

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ НАНОПРЕПАРАТОВ: СПОСОБЫ ОЦЕНКИ И АНАЛИЗ РИСКОВ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ В СТОМАТОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

А.В. Блинова, В.В. Корнилова, Е.В. Битюкова, Е.Г. Родионова

ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет» Минздрава России (Тверь, Россия)

Для цитирования: Блинова А.В., Корнилова В.В., Битюкова Е.В., Родионова Е.Г. Токсикологический профиль нанопрепаратов: способы оценки и анализ рисков при применении в стоматологической практике. *Аспирантский вестник Поволжья*. 2022;22(1):17-22. doi: 10.55531/2072-2354.2022.22.1.17-22

■ Сведения об авторах

Блинова А.В. – аспирант кафедры пародонтологии. ORCID: 0000-0002-4315-163X E-mail: blinova-alisa@mail.ru

Корнилова В.В. – студентка 4 курса стоматологического факультета. ORCID: 0000-0003-0967-1612

E-mail: vero.c2013@yandex.ru

Битюкова Е.В. – канд. мед. наук, доцент кафедры пародонтологии. ORCID: 0000-0002-6225-8344 E-mail: bityukova_l@mail.ru

Родионова Е.Г. – канд. мед. наук, доцент кафедры пародонтологии. ORCID: 0000-0003-2308-6620

E-mail: egrodionova@gmail.com

Рукопись получена: 23.02.2022

Рецензия получена: 23.05.2022

Решение о публикации: 02.06.2022

■ Аннотация

На сегодняшний день не представлено достоверных результатов исследований, доказывающих, что наночастицы, в том числе входящие в состав стоматологических материалов, способны провоцировать соматические заболевания или другие негативные эффекты в организме. Однако вследствие форсированного развития индустрии нанопрепаратов происходит повышение интереса к исследованиям их безопасности для человека. Поскольку нанотехнологии и нанопрепараты обладают целым рядом практических преимуществ, нет сомнения, что рынок материалов и препаратов с наночастицами будет расширяться.

В настоящем обзоре проанализированы данные 33 зарубежных источников литературы, посвященных способам оценки токсикологической безопасности нанопрепаратов. Все источники опубликованы в период с 2015 по 2020 гг. и размещены в открытой базе данных PubMed. Проведенный нами обзор поможет оценить возможность и разумность экстраполяции результатов этих исследований на стоматологические материалы, содержащие наночастицы, что, несомненно, представляет интерес не только для научных работников, но и для практикующих врачей.

■ **Ключевые слова:** наночастицы, токсичность, безопасность, наночастицы серебра, клеточная культура.

■ **Конфликт интересов:** не заявлен.

TOXICOLOGICAL PROFILE OF NANOPREPARATIONS: METHODS OF ASSESSMENT AND RISK ANALYSIS FOR DENTAL TREATMENT

Alisa V. Blinova, Veronika V. Kornilova, Elena V. Bityukova, Elena G. Rodionova

Tver State Medical University (Tver, Russia)

Citation: Blinova AV, Kornilova VV, Bityukova EV, Rodionova EG. Toxicological profile of nanopreparations: methods of assessment and risk analysis for dental treatment. *Aspirantskiy vestnik Povolzh'ya*. 2022;22(1):17-22. doi: 10.55531/2072-2354.2022.22.1.17-22

■ Information about authors

Alisa V. Blinova – postgraduate student of the Department of Periodontology. ORCID: 0000-0002-4315-163X E-mail: blinova-alisa@mail.ru

Veronika V. Kornilova – a 4th year student of Faculty of Dentistry. ORCID: 0000-0003-0967-1612 E-mail: vero.c2013@yandex.ru

Elena V. Bityukova – PhD, Associate professor of the Department of Periodontology. ORCID: 0000-0002-6225-8344 E-mail: bityukova_l@mail.ru

Elena G. Rodionova – PhD, Associate professor of the Department of Periodontology. ORCID: 0000-0003-2308-6620 E-mail: egrodionova@gmail.com

Received: 23.02.2022

Revision Received: 23.05.2022

Accepted: 02.06.2022

■ Abstract

For the present, we observe the lack of trustworthy study results on nanoparticles in dental preparations provoking somatic diseases or other negative effects in the body. Nevertheless, due to the accelerated development of the nanopreparation industry, the interest in the research on their safety for humans is high. Since nanotechnology and nanopreparations have a number of practical advantages, there is no doubt that the market for materials and preparations made with nanoparticles will expand.

