

Профилактическая токсикология и гигиеническое нормирование

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Ахальцева Л.В., Журков В.С., Ингель Ф.И.

МУТАГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ НАНОМАТЕРИАЛОВ В ТЕСТЕ ЭЙМСА. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 119121, Москва

Несмотря на широкое применение наноматериалов (НМ) в различных областях промышленности и медицине, вопрос оценки их безопасности, в частности генотоксичности, остаётся открытым. В обзоре представлены данные изучения ряда наноматериалов (НМ) в тесте на индукцию обратных мутаций на бактериях (тест Эймса). Поиск литературы осуществляли с помощью баз данных PubMed, eLIBRARY.RU, Web of Science, Google Scholar по 2018 г. включительно. Анализ литературы показал в основном отрицательные результаты по индукции генных мутаций в тесте Эймса. Квантовые точки (КТ), наночастицы (НЧ) и нановолокна (НВ) оксида и гидроксида алюминия, многостенные углеродные нанотрубки (МУНТ) и одностенные углеродные нанотрубки (ОУНТ) не индуцировали генные мутации. Из более 120 различных типов НМ (размер, покрытие) у 22 найдена мутагенная активность различной степени выраженности. Эти немногочисленные позитивные результаты показывают, что степень мутагенного эффекта НМ может зависеть от условий постановки эксперимента, от состава оболочек, в которые заключены НЧ (состав покрытия). Разнообразие НМ и резкое изменение их свойств даже при небольшом сдвиге в параметрах размера частиц приводит к необходимости исследования мутагенной активности каждого наноматериала в отдельности. Необходимо исследовать мутагенные свойства НМ в диапазоне концентраций, рекомендованном методическими документами, с использованием полного набора индикаторных штаммов и описанием точных размеров и свойств изучаемых частиц.

Ключевые слова: наноматериалы; мутагенная активность; тест Эймса; обзор литературы.

Для цитирования: Ахальцева Л.В., Журков В.С., Ингель Ф.И. Мутагенная активность наноматериалов в тесте Эймса. Обзор литературы. *Гигиена и санитария*. 2019; 98(11): 1309-1320. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-11-1309-1320>

Для корреспонденции: Ахальцева Людмила Вячеславовна, кандидат биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории генетической токсикологии с группой цитогистологии ФГБУ «ЦСП» Минздрава России, 119121, Москва. E-mail: ahallv@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов: идея – Ахальцева Л.В., Журков В.С., Ингель Ф.И.; поиск источников литературы – Ахальцева Л.В.; анализ и интерпретация данных литературы, написание обзора, окончательное утверждение работы для публикации – все соавторы.

Поступила 04.03.2019

Принята к печати 17.09.19

Опубликована: ноябрь 2019

Akhaltseva L.V., Zhurkov V.S., Ingel F.I.

MUTAGENIC ACTIVITY OF NANOMATERIALS IN THE AMES TEST. LITERATURE REVIEW

Center for Strategic Planning, Russian Ministry of Health, Moscow, 119121, Russian Federation

Despite the widespread use of nanomaterials in various areas of industry and medicine, the question of assessing their safety, in particular, genotoxicity, remains to be open. The review presents the analysis of the results of a number of nanomaterials mutagenic activity evaluations in the test for induction of reverse mutations in bacteria (the Ames test). The literature search was carried out using PubMed, eLIBRARY.RU, Web of Science, Google Scholar databases up to 2019. The analysis of the literature showed mostly negative results on the induction of gene mutations. Particularly, quantum dots (QD), nanoparticles, and nanofibres of aluminum oxide and hydroxide, multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) and single-wall carbon nanotubes (SWCNTs) did not induce gene mutations. Among the more than 120 different types of nanomaterials (size, coating), for 22 the mutagenic activity as varying severity was found. These few numbers of positive results show that the degree of the mutagenic effect of nanomaterials may depend on the conditions of the experiment as well as coating composition. So, the diversity of nanomaterials and the sharp change in their properties even with a slight shift in the particle size parameters leads to the necessity to study the mutagenic activity of each nanomaterial separately. We conclude that there is the necessity to elaborate special international documents with the reglament of the investigation of nanomaterials' mutagenic properties in the Ames test using the

range of concentrations, with the full set of indicator strains and the description of the exact dimensions and properties of the studied particles.

Key words: *nanomaterials; mutagenic activity; Ames test; literature review.*

For citation: Akhaltseva L.V., Zhurkov V.S., Ingel F.I. Mutagenic activity of nanomaterials in the ames test. Literature review. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)* 2019; 98(11): 1309-1320. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-11-1309-1320>.

For correspondence: Lyudmila V. Akhaltseva, MD, Ph.D., senior researcher of the Laboratory of genetic toxicology with a group of cytohistology of the Center for Strategic Planning, Russian Ministry of Health, Moscow, 119121, Russian Federation. E-mail: ahallv@mail.ru

Information about authors: Akhaltseva L.V., <https://orcid.org/0000-0002-3619-3858>
Zhurkov V.S., <http://orcid.org/0000-0002-4101-9635>; Ingel F.I., <http://orcid.org/0000-0002-2262-6800>
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

Contribution: an idea – Akhaltseva L.V., Zhurkov V.S. Ingel F.I. search of literature sources – Akhaltseva L.V.; analysis and interpretation of literature data, writing a review, final approval of a work for publication – all co-authors.

Received: March 04, 2019

Accepted: September 17, 2019

Published: November 2019

Определение генотоксичности новых веществ, в том числе наноматериалов, крайне важно при оценке их безопасности для здоровья населения. Первый этап этой оценки включает эксперименты *in vitro*, в частности метод регистрации обратных генных мутаций на бактериях (тест Эймса) [1–3]. Использование в тесте специальных наборов бактериальных штаммов позволяет выявлять мутагены разного механизма действия: штаммы *S. typhimurium* TA 1535, TA 100 – мутации замены пар оснований; штаммы *S. typhimurium* TA 1538, TA 98, TA 1537, и TA 97 – мутации сдвига рамки считывания генетического кода; штаммы *S. typhimurium* TA 102 и *E. coli* WP2 определяют мутагены, вызывающие перекрёстные сшивки. Проведение экспериментов без (СМ–) и в присутствии (СМ+) экзогенной системы метаболической активации (микросомальная фракция печени крыс) даёт возможность выявлять прямой мутагенный эффект веществ или мутагенный эффект их метаболитов. В последние годы активно обсуждается вопрос об эффективности применения для оценки генотоксичности НМ этого теста, хорошо зарекомендовавшего себя для исследования химических соединений. Это связано с противоречивыми результатами исследований НМ, однако не только в тесте обратных мутаций на бактериях, но и в других тестах на выявление генотоксичности *in vitro* и *in vivo* [4]. Причина тому – уникальные свойства наночастиц, отличные от частиц тех же веществ, но большего размера.

Цель обзора – анализ данных литературы и собственных экспериментов по оценке мутагенной активности ряда наноматериалов в тесте Эймса.

Поиск литературы осуществляли с помощью баз данных PubMed, eLIBRARY.RU, Web of Science, Google Scholar по 2018 г. включительно. Анализировали данные экспериментов, проведённых с применением общепринятых равноценных вариантов постановки методики учёта обратных мутаций у бактерий:

- классический метод введения вещества на чашку, когда суспензия бактерий и вещество смешивают с верхним полужидким агаром и сразу выливают на чашку Петри с минимальной средой;
- преинкубационный метод, в котором смесь бактерий и исследуемого вещества предварительно инкубируют не менее 20 мин. В основном мутагенную активность наноматериалов исследуют в этом варианте теста, рекомендуемом для нерастворимых или слаборастворимых веществ;
- флуктуационный тест, в котором вместо чашек Петри используют жидкий микропланшетный формат с готовыми тест-наборами и колориметрический метод анализа результатов.

Сводка работ [5–80] представлена в таблице. Эксперименты проведены с использованием разного количества индикаторных штаммов *Salmonella typhimurium* и *Escherichia coli*. В ряде публикаций не всегда указан точный размер частиц, исследования проведены только на одном штамме/варианте, с использованием только одной концентрации или концентраций ниже рекомендованных в методических документах, что не всегда оправданно токсичностью НМ.

Из более 120 различного типа (вид, размер, покрытие) наноматериалов, представленных в таблице, у 22 найдена мутагенная активность различной степени выраженности. Квантовые точки (КТ), наночастицы (НЧ) и нановолокна (НВ) оксида и гидроксида алюминия, многостенные углеродные нанотрубки (МУНТ) и одностенные углеродные нанотрубки (ОУНТ) не индуцировали генные мутации замены пар оснований, перекрёстных сшивок и сдвига рамки считывания генетического кода в вариантах СМ– и СМ+.

Для других видов НМ были получены противоречивые результаты (см. таблицу).

