УДК (612.791:546.3-168):001.8

УЗАГАЛЬНЕННЯ ДАНИХ СВІТОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ ЩОДО ПРОНИКНЕННЯ НАНОЧАСТИНОК МЕТАЛІВ ТРАНСКУТАННИМ ШЛЯХОМ

Мельник Н. А.

Державна установа «Інститут медицини праці Національної академії медичних наук України», м. Київ

Вступ. Сьогодні має місце бурхливий розвиток у галузі наноматеріалів і нанотехнологій. Наночастинки металів широко впроваджуються в різні сфери господарської діяльності, що створює потенційний ризик для здоров'я працюючих та навколишнього середовища.

Мета дослідження – вивчення та узагальнення даних світової та вітчизняної літератури, а також аналіз результатів власних досліджень стосовно впливу наночастинок металів на шкіру.

Матеріали та методи дослідження. Огляд наукових публікацій виконано з використанням реферативних баз даних: PubMed [http://www. ncbi.nlm.nih.gov/pubmed], [http://www.nanomet. ru] та Національної бібліотеки України імені В. І. Вернадського [http://www.ibis-nbuv.gov.ua] за останні 10 років.

Результати. У статті наведено дані світової літератури щодо особливостей проникнення наночастинок металів крізь шкіру залежно від їхніх фізико-хімічних властивостей.

Висновки. Проникнення наночастинок металів крізь шкіру залежить від цілісності шкіри, зокрема, структури рогового шару, фізико-хімічних властивостей наночастинок (розміру, форми, площі поверхні, виду металу), площі їх нанесення, терміну експозиції та природи розчинника, у якому вони суспензовані.

Ключові слова: нанотехнології, наночастинки металів, шкіра, проникнення крізь шкіру

Вступ

Сьогодні країни з розвиненою економікою орієнтуються на розвиток і застосування нанотехнологій, як на перспективну галузь у сучасному інформаційному світі. Нанопродукцію використовують у енергетиці, хімічній і будівельній промисловості. Також суттєво розширюється область біомедичних застосувань нанорозмірних матеріалів [1]. Це, зокрема, дерматологія, косметологія та використання наночастинок (НЧ) як носіїв для доставки лікарських препаратів, у тому числі всередину шкіри або крізь неї. Широкий спектр НЧ, які використовуються для місцево-регіональної доставки, включає ліпосоми, ліпідні наноструктури, полімерні НЧ, НЧ на основі діоксиду титану, оксиду цинку та магнітні НЧ, а також НЧ срібла і золота [2].

Синтезовані фізичним чи хімічним способом НЧ металів мають комплекс фізико-хімічних властивостей, які радикально відрізняються від тієї самої речовини у формі суцільних фаз або макроскопічних дисперсій [1]. Унікальні фізико-хімічні властивості НЧ металів (велика питома поверхня, малі розміри (1–100 нм), різноманітність форм, збільшення хімічного потенціалу речовини, висока адсорбційна активність) обумовлюють особливості їх біологічної дії.

Вважається, що основними шляхами надходження НЧ, у тому числі й металів до організму, є інгаляційний та пероральний [3, 4]. Разом з цим необхідно відмітити, що в сучасній науковій літературі мало приділяється уваги проникненню НЧ металів крізь непошкоджену шкіру. Як відомо, шкіра є складним і багатофункціональним органом, який може брати активну участь у процесах всмоктування, метаболізації та елімінації різних хімічних речовин – пестицидів [5]. Тому всебічне з'ясування змін в епідермальному бар'єрі, удосконалення методів його вивчення на даний час є актуальним напрямом наукових досліджень щодо особливостей проникнення НЧ металів крізь непошкоджену шкіру.

Мета дослідження – вивчення та узагальнення даних світової та вітчизняної літератури, а також аналіз результатів власних досліджень стосовно впливу наночастинок металів на шкіру.

Матеріали та методи дослідження

Огляд наукових публікацій виконано з використанням реферативних баз даних: PubMed [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed], [http://www.nanomet.ru] та Національної бібліотеки України імені В. І. Вернадського [http://www.ibis-nbuv.gov.ua] за останні 10 років.

Результати дослідження та їх обговорення

Шляхи проникнення НЧ крізь шкіру. Шляхами проникнення мікро- і наночастинок крізь шкіру можуть бути її природні канали, а саме: волосяні фолікули, діаметр яких становить 10–70 мкм, сальні залози, вивідні протоки потових залоз з діаметром 60–80 мкм [6] і гідрофільні пори, що пронизують клітини епідермісу, які мають діаметр менше ніж 10 нм [7]. Слід зазначити також важливість проникнення НЧ трансепідермальним шляхом крізь мембранні пори клітин (трансцелюлярний шлях) та по міжклітинним щілинам (інтрацелюлярний шлях).

Lekki та ін [8] досліджували можливу роль волосяних фолікул у поглинанні НЧ TiO_2 крізь шкіру. Автори відмітили, що НЧ можуть проникати всередину фолікулів на глибину приблизно 400 нм, проте, у життєздатних шарах епідермісу вони виявлені не були.

Як модель для дослідження здатності проникати в шкіру й волосяні фолікули були використані квантові точки (КТ) розміром 40 нм [9]. Поглинання крізь шкіру оцінювали через 24 год після нанесення. Авторами відзначено, що КТ знаходились в роговому шарі між корнеоцитами та в отворах волосяних фолікул без подальшого проникнення їх у життєздатні шари епідермісу. Для визначення клітинного поглинання автори інкубували КТ розміром 10 нм з епідермальними кератиноцитами людини впродовж 24 год. У результаті було встановлено, що КТ знаходились здебільшого в цитоплазматичних вакуолях корнеоцитів.

У роботі Baroli та ін. [6] показано, що НЧ заліза, розміри яких співпадають з діаметром природних пор, проходять крізь роговий шар та проникають у структурні елементи дерми. НЧ більших розмірів всмоктуються через протоки шкірних залоз та через волосяні фолікули діаметром не менше ніж 5 мкм.

