самок, потреблявших с кормом наночастицы  $ZnO$ , обнаружены молекулярные свидетельства нарушений в развитии и функционировании печени [54]. В ряде работ показаны нарушения репродуктивной функции у самцов и самок, подвергшихся воздействию наночастиц серебра при однократном пероральном введении (угнетение сперматогенеза, гистопатологические нарушения в яичниках и т.д.). Наличие и характер токсического эффекта в значительной степени зависели от дозы и размера НЧ: чем они меньше, тем менее выражен был эффект [55]. Однако исследователями [56] было обнаружено и подтверждено влияние перорального потребления НЧ серебра на рождаемость

у мышей в виде увеличения количества потомства. Количество потомства у самок и самцов, контактировавших с НЧ серебра с покрытием PVP во время спаривания, беременности и лактации, было примерно вдвое больше, чем в контрольной группе. В случае же использования коллоидного раствора НЧ серебра без покрытия не было замечено изменений в репродуктивной функции у самок мышей [57].

Определённым индикатором влияния НЧ на нервную систему и функцию головного мозга служат изменения в поведении у животных, контактировавших с НЧ. Эти изменения могут наблюдаться также у их потомства, которому НЧ могли передаваться из организма матери в период пренатального развития и/или раннего постнатального развития (во время лактации). Это тоже сегодня является предметом пристальных исследований, чему далее будет посвящён отдельный раздел.

## 4. МЕТОДЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ НАНОЧАСТИЦ В ТКАНЯХ

Одним из ключевых элементов изучения токсичности НЧ для живых систем является определение их наличия и содержания (уровня накопления) в биологических образцах. Содержание НЧ в таких образцах может быть оценено либо по количеству химического элемента, из которого изготовлены НЧ (если в норме его не должно содержаться в образце), либо по количеству именно НЧ, подсчитанному в образце. Основная проблема заключается в следующем: уровни накопления НЧ в тканях и органах экспериментальных животных могут быть настолько небольшими, что многие лабораторные методы определения содержания веществ, например биохимические, часто неэффективны. Количественная оценка накопления химического элемента НЧ в органах и тканях лабораторных животных может быть стандартно проведена только методами атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-АЭС), масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС), нейтронным активационным анализом (НАА) и рядом других аналогичных методов. Обнаружение же самих НЧ, подсчёт их количества, определение размеров и форм в основном проводится методами электронной микроскопии<sup>1</sup> и динамического рассеяния света (ДРС). Все перечисленные методы обладают как значительными аналитическими возможностями, так и индивидуальными ограничениями.

**Атомно-абсорбционная спектроскопия (ААС)** является известным одноэлементным методом для точного количественного химического анализа. Метод основан на поглощении электромагнитного излучения

<sup>1</sup> В оптические микроскопы не видно накапливающихся в тканях НЧ, так как размеры НЧ меньше длины волны света.

специфической длины волны атомом в основном состоянии с переходом в возбуждённое состояние. Поглощённая энергия прямо пропорциональна количеству присутствующих атомов. Выделяют 4 основных типа техники атомизации: пламенная атомизация (испарение и атомизация происходят в пламени), электротермическая атомизация (испарение и атомизация пробы происходят в графитовой трубке), гидридная техника (основана на разложении газообразных гидридов в кварцевой ячейке или графитовой печи) и метод «холодного пара» (применяется в основном для определения ртути).

Достоинствами метода являются простота спектров поглощения в сравнении с эмиссионными спектрами, стоимость анализа, простота и быстрота проведения измерений. Существенные ограничения ААС — это неселективное поглощение и матричное подавление при анализе сложных по составу объектов, низкая селективность и недостаточная чувствительность, возможность определения тех элементов, для которых есть в наличии лампы [58, 59]. Пределы обнаружения химических элементов методом ААС зависят от определяемого элемента, матрицы образца и типа прибора. Для приборов в пламенном варианте пределы обнаружения могут варьировать от 0,1 до 100 мкг/л, а в электротермическом — от 0,001 до 0,1 мкг/л.

**Атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-АЭС)** — это разновидность масс-спектрометрии, отличающаяся высокой чувствительностью, способностью определять до 70 элементов периодической системы Менделеева, низкими пределами обнаружения (до  $\sim 10^{-9}$ – $10^{-7}$  % мас.), высокой стабильностью излучения разряда, быстротой измерений, простотой градуирования [60, 61]. Метод основан на использовании индуктивно-связанной плазмы в качестве источника ионов. Такая плазма представляет собой сильно ионизированный инертный газ (например, аргон) с одинаковым числом электронов и ионов, поддерживаемых радиочастотным полем. Высокая температура, достигнутая в плазме, последовательно превращает в пар и возбуждает атомы испытуемого образца. Количественная оценка в ИСП-АЭС основана на измерении возбуждённых атомов и ионов при длинах волн, характерных для конкретных элементов. Основные ограничения метода ИСП-АЭС связаны с матричным эффектом и interfering компонентами проб. К недостаткам методики также можно отнести высокую стоимость оборудования и затраты на его обслуживание [62].

**Масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС)** занимает лидирующее место в определении металлов и металлоидов в различных типах образцов. В основе метода лежит применение аргонной индуктивно-связанной плазмы в качестве источника ионов в сочетании с масс-спектрометром для разделения и последующего детектирования ионов. Основными достоинствами ИСП-МС, как и в случае ИСП-АЭС, являются высокая чувствительность, возможность многоэлементного

анализа, низкие пределы обнаружения (ниже, чем у ИСП-АЭС), высокая точность и широкий линейный диапазон определяемых концентраций, а также возможность определения изотопного состава образца [62]. Например, предел обнаружения для золота составляет 50 мкг/л методом ИСП-АЭС и 0,0005 мкг/л — методом ИСП-МС. Следует отметить, что пределы обнаружения зависят от определяемого элемента и матрицы образца. К недостаткам метода можно отнести стоимость оборудования и газа, необходимость использования нескольких газов высокой чистоты, высокий уровень квалификации персонала, необходимость постоянного контроля интерференций [62–64].

В промышленности нашли применение некоторые разновидности метода ИСП-МС, как, например, СП-ИСП-МС. Эта разновидность позволяет определять размер, распределение по размерам и концентрацию НЧ в суспензиях всего за несколько минут. При использовании метода СП-ИСП-МС сильно разбавленный раствор вводят в спектрометр таким образом, что статистически только одна наночастица в каждый отдельно взятый момент времени попадает в плазму [62, 65]. Сильная сторона методики заключена в том, что для измерений может быть использован стандартный пробир ИСП-МС без технических изменений и дополнительных программ обработки данных. Недостатки метода связаны с отсутствием возможности многоэлементного анализа с использованием традиционных квадрупольных систем ИСП-МС. Точность определения размера частиц сильно зависит от матрицы анализируемого материала и размеров самих частиц [62].

В большинстве случаев объектами анализа в ИСП-МС, ИСП-АЭС и ААС становятся водные растворы. Основными требованиями анализа растворов является полный перевод определяемых элементов в раствор, обеспечение устойчивости растворов и снижение содержания матричных элементов. Не менее важным параметром служит степень чистоты используемых растворов. Стадия химической подготовки проб, которая определяет правильность всего анализа в целом, — самая сложная и продолжительная.