This review analyzes data from 33 foreign research papers devoted to toxicity assessment of nanopreparations, published in 2015–2020 and obtained through the search in the PubMed open database. Our findings could be helpful for researchers and dentists in evaluating the possibility of extrapolation of the scientific results to the dental preparations containing nanoparticles.

■ **Keywords:** nanoparticles, toxicity, safety, silver nanoparticles, cell culture.

■ **Conflict of interest:** nothing to disclose.

Актуальность

Сегодня в самых различных областях медицины наблюдается рост интереса к нанопрепаратам и технологиям, связанным с применением наноразмерных частиц. Особенно интенсивно нанотехнологии используются в различных разделах стоматологии – имплантологии, эндодонтологии, реставрационной стоматологии – для создания новых материалов и эффективных антисептиков, способных бороться с резистентными оральными микробными биопленками. Как первоначальное воодушевление, так и последующая осторожность по отношению к наночастицам оказались обусловлены в первую очередь их уникальными свойствами. Разумеется, определяющий критерий таких частиц – их размер. С одной стороны, при достижении веществем наноразмерного уровня его биологическая и в том числе антибактериальная активность изменяется. Чаще всего наночастицы начинают проявлять более выраженные полезные свойства, которые могут быть использованы в терапевтических целях. С другой стороны, теоретически наноразмерные структуры способны преодолевать гистологические барьеры (гематоэнцефалический, гематоальвеолярный, гематоплацентарный и др.) более активно, чем крупные частицы. Вследствие форсированного развития индустрии нанопрепаратов представляется актуальным изучение методологии исследований их безопасности для человека.

Способы оценки токсикологической безопасности нанопрепаратов

Было выяснено, что оптимальный размер объектов, подвергающихся клеточному эндоцитозу, равен 25 нм. Путем пиноцитоза поглощаются структуры размером до 300 нм. И если это свойство нанокластеров чрезвычайно заманчиво при разработке систем адресной доставки лекарств, то с точки зрения клиренса в организме оно может вызывать опасения.

Форма частиц также имеет значение. Она определяет площадь контакта частиц с клеточными мембранами, особенности пространственного взаимодействия частиц друг с другом. Например, нанобъекты двусторонне симметричной формы более склонны к образованию конгломератов. Частицы дискоидной формы более активно аккумулируются тканями, а вдыхание углеродных нанотрубок достоверно провоцирует фиброз ткани легких у животных и людей [1]. По результатам ряда лабораторных испытаний, потенциальная цитотоксичность цеолита – минеральных наночастиц с регулярной пористостью – также коррелирует с его «морфологией»: сферические компоненты не вызывают негативной клеточной реакции в отличие от полигональных частиц [2]. Возможно, это связано с наличием поверхностных дефектов и острых углов у последних.

Существует множество методик тестирования безопасности наноматериалов. Международным

«золотым стандартом» является проверка любых новых лекарственных средств на животных. Этот тип исследования позволяет оценить не только летальность препаратов, но и долгосрочные перспективы их применения. Животные модели могут дать исчерпывающее представление о комплексном влиянии веществ на метаболизм, их органоспецифическом действии и особенностях ретенции в различных тканях. Например, подобным путем было выяснено, что частицы оксида кремния размером 100–200 нм депонируются в почках, печени и селезенке, в то время как частицы диаметром 50 нм свободно покидают организм с мочой. Исследования в эксперименте на мышах показали, что квантовые точки селенида кадмия быстро выводятся из печени, но задерживаются в лимфатических узлах на срок до двух лет.

В то же время исследования *in vivo* требуют больших финансовых вложений, сопряжены со значительными временными и трудозатратами. По предварительным оценкам, каждый год во всем мире тратится около 2,8 млрд долларов на содержание лабораторных животных. В последние годы все острее становится и вопрос научной этики. Кроме того, такой вид исследований неприменим для скрининга и оценки токсичности большого количества образцов. Время, необходимое для завершения полной оценки токсичности всех существующих сегодня наноматериалов и препаратов *in vivo*, может составить от 34 до 53 лет. Следовательно, необходимы альтернативные методы.

