

ВВЕДЕНИЕ В НАНОТОКСИКОЛОГИЮ ЗОЛОТА

Обзор литературы

Л.П. Точилкина, Л.Ю. Бочарова, Б.Н. Филатов

Федеральное государственное унитарное предприятие
«Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии»
Федерального медико-биологического агентства, г. Волгоград, Россия,
Лаборатория лекарственной безопасности

В историческом ракурсе освещены вопросы применения золота в биологии и медицине. Кратко охарактеризованы специфические «квантовые размерные эффекты», свойственные наносостояниям вещества. Рассмотрены основные направления и итоги морфометрического моделирования аурананообъектов и их технические и медико-биологические приложения. Приведены отечественные и зарубежные данные по токсикокинетике золотых наночастиц. Дана оценка значимости исследований цитотоксичности наноструктур *in vitro*. Представлена точка зрения о необходимости интенсификации работ в области нанотоксикологии, нашедшая широкое отражение в научной литературе последних лет.

Ключевые слова: медицина, золото, нанотехнологии, плазмонный резонанс, структурный дизайн, применение, цитотоксичность, кинетика.

The issues of application of gold in both biology and medicine are highlighted from the historical perspective. Quantum size effects specific to the nanostate of substance are briefly characterized. The basic trends and results of morphometric modeling of Au nanoobjects as well as their technical and biomedical specifications are analyzed. Both Russian and foreign data on gold nanoparticles' toxicokinetics are provided. The significance of studying cytotoxicity of nanostructures *in vitro* is assessed. A viewpoint on the requirement of intensification of activities in the nanotoxicology area which was widely spread in the recent scientific literature is expressed.

Keywords: medicine, gold, nanotechnologies, plasmon resonance, structural design, application, cytotoxicity, kinetics.

Современное состояние мировой науки знаменуется неудержимым развитием и ошеломляющими успехами нанотехнологий. Прорыв в данной области знаний служит мощным созидательным импульсом и расценивается как обязательное условие дальнейшего научного прогресса и потенциальная основа для качественного преобразования медицины и различных отраслей экономики. Суперминиатюризация и проявления квантовомеханических эффектов при доминирующей роли поверхностей раздела придают наноматериалам уникальные свойства, которые определяют возможность их новаторского применения в оптике, микроэлектронике, энергетике, строительстве, научных исследованиях, химической, пищевой, парфюмерно-косметической промышленности и других сферах практической деятельности человека [1]. В условиях активного продвижения нанопродукции в жизнь токсикологи поставлены перед дилем-

мой если не упреждающей, то хотя бы одновременной идентификации вероятных рисков ее использования.

Золото (Au) – благородный металл, эксплуатируемый в нанотехнологических разработках весьма интенсивно. Причиной тому служит целый ряд факторов: достижимость синтеза различных наночастиц, экстраординарные электронооптические свойства, легкость функционализации поверхности, возможность обнаружения низких концентраций и традиционно приписываемая золоту химическая инертность и биосовместимость [2, 3]. Последнее, видимо, постулируется на основе его отождествления со свойствами золота в макроразмерном состоянии, нежели доказано экспериментально или клинически.

Действительно, использование человеком золота с различными целями имеет историю продолжительностью не одну тысячу лет. В ка-

честве лекарственного средства оно применяется с древнейших времен [4, 5]. На Востоке (в Китае) о его целебных свойствах знали еще 4500 лет назад [5]. В западной медицине в течение нескольких столетий практиковали терапию золотом нервных расстройств, в XIV веке оно было рекомендовано для лечения эпилепсии, в XIX веке – сифилиса, в XX – туберкулеза [5, 6]. Двести лет назад С. Ганеманом *Aurum metallicum* был введен в гомеопатию, где имеет свои показания к применению и сохраняет значимость по сей день [7, 8]. В современной аллопатической медицине основное клиническое применение золота находят в стоматологии, пластической хирургии [4], а его соединения – в терапии ревматоидного артрита, дискоидной формы системной красной волчанки и псориаза [5].

Среди многочисленных лекарственных препаратов золота наибольшей международной известностью пользуются аурутиомалат натрия (тауредон, миокризин) и единственный препарат золота для приема внутрь – триэтилфосфин золота (ауранофин) [9]. Расцвет хризотерапии, очевидно, приходился на 80-е годы прошлого столетия. Приводятся данные, что к 1983 г. успешное курсовое лечение ауранофином по поводу ревматоидного артрита прошли более 3000 пациентов в 27 странах мира [10]. В последующие годы масштабы применения золотосодержащих средств в клинике и объемы экспериментальных работ по изучению механизмов их действия и сравнительной оценке эффективности явно нарастали [11–13]. Помимо результативности прямого целевого назначения, у отдельных препаратов (ауранофин) дополнительно были выявлены антибактериальное и антигрибковое действие [9], противоопухолевая активность [5] и благотворное влияние на течение астмы [14].

Значение хризотерапии умалило только введение в лечебную практику метотрексата [9, 15]. Смещению ее с лидирующих позиций способствовало также выявление у препаратов золота при длительном применении серьезных побочных эффектов. У лекарственных средств первого поколения (водорастворимые аурутиомалат натрия и аурутиоглюкоза) основным осложнением являлся нефротический синдром, самым частым – кожные аллергические реакции (от «золотого» дерматита до более редких, но

более тяжелых форм типа эксфолиативного дерматита и некролиза) [5, 9]. Описаны также изменения иммунологической реактивности, конъюнктивиты, стоматиты, энтероколиты, поражения печени, угнетение кроветворения [5, 9, 16–18]. Весьма редко наблюдаются алопеция, металлический привкус во рту, периферическая нейропатия и не имеющие клинического значения небольшие отложения золота в роговице и хрусталике [9]. В эксперименте у сурамина и аурутиомалата установлены тератогенные свойства [19]. Показана способность ионов золота проникать в ооциты [20] и преодолевать плацентарный барьер [21]. Менее выраженное побочное действие отмечают у препаратов второго поколения (ауранофин), однако и терапевтическая активность их также ниже [5, 9]. Все фармакопейные препараты золота (кризанол, тауредон, ауранофин, аурупан) имеют в перечне прямых противопоказаний беременность [9].

Вместе с тем, несмотря на наличие слабых сторон (весьма медленное развитие лечебного эффекта, частые побочные явления), соединения золота, продемонстрировавшие высокий терапевтический результат в ряде длительных двойных слепых исследований, до настоящего времени способны конкурировать с метотрексатом за репутацию лучшего базисного антиревматоидного средства [9]. Их лечебный потенциал не признается исчерпанным [9, 15].

В отличие от солей золота, токсичных в той или иной мере, само золото обладает такими ценными качествами, как химическая стойкость и биологическая инертность, которые позволяют успешно использовать его в зубопротезной практике и в хирургической косметологии (вживление под кожу тончайших золотых нитей, инициирующих формирование «каркаса» из эластичной коллагеновой ткани) [4]. Необычные свойства мелкодробленого золота. При восстановлении из сильно разбавленных растворов оно образует интенсивно окрашенные **коллоидные растворы** – гидрозоли, которые в зависимости от степени дисперсности могут иметь разный цвет: пурпурно-красный, синий, фиолетовый, коричневый и даже черный [22]. Первым, кто связал изменение цвета с размером частиц благородного металла, был Майкл Фарадей. Полученные им более полутора веков назад (в 1857 г.) коллоидные растворы золота и сего-

дня демонстрируют в Лондоне в музее Королевского института Великобритании [23, 24]. В гидрозолях размер частиц колеблется от нескольких нм до нескольких десятков нм, поэтому коллоидальное золото можно рассматривать как его **наноформу**, причем самую «старую» и самую простую из известных для него теперь.