Использование лазерной установки для проведения лазерной абляции в сочетании с ИСП-масс-спектрометром (ЛА-ИСП-МС) позволяет выполнять анализ твёрдых образцов. Метод отличается высокой чувствительностью, точностью и простотой анализа. Система для ЛА-ИСП-МС состоит из импульсного лазерного источника, системы переноса лучей, транспортной линии и детектора ИСП [66, 67]. При этом недостатком метода является необходимость использования при измерении стандартов с той же матрицей, что и анализируемый образец, что не всегда возможно [66].

Другим методом определения элементного состава образцов является **микрорентгеновская флуоресценция** [68], основанная на зависимости интенсивности рентгеновской флуоресценции от концентрации элемента

в образце. При облучении образца мощным потоком рентгеновского излучения возникает характерное флуоресцентное излучение атомов вещества, пропорциональное их концентрации в образце. Метод микрорентгеновской флуоресценции относится к неразрушающим методам анализа, подходит для анализа негетерогенных образцов и требует минимальной подготовки проб. Метод пригоден для определения концентрации элементов с  $Z > 11$  [69]. Пределы обнаружения для металлов находятся на уровне 0,05–150,0 мкг/л, погрешность метода составляет 2–9%, а время на анализ не превышает 15 мин.

Перспективным методом является *нейтронный активационный анализ (НАА)*. Это метод и качественно, и количественно определения химических элементов в образцах, основанный на измерении характеристик излучения радионуклидов, образующихся при облучении образцов нейтронами. Метод характеризуется высокой селективностью, точностью, чувствительностью, возможностью одновременного определения большого числа элементов, неразрушающим характером, простотой подготовки проб, возможностью минимизации влияния матричных элементов [70, 71]. Процедура облучения образцов и продолжительность облучения зависят от типа реактора и плотности потока нейтронов. НАА является одним из основных конкурентов ИСП-МС. Однако в отличие от ИСП он не требует перевода образцов в раствор и позволяет работать с образцами, масса которых очень мала (как, например, органы мелких лабораторных животных — мышей, крыс) [72]. Одним из основных недостатков метода является работа с радиоактивными образцами. В НАА, как и в других методах количественного анализа, пределы обнаружения элементов зависят от образца. В случае полимеров пределы обнаружения элементов могут варьировать от 0,004 до 2,500 мкг/г, а в образцах растительного происхождения — от 0,1 до 50,0 мкг/г.

*Методы сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) и просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ)* на протяжении многих лет применяются в исследованиях НЧ [73]. Их в основном используют для определения размеров и форм НЧ, но некоторые приборы снабжены и дополнительными устройствами для элементного анализа. Данные устройства больше подходят для качественного анализа, так как получить точные количественные данные о содержании НЧ с помощью методов электронной микроскопии сложно.

Пространственное разрешение современных методов СЭМ составляет порядка 10 нм, а в усовершенствованных версиях может достигать 2,5 нм, максимальное увеличение составляет  $\times 10^6$ . В типичном сканирующем электронном микроскопе пучок электронов с энергией от нескольких сотен эВ до 50 кэВ фокусируется на поверхности образца в очень маленькое пятно диаметром примерно 5 нм, которое сканирует поверхность с помощью системы отклоняющих катушек. При столкновении электронов

с атомами материала имеет место эмиссия электронов и фотонов из образца. При попадании эмитированных электронов в катодно-лучевую трубку в ней формируются СЭМ-изображения, представляющие информацию о морфологии поверхности образца [74].

Одним из наиболее эффективных методов структурных исследований материалов, в том числе наноматериалов, является ПЭМ, которая позволяет получить изображения с высоким разрешением, вплоть до атомарного, а также информацию о химическом составе материала. Типовая установка ПЭМ состоит из вакуумной системы, источника электронов, серии электромагнитных линз, устройства формирования изображения, а также устройства ввода-вывода и перемещения образца под электронным пучком [75]. Высокоэнергичный пучок электронов проходит через тонкий образец, взаимодействует с ним и трансформируется в неупругорассеянные и упругорассеянные электроны, которые фокусируются на устройстве формирования изображения: флуоресцентном экране, фотопластинке или ПЗС-сенсоре. Как сканирующая, так и просвечивающая электронная микроскопия дают информацию о размерах, степени агрегации, дисперсии и гетерогенности наноматериалов. Однако разрешение ПЭМ в разы превышает разрешение СЭМ. В просвечивающем электронном микроскопе ускоряющее напряжение прямо пропорционально его пространственному разрешению. Так, при ускоряющем напряжении 400 кВ теоретический предел разрешения ПЭМ составляет менее 0,2 нм. Увеличение варьирует в пределах от 50 до  $10^6$ . ПЭМ позволяет определить точный размер частиц как для изображений, полученных методом яркого поля, так и для изображений, полученных методом темного поля, а также содержит информацию о морфологии образца, его составе и кристаллографической структуре [75].

Для определения размеров НЧ в растворе также активно используется *метод динамического рассеяния света (ДРС)*. Метод основан на анализе флуктуаций интенсивности светорассеяния, которые содержат информацию о пространственной динамике рассеивателей и временных флуктуациях их индивидуальных оптических свойств [11]. В случае монодисперсного раствора размеры частиц можно определить достаточно точно. Если же в растворе присутствуют несколько видов частиц и их размеры отличаются в несколько раз, точность их определения значительно уменьшается. Данный метод позволяет измерять размеры частиц от 0,5–1,0 нм до 5–6 мкм. При сравнении методов ДРС и ПЭМ показано, что для растворов, содержащих НЧ в неагрегированном состоянии, размеры частиц, полученные двумя методами, не сильно различались. В то же время для агрегированных частиц ПЭМ дает более точные размеры [75].

В целом выбор методики анализа наличия НЧ и их количественного содержания в биологических образцах зависит от задач исследования и возможностей научного коллектива.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ / ADDITIONAL INFORMATION

**Вклад авторов.** Наибольший вклад распределён следующим образом: А.Л. Ивлиева — сбор и анализ источников литературы, подготовка рукописи; И. Зиньковская — подготовка раздела о методах детекции и количественного анализа наночастиц, участие в подготовке рукописи; Е.Н. Петрицкая — дизайн статьи, анализ литературных данных, участие в утверждении окончательного варианта рукописи; Д.А. Рогаткин — концепция обзора, анализ данных, подготовка первого варианта рукописи. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

**Финансирование.** Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Author contribution.** The greatest contribution is distributed as follows: A.L. Ivlieva — collection and analysis of literature sources, preparation of the manuscript; I. Zinikovskaya — preparation of a section on methods of detection and quantitative analysis of nanoparticles, participation in the preparation of the manuscript; E.N. Petriskaya — article design, analysis of literary data, participation in the approval of the final version of the manuscript; D.A. Rogatkin — the concept of the review, data analysis, preparation of the first version of the manuscript. All authors confirm that their authorship meets the international ICMJE criteria (all authors have made a significant contribution to the development of the concept and preparation of the article, read and approved the final version before publication).