С одной стороны, ведется поиск более удобных в обращении моделей животных. Например, знакомые всем со школьной скамьи мухи дрозофилы из-за своего небольшого размера, короткого срока жизни, генетической «податливости» и экономичных условий содержания хорошо зарекомендовали себя в качестве объекта для скрининга токсичности химических веществ и наноматериалов. В исследовании 2019 года группой ученых из Сингапура в пищу дрозофил добавлялись наночастицы оксида цинка. Конечные морфологические и цитологические изменения были исследованы гистологически и дополнительно проверены в клеточной культуре фибробластов легких человека с использованием ДНК-тропных красителей [3]. В 2020 году таким же образом была произведена оценка токсичности различных форм наночастиц оксида титана [4]. Личинки и взрослые плодовые мухи могут легко подвергаться воздействию различных концентраций наночастиц не только через пищу, но и путем инъекции, или даже при содержании насекомых в среде с распыленным аэрозолем. Дальнейшие эффекты могут быть оценены как морфологически, так и функционально – на основе таких факторов, как выживаемость и плодовитость. Растущий интерес к использованию дрозофилы в оценке токсичности в конечном счете привел к появлению целой области исследований под названием «дрозофилотоксикология» [5].

Промежуточным звеном между исследованиями *in vitro* и *in vivo* являются эксперименты на животных

эмбрионах. Этот метод позволяет оценить тератогенность препаратов, отследить их генотоксичное действие. Так, для изучения потенциальной опасности наночастиц хитозана – известного противомикробного вещества, которое также успешно используется для адресной доставки лекарств – в различных исследованиях были выбраны эмбрионы тропической рыбы-зебры [6]. Они же помогли оценить воспалительно-коагуляционный ответ и тромботический эффект наночастиц кремния в эндотелиальных клетках [7]. Для этого образцы нанопрепаратов были введены непосредственно в эмбриональные венозные протоки кювье с помощью специальных микроинжекторов.

Клетка, будучи элементарной морфологической и функциональной единицей организма, может также использоваться для выполнения аналитических процедур. В отличие от наблюдений за целым организмом, на клеточном уровне негативная реакция на новый препарат быстро манифестирует и легко регистрируется. Сегодня для исследовательских целей мировыми лабораториями успешно выращиваются десятки клеточных линий. Например, в 2019 году линия мышинных фибробластов 3T3-E1 была выбрана для оценки безопасности наночастиц циркония [8]. Она же ранее была использована немецкими учеными для создания «трехмерных» клеточных культур [9]. По мнению авторов, это позволяет лучше имитировать процессы, происходящие *in vivo*. Трехмерные клеточные модели позволяют объединять различные типы клеток, более точно воспроизводя натуральную ткань. Подобная модель гематоальвеолярного барьера оказалась подходящим инструментом для определения воспалительного потенциала наночастиц TiO_2 и SiO_2 , используемых в лакокрасочной промышленности (токсических эффектов в этом исследовании обнаружено не было) [10].

Существует мнение, в соответствии с которым для проведения адекватных экспериментов в принципе достаточно использовать эпителиальные клетки как пункты «первичного» взаимодействия с нанопрепаратами. Так, эндотелиальные клетки пупочной вены человека являются удобной моделью, используемой во многих исследованиях зарубежных авторов [11, 12].

Оценить наличие воспалительной реакции в клеточной культуре можно, регистрируя выработку воспалительных медиаторов – интерлейкинов, хемокинов, фактора некроза опухоли и др. Эти факторы могут быть определены с помощью соответствующих антител при иммуноферментном анализе (ИФА). Стандартный планшет для ИФА имеет 96 лунок, следовательно, количество одновременно сделанных тестов, по сравнению с исследованиями *in vivo*, значительно возрастает. В настоящее время ведется активная автоматизация данного анализа – обучение искусственного интеллекта интерпретации полученных результатов с помощью больших массивов данных, что позволит еще активнее использовать его для скрининговой оценки цитотоксичности.

Жизнеспособность клеток может быть оценена через их метаболическую активность. Хорошо рекомендовали себя колориметрические и флюоресцентные тесты. Самый распространенный метаболический маркер витальных клеток – митохондриальная дегидрогеназа. Ферменты этой группы способны восстанавливать желтый тетразолиевый краситель в нерастворимый формазан пурпурного цвета. Чем интенсивнее окрашивание, тем выше количество живых клеток в исследуемой культуре. Определить колориметрически можно и факт гибели клетки. Например, метод TUNEL, в котором в качестве красителя используется фермент, связывающийся с разорванными концами ДНК, является надежным способом обнаружения апоптоза. Так было выяснено, что наночастицы оксида титана могут оказывать цитотоксическое воздействие на клетки кишечника и печени [13].

