

МОДИФИКАЦИЯ ПОВЕРХНОСТИ НАНОЧАСТИЦ КРЕМНИЯ СЕРЕБРОМ ИЛИ ЗОЛОТОМ СНИЖАЕТ ИХ БИОСОВМЕСТИМОСТЬ IN VITRO

© А. Н. Шубенков,¹ С. Б. Коровин,² Е. Р. Андреева,¹ Л. Б. Буравкова,^{1,*} В. И. Пустовой²

¹ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва,
и ² Институт общей физики им. А. М. Прохорова РАН, Москва;
* электронный адрес: buravkova@imbp.ru

Исследовано влияние перспективных для биотехнологии наночастиц кристаллического кремния, покрытых золотом или серебром, на жизнеспособность и состояние органелл культивируемых мононуклеаров периферической крови человека. После взаимодействия с наночастицами кремния (Si), покрытых золотом (Si/Au) или серебром (Si/Ag), в клетках увеличивалось количество активных форм кислорода, но не снижалась их жизнеспособность. Наночастицы Si/Au уменьшали функциональную активность лизосом и митохондрий, а Si/Ag — только митохондрий. Сделано заключение о том, что поверхностная модификация золотом или серебром может приводить к ухудшению биосовместимости наночастиц кристаллического кремния.

Ключевые слова: мононуклеары периферической крови человека, наночастицы кристаллического кремния, модификация, цитотоксичность, клеточные органеллы.

Принятые сокращения: АФК — активные формы кислорода, НЧ — наночастицы, СИФ — средняя интенсивность флуоресценции.

Кремний является одним из наиболее распространенных на Земле элементов, на основе которого могут быть созданы кремниевые материалы кристаллической, пористой и аморфной структуры с высокой степенью биосовместимости (Lu et al., 2011) и возможностью биodeградации (Sanham, 2007). Именно это делает кремний перспективной основой при разработке наночастиц (НЧ) для биотехнологии и медицины. Поверхность кремниевых наноматериалов может быть модифицирована различными функциональными группами для использования в фотодинамической (Тимошенко и др., 2006) и ультразвуковой (Искусных и др., 2012) терапии рака. Кроме того, наночастицы (НЧ) кремния могут быть использованы в создании флуоресцентных наноразмерных зондов, отличающихся высокой интенсивностью флуоресценции и фотостабильностью (Fujoka et al., 2011). Однако результаты исследований, касающихся их цитотоксичности, весьма противоречивы в силу разнообразия используемых клеточных моделей, размеров и способов получения НЧ (Thibodeau et al., 2004; Lin et al., 2006; Bhattacharjee et al., 2010; Sohaebuddin et al., 2010; Fujoka et al., 2011).

Недавно мы показали, что НЧ чистого кристаллического кремния имеют низкую степень цитотоксичности (Шубенков и др., 2014). Известно, что модификация поверхности НЧ способна придать им дополнительные свойства. В частности, НЧ с серебряным покрытием могут использоваться как противобактериальные и противовирусные агенты (Oloffs et al., 1994), а НЧ с золотым покрытием перспективны для противораковой терапии (Lee et al., 2008). Также предполагается, что на золотую поверхность путем обычного электростатического взаи-

модействия можно адсорбировать антитела (Huang et al., 2008), что значительно расширяет перспективы применения таких НЧ в биотехнологии и медицине. Однако модификация НЧ атомами другого элемента способна не только обеспечить желаемые физико-химические свойства, но и сделать изначально безопасные наноматериалы токсичными для живых организмов. Следовательно, необходимо изучение взаимодействия новых НЧ с клетками, тканями и биологическими жидкостями.

В настоящей работе оценивали влияние НЧ кристаллического кремния, покрытых нанометровыми слоями металла — золота или серебра, на культивируемые мононуклеарные клетки (МНК) периферической крови человека.