Фуллерен (C₆₀) и его производные в десяти исследованиях не показали мутагенной активности. Однако при облучении видимым светом фуллерен в PVP-покрытии (поливинилпирролидоне) проявил мутагенные свойства на разных штаммах *S. typhimurium* в присутствии системы метаболической активации [27]. Слабый мутагенный эффект отмечен у одного из производных фуллерена в поливинилпирролидоне на штамме *S. typhimurium* BA 13 [21]. Выявлен дозозависимый мутагенный эффект фуллерена на штамме TA 100 в концентрации 0,1–2 мг/л [28] и одного из его производных (имеющего в составе нитрогруппу) на штамме TA 102 (СМ+), показавшего типичную для мутагенного соединения кривую зависимости эффекта от дозы с пиком ревертантных колоний при концентрации 165 мкг/ч [30]. В работе [29] фуллерен проявил дозозависимое увеличение генотоксичности; со значимым мутагенным эффектом в максимальной концентрации (0,43 мг/л) в варианте без метаболической активации на штамме TA1535. Выявлен «неубедительный», по мнению авторов (наблюдалась осциллирующая картина с лёгким наклоном вверх), мутагенный эффект фуллерена на штамме TA 1538 (при концентрации 0,26 мг/л кратность превышения количества колоний ревертантов над контролем ≈ 2,4 раза) [31].

В одной [67] из шести работ по изучению генотоксичности в тесте Эймса НЧ золота (Au) размером 16 нм, полученные методом восстановления цитрата, проявили фотомутагенные свойства на штамме *S. typhimurium* TA 102 в варианте без метаболической активации (превышение в 2,3 раза). Положительный эффект наночастиц авторы связывают с остаточным цитратом натрия и ионами золота из, возможно, непрореагировавшего раствора тетрахлороаурата водорода, которые после облучения проявили пограничный (превышение в 1,9 раза) и слабый (превышение в 2 раза) мутагенный эффект соответственно.

Наночастицы серебра (Ag) размером 20 нм в одном [43] из десяти исследований проявили высокий уровень мутагенного эффекта в тесте Эймса (превышение над контролем до 78 раз) на штаммах *S. typhimurium* TA 1537 и TA 1538 без добавления системы метаболической активации в концентрации 3 мкг/ч. НЧ того же размера в другой работе [39] не были мутагенны, включая штамм TA 98, регистрирующий генные мутации по типу сдвига рамки генетического кода, аналогично штамму TA 1538. Возможно, различие в ответе связано с разными растворителями, используемыми в экспериментах, и разными физико-химическими характеристиками частиц. Так, гидродинамический

Индукция наноматериалами генных мутаций в тесте Эймса

Вид НМ	Характеристика НМ		Доза	Тест*	Бактерия	Штамм	Метаболическая активность	Эффект	Источник
	диаметр, нм	длина							
ОУНТ	2–5		78–1250 мкг/ч	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i> , <i>E. coli</i>	TA100, TA1535, TA98, TA1537 WP2 uvrA	CM+ / CM–	–	[5]
ОУНТ	1,8		0,78–100 мкг/ч	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i> <i>E. coli</i>	TA98, TA100, TA1535, TA1537 WP2 uvrA	CM+/CM–	–	[6]
ОУНТ	до 3 ± 1,1	1200 нм	12,5–500 мкг/ч	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i> <i>E. coli</i>	TA97, TA98, TA100 и TA1535 WP2 uvrA / pKM101	CM+/CM–	–	[7]
ОУНТ	1–1,2	~ 20 мкм	31,3–500 мкг/ч	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i> <i>E. coli</i>	TA98, TA100, TA1535, TA1537 WP2 uvrA	CM+/CM–	–	[8]
ОУНТ	0,4–1,2	1–3 мкм	60–240 мкг/ч	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i>	YG1024 и TA YG1029	CM–	–	[9]
ОУНТ	1		2 и 18 мкг/мл		<i>S. typhimurium</i>	TA 100	CM–	–	[10]
ОУНТ	20	0,5–3 мкм	0,005–0,04 мг/мл	Флукуационный с пренкубацией	<i>S. typhimurium</i>	TA98	CM–	–	[11]
ОУНТ	<2	4–15 мкм	25; 50; 100 мкг/ч (0,002 мг/мл)		<i>S. typhimurium</i>	TA 98, TA 100	–	–	[12]
МУНТ	10		0,9 и 9 мкг/мл		<i>S. typhimurium</i>	TA 100	CM–	–	[10]
МУНТ	100	1–10 мкм	0,005–0,04 мг/мл	Флукуационный с пренкубацией	<i>S. typhimurium</i>	TA98	CM–	–	[11]
МУНТ	110–170	0,2–1 мкм	50–5000 мкг/ч		<i>S. typhimurium</i>	TA 1535, TA 100, TA 1537, TA 98, TA 102	CM+/CM–	–	[13]
МУНТ	10–15	5–9 мкм	0,01–9 мкг/ч		<i>S. typhimurium</i> , <i>E. coli</i>	TA 98, TA 100 WP2 uvrA	CM+/CM–	–	[14]
МУНТ	10–15	2 вида: ~ 10 мкм ~ 150 нм	12–1000 мкг/ч		<i>S. typhimurium</i> <i>E. coli</i>	TA98, TA100, TA1535, TA1537 WP2 uvrA	CM+/CM–	–	[15]
МУНТ	10–40	0,1–10 мкм	1–100 мкг/ч		<i>S. typhimurium</i>	TA97, TA98, TA100, TA102, TA1535	CM+/CM–	–	[16]
МУНТ	2 вида: 44 70		1,56–100 мкг/ч		<i>S. typhimurium</i> , <i>E. coli</i>	TA98, TA100, TA1535, TA1537 WP2 uvrA	CM+/CM–	–	[17]
МУНТ	наружный 15–40 внутренний 3–8	≥ 2 мкм	0,5–5000 мкг/ч	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i>	TA 98, TA 100, TA 97	CM+/CM–	–	[18]
МУНТ	10–30	5–20 мкм	0,01 г/мл и 10-крат- ные разведения		<i>S. typhimurium</i>	TA102, TA1537, TA1538	–	–	[19]
МУНТ	10–30	1–2 мкм	25; 50; 100 мкг/ч (0,01 мг/мл)		<i>S. typhimurium</i>	TA 98, TA 100	CM+/CM–	–	[12]
Смесь C ₆₀ , C ₇₀ PVP-покрытые (поливинил- пирролидон)			156–5000 мкг/ч	Пренкубационный	Фуллерены <i>S. typhimurium</i> <i>E. coli</i>	TA 98, TA 100, TA 1537 P2uvrA/pKM101	CM+/CM–	–	[20]
С ₆₀ и 3 производные			0,4–1,2 мкг/мл		<i>S. typhimurium</i>	BA 13	CM–	+ одно производное	[21]

Продолжение табл. на стр. 1306–1310.

Продолжение таблицы. Начало на стр. 1305.

Вид НМ	Характеристика НМ		Доза	Тест*	Бактерия	Шагамм	Метаболическая активация	Эффект	Источник
	диаметр, нм	длина							
<i>Фуллерены</i>									
Гиро-фуллерен			313–5000 мкг/ч	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i>	TA98, TA100, TA1535, TA1537 WP2uvrA(pKM101)	CM+/CM–	–	[22]
Смесь C ₆₀ , C ₇₀			1,5–5000 мкг/ч	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i>	TA100, TA1535, TA98, TA1537 WP2uvrA(pKM101)	CM+/CM–	–	[23]
C ₆₀	50		50–1000 мкг/ч	Пренкубационный видимый свет	<i>S. typhimurium</i>	TA98, TA100, TA1535, TA1537 WP2uvrA(pKM101)	CM+/CM–	–	[24]
C ₆₀	57,6		0,01–1 мкг/ч	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i>	TA98	CM–	–	[25]
C ₆₀	1–200		0,01–10 мкг/ч	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i>	TA98	CM–	–	[26]
C ₆₀ PVP-покрытие			10–30 мкг/ч	Видимый свет	<i>S. typhimurium</i>	TA102, TA104, YG3003	CM+/CM–	+ TA102, TA104, YG3003, CM+ фотогеноток- сичность	[27]
C ₆₀	71		0,01–2 мг/л	Флукуационный	<i>S. typhimurium</i>	TA100		+	[28]
C ₆₀	117		до 0,43 мг/л	Флукуационный	<i>S. typhimurium</i>	TA1535	CM+/CM–	+ CM–	[29]
3 производные C ₆₀			до 660 мкг/ч	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i>	TA1535, TA 100, TA 97a, TA 102	CM+/CM–	+ TA 102, CM+, производное с нитрогруппой	[30]
C ₆₀			0,04–0,53 мг/л		<i>S. typhimurium</i>	TA1538, TA1535	CM–	±TA 1538	[31]
<i>Квантовые точки</i>									
КТ CdSe/ZnS	3,4		0,0313–0,5 мг/л	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i>	TA 100 и TA 98	CM+/CM–	–	[32]
КТ CdSe/ZnS в липидном покрытии	5,9 ± 0,9			Пренкубационный видимый свет	<i>S. typhimurium</i>	TA98, TA 97, TA100, TA102		–	[33]
КТ 2 типа: 1. без покрытия; 2. с покрытием индолидин			0,3–10 нМ/ч		<i>S. typhimurium</i>	TA 100	CM–	–	[34]
<i>НЧ простых веществ и оксидов</i>									
НЧ Ag	10		1–500 мкг/ч		<i>S. typhimurium</i>	TA98, TA100, TA1535, TA1537 WP2uvrA	CM+/CM–	–	[35]
НЧ Ag	4–12		0,15–76,8 мкг/ч	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i>	TA102, TA100, TA1537, TA98, TA1535	CM–	–	[36]
НЧ Ag	2–5		1,97 ppm	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i>	TA98, TA100, TA102, TA97, TA1535	CM+/CM–	–	[37]
НЧ Ag	45–315 (40–59 – 50% всех частей)		100–500 мкг/ч	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i>	TA 98, 100, 1535, 1537	CM+/CM–	–	[38]

Продолжение табл. на стр. 1307–1310.

