

УДК 546.26:54.3:54-148:577.352.3

ОКИСЛЕНИЕ ГЕМОГЛОБИНА В ВОДНЫХ НАНОДИСПЕРСИЯХ УГЛЕРОДА

**А. С. Горюнов¹, А. Г. Борисова¹, С. П. Рожков¹, Г. А. Суханова¹,
Н. Н. Рожкова²**

¹Институт биологии Карельского научного центра РАН

²Институт геологии Карельского научного центра РАН

Окислительное воздействие углеродных нанодисперсий на белок исследовано путем рассмотрения особенностей спонтанного окисления гемоглобина (автоокисления) в водных дисперсиях трех видов наноуглерода – фуллерена C₆₀, наноалмазов, шунгитового наноуглерода (ShC). Показано, что в отличие от наноалмазов C₆₀ и ShC выступают в отношении гемоглобина как прооксиданты, поскольку их присутствие способно инициировать ускорение реакции окисления гемового железа гемоглобина и устойчивый переход значительной части гемоглобина из окси- в мет-форму. Предполагается, что вероятным механизмом оксидантного действия углеродных наночастиц в водной дисперсии на гемоглобин является их влияние на процесс протонирования дистального гистидина, но не на равновесие мономер-димер-тетрамер в гемоглобине.

Ключевые слова: фуллерен; шунгитовый наноуглерод; наноалмаз; наночастица; нанодисперсия; белок; гемоглобин; автоокисление.

**A. S. Goryunov, A. G. Borisova, S. P. Rozhkov, G. A. Sukhanova,
N. N. Rozhkova. HEMOGLOBIN OXIDATION IN CARBON AQUEOUS
NANODISPERSIONS**

The oxidative effect of carbon nanodispersions on protein has been studied through comparative examination of the spontaneous transition of hemoglobin oxy-form with the heme iron in reduced state Fe(II) into the physiologically inactive met-form with the heme iron in oxidized state Fe(III) (autooxidation) in aqueous dispersions of three nanocarbon types – fullerene C₆₀, nanodiamonds, and shungite nanocarbon (ShC). Unlike nanodiamonds, C₆₀ and ShC have been shown to act as prooxidants in hemoglobin solution since their presence can provide for acceleration of the oxidation reaction of the heme iron in hemoglobin and for steady transition of a considerable part of hemoglobin from the oxy- to the met-form. The effect of carbon nanoparticles on the process of protonation of distal histidine, but not on the monomer-dimer-tetramer equilibrium of hemoglobin in aqueous dispersion has been suggested as a probable mechanism of the oxidation activity of the nanoparticles in the protein.

Key words: fullerene; shungite nanocarbon; nanodiamond; nanoparticles; nanodispersion; protein; hemoglobin; autooxidation.

Введение

Углеродные наноматериалы, в том числе в форме наночастиц и нанодисперсий, находят все более широкое применение в различных сферах человеческой деятельности от производства продукции бытового, гигиенического и промышленного назначения до научных исследований [Panessa-Warren et al., 2009; Alpatova et al., 2010]. К настоящему времени накоплено большое количество данных о биологическом действии наноматериалов. Среди обнаруженных эффектов – влияние диспергированных наноструктур на водные организмы, воздействие на процессы легочного дыхания и кожные реакции, расщепление ДНК раковых клеток, способность вызывать некроз и апоптоз, а также обуславливать пролиферацию и дифференциацию стволовых клеток [Savolainen, Vainio, 2011; Turco et al., 2011; Uo et al., 2011]. В связи с этим вопрос о молекулярных механизмах биологической активности наночастиц при взаимодействии наноматериалов с живыми системами, особенно в водных дисперсиях – как среде, в которой только и может проявляться такая активность, становится все более актуальным. Один из важнейших механизмов действия биологически активных веществ обусловлен их окислительно-восстановительными свойствами. Известно, что углеродные материалы способны эффективно влиять на окислительные процессы в присутствии воды и кислорода воздуха [Лазаров, Ангелова, 1991]. Свойства фуллеренов C_{60} , как одной из форм нанougлерода, исследованы в многочисленных работах в связи с их вероятной токсичностью [Yamago et al., 1995; Nakamura et al., 1996; Nakajima et al., 1996; Isobe et al., 2006; Xia et al., 2006] и окислительной активностью [Chiang et al., 1995; Yu et al., 1997; Gharbi et al., 2005]. При этом оказалось, что C_{60} может способствовать генерации активных форм кислорода (АФК) спонтанно и за счет фотоактивации (главным образом ультрафиолетовой), возможно, в результате появления пар электрон-«дырка», благодаря поверхностным дефектам и включениям [Arbogast et al., 1991, 1992]. Однако это происходит только в органических неполярных растворителях. Кроме того, фуллерены способны выступать как акцепторы электронов. В водной же среде – водных суспензиях агрегатов C_{60} (аqui/n C_{60}) – ни синглетного кислорода, ни супероксид-радикала обнаружено не было [Hotze et al., 2008]. В то же время имеются данные, свидетельствующие, что aqui/n C_{60} оказывают окислительное воздействие на клетки и их компоненты [Fang et al., 2007; Lyon et al., 2008; Lyon, Alvarez, 2008]. Механизм этого воздействия ос-

