

РОЗДІЛ 4. ТОКСИЧНІСТЬ НАНОЧАСТИНОК

4.1. Чинники, що впливають на токсичність наночастинок

Наночастинки мають велике значення в розробленні та дослідженнях через їх застосування в промисловості та біомедицині. Розроблення наночастинок потребує належного знання їх виготовлення, взаємодії, вивільнення, розподілу, цілі, сумісності та функцій [1; 4]. Ступінь, до якого індукується токсичність, залежить від деяких властивостей, зокрема природи та розміру наночастинок, площі поверхні, форми, співвідношення сторін, покриття поверхні, кристалічності, розчинення та агломерації.

Нанотоксикологія – це аспект нанонауки, який займається вивченням несприятливого впливу сконструйованих наноматеріалів або наночастинок на живі організми. Дедалі більше застосування сконструйованих наночастинок у біомедичній галузі спричинило серйозні занепокоєння щодо їх безпеки для людей. Наночастинки широко використовують як нанолікарські засоби та наноносії лікарських засобів завдяки невеликому розміру та винятковим властивостям [27; 81]. Однак їх розмір [20], морфологія, поверхневі функціональні групи [64] та дозозалежні властивості [18] також можуть бути відповідальними за їх токсичність щодо нормальних, здорових клітин, тканин і органів [74].

Кілька досліджень показали, що хімічно синтезовані NPs мають високу токсичність для клітин людини та тварин через присутність синтетичних хімічних речовин як поверхневих функціональних та укупорювальних агентів, порівняно з біосинтезованими наночастинами, які мають біосумісні поверхневі функціональні групи [39]. Навпаки, деякі біосинтезовані наночастинки також виявляють токсичність під час реакції з клітинами, розпадаючись на простіші форми або внаслідок накопичення [57; 65]. Сфера нанотоксикології спрямована на виявлення потенційних небезпек, корисних для оцінювання безпеки нанолікарських засобів [75].

Зі зменшенням розміру наночастинок відношення площі поверхні до об'єму експоненціально збільшується, що підвищує біологічну та хімічну реакційну здатність [41]. Наприклад, коли розмір NPs зменшувався з 30 до 3 нм, кількість експресованих поверхневих молекул збільшувалася з 10 до 50 % [59].

Цитотоксичність наноматеріалів є результатом взаємодії між поверхнею наноматеріалу та клітинними компонентами [3]. Отже, навіть коли наночастинки мають однаковий хімічний склад, вони можуть мати різний рівень цитотоксичності залежно від площі поверхні та розміру частинок, тобто NPs мають вищу токсичність порівняно з більшими частинками з подібним складом [7].

У разі введення інгаляцією наночастинки різних розмірів демонстрували специфічні закономірності розподілу в дихальних шляхах. Braakhuis та ін. [15] показали залежне від розміру запалення легенів після інгаляції NPs срібла розміром 15 і 410 нм. NPs, що вдихаються, видалялися недостатньо порівняно з великими частинками через механізми очищення макрофагів у легенях, що могло спричинити пошкодження легенів.

Поглинання наночастинок з шлунково-кишкового тракту є багатоступеневим процесом; функція взаємодії шару слизу, ентероцити контактують і асимілюються через клітинний вхід або параклітинний транспорт [31]. NPs розміром менше 100 нм поглинаються клітинами кишечника, на відміну від більших NPs (300 нм) [38]. Поглинання менших NPs (100 нм) в лімфатичних тканинах вище, ніж у клітинах кишечника [38]. Хоча деякі дослідження стверджували інше, ендцитоз залишається основним механізмом, переважно поширеним для поглинання NPs в епітеліальні клітини кишечника.

Форма є важливим чинником наночастинок, яка визначає їх біологічну реакційну здатність і токсичність. Типовими формами наночастинок є сфера, циліндр, куб, лист або стрижень. Форма наночастинок важлива для визначення її поглинання клітинами. Виявлено, що нанопластили срібла є шкідливішими, ніж наносфери срібла в ембріонах риби даніо (*Danio rerio*) [53]. Сферичні наночастинки захоплюються в клітинах у більшій кількості порівняно з іншими формами [17]. Голкоподібні наночастинки демонструють більшу токсичність, ніж наночастинки сферичної форми, через їх покращені множинні ендоцитарні механізми, швидкість інтерналізації та ефективнішу адгезію до поверхні клітини-мішені [51].

Співвідношення розмірів наночастинок – це відношення ширини до висоти. Чим більше співвідношення сторін NPs, тим вище токсичність NPs [27]. Токсичність, що залежить від

аспектного співвідношення, зазвичай спостерігається в легенях. Нановолокна товщиною приблизно 150 нм і довжиною 2, 5 і 10 мкм демонструють азбестоз, мезотеліому та рак легенів відповідно [52].

Тип кристалічної структури може впливати на токсичність наноматеріалів. Поліморфи, різні кристалічні структури одного і того самого хімічного складу виявляли різні хімічні та фізичні властивості [78].

Поверхневі покриття наночастинок наносять з метою модифікації їх властивостей. Поверхня частинки («ядро») покрита різноманітними шарами («оболонкою»). Метою поверхневого покриття може бути адаптація його стабільності, змочуваності, розчинення або функціональності. Поверхневе покриття може перетворити шкідливі частинки на нетоксичні, тимчасом менш шкідливі частинки можуть стати більш токсичними через біодоступність [54].