Материал и методика

Были использованы НЧ немодифицированного кремния (Si), а также Si, покрытого золотом (Si/Au) или серебром (Si/Ag). Концентрация исходной суспензии частиц Si (диаметром 7 нм) составляла 10 мг/мл, Si/Au и Si/Ag (диаметром 15 нм) — 1 мг/мл. Все НЧ имели кристаллическую решетку типа алмаза. Метод получения НЧ кремния описан ранее (Vladimirov et al., 2011).

Получение НЧ Si/Ag. НЧ кремния диспергировали в деионизированной воде. В приготовленный коллоид вводили раствор соли серебра (AgNO₃), концентрацию которого рассчитывали так, чтобы на поверхности НЧ возник слой серебра толщиной 3—5 нм. Восстановление свободного серебра из AgNO₃ происходило за счет высо-

кой химической активности поверхности НЧ кремния и воздействия ультразвука. Наличие слоя серебра на поверхности НЧ определяли по спектру поглощения коллоида (максимальное поглощение при 420 нм).

Получение НЧ Si/Au. Покрытие НЧ кремния золотой оболочкой диаметром 7 нм проводили при осаждении золота из водного раствора соли AuCl₃. Водный коллоид из НЧ кремния, содержащих тонкий подслоя серебра (менее 1 нм), помещали в раствор соли золота и подвергали воздействию ультразвука в течение 5—10 мин. Такая стимуляция приводила к осаждению свободного золота на поверхности НЧ, расчетная толщина слоя золота составляла приблизительно 3—5 нм. Наличие золотой оболочки на кремниевой частице подтверждали по спектру поглощения коллоида (максимум при 540 нм).

МНК из периферической крови здоровых доноров получали методом центрифугирования в градиенте плотности Ficoll-Histopaque (Sigma-Aldrich, США) по стандартной методике. Кровь, разбавленную фосфатным буфером в соотношении 1:1, наслаивали на Ficoll-Histopaque и центрифугировали 20 мин при 2500 об/мин в центрифуге Eppendorf 5204 R (Германия). Затем отбирали интерфазное кольцо, содержащее МНК. Клетки отмывали трижды в фосфатном буфере, ресуспендировали в среде культивирования, описанной ниже, и оставляли на 30—60 мин.

Для культивирования МНК использовали среду RPMI 1640 (Биолот, Россия), содержащую 100 ед./мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина (ПанЭко, Россия), 2 мМ глутамин (ПанЭко, Россия) и 5 % эмбриональной телячьей сыворотки (HyClone, США). НЧ добавляли в среду культивирования в конечной концентрации 10 или 100 мкг/мл. Клетки в среде, не содержащей НЧ, использовали в качестве контроля для определения исходных значений изучаемых показателей. Клетки в концентрации 1×10^6 кл./мл в чашках Петри культивировали 24 ч при 37 °С в атмосфере 5 % CO₂, 95 % воздуха и 100 % влажности в инкубаторе Sanyo (Япония).

Цитотоксическое действие НЧ на клетки исследовали с помощью набора AnnexinV-FITC Kit/PI (Immunotech, Франция) согласно инструкции фирмы-производителя по стандартной методике на проточном цитофлуориметре Epics XL (Beckman Coulter, США). Конечная концентрация аннексина и иодистого пропидия (PI) составляла 0.25 и 12.5 мкг/мл соответственно. Опре-

деляли долю живых клеток, не несущих маркеров (Annexin V/PI).

Трансмембранный потенциал митохондрий оценивали при помощи флуоресцентного зонда митотрекера красного (Mito Tracker Red FM с длинами волн возбуждения и эмиссии 581 и 644 нм соответственно) (Invitrogen, США). Молекулы зонда пассивно проникают через клеточную мембрану и аккумулируются в активных митохондриях, а интенсивность их флуоресценции отражает трансмембранный потенциал митохондрий.

Состояние лизосомного компартмента оценивали при помощи pH-чувствительного флуоресцентного зонда лизотрекера зеленого (Lyso Tracker Green DND 26 с длинами волн возбуждения и эмиссии 504 и 511 нм соответственно) (Invitrogen, США).

Активные формы кислорода (АФК) в клетках выявляли, используя зонд CM-H₂DCFDA (с длинами волн возбуждения и эмиссии 492—495 и 517—527 нм соответственно) (Invitrogen, США).