**Funding source.** This study was not supported by any external sources of funding.

**Competing interests.** The authors declares that there are no obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Тригуб А.Г. Влияние коллоидного наносеребра на пресноводные и морские планктонные организмы. В кн.: Под общ. ред. М.Г. Петровой. Теоретические и прикладные аспекты современной науки : сборник научных трудов по материалам VI Международной научно-практической конференции. Часть I. Белгород : ИП Петрова М.Г., 2015. С. 123–135.
2. OECD Guidelines for the testing of chemicals: Daphnia sp. [Интернет]. Доступ по ссылке: [https://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals\\_72d77764-en](https://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals_72d77764-en) (дата обращения: 22.01.2021).
3. Asghari S., Johari S.A., Lee J.H., et al. Toxicity of various silver nanoparticles compared to silver ions in *Daphnia magna* // *Journal of Nanobiotechnology*. 2012. Vol. 10. N 14. doi: 10.1186/1477-3155-10-14
4. Pokhrel L.K., Dubey B. Potential impact of low-concentration silver nanoparticles on predator-prey interactions between predatory dragonfly nymphs and *Daphnia magna* as a prey // *Environmental Science and Technology*. 2012. Vol. 46. N 46. P. 7755–7762. doi: 10.1021/es204055c
5. Joo H.S., Kalbassi M.R., Yu I.J., et al. Bioaccumulation of silver nanoparticles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): influence of concentration and salinity // *Aquatic Toxicology*. 2013. Vol. 140–141. P. 398–406. doi: 10.1016/j.aquatox.2013.07.003
6. Bertrand C., Zalouk-Vergnoux A., Giambérini L., et al. The influence of salinity on the fate and behavior of silver standardized nanomaterial and toxicity effects in the estuarine bivalve *Scrobicularia plana* // *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2016. Vol. 35, N 10. P. 2550–2561. doi: 10.1002/etc.3428
7. Yang X., Jiang C., Hsu-Kim H., et al. Silver nanoparticle behavior, uptake, and toxicity in *Caenorhabditis elegans*: effects of natural organic matter // *Environmental Science and Technology*. 2014. N 48. P. 3486–3495. doi: 10.1021/es404444n
8. Garcia-Reyero N., Kennedy A.J., Escalon B.L., et al. Differential effects and potential adverse outcomes of ionic silver and silver nanoparticles in vivo and in vitro // *Environmental Science and Technology*. 2014. N 48. P. 4546–4555. doi: 10.1021/es4042258
9. Rui Qi, Zhao Y., Wub Q., et al. Biosafety assessment of titanium dioxide nanoparticles in acutely exposed nematode *Caenorhabditis elegans* with mutations of genes required for oxidative stress or stress response // *Chemosphere*. 2013. Vol. 93, N 10. P. 2289–2296. doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.08.007
10. Lewinski N., Colvin V., Drezek R. Cytotoxicity of nanoparticles // *Small*. 2008. Vol. 4, N 1. P. 26–49. doi: 10.1002/sml.200700595
11. Rodriguez-Garraus A., Azqueta A., Vettorazzi A., de Cerain A.L. Genotoxicity of silver nanoparticles // *Nanomaterials*. 2020. N 10. P. 251. doi: 10.3390/nano10020251
12. Yin N., Hu B., Yang R., et al. Assessment of the developmental neurotoxicity of silver nanoparticles and silver ions with mouse embryonic stem cells in vitro // *Journal of Interdisciplinary Nanomedicine*. 2018. Vol. 3, N 3. P. 133–145. doi: 10.1002/jin2.49
13. Huang C.-L., Hsiao I.-L., Lin H.-C., et al. Silver nanoparticles affect on gene expression of inflammatory and neurodegenerative responses in mouse brain neural cells // *Environmental Research*. 2015. Vol. 136. P. 253–263. doi: 10.1016/j.envres.2014.11.006
14. Кукла С.П., Слободскова В.В., Челомин В.П. Генотоксическое воздействие наночастиц диоксида титана на двустворчатого моллюска *Mytilus trossulus* (Gould, 1850) в морской среде // *Морской биологический журнал*. 2018. Т. 3, № 4. С. 43–50. doi: 10.21072/mbj.2018.03.4.05
15. Hu R., Zheng L., Zhang T., et al. Molecular mechanism of hippocampal apoptosis of mice following exposure to titanium dioxide nanoparticles // *Journal of Hazard Materials*. 2011. Vol. 191. N 1–3. P. 32–40. doi: 10.1016/j.jhazmat.2011.04.027
16. Krawczynska A., Dziendzikowska K., Gromadzka-Ostrowska J., et al. Silver and titanium dioxide nanoparticles alter oxidative/inflammatory response and renin-angiotensin system in