Продолжение таблицы. Начало на стр. 1305.

Вид НМ	Характеристика НМ		Доза	Тест*	Бактерия	Штамм	Метаболическая активация	Эффект	Источник
	диаметр, нм	длина							
НЧ Ag	4 вида: 10; 20; 50; 100		0,5–5000 мкг/ч	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i> <i>E. coli</i>	TA100, TA98, TA102 (WP2 pKM101 и WP2 uvrA pKM101)	CM–	–	[39]
НЧ Ag покрытые камедью арабийской	14		0,5–5000 мкг/мл	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i>	TA98, TA100, TA97	CM+/CM–	–	[18]
НЧ Ag	3 вида: 15; 19,6; 21,8		0,0015–3,12 мкг/ч	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i>	TA100, TA98, YG1029	CM–	–	[40]
НЧ Ag 2 типа: с PVP или цитратным покрытием	3 вида: 20; 50; 100		6,3–100 мкг/ч	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i>	TA100, TA98	CM–	–	[41]
НЧ Ag	4–9		0,6–5 мкг/ч		<i>S. typhimurium</i>	TA98, TA100, TA1535, TA1538	CM–	–	[42]
НЧ Ag	20		0,5–3 мкг/ч		<i>S. typhimurium</i>	TA1535, TA1537, TA1538	CM–	+	[43]
НЧ Ag	60,4 ± 3,8		100–500 мкг/ч		<i>S. typhimurium</i>	TA98, TA100	CM–	–	[44]
НЧ Ag Биосинтезированные			50–250 мкг/ч		<i>S. typhimurium</i>	TA98, TA100	CM–	–	[45]
НЧ TiO ₂ (анатаз)	50		0,008–8 мкг/ч	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i> <i>E. coli</i>	TA98, TA100, TA1535, TA1537 WP2 uvrA	CM+/CM–	+	[46]
НЧ TiO ₂	< 100		313–5000 мкг/л	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i>	TA98, TA100	CM+/CM–	+	[32]
НЧ TiO ₂ (79% рутил, 21% анатаз)	140,0 ± 44,38,5		100–5000 мкг/ч		<i>S. typhimurium</i> <i>E. coli</i>	TA100, TA1535, TA98, TA1537	CM+/CM–	–	[47]
НЧ TiO ₂ (анатаз)	10		38,4–491,5,2 мкг/ч	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i>	TA102, TA100, TA1537, TA98, TA1535	CM+/CM–	–	[48]
НЧ TiO ₂ 3 типа: 1. TiO ₂ -NA (86% анатаз, 14% брукит); 2. НЧ TiO ₂ -P25 (84% анатаз, 16% рутил); 3. TiO ₂ -TLB, наноккомпозит на основе TiO ₂	1. 5,7 ± 1,9 2. 23 ± 4,9 3. 100–700		0,875–87,5 мкг/л	Флукубационный	<i>S. typhimurium</i>	TA97a, TA98, TA100, TA102	CM–	–	[49]
НЧ TiO ₂ (анатаз)	21		5000–40 000 мкг/мл	Видимый свет	<i>S. typhimurium</i>	TA98, TA100, TA102	CM–	–	[50]
НЧ TiO ₂ (анатаз)	5–10		2,5–50 мкг/ч		<i>S. typhimurium</i>	TA97, TA98, TA100, TA102	CM+/CM–	–	[51]
НЧ TiO ₂ (анатаз; рутил 8:2)	20		0,000056–56 мкг/ч	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i> <i>E. coli</i>	TA100, TA98, TA102 WP2 и WP2uvrA/pKM101	CM–	–	[52]

Продолжение табл. на стр. 1308–1310.

Продолжение таблицы. Начало на стр. 1305.

Вид НМ	Характеристика НМ		Доза	Тест*	Бактерия	Шагамм	Метаболическая активация	Эффект	Источник
	диаметр, нм	длина							
НЧ TiO ₂ 2-типа: 1. T-LiteTM SF (рутил), покрытие гидроксид алюминия и диметикон/метикон сополимер; 2. T-Lite Max (рутил), покрытие диметоксидифенил силан/триэтоксикаприлилсилан кроссолимер и гидратированный диоксид кремния и гидроксид алюминия	10	50 нм	20–5000 мкг/ч	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i>	ТА 98, ТА 100, ТА 102, ТА 1535, ТА 1537	СМ+/СМ–	–	[53]
НЧ TiO ₂ (анагаз)	33		0,5–5000 мкг/ч	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i>	ТА 98, ТА 100, ТА 97	СМ–	–	[54]
НЧ TiO ₂	<100		10–1000 мкг/ч	Пренкубационный (СМ+)	<i>S. typhimurium</i> , <i>E. coli</i>	ТА 100, ТА 97а WP2 uvrA	СМ+/СМ–	+ <i>E. coli</i> WP2 uvrA, СМ+	[55]
НЧ Fe ₃ O ₄	8,0 ± 2,0		10; 30; 70 ppm	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i>	ТА 100, ТА2638, ТА 102, ТА 98	СМ+/СМ–	+ ТА 100, СМ+	[56]
НЧ FePt покрытие 2-аминоэтанэтиол	3		39,1–5000 мкг/ч	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i> <i>E. coli</i>	ТА 98, ТА 100, ТА 1537, ТА 1535 WP2uvrA/pKM101	СМ+/СМ–	–	[57]
НЧ FePt покрытие ТМАОН (тетраметиламмоний гидроксид)	9		78,1–5000 мкг/ч	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i> <i>E. coli</i>	ТА 100, ТА98, ТА1535, ТА1537 WP2uvrA/pKM101	СМ+/СМ–	+ ТА 100, СМ–	[58]
AMI-25			0,008–12 мг Fe/ч		<i>S. typhimurium</i>	ТА 1535, ТА 1537, ТА 1538, ТА 90, ТА 100	СМ+/СМ–	–	[59]
НЧ FePt	50		38,5 и 363 мкг/мл		<i>S. typhimurium</i>	ТА 100	СМ–	–	[10]
НЧ Fe ₃ O ₃	5,13 ± 2		50–3200 мкг/ч		<i>S. typhimurium</i>	ТА 100, ТА 98	СМ+/СМ–	–	[60]
НЧ Fe ₃ O ₄	< 50		6,9–5000 мкг/ч		<i>S. typhimurium</i> <i>E. coli</i>	ТА98, ТА100, ТА1535, ТА1537 WP2uvrA	СМ+/СМ–	–	[61]
НЧ Fe ₃ O ₄	5–20		10; 30; 70 ppm		<i>S. typhimurium</i>	ТА 100, ТА 98		–	[62]
НЧ Fe ₃ O ₄ /SiO ₂	12–100		0,092–57,5 мкг/мл	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i>	ТА 98, ТА 100, ТА 97	СМ–	–	[54]
НЧ оксида железа 3-типа: с нейтральным нефункциональным покрытием: 1. SMG-10; 2. SMG-30; с положительно заряженным покрытием: 3. SEI-10	1, 10 2, 30 3, 10		1. до 20 мкг/ч 2. до 100 мкг/ч 3. до 100 мкг/ч		<i>S. typhimurium</i>	ТА98, ТА100, ТА1535, ТА97, ТА102	СМ+/СМ–	+ SMG-10 и SMG-30 на всех штаммах, СМ+/СМ–	[63]
НЧ FeO	20–50		1000 ppm		<i>S. typhimurium</i>	ТА 100	СМ–	–	[64]
Нано-стержни Au	10	35 нм	0,00419–1,67 мг/л	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i>	ТА 100 и ТА 98	СМ+/СМ–	–	[32]

Продолжение табл. на стр. 1309–1310.

Продолжение таблицы. Начало на стр.