Фактори, які сприяють проникненню НЧ крізь шкіру. Проникнення НЧ крізь шкіру залежить від багатьох факторів, які можна умовно розділити на три групи. Перша група – це властивості самої шкіри, включаючи її товщину, щільність розташування придатків, ступінь гідратації рогового шару, швидкість кровотоку, наявність будь-яких патологій та пошкоджень, характер метаболізму і т. д. До другої групи належать розмір НЧ (і, ймовірно, їхня форма), заряд, поверхнева функціоналізація, властивості розчинника, або гелю, у якому дисперговані частинки. Третя група чинників – це зовнішні фізико-хімічні впливи, що сприяють поліпшенню проникності шкіри для НЧ. До таких впливів відноситься ультразвук, використання методики поверхнево-епідермальних відривів, застосування для перфорації шкіри мікроголок, фотомеханічний вплив, іонофорез, опромінення ультрафіолетом, застосування хімічних підсилювачів проникності на основі розчинників ліпідних містків рогового шару (диметилсульфоксид (ДМСО) і багато інших).

Аналіз даних сучасної наукової літератури, відібраної з бази даних «PubMed» та посилань у мережі Інтернет (пошукова база Google [http:www.google.com.ua] свідчить про те, що всі дослідження, присвячені вивченню особливостей, закономірностей та механізмів проникнення НЧ крізь шкіру проведено на експериментальних моделях *in vitro* та *in vivo*, у тому числі 47 % усіх досліджень проведено на шкірі лабораторних тварин, а 51 % – на шкірі людини.

Відмінності структури шкіри у різних видів тварин, такі як товщина шкіри, ліпідний склад, щільність шерсті, можуть суттєво впливати на терміни проникнення НЧ. Шкіра щурів і кроликів більш проникна, ніж шкіра людини, у той час як проникність шкіри морських свинок, свиней і мавп ближча до проникності шкіри людини [10]. Суттєво впливає на швидкість проникнення НЧ цілісність шкірного покриву. Labouta та ін. [11] досліджували проникнення НЧ золота розміром 15 нм крізь шкіру. Встановлено, що повне видалення рогового шару та епідермальних ліпідів призводило до збільшення в 28 разів швидкості проникнення НЧ у дермальні шари шкіри.

За даними інших досліджень, на швидкість проникнення НЧ впливає механічне пошкодження шкіри. Так у роботі Larese та ін. [12] відмічено, що НЧ срібла з мінімальними розмірами 9,8 нм і максимальними розмірами 48,8 нм у п'ять разів швидше проникають крізь пошкоджену шкіру, ніж інтактну. У дослідженнях, проведених Lee та ін. [13], показано, що поверхневий розріз шкіри (шириною 1 мкм) сприяє проникненню НЧ оксиду заліза розміром 4–10 нм у міжклітинний та у внутрішньоклітинний простір епідермісу. Наявність навіть невеликих порізів і саден також сприяє проникненню НЧ у глибокі шари шкіри, звідки вони можуть потрапляти в кровоносну систему.

Ризик проникнення крізь шкіру НЧ збільшується й при її механічному напруженні. Так, у роботі [14] відмічено, що НЧ BeO розміром 500 нм, 1 мкм, 2 мкм та 4 мкм проникають у епідерміс у 2 з 11 зразків шкіри (18 %) при згинанні кисті протягом 15 хв, у 5 з 12 зразків (41 %) – протягом 30 хв, і в 9 з 16 зразків (56 %) – протягом 60 хв. Проникнення частинок в дерму виявлялося в 2 зразках шкіри після згинання кисті протягом 60 хв.

Дослідження, що стосуються проникнення фулеренів в комплексі з пептидами крізь шкіру показали, що комплекс фулерен-пептид не виявлявся в шкірі. Але імітація механічних напружень шкіри (таких, як ходьба) протягом 60 і 90 хв призвела до проникнення матеріалу в більш глибокі шари шкіри. Слід зазначити, що проникнення залежить від часу механічного напруження. Згинання повинні бути протягом щонайменше 60 хв, щоб НЧ проникли в шкіру. Так, у разі згинання протягом 60 хв цей комплекс виявлявся в міжклітинному просторі зернистого шару епідермісу, а при 90 хв – у дермі [15]. Автори прийшли до висновку, що проникнення фулеренів відбувається за допомогою механізму пасивної дифузії. Таким чином, рух НЧ в організм крізь шкіру залежить від гідрофобності ліпідів, які знаходяться між епідермальними клітинами і відповідають за бар'єрну функцію шкіри. Можна припустити, що сили, що діють на шкіру під час згинання, викликають зміни в морфологічній та архітектурній організації ліпідів верхніх шарів епідермісу. Збільшення розміру міжклітинного простору під час механічної стимуляції призводить до збільшення проникнення частинок у шкіру.

Унікальні фізико-хімічні властивості наноматеріалів обумовлюють особливості їхньої біологічної дії. Так, у літературі наявні дані про те, що швидкість проникнення НЧ крізь шкіру залежить від їхнього розміру.

У роботі [16] вивчали проникнення золотих наносфер розміром 15, 102 і 198 нм крізь шкіру. За допомогою трансмісійної електронної мікроскопії (ТЕМ) виявлено, що частинки розміром 15 нм знаходились як в епідермальному, так і в дермальних шарах шкіри. У той самий час проникнення частинок розміром 102, 198 нм було мінімальним, їх накопичення спостерігалось лише в роговому шарі епідермісу. Іншими авторами [17] досліджено проникнення крізь шкіру НЧ аморфного високодисперсного кремнезему. НЧ розміром (70, 300 та 1000 нм) наносили на шкіру щурів упродовж 28 днів у дозі 100 мг/кг. Встановлено, що НЧ розміром 70 нм проникали в шкіру й виявлялися в регіонарних лімфатичних вузлах, гепатоцитах, корі головного мозку та гіпокампі. Слід зазначити, що в кератиноцитах вони розподілялися по всій цитоплазмі, у ядрі та в ядерцях. Що стосується частинок розміром 300 нм та 1000 нм, то їх виявляли лише в ендосомах кератиноцитів. Крім цього інші автори [18] дослідили вплив НЧ аморфного високодисперсного кремнезему на клітинну проліферацію. Отримані результати свідчать про те, що частинки меншого розміру пригнічують проліферацію клітин кератиноцитів лінії HaCaT сильніше, ніж частинки більшого розміру.