Все зонды использовали согласно инструкциям фирмы-производителя, клетки анализировали на проточном цитофлуориметре Epics XL. Предварительно клетки отмывали от культуральной среды фосфатным буфером путем центрифугирования при 1500 об/мин в течение 5 мин в центрифуге Eppendorf, после чего клеточный осадок суспендировали в 1 мл среды, содержащей зонд, и инкубировали в CO₂-инкубаторе в течение 30 мин. Анализировали не менее 10 000 событий в каждой пробе. Клетки со средней интенсивностью флуоресценции зонда (СИФ), превышающей аутофлуоресценцию неокрашенных клеток, считали окрашенными.

Статистический анализ полученных данных проводили при помощи пакета программ MS Office Excel 2003 и Statistica 7.0, использовали непараметрический критерий Манна—Уитни, различия считали достоверными при $P < 0.05$.

Результаты и обсуждение

Культивирование МНК в течение 24 ч с НЧ Si не влияло на их жизнеспособность (см. таблицу). При использовании НЧ Si/Au и Si/Ag в концентрации 10 мкг/мл выявлено незначительное снижение доли живых клеток (см. таблицу). Все исследованные НЧ независимо от типа

Изменение параметров МНК при их культивировании в присутствии НЧ

НЧ	[НЧ], мкг/мл	Доля живых клеток, %	Доля окрашенных клеток, %		СИФ зонда, кратность отличий от контроля, %		
			АФК-зонд	лизотрекер	АФК-зонд	лизотрекер	митотрекер
Si	0	88.1 ± 1.2	66.2 ± 7.4	43.0 ± 6.2	100	100	100
	10	86.2 ± 1.5	75.2 ± 6.2	35.9 ± 8.1	131.1 ± 10.9 ^a	98.7 ± 6.5	103.1 ± 3.8
	100	85 ± 1.7	66.8 ± 9.5	37.7 ± 6.0	139.4 ± 10.8 ^a	106.0 ± 0.1	106.2 ± 3.2 ^a
Si/Au	0	79.6 ± 5.0	74.0 ± 12.5	60.7 ± 7.7	100	100	100
	10	70.4 ± 5.0	82.7 ± 10.0	56.7 ± 17.2	143.0 ± 16.6 ^a	85.2 ± 1.2 ^a	87.3 ± 0.7 ^a
	100	78.3 ± 3.9	89.2 ± 6.1	47.4 ± 8.8	129.6 ± 21.3 ^a	87.9 ± 5.0	87.7 ± 2.3 ^a
Si/Ag	0	84.7 ± 1.8	92.6 ± 2.0	51.0 ± 5.9	100	100	100
	10	75.5 ± 6.3	96.7 ± 1.0	41.8 ± 1.5	127.3 ± 11.6 ^a	100.4 ± 4.3	86.7 ± 3.8 ^a
	100	87.1 ± 3.7	97.8 ± 1.0 ^a	30.8 ± 3.3 ^a	121.7 ± 12.9	114.8 ± 8.9	89.8 ± 11.6

Примечание. Данные представлены средними значениями и их ошибкой для $n = 3$. Величина СИФ зонда в клетках без добавления НЧ принята за 100 %. ^a Достоверность отличий от контроля при $P < 0.05$.

покрытия не оказывали выраженного влияния на жизнеспособность клеток, что говорит в пользу их биосовместимости.

При оценке негативного воздействия НЧ на живые объекты важно учитывать не только прямые цитотоксические эффекты, но и влияние на функциональное состояние клеток. Исходя из данных литературы особое внимание следует уделять изменению внутриклеточного уровня АФК. Известно, что повысить его способны НЧ различной природы (Ipe et al., 2005; Lin et al., 2006; Moore et al., 2009; Bhattacharjee et al., 2010; Choi et al., 2010; Halamoda et al., 2012). Наши эксперименты выявили повышенные количества АФК при использовании всех типов НЧ (см. таблицу). Причем в случае НЧ, модифицированных металлами, уровень АФК был выше при концентрации 10 мкг/мл, чем при 100 мкг/мл, что может объяснять некоторое снижение доли живых клеток, описанное выше.