Начало научного исследования свойств коллоидных благородных металлов привычно связывают с именем М. Фарадея. Однако такие растворы были хорошо знакомы еще алхимикам (III–XVI вв. н.э.). Возможно, что удивительными цветовыми превращениями, сопровождающими конденсацию металлов при восстановлении из растворов солей, были инспирированы поработившие их умы идеи о превращении элементов («трансмутации»), также как и представления об обладании коллоидным золотом свойствами панацеи. Известно, что знаменитый Парацельс препараты питьевого (коллоидного) золота, полученного восстановлением спиртовыми настоями целебных трав, использовал в своей врачебной практике как лекарственное средство [24]. В Индии последователи аюрведической доктрины для омоложения и восстановления жизненных сил поныне назначают под названием «Swarna Bhasma» красное коллоидальное золото [5]. Опыт медицины прошлого продолжает вдохновлять на разработку на той же основе новой косметической продукции и биологически активных добавок (БАД), которые в наши дни активно выводятся и на отечественный коммерческий рынок [25, 26].

Наноструктуры рассматривают как особое состояние вещества. Особенностью наносостояний (в том числе ультрадисперсного) являются специфические **«квантовые размерные эффекты»**. Эти эффекты наступают при таком критическом размере, который соизмерим с так называемым корреляционным радиусом того или иного физического явления (например, длиной свободного пробега электронов, фононов, длиной когерентности в сверхпроводнике, размерами магнитного домена и др.), и благодаря им материал в наномасштабе перестает демонстрировать физические свойства, присущие макросостоянию вещества, или проявляет их в измененном виде [1, 23, 27, 28].

При уменьшении размеров от 100 до 10 нм наблюдаются относительно слабые, а в диапа-

зоне от 10 до 1 нм – кардинальные изменения фундаментальных физических и химических свойств веществ, в частности, металлов. Изменяются параметры кристаллической решетки, температуры плавления, электронная структура, каталитические и многие другие свойства. По мере уменьшения размеров наночастиц в них возрастает относительная доля поверхностных атомов, вследствие асимметричного межатомного взаимодействия отличающихся по свойствам от атомов внутри. Поскольку действие поверхностных сил проникает на 5–6 атомных плоскостей вглубь кристалла, в частицах размером 1–10 нм действию этих сил подвергается фактически уже весь объем, и соответственно, все атомы могут рассматриваться как поверхностные. При диаметре частицы порядка 1,0–1,5 нм практически вся она представляет собой поверхность, и свойства ее становятся совершенно уникальными [28–30].

Коллективные колебания свободных электронов в металле получили название **«плазмон»** [31]. Характерной особенностью оптических свойств металлических наночастиц является феномен **плазмонного резонанса**, вызываемый воздействием электромагнитного излучения. Его суть состоит в резонансе между внутренними коллективными колебаниями электронов в металле и колебаниями, генерируемыми распространяющейся электромагнитной волной. Возникновение плазмонного резонанса приводит к локальному увеличению амплитуды поля электромагнитной волны внутри и вблизи наночастицы **в десятки раз** по сравнению со средней амплитудой поля в среде. Данный эффект сопровождается появлением полос поглощения и рассеяния, спектральное положение которых зависит от материала наночастиц, их размера, формы и энергетического состояния свободных электронов в наночастице [24, 32, 33].

В последние годы наночастицы коллоидного золота находят широкое применение в качестве эффективных оптических преобразователей биоспецифических взаимодействий. Их резонансные оптические свойства легли в основу развития целого ряда научных направлений и технических приложений [24, 34–37]. В медицине и биологии их использование для аналитических целей в биосенсорике и геномике [38, 39], визуализации клеточных структур

[40, 41], векторной доставки лекарственных средств [42, 43], иммунодиагностики [44, 45] и фототермолиза опухолевых тканей [46–48] базируется на уникальных оптических характеристиках золотых наночастиц вкуче с сообщенной им способностью к молекулярному биологическому «узнаванию». Последняя обеспечивается путем «функционализации» поверхности наночастиц – прикрепления к ней «узнающих» биомакромолекул-зондов (антител к специфичным онкомаркерам, одонитевых олигонуклеотидов и т. д.). С этой целью используются два основных подхода: физическая адсорбция и химическая пришивка через тиольные производные молекул или соответствующие линкеры [24, 34]. Получаемые наноструктуры называют биоконъюгатами; в их составе молекула-зонд обеспечивает поиск и связывание с целевой мишенью, а металлическое ядро частицы служит оптической меткой для визуализации этого связывания. Наночастицы золота эффективно трансформируют энергию поглощенного света в тепловую и благодаря резкому нагреву наночастиц лазерными импульсами могут быть использованы для селективной тепловой фотодеструкции раковых клеток [24, 34–36].

Для применения в биомедицине резонансные оптические свойства наноструктур должны быть настроены в окно прозрачности биотканей [34, 48]. Спектральная настройка плазмонного резонанса наночастиц и соотношения между их эффективностями поглощения и рассеяния осуществляется за счет изменения размера, формы, металла и структуры частиц. До недавнего времени в большинстве приложений использовались коллоидные золотые наночастицы примерно сферической формы [34]. Бурное развитие концепции структурного («граничного») дизайна и технологий синтеза за последние 10–15 лет предоставило исследователям новый арсенал возможностей для создания наносистем с желаемыми свойствами [24, 34, 49]. Современный перечень наночастиц весьма широк и включает наряду с хорошо известными теперь золотыми наностержнями и нанооболочками такие экзотические структуры, как «нанорис», «нанозвезды», «наноклетки» [24, 34, 50, 51], «нанокольца» [52], полые наносферы [53], «нанокорпусы» (англ. «nanocages» – пустотелые наноструктуры с пористыми стенками) [54, 55], «нанопогре-

мушки» (англ. «nanorattles» – структуры в виде оболочки над подвижной твердой сердцевиной) [54], нанообъекты с формой кубов, призм, гексаэдров и даже с очертаниями, напоминающими сапог [54, 56]. Уже сейчас можно констатировать, что контролируемая настройка спектрального положения и амплитуды плазмонного резонанса является тем конструктивным подходом, который способен обеспечить существенный прогресс по таким направлениям, как получение более совершенных контрастирующих агентов, повышение чувствительности иммуноанализа, расширение возможностей фотоакустической диагностики опухолей, увеличение полноты фототермальной конверсии [24, 48, 50, 55–57].

Особо следует выделить исследования по разработке и оптимизации методов эффективной лазерной фотодеструкции раковых клеток, специфически меченных конъюгатами золотых наночастиц [48, 58]. Его важность как многообещающей альтернативы неоперативным методам лечения опухолей очевидна ввиду недостаточной селективности действия и плохой переносимости химиотерапевтических средств и способности неопластических клеток к ускользанию от гибели за счет быстрой выработки множественной лекарственной устойчивости [59, 60]. Неменьшие надежды связаны с векторной доставкой лекарственных средств, когда размерные эффекты наночастиц позволяют, как полагают, повысить биодоступность и эффективность действующего начала при одновременном снижении токсичности и устранении побочных эффектов [61].