Однако при работе с наноразмерными лекарственными средствами колориметрия может быть недостаточно точна. Частицы могут адсорбироваться на гранулах красителя или продукта окрашивания, искажать длину волны. Эти факты необходимо учитывать при выборе метода оценки безопасности нанопрепарата.

В настоящее время разрабатываются мультипараметрические тестовые системы, позволяющие одновременно оценить несколько факторов жизнедеятельности клетки и тем самым снизить вероятность ошибок. George et al. разработали анализ клеточных реакций на наноматериалы путем комбинирования совместимых по длине волны флюоресцентных зондов, которые обеспечивают распознавание нескольких цитотоксических «событий» [14]. В методике George такими пигментами являются: Hoechst 33342, вызывающий синюю флюоресценцию при связывании с неизмененной нуклеарной ДНК; JC1 – митохондриальный флюоресцентный краситель, при наличии электрического потенциала на мембране нормальной митохондрии краситель формирует внутри нее агрегаты, и при этом происходит сдвиг максимума флюоресценции в красную область; Fluo-4, который используется для измерения концентраций ионов кальция в цитоплазме живых клеток; PI (йодид пропидия), который можно использовать и как самостоятельный метод, потому что он хорошо визуализирует характерную для апоптоза «нарезку» ДНК на мелкие фрагменты.

После добавления красителей пластины с культурами загружают в автоматизированный эпифлюоресцентный микроскоп. Изображения, полученные в волнах разной длины, могут быть объединены в одно для демонстрации комплексного результата. Кроме того, на основании различий в накоплении красителей можно построить наглядную схему клетки – ее ядерного, цитоплазматического, митохондриального компонента. Весь анализ проводится автоматически, с помощью компьютерных программ.

В целом имеет значение не только то, какие объекты и маркеры выбираются учеными для оценки

токсического эффекта, но и тип воздействия исследуемого препарата на экспериментальное животное или культуру клеток. Наночастицы могут быть введены перорально или внутривенно, их растворы могут быть добавлены в состав культуральной среды или позиционированы на ячейках планшета временно, а затем смыты. Исследовательские практики чрезвычайно разнообразны. Наиболее легко проследить «детективный след» наночастиц серебра – этому металлу посвящено больше всего работ по токсикологии, и зачастую в них демонстрируются диаметрально противоположные результаты. В чем же причина таких различий?

Еще со времен, когда наноматериалы применялись только в промышленности, вызывала опасения в первую очередь седиментация частиц на эпителии дыхательных путей [15]. Исследование 2009 года, в котором фибробласты легких обрабатывались коллоидным раствором металлического серебра, показало повреждение ДНК клеток при отсутствии массивного апоптоза [16]. В 2013 году для проверки токсичности серебра по отношению к альвеолоцитам наночастицы распыляли на клеточную культуру в виде аэрозоля [17]. При этом анализ показал, что такой способ нанесения наночастиц демонстрировал минимальную цитотоксичность и очень слабую воспалительную реакцию. Еще больше нивелировать негативный эффект наноаэрозоля помогли искусственные заменители сурфактанта [18]. Можно предположить, что естественный легочный сурфактант обладает таким же действием.

Ретенция и цитологические эффекты наночастиц серебра в других тканях организма также изучаются с помощью клеточных культур, в том числе и на клетках с объемным микроокружением. Так, сфероиды гепатоцитов, имитирующие печеночную ткань, культивировались в растворах наночастиц серебра [19]. Было показано, что клетки в 3D-модели менее чувствительны к токсическому воздействию наночастиц по сравнению с многослойными 2D-культурами. Известно, что трехмерные культуры клеток более точно отражают процессы, происходящие в организме, поскольку такое пространственное расположение характерно как для тканей самого организма, так и для микробной биопленки. После 6-часовой инкубации клетки с поврежденной мембраной обнаруживали лишь на периферии сфероида. Это может объясняться затрудненной диффузией частиц вглубь объемной культуры. Похожие результаты были получены при исследовании влияния серебра на EpiKutis® – трехмерную модель эпителия [20]. Обработка «плоскостной» культуры кератиноцитов приводила к дозозависимому снижению жизнеспособности клеток – в среде обнаруживался цитозольный фермент лактатдегидрогеназа (ЛДГ), что происходит при повреждении клеточной мембраны и утечке цитоплазмы. В это же время при обработке поверхности трехмерной культуры количество

внеклеточной ЛДГ не увеличивалось даже при самой высокой концентрации наночастиц серебра.