Вид НМ	Характеристика НМ		Доза	Тест*	Бактерия	Штамм	Метаболическая активация	Эффект	Источник
	диаметр, нм	длина							
Нано-стержни Au покрытие полиэтиленгликоль 5000	155								[65]
НЧ Au	2 вида: 13 35		1,5 и 15,5 мкг/мл 8 и 77 мкг/мл		<i>S. typhimurium</i>	TA 100	CM–	–	[10]
Au-PMA-ATTO NPs	15 (ядро 4)		3–25 нМ	Преннкубационный флукуационный	<i>S. typhimurium</i>	TA98	CM–	–	[11]
НЧ Au стабилизированные цитратом	14		0,616–4,997 мкг/ч	Преннкубационный (TA 98 и TA 100)	<i>S. typhimurium</i>	TA98, TA97a, TA100, TA102	CM–	–	[66]
НЧ Au стабилизированные ионами цитрата	16		до 5 мкг/ч	Преннкубационный, ксенон 300 Вт	<i>S. typhimurium</i>	TA 102	CM–	+ фототоксичность	[67]
НЧ ZnO 2 типа: 20 70	2 вида: 20 70		312,5–5000 мкг/ч		<i>S. typhimurium</i> <i>E. coli</i>	TA98, TA100, TA1535, TA1537 WP2uvrA	CM+/CM–	–	[68]
НЧ ZnO	30		0,008–8 мкг/ч		<i>S. typhimurium</i> <i>E. coli</i>	TA98, TA100, TA1535, TA1537 WP2uvrA	CM+/CM–	+ TA 98, TA 1537, <i>E. coli</i> (WP2uvrA) CM+/CM–	[46]
НЧ ZnO в диметоксидифенилсилан/триоксикаприлилсилан кроссополимере	30–200		20–5000 мкг/ч	Преннкубационный	<i>S. typhimurium</i>	TA 98, TA 100, TA 102, TA 1535, TA 1537	CM+/CM–	–	[53]
НЧ ZnO покрытие гидроксид тетраметиламмония (ТТМА)	100		39,1–5000 мкг/ч	Преннкубационный	<i>S. typhimurium</i>	TA98, TA100, TA1535, TA1537	CM+/CM–	–	[69]
НЧ ZnO	30–40		2–10 мкг/ч		<i>S. typhimurium</i>	TA97, TA98, TA100, TA102	CM+/CM–	–	[51]
НЧ ZnO	50		исходная концентрация 50 мг/мл		<i>S. typhimurium</i>	TA98, TA100, TA1537, TA1535, TA102	CM+/CM–	–	[70]
НЧ Al ₂ O ₃	39,40 ± 3		50–3200 мкг/ч		<i>S. typhimurium</i>	TA 100, TA 98	CM+/CM–	–	[60]
НЧ Al ₂ O ₃	2 вида: 30 40		0,02–2,5 мг/ч	Преннкубационный	<i>S. typhimurium</i>	TA 100, TA1535, TA98, TA97a, TA102	CM+/CM–	–	[71]
НЧ Al ₂ O ₃	< 50		10; 100; 1000 мкг/ч		<i>S. typhimurium</i> , <i>E. coli</i>	TA97a, TA100 WP2uvrA	CM+/CM–	–	[55]

НЧ простых веществ и оксидов

Окончание табл. на стр. 1310.

Окончание таблицы. Начало на стр. 1305.

Вид НМ	Характеристика НМ		Доза	Тест*	Бактерия	Шагамм	Метаболическая активация	Эффект	Источник
	диаметр, нм	длина							
<i>НЧ простых веществ и оксидов</i>									
НЧ AlO	2 вида 13 50		0,5–5000 мкг/мл		<i>S. typhimurium</i>	TA100, TA97, TA98, TA100, TA102	CM+/CM–	–	[72]
НВ AlOOH	50–70		2,4–300 мкг/ч	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i>	TA 98, TA 100, TA 97	CM–	–	[54]
НЧ Cu	40,24 ± 2		50–3200 мкг/ч		<i>S. typhimurium</i>	TA 100, TA 98	CM+/CM–	+ TA 100, TA 98, CM+/CM–	[60]
НЧ CuO	< 50		100–1600 мкг/ч		<i>S. typhimurium</i> , <i>E. coli</i>	TA97a, TA100 WP2 тр uv7A	CM+/CM–	–	[55]
НЧ Ca	30–200		313–5000 мкг/ч	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i> , <i>E. coli</i>	TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537 WP-2 uv7A	CM+/CM–	–	[73]
НЧ SiO ₂	2 вида: 70 100		10; 90; 810 мкг/мл		<i>S. typhimurium</i>	TA98, TA100	CM+/CM–	+ TA100 70 и 100 нм	[74]
НЧ SiO ₂	2 вида: 20 100		313–5000 мкг/ч	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i> <i>E. coli</i>	TA98, TA100, TA1535, TA1537 WP2uv7A	CM+/CM–	–	[75]
НЧ TiSiO ₄	50		313–5000 мкг/л	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i>	TA 98, TA 100	CM+/CM–	–	[32]
НЧ Si ₂ W ₁₈ Ti ₆	50		0,5–5000 мкг/ч		<i>S. typhimurium</i>	TA97a, TA98, TA100, TA102	CM+/CM–	–	[76]
НЧ CeO ₂	9		50–5000 мкг/ч		<i>S. typhimurium</i>	TA98, TA100, TA102, TA1535, TA1537	CM+/CM–	–	[77]
НЧ CeO ₂	24		0,005–0,04 мкг/мл	Пренкубационный флукуационный	<i>S. typhimurium</i>	TA98	CM–	–	[11]
НЧ La ₂ O ₃	40		1000 мкг/ч		<i>S. typhimurium</i>	TA98, TA100, TA102, TA1535, TA1537	CM+/CM–	–	[78]
НЧ Co ₃ O ₄	< 50		10, 100, 1000 мкг/ч		<i>S. typhimurium</i> <i>E. coli</i>	TA97a, TA100 WP2 тр uv7A	CM+/CM–	–	[55]
In ₂ O ₃ /SnO ₂	< 50		12,5–150 мкг/ч		<i>S. typhimurium</i>	TA98, TA100	CM+/CM–	–	[79]
НЧ In ₂ O ₃	< 100		20–80 мкг/ч	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i> <i>E. coli</i>	TA98, TA100, TA1535, TA1537 WP-2 uv7A	CM+/CM–	+ TA 1537, CM+/CM–	[80]
НЧ Dy ₂ O ₃	< 100		20–80 мкг/ч	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i> <i>E. coli</i>	TA98, TA100, TA1535, TA1537 WP-2 uv7A	CM+/CM–	+ все штаммы, CM+/CM–	[80]
НЧ WO ₃	< 100		20–80 мкг/ч	Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i> <i>E. coli</i>	TA98, TA100, TA1535, TA1537 WP-2 uv7A	CM+/CM–	+ TA 98, CM+/CM+; TA 1535, CM+	[80]
НЧ Mo	< 100			Пренкубационный	<i>S. typhimurium</i> <i>E. coli</i>	TA98, TA100, TA1535, TA1537 WP-2 uv7A	CM+/CM–	–	[80]

Примечание. * – обозначены варианты теста, отличные от классического; «+» – мутагенная активность, «–» – отсутствие мутагенной активности.

размер наночастиц серебра в деионизированной воде, фосфатно-солевом буфере и питательной среде с добавлением 5% эмбриональной телячьей сыворотки был 86; 117 и 167 нм, зета-потенциал частиц –24, –4 и –8 мВ, выделение ионов серебра 4; 13 и 28% соответственно [43].

Не обнаружен мутагенный эффект в тесте Эймса водной дисперсии наночастиц железо-платины (FePt), покрытых 2-аминоэтантеиолом [57]. Однако ранее авторы [58] зарегистрировали слабый мутагенный эффект этих частиц, покрытых тетраметилламмоний гидроксидом на штамме *S. typhimurium* TA 100 без метаболической активации, при этом само покрытие не было мутагенно. Зарегистрирована высокая дозозависимая мутагенная активность магнитных НЧ оксида железа 10 и 30 нм с нейтральным нефункциональным покрытием на разных штаммах *S. typhimurium* [63]. Частицы меньшего размера проявили большую мутагенную активность в варианте с метаболической активацией и большую по сравнению с частицами 30 нм, проявившими мутагенность только в варианте СМ+. Частицы с положительно заряженным покрытием не были мутагенны в данном эксперименте. Слабая мутагенная активность водного раствора наночастиц магнетита (Fe_3O_4 , 8 ± 2 нм) зарегистрирована на штамме *S. typhimurium* TA100 после метаболической активации в концентрации 70 ppm [56].

НЧ оксида цинка (ZnO, 30 нм) проявили слабую (2-3-кратное превышение над контролем), не зависящую от дозы мутагенную активность на штаммах *S. typhimurium* TA 98, TA 1537, *Escherichia coli* (WP2 uvrA) при СМ+ (0,008–0,8 мкг/ч), при СМ– в концентрации 0,8 мкг/ч и отсутствие мутагенной активности при добавлении максимальной концентрации НЧ [46].

НЧ меди (Cu, $40,24 \pm 2$ нм) с концентрации 400 мкг/ч проявили мутагенность на штаммах TA 100, TA 98 СМ+/СМ– (кратность превышения до 3,7 раза) [60].