У дослідженнях [19] показано, що при введенні НЧ срібла розміром 30 нм у шкірі виникає комплекс реактивних змін. Відразу після введення настає фаза запалення, яка змінюється фазою регенераційного гістогенезу з формуванням грануляційної тканини, і завершує процес фаза адаптивної перебудови. Найспецифічніші зміни відбуваються на 7–14 добу, коли в дермі набряк і клітинна інфільтрація змінюються формуванням «грануляційної тканини», порушенням фіброархітектоніки та посиленням колагеногенезу. Зміни стосуються й епідермісу, де слідом за деструктивними порушеннями починають переважати процеси регенерації. Автори припускають, що під впливом НЧ срібла відбувається підвищення функціональної активності та посилюється білковий синтез у фібробластах. Посилення білок синтезуючої функції фібробластів підтверджується зміною фіброархітектоніки й появою великої кількості менш організованих або коротких колагенових фібрил. Порівнюючи результати цих досліджень з даними літератури, що вказують на посилення колагеногенезу під впливом НЧ срібла [20] можна припустити наявність стимулюючого впливу НЧ срібла на функціональну активність клітин дерми. В епідермісі також зазначалася гіперплазія органел базальних клітин, які беруть участь у білок синтезуючих процесах.

У ряді робіт досліджено вплив поверхневого заряду й форми на рівень проникнення НЧ крізь шкіру. Ryman-Rasmussen та ін. встановили проникнення крізь шкіру еліпсоїдних і сферичних квантових точок (КТ) діаметром (6 нм · 12 нм) та (4,6 нм) з нейтральним (поліетиленгліколь), аніонним (карбонові кислоти) та катіонним (поліетиленгліколь амін) зарядом уже через 8 год після

нанесення. При порівнянні сферичних та еліпсоїдних КТ з аніонним зарядом виявили, що КТ сферичної форми проникають у роговий шар через 8 год після їх потрапляння на шкіру, у той час як еліпсоїдні КТ – через 24 год [21]. В інших дослідженнях вивчали проникнення крізь інтактну шкіру НЧ, виготовлених з вуглецевих і полімерних матеріалів. Методом конфокальної мікроскопії при нанесенні на шкіру еліпсоїдних наносфер (4,6 · 12 нм), покритих поліетиленгліколем, показано їхнє проникнення крізь роговий шар і накопичення в епідермісі та дермі також через 8 год після нанесення [22]. Rancan та ін. [23] досліджували проникнення в шкіру та клітинне поглинання НЧ аморфного кремнезему з різним поверхневим зарядом та різних розмірів (42, 75, 190 і 291 нм). Епідермальні клітини й клітини Лангерганса інкубували з нейтральними та позитивно зарядженими НЧ аморфного кремнезему. Поглинання НЧ аморфного кремнезему в обох типах клітин посилювалось для позитивно заряджених частинок. У противагу цьому результати інших досліджень вказують на те, що негативно заряджені НЧ проникають у шкіру більшою мірою, ніж нейтральні, або позитивно заряджені частинки. Прикладом цього можуть служити дослідження Kohli та ін. [24], які вивчали вплив розміру й заряду на проникнення НЧ крізь шкіру. Флуоресцентні латексні НЧ у діапазоні розмірів (50, 100, 200 і 500 нм) з різним зарядом (нейтральним, позитивним і негативним) наносили на поверхню шкіри свині. У результаті цих досліджень було встановлено, що тільки негативно заряджені частинки розміром 50 і 500 нм накопичувались у роговому шарі й проникали в життєздатний епідерміс. Позитивно заряджені та нейтральні НЧ не проникали в шкіру. Автори вважають, що проникнення НЧ може бути результатом відштовхування сил, що діють між негативно зарядженими ліпідами всередині шкіри й НЧ на поверхні, що призводить до тимчасової ініціації каналів у шкірі й дозволяє проникненню частинок. Lee та ін. [25] досліджували золоті наностержні з метою вивчення впливу їхнього поверхневого заряду на проникність крізь шкіру. Дані трансмісійної електронної мікроскопії показали, що щільність електронно-щільних точок золотих наностержнів, які проникають в роговий шар значно збільшується при негативному заряді НЧ порівняно з позитивно зарядженими.

Важливу роль у поглинанні НЧ крізь шкіру відіграє природа розчинника, у якому суспензовані наноматеріали. Це може призвести до зміни структури шкіри, отже, збільшити або зменшити її проникність, а також вплинути на фізико-хімічні характеристики наноматеріалів, такі як агломерація частинок, заряд та інші, що є важливими параметрами з погляду шкірної абсорбції [26]. Використання толуолу як дисперсійного середовища для частинок колоїдного золота діаметром 15 нм збільшує концентрацію НЧ в інтактній шкірі, особливо в шипуватому шарі епідермісу [11]. При використанні сіркоорганічних з'єднань, що підсилюють трансдермальну дифузію, таких як диметилсульфоксид і тіофансульфоксид з розчином НЧ золота, встановлено більш глибоке їхнє проникнення (до сітчастого шару дерми) у разі використання диметилсульфоксиду. При місцевому нанесенні на шкіру НЧ золота, що містили тіофансульфоксид, не було виявлено їхнього проникнення в підепідермальні шари шкіри, здебільшого НЧ знаходились на поверхні епідермісу як залишки нанесеного препарату. Крім того спостерігали значну кількість їх на поверхні кутикули та в області воронок волосяних фолікулів [27].

Площа аплікації та доза застосування також суттєво впливають на результати будь-якого експерименту. У роботі [11] повідомляється, що НЧ золота не проникають крізь роговий шар епідермісу при використанні 0,5 мл об'єму розчину на 1,76 $см^2$ площі дифузії. У той самий час висновки Sonavane та ін. свідчать про проникнення НЧ золота таких самих розмірів у дермальні шари шкіри при використанні 4 мл об'єму розчину на 6,3 $см^2$ площі дифузії [28].

Таким чином, необхідною умовою, яка має супроводжувати будь-яке дослідження щодо проникнення наноматеріалів крізь шкіру, є їх адекватна характеристика. Автори [29] у своїй роботі пропонують документ, у якому представлений перелік фізико-хімічних властивостей для докладного опису промислових нанооб'єктів, що підлягають токсикологічному тестуванню, з використанням окремої стандартної термінології бази даних ISO. Ці властивості, а також запропоновані методи для їхньої характеристики надано у таблиці.