Здатність наночастинок до розчинення є важливою властивістю, яка визначає безпеку, поглинання та пов'язаний з ними токсичний механізм. Два однакових NPs подібного складу та розміру можуть мати абсолютно різну поведінку під час розчинення, залежно від різної модифікації поверхні [29]. Наночастинки, які здійснюють розчинення середовища до поглинання організмами, зазвичай мають прозорі іонні канали та іонні транспортери як переважний шлях проникнення в клітину.

Наноматеріали, ймовірно, агрегують у розчині через їх високу вільну поверхневу енергію [46]. Щоб уникнути агрегації, наноматеріали екранують захисними агентами. Токсичність наноматеріалів також залежить від того, відбулася агрегація чи ні. Агрегація наночастинок може бути потенційним індуктором запальних станів легенів у людей [12]. Токсичність наноматеріалів, що залежить від агрегації, частіше спостерігається у вуглецевих нанотрубках і оксидних наночастинках.

4.2. Окиснювальний стрес як загальний механізм, спричинений наночастинками

Загальний механізм, за допомогою якого наночастинки оксиду металу спричиняють токсичність, є спільною функцією їх властивостей та відповідної здатності індукувати АФК і

спричиняти токсичність для клітин, генів і нейронів [2].

Окиснювальний стрес є одним з найбільш поширених стресів, які наночастинки зумовлюють після впливу на клітинному рівні. Окиснювальний стрес можна широко визначити як відсутність балансу між активністю антиоксидантів і виробленням окисників [24; 73]. Стан оксидативного стресу виникає через збільшення виробництва АФК, що має перевагу над антиоксидантами [37; 14]. АФК зазвичай виробляють у вигляді побічних продуктів біохімічних реакцій, зокрема нейтрофільний фагоцитоз, ферментативний метаболізм цитохрому P450 і мітохондріальне дихання [25], і зазвичай містять пероксинітрит (ONOO^-), оксид азоту (NO), гідроксил радикал ($\cdot\text{OH}$), пероксид гідрогену (H_2O_2) і супероксидний радикал ($\text{O}_2^{\cdot-}$) [25]. АФК атакують нуклеїнові кислоти, білки, ліпіди та більшість життєво важливих біомолекул, що може призвести до активації NADPH-подібної системи, порушення ланцюга транспортування електронів, деполяризації мітохондріальної мембрани та пошкодження мітохондріальної структури [36].

Окиснювальний стрес створює значні негативні ефекти за використання наночастинок, оскільки він може генерувати окиснювачі та мати здатність стимулювати утворення АФК частково в результаті відносної стабільності проміжних вільних радикалів, які виникають на реакційноздатних поверхнях частинок [5]. Водночас відбувається індукована наночастинками клітинна відповідь [70]. Такий дисбаланс, зумовлений наночастинками, прямо чи опосередковано може призвести до різких ефектів, що сприяє цитотоксичності [58]. АФК, індукована NPs, можуть спричиняти пошкодження генетичних матеріалів, зокрема спричиняти перехресне зшивання ДНК, розрив ланцюга ДНК і генетичні мутації. NPs також можуть збільшити продукцію АФК, активуючи запальні клітини, зокрема нейтрофіли [44].

Наприклад NPs оксиду цинку (ZnONPs), які широко застосовують для різних цілей, починаючи від наповнювачів, компонентів кремів, порошків, стоматологічних кремів, поглиначів УФ-випромінювання та біосенсорів, здатні призвести до оксидативного стресу, а також пошкодження клітин [45].

Наночастинки срібла (AgNPs), які мають чудову антимікробну активність, здатні проявляти цитотоксичні властивості через

оксидативний стрес. Повідомляється про дію AgNPs на *Candida albicans* та генерацію опосередкованим оксидативним стресом запрограмованої їх загибелі через накопичення внутрішньоклітинних АФК, що призводить до зміни ультраструктури, клітинної морфології, вмісту ергостеролу, мембранного мікросередовища та плинності мембрани [62]. Те саме стосується наночастинок золота (AuNPs), які широко використовують у лікуванні раку. Однак існують повідомлення, що ці наночастинок мають спричинену окисним стресом цитотоксичність на кількох клітинних лініях, зокрема клітини HeLa, HepG2 та PMBC [26].

Керамічні NPs, які зазвичай використовують для доставлення ліків, зумовлюють оксидативний стрес, що призводить до цитотоксичності в мозку, серці, печінці та легенях, а також мають канцерогенні та тератогенні властивості [69]. Показано, що наночастинок кремнезему (SiNPs) ініціюють залежний від часу і дози дисбаланс NO/NOS і оксидативний стрес, що призводить до запалення та дисфункції ендотелію [34].

4.3. Біохімічні та молекулярні механізми цитотоксичності наночастинок

Крім цитотоксичності, спричиненої генерацією АФК, цитотоксичність, спричинена наночастинками, може бути зумовлена різними фізико-хімічними, біохімічними та молекулярними механізмами.

4.3.1. Фізико-хімічні механізми

Як зазначалося раніше, розмір частинок може спричиняти цитотоксичність, оскільки менші наночастинок зазвичай мають більшу площу поверхні, що дає змогу взаємодіяти з компонентами клітин, зокрема вуглеводами, жирними кислотами, білками та нуклеїновими кислотами. Крім того, ці дуже маленькі наночастинок мають більшу ймовірність проникнення в клітини, що призводить до їх пошкодження [40].