Результаты морфометрического моделирования и исследования физико-химических свойств нанообъектов, успехи в поиске и экспериментальной апробации их технических и медико-биологических приложений столь впечатляющи, что сложившуюся на сегодняшний день ситуацию можно уже без колебаний определить как канун массивированной интервенции нанотехнологий в клиническую медицину. Между тем прогресс в этой области знаний наряду с естественным оптимизмом вызывает и определенную тревогу.

По данным американских специалистов объем государственного финансирования и частных инвестиций в нанотехнологическую от-

расль исчисляется миллиардами исследовательских долларов; ожидаемой отдачей от этих вложений через 10 лет должна стать развитая нанопромышленность с триллионным оборотом [62]. Полагают, что объем производства наночастиц к 2020 г. возрастет до 58000 т по сравнению с 2300 т в наши дни [63]. На фоне этих прогнозов и осознания неизбежности вовлечения в контакт с наноматериалами все возрастающего количества людей вызывает удивление то обстоятельство, что нанотоксикология до сих пор не в состоянии преодолеть инфантильной стадии своего развития. Сведения о биологической активности и токсических свойствах наноматериалов явно недостаточны и зачастую носят обескураживающе противоречивый характер [62, 63]. Как регулирующие агентства, так и сами исследователи солидарны во мнении, что внедрению нанопроductии в повседневную практику должна предшествовать тщательная оценка ее безопасности [62–66]. Особо жесткие требования следует предъявлять к наноизделиям, предназначенным для медицинского применения [61, 67, 68]. Вопрос об объеме и содержании подобных исследований остается дискуссионным, однако трудно возразить, что обязательным разделом таких испытаний должно стать изучение токсикокинетики нанообъектов и их цитотоксичности в условиях *in vitro* и *in vivo*. Поскольку материалы в различных наноформах по своим физико-химическим свойствам (оптическим, электрическим, каталитическим и механическим) существенно отличаются от макроразмерных дубликатов, есть все основания полагать, что эти различия распространятся и на их биологическую активность. Считают, что последняя пока не может быть предсказана исходя из химического состава нанообъекта, свойств ближайших структурных аналогов и, тем более, макроразмерной копии, и потому в каждом случае требует индивидуальной оценки [62, 65–68]. Из изложенного выше очевидно, например, что для нанозолота прогнозируемая область медицинского применения уже не совпадает с фармакотерапевтической нишей препаратов золота в их макроразмерном состоянии.

При растущем объеме нанотоксикокинетических исследований их результаты на сегодняшний день позволяют выявить закономерности лишь самого общего плана. **Сравнитель-**

ный анализ данных по кинетике и токсичности нанообъектов, в том числе нанолекарств золота, серьезно затруднен их **морфометрическим разнообразием**. Сложности возникают даже при определении такого важного токсипараметра, как величина испытываемой дозы. Для ее корректного вычисления признано целесообразным приводить информацию о дополнительных дозовых метриках испытываемого образца – массе, размере, площади поверхности частиц, их количестве в единице объема и т. д. Однако и эти данные в большинстве случаев не лишены ряда допущений и неопределенностей: например, не всегда достоверно известно, является ли система моно- или полидисперсной (каков разброс частиц по размеру), подвержены ли частицы агрегации и агломерации (влияние на величину поверхности) и т. д. [66]. Следует также понимать, что нанообъекты с медицинским назначением (в том числе на основе золота) являются в большинстве случаев мультикомпонентными и полифункциональными структурами [67]. В их состав могут входить сложные навигационные биомолекулы-зонды, лекарственные вещества; поверхность наночастиц может быть функционализирована гидрофильными полимерами с целью придания большей растворимости и продления времени циркуляции за счет ингибирования фагоцитоза, она может нести заряды различной полярности и т. д. После реализации основного эффекта и биодegradации поведение и судьба каждой из составных частей нанообъекта может оказаться различной и должна быть отслежена для идентификации потенциального вреда здоровью. Это требует применения валидированных методов их детекции в различных биологических матрицах [66, 67]. В противном случае однозначное соотнесение важнейших дескрипторов токсичности нанообъекта с каким-либо его конкретным составным компонентом может оказаться невозможным [63].

Тем не менее, применительно к конкретной наноформе некоторые токсикокинетические закономерности все же могут быть установлены. Легче всего это можно проследить на примере наиболее полно изученного коллоидного золота. Его токсикокинетика исследована при разных путях поступления в организм [69–78].

Внутривенный использовали как модельный для анализа характера системного распре-

деления *in vivo* наночастиц сферической формы в зависимости от их размера. С этой целью в одном из исследований крысам в хвостовую вену инъецировали наночастицы коллоидального золота диаметром 10, 50, 100 и 250 нм и через 24 часа проводили их определение во внутренних средах организма. Для частиц всех испытываемых размеров было доказано преимущественное накопление золота в печени и селезенке. Очевидные отличия в характере распределения были выявлены только у самых мелких, 10-нм частиц, которые обнаруживались повсеместно – в крови, сердце, легких, печени, селезенке, почках, тимусе, мозгу и семенниках [69]. Когда инъецировали наночастицы с поверхностным отрицательным зарядом, образец распределения по тканям был приблизительно таким же: 18-нм частицы аккумулировались в печени и селезенке, тогда как для частиц 1,4-нм размера сорбция в этих органах составляла только половину введенной дозы, другая ее часть распределялась по прочим органам, когда золото обнаруживали также в кровотоке (свыше 24 часов), мягких тканях, костных структурах, а у беременных самок – в тканях фетоплацентарного комплекса [70, 71]. Принципиально сходные результаты были получены в опытах на мышах с внутривенным введением золотых частиц размерами 15, 50, 100 и 200 нм: через 24 часа основная часть нанозолота, независимо от размера частиц, аккумулировалась в печени и селезенке, а также легких. В остальных органах и тканях (включая кровь, печень, легкие, селезенку, почки, сердце, желудок и мозг) в наибольшем количестве сорбировались частицы 15-нм размера; преодолеть гематоэнцефалический барьер были способны только частицы размером 15 и 50 нм [72]. Те же закономерности были установлены отечественными учеными в опытах на крысах и кроликах с внутривенным введением 15- и 50-нм наночастиц, покрытых полиэтиленгликолем (ПЭГ) [73]. В отдельном исследовании у мышей прослежена судьба 40-нм частиц золота [74]. Через сутки после введения золотые наночастицы идентифицировали почти во всех Купферовских клетках, существенное снижение фракции «загруженных» золотом клеток наблюдали только *по истечении 6 месяцев*. Золотые наночастицы локализовались внутри везикулярных лизосома/эндосомоподобных структур

макрофагов и с течением времени реорганизовывались в кластеры.

При **пероральном введении** мышам частиц коллоидного золота с частицами диаметром 4, 10, 28 и 58 нм было установлено, что их всасывание происходит в тонком кишечнике. Захват осуществляется путем проникновения наночастиц в микроотверстия, образующиеся в процессе экструзии из ворсинок единичных деградирующих энтероцитов. Скорость и степень всасывания наночастиц находились в обратной зависимости от их размера: в то время как после введения 4-нм частиц их присутствие обнаруживали в почках, печени, селезенке, легких и даже головном мозгу, распределение частиц наибольшего размера (58 нм) ограничивалось единственно пределами желудочно-кишечного тракта [75].

При **интраперитонеальном поступлении** в организм в виде концентрированной суспензии в течение 4 дней максимальные количества золота определяли в печени и селезенке [76].