тается неясным. Целью настоящей работы было сравнительное изучение окислительного воздействия водных дисперсий различных форм нанougлерода – C_{60} , наноалмазов, шунгитового нанougлерода – на молекулу гемоглобина (Hb) для выяснения механизма этого воздействия. Особенностью предлагаемого подхода является то, что в качестве предмета исследования выступает не собственное окислительное воздействие углеродных наночастиц на белок, а их влияние на уже имеющий место в системе окислительно-восстановительный процесс – спонтанное превращение Hb в окси-форме с железом гема в восстановленном состоянии Fe(II) в физиологически неактивную мет-форму Hb с железом гема в окисленном состоянии Fe(III) в водной среде (т. н. автоокисление Hb).

Материалы и методы

Работа проведена с использованием приборной базы Центра коллективного пользования научным оборудованием ИБ КарНЦ РАН.

Исследовался нанougлерод в форме водных нанодисперсий фуллерена C_{60} , ультрадисперсных наноалмазов детонационного синтеза (наноалмазов) и шунгитового углерода (ShC). Водная нанодисперсия фуллеренов представляет собой дисперсию нанокластеров – гидратированных комплексов из нескольких десятков молекул C_{60} диаметром 0,7 нм. Размер нанокластеров молекул фуллерена в водной нанодисперсии (аqui/n C_{60}) – 70–100 нм.

Шунгитовый нанougлерод [Buseck et al., 1992; Buseck, 2002] в водной дисперсии представлен наночастицами (90–100 нм), построенными из многослойных наноглобул <10 нм, которые в свою очередь образованы базовыми структурными элементами – непланарными графеновыми фрагментами размером <1 нм. Эти фрагменты являются стабилизаторами наноглобул в водной среде, а также формируют электронную и пространственную структуру наночастиц шунгитового углерода [Рожкова, 2011]. Нанокластеры (наночастицы) шунгитового углерода стабилизированы в устойчивых водных дисперсиях и агрегированы при конденсации дисперсии.

Использовались водные коллоидные нанодисперсии фуллерена (аqui/n C_{60}), приготовленные по методике Г. В. Андриевского [Andrievsky et al., 1995], и нанодисперсии шунгитового углерода, полученные по аналогичной методике [Рожков и др., 2007; Rozhkova et al., 2007; Рожкова, 2011].

Водные нанодисперсии алмазов были получены с использованием ультразвукового сонолиза при концентрации углерода до 0,18 мг/мл [Osawa, 2008]. Размер первичных наноалмазов – $4,6 \pm 0,8$ нм. Они образуют ассоциаты – кластеры наноалмазов (наночастицы) размерами от 90 нм.

В качестве модели биологического объекта – вероятной мишени воздействия углеродных наноматериалов – использовали молекулы кислород-связывающего белка Hb человека (Hb A, молекулярная масса 68 кД, размер ~6 нм), полученного по стандартной методике из крови взрослого человека.

Дисперсии наночастиц в различных концентрациях добавлялись в раствор Hb и выдерживались заданное время. Спонтанное окисление (автоокисление) Hb в водном растворе и в нанодисперсиях углерода оценивалось по уровню равновесия структуры Hb между окисленной и восстановленной (мет – окси, $Fe^{3+} - Fe^{2+}$) формами. Уровень равновесия определялся спектрофотометрически в ультрафиолетовом-видимом диапазоне в зависимости от концентрации наноуглерода, диспергированного в водном растворе белка, с тем чтобы охарактеризовать эффекты, связанные с проявлением окислительных свойств трех форм наноуглерода. Спектры поглощения гемоглобина регистрировались на спектрофотометре Specord M40 в диапазоне длин волн 350–650 нм.