Для оценки состояния митохондрий анализировали изменения трансмембранного потенциала, используя зонд митотрекер красный. Было выявлено увеличение активности митохондрий при действии чистого кремния в максимальной концентрации и, наоборот, уменьшение при действии Si/Au или S/Ag (см. таблицу). Наличие в среде НЧ Si/Au снижало активность лизосом, о чем свидетельствовало уменьшение СИФ лизотрекера зеленого, в то время как другие НЧ не вызывали такого эффекта (см. таблицу).

В нанотоксикологии в настоящее время кремниевые НЧ имеют репутацию биосовместимых наноматериалов (Дурнев и др., 2010; Lu et al., 2011). Полученные нами данные подтвердили результаты работ, в которых НЧ кристаллического кремния диаметром 2—5 нм не оказывали цитотоксического действия на раковые клетки Нер 2 при концентрации до 2.5 мг/мл (Осминкина и др., 2011). Однако есть сведения о том, что раковые клетки более устойчивы к воздействию НЧ. В исследовании цитотоксического действия НЧ кремния в концентрации от 0.001 до 0.0000001 % на фибробласты мыши L929 и раковые клетки Нер 2 было зафиксировано увеличение гибели клеток обоих типов, но раковые клетки были менее чувствительны к токсическому действию НЧ (Искусных и др., 2012).

Индукция генерации внутриклеточных АФК показана для НЧ различной природы — модифицированных кремниевых (Bhattacharjee et al., 2010), SiO₂ (Lin et al., 2006; Choi et al., 2010), квантовых точек CdTe (Ipe et al., 2005) и углеродных наноматериалов (Moore et al., 2009; Halamoda et al., 2012). Мы не обнаружили снижения жизнеспособности МНК, уровень АФК которых повышался после культивирования с НЧ Si/Au и Si/Ag. При этом в результате воздействия НЧ не изменялась доля клеток с СИФ, превышающей аутофлуоресценцию. Отсутствие взаимосвязи между жизнеспособностью клеток и количеством АФК, которое было зафиксировано при действии НЧ Si в настоящей работе, было показано и для сферических НЧ двуокиси кремния с диаметром 150—200 нм (Choi et al., 2010). Через 24 ч действия этих НЧ на клетки первичной микроглии мозга крысы авторы этой работы не наблюдали различий в жизнеспособности опытных и контрольных клеток при всех использованных концентрациях НЧ, несмотря на повышение количества АФК в клетках даже при самых низких концентрациях.

С другой стороны, есть исследования, показывающие, что генерация АФК и окислительный стресс могут

быть использованы как одни из основных параметров при оценке цитотоксичности различных НЧ (Xia et al., 2006). Не все НЧ обладают теми поверхностными свойствами, которые позволяют генерировать АФК в клетке напрямую, однако к образованию АФК может приводить взаимодействие НЧ с клеточными органеллами (Xia et al., 2006). Это может быть причиной токсического эффекта, если уровень продукции АФК превосходит антиоксидантную защиту или запускается механизм апоптоза, в который вовлечены митохондрии.

В экспериментах с НЧ Si/Au и Si/Ag мы выявили снижение СИФ зонда Mito Tracker Red, что свидетельствует о снижении трансмембранного потенциала митохондрий. Ранее аналогичные результаты были получены при изучении взаимодействия НЧ серебра диаметром 15 нм с иммортализованными клетками линии C18-4, которое вызвало значительное снижение митохондриального потенциала и нарушение целостности их мембран (Braydich-Stolle et al., 2005). Кроме того, серебряные НЧ диаметром 6—20 нм провоцировали снижение уровня метаболизма в раковых клетках U251 и фибробластах AMR-90, которое авторы связали с ослаблением митохондриальной активности и повышением АФК (Asharani et al., 2009).