Матеріали, що розроблені на основі нанотехнології, усе ширше входять у побут людини. Сучасні сонцезахисні безбарвні креми здебільшого містять НЧ діоксину титану (TiO_2) та оксиду цинку (ZnO), які використовуються як фізичні УФ-фільтри. Науковий Європейський комітет з косметики і

Таблиця

Докладний огляд фізико-хімічних властивостей для опису промислових нанооб'єктів, що підлягають токсикологічному дослідженню, з використанням окремої стандартної термінології бази даних ISO [30]

Властивості	Опис	Метод вимірювання
Еквівалентний діаметр	Діаметр сферичної частинки з відомими властивостями, має таку саму дію на засоби вимірювань, що й вимірювана частинка	Динамічне розсіювання світла; аналіз відстеження наночастинок; енергодисперсійна рентгенівська спектроскопія; ексклюзивна хроматографія; аналіз зображень скануючої електронної мікроскопії (SEM), трансмісійної електронної мікроскопії (TEM), скануючої резистивної мікроскопії (CPM); диференційна спектрометрія
Стан агрегації/ агломерації	Агрегат: частини, що містять сильно пов'язані конденсовані частинки, або де площа зовнішньої поверхні може бути значно меншою, ніж сума розрахункових площ поверхні окремих компонентів Агломерат: сукупність слабо пов'язаних частинок або агрегатів, у яких зовнішня питома поверхня дорівнює сумі питомих поверхонь окремих компонентів	Аналіз SEM, TEM або CPM зображень; енергодисперсійна рентгенівська спектроскопія; рентгеноструктурний аналіз; малокутове розсіювання нейтронів, реологічні методи аналізу; аналіз траєкторій наночастинок
Форма	Зовнішня геометрична форма частинок	Аналіз SEM, TEM або CPM зображень
Властивості поверхні	Площа поверхні	Аналіз SEM, TEM або CPM зображень; рідинна, або газова хроматографія, ізотерма адсорбції; рідинна порозиметрія
Хімічний склад поверхні	Атомний склад поверхні наночастинок	Оже-спектроскопія; рентгенівська фотоелектронна спектроскопія; мас- спектрометрія вторинних іонів; спектроскопія електронних втрат енергії, енергодисперсійна рентгенівська спектроскопія
Поверхневий заряд	Поверхневий електричний заряд наночастинок	Ізоелектрична точка; електрофоретичне розсіювання світла; електрофорез; електроосмос
Розчинність	Максимальна маса речовини, яка розчинена в даному об'ємі конкретного розчинника при заданих умовах	Відсутні конкретні методи оцінки розчинності нанооб'єктів
Дисперсність	Визначається відношенням загальної поверхні всіх частинок до їхнього сумарного об'єму або маси	Методи оцінки дисперсності засновані на вимірах еквівалентного діаметра, зазначені вище

непродовольчих товарів (SCCNP) [31] опублікував статтю, де досліджувались мікро- і наночастинки TiO_2. Дослідження проводилося на шкірі свині, миші та людини з частинками розміром від 10 до 100 нм. Наночастки діоксиду титану були виявлені в отворах волосяних фолікул, але вони не проникали в життєздатні шари епідермісу [32, 33]. Ці дані співпадають з іншими дослідженнями, які показують, що після повторних застосувань емульсії «масло у воді», яку наносили на шкіру добровольців (протягом 4 днів), що містила НЧ TiO_2 розміром 17 нм, вони проникли тільки у верхній роговий шар епідермісу й накопичувались у каналах волосяних фолікул. Концентрація TiO_2 у каналах волосяних фолікул була на два порядки нижчою, ніж у верхніх шарах шкіри [34].

Schulz та ін. досліджували вплив на шкірну абсорбцію 3 різних препаратів, що містили різні за

розміром частинки TiO_2 (10–15 нм, 20 нм і 100 нм), різну форму та гідрофобні/гідрофільні характеристики. Препарати наносили у вигляді емульсії «масло у воді» на шкіру передпліччя добровольців. Тривалість експозиції становила 6 год. Зразки тканини, взяті за допомогою біопсії шкіри, досліджували методом скануючої електронної мікроскопії, щоб візуалізувати розподіл частинок у різних шарах шкіри. У результаті було виявлено, що НЧ TiO_2 не проникають у живі клітини епідермісу та в дерму, а тільки виявляються на поверхні рогового шару [35]. Проте іншими авторами [36] доведено, що частинки діоксиду титану розміром 20 нм із гідрофобним покриттям проникають крізь роговий шар, але в емульсії типу «вода в олії», а не з емульсії «олія у воді».

Австралійські вчені [37] випробовували два типи сонцезахисних лосьйонів на добровольцях. Перший склад містив НЧ оксиду цинку розміром близько 19 нм у діаметрі. Другий – ZnO – частинки розміром понад 100 нм і технічно був за межами наноді-апазону. При цьому вчені застосовували нетоксичні лосьйони на основі радіоактивних ізотопів ^{68}Zn. Їх наносили на шкіру добровольців двічі на 1 день протягом 5 днів поспіль. Кров і сечу збирали за 1 тиждень до початку експерименту, під час самого експерименту та після закінчення експерименту на 6 добу. Після 2 днів застосування сонцезахисного лосьйону в зразках усіх добровольців були виявлені ізотопи, які вказували на те, що частинки цинку, незалежно від того, чи були вони нанорозмірними або трохи більшими, поглиналися крізь шкіру.

В інших дослідженнях [38] визначали проникнення й потенційну токсичність НЧ TiO_2 розміром (10, 25 та 60 нм). Як свідчать результати цих досліджень, наночастинки TiO_2 не проникали крізь роговий шар після 24 год впливу на ізольовану шкіру. Тим не менше, після 60 днів впливу на шкіру НЧ TiO_2 досягали життєздатних шарів епідермісу та були виявлені в печінці, серці, легенях та селезінці. У той самий час вони також викликали окиснювальний стрес, про що свідчить значно підвищений рівень МДА і зниження активності СОД у цих тканинах. У головному мозку та нирках НЧ TiO_2 не були виявлені, тобто НЧ не проникають крізь гематоенцефалічний бар'єр. Автори відмічають, що швидше за все нанорозмірні TiO_2 становлять небезпеку для здоров'я людини після тривалого впливу на шкіру.