Аналіз цитотоксичності класифікують як тести *in vivo* та *in vitro*. Аналіз токсичності *in vivo* (аналіз на основі клітин) замає багато часу, дорогий і пов'язаний з етичними питаннями. Тимчасом тести на токсичність *in vitro* (аналіз на основі клітинної

культури) є швидшими, зручнішими, дешевшими та позбавленими будь-яких етичних проблем. Завдяки цим перевагам аналізи *in vitro* є пріоритетними для оцінювання токсичності більшості наноматеріалів. Методи *in vitro* охоплюють підходи для оцінювання цілісності клітинної мембрани та метаболічної активності життєздатних клітин. Оцінювання цілісності клітинної мембрани є одним із найпоширеніших підходів до вимірювання життєздатності клітин [28].

Jiang et al. [40] констатують, що кристалічний тип має значний вплив на цитотоксичність, а аморфний TiO_2 є найбільш цитотоксичною формою. Було також виявлено, що форма частинок безпосередньо впливає на цитотоксичність. Паличковидні NPs Fe_2O_3 характеризуються більшою цитотоксичністю, ніж такі самі частинки сферичної форми для клітин лінії мишачого макрофага (RAW 264.7), а також мають вищий рівень некрозу, та збільшення продукції АФК [50].

Наночастинки CeO_2 зі стрижневою формою дають значне виділення чинника некрозу пухлини-альфа (TNF) у клітинних лініях макрофагів мишей, тимчасом жодна форма кубічної або октаедрової форми не може дати значних реакцій [30].

Поверхневий заряд частинок також може впливати на клітинне поглинання та їх взаємодію з біомолекулами та органелами, у такий спосіб безпосередньо впливаючи на цитотоксичність, водночас вона зростає із збільшенням заряду поверхні. Дослідженнями на клітинній лінії гепатоми людини (BEL-7402) для кількох NPs заліза з різними поверхневими зарядами доведено, що більш позитивний заряд NPs має більше електростатичної взаємодії з клітинами, що призводить до більшого поглинання ендоцитами [42]. Це корелювало з іншим дослідженням, у якому автори дійшли висновку, що позитивно заряджені ZnONPs зумовлюють більшу цитотоксичність у клітинах A549, ніж частинки з негативними зарядами, незважаючи на подібні розмір і форму [11], що пов'язують із взаємодією частинок позитивних зарядів з молекулами глікозаміногліканів (які заряджені негативно) у клітинній мембрані ссавців, що призводить до більшої інтерналізації NPs [22]. NPs з позитивним зарядом здатні взаємодіяти з негативним зарядом ДНК, що призводить до пошкодження ДНК.

Дендримери – наночастинки, які широко використовують у комерційних цілях для доставлення ліків, генів і siRNA. Водночас аніонні дендримери мають низьку токсичність порівняно з катіонними, знижують цілісність і проникність клітин, а також взаємодіють з ліпідними двошаровими біологічними мембранами [72]. Дендримери PAMAM мають цитотоксичну дію, оскільки їх поверхневі аміногрупи надають катіонний заряд, який за ендоцитозу призводить до пошкодження ДНК та мітохондрій, оксидативного стресу і, як результат, апоптозу [49].

4.3.2. Молекулярні та біохімічні механізми

Зміни Ca^{2+} (внутрішньоклітинного кальцію) є основною причиною цитотоксичності, індукованої NPs і пов'язаної з енергетичним дисбалансом, метаболічними та клітинними дисфункціями [35]. Хоча Ca^{2+} є однією з основних сигнальних молекул, які беруть участь у передачі клітинного сигналу, регуляції клітинного метаболізму та виробленні енергії, збільшення його концентрації має прямий токсичний вплив на мітохондрії. У мітохондріях селективним вивільненням цитохрому c або збільшенням генерації АФК, відкриваються внутрішні пори мембран, що призводить до загибелі клітин [43].

ZnONPs збільшують вміст іонів Ca^{2+} і приплив позаклітинного кальцію, зумовлюють руйнування мембран через активацію процесів ПОЛ, утворення малонового діальдегіду (MDA), що спричиняє цитотоксичність і порушення гемостазу [77]. Зниження потенціалу мітохондріальної мембрани після впливу наночастинок ZnO на клітини альвеолярної аденокарциноми (A549) та епітеліальних клітин бронхів (BEAS-2B) людей вказує на вищий ризик раннього апоптозу [48]. Наночастинки Bi_2O_3 зумовлюють низький потенціал мітохондріальної мембрани разом із більшим співвідношенням експресії генів *bax/bcl-2*, індукуючи апоптоз клітин.

Зв'язування білків з наночастинок оксиду металів, такими як FeO, SiO₂, TiO₂ або ZnO, може призвести до денатурації білка або незначних змін у їх конформації, водночас білки незворотно зв'язуються з NPs [66]. Крім того, іони Cu та Zn інактивують деякі металопротеїни зміщенням у них іонів металу [19].

4.3.3. *Порушення клітинного циклу*

Поділ клітини складається з двох послідовних прогресів, мітоз (М), який є ядерним поділом і міжфазним процесом, зокрема фази G1, G2 і S. Реплікація ДНК відбувається у фазі S, їй передують фази G1, у межах якої клітини готуються до синтезу ДНК. Потім іде фаза G2, в якій клітини готуються до М. Клітини всередині фази G1 можуть перейти в стан спокою, відомий як G0, який відповідає за більшу частину непроліферуючих і незростаючих клітин [76].