- brain // *Food and Chemical Toxicology*. 2015. Vol. 85. P. 96–105. doi: 10.1016/j.fct.2015.08.005
17. Сулункова М.П., Макеев О.Г., Привалова Л.И., и др. Генотоксический эффект воздействия некоторых элементарных или элементарнооксидных наночастиц и его ослабление комплексом биопротекторов // *Медицина труда и промышленная экология*. 2018. № 11. С. 10–16. doi: 10.31089/1026-9428-2018-11-10-16
18. Bideskan A.E., Mohammadipour A., Fazel A., et al. Exposure to titanium dioxide nanoparticles during pregnancy and lactation alters offspring hippocampal mRNA BAX and Bcl-2 levels, induces apoptosis and decreases neurogenesis // *Experimental and Toxicologic Pathology*. 2017. Vol. 69, N 6. P. 329–337. doi: 10.1016/j.etp.2017.02.006
19. Kim S., Ryu D.Y. Silver nanoparticle-induced oxidative stress, genotoxicity and apoptosis in cultured cells and animal tissues // *Journal of Applied Toxicology*. 2013. Vol. 33, N 2. P. 78–89. doi: 10.1002/jat.2792
20. Dabrowska-Bouta B., Zieba M., Orzelska-Gorka J., et al. Influence of a low dose of silver nanoparticles on cerebral myelin and behavior of adult rats // *Toxicology*. 2016. Vol. 363–364. P. 29–36. doi: 10.1016/j.tox.2016.07.007
21. Zhou Y., Hong F., Tian Y., et al. Nanoparticulate titanium dioxide-inhibited dendritic development is involved in apoptosis and autophagy of hippocampal neurons in offspring mice // *Toxicology Research*. 2017. Vol. 6, N 6. P. 889–901. doi: 10.1039/c7tx00153c
22. Grissa I., El Ghoul J., Mrimi R., et al. In deep evaluation of the neurotoxicity of orally administered TiO<sub>2</sub> nanoparticles // *Brain Research Bulletin*. 2019. Vol. 155. P. 119–128. doi: 10.1016/j.brainresbull.2019.10.005
23. Джумагазиева Д.С., Маслякова Г.Н., Сулейманова Л.В. Исследование мутагенного действия золотых наночастиц в микроядерном тесте // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2011. Т. 151, № 6. С. 677–680. doi: 10.1007/s10517-011-1427-4
24. Прохорова И.М., Кибрик Б.С., Павлов А.В., Песня Д.С. Оценка мутагенного и митозмодифицирующего действия наночастиц серебра // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2013. Т. 156, № 8. С. 223–228. doi: 10.1007/s10517-013-2325-8
25. Пятница-Горпинченко Н.К. Асбест и волокнистый канцерогенез // *Environment & Health*. 2014. №1. С. 4–9.
26. Butler K.S., Peeler D.J., Casey B.J., et al. Silver nanoparticles: correlating nanoparticles size and cellular uptake with genotoxicity // *Mutagenesis*. 2015. Vol. 30, N 4. P. 577–591. doi: 10.1093/mutage/gev020
27. George J.M., Magogoty M., Vetten M.V., et al. An investigation of the genotoxicity and interference of gold nanoparticles in commonly used in vitro mutagenicity and genotoxicity assays // *Toxicological Sciences*. 2017. Vol. 156, N 1. P. 149–166. doi: 10.1093/toxsci/kfw247
28. Guo X., Li Y., Yan J., et al. Size and coating-dependent cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles evaluated using in vitro standard assays // *Nanotoxicology*. 2016. Vol. 10, N 9. P. 1373–1384. doi: 10.1080/17435390.2016.1214764
29. Li Y., Chen D.H., Yan J., Chen Y., et al. Genotoxicity of silver nanoparticles evaluated using the Ames test and in vitro micronucleus assay // *Mutation Research*. 2012. Vol. 745, N 1–2. P. 4–10. doi: 10.1016/j.mrgentox.2011.11.010
30. Chen E.Y., Garnica M., Wang Y.-C., et al. A mixture of anatase and rutile TiO<sub>2</sub> nanoparticles induces histamine secretion in mast cells // *Particle and Fibre Toxicology*. 2012. Vol. 9, N 2. doi: 10.1186/1743-8977-9-2
31. Ivask A., Bondarenko O., Jepihina N., Kahru A. Profiling of the reactive oxygen species-related ecotoxicity of CuO, ZnO, TiO<sub>2</sub>, silver and fullerene nanoparticles using a set of recombinant luminescent *Escherichia coli* strains: differentiating the impact of particles and solubilised metals // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2010. Vol. 398, N 2. P. 701–716. doi: 10.1007/s00216-010-3962-7
32. Xiong S., George S., Ji J., et al. Size of TiO<sub>2</sub> nanoparticles influences their phototoxicity: an in vitro investigation // *Archives of Toxicology*. 2013. Vol. 87, N 1. P. 99–109. doi: 10.1007/s00204-012-0912-5
33. Сарапульцев А.П., Ремпель С.В., Кузнецова Ю.В., Сарапульцев Г.П. Взаимодействие наночастиц с биологическими объектами // *Вестник уральской медицинской академической науки*. 2016. №3. С. 97–111. doi: 10.22138/2500-0918-2016-15-3-97-111
34. Леоненко Н.С., Леоненко О.Б. Факторы, влияющие на проявление токсичности и опасности наноматериалов // *Innovative Biosystems and Bioengineering*. 2020. Vol. 4, N 2. С. 75–88. doi: 10.20535/ibb.2020.4.2.192810
35. Румянцев К.А., Шеметов А.А., Набиев И.Р., Суханова А.В. Взаимодействие белков и пептидов с наночастицами. Структурные и функциональные аспекты // *Российские нанотехнологии*. 2013. Т. 8. №11–12. С. 18–34.
36. Ткаченко Т.В., Безрядина А.С. Наночастицы как актуальное направление исследований // *Международный студенческий научный вестник*. 2017. № 4–5. С. 619–621.
37. Brun E., Sanche L., Sicard-Roselli C. Parameters governing gold nanoparticle X-ray radiosensitization of DNA in solution // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2009. Vol. 72, N 1. P. 128–134. doi: 10.1016/j.colsurfb.2009.03.025
38. Massarsky A., Dupuis L., Taylor J., et al. Assessment of nano-silver toxicity during zebrafish (*Danio rerio*) development // *Chemosphere*. 2013. N 92. P. 59–66. doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.02.060
39. Moradi-Sardareh H., Basir H.R.G., Hassan Z.M., et al. Toxicity of silver nanoparticles on different tissues of Balb/C mice // *Life Sciences*. 2018. Vol. 211. P. 81–90. doi: 10.1016/j.lfs.2018.09.001
40. Greish K., Alqahtani A.A., Alotaibi A.F., et al. The effect of silver nanoparticles on learning, memory and social interaction in BALB/C mice // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2019. Vol. 16, N 1. P. 148. doi: 10.3390/ijerph16010148
41. Tabatabaei S.R.F., Moshrefi M., Askaripour M. Prenatal exposure to silver nanoparticles causes depression like responses in mice // *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2015. Vol. 77, N 6. P. 681–686.
42. Dănilă O.O., Berghian A.S., Dionisie V., et al. The effects of silver nanoparticles on behavior, apoptosis and nitro-oxidative stress in offspring Wistar rats // *Nanomedicine (Lond)*. 2017. Vol. 12, N 12. P. 1455–1473. doi: 10.2217/nmm-2017-0029

