

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ МОДИФИКАЦИИ ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА И ИХ КОМПОНЕНТОВ В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА

М. А. Наквасина, Ю. Р. Мачнева, В. А. Хотина, Д. А. Попова, В. Г. Артюхов

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»

Поступила в редакцию 06.09.2018 г.

Аннотация. Наночастицы серебра эффективно используются в качестве бактерицидных, противовирусных, противогрибковых и антисептических агентов, однако способны проявлять токсические свойства по отношению к клеткам млекопитающих и человека. С целью выявления механизмов возможного токсического действия серебряных наночастиц на клетки человека с использованием методов спектрофотометрии, люминесценции и электронной микроскопии исследованы структурно-функциональные модификации эритроцитов периферической крови доноров в условиях воздействия коллоидного серебра. С помощью метода динамического светорассеяния установлено, что размеры наночастиц коллоидного серебра, полученного путем восстановления нитрата серебра гидроксиламином гидрохлоридом, составляют 83 ± 5 нм. Выявлено, что воздействие наночастиц серебра (83 ± 5 нм) на эритроциты в течение 30 мин индуцирует их гемолиз, сопровождающийся выходом молекул гемоглобина из клеток. Обнаружено снижение уровня пероксидной резистентности модифицированных наночастицами серебра эритроцитов по сравнению с таковым для нативных клеток, обусловленное процессами усиления интенсивности свободнорадикальных реакций на поверхности эритроцитов. Показано, что величина каталитической активности антиоксидантного фермента — каталазы эритроцитов, модифицированных коллоидным серебром, значительно снижается по сравнению с таковой для интактных клеток. Следствием инактивации каталазы в эритроцитах может быть накопление пероксида водорода и оксидативная модификация биомолекул. Установлено, что воздействие наночастиц серебра на эритроциты индуцирует нарушения их поверхностной архитектоники по сравнению с нормой, проявляющиеся в снижении количества дискоцитов, увеличении количества необратимо деформированных сфероцитов и агрегации модифицированных клеток. Обнаружен сходный характер изменений оптических свойств гемоглобина, модифицированного воздействием коллоидного серебра в составе эритроцитов и в свободном состоянии: наблюдается снижение оптической плотности в максимумах поглощения по отношению к таковой для интактного гембелка. Следовательно, процессы гемолиза эритроцитов после воздействия серебряных наночастиц сопровождаются интенсификацией образования активных форм кислорода, нарушениями состояния плазматических мембран, формы и поверхности клеток, изменениями структурно-функциональных свойств молекул гемоглобина и каталазы.

Ключевые слова: эритроциты, коллоидное серебро, наночастицы, гемолиз, гемоглобин, каталаза, структурное состояние

В настоящее время в мире наблюдается значительный рост объемов производства новых материалов, содержащих наноразмерные частицы, и расширение областей их применения. В нашей стране научные исследования, связанные с созданием и использованием наночастиц, наноматериалов и наноустройств, составляют весомую часть направлений Перечня критических технологий РФ.

© Наквасина М. А., Мачнева Ю. Р., Хотина В. А., Попова Д. А., Артюхов В. Г., 2018

К приоритетным техногенным наночастицам, которые производятся или в ближайшее время будут производиться в больших объемах, а также оказывают воздействие на жизненно важные системы организма, относятся серебряные наночастицы [1-4]. Они используются для получения покрытий, поглощающих солнечную энергию, в качестве катализаторов химических реакций, антимикробных и дезинфицирующих средств, компонентов пищевых упаковок. Добавки наносеребра придают антибактериальные свойства

одежде, краскам, эмалям. Серебро в наноразмерном диапазоне обладает выраженным бактерицидным, противовирусным, противогрибковым и антисептическим действием [2-8]. Наночастицы серебра высоко стабильны в окружающей среде, способны длительно сохранять токсические свойства. Полагают [4-8], что токсические эффекты обусловлены сочетанным действием наночастиц и высвобождающихся с их поверхности ионов серебра.