Доведено, що цитотоксичний ефект наночастинок може призвести не лише до загибелі клітини, але й до пригнічення проліферації клітин, що відбувається, коли клітини зупиняються принаймні в одній фазі клітинного циклу (фаза G2/М, фаза S або G0/G1 фаза). Клітини, затримані в межах клітинного циклу, або накопичують багато пошкоджень, що призводять до апоптозу, або фіксують пошкодження [35].

4.3.4. *Генотоксичність наночастинок*

Механізми генотоксичності, пов'язаної з наночастинами, переважно обумовлені надлишковим виробництвом реактивних видів нітрогену (RNS) і АФК, що призводить до посилення оксидативного стресу і, отже, до пошкодження генетичного матеріалу [8; 10]. Опосередковане NPs виробництво АФК та RNS може бути обумовлено внутрішньою продукцією, взаємодією з клітиною-мішенню та/або запальною реакцією. Результатом пошкодження генетичного матеріалу може стати пряма або непряма первинна кластрогенна або вторинна (аневгенна і продукція аддуктів ДНК) генотоксичність [13; 47]. Первинна токсичність виникає внаслідок взаємодії самих NPs з ДНК, тимчасом за вторинної генотоксичності генетичне пошкодження виникає унаслідок АФК/RNS, що виробляються/переносяться NPs. За непрямого первинного кластрогенного механізму екзоциклічні аддукти ДНК виробляються за допомогою ненасичених альдегідів, що утворюються в результаті опосередкованого АФК первинного окиснення ліпідів [56]. Основним наслідком вторинного аневгенного механізму є втрата хромосом через нероз'єднання в анафазі унаслідок оксидативних уражень білків, індукованих АФК та RNS, які впливають на функцію мітотичного апарату [13].

4.3.5. Нейротоксичність наночастинок

Нейротоксичність є оборотним або необоротним побічним ефектом, який може вплинути на структуру, функцію або хімічний склад нейронів нервової системи [23]. Хоча дослідницька спільнота зосередила свої зусилля на розробленні націленої на мозок системи доставлення ліків з використанням «розумних» NPs, доступно менше інформації про їх нейротоксичність [33]. Припускають, що нейротоксичність NPs обумовлена оксидативним стресом, спричиненим активністю вільних радикалів [60; 71].

4.4. Специфічність токсичної дії наночастинок

Основний механізм токсичності наночастинок оксиду металу заснований на їх колоїдній дисперсії, зміні гомеостазу та накопиченні. Колоїдна дисперсія наночастинок оксидів металів призводить до утворення іонів металів і Оксигену, водночас метали накопичуються, змінюють гомеостаз клітин, зв'язуються з органелами та зумовлюють токсичні ефекти. Іон Оксигену, як синглетний кисень, виробляє АФК, підвищує оксидативний стрес і призводить до пероксидного окиснення ліпідів [16]. У іншому разі повільне вивільнення іонів металу з наночастинок змінює клітинний гомеостаз, оскільки більшість виготовлених наночастинок оксиду металу є мікроелементами та основними металами, які необхідні для розвитку клітин. Ці зміни також призводять до підвищення рівня металів більше, ніж їх пороговий ліміт, подібно токсичності, спричиненої накопиченням важких металів. У третьому випадку високостабільні наночастинок оксидів металів накопичуються або на поверхні клітин, або інтерналізуються в клітинах. Ці наночастинок накопичуються та агломеруються, що спричиняє токсичність або просто накопичення високої концентрації оксиду металу, що також може призвести до токсичних ефектів [28].

Наночастинок металів виявляли цитотоксичність трьома значущими способами: характеристика частинок, дозиметрія та взаємодія з клітинами [28]. Характеристики наночастинок сильно залежать від синтетичного підходу, тобто методу синтезу, який може змінити їх розмір, морфологію та функціональні групи поверхні [21]. Дозиметрія містить дозу та концентрацію наночастинок для ініціювання токсичних реакцій у клітинах, яка

залежить від фізико-хімічних характеристик наночастинок металу [21]. Взаємодія клітин є незалежною характеристикою, яка призводить до токсичності. Іноді розмір і морфологія впливають на взаємодію оксиду металу з клітинами, однак здебільшого саме їх поверхневий заряд, стабільність і поверхневі функціональні групи визначають клітинну взаємодію наночастинок [67]. Менший розмір наночастинок дає змогу їм легко пройти через клітинну мембрану, а потім до ядра, що може спричинити зміни в ДНК і мітохондріальних шляхах, що призведе до серйозної генотоксичності. Низькостабільні наночастинок металу, які залежать від поверхневого заряду, вивільняють вільні іони металу, які будуть накопичуватися всередині клітинних органел і пригнічувати їх ріст через окиснювальний стрес, подібно накопиченню важких металів [68]. Біомолекули як поверхневі функціональні групи, особливо фітохімічні речовини з антиоксидантними властивостями, а не синтетичний стабілізуючий і укупорюючий агент із хімічно синтезованих наночастинок, допомагають зменшити вивільнення АФК з наночастинок металу [80], що утворює пероксиди, пригнічує ріст клітин і спричиняє апоптоз [63].