Изучение кинетики наночастиц золота с отрицательным поверхностным зарядом показало, что через 24 часа после их **интратрахеальной инстиляции** крысам фракция золота, перешедшего из легких в кровотоки и достигшая вторичных органов-мишеней, для 1,4-нм частиц в 30 раз превышала таковую для частиц диаметром 18 нм и составляла 8% от инстиллированной дозы. Частицы были найдены в печени, селезенке, почках, сердце, головном мозгу, в скелете, мягких тканях, репродуктивных органах, однако максимальное количество задерживалось в легких [71]. При **ингалировании** частиц размерами 5–8 нм большинство их также оседало в легких, хотя незначительная, но достоверная доля попадала в кровь [77]. Когда ингаляционное воздействие аэрозолями наночастиц продолжалось 5 дней, золото обнаруживали только в легких и обонятельной луковице (!). При увеличении продолжительности ингаляционного контакта до 15 дней значительные его отложения определяли уже в легких, пищеводе, языке, почках, аорте, поджелудочной железе, селезенке, сердце и кровотоке. В легких наблюдали специфическое снижение фосфатидилсерина и изменения регуляции ряда генов. Концентрация частиц в аэрозоле составляла $2 \times 10^{-6} / \text{см}^3$ при

том, что более 75% имело размеры между 30 и 110 нм [78].

Краткий обзор работ по токсикокинетике золотых наночастиц сферической формы укрепляет в мысли, что процессы распределения носят характер отчетливо выраженной зависимости от их размера. Как показано выше, частицы размером менее 10–15 нм обладают наибольшей проникающей способностью и потому, видимо, потенциально более агрессивны. Это допущение хорошо согласуется с результатами, изложенными в [79]. В исследовании были использованы ПЭГилированные частицы нанозолота размером 13 нм, которые вводили в/в 6-недельным BALB/с мышам самцам в виде суспензии в дозах 0, 0,17, 0,85 и 4,26 мг/кг массы тела. При вводимом объеме 100 мкл среднее количество инъецированных частиц на мышь составляло $1,76 \times 10^{11}$, $8,8 \times 10^{11}$ и $4,4 \times 10^{12}$ для низшей, средней и максимальной доз соответственно. Установлено, что в печени животных наночастицы вызывали острый воспалительный процесс и клеточный апоптоз. Эти процессы развивались на фоне длительной циркуляции наночастиц в крови и присутствии их в печени и селезенке вплоть до 7 дней после инъекции. ПЭГилированные частицы обнаруживались в многочисленных цитоплазматических везикулах и лизосомах печеночных Купферовских клеток и селезеночных макрофагов [80]. Размерно-обусловленный характер гистологических изменений в клетках эндотелия, печени, селезенки, легких, почек, так же как и длительности циркуляции золотых наночастиц при их системном введении, были доказаны и в опытах на крысах и кроликах [48, 73, 80].

Вместе с тем, прогнозирование степени токсичности частиц на основе их кинетики представляется все же недостаточно надежным подходом, если учесть, что уже на сегодняшний день получены сведения о развитии ряда парадоксальных токсических эффектов. Так, тайваньские ученые при внутрибрюшинном введении BALB/с мышам наночастиц золота в дозе 8 мг/кг/неделю обнаружили, что частицы размером 3, 5, 50 и 100 нм не причиняли животным никакого вреда, в то время как частицы с размерами в диапазоне от 8 до 37 нм (8, 12, 17 и 37) вызывали у них явное болезненное состояние. Животные становились вялыми, утрачивали ап-

петит, теряли в весе, цвет шкурки менялся. С 14-го дня у мышей стали прогрессировать нарушения со стороны позвоночника («верблюдopodobная спина»), к 21-му дню эксперимента большинство особей этих групп погибло. При патоморфологическом исследовании у павших животных были обнаружены увеличение Купферовских клеток печени, потеря структурной целостности легких и диффузные изменения белой пульпы селезенки. В пораженных органах регистрировали скопления золотых наночастиц. Модификация поверхности наночастиц инкорпорированием иммуногенного пептида снизило их токсичность, что связали с активацией способности организма к антителообразованию [81].

«Взламывание» размерно-обусловленной токсичности наблюдали и в экспериментах *in vitro*. Побуждаемые противоречивостью данных о цитотоксичности наночастиц золота, авторы [82] в рамках единого эксперимента провели оценку их токсичности одновременно на 4 клеточных линиях. Размер наночастиц испытуемых образцов колебался от 0,8 до 15 нм. Все типы клеток (фибробласты соединительной ткани, эпителиальные клетки, макрофаги и клетки меланомы) оказались **максимально чувствительны** к частицам размером 1,4 нм: диапазон значений IC_{50} составил для них величины от 30 до 56 мкМ. В сравнении с ними золотые наночастицы 15-нм размера и тауредон не проявляли токсичности вплоть до концентраций, превышавших их в 60 и 100 раз, соответственно. Частицы размером 0,8, 1,2 и 1,8 нм были менее токсичны от 4 до 6 раз. Характеризуя цитотоксичность золотых наночастиц как размерно-обусловленную, авторы все же подчеркивают то обстоятельство, что частицы диаметром 1,4 нм вызывали преимущественно быструю (в течение 12 часов) клеточную гибель с развитием некроза, в то время как максимально приближенные к ним по размерам 1,2-нм наночастицы индуцировали клеточный апоптоз. Такую избирательную токсичность 1,4-нм частиц позднее объяснили их наилучшим размерным соответствием бороздкам на поверхности ДНК [83].

Следует подчеркнуть, что в сравнении с многочисленными токсикологическими работами, выполненными на животных, исследований *in vitro* несоизмеримо больше. Они давно выде-

лились в самостоятельное направление исследований, в рамках которого не только оценивается цитотоксичность *per se* [84, 85], но и успешно решаются вопросы, связанные с уточнением закономерностей взаимодействия нанобъектов с живыми системами – на уровне клетки и субклеточном. Благодаря им сформированы представления о механизмах интернализации наночастиц и их внутриклеточной локализации [86–89], влиянии на органеллы [90], клеточное ядро [91, 92], НК и регуляцию генов [39, 93–95], первоосновах повреждающего действия [96, 97] и многие другие [98–103]. На сегодняшний день они являются самым оперативным инструментом для анализа и первичной оценки свойств продуктов нанотехнологий, структурного дизайна и химии поверхности. Именно в русле этих работ получили объяснение, например, различия в скорости клеточного поглощения и токсичности между сферическими наночастицами и золотыми наностержнями. Причинная обусловленность повышенной токсичности наностержней остаточными количествами используемого в их синтезе стабилизатора цетилтриметиламмония бромид (cetyltrimethylammonium bromide – СТАВ), первоначально высказанная в виде предположения, была доказана экспериментально и послужила толчком к серии работ по дополнительной функционализации (пассивации) поверхности этой перспективной для медицинских целей наноструктуры [63, 104–108].

Достоинства и недостатки исследований *in vitro* общеизвестны. Значимость таких работ несомненна, однако установленные с их помощью закономерности не всегда демонстрируют удовлетворительные корреляции с процессами, наблюдаемыми *in vivo* [109, 110]. В этой связи поднимаются вопросы как о дальнейшем совершенствовании, стандартизации и валидации инвитровских методик [110], так и необходимости наращивания объемов экспериментальных исследований *in vivo*, поскольку вопрос об острой, субхронической и хронической токсичности наноразмерного золота на уровне целостного организма остается до конца неясным [62, 66, 67, 79].