Высокая биологическая активность техногенных наночастиц обуславливает риски возникновения нежелательных токсических эффектов для работников нанотехнологических предприятий и потребителей продукции наноиндустрии [1]. В этой связи в настоящее время закладываются основы систем контроля рисков, связанных с использованием нанотехнологической продукции, и определения степени потенциальной опасности новых наноматериалов. Использование наночастиц серебра в медицине подразумевает проведение предварительной тщательной оценки их безопасности и эффективности [9].

Последствия и механизмы биологического действия наночастиц серебра на клетки человека изучены недостаточно. В связи с этим целью нашей работы явилось исследование структурно-функциональных модификаций эритроцитов человека в присутствии коллоидного серебра.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Объектом исследования явились эритроциты, выделенные из гепаринизированной крови доноров. Эритроциты выделяли из крови доноров путем центрифугирования крови при 1500 об/мин в течение 15 мин с последующим трехкратным отмыванием клеток в тех же условиях [10].

Коллоидный раствор серебра получали путем восстановления AgNO_3 гидроксиламином гидроксидом [11].

Измерение размеров наночастиц серебра проводили с помощью метода динамического светорассеяния с использованием системы для характеристики наночастиц Zetasizer Nano ZSP Malvern (Англия).

Для исследования свойств эритроцитов в условиях воздействия коллоидного серебра использовали суспензии нативных и модифицированных клеток в буфере Алена, как описано в [11]. К 12 мл суспензии эритроцитов (разведение в 1000 раз в гиперосмолярном буфере Алена) добавляли 8 мл коллоидного серебра. Образцы инкубировали 30

мин в темноте при комнатной температуре.

О степени гемолиза эритроцитов судили по приросту оптической плотности гемоглобина при 412 нм, вышедшего в раствор при разрушении эритроцитов [10], на спектрофотометре СФ-2000 («ЛОМО», Россия).

Регистрацию электронных спектров поглощения растворов гемоглобина контрольных и опытных образцов осуществляли на спектрофотометре «Shimadzu» (Япония).

Пероксидную резистентность эритроцитарных мембран исследовали на биохемиллюминиметре БХЛ-07 (Россия) [10].

Уровень функциональной активности каталазы эритроцитов исследовали спектрофотометрическим методом при длине волны 240 нм на спектрофотометре СФ-2000 («ЛОМО», Россия) [10].

Поверхностную архитектуру эритроцитов крови доноров изучали методом электронной микроскопии на сканирующем электронном микроскопе JSM-6380 LU (Япония) при ускоряющем напряжении 20-25 кВ на базе Центра коллективного пользования научным оборудованием Воронежского государственного университета.

Достоверность отличий контрольных и экспериментальных результатов оценивали при помощи t-критерия Стьюдента. Различия сравниваемых показателей считали значимыми при $p \leq 0,05$.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Размеры частиц коллоидного серебра, определенные методом динамического светорассеяния, составили 83 ± 5 нм, что соответствует характеристике наночастиц [3, 12]. В коллоидном растворе содержатся наночастицы серебра, растворенное серебро и ионное серебро на поверхности наночастиц серебра (НЧС) [12, 13]. Чем меньше размер наночастиц, тем больше проявляется их токсичность [13-15]. Это связано с увеличением удельной поверхности наночастиц, повышением их реакционной способности и высвобождением токсичных ионов серебра. Наночастицы с размерами менее 100 нм способны проникать в клетки и взаимодействовать с биомолекулами на поверхности и внутри клеток [3].

В связи с этим нами были исследованы возможные гемолитические свойства коллоидного серебра (табл. 1). Эритроциты инкубировали с коллоидным серебром и затем определяли оптическую плотность супернатанта, полученного путем осаждения эритроцитов, в максимуме поглощения гемоглобина при 412 нм.