Наночастинок знайшли широке біомедичне застосування завдяки своїй фізико-хімічній та поведінковій унікальності, хоча занепокоєння щодо їх токсичного впливу на біологічну систему зараз привертає увагу світової наукової спільноти [6]. Це підтверджує важливість дослідження та розуміння ефектів на основі клітинних і молекулярних механізмів, за допомогою яких вони зумовлюють ці ефекти. Деякі ідентифіковані токсичні механізми пов'язані з індукцією АФК, цитотоксичністю для клітин, а також генотоксичними та нейротоксичними ефектами. Цей токсичний ефект залежить від типу наночастинок, розміру, площі поверхні, форми, співвідношення сторін, покриття поверхні, кристалічності, розчинення та агломерації. Менші наночастинок, зазвичай, мають більшу гостру токсичність на тваринних моделях. Виявлено, що форма або кристалічність наночастинок можуть впливати на їх токсичність. Важливо враховувати токсичну дію наночастинок під час їх синтезу. Їх розмір, форму та інші основні характеристики слід варіювати, щоб визначити ті, які працюють найкраще, не призводячи до негативних наслідків. Розгляд

токсичної дії відкриє нову сторінку для синтезу більш безпечних та ефективних наночастинок.

Список використаних джерел до розділу 4

1. Харчишин В.М., Бітюцький В.С., Мельниченко О.М., Цехмістренко О.С., Цехмістренко С.І., Тимошок Н.О. (2021). Ефективність застосування екологічно безпечних композицій пробіотиків та наноматеріалів у сільськогосподарському виробництві. Європейський зелений курс та водна політика України в умовах глобальних кліматичних змін: матеріали нац. наук.-практ. конф., 51–54.

2. Цехмістренко О.С., Бітюцький В.С., Цехмістренко С.І. (2020). Нанотехнології і навколишнє середовище. Аграрна освіта та наука: досягнення, роль, фактори росту. Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування. 26–29.

3. Цехмістренко О.С., Бітюцький В.С., Цехмістренко С.І., Харчишин В.М., Тимошок Н.О., Співак М.Я. (2021). Визначення токсичності наносполук селену. Ветеринарія, технології тваринництва та природокористування, 7, 157–162.

4. Цехмістренко О.С., Цехмістренко С.І., Бітюцький В.С. (2021). Економічна доцільність використання препаратів Селену у перепелівництві. Аграрна освіта та наука: досягнення, роль, фактори росту. Сучасний розвиток технологій тваринництва. Інноваційні підходи в харчових технологіях, 16–18.

5. Цехмістренко О.С., Цехмістренко С.І., Бітюцький В.С., Харчишин В.М., Шулько, О. П. (2019). Використання сучасних пробіотиків як іноваційний потенціал для вирішення екологічної безпеки та викликів сталого розвитку. Європейські виміри сталого розвитку: матеріали міжнар. наук.-практ. конф., 72–73.

6. Цехмістренко С.І., Бітюцький В.С., Цехмістренко О.С. (2021). Використання сполук церію у сільському господарстві. Theory, practice and science. Abstracts of XXIII International Scientific and Practical Conference. Tokyo, Japan, 26–31.

7. Цехмістренко С.І., Бітюцький В.С., Цехмістренко О.С. (2021). Екологічна безпека використання наночастинок металів та неметалів у біології. Актуальні проблеми, пріоритетні напрямки та стратегії розвитку України: тези доп. III міжнар. наук.-практ. онлайн-конф., 574–579.

8. Циганович Е.А., Дыбкова С.Н., Сирык О.О., Голодюк А.П., Прокопенко В.А., Жовнир А.М. (2021). Оценка цитотоксичности и генотоксичности наночастиц селена, стабилизированных поливинилпирролидоном. *Ветеринарна біотехнологія*, (38), 166-173.

9. Abramenko N.B., Demidova T.B., Abkhalimov E.V., Ershov B.G., Krysanov E.Y., Kustov L.M. (2018). Ecotoxicity of different-shaped silver nanoparticles: Case of zebrafish embryos. *Journal of hazardous materials*, 347, 89–94.

10. Auffan M., Rose J., Bottero J.Y., Lowry G.V., Jolivet J.P., Wiesner M.R. (2009). Towards a definition of inorganic nanoparticles from an environmental, health and safety perspective. *Nature nanotechnology*, 4(10), 634–641.

11. Baek M.K., Kim M.K., Cho H.J., Lee J.A., Yu J., Chung H.E., Choi S.J. (2011, July). Factors influencing the cytotoxicity of zinc oxide nanoparticles: particle size and surface charge. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 304, No. 1, p. 012044). IOP Publishing.

12. Bantz C., Koshkina O., Lang T., Galla H.J., Kirkpatrick C.J., Stauber R.H., Maskos M. (2014). The surface properties of nanoparticles determine the agglomeration state and the size of the particles under physiological conditions. *Beilstein journal of nanotechnology*, 5(1), 1774–1786.

13. Benameur L., Liu W., Botta A. (2012). Genotoxicity of nanoparticles. *Encyclopedia of Nanotechnology*, 952–962.

14. Bityutsky V.S., Oleshko O.A., Tsekhmistrenko S.I., Melnichenko O.M., Tsekhmistrenko O.S., Melnichenko Yu.O., ... Shulko O.P. (2021). The Influence of Various Forms of Selenium on Redox Processes, Gene Expression of Selenoproteins, Antioxidant Status in Biological Objects. *Oxidants and antioxidants in medical science*, 10 (8), 5–13.