Ведущие отечественные ученые-синтетики признают, что морфометрические и физико-химические параметры наночастиц благород-

ных металлов сложным образом зависят от большого количества трудно контролируемых, порой, переменных параметров. Многие тонкости технологии синтеза наночастиц носят эмпирический характер, и только некоторые процессы могут быть строго алгоритмизированы [24, 37]. Такая ситуация даже в рамках управляемого синтеза наночастиц с заданными свойствами оставляет место эвристическим подходам, что обещает неожиданные находки нанотехнологам и необъятное поле деятельности – нанотоксикологам.

Список литературы

1. Гудилин, Е.А. Наноматериалы для мегаоткрытий. – URL: <http://www.fnm.msu.ru/documents/17/goodilin.pdf>.
2. Crespilho, F.N., Lima, F.C.A., da Silva, A.B.F., Oliveira, O.N. (Jr.), Zucolotto, V. The origin of the molecular interaction between amino acids and gold nanoparticles: A theoretical and experimental investigation // Chem. Phys. Lett. – 2009. – Vol. 469, No. 1–3. – P. 186–190.
3. Gold Nanoparticles. – Gold Nanoparticles. Lingjuan Shen Literature Seminar, December 2, 2008. – URL: <http://www.chemistry.illinois.edu/research/.../2008.../Shen.Abstract.pdf>
4. Физиологическое воздействие золота на организм. – URL: http://www.o8ode.ru/.../vozdeictvie_zolota_na_organizm.htm. – Сохранено в кэше.
5. Bhattacharya, R., Mukherjee, P. Biological properties of “naked” metal nanoparticles // Adv. Drug Delivery Rev. – 2008. – Vol. 60, No. 11. – P. 1289–1306.
6. Daniel, M.C., Astruc, D. Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology. Chem. Rev. – 2004. – Vol. 104. – P. 293–346.
7. Попова, Т.Д. MATERIA MEDICA. Гомеопатические лекарства: Справочник. – Центр гомеопатии МЗ УССР, НВИЦ «ЛАМО», 1991. – 192 с.
8. Aurum metallicum Аурум металликум. – Центр классической гомеопатии. – URL: <http://www.norna.ru/DIR00/2777.htm>. – Сохранено в кэше.
9. Сигидин, Я.А., Лукина, Г.В. Препараты золота в терапии ревматоидного артрита. URL: <http://www.artur-k.com.ua/page182/>.
10. Blodgett, R.C. (Jr.) Aurano-fin: experience to date // Amer. J. Med. – 1983. – Vol. 75, No. 6A. – P. 86–89.
11. Felson, D.T., Anderson, J.J., Meenan, R.F. The comparative efficacy and toxicity of second-line drugs in rheumatoid arthritis. Results of two metaanalyses // Arthritis Rheum. – 1990. – Vol. 33. – P. 1449–1461.

12. Shaw, I.C. Gold-based therapeutic agents // *Chem. Rev.* – 1999. – Vol. 99. – P. 2589–2600.
13. Wood, P.L., Khan, M.A., Moskal, J.R. Mechanism of action of the disease-modifying anti-arthritis thiol agents D-penicillamine and sodium aurothiomalate: restoration of cellular free thiols and sequestration of reactive aldehydes // *Eur. J. Pharmacol.* – 2008. – Vol. 580, No. 1–2. – P. 48–54.
14. Honma, M., Tamura, G., Taniguchi, Y., Takishima, T. The effect of an oral gold compound, auranofin, on bronchial responsiveness to inhaled methacholine in well-controlled bronchial asthma // *Alerugi. Jap. J. Allergol.* – 1991. – Vol. 40, No. 12. – P. 1470–1476.
15. Kean, W.F., Kean, I.R. Clinical pharmacology of gold // *Inflammopharmacology.* – 2008. – Vol. 16, No. 3. – P. 112–125.
16. Goldermann, R., Schuppe, H.C., Gleichmann, E., Kind, P., Merk, H., Rau, R., Goerz, G. Adverse immune reactions to gold in rheumatoid arthritis: lack of skin reactivity // *Acta dermato-venereol.* – 1993. – Vol. 73, No. 3. – P. 220–222.
17. Тюренков, И.Н. Лекарственные поражения кишечника // *Новые лекарства и новости фармакотерапии.* – 2002. – № 1. – С. 21–26.
18. Зборовский, А.Б. Неблагоприятные побочные эффекты лекарственных средств. – М.: Медицинское информационное агентство, 2008. – 656 с.
19. Freeman, S.J., Lloyd, J.B. Evidence that suramin and aurothiomalate are teratogenic in rat by disturbing yolk sac-mediated embryonic protein nutrition // *Chem.-Biol. Interact.* – 1986. – Vol. 58, No. 2. – P. 149–160.
20. Møller-Madsen, B., Simonsen, O.H., Doss, D.N., Danscher, G. Gold in the ovary of rats exposed to sodium aurothiomalate // *Exp. and Mol. Pathol.* – 1985. – Vol. 42, No. 2. – P. 287–292.
21. Møller-Madsen, B., Danscher, G. Transplacental transport of gold in rats exposed to sodium aurothiomalate // *Exp. and Mol. Pathol.* 1983. – Vol. 39, No. 3. – P. 327–331.
22. Золото. – URL: <http://www.o8ode.ru/article/oleg2/golden/>. – Сохранено в кэше.
23. Сумм, Б.Д., Иванова, Н.И. Коллоидно-химические аспекты нанохимии – от Фарадея до Пригожина // *Вестн. МГУ. Сер. 2. Химия.* – 2001. – Т. 42. – № 5. – С. 300–305.
24. Методы синтеза наночастиц с плазмонным резонансом. – URL: http://www.sgu.ru/files/nodes/23925/Bog_edu1.pdf.
25. LoveBody – Золотая капля от Alissi Bronte – мгновенное омоложение ... – URL: <http://www.lovebody.by/.../LoveBody.html>. – Сохранено в кэше.
26. Как коллоидное золото улучшает пищеварение и убивает рак. – URL: <http://www.lifepac.narod.ru/zoloto.htm>.
27. Суздальев, И.П. Нанотехнология: Физико-химия нанокластеров, наноструктур и наноматериалов / 2-е изд., испр. / Синергетика: от прошлого к будущему. – М.: ЛИБРОКОМ, 2009. – 592 с.
28. Перспективы и проблемы нанотехнологий. – URL: <http://council.gov.ru/files/journalsf/item/20070420103719.pdf>.
29. Классификация наноматериалов. Наночастицы. – URL: http://edu.ulsu.ru/.../Классификация_наноматериалов.Наночастицы. – Сохранено в кэше.
30. Нанотехнологии для медицины: обмен идеями. // *Наука в Сибири.* – 2007. – № 44 (2629). – URL: <http://www.sbras.ru/win/.../hbc.phtml?>... – Сохранено в кэше.
31. Нанотехнология – Википедия. – URL: <http://ru.wikipedia.org/.../Нанотехнология>. – Сохранено в кэше.
32. Сидоров, А.И. Двойной плазмонный резонанс в сферических наноструктурах металл-диэлектрик-металл // *Ж. техн. физ.* – 2006. – Т. 76, № 4. – С. 86–90.
33. Кавецкая, И.В., Волошина, Т.В., Караванский, В.А., Красовский, В.И. Оптические свойства наночастиц золота // *Конденсир. среды и межфаз. границы.* – 2009. – Т. 11, № 1. – С. 53–57.
34. Наночастицы с настраиваемым плазмонным резонансом. – URL: [http://rusnanotech08.rusnanoforum.ru/sadm_files/disk/.../7%20\(13\).pdf](http://rusnanotech08.rusnanoforum.ru/sadm_files/disk/.../7%20(13).pdf).
35. Jain, P.K., Huang, X., El-Sayed, I.H., El-Sayed, M.A. Noble metals on the nanoscale: optical and photothermal properties and some applications in imaging, sensing, biology, and medicine // *Accounts Chem. Res.* – 2008. – Vol. 41, No. 12. – P. 1578–1586.
36. Boisselier, E., Astruc, D. Gold nanoparticles in nanomedicine: preparations, imaging, diagnostics, therapies and toxicity // *Chem. Soc. Rev.* – 2009. – Vol. 38, No. 6. – P. 1759–1782.
37. Дыкман, Л.А., Богатырев, В.А., Щеголев, С.Ю., Хлебцов, Н.Г. Золотые наночастицы: Синтез, свойства, биомедицинское применение. – М.: Наука, 2008. – 319 с.
38. Gu, H.-Y., Lu, S.-Y., Jiang, Q.-Y., Yu, Ch.-M., Li, G., Chen, H.-Y. A Novel Nitric Oxide Cellular Biosensor Based on Red Blood Cells Immobilized on Gold Nanoparticles // *Anal. Lett.* – 2006. – Vol. 39, No. 15. – P. 2849–2859.
39. Rosi, N.L., Giljohann, D.A., Thaxton, C.S., Lytton-Jean, A.K., Han, M.S., Mirkin, C.A. Oligonucleotide-modified gold nanoparticles for intracellular gene regulation // *Science.* – 2006. – Vol. 312, No. 5776. – P. 1027–1030.
40. Stoffel, M.H., Friess, A.E. Demonstration and cytochemical analysis of anionic sites on ejaculated boar spermatozoa: a scanning electron microscopy study using cationised colloidal gold // *Histochem. and Cell Biol.* – 2002. – Vol. 117. – P. 61–67.
41. Ширманова, М.В., Загайнова, Е.В., Балалаева, И.В., Орлова, А.Г., Саунина, Н.А., Каменский, В.А. Исследование контрастирующих свойств золотых наночастиц для оптической когерентной томографии // *Вестн. Нижегород. университета.* – 2008. – № 3. – С. 92–97.