Таблица 1
 Величины оптической плотности супернатанта гемолизированных эритроцитов в максимуме поглощения гемоглобина

Образец	Оптическая плотность, отн. ед
Контроль (интактные клетки)	0.12±0.05
Эритроциты, модифицированные воздействием коллоидного серебра	0.30±0.06

Обнаружено, что воздействие НЧС на эритроциты в течение 30 мин вызывает статистически значимое по сравнению с контролем повышение величины оптической плотности при $\lambda = 412$ нм супернатанта, полученного путем осаждения клеток. Следовательно, коллоидное серебро проявляет гемолитическую активность в отношении эритроцитов человека.

Далее представлялось необходимым выявить возможность нарушений структурного состояния молекул гемоглобина после воздействия коллоидного серебра на эритроциты и растворы гембелка, выделенные из эритроцитов.

На рис. 1 показаны спектры поглощения гемоглобина, полученного из эритроцитов, модифицированных воздействием НЧС. Инкубация эритроцитов с коллоидным серебром сопровождалась снижением оптической плотности в максимумах поглощения гемоглобина: при 274, 346, 412, 542, 576 нм по сравнению с таковой для интактных образцов, что указывает на изменения хромофоров, отвечающих за появление названных полос поглощения, в том числе при 412 нм (полоса Соре) и 342 нм гемовой части белка. К тому же, нарушается симметричность полосы гема при $\lambda=342$ нм.

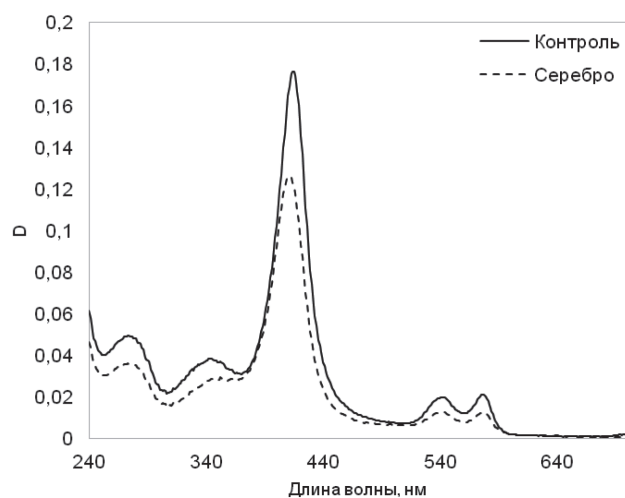


Рис. 1. Спектры поглощения гемоглобина эритроцитов, модифицированных воздействием коллоидного серебра

При исследовании спектров поглощения гемоглобина, выделенного из эритроцитов и модифицированного коллоидным серебром, также обнаружено снижение оптической плотности в максимумах поглощения (при 274, 346, 412 нм) гемоглобина по отношению к таковой для нативного белка (рис. 2). Таким образом, в описанных условиях выявлен сходный характер изменений оптических свойств гемоглобина, модифицированного воздействием НЧС в составе эритроцитов и в свободном состоянии. На основании анализа полученных результатов можно заключить, что наночастицы серебра проникают в эритроциты, взаимодействуют с молекулами гемоглобина и инициируют нарушения его структурного состояния.

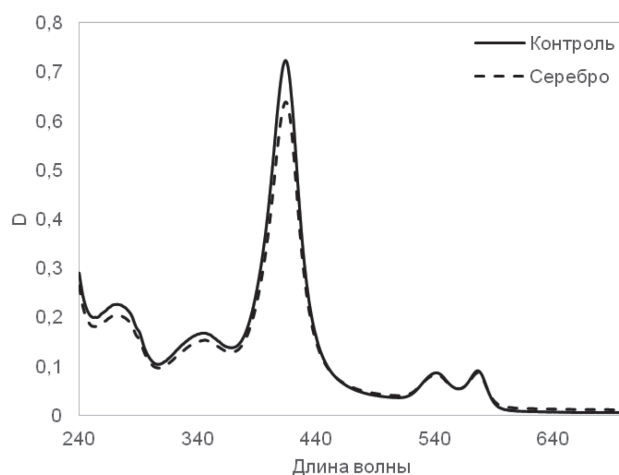


Рис. 2. Спектры поглощения гемоглобина, модифицированного воздействием коллоидного серебра

Нарушения целостности эритроцитов и структурного состояния гемоглобина после воздействия коллоидного серебра могут быть связаны как с модификацией наночастицами и ионами серебра белковых молекул эритроцитов, так и с индукцией окислительного стресса в исследуемых клетках.