Концентрации окси- и метгемоглобина рассчитывали на основании уравнений для спектрофотометрического анализа смесей гемоглобинов [Venesh et al., 1973], основанного на данных по поглощению при длинах волн 560, 576, 630 нм. Кинетика спонтанного окисления Hb рассматривалась при температуре 43 °С и фиксированных значениях pH в интервале 5–8. Температура поддерживалась с использованием водного термостата. Для перевода Hb в раствор с заданным значением pH раствор белка пропускали через колонку 1,5x50 см, наполненную гелем Sefadex G-25. В экспериментах использовались следующие буферные системы: 1) 0,01M натрий-фосфатный буфер, pH 7,9; 2) 0,1M натрий-ацетатный буфер, pH 5,2.

После колонки получали высокоочищенный препарат Hb. Чтобы убедиться, что полученный Hb находится в окси-форме, регистрировали полные оптические спектры поглощения (250–650 нм) раствора Hb. По кинетическим кривым $\ln N = \ln N_0 - K \cdot t$, где N_0 и N – концентрации Hb в начальный момент времени t_0 и момент времени t соответственно, может быть рассчитана константа скорости реакции K автоокисления Hb [Борисова, Горюнов, 2007; Борисова, 2008].

Фактором, ограничивающим время наблюдения автоокисления, также является денатурация Hb, поскольку наблюдение проводилось при температуре 43 °С. Отсутствие денатурации контролировалось методом дифференциальной сканирующей микрокалориметрии (Nano DSC, TA-Instruments).

Результаты и обсуждение

Обратимое, но прочное связывание молекулярного кислорода с гемовым железом $Fe(II)$ – основа функционирования Hb. Однако оксигенированная форма Hb может спонтанно окисляться до физиологически неактивной метформы $Fe(III)$, поэтому метаболизм эритроцитов главным образом направлен на поддержание Hb в ферро-состоянии $Fe(II)$. Скорость реакции автоокисления зависит от pH среды, температуры, а также от присутствия восстановителей и окислителей.

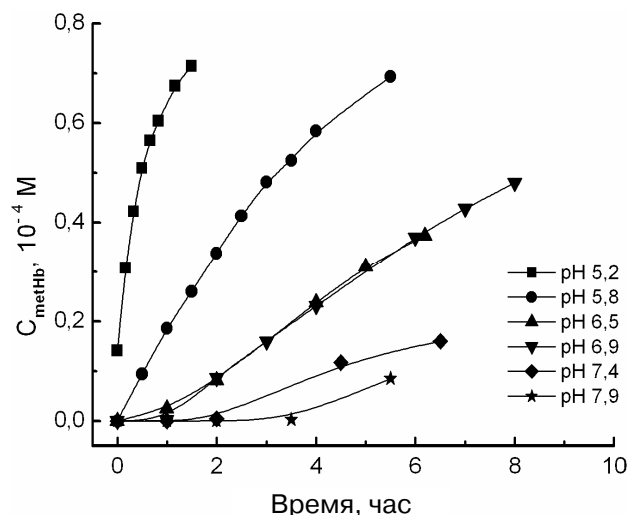


Рис. 1. Зависимости концентрации окисленного гемоглобина (метгемоглобина) ($C_{метHb}$) от времени при различных pH белкового раствора, отражающие кинетику реакции спонтанного окисления гемоглобина (автоокисления). Исходная концентрация оксигемоглобина 1,5 мг/мл

Зависимости концентрации мет Hb в реакционной среде от времени, отражающие кинетику окисления железа гема, представлены на рисунке 1. Окси Hb окисляется достаточно быстро в условиях повышенной температуры, и особенно быстро – при низких значениях pH раствора. Кинетические кривые снимались за разные промежутки времени, поскольку регистрация кинетики проводилась до достижения начальных стадий насыщения или до момента, когда форма кривой однозначно указывала на недостижимость насыщения, что в большей степени зависит от pH. Так, в среде с pH 5,2 уже в начальный

момент измерения содержится некоторое количество окисленного Hb. Начиная от физиологических значений pH порядка 7,4 спонтанное окисление Hb идет медленнее, так что в течение нескольких часов наблюдения мет-форма Hb в растворе вообще не регистрируется.