Искусственные тканевые модели активно применяются и для анализа способности наночастиц преодолевать биологические барьеры. Например, для исследования переноса наночастиц серебра через плаценту в качестве модели используется клеточная линия хориокарциномы человека. Исследование 2020 года показало, что даже при концентрации серебра 1 мг/л его частицы едва ли достигали глубоких слоев экспериментальной «плаценты» [21]. Из ко-культуры гастроинтестинальных клеток, а также пищеварительных соков ученые составили модель желудочно-кишечного тракта человека [22]. Выяснилось, что после воздействия слюны, желудочного и кишечного содержимого степень поглощения наночастиц серебра клетками значительно уменьшалась.

Гематоэнцефалический барьер надежно защищен от интервенции благодаря особой межклеточной организации. Особенностью сосудов головного мозга является наличие плотных контактов между эндотелиальными клетками. В большинстве тканей сосудистая стенка имеет фенестрации диаметром около 50 нм и межклеточные щели от 100 до 1000 нм. Эндотелиальная выстилка капилляров мозга является сплошной и промежутков не содержит. Кроме того, в состав барьера входят дополнительные защитные элементы – клетки нейроглии. Эти особенности были показаны на модели, состоящей из эндотелиальных клеток пупочной вены и церебральных эндотелиоцитов [23].

Исследования *in vivo* не теряют популярности и проводятся по всему миру. Например, бельгийские ученые для исследования потенциальной опасности наночастиц серебра использовали нетривиальную животную модель – беспозвоночных планарий. Согласно полученным данным, недельное обитание червей в растворе наночастиц негативно влияло на скорость и качество регенеративных процессов [24]. Похожий эксперимент был проведен иранскими учеными. В аквариум с мелкими фильтрующими ракообразными – дафниями (*D. magna*) – на 48 часов добавлялись растворы наночастиц серебра различных концентраций [25]. Изменения в характере движения и смертность дафний в каждом тестовом стакане оценивали с помощью микроскопа, оснащенного цифровой камерой. Кроме того, регистрировалось любое видимое поглощение и адсорбция наноматериала. При концентрациях не более 0,003 мг/л частицы серебра индуцировали аномальное поведение дафний (замедление, неустойчивое плавание, миграция к поверхности воды или на дно сосуда), но не их гибель.

В исследовании специалистов Московского государственного университета уже знакомые нам эмбрионы рыбок-зебр развивались в лунках, полностью заполненных экспериментальными растворами наночастиц серебра, в течение 20 дней [26].

Неудивительно, что по прошествии срока органогенеза все образцы оказались токсичными и вызывали либо гибель эмбрионов, либо пороки их развития – укорочение длины тела, мальформацию хвоста, отек стенки перикарда.

Что касается исследований на позвоночных, то наиболее распространенным объектом исследования являются грызуны. При добавлении серебра в пищу, принимаемую крысами в течение месяца, наночастицы обнаруживаются в печени и селезенке в течение 8 недель [27]. Мышам растворы серебра иногда вводятся и внутривенно [28]. При этом наблюдаются изменения в тканях головного мозга, сердца, легких, почек и яичек. А. Khan et al. в ходе исследования влияния наночастиц серебра (AgNPs) на кардиомиоциты крыс выявили, что эти изменения происходят вследствие генерации активных форм кислорода и опосредованной митохондриальной дисфункции. В связи с этим длительное поступление AgNPs через кровяное русло может привести к серьезным осложнениям в тканях сердца [29]. Цитотоксичность наночастиц серебра при регулярном внутрисосудистом введении отмечалась и на клетках поднижнечелюстных слюнных желез. У лабораторных крыс, которым в течение 28 дней делали инъекции раствора наночастиц серебра, регистрировались дегенеративные изменения в ацинусах и протоках желез, что проявлялось в первую очередь в виде вакуолизации цитоплазмы [30].

Не до конца понятно, могут ли результаты исследования с таким дизайном соотноситься с эффектом наночастиц серебра, которые поступают (и поступают ли?) в кровеносное русло не напрямую, а из стоматологических пломбировочных материалов или средств для ирригации корневых каналов.