С целью выявления возможности генерации активных кислородных метаболитов необходимо было исследовать пероксидную резистентность эритроцитов после воздействия НЧС. Полученные результаты представлены в табл. 2.

Из анализа данных, представленных в табл. 2, следует, что НЧС вызывают статистически значимое повышение по сравнению с контролем параметров хемилюминесценции эритроцитов — светосуммы и интенсивности люминесценции в максимуме, что указывает на интенсификацию свободнорадикальных реакций на поверхности исследуемых клеток.

При изучении изменений функциональной активности каталазы эритроцитов, модифицирован-

Таблица 2

Параметры хемилюминесценции эритроцитов в присутствии сульфата железа и пероксида водорода

Образец	Интенсивность люминесценции (максимальная), мВ	Светосумма люминесценции, мВ·с
Контроль (интактные клетки)	3.0±0.5	26±4
Эритроциты, модифицированные воздействием коллоидного серебра	5.0±0.7	178±8

ных воздействием коллоидного серебра, выявлено снижение уровня изучаемого параметра до 14 % по сравнению с таковым для интактных клеток (100 %). Следствием инактивации каталазы является накопление в клетках пероксида водорода и окислительная модификация биомолекул.

Полученные нами данные согласуются с результатами исследований [16-19], в которых на эукариотических клетках в условиях *in vitro* в присутствии НЧС выявлена активизация процессов, приводящих к окислительному стрессу.

Процессы усиления свободнорадикальных реакций и окислительной модификации белков и других биомолекул (в частности, липидов) в условиях воздействия НЧС могут вызвать нарушения структурного состояния плазматических мембран клеток. В этой связи были исследованы изменения поверхностной архитектоники эритроцитов, модифицированных воздействием НЧС.

На рис. 3, 4 представлены электронные микрофотографии эритроцитов в интактном состоянии и через 30 мин после воздействия НЧС.

В образце интактных эритроцитов (рис. 3) обнаруживаются дискоциты — клетки двояковогнутой формы. После воздействия НЧС на эритроциты (рис. 4, а, б) в исследуемых образцах, согласно классификации Г.И. Козинца и соавт. [20], выявляются как нормальные, так и измененные формы клеток: отдельные дискоциты, отдельные эхиноциты («шиповидные» клетки) и, в основном, необратимо деформированные

сфероциты. На электронных микрофотографиях видны скопления (агрегаты) модифицированных НЧС эритроцитов. По-видимому, образование агрегатов эритроцитов после воздействия коллоидного серебра связано с изменениями структурного состояния мембран клеток и их поверхностного заряда.

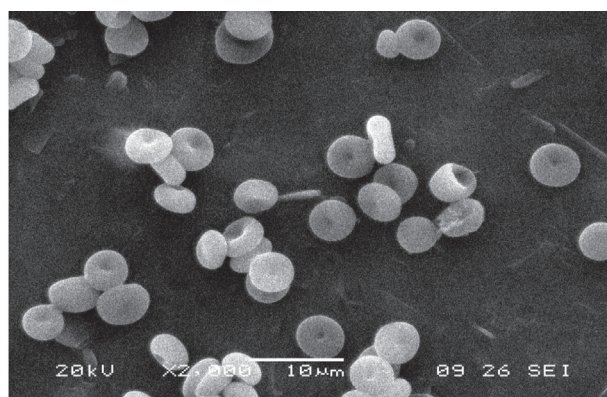
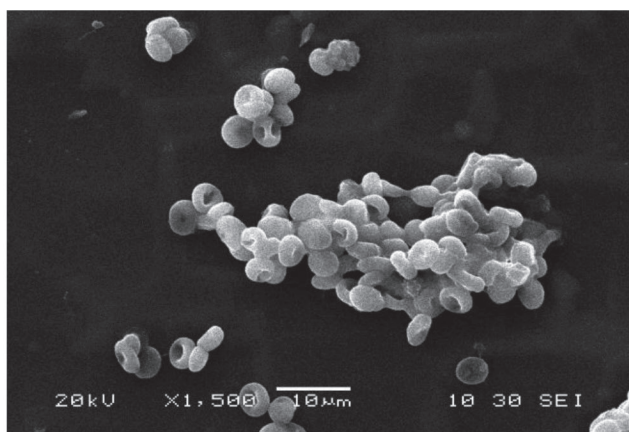