15. Braakhuis H.M., Gosens I., Krystek P., Boere J.A., Cassee F.R., Fokkens P.H., ... Park M.V. (2014). Particle size dependent deposition and pulmonary inflammation after short-term inhalation of silver nanoparticles. *Particle and fibre toxicology*, 11(1), 1–16.

16. Bustamante-Torres M., Romero-Fierro D., Estrella-Nuñez J., Arcentales-Vera B., Chichande-Proañó E., Bucio, E. (2022). Polymeric composite of magnetite iron oxide nanoparticles and their application in biomedicine: a review. *Polymers*, 14(4), 752.

17. Carnovale C., Bryant G., Shukla R., Bansal V. (2019). Identifying trends in gold nanoparticle toxicity and uptake: size, shape, capping ligand, and biological corona. *ACS omega*, 4(1), 242–256.

18. Chaicherd S., Killingsworth M.C., Pissuwan D. (2019). Toxicity of gold nanoparticles in a commercial dietary supplement drink on connective tissue fibroblast cells. *SN Applied Sciences*, 1(4), 1–8.

19. Chang Y.N., Zhang M., Xia L., Zhang J., Xing G. (2012). The toxic effects and mechanisms of CuO and ZnO nanoparticles. *Materials*, 5(12), 2850–2871.

20. Chen P., Wang H., He M., Chen B., Yang B., Hu B. (2019). Size-dependent cytotoxicity study of ZnO nanoparticles in HepG2 cells. *Ecotoxicology and environmental safety*, 171, 337–346.

21. Choi K., Riviere J.E., Monteiro-Riviere N.A. (2017). Protein corona modulation of hepatocyte uptake and molecular mechanisms of gold nanoparticle toxicity. *Nanotoxicology*, 11(1), 64–75.

22. Chusuei C.C., Wu C.H., Mallavarapu S., Hou F.Y. S., Hsu C.M., ... Huang Y.W. (2013). Cytotoxicity in the age of nano: the role of fourth period transition metal oxide nanoparticle physicochemical properties. *Chemico-biological interactions*, 206(2), 319–326.

23. Costa L.G., Pellacani C., Guizzetti M. (2017). In vitro and alternative approaches to developmental neurotoxicity. In *Reproductive and Developmental Toxicology* (pp. 241–253). Academic Press.

24. Egbuna C., Ifemeje J.C. (2017). Oxidative stress and nutrition. *Trop. J. Appl. Nat. Sci*, 2(1), 110–116.

25. Egbuna C., Kumar S., Ifemeje J.C., Kurhekar J.V. (2019). Volume 2 *Pharmacognosy, Nanomedicine, and Contemporary Issues*.

26. Enea M., Pereira E., Peixoto de Almeida M., Araújo A.M., Bastos M.D. L., Carmo H. (2020). Gold nanoparticles induce oxidative stress and apoptosis in human kidney cells. *Nanomaterials*, 10(5), 995.

27. Farah F.H., Ajman P.O. Nanocarriers as delivery systems for therapeutics agents. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* (10), 3487–3507.

28. Fard J.K., Jafari S., Eghbal M.A. (2015). A review of molecular mechanisms involved in toxicity of nanoparticles. *Advanced pharmaceutical bulletin*, 5(4), 447.

29. Feng Q., Liu Y., Huang J., Chen K., Huang J., Xiao K. (2018). Uptake, distribution, clearance, and toxicity of iron oxide nanoparticles with different sizes and coatings. *Scientific reports*, 8(1), 1–13.

30. Forest V., Leclerc L., Hocheplid J.F., Trouvé A., Sarry G., Pourchez J. (2017). Impact of cerium oxide nanoparticles shape on their in vitro cellular toxicity. *Toxicology in Vitro*, 38, 136–141.
31. Fröhlich E., Roblegg E. (2012). Models for oral uptake of nanoparticles in consumer products. *Toxicology*, 291(1–3), 10–17.
32. Gao F., Ma N., Zhou H., Wang Q., Zhang H., Wang P., ... Li L. (2016). Zinc oxide nanoparticles-induced epigenetic change and G2/M arrest are associated with apoptosis in human epidermal keratinocytes. *International journal of nanomedicine*, 11, 3859.
33. Gong J.Y., Holt M.G., Hoet P.H., Ghosh M. (2022). Neurotoxicity of four frequently used nanoparticles: a systematic review to reveal the missing data. *Archives of Toxicology*, 1–72.
34. Guo C., Xia Y., Niu P., Jiang L., Duan J., Yu Y., ... Sun Z. (2015). Silica nanoparticles induce oxidative stress, inflammation, and endothelial dysfunction in vitro via activation of the MAPK/Nrf2 pathway and nuclear factor- κ B signaling. *International journal of nanomedicine*, 10, 1463.
35. Huang Y.W., Cambre M., Lee H.J. (2017). The toxicity of nanoparticles depends on multiple molecular and physicochemical mechanisms. *International journal of molecular sciences*, 18(12), 2702.
36. Ifemeje J.C., Gbolakoro J.T., Gbolakoro J.T., Arazu V.N., (2018). Comparative study of antioxidant properties and free radical scavenging capacity of *Annona muricata* and citrus. *Tropical Journal of Applied Natural Sciences*, 2(2), 35–140.
37. Ifemeje J.C., Udedi S.C., Okechukwu A.U., Nwaka A.C., Lukong C.B., Anene I.N., ... Ezeude I.C. (2015). Determination of total protein, superoxide dismutase, catalase activity and lipid peroxidation in soil macro-fauna (earthworm) from Onitsha Municipal Open Waste Dump. *Journal of Scientific Research and Reports*, 394–403.
38. Jani P., Halbert G.W., Langridge J., Florence A.T. (1990). Nanoparticle uptake by the rat gastrointestinal mucosa: quantitation and particle size dependency. *Journal of pharmacy and pharmacology*, 42(12), 821–826.
39. Jeevanandam J., Chan Y.S., Danquah M.K. (2016). Biosynthesis of metal and metal oxide nanoparticles. *ChemBioEng Reviews*, 3(2), 55–67.