Современная промышленность выпускает пломбировочные материалы, в состав которых включены наночастицы серебра. При пломбировании кариозных полостей в пришеечной области такая композиционная смола не оказывает существенного неблагоприятного воздействия на фибробласты десны, поскольку концентрация ионов серебра, выделяемых в окружающие ткани, очень мала [31]. Также для нужд терапевтической стоматологии выпускаются гуттаперчевые штифты, покрытые наночастицами серебра. Исследования показали, что нет никакой разницы в реакции периодонта на наноимпрегнированную и стандартную гуттаперчу [32]. V. Zand и M. Lotfi в эксперименте на самцах крыс показали, что модифицированные наночастицами серебра пасты для временного пломбирования корневых каналов зубов также не оказывают альтернирующего действия на окружающие ткани [33]. В гистологических препаратах эпителия животных, в подкожную клетчатку которых были имплантированы стерильные полиэтиленовые трубки, заполненные серебросодержащими препаратами МТА (минерал триоксид агрегат), клеток, участвующих в развитии воспалительной реакции, обнаружено не было.

Заключение

Резюмируя многочисленные данные о достижениях нанотоксикологии и вопросах, которые она ставит перед исследователями, можно прийти к выводу, что в научном сообществе до сих пор нет единого мнения о безопасности введения наночастиц в состав терапевтических стоматологических средств. Эта заманчивая область знаний, как любой другой технологический прорыв, вызывает и интерес, и опасения. Как версии о безвредности наночастиц, так и мнения об их цито- и органотоксичности высказываются с осторожностью.

Важно понимать, что любые из существующих сегодня методов оценки безопасности лекарственных препаратов не лишены недостатков. Это подчеркивает необходимость тщательной проработки дизайна исследований, выбора объекта, характера воздействия на него, регистрируемых маркеров. Могут ли наночастицы, входящие в состав пасты для временного пломбирования корневых каналов зубов, нанести такой же вред, как их суспензия, введенная в венозное глазничное сплетение белой мыши? Достаточно ли случайно проглотить несколько миллиграммов зубной пасты с наносеребром, чтобы вызвать такое же поражение бокаловидных клеток кишечника, как при 48-часовой культивации их в среде, содержащей высокие концентрации этих частиц?

Получаемые в ходе лабораторных экспериментов результаты могут быть показательными, но при этом недостаточно адекватно отражать процессы, происходящие в организме человека. При их интерпретации следует избегать поспешных выводов, излишней паники и предвзятости по отношению к новым материалам. Чтобы принимать рациональные решения, важно найти разумный баланс. И разработка мультифакторных колориметрических систем, трехмерных клеточных моделей и высокоинтеллектуального программного обеспечения, безусловно, помогут это сделать.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Литература / References

1. Dong J, Ma Q. Macrophage polarization and activation at the interface of multi-walled carbon nanotube-induced pulmonary inflammation and fibrosis. *Nanotoxicology*. 2018;12(2):153-168. doi: 10.1080/17435390.2018.1425501
2. Derakhshankhah H, Jafari S, Sarvari S, et al. Biomedical Applications of Zeolitic Nanoparticles, with an Emphasis on Medical Interventions. *Int J Nanomedicine*. 2020;15:363-386. doi: 10.2147/IJN.S234573
3. Ng CT, Ong CN, Yu LE, et al. Toxicity Study of Zinc Oxide Nanoparticles in Cell Culture and in *Drosophila melanogaster*. *J Vis Exp*. 2019;(151):10.3791/59510. doi: 10.3791/59510
4. Demir E. An in vivo study of nanorod, nanosphere, and nanowire forms of titanium dioxide using *Drosophila melanogaster*: toxicity, cellular uptake, oxidative stress, and DNA damage. *J Toxicol Environ Health A*. 2020;83(11-12):456-469. doi: 10.1080/15287394.2020.1777236
5. Demir E. *Drosophila* as a model for assessing nanopesticide