42. Paciotti, G.F., Myer, L., Weinreich, D., Goia, D., Pavel, N., McLaughlin, R.E., Tamarkin, L. Colloidal gold: a novel nanoparticle vector for tumor directed drug delivery // *Drug Deliv.* – 2004. – Vol. 11, No. 3. – P. 169–183.
43. Aghdam, A.G., Vossoughi, M., Almzadeh, I., Zeinali, M. Bioconjugation of Interferon-alpha Molecules to Lysine-Capped Gold Nanoparticles for Further Drug Delivery Applications // *J. Dispers. Sci. and Technol.* – 2008. – Vol. 29, No. 8. – P. 1062–1065.
44. Qiusheng, L., Liqiang, L., Wei, C., Chifang, P., Libing, W., Chuanlai, X.. Gold nanoparticle-based immunochromatographic assay for the detection of 7-aminoclonazepam in urine // *Int. J. Environ. Anal. Chem.* – 2009. – Vol. 89, No. 4. – P. 261–268.
45. Jin, X., Jin, X., Chen, L., Jiang, J., Shen, G., Yu, R. Piezoelectric immunosensor with gold nanoparticles enhanced competitive immunoreaction technique for quantification of aflatoxin B1 // *Biosens. and Bioelectron.* – 2009. – Vol. 24, No. 8. – P. 2580–2585.
46. Huang, X., Jain, P.K., El-Sayed, I.H., El-Sayed, M.A. Gold nanoparticles: interesting optical properties and recent applications in cancer diagnostics and therapy // *Nanomedicine.* – 2007. – Vol. 2, No. 5. – P. 681–693.
47. Terentyuk, G.S., Maslyakova, G.N., Suleymanova, L.V., Khlebtsov, N.G., Khlebtsov, B.N., Akchurin, G.G., Maksimova, I.L., Tuchin, V.V. Laser-induced tissue hyperthermia mediated by gold nanoparticles: toward cancer phototherapy // *J. Biomed. Opt.* – 2009. – Vol. 14, No. 2. – P. 021016.
48. Терентюк, Г.С. Иммунологическая реактивность при экспериментальном воздействии лазерной гипертермии с наночастицами на опухолевые ткани: Автореф. дис. на соиск. уч. степ. докт. биол. наук. – Ульяновск, 2009. – URL: <http://vak.ed.gov.ru/common/img/uploaded/files/vak/announcements/biolog/2009/30-03/TerentukGS.doc>.
49. Концепция граничного дизайна. – URL: <http://library.mephi.ru/data/scientific-sessions/2004/9/228.pdf>.
50. Золотые наноболочки: синтез, оптические свойства. – URL: http://rusnanotech08.rusnanoforum.ru/sadm_files/disk/Docs/.../026.pdf.
51. Huang, X., El-Sayed, I.H., Qian, W., El-Sayed, M.A. Cancer cell imaging and photothermal therapy in the near-infrared region by using gold nanorods // *J. Amer. Chem. Soc.* – 2006. – Vol. 128, No. 6. – P. 2115–2120.
52. Larsson, E.M., Alegret, J., Käll, M., Sutherland, D.S. Sensing characteristics of NIR localized surface plasmon resonances in gold nanorings for application as ultrasensitive biosensors // *Nano Lett.* – 2007. – Vol. 7, No. 5. – P. 1256–1263.
53. Lu, W., Xiong, C., Zhang, G., Huang, Q., Zhang, R., Zhang, J.Z., Li, C. Targeted Photothermal Ablation of Murine Melanomas with Melanocyte-Stimulating Hormone Analog-Conjugated Hollow Gold Nanospheres // *Clin. Cancer Res.* – 2009. – Vol. 15. – P. 876. – doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-1480.
54. Skrabalak, S.E., Chen, J., Sun, Y., Lu, X., Au, L., Cobley, L.M., Xia, Y. Gold Nanocages: Synthesis, Properties, and Applications // *Accounts Chem. Res.* – 2008. – Vol. 41, No. 12. – P. 1587–1595.
55. Skrabalak, S.E., Chen, J., Au, L., Lu, X., Lu, X., Xia, Y. Gold Nanocages for Biomedical Applications // *Adv. Mater. Deerfield.* – 2007. – Vol. 19, No. 20. – P. 3177–3184.
56. Hu, J., Wang, Z., Li, J. Gold Nanoparticles With Special Shapes: Controlled Synthesis, Surface-enhanced Raman Scattering, and The Application in Biodetection // *Sensors.* – 2007. – No. 7. – P. 3299–3311.
57. Yang, X., Skrabalak, S.E., Li, Z.-Y., Xia, Y., Wang, L.V. Photoacoustic Tomography of a Rat Cerebral Cortex in vivo with Au Nanocages as an Optical Contrast Agent // *Nano Lett.* – 2007. – Vol. 7, No. 12. – P. 3798–3802.
58. Zharov, V.P., Kim, J.-W., Curiel, D.T., Everts, M. Self-assembling nanoclusters in living systems: application for integrated photothermal nanodiagnostics and nanotherapy // *Nanomedicine.* – 2005. – Vol. 1, No. 4. – P. 326–345.
59. Множественная лекарственная устойчивость опухоли и механизм ... – URL: <http://www.rosoncweb.ru/.../23.htm>. – Сохранено в кэше.
60. Mechanisms of cancer drug resistance. – URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11818492>.
61. De Jong, W.H., Borm, P.J.A. Drug Delivery and Nanoparticles: Applications and Hazards // *Int. J. Nanomed.* – 2008. – Vol. 3, No. 2. – P. 133–149.
62. Curtis, J., Greenberg, M., Kester, J., Phillips, S., Krieger, G. Nanotechnology and Nanotoxicology: A Primer for Clinicians. Review Article // *Toxicol. Rev.* – 2006 – Vol. 25, No. 4. – P. 245–260.
63. Wang, S., Lu, W., Tovmachenko, O., Rai, U.S., Yu, H., Ray, P.C. Challenge in understanding size and shape dependent toxicity of gold nanomaterials in human skin keratinocytes // *Chem. Phys. Lett.* – 2008. – Vol. 463, No. 1–3. – P. 145–149.
64. Risk assessment of Products of Nanotechnologies. – SCENIHR (Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks), Risk assessment of products of nanotechnologies, 19 January 2009. – URL: http://ec.europa.eu/health/...risk/committees/...scenih/.../scenih_r_o_023.pdf.
65. Murphy, C.J., Gole, A.M., Stone, J.W., Sisco, P.N., Alkilany, A.M., Goldsmith, E.C., Baxter, S.C. Gold Nanoparticles in Biology: Beyond Toxicity to Cellular Imaging // *Accounts Chem. Res.*, Article ASAP – doi: 10.1021/ar800035u.
66. Hagens, W.I., Oomen, A.G., de Jong, W.H., Cassee, F.R., Sips, A.J.A.M. What do we (need to) know about the kinetic properties of nanoparticles in the body? // *Regul. Toxicol. and Pharmacol.* – 2007. – Vol. 49. – P. 217–229.