Предполагается, что лизосомный компартмент является наиболее вероятным внутриклеточным сайтом депонирования и деградации наноматериалов (Stern et al., 2012). Существуют работы, посвященные доставке НЧ внутрь клетки через эндолизосомальные пути фагоцитоза (Panyam et al., 2002; Li et al., 2011), а отдельные НЧ способны не только быстро проникать в лизосомы, но и оставаться там как минимум в течение 1 нед (Baltazar et al., 2012). Недавние исследования подтверждают, что некоторые наноматериалы являются индукторами аутофагии и повреждают лизосомную мембрану (Stern et al., 2012), а активация лизосом способна повышать уровень АФК (Halamoda et al., 2012). Однако на основании полученных нами результатов нельзя говорить о прямой зависимости между повышением уровня АФК и состоянием лизосом в МНК, так как одновременные изменения этих параметров зафиксированы лишь для НЧ Si/Au, а повышение только АФК — после воздействия всех исследованных НЧ. Потеря лизосомной целостности может объясняться потерей мембранного потенциала митохондрий (Xia et al., 2008; Sohaebuddin et al., 2010) и приводить к апоптозу (Thibodeau et al., 2004). Однако несмотря на выявленное нами совместное снижение активности лизосом и митохондрий после культивирования клеток с НЧ Si/Au, индукции клеточной гибели не было.

Полученные результаты показывают, что НЧ Si и их модификации в виде Si/Ag и Si/Au индуцируют повышение АФК в культивируемых МНК периферической крови человека. В отличие от чистого кристаллического кремния НЧ, покрытые серебром или золотом, влияли на состояние митохондрий и лизосом. Однако для всех исследованных НЧ не выявлено зависимости между повышением уровня АФК и изменениями этих органелл. Можно предположить, что НЧ влияют на митохондриальный и лизосомный компартменты посредством механизмов, в которые вовлечены не только АФК. Таким образом, НЧ кремния, покрытые нанослоями золота или серебра, не оказывают прямого цитотоксического эффекта, но влияют на функциональное состояние клеток, что может снизить степень их биобезопасности.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 14-04-00933).