- toxicity. *Nanotoxicology*. 2020;14(9):1271-1279. doi: [10.1080/17435390.2020.1815886](https://doi.org/10.1080/17435390.2020.1815886)
6. Abou-Saleh H, Younes N, Rasool K, et al. Impaired Liver Size and Compromised Neurobehavioral Activity are Elicited by Chitosan Nanoparticles in the Zebrafish Embryo Model. *Nanomaterials (Basel)*. 2019;9(1):122. doi: [10.3390/nano9010122](https://doi.org/10.3390/nano9010122)
 7. Duan J, Liang S, Yu Y, et al. Inflammation-coagulation response and thrombotic effects induced by silica nanoparticles in zebrafish embryos. *Nanotoxicology*. 2018;12(5):470-484. doi: [10.1080/17435390.2018.1461267](https://doi.org/10.1080/17435390.2018.1461267)
 8. Ye M, Shi B. Zirconia Nanoparticles-Induced Toxic Effects in Osteoblast-Like 3T3-E1 Cells. *Nanoscale Res Lett*. 2018;13(1):353. doi: [10.1186/s11671-018-2747-3](https://doi.org/10.1186/s11671-018-2747-3)
 9. Sambale F, Lavrentieva A, Stahl F, et al. Three dimensional spheroid cell culture for nanoparticle safety testing. *J Biotechnol*. 2015;205:120-129. doi: [10.1016/j.jbiotec.2015.01.001](https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2015.01.001)
 10. Kuehn A, Kletting S, de Souza Carvalho-Wodarz C, et al. Human alveolar epithelial cells expressing tight junctions to model the air-blood barrier. *ALTEX*. 2016;33(3):251-260. doi: [10.14573/altex.1511131](https://doi.org/10.14573/altex.1511131)
 11. Cao Y, Gong Y, Liu L, et al. The use of human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) as an in vitro model to assess the toxicity of nanoparticles to endothelium: a review. *J Appl Toxicol*. 2017;37(12):1359-1369. doi: [10.1002/jat.3470](https://doi.org/10.1002/jat.3470)
 12. Cao Y. The Toxicity of Nanoparticles to Human Endothelial Cells. *Adv Exp Med Biol*. 2018;1048:59-69. doi: [10.1007/978-3-319-72041-8_4](https://doi.org/10.1007/978-3-319-72041-8_4)
 13. Abbasi-Oshaghi E, Mirzaei F, Pourjafar M. NLRP3 inflammasome, oxidative stress, and apoptosis induced in the intestine and liver of rats treated with titanium dioxide nanoparticles: in vivo and in vitro study. *Int J Nanomedicine*. 2019;14:1919-1936. doi: [10.2147/IJN.S192382](https://doi.org/10.2147/IJN.S192382)
 14. George S, Pokhrel S, Xia T, et al. Use of a rapid cytotoxicity screening approach to engineer a safer zinc oxide nanoparticle through iron doping. *ACS Nano*. 2010;4(1):15-29. doi: [10.1021/nn901503q](https://doi.org/10.1021/nn901503q)
 15. Bierkandt FS, Leibrock L, Wagener S, et al. The impact of nanomaterial characteristics on inhalation toxicity. *Toxicol Res (Camb)*. 2018;7(3):321-346. doi: [10.1039/c7tx00242d](https://doi.org/10.1039/c7tx00242d)
 16. Asha Rani PV, Low Kah Mun G, Hande MP, Valiyaveetil S. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells. *ACS Nano*. 2009;3(2):279-290. doi: [10.1021/nn800596w](https://doi.org/10.1021/nn800596w)
 17. Holder AL, Marr LC. Toxicity of silver nanoparticles at the air-liquid interface. *Biomed Res Int*. 2013;2013:328934. doi: [10.1155/2013/328934](https://doi.org/10.1155/2013/328934)
 18. Sweeney S, Leo BF, Chen S, et al. Pulmonary surfactant mitigates silver nanoparticle toxicity in human alveolar type-I-like epithelial cells. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2016;145:167-175. doi: [10.1016/j.colsurfb.2016.04.040](https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.04.040)
 19. Senyavina NV, Gerasimenko TN, Pulkova NV, Maltseva DV. Transport and Toxicity of Silver Nanoparticles in HepaRG Cell Spheroids. *Bull Exp Biol Med*. 2016;160(6):831-834. doi: [10.1007/s10517-016-3321-6](https://doi.org/10.1007/s10517-016-3321-6)
 20. Chen L, Wu M, Jiang S, et al. Skin Toxicity Assessment of Silver Nanoparticles in a 3D Epidermal Model Compared to 2D Keratinocytes. *Int J Nanomedicine*. 2019;14:9707-9719. doi: [10.2147/IJN.S225451](https://doi.org/10.2147/IJN.S225451)