Слід відзначити, що в літературі відсутні відомості відносно токсичних властивостей НЧ свинцю при їхньому нанесенні на шкіру. За даними ВООЗ (1995 р.), свинець віднесено до глобальних забруднювачів довкілля. У лабораторії медико-біологічних критеріїв професійних впливів ДУ «Інститут медицини праці НАМН України» останні роки проводяться ґрунтовні дослідження впливу НЧ металів на організм щурів при нанесенні їх на непошкоджену шкіру. Отримані результати морфологічних досліджень свідчать про те, що при хронічному впливі (3 міс.) на непошкоджену шкіру щурів НЧ PbS різних розмірів (12,5 та 100 нм) відбуваються атрофічні зміни епідермісу, які характеризуються зменшенням товщини всіх його шарів. Разом з цим визначали вогнищевий набряк рогового шару, деструкцію його корнеоцитів, порушення структур ліпідного конверта [39]. Спостерігали дистрофічні зміни базальних кератиноцитів (наявність вакуолі в цитоплазмі, ектопію ядра) та зменшення кількісті фігур мітозів. У зернистому шарі відмічали невелику кількість гранул кератогіаліну. Зміни в дермі характеризувалися набряком колагенових волокон, їхньою дезорієнтацією, а інколи гіалінозом. Разом з цим виявляли збільшення кількості клітин фібробластичного диферону та тканинних базофілів з ознакою як грануляції, так і дегрануляції їхньої цитоплазми. На окремих ділянках дерми виявляли вогнища периваскулярного набряку та звуження просвітів гемокапілярів [40].

Виявлені морфологічні зміни вказують на те, що хронічний вплив на непошкоджену шкіру НЧ PbS різного розміру викликає порушення структур її бар'єрних функцій, що сприяє проникненню наночастинок в організм. Ступінь вираженості гістологічних змін в епідермісі та дермі більш значний при впливі НЧ PbS менших розмірів (12,5 нм).

Висновки

Таким чином проведений аналіз наукової літератури та власних досліджень дозволяє зробити наступні висновки:

1. Частинки металів нанометрового діапазону мають інші фізико-хімічні властивості порівняно з їх мікроформами. Саме ці властивості (малі розміри, різноманітність форм, висока питома площа поверхні, поверхневий заряд, адсорбційна активність) визначають їхню високу біологічну активність та зумовлюють здатність проникати крізь шкіру.

2. Проникнення наночастинок металів крізь шкіру, у першу чергу, залежить від її цілісності. На швидкість проникнення НЧ впливає видалення рогового шару та епідермальних ліпідів, механічне напруження (залежно від часу його дії), площа нанесення, час експозиції та природа розчинника, у якому суспензовані наночастинки.
3. Відсутність у літературі даних щодо особливостей проникнення крізь шкіру НЧ металів, їхній метаболізм та механізм токсичної дії потребує необхідності впровадження комплексних і стандартизованих підходів для визначення фізико-хімічних властивостей НЧ, їхньої дії на клітинні (мембрани, ядро, мітохондрії тощо) та субклітинні (білки, ліпіди, ДНК, РНК тощо) структури епідермісу та дерми. Ці дослідження дозволять визначити механізм взаємодії НЧ з біологічними макромолекулами та з'ясувати можливі шляхи проникнення їх крізь шкіру.

Література

1. Трахтенберг І. М. Наночастинки металів, методи отримання, сфери застосування, фізико-хімічні та токсичні властивості / І. М. Трахтенберг, Н. М Дмитруха // Український журнал з проблем медицини праці. – 2013. – № 4. – С. 62–74.

2. Использование фракционной лазерной микроабляциии ультразвука для улучшения доставки наночастиц золота в кожу *in vivo* / Г. С. Терентюк, Э. А. Генина, А. Н. Башкатов [и др.] // Квантовая электроника. – 2012. – Т. 42. – № 6. – С. 471–477.

3. Haboub A. Thermal volatilization properties of atmospheric nanoparticles / A. Haboub, J. Hallett, D. Lowenthal // Environ. Monit. Assess. – 2007. – V. 134, № 1–3. – P. 191–197.

4. Jiang J. Characterization of size, surface, and charge, and agglomeration state of nanoparticle dispersions for toxicological studie / J. Jiang, G. Oberdorster, P. Biswas // J. Nanopart. Res. – 2009. – № 11. – P. 77–89.

5. Кундиев Ю. И. Всасывание пестицидов через кожу и профилактика отравлений / Ю. И. Кундиев. – Киев : Здоров'я, 1975. – С. 198.

6. Penetration of metallic nanoparticles in human full-thickness skin / B. Baroli, M. G. Ennas, F. Loffredo [et al.] // Journal of Investigative Dermatology. – 2007. – № 127. – P. 1701–1712.

7. Cevc G. Nanotechnology and the transdermal route A state of the art review and critical appraisal / G. Cevc, U. Vierl // J. Controlled Release. – 2010. – V.1, 41. – P. 277–299.

8. On the follicular pathway of percutaneous uptake of nanoparticles: ion microscopy and autoradiography studies. / J. Lekki [et al.] // Nucl Instrum Methods Phys Res Sect B. – 2007. – № 260. – P. 174–177.

9. Forming biocompatible and nonaggregated nanocrystals in water using amphiphilic polymers / W.W.Yu, E. Chang, J. C. Falkner [et al.] // J. Am. Chem. Soc – 2007. – № 129. – P. 2871–2879.

10. Magnusson B. M. Veterinary drug delivery: potential for skin penetration enhancement / B. Magnusson, K. A. Walters, M. S. Roberts // Advanced Drug Delivery Reviews. – 2001. – V. 50. – P. 205–227.

11. Mechanism and determinants of nanoparticle penetration through human skin / H. I. Labouta, T. Kraus, L. K. El-Khordagui, M. Schneider // Nanoscale. – 2011. – V. 15. – P.34989–99.

12. Human skin penetration of silver nanoparticles through intact and damaged skin / F. F. Larese, F. D. Agostin, M. Crosera [et.al.] // Toxicology. – 2009. – V. 255. – P. 33 –37.