Список литературы

- Дурнев А. Д., Соломина А. С., Даугель-Дауге Н. О., Жанатаев А. К., Шредер Е. Д., Немова Е. П., Шредер О. В., Велигура В. А., Осминкина Л. А., Тимошенко В. Ю., Середенин С. Б. 2010. Исследование генотоксической и тератогенной активности нанокристаллов кремния. Бюл. эксперим. биол. мед. 149 (4): 429—433. (Durnev A. D., Solomina A. S., Daugel-Dauge N. O., Ganataev A. K., Shreader E. D., Nemova E. P., Shreader O. V., Veligura V. A., Osminkina L. A., Timoshenko V. Yu., Seredenin S. B. 2010. Investigation of genotoxic and teratogenic activity of silicon nanocrystals. Bull. Exp. Biol. Med. 149 (4): 429—443.)
- Искусных И. Ю., Попов А. Л., Попова Т. Н., Кашкаров В. М., Ципенюк В. Н. 2012. Влияние нанокристаллического кремния на биологическую активность и пролиферацию фибробластов и клеток карциномы гортани. Вестник ВГУ. 1: 96—102. (Iskusnykh I. Yu., Popov A. L., Popova T. N., Kashkarov V. M., Tsipenyuk V. N. 2012. Effect of nanocrystalline silicon for biological activity and fibroblast proliferation and laryngeal carcinoma cells. Vestnik VGU. 1: 96—102.)
- Осминкина Л. А., Гонгальский М. Б., Тимошенко В. Ю., Кудрявцев А. А. 2011. Кремниевые наночастицы как эффективные соносенсибилизаторы для лечения опухолей. Онкохирургия. 3 (1): 34—36. (Osminkina L. A., Gongalsky M. B., Timoshenko V. Yu., Kudryavtsev A. A. 2011. Silicon nanoparticles as effective sonosensitizer for treatment in oncological patients. Oncosurgery. 3 (1): 34—36.)
- Тимошенко В. Ю., Кудрявцев А. А., Осминкина Л. А., Воронцов А. С., Рябчиков Ю. В., Белогорохов И. А., Ковалев Д. В., Кашкаров П. К. 2006. Кремниевые нанокристаллы как фотосенсибилизаторы активного кислорода для биомедицинских применений. Письма в ЖЭТФ. 83 (9): 492—495. (Timoshenko V. Yu., Kudryavtsev A. A., Osminkina L. A., Vorontsov A. S., Ryabchikov Yu. V., Belogorokhov I. A., Kovalev D. V., Kashkarov P. K. 2006. Silicon nanocrystals as photosensitizers of active oxygen for biomedical applications. JETP Letters. 83 (9): 492—495.)
- Шубенков А. Н., Коровин С. Б., Андреева Е. Р., Буравкова Л. Б., Пустовой В. И. 2014. Изучение цитотоксических свойств модифицированных палладием и бором наночастиц кремния в модели *in vitro*. Биофизика. 59 (1): 134—139. (Shubenkov A. N., Korovin S. B., Andreeva E. R., Buravkova L. B., Pustovoy V. I. 2014. *In vitro* evaluation of silicon nanoparticles cytotoxicity. Biophysika. 59 (1): 134—139.)
- Asharani P. V., Mun G. L. K., Hande M. P., Valiyaveetil S. 2009. Cytotoxicity and genotoxicity of silver. ACS Nano. 3: 279—290.
- Baltazar G. C., Guha S., Lu W., Lim J., Boesze-Battaglia K., Laties A. M., Tyagi P., Kompella U. B., Mitchell C. H. 2012. Acidic nanoparticles are trafficked to lysosomes and restore an acidic lysosomal pH and degradative function to compromised ARPE-19 cells. PLoS ONE. 7: 1—10.
- Bhattacharjee S., Hann L., Evers N. M., Jiang X., Marcellis A. T., Zuilhof H., Rietjens I. M., Alink G. 2010. Role of surface charge and oxidative stress in cytotoxicity of organic monolayer-coated silicon nanoparticles towards macrophage NR8383 cells. Particle Fibre Toxicol. 7: 1—12.
- Braydich-Stolle L., Hussain S., Schlager J. J., Hofmann M. 2005. *In vitro* cytotoxicity of nanoparticles in mammalian germline stem cells. Toxicol. Sci. 88: 412—419.
- Canham L. T. 2007. Nanoscale semiconducting silicon as a nutritional food additive. Nanotechnology. 18: 1—6.
- Choi J., Zheng Q., Katz H. E., Guilarte T. R. 2010. Silica-based nanoparticle uptake and cellular response by primary microglia. Environ. Health Persp. 118: 589—595.
- Fujoka K., Hanada S., Kanaya F., Hoshino A., Sato K., Yokosuka S., Takigami Y., Hirakuri K., Shiohara A., Tilley R. D., Manabe N., Yamamoto K., Manome Y. 2011. Toxicity test: fluorescent silica nanoparticles. J. Physics: Conf. Series. 304: 1—5.
- Halamoda Kenzaoui B., Chapuis Bernasconi C., Guney-Ayra S., Juillerat-Jeanmeret L. 2012. Induction of oxidative stress, lysosome activation and autophagy by nanoparticles in human brain-derived endothelial cells. Biochem. J. 441: 813—821.