Рис. 3. Электронная микрофотография интактных эритроцитов

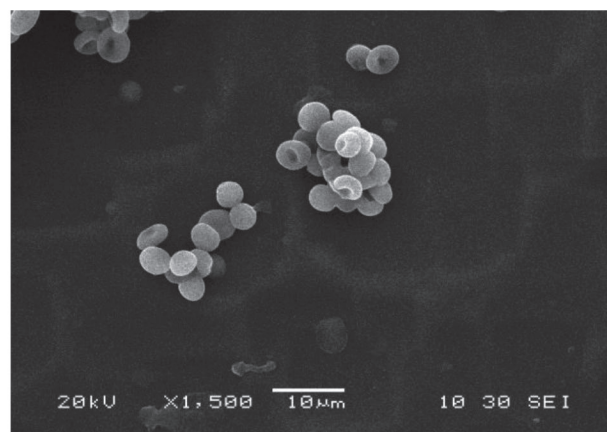
Итак, нами установлено, что воздействие наночастиц серебра на эритроциты индуцирует их гемолиз, нарушения формы клеток и их агрегацию, накопление необратимо деформированных форм эритроцитов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методом динамического светорассеяния установлено, что размеры наночастиц коллоидного серебра, полученного путем восстановления ни-



а)



б)

Рис. 4. Электронные микрофотографии эритроцитов, модифицированных воздействием НЧС (а, б)

трата серебра гидроксиламином гидрохлоридом, составляют 83 ± 5 нм.

Обнаружено, что воздействие коллоидного серебра на эритроциты индуцирует процессы усиления интенсивности свободнорадикальных реакций и снижения по сравнению с контролем уровня активности антиоксидантного фермента — каталазы, следствием которых являются окислительный стресс, снижение пероксидной резистентности эритроцитов и их разрушение (гемолиз). Выявлены нарушения поверхностной архитектоники эритроцитов после воздействия наночастиц серебра: снижение количества дискоцитов, появление эхиноцитов и необратимо деформированных сфероцитов, а также агрегация модифицированных клеток. Нарушения структурного состояния эритроцитарной мембраны и формы эритроцитов приводят к гемолизу клеток.

Выявлен сходный характер изменений спектральных свойств молекул гемоглобина, модифицированного воздействием коллоидного серебра в составе эритроцитов и в свободном состоянии. На основании полученных результатов можно заключить, что наночастицы серебра проникают в эритроциты, взаимодействуют с молекулами гемоглобина и инициируют нарушения его структурного состояния, проявляющиеся в снижении оптической плотности белка в максимумах поглощения по сравнению с таковой для интактного биополимера.

Вероятно, цитотоксическое действие коллоидного серебра на эритроциты человека связано с процессами взаимодействия наночастиц серебра со спектрин-актиновой сетью, поддерживающей целостность, механическую прочность и деформируемость плазматических мембран клеток, усилением генерации активных форм кислорода и окислительным стрессом, модификацией поверхности и зарядового состояния мембран и нарушением структурно-функционального состояния молекул каталазы и гемоглобина.