13. Penetration pathways induced by low-frequency sonophoresis with physical and chemical enhancers: iron oxide nanoparticles versus lanthanum nitrates / S. E. Lee, K. J. Choi, G. K. Menon [et al.] // J. Invest Dermatol. – 2010. – V. 130. – P. 1063–72.

14. Tinkle S. S. Skin as a route of exposure and sensitization in chronic beryllium disease / S. S. Tinkle // Environmental health perspectives. – 2003. – № 111. – P. 1202–1208.

15. Effects of mechanical flexion on the penetration of fullerene amino acid-derivatized peptide nanoparticles through skin / J. G. Rouse, J. Yang, J. P. Ryman-Rasmussen [et al.] // Nano Letters. – 2007. – № 7. – P. 155–160.

16. *In vitro* permeation of gold nanoparticles through rat skin and rat intestine: effect of particle size / G. Sonavane, K. Tomoda, A. Sano // Colloids Surf B. – 2008. – № 65. – P. 1–10.

17. Nabeshi H. Systemic distribution, nuclear entry and cytotoxicity of amorphous nanosilica following topical application // H. Nabeshi // Biomaterials. – 2011. – № 32. – P. 2713-2724

18. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells / P. V. AshaRani, G. L. K. Mun, M. P. Hande, S. Valiyaveettil // ACS Nano. – 2009. – V. 3, № 2. – P. 279–290.

19. Сырма Е. И. Морфологические изменения кожи при введении наночастиц серебра / Сырма Е. И., Скобеева Т. М., Ульянов В. О. // Морфологія. – 2014. – Т. 8, № 1. – С. 90–94.

20. Gunasekaran T. Silver Nanoparticles as Real Topical Bullets for Wound Healing / T. Gunasekaran, T. Nigusse, M. D. Dhanaraju // Journal of the American College of Clinical Wound Specialists. – 2012. – № 3. – P. 82–96.

21. Ryman-Rasmussen J. P. Penetration of intact skin by quantum dots with diverse physicochemical properties / J. P. Ryman-Rasmussen, J. E. Riviere, N. A. Monteiro-Riviere // Toxicol Sci. – 2006. – № 91. – P. 159–165.

22. Vallhov H. Mesoporous silica particles induce size dependent effects on human dendritic cells / H. Vallhov, S. Gabrielsson // Nano Lett. – 2007. – V. 7, № 12. – P. 3576–3582.

23. Rancan F. Skin penetration and cellular uptake of amorphous silica nanoparticles with variable size, surface functionalization, and colloidal stability / F. Rancan // ACS nano. – 2012. – № 6. – P. 6829–6842.

24. Kohli A. K. Potential use of nanoparticles for transcutaneous vaccine delivery: effect of particle size and charge / A. K. Kohli, H. O. Alpar // Int. J. Pharm. – 2003. – № 275. – P. 13–17.

25. Influence of surface charge of gold nanorods on skin penetration / O. Lee, S. Hoon Jeong, W. Ung Shin [et al.] // Skin Research and Technology. – 2012. – P. 1–7.

26. Labouta H. I Interaction of inorganic nanoparticles with the skin barrier: current status and critical review / H. I. Labouta, M. Schneider // Nanomedicine : nanotechnology, biology, and medicine. – 2010. – V. 9. – P. 39–54.

27. Кинетика разных типов золотых наночастиц при парентеральном введении / Н. А. Цыганова, М. В. Рыжова, Р. М. Хайруллин [и др.] // Российский биотерапевтический журнал. – 2010. – Т. 9, № 3. – С. 26–27.

28. In vitro permeation of gold nanoparticles through rat skin and rat intestine: effect of particle size / G. Sonavane, K. Tomoda, A. Sano [et al.] // Colloids Surf B. – 2008. – №. 65. – P. 1–10.

29. Dermal Absorption of Nanomaterials / C. A. Poland, S. A. Read, .K. Varet [et al.]. – [Electronic resource] // Enviroment Project № 1504, 2013 : Proceeding – Mode of access.

30. ISO.(2013) Online Browsing Platform (OPB), https://www.iso.org/obp/ui

31. SCCNFP. Opinion of the Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products Intended for Consumer Conerning Titanium Dioxide. Brussels: European Commission 2000.

32. Gamer A. O. The in vitro absorption of microfine zinc oxide and titanium dioxide through porcine skin / A. O. Gamer, E. Leibold, B. Van Ravenzwaay // Toxicology in Vitro. – 2006. – № 20. – P. 301–307.

33. Human skin penetration of sunscreen nanoparticles: In-vitro assessment of a novel micronized zinc oxide formulation / S. E. Cross, B. Innes, M. S. Roberts [et al.] // Skin Pharmacology and Physiology. – 2007. – № 20. – P. 148–154.

34. Penetration of titanium dioxide microparticles in a sunscreen formulation into the horny layer and the follicular orifice / J. Lademann, H. J. Weigmann, C. Rickmeyer [et al.] // Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology. – 1999. – № 12. – 247–256.

35. Distribution of sunscreens on skin / J. Schulz, H. Hohenberg, T. Will [et al.] // Adv. Drug Delivery Rev. – 2002. – V. 54. – P. 157.

36. Bennat C. Skin penetration and stabilization of formulations containing microfi ne titanium dioxide and a physical UV fi lter / Bennat C., Mueller-Goymann C. C. // Int. J. Cosmet. Sci. – 2000. – № 22. – P. 271–283.

37. Gulson B. Dermal absorption of ZnO nanoparticles in sunscreen using the stable isotope approach / B. Gulson // Toxicology letters. – 2010. – V. 180. – P. 222.

38. Toxicity and penetration of TiO_2 nanoparticles in hairless mice and porcine skin after subchronic dermal exposure / J. Wu, W. Liu, C. Xue // Toxicol. Lett. – 2009. – V. 191. – P. 1–8.

39. Мельник Н. А. Морфологические изменения эпидермиса кожи крыс при длительном воздействии на ее неповрежденную поверхность наночастиц сульфида свинца / Н. А. Мельник, С. П. Луговской, М. Н. Диденко // Вісник проблем біології і медицини. – 2016. – Т. 2, № 2. – С. 220–224.