67. Hall, J.B., Dobrovolskaia, M.A., Patri, A.K., McNeil, S.E. Characterization of Nanoparticles for Therapeutics // *Nanomedicine*. – 2007. – Vol. 2, No. 6. – P. 789–803.
68. Lanone, S., Boczkowski, J. Biomedical applications and potential health risks of nanomaterials: Molecular mechanisms // *Curr. Mol. Med.* – 2006. – Vol. 6, No. 6. – P. 651–663.
69. De Jong, W.H., Hagens, W.I., Krystek, P., Burger, M.C., Sips, A.J., Geertsma, R.E. Particle size-dependent organ distribution of gold nanoparticles after intravenous administration // *Biomaterials*. – 2008. – Vol. 29, No. 12. – P. 1912–1919.
70. Semmler-Behnke, M., Fertsch, S., Schmid, O., Wenk, A., Kreyling, W.G. Uptake of 1.4 nm versus 18 nm gold particles by secondary target organs is size dependent in control and pregnant rats after intratracheal or intravenous application // *Proceedings of Euro Nanoforum - Nanotechnology in Industrial Applications*. – 2007. – P. 102–104. – URL: http://www.euronanoforum2007.de/download/Proceedings_ENF2007.pdf.
71. Semmler-Behnke, M., Kreyling, W.G., Lipka, J., Fertsch, S., Wenk, A., Takenaka, S., et al. Biodistribution of 1.4 nm and 18 nm gold particles in rats // *Small*. – 2008. – Vol. 71. – P. 616–619.
72. Sonavane, G., Tomoda, K., Makino, K. Biodistribution of colloidal gold nanoparticles after intravenous administration: effect of particle size // *Colloids and Surfaces. B. Biointerfaces*. – 2008. – Vol. 66, No. 2. – P. 274–280.
73. Terentyuk, G.S., Maslyakova, G.N., Suleymanova, L.V., Khlebtsov, B.N., Kogan, B.Y., Akchurin, G.G., Shantrocha, A.V., Maksimova, I.L., Khlebtsov, N.G., Tuchin, V.V. Circulation and distribution of gold nanoparticles and induced alterations of tissue morphology at intravenous particle delivery // *J. Biophotonics*. – 2009. – Vol. 2, No. 5. – P. 292–302.
74. Sadauskas, E., Danscher, G., Stoltenberg, M., Vogel, U., Larsen, A., Wallin, H. Protracted elimination of gold nanoparticles from mouse liver // *Nanomedicine*. – 2009. – Vol. 5, No. 2. – P. 162–169.
75. Hillyer, J.F., Albrecht, R.M. Gastrointestinal persorption and tissue distribution of differently sized colloidal gold nanoparticles // *J. Pharm. Sci.* – 2001. – Vol. 90, No. 12. – P. 1927–1936.
76. Hillyer, J.F., Albrecht, R.M. Correlative instrumental neutron activation analysis, light microscopy, transmission electron microscopy, and X-ray microanalysis for qualitative and quantitative detection of colloidal gold spheres in biological specimens // *Microsc. and Microanal.* – 1998. – Vol. 4. – P. 481–490.
77. Takenaka, S., Karg, E., Kreyling, W.G., Lentner, B., Möller, W., Behnke-Semmler, M. et al. Distribution pattern of inhaled ultrafine gold particles in the rat lung // *Inhalat. Toxicol.* – 2006. – Vol. 18. – P. 733–740.
78. Yu, L.E., Yung, L.Y.L., Ong, C.N., Tan, Y.L., Balasubramaniam, K.S., Hartono, D., Shui, G., Wenk, M.R., Ong, W.-Y. Translocation and effects of gold nanoparticles after inhalation exposure in rats // *Nanotoxicology*. – 2007. – Vol. 1, No. 3. – P. 235–242.
79. Cho, W.S., Cho, M., Jeong, J., Choi, M., Cho, H.Y., Han, B.S., Kim, S.H., Kim, H.O., Lim, Y.T., Chung, B.H., Jeong, J. Acute toxicity and pharmacokinetics of 13 nm-sized PEG-coated gold nanoparticles // *Toxicol. and Appl. Pharmacol.* – 2009. – Vol. 236, No. 1. – P. 16–24.
80. Suleymanova, L.V., Terentyuk, G.S., Maslyakova, G.N., Kogan, B., Khlebtsov, N.G., Khlebtsov, B.N., Akchurin, G.G., Maksimova, I.L., Shantrocha, A.V., Tuchin, A.V. Changes of biological tissues and biochemical changes after intravenous injection of gold nanoparticles // *Proc. 7th International Conference on Photonics and Imaging in Biology and Medicine, Wuhan, China, 24–27 November 2008*. – P. 6–37.
81. Chen, Y.-S., Hung, Y.-C., Liao, I., Huang, G.S. Assessment of the In Vivo Toxicity of Gold Nanoparticles // *Nanoscale Res. Lett.* – 2009. – Vol. 4, No. 8. – P. 858–864.
82. Pan, Y., Neuss, S., Leifert, A., Fischler, M., Wen, F., Simon, U., Schmid, G., Brandau, W., Jahnen-Dechent, W. Size-dependent cytotoxicity of gold nanoparticles // *Small*. – 2007. – Vol. 3, No. 11. – P. 1941–1949.
83. Schmid, G. The relevance of shape and size of Au55 clusters // *Chem. Soc. Rev.* – 2008. – Vol. 37, No. 9. – P. 1909–1930.
84. Connor, E.E., Mwamuka, J., Gole, A., Murphy, C.J., Wyatt, M.D. Gold Nanoparticles Are Taken Up by Human Cells but Do Not Cause Acute Cytotoxicity // *Small*. – 2005. – Vol. 1, No. 3. – P. 325–327.
85. Uboldi, C., Bonacchi, D., Lorenzi, G., Hermanns, M.I., Pohl, C., Baldi, G., Unger, R.E., Kirkpatrick, C.J. Gold nanoparticles induce cytotoxicity in the alveolar type-II cell lines A549 and NCIH441 // *Part. and Fibre Toxicol.* – 2009. – Vol. 6. – P. 18. – doi:10.1186/1743-8977-6-18.
86. Nativo, P., Prior, I.A., Brust, M. Uptake and intracellular fate of surface-modified gold nanoparticles // *ACS Nano*. – 2008. – Vol. 2, No. 8. – P. 1639–1644.
87. Chithrani, B.D., Chan, W.C.W. Elucidating the mechanism of cellular uptake and removal of protein-coated gold nanoparticles of different sizes and shapes // *Nano Lett.* – 2007. – Vol. 7, No. 6. – P. 1542–1550.
88. Shukla, R., Bansal, V., Chaudhary, M., Basu, A., Bhonde, R.R., Sastry, M. Biocompatibility of gold nanoparticles and their endocytotic fate inside the cellular compartment: A microscopic overview // *Langmuir*. – 2005. – Vol. 21, No. 23. – P. 10644–10654.
89. Huff, T.B., Hansen, M.N., Zhao, Y., Cheng, J.-X., Wei, A. Controlling the cellular uptake of gold nanorods // *Langmuir*. – 2007. – Vol. 23, No. 4. – P. 1596–1599.
90. Karataş, Ö.F., Sezgin, E., Aydın, Ö., Çulha, M. Interaction of gold nanoparticles with mitochondria // *Colloids and Surfaces. B. Biointerfaces*. – 2009. – Vol. 71, No. 2. – P. 315–318.