НЧ аморфного диоксида кремния (SiO_2) (диаметр 70 и 100 нм) проявили мутагенный эффект на штамме TA100 на максимальной концентрации (810 мкг/мл), а НЧ 70 нм и в концентрации 90 мкг/мл [74].

Наноразмерные оксиды редких металлов были мутагенны в тесте Эймса (оксид диспрозия (Dy_2O_3) на пяти штаммах (СМ+/СМ–), оксид индия (In_2O_3) на TA 1537 (СМ+/СМ–) и оксид вольфрама (WO_3) на TA 98 (СМ+/СМ–) и TA 1535 (СМ+), а их микроаналоги слабо мутагенны (Dy_2O_3) или немутагенны (In_2O_3 , WO_3) [80]. Предварительный эксперимент с НЧ WO_3 на штамме TA98 (СМ+/СМ–) показал зависимость от времени преинкубации (20 мин, 1; 2; 4; 8; 16 или 24 ч) изменение числа колоний ревертантов. Преинкубация с 2 до 8 ч достоверно увеличивала, а затем уменьшала количество индуцированных колоний. В методических документах (как наших, так и зарубежных) рекомендуемое время преинкубации составляет 20 и более минут. В то же время в некоторых экспериментах [31, 43, 63] положительный эффект выявлен в стандартном чашечном тесте. Вероятно, для разных видов наноматериалов время преинкубации индивидуально.

В большинстве работ наночастицы диоксида титана (TiO_2) различной кристаллической структуры и размера не проявляли мутагенных свойств в тесте Эймса. Однако обнаружен пограничный эффект диоксида титана (< 100 нм) на штамме *E. coli* WP2 trp uvrA, СМ+ (превышение среднего числа колоний ревертантов над контролем 1,8 на максимальной концентрации (1000 мкг/ч)) [55]. Выявлена мутагенность (превышение в 3,5 раза) водной суспензии диоксида титана (< 100 нм) в тесте Эймса на штамме *S. typhimurium* TA 98 в варианте с метаболической активацией концентрации 250 мкг/ч [32]. Зарегистрирована слабая (2-3-кратное превышение над контролем), независящая от дозы мутагенная активность диоксида титана (анатаз, 50 нм) на штаммах *S. typhimurium* TA 98 и TA 1537 и *E. coli* (WP2 uvrA) без и в присутствии системы метаболической активации (0,008–0,8 мкг/ч) [46]. Мутагенный ответ был несколько выше в варианте СМ+. В последних двух работах при добавлении максимальных концентраций НЧ мутагенная активность не отмечалась, возможно, из-за проявления токсичности или образования агломератов.

Несмотря на то что непокрытые оболочкой НЧ не могут метаболизироваться ферментами печени, положительные результаты в тесте Эймса, по данным литературы, регистрируются чаще или для них показатели мутагенной активности выше в

присутствии метаболической активации [32, 46, 55]. Предполагается, что микросомальная фракция печени крыс может образовывать белковый слой на поверхности наночастиц, так называемую белковую корону, который способствует их поглощению бактериальными клетками [81, 82]. Также показано влияние белковой короны на способность НЧ Ag растворяться с образованием катионов серебра Ag^+ , определяющими токсический эффект. Слабо связанные белковые молекулы переносят ионы Ag^+ от наночастицы в раствор [82]. Зарегистрировано значительное увеличение поглощения бактериальными клетками *S. typhimurium* TA 98 наночастиц ZnO и TiO_2 в зависимости от концентрации наночастиц и слабый мутагенный эффект на штаммах *S. typhimurium* TA98, TA1537 и *Escherichia coli* (WP2uvrA) в тесте Эймса, в большей степени проявляющиеся в варианте с метаболической активацией [46]. В то же время получены противоположные результаты в экспериментах с аналогичными НЧ [52]. Наночастицы диоксида титана не вызывали мутагенную активность, не проникали в бактерии, а увеличение их количества на поверхности клеточной стенки зависело от концентрации как в воде, так и в белковой среде. Однако прямой аналогии провести нельзя, так как в работах испытывали НЧ разной кристаллической структуры и размера, в последней НЧ перед добавлением к бактериальной культуре инкубировали в эмбриональной телячьей сыворотке без последующего добавления активирующей смеси. Показано влияние сред (особенно содержащих белки), применяемых для растворения НМ, на размер частиц, изменение их физико-химических свойств, агломерацию [32, 52, 81, 83].

Еще один фактор, не позволяющий сравнивать наноматериалы между собой и степень проявления эффекта в тесте, это различие используемых методов определения размеров частиц. В основном авторы статей и производители НМ ведут измерения с помощью просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ). Но, например, в статье [47] наночастицы диоксида титана охарактеризованы методом динамического рассеяния света (ДРС), который выдаёт больший размер наночастиц по сравнению с другими методами, так как включает диаметр частицы вместе со слоем среды. В работе Кумаг и соавт. (2011) [46] средний размер наночастиц ZnO и TiO_2 , наблюдаемый с помощью ПЭМ, составлял 30 и 50 нм, в то время как метод БЭТ (определяющий удельную площадь поверхности) показал 30 и 5–10 нм, что соответствовало данным, указанным в техническом описании продукта.

Одной из гипотез для объяснения отрицательных результатов в тесте Эймса является отсутствие эндоцитоза у бактерий, вследствие чего наночастицы не проникают через клеточную стенку [84]. Эксперименты с применением трансмиссионной электронной микроскопии это подтверждают [16, 41, 48, 66, 67, 72, 85].

Однако возможно пассивное проникновение мелких наночастиц через поры клеточной стенки, и имеются публикации, в которых было зарегистрировано наличие наночастиц внутри бактериальных клеток [11, 46, 86], где в одном случае [46] определена слабая мутагенная активность НЧ TiO_2 (средний размер 50 нм, анатаз) и ZnO (30 нм), в другом [11] мутагенности испытываемых наночастиц (ОУНТ, МУНТ, НЧ CeO_2 , НЧ Au) не выявлено.

Наноматериалы могут вызывать генотоксические эффекты, проникая в клетку и взаимодействуя непосредственно с ДНК и клеточными компонентами, а также путём высвобождения ионов вещества или образования свободных радикалов, в том числе активных форм кислорода и азота, вблизи мембраны, которые затем могут свободно диффундировать в клетку [4, 81, 84].

Немногочисленные позитивные результаты показывают, что степень мутагенного эффекта НЧ зависит от вариантов постановки эксперимента, например, наличия экзогенной метаболической активации [32, 55, 56, 80], от типа молекулярных производных НМ (в частности, фуллерена [21, 30]), также от состава соединений, в которые заключены НЧ (состав покрытия) [27, 57, 58, 63]. Мутагенная активность частиц возрастает с уменьшением размера частицы [63, 74, 80].

Анализ данной литературы позволяет сделать выводы, совпадающие с выводами авторов обзоров по изучению НМ не только в тесте Эймса, но и в комплексе тестов на генотоксичность [4, 83, 84, 87].

Следует выделить основные моменты, на которых нужно заострить внимание при оценке наноматериалов в тесте Эймса:

- целесообразно исследовать мутагенные свойства изучаемого НМ в рекомендованных концентрациях, с использованием полного набора индикаторных штаммов;
- необходимо точное описание НЧ и единообразие в способах определения их размера с указанием не только средней, но и вариации разброса (границ распределения) исходных частиц и частиц в используемом растворителе (среде);
- эксперименты по оценке генотоксичности наноматериалов в тесте Эймса пока не могут выявить определенных закономерностей из-за различия в размерах, форме и покрытии, особенностях постановки эксперимента (время инкубации, среда, наличие экзогенной метаболической активации).

Из приведенных данных следует, что даже небольшое отклонение в размерах одинаковых по структуре НМ может привести к изменению результатов в эксперименте из-за резкого изменения их физико-химических свойств. Это не позволяет прогнозировать их взаимодействия с биологическими объектами, основываясь только на идентичности состава НМ, и приводит к необходимости оценивать каждый наноматериал.

Литература

(п.п. 3–9, 11–17, 19–53, 55–87 см. References)

1. Оценка токсичности и опасности химических веществ и их смесей для здоровья человека. Руководство Р 1.2.3156-13. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2014.
2. МУ 1.2.2634-10. Микробиологическая и молекулярно-генетическая оценка воздействия наноматериалов на представителей микробиоценоза. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2010.
10. Согорин Е.А., Бондарь О.В., Булатов Э.Р., Никитина И.И., Бабунин Э.В., Алимова Ф.К. и соавт. Оценка генотоксичности углеродных нанотрубок и металлических наночастиц. В кн.: *Материалы II Международной научно-практической конференции «Постгеномная эра в биологии и проблемы в биотехнологии». Казань, 15–16 сентября 2008 г. Казань*; 2008: 125. ISBN 978-5-9222-0235-0.
18. Ахальцева Л.В., Журков В.С., Сычева Л.П., Савостикова О.Н., Алексеева А.В. Оценка мутагенной активности искусственных наночастиц в тесте Эймса (Salmonella/микросомы). В кн.: *Материалы Пленума Научного совета Российской Федерации по экологии человека и гигиене окружающей среды по проблеме: «Методологические проблемы изучения, оценки и регламентирования химического загрязнения окружающей среды и его влияние на здоровье населения». Москва, 17–18 декабря 2015 г. М.*; 2015: 39–40.
54. Ахальцева Л.В., Макарова Е.В., Кривцов Г.Г., Савостикова О.Н., Журков В.С. Оценка мутагенной активности наночастиц в тесте Эймса (Salmonella/микросомы). В кн.: *Материалы объединенного Пленума Научных советов Российской Федерации по экологии человека и гигиене окружающей среды и по медико-экологическим проблемам здоровья работающих «Научно-методические и законодательные основы безопасности факторов и объектов окружающей и производственной среды в целях сохранения здоровья человека». Москва, 15–16 декабря 2010 г. М.*; 2010: 36–7.