Полученные нами результаты необходимо учитывать при обсуждении вопросов, касающихся изучения влияния наночастиц серебра на структурно-функциональные свойства клеток крови и их компонентов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гендриксон О.Д., Сафенкова И.В., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б., Попов В.О. // *Биофизика*. 2011. Т. 56, вып. 6. С. 965—994.
2. Егорова Е.М., Кубатиев А.А., Швец В.И. *Биологические эффекты наночастиц металлов*. М.: Наука, 2014. 350 с.
3. Наквасина М.А., Артюхов В.Г. *Бионанотехнологии: достижения, проблемы, перспективы развития*. Воронеж: Издательский дом ВГУ, 2015. 152 с.
4. Наквасина М.А., Артюхов В.Г. *Основы бионанотехнологии*. Воронеж: Издательский дом ВГУ, 2016. 72 с.
5. Chmielowiec-Korzeniowska A., Krzosek Ł., Tymczynska L., Pyrz M., Drabik A. // *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska*. 2013. Vol. 31, N 2. P. 1—11.
6. De Jong W.H., Van Der Ven L.T., Sleijffers A., Park M.V., Jansen E.H., Van Loveren H., Vandebriel R.J. // *Biomaterials*. 2013. Vol. 34, N 33. P. 8333—8343.
7. Kang S. J., Lee Y. J., Lee E.-K., Kwak M.-K. // *Toxicology Letters*. 2012. Vol. 211, N 3. P. 334—341.
8. Kim J.S., Kuk E., Yu K., Kim J.H., Park S.J., Lee H.J., Kim S.H., Park Y.K., Park Y.H., Hwang C.-Y., Kim Y.K., Lee Y.S., Jeong D.H., Cho M.H. // *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. 2007. Vol. 3. P. 95—101.
9. Zhang L., Gu F. X., Chan J. M., Wang A. Z., Langer R. S., Farokhzad O. C. *Nanoparticles in Medicine: Therapeutic Applications and Developments // Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 2008. Vol. 83, N 5. P. 761—769.
10. Практикум по биофизике / В.Г. Артюхов [и др.]; под общ. ред. В.Г. Артюхова; Воронеж: Издательский дом ВГУ, 2016. 314 с.
11. *Нанобиотехнологии: практикум / под ред. А. Б. Рубина*. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012. 384 с.
12. Rai M.K., Deshmukh S., Ingle A., Gade A.K. // *Journal of Applied Microbiology*. 2012. Vol. 112, N 5. P. 841—852.
13. Haase A., Arlinghaus H.F., Tentschert J., Jungnickel H., Graf P., Manton A., Draude F., Galla S., Plendl J., Goetz M. E., Masic A., Meier W., Thünemann A. F., Taubert A., Luch A. // *ACS Nano*. 2011. Vol. 5, N 4. P. 3059—3068.
14. Liu W., Wang C., Li H.C., Wang T., Liao C.Y., Cui L., Zhou Q. F., Yan B., Jiang G.B. // *Nanotoxicol*. 2010. Vol. 4, N 3. P. 319—330.
15. Söderstjerna E., Bauer P. M., Cedervall T., Abdshill H., Johansson F., Englund-Johansson U. // *PLoS ONE*. 2014. Vol. 9, N 8. e105359.
16. Avalos A., Haza A.I., Mateo D., Morales P. // *J. Appl. Toxicol*. 2014. Vol. 34, N 4. P. 413—423.
17. Miethling-Graff R., Rumpker R., Richter M., Verano-Braga T., Kjeldsen F., Brewer J., Hoyland J.,

Rubahn H.-G., Erdmann H. // *Toxicol In Vitro*. 2014. Vol. 28, N 7. P. 1280—1289.

18. Жорник Е.В., Баранова Л.А., Дрозд Е.С., Судас М.С., Тяну Н.Х., Быгу Н.К., Зунг Ч.Т.Н., Чижик С.А., Волоотовский И.Д. // *Биофизика*. 2014. Т. 59. № 3. С. 466—473.

19. Han J.W., Gurunathan S., Jeong J.-K., Choi Y.-J., Kwon D.-N., Park J.-K., Kim J.-H. // *Nanoscale Research Letters*. 2014. Vol. 9. P. 459—473.

20. Козинец Г.И., Погорелов В.М., Шмаров Д.А., Боев С.Ф., Сазонов В.В. *Клетки крови. Современные технологии их анализа*. М.: Триада-Фарм, 2002. 200 с.