40. Jiang J., Oberdörster G., Elder A., Gelein R., Mercer P., Biswas P. (2008). Does nanoparticle activity depend upon size and crystal phase?. *Nanotoxicology*, 2(1), 33–42.

41. Johnston H.J., Hutchison G., Christensen F.M., Peters S., Hankin S., Stone V. (2010). A review of the in vivo and in vitro toxicity of silver and gold particulates: particle attributes and biological mechanisms responsible for the observed toxicity. *Critical reviews in toxicology*, 40(4), 328–346.

42. Kai W., Xiaojun X., Ximing P., Zhenqing H., Qiqing Z. (2011). Cytotoxic effects and the mechanism of three types of magnetic nanoparticles on human hepatoma BEL-7402 cells. *Nanoscale research letters*, 6(1), 1–10.

43. Kass G.E., Orrenius S. (1999). Calcium signaling and cytotoxicity. *Environmental Health Perspectives*, 107(suppl 1), 25–35.

44. Kheirallah D.A.M., El-Samad L.M., Abdel-Moneim A.M. (2021). DNA damage and ovarian ultrastructural lesions induced by nickel oxide nano-particles in *Blaps polycresta* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Science of The Total Environment*, 753, 141743.

45. Kołodziejczak-Radzimska A., Jesionowski T. (2014). Zinc oxide-from synthesis to application: a review. *Materials*, 7(4), 2833–2881.

46. Kumar C.S., Holmes J., Leuschner C. (2006). Nanofabrication towards biomedical applications: techniques, tools, applications, and impact. John Wiley Sons.

47. Kumaravel T.S., Sathya T.N., Balaje R., Pradeepa P., Yogaraj D., Murali M.R., ... Jha A.N. (2022). Genotoxicity evaluation of medical devices: A regulatory perspective. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 789, 108407.

48. Lai X., Wei Y., Zhao H., Chen S., Bu X., Lu F., ... Zhang J. (2015). The effect of Fe₂O₃ and ZnO nanoparticles on cytotoxicity and glucose metabolism in lung epithelial cells. *Journal of Applied Toxicology*, 35(6), 651–664.

49. Lee J.H., Cha K.E., Kim M.S., Hong H.W., Chung D.J., Ryu G., Myung H. (2009). Nanosized polyamidoamine (PAMAM) dendrimer-induced apoptosis mediated by mitochondrial dysfunction. *Toxicology letters*, 190(2), 202–207.

50. Lee J.H., Ju J.E., Kim B.I., Pak P.J., Choi E.K., Lee H.S., Chung N. (2014). Rod-shaped iron oxide nanoparticles are more toxic than sphere-

shaped nanoparticles to murine macrophage cells. *Environmental toxicology and chemistry*, 33(12), 2759–2766.

51.Li W., Zhang X., Hao X., Jie J., Zhang X. (2013). Shape design of high drug payload nanoparticles for more effective cancer therapy. *Chemical communications*, 49(93), 10989–10991.

52.Lippmann M. (1990). Effects of fiber characteristics on lung deposition, retention, and disease. *Environmental health perspectives*, 88, 311–317.

53.Mal J., Veneman W.J., Nancharaiah Y.V., van Hullebusch E.D., Peijnenburg W.J., Vijver M.G., Lens P.N. (2017). A comparison of fate and toxicity of selenite, biogenically, and chemically synthesized selenium nanoparticles to zebrafish (*Danio rerio*) embryogenesis. *Nanotoxicology*, 11(1), 87–97.

54.Malvindi M.A., De Matteis V., Galeone A., Brunetti V., Anyfantis G.C., ... Pompa P.P. (2014). Toxicity assessment of silica coated iron oxide nanoparticles and biocompatibility improvement by surface engineering. *PloS one*, 9(1), e85835.

55.Mateo D., Morales P., Ávalos A., Haza A.I. (2014). Oxidative stress contributes to gold nanoparticle-induced cytotoxicity in human tumor cells. *Toxicology mechanisms and methods*, 24(3), 161–172.

56.Mohammadpour R., Ghandehari, H. (2022). Mechanisms of immune response to inorganic nanoparticles and their degradation products. *Advanced drug delivery reviews*, 180, 114022.

57.Naz S., Gul A., Zia M. (2019). Toxicity of copper oxide nanoparticles: a review study. *IET nanobiotechnology*, 14(1), 1–13.

58.Nel A., Xia T., Mädler L., Li N. (2006). Toxic potential of materials at the nanolevel. *science*, 311(5761), 622–627.

59.Oberdörster G., Oberdörster E., Oberdörster J. (2005). Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environmental health perspectives*, 113(7), 823–839.

60.Ovejero J.G., Wang E., Veintemillas-Verdaguer S., Morales M.D., Sorolla A. (2022). Nanoparticles for Neural Applications. In *Engineering Biomaterials for Neural Applications* (pp. 149-184). Springer, Cham.60.