References

1. Assessment of toxicity and hazards of chemicals and their mixtures for human health. Guide P 1.2.3156-13. Moscow: Federal Center for Hygiene and Epidemiology of Rosпотребнадзор; 2014. (in Russian)
2. MU 1.2.2634-10. Microbiological and molecular-genetic evaluation of the effect of nanomaterials on representatives of microbiocenosis. Moscow: Federal Center for Hygiene and Epidemiology of Rosпотребнадзор; 2010. (in Russian)
3. OECD (Organization for Economic Cooperation and Development) (1997) Guidelines for the testing of chemicals. Bacteria reverse mutation test Guideline TG 471. <http://www.oecd.org/dataoecd/18/31/1948418.pdf>
4. Golbamaki N.I., Rasulev B., Cassano A., Marchese Robinson R.L., Benfenati E., Leszczynski J., Cronin M.T. Genotoxicity of metal oxide nanomaterials: review of recent data and discussion of possible mechanisms. *Nanoscale*. 2015; 7 (6): 2154–98. DOI: 10.1039/c4nr06670g.
5. Miyawaki J., Yudasaka M., Azami T., Kubo Y., Iijima S. Toxicity of Single-Walled Carbon Nanohorns. *ACS Nano*. 2008; 2 (2): 213–26.
6. Ema M., Imamura T., Suzuki H., Kobayashi N., Naya M., Nakanishi J. Genotoxicity evaluation for single-walled carbon nanotubes in a battery of *in vitro* and *in vivo* assays. *J Appl Toxicol*. 2013; 33 (9): 933–9.

7. Naya M., Kobayashi N., Mizuno K., Matsumoto K., Ema M., Nakanishi J. Evaluation of the genotoxic potential of single-wall carbon nanotubes by using a battery of *in vitro* and *in vivo* genotoxicity assays. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2011; 61 (2): 192–8. DOI: 10.1016/j.yrtph.2011.07.008.
8. Kim J.S., Song K.S., Yu I.J. Evaluation of *in vitro* and *in vivo* genotoxicity of single-walled carbon nanotubes. *Toxicol Ind Health*. 2015; 31 (8): 747–57. DOI: 10.1177/0748233713483201.
9. Kisin E.R., Murray A.R., Keane M.J., Shi X.C., Schwegler-Berry D., Gorelik O. Single-walled carbon nanotubes: geno- and cytotoxic effects in lung fibroblast V79 cells. *J Toxicol Environ Health A*. 2007; 70 (24): 2071–9.
10. Sogorin E.A., Bondar O.V., Bulatov E.R., Nikitina I.I., Babynin E.V., Alimova F.K., Abdullin T.I. Evaluation of genotoxicity of carbon nanotubes and metallic nanoparticles. In: *Proceedings of the II International Scientific and Practical Conference “Post-genome era in biology and biotechnology” [Materialy II Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii «Postgenomnaya era v biologii i problemy v biotekhnologii»]. Kazan, 15–16 September 2008. Kazan*; 2008: 125. ISBN 978-5-9222-0235-0. (in Russian)
11. Clift M.J., Raemy D.O., Endes C., Ali Z., Lehmann A.D., Brandenberger C. et al. Can the Ames test provide an insight into nano-object mutagenicity? Investigating the interaction between nano-objects and bacteria. *Nanotoxicology*. 2013; 7 (8): 1373–85.
12. Szendi K., Varga C. Lack of genotoxicity of carbon nanotubes in a pilot study. *Anticancer Res*. 2008; 28: 349–52.
13. Wirnitzer U., Herbold B., Voetz M., Ragot J. Studies on the *in vitro* genotoxicity of baytubes, agglomerates of engineered multi-walled carbon nanotubes (MWCNT). *Toxicol Lett*. 2009; 186 (3): 160–5.
14. Di Sotto A., Chiaretti M., Carru G.A., Bellucci S., Mazzanti G. Multi-walled carbon nanotubes: Lack of mutagenic activity in the bacterial reverse mutation assay. *Toxicol Lett*. 2009; 184 (3): 192–7.
15. Kim J.S., Lee K., Lee Y.H., Cho H.S., Kim K.H., Choi K.H. et al. Aspect ratio has no effect on genotoxicity of multi-wall carbon nanotubes. *Arch Toxicol*. 2011; 85 (7): 775–86.
16. Umbuzeiro G.A., Coluci V.R., Hono'rio J.G., Giro R., Morales D.A., Lage A.S.G. et al. Understanding the interaction of multi-walled carbon nanotubes with mutagenic organic pollutants using computational modeling and biological experiments. *Trends Analyt Chem*. 2011; 30 (3): 437–46. DOI:10.1016/j.trac.2010.11.013.
17. Ema M., Imamura T., Suzuki H., Kobayashi N., Naya M., Nakanishi J. Evaluation of genotoxicity of multi-walled carbon nanotubes in a battery of *in vitro* and *in vivo* assays. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2012; 63 (2): 188–95.
18. Akhaltseva L.V., Zhurkov V.S., Sycheva L.P., Savostikova O.N., Alekseeva A.V. Assessment of the mutagenic activity of artificial nanoparticles in the Ames test (Salmonella/microsomes). In: *Proceedings of the Plenum of the Scientific Council of the Russian Federation on Human Ecology and Environmental Hygiene on the Problem: “Methodological Problems of the Study, Evaluation and Regulation of Chemical Pollution of the Environment and Its Impact on Public Health” [Materialy Plenuma Nauchnogo soveta Rossiyskoy Federatsii po ekologii cheloveka i gigyene okruzhayushchey sredy po probleme: “Metodologicheskiye problemy izucheniya, otsenki i reglamentirovaniya khimicheskogo zagryazneniya okruzhayushchey sredy i yego vliyaniye na zdorov'ye naseleniya”]. Moscow 17–18 December 2015, Moscow*; 2015: 39–40. (in Russian)
19. Taylor A.A., Aron G.M., Beall G.W., Dharmasiri N., Zhang Y., McLean R.J. Carbon and clay nanoparticles induce minimal stress responses in gram negative bacteria and eukaryotic fish cells. *Environ Toxicol*. 2014; 29 (8): 961–8.
20. Aoshima H., Yamana S., Nakamura S., Mashino T. Biological safety of water-soluble fullerenes evaluated using tests for genotoxicity, phototoxicity, and pro-oxidant activity. *J Toxicol Sci*. 2010; 35 (3): 401–9.
21. Babynin E.V., Nuretdinov I.A., Gubskaya V.P., Barabanshchikov B.I. Study of mutagenic activity of fullerene and some of its derivatives using His+ reversion of Salmonella typhimurium as an example. *Russian Journal of Genetics*. 2002; 38 (4): 359–63. DOI: 10.1023/A:1015237916596.
22. Kato S., Aoshima H., Saitoh Y., Miwa N. Biological safety of liposome-fullerene consisting of hydrogenated lecithin, glycine soja sterols, and fullerene-C60 upon photocytotoxicity and bacterial reverse mutagenicity. *Toxicol Ind Health*. 2009; 25 (3): 197–203.
23. Mori T., Takada H., Ito S., Matsubayashi K., Miwa N., Sawaguchi T. Preclinical studies on safety of fullerene upon acute oral administration and evaluation for no mutagenesis. *Toxicology*. 2006; 225 (1): 48–54.
24. Shinohara N., Matsumoto K., Endoh S., Maru J., Nakanishi J. *In vitro* and *in vivo* genotoxicity tests on fullerene C60 nanoparticles. *Toxicol Lett*. 2009; 191 (2–3): 289–96.
25. Borowik A., Prylutskiy Y., Kawelski Ł., Kyzyma O., Bulavin L., Ivankov O. et al. Does C60 fullerene act as a transporter of small aromatic molecules? *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2018; 1 (164): 134–43. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2018.01.026.