Воронежский государственный университет
*Наквасина М. А., доктор биол. наук, профессор кафедры биофизики и биотехнологии
Тел.: +7(473)220-86-86
E-mail: nakvasina_ma@mail.ru

Voronezh State University
Nakvasina M. A., PhD., DSci (Biology), Full professor, Dept. of Biophysics and Biotechnology
Ph.: +7(473)220-86-86
E-mail: nakvasina_ma@mail.ru

Мачнева Ю. Р., студентка кафедры биофизики и биотехнологии

Machneva Yu.R. , student, Dept. of Biophysics and Biotechnology

Хотина В. А., студентка кафедры биофизики и биотехнологии

Khotina V. A., student, Dept. of Biophysics and Biotechnology

Попова Д.А., студентка кафедры биофизики и биотехнологии

Popova D. A., student, Dept. of Biophysics and Biotechnology

Артюхов В.Г., доктор биол. наук, профессор, заведующий кафедрой биофизики и биотехнологии

Artyukhov V. G., PhD., DSci (Biology), Full professor, Head of Biophysics and Biotechnology dept.

STRUCTURAL AND FUNCTIONAL MODIFICATIONS OF HUMAN ERYTHROCYTES AND THEIR COMPONENTS UNDER CONDITIONS OF EXPOSURE TO SILVER NANOPARTICLES

M. A. Nakvasina, Yu. R. Machneva, V. A. Khotina, D. A. Popova, V. G. Artyukhov

Voronezh State University

Abstract. Silver nanoparticles are effectively used as bactericidal, antiviral, antifungal and antiseptic agents, however, they are able to exhibit toxic properties in relation to mammalian and human cells. Structural and functional modifications of the peripheral blood erythrocytes of donors were studied under the conditions of exposure to colloidal silver. The purpose was to identify the mechanisms of the possible toxic effects of silver nanoparticles on human cells. Spectrophotometry, luminescence and electron microscopy methods were used. Using the method of dynamic light scattering, it was established that the size of colloidal silver nanoparticles obtained by reducing silver nitrate with hydroxylamine hydrochloride is 83 ± 5 nm. It was revealed that the effect of silver nanoparticles (83 ± 5 nm) on erythrocytes for 30 min induces their hemolysis, accompanied by the release of hemoglobin molecules from the cells. A decrease in the level of peroxide resistance of erythrocytes modified by silver nanoparticles as compared to that of native cells, caused by an increase in the intensity of free-radical reactions on the surface of erythrocytes, was found. A significant decrease in the catalytic activity of the antioxidant enzyme catalase of erythrocytes modified with colloidal silver has been shown compared to that of intact cells. The consequence of inactivation of catalase in erythrocytes may be the accumulation of hydrogen peroxide and the oxidative modification of biomolecules. It has been established that the effect of silver nanoparticles on erythrocytes induces disturbances of their surface architectonics compared with the norm. This is manifested in a decrease in the number of discocytes, an increase in the number of irreversibly deformed spherocytes, and aggregation of

modified cells. A similar pattern of changes in the optical properties of hemoglobin modified by exposure to colloidal silver in the composition of erythrocytes and in the free state was found. A decrease in optical density at the absorption maxima is observed in relation to that of the intact hemeprotein. Consequently, the processes of hemolysis of erythrocytes after exposure to silver nanoparticles are accompanied by an intensification of the formation of reactive oxygen species, disturbances in the state of the plasma membranes, shape and surface of cells, changes in the structural and functional properties of hemoglobin and catalase molecules.