43. Hadrup N., Sharma A.K., Loeschner K. Toxicity of silver ions, metallic silver, and silver nanoparticle materials after in vivo dermal and mucosal surface exposure: a review // *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2018. Vol. 98. P. 257–267. doi: 10.1016/j.yrtph.2018.08.007
44. Warheit D.B., Brown S.C., Donner E.M. Acute and subchronic oral toxicity studies in rats with nanoscale and pigment grade titanium dioxide particles // *Food and Chemical Toxicology*. 2015. Vol. 84. P. 208–224. doi: 10.1016/j.fct.2015.08.026
45. Park K., Tuttle G., Sinche F., Harper S.L. Stability of citrate-capped silver nanoparticles in exposure media and their effects on the development of embryonic zebrafish (*Danio rerio*) // *Archives of Pharmacal Research*. 2013. Vol. 36. P. 125–133. doi: 10.1007/s12272-013-0005-x
46. Xin Q., Rotchell J.M., Cheng J., et al. Silver nanoparticles affect the neural development of zebrafish embryos // *Journal of Applied Toxicology*. 2015. Vol. 35. P. 1481–1492. doi: 10.1002/jat.3164
47. Powers C.M., Slotkin T.A., Seidler F.J., et al. Silver nanoparticles alter zebrafish development and larval behavior: distinct roles for particle size, coating and composition // *Neurotoxicology and Teratology*. 2011. Vol. 33, N 6. P. 708–714. doi: 10.1016/j.ntt.2011.02.002
48. Asmonaite G., Boyer S., de Souza K.B., et al. Behavioural toxicity assessment of silver ions and nanoparticles on zebrafish using a locomotion profiling approach // *Aquatic Toxicology*. 2016. Vol. 173. P. 143–153. doi: 10.1016/j.aquatox.2016.01.013
49. González E.A., Carty D.R., Tran F.D., et al. Developmental exposure to silver nanoparticles at environmentally relevant concentrations alters swimming behavior in zebrafish (*Danio rerio*) // *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2018. Vol. 37, N 12. P. 3018–3024. doi: 10.1002/etc.4275.
50. Yamashita K., Yoshioka Ya., Higashisaka K., et al. Silica and titanium dioxide nanoparticles cause pregnancy complications in mice // *Nature Nanotechnology*. 2011. Vol. 6, N 5. P. 321–328. doi: 10.1038/NNANO.2011.41
51. Takeda K., Suzuki K., Ishihara A., et al. Nanoparticles transferred from pregnant mice to their offspring can damage the genital and cranial nerve systems // *Journal of Health Science*. 2009. Vol. 55, N 1. P. 95–102. doi: 10.1248/jhs.55.95
52. Shimizu M., Tainaka H., Oba T., et al. Maternal exposure to nanoparticulate titanium dioxide during the prenatal period alters gene expression related to brain development in the mouse // *Particle and Fibre Toxicology*. 2009. Vol. 6, N 1. P. 20. doi: 10.1186/1743-8977-6-20
53. Naserzadeh P., Ghanbary F., Ashtari P., et al. Biocompatibility assessment of titanium dioxide nanoparticles in mice fetoplacental unit // *Journal of Biomedical Materials Research: Part A*. 2018. Vol. 106, N 2. P. 580–589. doi: 10.1002/jbm.a.36221
54. Hao Y., Liu J., Feng Y., et al. Molecular evidence of offspring liver dysfunction after maternal exposure to zinc oxide nanoparticles // *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2017. Vol. 329. P. 318–325. doi: 10.1016/j.taap.2017.06.021
55. Ema M., Okuda H., Gamo M., Honda K. A review of reproductive and developmental toxicity of silver nanoparticles in laboratory animals // *Reproductive Toxicology*. 2017. Vol. 67. P. 149–164. doi: 10.1016/j.reprotox.2017.01.005.
56. Зиньковская И., Ивлиева А.Л., Петрицкая Е.Н., Рогаткин Д.А. Неожиданный эффект длительного перорального приема наночастиц серебра на рождаемость у мышей // *Экология человека*. 2020. № 10. С. 23–30. doi: 10.33396/1728-0869-2020-10-23-30
57. Петрицкая Е.Н., Абаева Л.Ф., Рогаткин Д.А., и др. К вопросу о токсичности наночастиц серебра при пероральном введении коллоидного раствора // *Альманах клинической медицины*. 2011. № 25. С. 9–12.
58. Бейзель Н.Ф. Атомно-абсорбционная спектрометрия: учебное пособие // Новосибирск : Новосибирский государственный университет, 2008.
59. Ha Y., Tsay O.G., Churchill D.G. A tutorial and mini-review of the ICP-MS technique for determinations of transition metal ion and main group element concentration in the neurodegenerative and brain sciences // *Monatshefte für Chemie — Chemical Monthly*. 2011. Vol. 142. P. 385–398. doi: 10.1007/s00706-010-0438-6
60. Евдокимов И.И., Пименов В.Г., Фадеева Д.А. АЭС-ИСП анализ высокочистого мышьяка // *Аналитика и контроль*. 2015. Т. 19, № 1. С. 13–20. doi: 10.15826/analitika.2015.19.1.006
61. Пупышев А.А., Данилова Д.А. Использование атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной плазмой для анализа материалов и продуктов черной металлургии // *Аналитика и контроль*. 2007. № 11(2-3). С. 131–181.
62. Meermann B., Nischwitz V. ICP-MS for the analysis at the nanoscale — a tutorial review // *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2018. Vol. 33, № 9. P. 1432–1468. doi: 10.1039/C8JA00037A
63. Pröfrock D., Prange A. Inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) for quantitative analysis in environmental and life sciences: a review of challenges, solutions, and trends // *Applied Spectroscopy*. 2012. Vol. 66, N 8. P. 843–868. doi: 10.1366/12-06681
64. Wilschefski S.C., Baxter M.R. Inductively coupled plasma mass spectrometry: introduction to analytical aspects // *The Clinical Biochemist Reviews*. 2019. Vol. 40, N 3. P. 115–133. doi: 10.33176/AACB-19-00024.
65. Mozhayeva D., Engelhard C. A critical review of single particle inductively coupled plasma mass spectrometry — a step towards an ideal method for nanomaterial characterization // *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2020. N 35. P. 1740–783. doi: 10.1039/C9JA00206E
66. Николаева И.В., Палесский С.В., Карпов А.В. Сравнение ИСП/МС анализа геологических образцов в варианте растворов и лазерной абляции стекол // *Известия Томского политехнического университета. Инжиниринг георесурсов*. 2019. Т. 330, № 5. С. 26–34. doi: 10.18799/24131830/2019/5/263
67. Koch J., Günther D. Laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. *Encyclopedia of spectroscopy and spectrometry*. 3d ed. Lindon J., Tranter G.E., Koppelaar D., editors. Oxford : Academic Press, 2017.
68. Haschke M. *Laboratory micro-X-ray fluorescence spectroscopy. Instrumentation and applications*. London : Springer Publ., 2013.
69. Veith L., Dietrich D., Vennemann A., Breitenstein D., Engelhard C., Karst U., et al. Combination of micro X-ray fluorescence spectroscopy and time-of-flight secondary ion mass spectrometry

imaging for the marker-free detection of CeO<sub>2</sub> nanoparticles in tissue sections // *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2018. Vol. 33, P. 491–501. doi: 10.1039/C7JA00325K

70. Bode P., Greenberg R.R., De Nadai Fernandes E.A. Neutron activation analysis: a primary (ratio) method to determine Si- traceable values of element content in complex samples // *CHIMIA International Journal for Chemistry*. 2009. Vol. 63, N 10, P. 678–680. doi: 10.2533/chimia.2009.678

71. Frontasyeva M.V. Neutron activation analysis in the life sciences // *Physics of Particles and Nuclei*. 2011. Vol. 42, N 2, P. 332–378. doi: 10.1134/S1063779611020043

72. Zinicovscaia I., Grozdov D., Yushin N., et al. Neutron activation analysis as a tool for tracing the accumulation of silver nanopar-

ticles in tissues of female mice and their offspring // *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. 2019. Vol. 322, P. 1079–1083. doi: 10.1007/s10967-019-06746-9.

73. Sun D., Siddiqui M.O.R., Iqbal K. Specialty testing techniques for smart textiles. 2nd ed. In: Smith W., editor. *Smart textile coatings and laminates*. Woodhead Publishing, 2018. P. 99–116.

74. Pinto A.M.F.R., Oliveira V.B., Falcão D. *Direct alcohol fuel cells for portable applications fundamentals*. Engineering and advances. London : Academic Press Publ., 2018.

75. Raval N., Maheshwari R., Kalyane D., et al. Importance of physicochemical characterization of nanoparticles in pharmaceutical product development. *Basic fundamentals of drug delivery*. Tekade R., editor. London : Academic Press, 2019.

## REFERENCES

1. Trigub AG. Influence of colloidal nanosilver on freshwater and marine planktonic organisms. In: Petrova MG, editor. *Theoretical and applied aspects of modern science: collection of scientific papers based on the materials of the VI International scientific and practical conference*. Belgorod: IE Petrova MG Publ.; 2015:123–135.