26. Prylutskiy Y., Borowik A., Goluński G., Woziwodzka A., Piosik J., Kyzyma O. et al. Biophysical characterization of the complexation of C60 fullerene with doxorubicin in a prokaryotic model. *Mat.-wiss. u. Werkstofftech.* 2016; 47 (2–3): 92–7. DOI: 10.1002/mawe.201600463.
27. Sera N., Tokiwa H., Miyata N. Mutagenicity of the fullerene C60-generated singlet oxygen dependent formation of lipid peroxides. *Carcinogenesis.* 1996; 17 (1): 2163–9.
28. Hancock D.E., Indest K.J., Gust K.A., Kennedy A.J. Effects of C60 on the Salmonella typhimurium TA100 transcriptome expression: Insights into C60-mediated growth inhibition and mutagenicity. *Environ Toxicol Chem.* 2012; 31 (7): 1438–44.
29. Matsuda S., Matsui S., Shimizu Y., Matsuda T. Genotoxicity of Colloidal Fullerene C60. *Environ Sci Technol.* 2011; 45 (9): 4133–8. DOI: 10.1021/es1036942.
30. Ashram M., Maslat A., Mizzy S. Synthesis and biological activities of new azacrown ether Schiff bases and spectrophotometric studies of their complexation with [60] fullerene. *Toxicol Environ Chem.* 2009; 91 (6): 1095–104.
31. Chu S., Eom G., Little K.Q., Peacock M. The Effect of Colloidal n- C60 on DNA Mutagenesis and SOS DNA Repair Mechanism of Salmonella typhimurium strains TA1538 and TA1535. *J Exp Microbiol Immunol.* 2006; 9: 61–7.
32. Lopes I., Ribeiro R., Antunes F.E., Rocha-Santos T.A., Rasteiro M.G., Soares A.M. et al. Toxicity and genotoxicity of organic and inorganic nanoparticles to the bacteria *Vibrio fischeri* and *Salmonella typhimurium*. *Ecotoxicology.* 2012; 21 (3): 637–48.
33. Aye M., Di Giorgio C., Berque-Bestel I., Aime A., Pichon B.P., Jammes Y. et al. Genotoxic and mutagenic effects of lipid-coated CdSe/ZnS quantum dots. *Mutat Res.* 2013; 750 (1–2): 129–38. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2012.10.010.
34. Galdiero E., Siciliano A., Maselli V., Gesuele R., Guida M., Fulgione D. et al. An integrated study on antimicrobial activity and ecotoxicity of quantum dots and quantum dots-coated with the antimicrobial peptide indolicidin. *Int J Nanomedicine.* 2016; 11: 4199–211.
35. Kim J.S., Song K.S., Sung J.H., Ryu H.R., Choi B.G., Cho H.S. et al. Genotoxicity, acute oral and dermal toxicity, eye and dermal irritation and corrosion and skin sensitisation evaluation of silver nanoparticles. *Nanotoxicology.* 2013; 7 (5): 953–60.
36. Li Y., Chen D.H., Yan J., Chen Y., Mittelstaedt R.A., Zhang Y. et al. Genotoxicity of silver nanoparticles evaluated using the Ames test and *in vitro* micronucleus assay. *Mutat Res.* 2012; 745 (1–2): 4–10.
37. Han D.W., Woo Y.I., Lee J.H., Lee J., Park J.C. *In vivo* and *in vitro* biocompatibility evaluation of silver nanoparticles with antimicrobial activity. *J Nanosci Nanotechnol.* 2012; 12 (7): 5205–9.
38. Kim H.R., Park Y.J., Shin D.Y., Oh S.M., Chung K. H. Appropriate *In Vitro* Methods for Genotoxicity Testing of Silver Nanoparticles. *J Toxicol Environ Health.* 2013; 28 (8): 8. DOI: 10.5620/eh.2013.28.e2013003.
39. Butler K.S., Peeler D.J., Casey B.J., Dair B.J., Elespuru R.K. Silver nanoparticles: correlating nanoparticle size and cellular uptake with genotoxicity. *Mutagenesis.* 2015; 30 (4): 577–91.
40. Heshmati M., ArbabiBidgoli S., Khoei S., Rezayat S.M., Parivar K. Mutagenic Effects of Nanosilver Consumer Products: a new Approach to Physicochemical Properties. *Iran J Pharm Res.* 2015; 14 (4): 1171–80.
41. Guo X., Li Y., Yan J., Ingle T., Jones M.Y., Mei N. et al. Size- and coating-dependent cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles evaluated using *in vitro* standard assays. *Nanotoxicology.* 2016; 10 (9): 1373–84.
42. Banerjee P.P., Bandyopadhyay A., Harsha S.N., Policegoudra R.S., Bhat-tacharya S., Karak N. et al. Mentha arvensis (Linn.)-mediated green silver nanoparticles trigger caspase 9-dependent cell death in MCF7 and MDA-MB-231 cells. *Breast Cancer (Dove Med Press).* 2017; 18 (9): 265–78. DOI: 10.2147/BCTT.S130952.
43. Kaweeteerawat C., Na Ubol P., Sangmuang S., Aueviriyavit S., Maniratanachote R.J. Mechanisms of antibiotic resistance in bacteria mediated by silver nanoparticles. *J Toxicol Environ Health A.* 2017; 80 (23–24): 1276–89. DOI: 10.1080/15287394.2017.1376727.
44. Dasgupta N., Ramalingam C. Silver nanoparticle antimicrobial activity explained by membrane rupture and reactive oxygen generation. *Environ Chem Lett.* 2016; 14 (4): 477–85. DOI: 10.1007/s10311-016-0583-1.
45. Sarac N., Baygar T., Ugur A. *In vitro* mutagenic and anti-mutagenic properties of green synthesized silver nanoparticles. *IET Nanobiotechnology.* 2018; 12 (2): 230–3. DOI: 10.1049/iet-nbt.2017.0016.
46. Kumar A., Pandey A.K., Singh S.S., Shanker R., Dhawan A. Cellular uptake and mutagenic potential of metal oxide nanoparticles in bacterial cells. *Chemosphere.* 2011; 83 (8): 1124–32.
47. Warheit D.B., Hoke R.A., Finlay C., Donner E.M., Reed K.L., Sayes C.M. Development of a base set of toxicity tests using ultrafine TiO₂ particles as a component of nanoparticle risk management. *Toxicol Lett.* 2007; 171 (3): 99–110.
48. Woodruff R.S., Li Y., Yan J., Bishop M., Jones M.Y., Watanabe F. et al. Genotoxicity evaluation of titanium dioxide nanoparticles using the Ames test and Comet assay. *J Appl Toxicol.* 2012; 32 (11): 934–43.
49. Jomini S., Labille J., Bauda P., Pagnout Ch. Modifications of the bacterial reverse mutation test reveals mutagenicity of TiO₂ nanoparticles and byproducts from a sunscreen TiO₂-based nanocomposite. *Toxicol Lett.* 2012; 215 (1): 54–61.
50. Nakagawa Y., Wakuri S., Sakamoto K., Tanaka N. The photogenotoxicity of titanium dioxide particles. *Mutat Res.* 1997; 394 (1–3): 125–32.
51. Ma Mao-cai, Huang Ping, Yan Hui, Tao Yun, Deng Ya-bin, Li Dong-Hui. Ames test of nano TiO₂ and nano ZnO. *Carcinogen, Teratogen, Mutagen.* 2010; 22 (4): 302–4.
52. Butler K.S., Casey B.J., Garborcauskas G.V., Dair B.J., Elespuru R.K. Assessment of titanium dioxide nanoparticle effects in bacteria: association, uptake, mutagenicity, co-mutagenicity and DNA repair inhibition. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 2014; 768: 14–22. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2014.04.008.
53. Landsiedel R., Ma-Hock L., van Ravenzwaay B., Schulz M., Wiench K., Champ S. et al. Gene toxicity studies on titanium dioxide and zinc oxide nanomaterials used for UV-protection in cosmetic formulations. *Nanotoxicology.* 2010; 5: 4364–81.
54. Akhaltseva L.V., Makarova E.V., Krivtsov G.G., Savostikova O.N., Zhurkov V.S. Assessment of the mutagenic activity of artificial nanoparticles in the Ames test (Salmonella / microsomes). In: *Proceedings of the Joint Plenum of Scientific Councils of the Russian Federation on Human Ecology and Environmental Hygiene and on medical-environmental health problems of workers: "Scientific-methodical and legislative bases of safety of factors and objects of the environment and production environment in order to preserve human health" [Materialy ob'yedinennogo Plenuma Nauchnykh sovetov Rossiyskoy Federatsii po ekologii cheloveka i gigiyene okruzhayushchey sredy i po mediko-ekologicheskim problemam zdorov'ya rabotayushchikh «Nauchno-metodicheskiye i zakonodatel'nyye osnovy bezopasnosti faktorov i ob'yektov okruzhayushchey i proizvodstvennoy sredy v tselyakh sokhraneniya zdorov'ya cheloveka»].* Moscow 15–16 December 2010. Moscow; 2010: 36–7. (in Russian)
55. Pan X., Redding J.E., Wiley P.A., Wen L., McConnell J.S., Zhang B. Mutagenicity evaluation of metal oxide nanoparticles by the bacterial reverse mutation assay. *Chemosphere.* 2010; 79 (1):113–6.
56. Gomaa I.O., Kader M.H., Salah T.A., Heikal O.A. Evaluation of *in vitro* mutagenicity and genotoxicity of magnetite nanoparticles. *Drug Discov Ther.* 2013; 7 (3): 116–23.
57. Maenosono S., Yoshida R., Saita S. Evaluation of genotoxicity of amine-terminated water-dispersible FePt nanoparticles in the Ames test and *in vitro* chromosomal aberration test. *J Toxicol Sci.* 2009; 34 (3): 349–54.
58. Maenosono S., Suzuki T., Saita S. Mutagenicity of water-soluble FePt nanoparticles in ames test. *Toxicological Sciences.* 2007; 32 (5): 575–9.
59. Weissleder R., Stark D.D., Engelstad B.L., Bacon B.R., Compton C.C., White D.L. et al. Superparamagnetic Iron Oxide: Pharmacokinetics and Toxicity. *Am J Roentgenol.* 1989; 152 (1): 167–73.
60. Sadiq R., Khan Q.M., Mobeen A., Hashmat A.J. *In vitro* toxicological assessment of iron oxide, aluminium oxide and copper nanoparticles in prokaryotic and eukaryotic cell types. *Drug Chem Toxicol.* 2015; 38 (2): 152–61.
61. Szalay B., Tátrai E., Nyíró G., Vezér T., Dura G. Potential toxic effects of iron oxide nanoparticles in *in vivo* and *in vitro* experiments. *J Appl Toxicol.* 2012; 32 (6): 446–53.
62. Heikal O., Gomaa I., Salah T., Heikal O. Evaluation of *in vitro* genotoxicity of magnetite nanoparticles. *Toxicol Lett.* 2009; 189 (S): 180.
63. Liu Y., Xia Q., Liu Y., Zhang S., Cheng F., Zhong Z. et al. Genotoxicity assessment of magnetic iron oxide nanoparticles with different particle sizes and surface coatings. *Nanotechnology.* 2014; 25 (42): 1–11. DOI: 10.1088/0957-4484/25/42/425101.
64. Barzan E., Mehrabian S., Irian S. Antimicrobial and Genotoxicity Effects of Zero-valent Iron Nanoparticles. *Jundishapur J Microbiol.* 2014; 7 (5): e10054. DOI: 10.5812/jjm.10054.
65. Gad S.C., Sharp K.L., Montgomery C., Payne J.D., Goodrich G.P. Evaluation of the toxicity of intravenous delivery of auroshell particles (gold-silica nanoshells). *Int J Toxicol.* 2012; 31 (6): 584–94. DOI: 10.1177/1091581812465969.
66. George J.M., Magogoty M., Vetten M.A., Buys A.V., Gulumian M. From the cover: an investigation of the genotoxicity and interference of gold nanoparticles in commonly used *in vitro* mutagenicity and genotoxicity assays. *Toxicol Sci.* 2017; 156 (1): 149–66.
67. Wang S., Lawson R., Ray P.C., Yu H. Toxic effects of gold nanoparticles on *Salmonella typhimurium* Bacteria. *Toxicol Ind Health.* 2011; 27 (6): 547–54. DOI: 10.1177/0748233710393395.
68. Kwon J.Y., Lee S.Y., Koedrih P., Lee J.Y., Kim K.M., Oh J.M. et al. Lack of genotoxic potential of ZnO nanoparticles in *in vitro* and *in vivo* tests. *Mutat Res.* 2014; 761: 1–9. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2014.01.005.
69. Yoshida R., Kitamura D., Maenosono S. Mutagenicity of water-soluble ZnO nanoparticles in Ames test. *J Toxicol Sci.* 2009; 34 (1): 119–22.
70. Li C.H., Shen C.C., Cheng Y.W., Huang S.H., Wu C.C., Kao C.C. et al. Organ biodistribution, clearance, and genotoxicity of orally administered