61.Periasamy V.S., Athinarayanan J., Alshatwi A.A. (2016). Aluminum oxide nanoparticles alter cell cycle progression through CCND1 and EGR1 gene expression in human mesenchymal stem cells. *Biotechnology and applied biochemistry*, 63(3), 320–327.

62. Radhakrishnan V.S., Dwivedi S.P., Siddiqui M.H., Prasad T. (2018). In vitro studies on oxidative stress-independent, Ag nanoparticles-induced cell toxicity of *Candida albicans*, an opportunistic pathogen. *International journal of nanomedicine*, 13(T-NANO 2014 Abstracts), 91.

63. Rajeshwari A., Suresh S., Chandrasekaran N., Mukherjee A. (2016). Toxicity evaluation of gold nanoparticles using an *Allium cepa* bioassay. *RSC advances*, 6(29), 24000–24009.

64. Renero-Lecuna C., Iturrioz-Rodríguez N., González-Lavado E., Padín-González E., Navarro-Palomares E., Valdivia-Fernández L., ... González-Legarreta L. (2019). Effect of size, shape, and composition on the interaction of different nanomaterials with HeLa cells. *Journal of Nanomaterials*, 2019, 1–11.

65. Roy S., Sadhukhan R., Ghosh U., Das T.K. (2015). Interaction studies between biosynthesized silver nanoparticle with calf thymus DNA and cytotoxicity of silver nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 141, 176–184.

66. Saptarshi S.R., Duschl A., Lopata A.L. (2013). Interaction of nanoparticles with proteins: relation to bio-reactivity of the nanoparticle. *Journal of nanobiotechnology*, 11(1), 1–12.

67. Shin S.W., Song I.H., Um S.H. (2015). Role of physicochemical properties in nanoparticle toxicity. *Nanomaterials*, 5(3), 1351–1365.

68. Shrivastava R., Kushwaha P., Bhutia Y.C., Flora S.J. S. (2016). Oxidative stress following exposure to silver and gold nanoparticles in mice. *Toxicology and industrial health*, 32(8), 1391–1404.

69. Singh D., Singh S., Sahu J., Srivastava S., Singh M.R. (2016). Ceramic nanoparticles: Re-compense, cellular uptake and toxicity concerns. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 44(1), 401–409.

70. Tee J.K., Ong C.N., Bay B.H., Ho H.K., Leong D.T. (2016). Oxidative stress by inorganic nanoparticles. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 8(3), 414–438.

71. Teleanu D.M., Chircov C., Grumezescu A.M., Teleanu R.I. (2019). Neurotoxicity of nanomaterials: An up-to-date overview. *Nanomaterials*, 9(1), 96.

72. Thiagarajan G., Greish K., Ghandehari H. (2013). Charge affects the oral toxicity of poly (amidoamine) dendrimers. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 84(2), 330–334.

73. Tsekhmistrenko S.I., Bityutskyy V.S., Tsekhmistrenko O.S. (2020). Markers of oxidative stress in the blood of quails under the influence of selenium nanoparticles. In *Impact of modernity on science and practice. Abstracts of XVIII International Scientific and Practical Conference*. Boston, USA, 177–180.

74. Tsekhmistrenko S.I., Bityutskyy V.S., Tsekhmistrenko O.S., Kharchishin V.M., Tymoshok N.O., Demchenko ... Tokarchuk T.S. (2021). Ecological and toxicological characteristics of selenium nanocompounds. *Ukrainian Journal of Ecology*, 11(3), 199–204.

75. Tsekhmistrenko O.S., Bityutsky V.S., Tsekhmistrenko S.I., Kharchyshyn V.M., Tymoshok N.O., Demchenko O.A., Spivak M.Ya. (2021). Determination of toxicity of selenium nanocompounds. *Veterinary Science, Technologies of Animal Husbandry and Nature Management*, 7, 157–162.

76. Vermeulen K., Van Bockstaele D.R., Berneman Z.N. (2003). The cell cycle: a review of regulation, deregulation and therapeutic targets in cancer. *Cell proliferation*, 36(3), 131–149.

77. Wang H.J., Growcock A.C., Tang T.H., O'Hara J., Huang Y.W., Aronstam R.S. (2010). Zinc oxide nanoparticle disruption of store-operated calcium entry in a muscarinic receptor signaling pathway. *Toxicology in vitro*, 24(7), 1953–1961.

78. Wang Q., Huang J.Y., Li H.Q., Chen Z., Zhao A.Z. J., Wang Y., ... Lai Y.K. (2016). TiO₂ nanotube platforms for smart drug delivery: a review. *International journal of nanomedicine*, 11, 4819.

79. Wang Y., Cui H., Zhou J., Li F., Wang J., Chen M., Liu Q. (2015). Cytotoxicity, DNA damage, and apoptosis induced by titanium dioxide nanoparticles in human non-small cell lung cancer A549 cells. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(7), 5519–5530.

80. Wang Y., Xia R., Hu H., Peng T. (2018). Biosynthesis, characterization and cytotoxicity of gold nanoparticles and their loading with N-acetylcarnosine for cataract treatment. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 187, 180–183.

81. Zhu X., Vo C., Taylor M., Smith B.R. (2019). Non-spherical micro-and nanoparticles in nanomedicine. *Materials Horizons*, 6(6), 1094–1121.