2. *OECD Guidelines for the testing of chemicals : Daphnia sp.* [Internet] Available from: [https://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals\\_72d77764-en](https://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals_72d77764-en) (accessed: 22.01.2021).

3. Asghari S, Johari SA, Lee JH, et al. Toxicity of various silver nanoparticles compared to silver ions in *Daphnia magna*. *Journal of Nanobiotechnology*. 2012;10:14. doi: 10.1186/1477-3155-10-14

4. Pokhrel LK, Dubey B. Potential impact of low-concentration silver nanoparticles on predator–prey interactions between predatory dragonfly nymphs and *Daphnia magna* as a prey. *Environmental Science and Technology*. 2012;46:7755–7762. doi: 10.1021/es204055c

5. Joo HS, Kalbassi MR, Yu IJ, et al. Bioaccumulation of silver nanoparticles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): influence of concentration and salinity. *Aquatic Toxicology*. 2013;140–141:398–406. doi: 10.1016/j.aquatox.2013.07.003

6. Bertrand C, Zalouk-Vergnoux A, Giambérini L, et al. The influence of salinity on the fate and behavior of silver standardized nanomaterial and toxicity effects in the estuarine bivalve *Scrobicularia plana*. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2016;35(10):2550–2561. doi: 10.1002/etc.3428

7. Yang X, Jiang C, Hsu-Kim H, et al. Silver nanoparticle behavior, uptake, and toxicity in *Caenorhabditis elegans*: effects of natural organic matter. *Environmental Science and Technology*. 2014;48:3486–3495. doi: 10.1021/es404444n

8. Garcia-Reyero N, Kennedy AJ, Escalon BL, et al. Differential effects and potential adverse outcomes of ionic silver and silver nanoparticles *in vivo* and *in vitro*. *Environmental Science and Technology*. 2014;48:4546–4555. doi: 10.1021/es4042258

9. Rui Qi, Zhao Y, Wub Q, et al. Biosafety assessment of titanium dioxide nanoparticles in acutely exposed nematode *Caenorhabditis elegans* with mutations of genes required for oxidative stress or stress response. *Chemosphere*. 2013;93(10):2289–2296. doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.08.007

10. Lewinski N, Colvin V, Drezek R. Cytotoxicity of nanoparticles. *Small*. 2008;4(1):26–49. doi: 10.1002/smll.200700595

11. Rodriguez-Garraus A, Azqueta A, Vettorazzi A, de Cerain AL. Genotoxicity of silver nanoparticles. *Nanomaterials*. 2020;10:251. doi: 10.3390/nano10020251

12. Yin N, Hu B, Yang R, et al. Assessment of the developmental neurotoxicity of silver nanoparticles and silver ions with mouse embryonic stem cells *in vitro*. *Journal of Interdisciplinary Nanomedicine*. 2018;3(3):133–145. doi: 10.1002/jin2.49

13. Huang CL, Hsiao IL, Lin HC, et al. Silver nanoparticles affect on gene expression of inflammatory and neurodegenerative responses in mouse brain neural cells. *Environmental Research*. 2015;136:253–263. doi: 10.1016/j.envres.2014.11.006

14. Kukla SP, Slobodskova VV, Chelomin VP. Genotoxic effect of titanium dioxide nanoparticles on the bivalve mollusk *Mytilus trossulus* (Gould, 1850) in the marine environment. *Marine Biology Journal*. 2018;3(4):43–50. doi: 10.21072/mbj.2018.03.4.05

15. Hu R, Zheng L, Zhang T, et al. Molecular mechanism of hippocampal apoptosis of mice following exposure to titanium dioxide nanoparticles. *Journal of Hazard Materials*. 2011;191:32–40. doi: 10.1016/j.jhazmat.2011.04.027

16. Krawczynska A, Dziendzikowska K, Gromadzka-Ostrowska J, et al. Silver and titanium dioxide nanoparticles alter oxidative/inflammatory response and renine-angiotensin system in brain. *Food and Chemical Toxicology*. 2015;85:96–105. doi: 10.1016/j.fct.2015.08.005

17. Sutunkova MP, Makeev OG, Privalova LI, et al. Genotoxic effect of some elemental or element oxide nanoparticles and its diminution by bioprotectors combination. *Russian Journal of Occupational Health and Industrial Ecology*. 2018;11:10–16. doi: 10.31089/1026-9428-2018-11-10-16

18. Bideskan AE, Mohammadipour A, Fazel A, et al. Exposure to titanium dioxide nanoparticles during pregnancy and lactation alters offspring hippocampal mRNA BAX and Bcl-2 levels, induces apoptosis and decreases neurogenesis. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 2017;69(6):329–337. doi: 10.1016/j.etp.2017.02.006

19. Kim S, Ryu DY. Silver nanoparticle-induced oxidative stress, genotoxicity and apoptosis in cultured cells and animal tissues. *Journal of Applied Toxicology*. 2013;33(2):78–89. doi: 10.1002/jat.2792

20. Dabrowska-Bouta B, Zieba M, Orzelska-Gorka J, et al. Influence of a low dose of silver nanoparticles on cerebral myelin and be-