- Huang X., Jain K. P., El-Sayed I. H., El-Sayed M. A. 2008. Plasmonic photothermal therapy (PPTT) using gold nanoparticles. Lasers Med. Sci. 23: 217—228.
- Ipe B. I., Lehnig M., Niemeyer C. M. 2005. On the generation of free radical species from quantum dots. Small. 1: 706—709.
- Lee J. S., Seferos D. S., Giljohann D. A., Mirkin C. A. 2008. Thermodynamically controlled separation of polyvalent 2-nm gold nanoparticle-oligonucleotide conjugates. J. Amer. Chem. Soc. 130: 5430—5431.
- Li W., Zhao L., Wei T., Zhao Y., Chen C. 2011. The inhibition of death receptor mediated apoptosis through lysosome stabilization following internalization of carboxyfullerene nanoparticles. Biomaterials. 32: 4030—4041.
- Lin W., Huang Y., Zhou X., Ma Y. 2006. *In vitro* toxicity of silica nanoparticles in human lung cancer cells. Toxic. Appl. Pharm. 217: 252—259.
- Lu J., Liang M., Li Z., Zink J. I., Tamanoi F. 2011. Biocompatibility, biodistribution, and drug-delivery efficiency of mesoporous silica nanoparticles for cancer therapy in animals. Small. 6: 1794—1805.
- Moore M. N., Readman J. A. J., Readman J. W., Lowe D. M., Frickers P. E., Beesley A. 2009. Lysosomal cytotoxicity of carbon nanoparticles in cells of the molluscan immune system: an *in vitro* study. Nanotoxicology. 3: 40—45.
- Oloffs A., Grosse-Siestrup C., Bisson S., Rinck M., Rudolph R., Gross U. 1994. Biocompatibility of silver-coated polyurethane catheters and silver-coated Dacron material. Biomaterials. 15: 753—758.
- Panyam J., Zhou W., Prabha S., Sahoo S. K., Labhasetwar V. 2002. Rapid endo-lysosomal escape of poly (DL-lactide-co-glycolide) nanoparticles: implications for drug and gene delivery. FASEB J. 16: 1217—1226.
- Sohaebuddin S. K., Thevenot P. T., Baker D., Eaton J. W., Tang L. 2010. Nanomaterial cytotoxicity is composition, size, and cell type dependent. Particle Fibre Toxicol. 7: 1—17.
- Stern S. T., Adiseshiaiah P. P., Crist R. M. 2012. Autophagy and lysosomal dysfunction as emerging mechanisms of nanomaterial toxicity. Particle Fibre Toxicol. 9: 1—15.
- Thibodeau M. S., Giardina C., Knecht D. A., Helble J., Hubbard A. K. 2004. Silica-induced apoptosis in mouse alveolar macrophages is initiated by lysosomal enzyme activity. Toxicol. Sci. 80: 34—48.
- Vladimirov A., Korovin S., Surkov A., Kelm E., Pustovoy V. 2011. Synthesis of luminescent Si nanoparticles using the laser-induced pyrolysis. Laser Physics. 21: 830—835.
- Xia T., Kovochich M., Brant J., Hotze M., Sempf J., Oberley T., Sioutas C., Yeh J. I., Wiesner M. R., Nel A. E. 2006. Comparison of the abilities of ambient and manufactured nanoparticles to induce cellular toxicity according to an oxidative stress paradigm. Nano Letters. 6: 1794—1807.
- Xia T., Kovochich M., Liang M., Madler L., Gilbert B., Shi H. 2008. Comparison of the mechanism of toxicity of zinc oxide and cerium oxide nanoparticles based on dissolution and oxidative stress properties. ACS Nano. 2: 2121—2134.

MODIFICATION OF SILICON NANOPARTICLES WITH SILVER OR GOLD ATTENUATES
ITS BIOCOMPATIBILITY *IN VITRO*

A. N. Shubenkov,¹ S. B. Korovin,² E. R. Andreeva,¹ L. B. Buravkova,^{1,} V. I. Pustovoy²*

¹ Institute of Biomedical Problems RAS and ² A. M. Prokhorov General Physics Institute RAS, Moscow;
* e-mail: buravkova@imbp.ru

The effects of crystalline silicon nanoparticles covered with gold or silver on the viability and state of organelles of cultured human peripheral blood mononuclear cells have been investigated. Exposure to nanosized Si, Si/Ag, Si/Au provoked an increase in the level of reactive oxygen species in the cells, but did not cause significant reduction in cell viability. Si/Au nanoparticles reduced activity of lysosomes and mitochondria, Si/Ag — only mitochondria. We have concluded that the surface modification by gold or silver may reduce the biocompatibility of the crystalline silicon nanoparticles.

Key words: human lymphocytes, crystalline silicon nanoparticles, modification, cytotoxicity, cellular organelles.