40. Мельник Н. А. Морфофункціональні зміни шкіри щурів при хронічному впливі на її непошкоджену поверхню наночастинок PbS / Н. А. Мельник, С. П. Луговський, М. М. Диденко // Збірник матеріалів науково-практичної конференції «Прикладні аспекти морфології». – Тернопіль, 2016. – С. 109–111.

Мельник Н. А.

ОБОБЩЕНИЕ ДАННЫХ МИРОВОЙ ЛИТЕРАТУРЫ О ПРОНИКНОВЕНИИ НАНОЧАСТИЦ МЕТАЛЛОВ ТРАНСКУТАННЫМ ПУТЕМ

Государственное учреждение «Институт медицины труда Национальной академии медицинских наук Украины», г. Киев

Введение. Сегодня имеет место бурное развитие в области наноматериалов и нанотехнологий. Наночастицы металлов широко внедряются в различные сферы хозяйственной деятельности и создают потенциальный риск для здоровья работающих и окружающей среды.

Цель исследования – изучить и обобщить данные мировой и отечественной литературы, а также анализ результатов собственных исследований по влиянию наночастиц металлов на кожу.

Материалы и методы исследования. Обзор научных публикаций выполнено с использованием реферативных баз данных: PubMed [http: // www. ncbi.nlm.nih.gov/pubmed], [http: //www.nanomet. ru] и Национальной библиотеки Украины имени В. И. Вернадского [http://www.ibis-nbuv.gov.ua] за последние 10 лет.

Результаты. В статье приведены данные мировой литературы об особенностях проникновений наночастиц металлов через кожу в зависимости от их физико-химических свойств.
Выводы. Проникновение наночастиц металлов через кожу зависит от целостности кожи, в том числе структуры рогового слоя, физико-химических свойств наночастиц (размера, формы, площади поверхности, вида металла), площади их нанесения, срока экспозиции и природы растворителя, в котором они суспензированы.

Ключевые слова: нанотехнологии, наночастицы металлов, кожа, проникновение через кожу

Melnyk N. A.

SUBSTANTIATION OF THE WORLD LITERATURE ON PENETRATION OF METAL NANOPARTICLES BY TRANSDERMAL ROUTE

State Institution «Institute for Occupational Health of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv

Introduction. Nowadays it is occuring a rapid development of nanomaterials and nanotechnologies. Nanoparticles of metals are widely introduced in different spheres of the national economy and can present a potential risk for workers' health and the environment.
Purpose of the study – studying and substantiation of the data of the world and national literature, including the results of personal studies on the effect of metal nanoparticles on the skin.
Materials and methods of investigations. A review of scientific publications was made using the databases of PubMed [http: // www. ncbi.nlm.nih.gov/pubmed], [http: //www.nanomet. ru] and the National library of Ukraine named after V. I. Veernadsky [http://www.ibis-nbuv.gov.ua] over the last decade.
Results. The article highlights the data of the world literature on peculiarities of penetration of metal nanoparticles through the skin depending on their physical and chemical properties.
Conclusion. The penetration of metal nanoparticles through the skin depends on the skin integrity, including the structure of the cornea layer, physical and chemical properties of nanoparticles (size, type, square of the surface, type of metal), square of their application, period of exposure and the nature of the solvent, in which they are suspended.

Key words: nanotechnologies, metal nanoparticles, skin, penetraton

References

1. Trakhtenberg, I. M., Dmytrukha, N. M. 2013, «Nanoparticles of metals, methods of obtaining, spheres of application, physico-chemical and toxic properties», Ukr. J. Occup. Health, no. 4, pp. 62–74 (in Ukrainian).

2. Terentyuk, G. S., Genina, E. A., Bashkatov, F. N. et al. 2012, «Use of fractional laser ultrasound microablation in improving the delivery of gold nanoparticles to the skin *in vivo*», Kvantovaya elektronika, v. 42, no. 6, pp. 471–477 (in Russian).

3. Haboub, A., Hallett, J, Lowenthal, D. 2007, «Thermal volatilization properties of atmospheric nanoparticles», Environ. Monit. Assess., v. 134, no. 1–3, pp. 191–197.

4. Jiang, J., Oberdorster, G., Biswas, P. 2009, «Characterization of size, surface, and charge, and agglomeration state of nanoparticle dispersions for toxicological studies», J. Nanopart. Res., no. 11, pp. 77–89.

5. Kundiyev, Yu. I. 1975, Pesticide absorption through the skin and prevention of poisonings. Kiev : Zdorov'ya, 198 p. (in Russian).

6. Baroli, B., Ennas, M. G., Loffredo, F. et al. 2007, «Penetration of metallic nanoparticles in human full-thickness skin », Journal of Investigative Dermatology, no. 127, pp. 1701–1712.

7. Cevc, G., Vierl, U. 2010, «Nanotechnology and the transdermal route. A state of the art review and critical appraisal», J. Controlled Release, v. 141, pp. 277–299.

8. Lekki, J. 2007, «On the follicular pathway of percutaneous uptake of nanoparticles: ion microscopy and autoradiography studies», Nucl Instrum Methods Phys Res, Sect B, no. 260, pp. 174–177.

9. Yu, W. W. Chang, E., Falkner, J. C. 2007, «Forming biocompatible and nonaggregated nanocrystals in water using amphiphilic polymers», J. Am. Chem. Soc., no. 129, pp. 2871–2879.

10. Magnusson, B. M., Walters, K. A., Roberts, M. S. 2001, «Veterinary drug delivery: potential for skin penetration enhancement», Advanced Drug Delivery Reviews, v. 50, pp. 205–227.

11. Labouta, H. I., Kraus, T, El-Khordagui, E. K., Schneider M. 2011, «Mechanism and determinants of nanoparticle penetration through human skin», Nanoscale, v. 15, pp. 34989–99.

12. Larese, F. F., Agostin, F. D., Crosera, M., Adami, G. 2009, «Human skin penetration of silver nanoparticles through intact and damaged skin», Toxicology, v. 255, pp. 33–37.

13. Lee, S. E., Choi, K. J., Menon, G. K. et al. 2010, «Penetration pathways induced by low-frequency sonophoresis with physical and chemical enhancers: iron oxide nanoparticles versus lanthanum nitrates», J. Invest Dermatol., v. 130, pp. 1063–72.