 21. Abdelkhalik A, van der Zande M, Peters RJB, Bouwmeester H. Combination of the BeWo b30 placental transport model and the embryonic stem cell test to assess the potential developmental toxicity of silver nanoparticles. *Part Fibre Toxicol*. 2020;17(1):11. doi: [10.1186/s12989-020-00342-6](https://doi.org/10.1186/s12989-020-00342-6)
 22. Abdelkhalik A, van der Zande M, Undas AK, et al. Impact of in vitro digestion on gastrointestinal fate and uptake of silver nanoparticles with different surface modifications. *Nanotoxicology*. 2020;14(1):111-126. doi: [10.1080/17435390.2019.1675794](https://doi.org/10.1080/17435390.2019.1675794)
 23. Sokolowska P, Białkowska K, Siatkowska M, et al. Human brain endothelial barrier cells are distinctly less vulnerable to silver nanoparticles toxicity than human blood vessel cells: A cell-specific mechanism of the brain barrier? *Nanomedicine*. 2017;13(7):2127-2130. doi: [10.1016/j.nano.2017.05.015](https://doi.org/10.1016/j.nano.2017.05.015)
 24. Leynen N, Van Bellegheem FGAJ, Wouters A, et al. In vivo Toxicity Assessment of Silver Nanoparticles in Homeostatic versus Regenerating Planarians. *Nanotoxicology*. 2019;13(4):476-491. doi: [10.1080/17435390.2018.1553252](https://doi.org/10.1080/17435390.2018.1553252)
 25. Asghari S, Johari SA, Lee JH, et al. Toxicity of various silver nanoparticles compared to silver ions in *Daphnia magna*. *J Nanobiotechnology*. 2012;10:14. doi: [10.1186/1477-3155-10-14](https://doi.org/10.1186/1477-3155-10-14)
 26. Abramenko N, Demidova TB, Krutyakov YA, et al. The effect of capping agents on the toxicity of silver nanoparticles to *Danio rerio* embryos. *Nanotoxicology*. 2019;13(1):1-13. doi: [10.1080/17435390.2018.1498931](https://doi.org/10.1080/17435390.2018.1498931)
 27. van der Zande M, Vandebriel RJ, Van Doren E, et al. Distribution, elimination, and toxicity of silver nanoparticles and silver ions in rats after 28-day oral exposure. *ACS Nano*. 2012;6(8):7427-7442. doi: [10.1021/nn302649p](https://doi.org/10.1021/nn302649p)
 28. Moradi-Sardareh H, Basir HRG, Hassan ZM, et al. Toxicity of silver nanoparticles on different tissues of Balb/C mice. *Life Sci*. 2018;211:81-90. doi: [10.1016/j.lfs.2018.09.001](https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.09.001)
 29. Khan AA, Alanazi AM, Alsaif N, et al. Potential cytotoxicity of silver nanoparticles: Stimulation of autophagy and mitochondrial dysfunction in cardiac cells. *Saudi J Biol Sci*. 2021;28(5):2762-2771. doi: [10.1016/j.sjbs.2021.03.021](https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.03.021)
 30. Bakr MM, Al-Ankily MM, Shogaa SM, Shamel M. Attenuating Effect of Vitamin E against Silver Nano Particles Toxicity in Submandibular Salivary Glands. *Bioengineering (Basel)*. 2021;8(12):219. doi: [10.3390/bioengineering8120219](https://doi.org/10.3390/bioengineering8120219)
 31. Ai M, Du Z, Zhu S, et al. Composite resin reinforced with silver nanoparticles-laden hydroxyapatite nanowires for dental application. *Dent Mater*. 2017;33(1):12-22. doi: [10.1016/j.dental.2016.09.038](https://doi.org/10.1016/j.dental.2016.09.038)
 32. Mozayeni MA, Dianat O, Tahvildari S, et al. Subcutaneous Reaction of Rat Tissues to Nanosilver Coated Gutta-Percha. *Iran Endod J*. 2017;12(2):157-161. doi: [10.22037/iej.2017.31](https://doi.org/10.22037/iej.2017.31)
 33. Zand V, Lotfi M, Aghbali A, et al. Tissue Reaction and Biocompatibility of Implanted Mineral Trioxide Aggregate with Silver Nanoparticles in a Rat Model. *Iran Endod J*. 2016;11(1):13-16. doi: [10.7508/iej.2016.01.003](https://doi.org/10.7508/iej.2016.01.003)

■ Автор для переписки

Блинова Алиса Владимировна
Адрес: Тверской государственный медицинский университет,
ул. Советская, 4, г. Тверь, Россия, 170000.

■ Corresponding Author

Alisa V. Blinova
Address: Tver State Medical University, 4 Sovetskaya st.,
Tver, Russia, 170000.

E-mail: blinova-alisa@mail.ru