91. Gu, Y.J., Cheng, J., Lin, C.C., Lam, Y.W., Cheng, S.H., Wong, W.T. Nuclear penetration of surface functionalized gold nanoparticles // *Toxicol. and Appl. Pharmacol.* – 2009. – Vol. 237, No. 2. – P. 196–204.
92. Berry, C.C., de la Fuente, J.M., Mullin, M., Chu, S.W., Curtis, A.S. Nuclear localization of HIV-1 tat functionalized gold nanoparticles // *IEEE Trans. Nanobiosci.* – 2007. – Vol. 6, No. 4. – P. 262–269.
93. Goodman, C.M., Chari, N.S., Han, G., Hong, R., Ghosh, P., Rotello, V.M. DNA-binding by functionalized gold nanoparticles: mechanism and structural requirements // *Chem. Biol. and Drug Des.* – 2006. – Vol. 67, No. 4. – P. 297–304.
94. Ganguli, M., Babu, J.V., Maiti, S. Complex formation between cationically modified gold nanoparticles and DNA: an atomic force microscopic study // *Langmuir.* – 2004. – Vol. 20, No. 13. – P. 5165–5170.
95. Lee, S.H., Bae, K.H., Kim, S.H., Lee, K.R., Park, T.G. Amine-functionalized gold nanoparticles as non-cytotoxic and efficient intracellular siRNA delivery carriers // *Int. J. Pharm.* – 2008. – Vol. 364. – P. 94–101.
96. Pan, Y., Leifert, A., Ruau, D., Neuss, S., Bornemann, J., Schmid, G., Brandau, W., Simon, U., Jahn-Dechent, W. Gold Nanoparticles of Diameter 1.4 nm Trigger Necrosis by Oxidative Stress and Mitochondrial Damage // *Small.* – 2009. – Jul. 29. – [Epub ahead of print].
97. Tong, L., Zhao, Y., Huff, T.B., Hansen, M.N., Wei, A., Cheng, J.-X. Gold Nanorods Mediate Tumor Cell Death by Compromising Membrane Integrity // *Adv. Mater. Deerfield.* – 2007. – Vol. 19. – P. 3136–3141.
98. Goodman, C.M., McCusker, C.D., Yilmaz, T., Rotello, V.M. Toxicity of gold nanoparticles functionalized with cationic and anionic side chains // *Bioconjugate Chem.* – 2004. – Vol. 15, No. 4. – P. 897–900.
99. Pramanik, S., Banerjee, P., Sarkar, A., Bhattacharya, S.C. Size-dependent interaction of gold nanoparticles with transport protein: A spectroscopic study // *J. Luminescence.* – 2008. – Vol. 128. – P. 1969–1974.
100. Sereemasapun, A., Rojanathanes, R., Wiwanitkit, V. Effect of gold nanoparticle on renal cell: an implication for exposure risk // *Renal Failure.* – 2008. – Vol. 30, No. 3. – P. 323–325.
101. Wiwanitkit, V., Sereemasapun, A., Rojanathanes, R. Effect of gold nanoparticle on the microscopic morphology of white blood cell // *Cytopathology.* – 2007. – Dec. 18. – [Epub ahead of print].
102. Wiwanitkit, V., Sereemasapun, A., Rojanathanes, R. Gold nanoparticles and a microscopic view of platelets: a preliminary observation // *Cardiov. J. Afr.* – 2009. – Vol. 20, No. 2. – P. 141–142.
103. Wiwanitkit, V., Sereemasapun, A., Rojanathanes, R. Effect of gold nanoparticles on spermatozoa: the first world report // *Fert. and Steril.* – 2007. – Dec. 3. – [Epub ahead of print].
104. Niidome, T., Yamagata, M., Okamoto, Y., Akiyama, Y., Takahishi, H., Kawano, T., et al. PEG-modified gold nanorods with a stealth character for in vivo application // *J. Contr. Release.* – 2006. – Vol. 114. – P. 343–347.
105. Takahashi, H., Niidome, Y., Niidome, T., Kaneko, K., Kawasaki, H., Yamada, S. Modification of gold nanorods using phosphatidylcholine to reduce cytotoxicity // *Langmuir.* – 2006. – Vol. 22, No. 1. – P. 2–5.
106. Chithrani, B.D., Ghazani, A.A., Chan, W.C. Determining the size and shape dependence of gold nanoparticle uptake into mammalian cells // *Nano Lett.* – 2006. – Vol. 6, No. 4. – P. 662–668.
107. Hauck, T.S., Ghazani, A.A., Chan, W.C. Assessing the effect of surface chemistry on gold nanorod uptake, toxicity, and gene expression in mammalian cells // *Small.* – 2008. – Vol. 4, No. 1. – P. 153–159.
108. Alkilany, A.M., Nagaria, P.K., Hexel, C.R., Shaw, T.J., Murphy, C.J., Wyatt, M.D. Cellular uptake and cytotoxicity of gold nanorods: molecular origin of cytotoxicity and surface effects // *Small.* – 2009. – Vol. 5, No. 6. – P. 701–708.
109. Patra, H.K., Banerjee, S., Chaudhuri, U., Lahiri, P., Dasgupta, A.K. Cell selective response to gold nanoparticles // *Nanomedicine.* – 2007. – Vol. 3. – P. 111–119.
110. Sayes, C.M., Reed, K.L., Warheit, D.B. Assessing toxicity of fine and nanoparticles: comparing in vitro measurements to in vivo pulmonary toxicity profiles // *Toxicol. Sci.* – 2007. – Vol. 97, No. 1. – P. 163–180.