Keywords: erythrocytes, colloidal silver, nanoparticles, hemolysis, hemoglobin, catalase, structural state

REFERENCES

1. Gendrikson O.D., Safenkova I.V., Zherdev A.V., Dzantiev B.B., Popov V.O., *Biofizika*, 2011, T. 56, vyp. 6, s. 965—994.
2. Egorova E. M. Kubatiev A.A., Shvets V.I., *Biologicheskie efekty nanochastits metallov*, M.: Nauka, 2014, 350 s.
3. Nakvasina M. A., Artyukhov V.G., *Bionanotekhnologii: dostizheniya, problemy, perspektivy razvitiya*, Voronezh: Izdatel'skii dom VGU, 2015, 152 s.
4. Nakvasina M.A., Artyukhov V.G., *Osnovy bionanotekhnologii*. Voronezh: Izdatel'skii dom VGU, 2016, 72 s.
5. Chmielowiec-Korzeniowska A., Krzosek Ł., Tymczyna L., Pyrz M., Drabik A., *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska*, 2013, Vol. 31, N 2, pp. 1-11.
6. De Jong W.H., Van Der Ven L.T., Sleijffers A., Park M.V., Jansen E.H., Van Loveren H., Vandebriel R.J., *Biomaterials*, 2013, Vol. 34, N 33, pp. 8333—8343.
7. Kang S. J., Lee Y. J., Lee E.-K., Kwak M.-K., *Toxicology Letters*, 2012, Vol. 211, N 3, pp. 334—341.
8. Kim J.S., Kuk E., Yu K., Kim J.H., Park S.J., Lee H.J., Kim S.H., Park Y.K., Park Y.H., Hwang C.-Y., Kim Y.K., Lee Y.S., Jeong D.H., Cho M.H., *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2007, Vol. 3, pp. 95—101.
9. Zhang L., Gu F. X., Chan J. M., Wang A. Z., Langer R. S., Farokhzad O. C., *Nanoparticles in Medicine: Therapeutic Applications and Developments, Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 2008, Vol. 83, N 5, pp. 761—769.
10. *Praktikum po biofizike*, V.G.Artyukhov [i dr.]; pod obshch. red. V.G. Artyukhova; Voronezh: Izdatel'skii dom VGU, 2016, 314 s.
11. *Nanobiotekhnologii: praktikum*, pod red. A. B. Rubina, M.: BINOM. Laboratoriya znaniy, 2012, 384 s.
12. Rai M.K., Deshmukh S., Ingle A., Gade A.K., *Journal of Applied Microbiology*, 2012, Vol. 112, N 5, pp. 841—852.
13. Haase A., Arlinghaus H.F., Tentschert J., Jungnickel H., Graf P., Mantion A., Draude F., Galla S., Plendl J., Goetz M. E.; Masic A., Meier W., Thünemann A. F., Taubert A., Luch A., *ACS Nano*, 2011, Vol. 5, N 4, P. 3059—3068.
14. Liu W., Wang C., Li H.C., Wang T., Liao C.Y., Cui L., Zhou Q. F., Yan B., Jiang G.B., *Nanotoxicol.*, 2010, Vol. 4, N 3. pp. 319—330.
15. Söderstjerna E., Bauer P. M., Cedervall T., Abdshill H., Johansson F., Englund-Johansson U., *PLoS ONE*, 2014, Vol. 9, N 8, e105359.
16. Avalos A., Haza A.I., Mateo D., Morales P., *J. Appl. Toxicol.*, 2014, Vol. 34, N 4, pp. 413—423.
17. Miethling-Graff R., Rumpker R., Richter M., Verano-Braga T., Kjeldsen F., Brewer J., Hoyland J., Rubahn H.-G., Erdmann H., *Toxicol In Vitro*, 2014, Vol. 28, N 7, P. 1280—1289.
18. Zhornik E.V., Baranova L.A., Drozd E.S., Sudas M.S., T'yanu N.Kh., Byu N.K., Zung Ch.T.N., Chizhik S.A., Volotovskii I.D., *Biofizika*, 2014, T. 59, № 3, S. 466—473.
19. Han J.W., Gurunathan S., Jeong J.-K., Choi Y.-J., Kwon D.-N., Park J.-K., Kim J.-H., *Nanoscale Research Letters*, 2014, Vol. 9, P. 459—473.
20. Kozinets G.I., Pogorelov V.M., Shmarov D.A., Boev S.F., Sazonov V.V., *Kletki krovi. Sovremennye tekhnologii ikh analiza*, M.: Triada-Farm, 2002, 200 s.