- zinc oxide nanoparticles in mice. *Nanotoxicology*. 2012; 6 (7): 746–56. DOI: 10.3109/17435390.2011.620717.
71. Balasubramanyam A., Sailaja N., Mahboob M., Rahman M.F., Hussain S.M., Grover P. *In vitro* mutagenicity assessment of aluminium oxide nanomaterials using the Salmonella/microsome assay. *Toxicol In Vitro*. 2010; 24 (6): 1871–6.
 72. Zhang Q., Wang H., Ge C., Duncan J., He K., Adeosun S.O. et al. Alumina at 50 and 13 nm nanoparticle sizes have potential genotoxicity. *J Appl Toxicol*. 2017; 37 (9): 1053–64. DOI: 10.1002/jat.3456.
 73. Jeong M.S., Cho H.S., Park S.J., Song K.S., Ahn K.S., Cho M.H. et al. Physico-chemical characterization-based safety evaluation of nanocalcium. *Food Chem Toxicol*. 2013; 62: 308–17. DOI: 10.1016/j.fct.2013.08.024.
 74. Nabeshi H., Yoshikawa T., Matsuyama K., Nakazato Y., Matsuo K., Arimori A. et al. Systemic distribution, nuclear entry and cytotoxicity of amorphous nanosilica following topical application. *Biomaterials*. 2011; 32 (11): 2713–24. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2010.12.042.
 75. Kwon J.Y., Kim H.L., Lee J.Y., Ju Y.H., Kim J.S., Kang S.H. et al. Undetectable levels of genotoxicity of SiO₂ nanoparticles in *in vitro* and *in vivo* tests. *Int J Nanomedicine*. 2014; 9 (2): 173–81. DOI: 10.2147/IJN.S57933.
 76. Zhai F., Li D., Zhang C., Wang X., Li R. Synthesis and characterization of polyoxometalates loaded starch nanocomplex and its antitumoral activity. *Eur J Med Chem*. 2008; 43 (9): 1911–7.
 77. Park B., Martin P., Harris C., Guest R., Whittingham A., Jenkinson P. et al. Initial *in vitro* screening approach to investigate the potential health and environmental hazards of Envirox™ – a nanoparticulate cerium oxide diesel fuel additive. *Part Fibre Toxicol*. 2007; 4 (1): 12. DOI: 10.1186/1743-8977-4-12.
 78. Brabu B., Haribabu S., Revathy M., Anitha S., Thangapandiyam M., Navaneethakrishnan K.R. et al. Biocompatibility studies on lanthanum oxide nanoparticles. *Toxicol Res*. 2015; 4: 1037–44.
 79. Akyıl D., Eren Y., Konuk M., Tepekozcan A., Sağlam E. Determination of mutagenicity and genotoxicity of indium tin oxide nanoparticles using the Ames test and micronucleus assay. *Toxicol Ind Health*. 2016; 32 (9): 1720–8. DOI: 10.1177/0748233715579804.
 80. Hasegawa G., Shimonaka M., Ishihara Y. Differential genotoxicity of chemical properties and particle size of rare metal and metal oxide nanoparticles. *J Appl Toxicol*. 2012; 32 (1): 72–80.
 81. Donaldson K., Poland C., Schins R. Possible genotoxic mechanisms of nanoparticles: criteria for improved test strategies. *Nanotoxicology*. 2010; 4 (4): 414–20.
 82. Miclăuș T., Beer C., Chevallier J., Scavenius C., Bochenkov V.E., Eng-hild J.J. et al. Dynamic protein coronas revealed as a modulator of silver nanoparticle sulphidation *in vitro*. *Nat Commun*. 2016; 7 (11770). DOI: 10.1038/ncomms11770.
 83. Magdolenova Z., Collins A., Kumar A., Dhawan A., Stone V., Dusinska M. Mechanisms of genotoxicity. A review of *in vitro* and *in vivo* studies with engineered nanoparticles. *Nanotoxicology*. 2014; 8 (3): 233–78. DOI: 10.3109/17435390.2013.773464.
 84. Doak S.H., Manshian B., Jenkins G.J.S., Singh N. *In vitro* genotoxicity testing strategy for nanomaterials and the adaptation of current OECD guidelines. *Mutat Res*. 2012; 745: 104–11.
 85. Taylor A.A. Carbon and clay nanoparticles provoke numerous responses in *Salmonella enterica* var. typhimurium and *Escherichia coli*. Thesis, Presented to the Graduate Council of Texas State University-San Marcos in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree Master of SCIENCE, San Marcos, Texas, December, 2010 <https://digital.library.txstate.edu/handle/10877/4414>.
 86. Grigor'eva A., Saranina I., Tikunova N., Safonov A., Timoshenko N., Rebrov A. et al. Fine mechanisms of the interaction of silver nanoparticles with the cells of *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus*. *Bio-metals*. 2013; 26 (3): 479–88. DOI: 10.1007/s10534-013-9633-3.
 87. Landsiedel R., Kapp M.D., Schulz M., Wiench K., Oesch F. Genotoxicity investigations on nanomaterials: methods, preparation and characterization of test material, potential artifacts and limitations—many questions, some answers. *Mutat Res*. 2009; 681 (2–3): 241–58. DOI: 10.1016/j.mrrev.2008.10.002. Epub 2008 Nov 11.