- havior of adult rats. *Toxicology*. 2016;363–364:29–36. doi: 10.1016/j.tox.2016.07.007
21. Zhou Y, Hong F, Tian Y, et al. Nanoparticulate titanium dioxide-inhibited dendritic development is involved in apoptosis and autophagy of hippocampal neurons in offspring mice. *Toxicology Research*. 2017;6(6):889–901. doi: 10.1039/c7tx00153c
  22. Grissa I, ElGhoul J, Mrimi R, et al. In deep evaluation of the neurotoxicity of orally administered TiO<sub>2</sub> nanoparticles. *Brain Research Bulletin*. 2019;155:119–128. doi: 10.1016/j.brainresbull.2019.10.005
  23. Jumagazieva DS, Maslyakova GN, Suleymanova LV, Bucharskaya AB, Firsova SS, Khlebtsov BN, et al. Mutagenic effect of gold nanoparticles in the micronucleus assay. *Bull Exp Biol Med*. 2011;151(6):731–3. doi: 10.1007/s10517-011-1427-4
  24. Prokhorova IM, Kibrik BS, Pavlov AV, Pesnya DS. Estimation of mutagenic effect and modifications of mitosis by silver nanoparticles. *Bull Exp Biol Med*. 2013;156(2):255–259. DOI: 10.1007/s10517-013-2325-8
  25. Pyatnitsa-Gorpinchenko NK. Asbestos and fibrous carcinogenesis. *Environment & Health*. 2014;1:4–9.
  26. Butler KS, Peeler DJ, Casey BJ, et al. Silver nanoparticles: correlating nanoparticles size and cellular uptake with genotoxicity. *Mutagenesis*. 2015;30:577–591. doi: 10.1093/mutage/gev020
  27. George JM, Magogoty M, Vetten MV, et al. An investigation of the genotoxicity and interference of gold nanoparticles in commonly used in vitro mutagenicity and genotoxicity assays. *Toxicological Sciences*. 2017;156(1):149–166. doi: 10.1093/toxsci/kfw247
  28. Guo X, Li Y, Yan J, et al. Size and coating-dependent cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles evaluated using in vitro standard assays. *Nanotoxicology*. 2016;10(9):1373–1384. doi: 10.1080/17435390.2016.1214764
  29. Li Y, Chen DH, Yan J, et al. Genotoxicity of silver nanoparticles evaluated using the Ames test and in vitro micronucleus assay. *Mutation Research*. 2012;745:4–10. doi: 10.1016/j.mrgentox.2011.11.010
  30. Chen EY, Garnica M, Wang YC, et al. A mixture of anatase and rutile TiO<sub>2</sub> nanoparticles induces histamine secretion in mast cells. *Particle and Fibre Toxicology*. 2012;9:2. doi: 10.1186/1743-8977-9-2
  31. Ivask A, Bondarenko O, Jephthina N, Kahru A. Profiling of the reactive oxygen species-related ecotoxicity of CuO, ZnO, TiO<sub>2</sub>, silver and fullerene nanoparticles using a set of recombinant luminescent Escherichia coli strains: differentiating the impact of particles and solubilised metals. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2010;398(2):701–716. doi: 10.1007/s00216-010-3962-7
  32. Xiong S, George S, Ji J, et al. Size of TiO<sub>2</sub> nanoparticles influences their phototoxicity: an in vitro investigation. *Archives of Toxicology*. 2013;87(1):99–109. doi: 10.1007/s00204-012-0912-5
  33. Sarapul'tsev AP, Rempel' SV, Kuznetsova YuV, Sarapul'tsev GP. Interaction of nanoparticles with biological objects. *Journal of Ural Medical Academic Science*. 2016;3:97–111. doi: 10.22138/2500-0918-2016-15-3-97-111
  34. Leonenko NS, Leonenko OB. Factors influencing the manifestation of toxicity and hazards of nanomaterials. *Innovative Biosystems and Bioengineering*. 2020;4(2):75–88. doi: 10.20535/ibb.2020.4.2.192810
  35. Romyantsev KA, Shemetov AA, Nabiev IR, Sukhanova AV. Interaction of proteins and peptides with nanoparticles. Structural and functional aspects. *Rossiiskie nanotekhnologii* [Russian nanotechnologies]. 2013;8(11-12):18-34.
  36. Tkachenko TV, Bezryadina AS. Nanoparticles as an actual area of research. *Mezhdunarodnyi studencheskii nauchnyi vestnik* [International student scientific bulletin]. 2017;4-5:619–621.
  37. Brun E, Sanche L, Sicard-Roselli C. Parameters governing gold nanoparticle X-ray radiosensitization of DNA in solution. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2009;72(1):128–134. doi: 10.1016/j.colsurfb.2009.03.025
  38. Massarsky A, Dupuis L, Taylor J, et al. Assessment of nanosilver toxicity during zebrafish (Danio rerio) development. *Chemosphere*. 2013;92:59–66. doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.02.060
  39. Moradi-Sardareh H, Basir HRG, Hassan ZM, et al. Toxicity of silver nanoparticles on different tissues of Balb/C mice. *Life Sciences*. 2018;211:81–90. doi: 10.1016/j.lfs.2018.09.001
  40. Greish K, Alqahtani AA, Alotaibi AF, et al. The effect of silver nanoparticles on learning, memory and social interaction in BALB/C mice. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2019;16(1):148. doi: 10.3390/ijerph16010148
  41. Tabatabaei SRF, Moshrefi M, Askaripour M. Prenatal exposure to silver nanoparticles causes depression like responses in mice. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2015;77(6):681–686.
  42. Dănilă OO, Berghian AS, Dionisie V, et al. The effects of silver nanoparticles on behavior, apoptosis and nitro-oxidative stress in offspring Wistar rats. *Nanomedicine (Lond)*. 2017;12(12):1455–1473. doi: 10.2217/nmm-2017-0029
  43. Hadrup N, Sharma AK, Loeschner K. Toxicity of silver ions, metallic silver, and silver nanoparticle materials after in vivo dermal and mucosal surface exposure: a review. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2018;98:257–267. doi: 10.1016/j.yrtph.2018.08.007
  44. Warheit DB, Brown SC, Donner EM. Acute and subchronic oral toxicity studies in rats with nanoscale and pigment grade titanium dioxide particles. *Food and Chemical Toxicology*. 2015;84:208–224. doi:10.1016/j.fct.2015.08.026
  45. Park K, Tuttle G, Sinche F, Harper SL. Stability of citrate-capped silver nanoparticles in exposure media and their effects on the development of embryonic zebrafish (Danio rerio). *Archives of Pharmacol Research*. 2013;36:125–133. doi: 10.1007/s12272-013-0005-x
  46. Xin Qi, Rotchell JM, Cheng J, et al. Silver nanoparticles affect the neural development of zebrafish embryos. *Journal of Applied Toxicology*. 2015;35:1481–1492. doi: 10.1002/jat.3164
  47. Powers CM, Slotkin TA, Seidler FJ, et al. Silver nanoparticles alter zebrafish development and larval behavior: distinct roles for particle size, coating and composition. *Neurotoxicology and Teratology*. 2011;33(6):708–714. doi: 10.1016/j.ntt.2011.02.002
  48. Asmonaite G, Boyer S, de Souza KB, et al. Behavioural toxicity assessment of silver ions and nanoparticles on zebrafish using a locomotion profiling approach. *Aquatic Toxicology*. 2016;173:143–153. doi: 10.1016/j.aquatox.2016.01.013
  49. González EA, Carty DR, Tran FD, et al. Developmental exposure to silver nanoparticles at environmentally relevant concentrations alters swimming behavior in zebrafish (Danio rerio). *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2018;37(12):3018–3024. doi: 10.1002/etc.4275