14. Tinkle, S. S. 2003, «Skin as a route of exposure and sensitization in chronic beryllium disease», Environmental health perspectives, no. 111, pp. 1202–1208.

15. Rouse, J. G., Yang, J., Ryman-Rasmussen, J. P. et al. 2007, «Effects of mechanical flexion on the penetration of fullerene amino acid-derivatized peptide nanoparticles through skin», Nano Letters, v. 7, no. 7, pp. 155–160.

16. Sonavane, G., Tomoda, K.,Sano, A., Ohshima, H. 2008, «In vitro permeation of gold nanoparticles through rat skin and rat intestine: effect of particle size», Colloids Surf B., no. 65, pp. 1–10.

17. Nabeshi, H. 2011, «Systemic distribution, nuclear entry and cytotoxicity of amorphous nanosilica following topical application», Biomaterials, no. 32, pp. 2713–2724.

18. AshaRani, P. V., Mun, G. L. K, Hande, M. P., Valiyaveettil, S. 2009, «Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells», ACS Nano., v. 3, no. 2, pp. 279–290.

19. Syrma, E. I., Skobeyeva, T. V., Ulyanov, V. O. 2014, «Morphological skin changes in administration of silver nanoparticles», Morfologia, v. 8, no. 1, pp. 90–94 (in Russian).

20. Gunasekaran T., Nigusse, T., Dhanaraju M. D. 2012, «Silver Nanoparticles as Real Topical Bullets for Wound Healing», Journal of the American College of Clinical Wound Specialists, no 3, pp. 82–96.

21. Ryman-Rasmussen, J. P., Riviere, J. E., Monteiro-Riviere, N. A. 2006, «Penetration of intact skin by quantum dots with diverse physicochemical properties», Toxicol Sci., no. 91, pp. 159–165.

22. Vallhov, H., Gabrielsson, S. 2007, «Mesoporous silica particles induce size dependent effects on human dendritic cells», Nano Lett., v. 7, no. 12, pp. 3576–3582.

23. Rancan, F., 2012, «Skin penetration and cellular uptake of amorphous silica nanoparticles with variable size, surface functionalization, and colloidal stability», ACS nano, no. 6, pp. 6829–6842.

24. Kohli, A. K., Alpar, H.O. 2003, «Potential use of nanoparticles for transcutaneous vaccine delivery: effect of particle size and charge», Int. J. Pharm., no. 275, pp. 13–17.

25. Lee, O., Hoon Jeong, S., Ung Shin, W. 2012, «Influence of surface charge of gold nanorods on skin penetration», Skin Research and Technology, pp. 1–7.

26. Labouta, H. I., Schneider, M. 2010, «Interaction of inorganic nanoparticles with the skin barrier: current status and critical review», Nanomedicine: nanotechnology, biology, and medicine, v. 9, pp. 39–54.

27. Ryzhova, M. V., Tsyganova, N. A., Khairullin, R. M. 2010, «Kinetics of various types of gold nanoparticles in parenteral administration», Ros. Bioterap. Zhurnal., v. 9, no. 3, pp. 26–27 (in Russian).

28. Sonavane, G., Tomoda, K., Sano, A., Ohshima, H. 2008, «In vitro permeation of gold nanoparticles through rat skin and rat intestine: effect of particle size», Colloids Surf B., no. 65, pp. 1–10.

29. Poland, C. A., Read, S. A., Varet, K., Carse, J. 2013, «Dermal Absorption of Nanomaterials», [Electronic resource], Enviroment Project № 1504.

30. ISO.(2013) Online Browsing Platform (OPB), https://www.iso.org/obp/ui

31. SCCNFP. 2000, Opinion of the Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products Intended for Consumer Concerning Titanium Dioxide. Brussels: European Commission.

32. Gamer, A. O., Leibold, E., Van Ravenzwaay, B. 2006, «The in vitro absorption of microfine zinc oxide and titanium dioxide through porcine skin», Toxicology in Vitro, no. 20, pp. 301–307.

33. Cross, S. E., Innes, B., Roberts, M. S.,Tsuzuki, T. 2007, «Human skin penetration of sunscreen nanoparticles: In-vitro assessment of a novel micronized zinc oxide formulation», Skin Pharmacology and Physiology, no. 20, pp. 148–154.

34. Lademann, J., Weigmann, J., Rickmeyer, C, Barthelmes, H. 1999, «Penetration of titanium dioxide microparticles in a sunscreen formulation into the horny layer and the follicular orifice», Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology, no. 12, pp. 247–256.

35. Schulz, J., Hohenberg, H., Will, T. et al. 2002, «Distribution of sunscreens on skin», Adv. Drug Delivery Rev., v. 54, pp. 157.

36. Bennat, C., Mueller-Goymann, C. C. 2000, «Skin penetration and stabilization of formulations containing microfi ne titanium dioxide and a physical UVfilter», Int. J. Cosmet. Sci., no. 22, pp. 271–283.

37. Gulson, B. 2010, «Dermal absorption of ZnO nanoparticles in sunscreen using the stable isotope approach», Toxicology letters, v. 180, pp. 222.

38. Wu, J., Liu, W., Xue, C. 2009, «Toxicity and penetration of TiO_2 nanoparticles in hairless mice and porcine skin after subchronic dermal exposure», Toxicol. Lett., v. 191, pp. 1–8.

39. Melnik, N. A., Lugovskoj, S. P., Didenko, M. N. 2016, «Morphological changes of skin epidermis in long-term effect of lead sulfate nanoparticles on its undamaged surface», Visnyk problem biologii i meditsyny, v. 2, no. 2, pp. 220–224 (in Russian).

40. Melnyk, N. A. 2016, Morphofunctional changes of rats' skin under chronic effect of PbS nanoparticles on its undamaged surface, Zbirnyk materialiv, Sci. Conf. «Applied aspects of morphology»,Ternopil, pp. 109–111 (in Ukrainian).

Надійшла: 27 жовтня 2016 р.

Контактна особа: Мельник Н. А., ДУ «Інститут медицини праці НАМН України», буд. 75, вул. Саксаганського, м. Київ, 01033. Тел.: + 38 0 44 284 34 27. Електронна пошта: melnyknataliia90@gmail.com