50. Yamashita K, Yoshioka Ya, Higashisaka K, et al. Silica and titanium dioxide nanoparticles cause pregnancy complications in mice. *Nature Nanotechnology*. 2011;6:321–328. doi: 10.1038/NNANO.2011.41
51. Takeda K, Suzuki K, Ishihara A, et al. Nanoparticles transferred from pregnant mice to their offspring can damage the genital and cranial nerve systems. *Journal of Health Science*. 2009;55(1):95–102. doi: 10.1248/jhs.55.95
52. Shimizu M, Tainaka H, Oba T, et al. Maternal exposure to nanoparticulate titanium dioxide during the prenatal period alters gene expression related to brain development in the mouse. *Particle and Fibre Toxicology*. 2009;6:20. doi: 10.1186/1743-8977-6-20
53. Naserzadeh P, Ghanbary F, Ashtari P, et al. Biocompatibility assessment of titanium dioxide nanoparticles in mice fetoplacental unit. *Journal of Biomedical Materials Research: Part A*. 2017; 106A:580–589. doi: 10.1002/jbm.a.36221
54. Hao Y, Liu J, Feng Y, Yu Sh, et al. Molecular evidence of offspring liver dysfunction after maternal exposure to zinc oxide nanoparticles. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2017;329:318–325. doi: 10.1016/j.taap.2017.06.021
55. Ema M, Okuda H, Gamo M, Honda K. A review of reproductive and developmental toxicity of silver nanoparticles in laboratory animals. *Reproductive Toxicology*. 2017;67:149–164. doi: 10.1016/j.reprotox.2017.01.005
56. Zin'kovskaya I, Ivlieva AL, Petritskaya EN, Rogatkin DA. Surprising effect of long-term oral administration of silver nanoparticles on fertility in mice. *Ekologiya cheloveka* [Human Ecology]. 2020;27(10):23–30. doi: 10.33396/1728-0869-2020-10-23-30
57. Petritskaya EN, Abaeva LF, Rogatkin DA, et al. On the toxicity of silver nanoparticles after oral administration of a colloidal solution. *Almanac of Clinical Medicine*. 2011;(25):9–12.
58. Beizel' NF. Atomno-absorbtsionnaya spektrometriya: uchebnoe posobie. Novosibirsk : Novosibirsk state university Publ; 2008.
59. Ha Y, Tsay OG, Churchill DG. A tutorial and mini-review of the ICP-MS technique for determinations of transition metal ion and main group element concentration in the neurodegenerative and brain sciences. *Monatshefte für Chemie — Chemical Monthly*. 2011;142:385–398. doi: 10.1007/s00706-010-0438-6
60. Evdokimov II, Pimenov VG, Fadeeva DA. ICP-AES high purity arsenic analysis. *Analitika i kontrol' [Analytics and control]*. 2015;19(1):13–20. doi: 10.15826/analitika.2015.19.1.006
61. Pupyshev AA, Danilova DA. The use of inductively coupled plasma atomic emission spectrometry for the analysis of materials and products of ferrous metallurgy. *Analitika i kontrol' [Analytics and control]*. 2007;11(2-3):131–181.
62. Meermann B, Nischwitz V. ICP-MS for the analysis at the nanoscale — a tutorial review. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2018;33(9):1432–1468. doi: 10.1039/C8JA00037A
63. Pröfrock D, Prange A. Inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) for quantitative analysis in environmental and life sciences: a review of challenges, solutions, and trends. *Applied spectroscopy*. 2012;66 (8): 843–868. doi: 10.1366/12-06681
64. Wilschefski SC, Baxter MR. Inductively coupled plasma mass spectrometry: introduction to analytical aspects. *The Clinical Biochemist Reviews*. 2019;40(3):115–133. doi: 10.33176/AACB-19-00024
65. Mozhayeva D, Engelhard C. A critical review of single particle inductively coupled plasma mass spectrometry — a step towards an ideal method for nanomaterial characterization. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2020; 35:1740–1783. doi: 10.1039/C9JA00206E
66. Nikolaeva IV, Palesskii SV, Karpov AV. Comparison of ICP / MS analysis of geological samples in the variant of solutions and laser ablation of glasses. *Izvestiya Tomskogo Politehnicheskogo Universiteta Inzining Georesurov*. 2019;330(5):26–34. doi: 10.18799/24131830/2019/5/263
67. Koch J, Günther D. Laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. *Encyclopedia of spectroscopy and spectrometry*. 3d ed. Lindon J., Tranter G.E., Koppenaal D., editors. Oxford: Academic Press; 2017.
68. Haschke M. Laboratory micro-X-ray fluorescence spectroscopy. Instrumentation and applications. London: Springer Publ; 2013.
69. Veith L, Dietrich D, Vennemann A, et al. Combination of micro X-ray fluorescence spectroscopy and time-of-flight secondary ion mass spectrometry imaging for the marker-free detection of CeO<sub>2</sub> nanoparticles in tissue sections. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2018;33:491–501. doi: 10.1039/C7JA00325K
70. Bode P, Greenberg RR, De Nadai Fernandes EA. Neutron activation analysis: a primary (ratio) method to determine Si-traceable values of element content in complex samples. *CHIMIA International Journal for Chemistry*. 2009;63(10):678–680. doi: 10.2533/chimia.2009.678
71. Frontasyeva MV. Neutron activation analysis in the life sciences. *Physics of Particles and Nuclei*. 2011;42(2):332–378. doi: 10.1134/S1063779611020043
72. Zinicovscaia I, Grozdov D, Yushin N, et al. Neutron activation analysis as a tool for tracing the accumulation of silver nanoparticles in tissues of female mice and their offspring. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. 2019;322:1079–1083. doi: 10.1007/s10967-019-06746-9
73. Sun D, Siddiqui MOR, Iqbal K. Specialty testing techniques for smart textiles. 2nd ed. In: Smith W., editor. *Smart textile coatings and laminates*. Woodhead Publishing, 2018. P:99–116..
74. Pinto AMFR, Oliveira VB, Falcão D. *Direct alcohol fuel cells for portable applications fundamentals*. Engineering and advances. London: Academic Press Publ; 2018.
75. Raval N, Maheshwari R, Kalyane D, et al. *Importance of physicochemical characterization of nanoparticles in pharmaceutical product development*. Basic fundamentals of drug delivery. Tekade R., editor. London: Academic Press; 2019.

## ОБ АВТОРАХ

**\*Ивлиева Александра Леонидовна**, младший научный сотрудник; адрес: Россия 129110, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6331-6233>; eLibrary SPIN: 5555-1343; e-mail: [ivlieva@medphyslab.com](mailto:ivlieva@medphyslab.com)

**Зиньковская Инга**, д.х.н.,  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0820-887X>;  
eLibrary SPIN: 6814-1720; e-mail: [zinikovskaia@mail.ru](mailto:zinikovskaia@mail.ru)

**Петрицкая Елена Николаевна**, к.б.н.,  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3836-0103>;  
eLibrary SPIN: 2641-3111; e-mail: [medphys@monikiweb.ru](mailto:medphys@monikiweb.ru)

**Рогаткин Дмитрий Алексеевич**, д.т.н., доцент;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7755-308X>;  
eLibrary SPIN: 9130-8111; e-mail: [d.rogatkin@monikiweb.ru](mailto:d.rogatkin@monikiweb.ru)

## AUTHORS INFO

**\*Alexandra L. Ivlieva**, researcher;  
address: 61/2 Schepkin street, 129110 Moscow, Russia;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6331-6233>;  
eLibrary SPIN: 5555-1343; e-mail: [ivlieva@medphyslab.com](mailto:ivlieva@medphyslab.com)

**Inga Zinikovskaia**, Dr. Sci. (Chem.);  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0820-887X>;  
eLibrary SPIN: 6814-1720; e-mail: [zinikovskaia@mail.ru](mailto:zinikovskaia@mail.ru)

**Elena N. Petriskaya**, Cand. Sci. (Biol.);  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3836-0103>;  
eLibrary SPIN: 2641-3111; e-mail: [medphys@monikiweb.ru](mailto:medphys@monikiweb.ru)

**Dmitry A. Rogatkin**, Dr. Sci. (Technic), Associate Professor;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7755-308X>;  
eLibrary SPIN: 9130-8111; e-mail: [d.rogatkin@monikiweb.ru](mailto:d.rogatkin@monikiweb.ru)

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author