На рисунке 2 (а, б) представлены кинетические зависимости в условиях, когда в среду был добавлен коллоид фуллерена (аqu/nC_{60}); для сравнения взяты значения pH 5,2 и 7,9. Видно, что во всех случаях концентрация окисленного Hb в присутствии C_{60} существенно повышается, причем в прямой зависимости от концентрации C_{60} . Тем самым проявляется прооксидантное действие аqu/nC_{60} . Происходит это не только за счет ускорения автоокисления, но и за счет того, что присутствие фуллерена в реакционной среде вызывает окисление некоторой части Hb в начальный момент времени – еще до начала прогрева реакционной смеси.

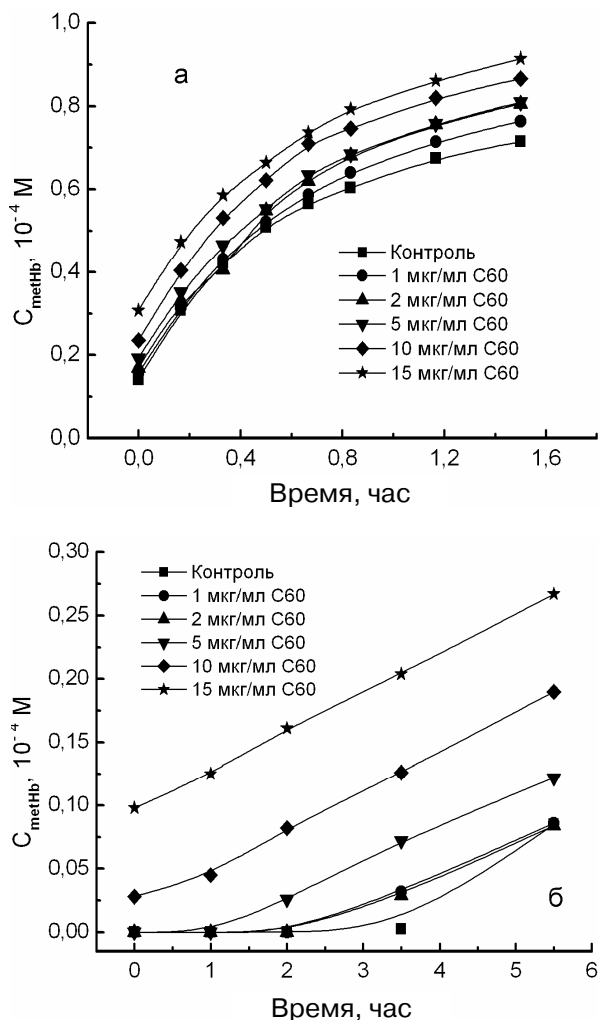


Рис. 2. Кинетические кривые окисления гемоглобина в нанодисперсиях фуллерена C_{60} (аqu/nC_{60}) различных концентраций при pH 5,2 (а) и pH 7,9 (б). Исходная концентрация оксигемоглобина 1,5 мг/мл

По величине эффекта при двух значениях pH различий не наблюдается: концентрация мет Hb увеличивается на $0,5\text{--}0,7 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ в обоих случаях. Однако при низких значениях pH форма и наклон кинетических кривых практически не зависят от концентрации фуллерена. При pH 5,2 все зависимости имеют одинаковый вид: это кривые, выходящие на насыщение, с большей скоростью окисления Hb на начальных отрезках времени и меньшей – на последующих, что указывает на снижение скорости окисления со временем наблюдения, в то время как при повышении pH имеет место зависимость от концентрации – при pH 7,9 формы зависимостей различны для разных концентраций C_{60} . При повышении концентрации фуллерена форма кривых изменяется и становится практически прямолинейной, наклон кривых, отражающий скорость окисления, также изменяется. При отсутствии C_{60} окисления не наблюдается в течение первых 3,5 ч наблюдения, и лишь в дальнейшем происходит умеренное – до $0,06 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ мет Hb – окисление. При 1 и 2 $\mu\text{g/ml}$ C_{60} окисление, регистрируемое через 3,5 ч, уже весьма значительно, что однозначно указывает на ускорение процесса окисления железа гема даже в присутствии малых количеств аqu/nC_{60} . При 5, 10 и 15 $\mu\text{g/ml}$ C_{60} наблюдается тот же эффект, что и при pH 5,2, с той лишь разницей, что при pH 7,9 даже для 15 $\mu\text{g/ml}$ C_{60} величина эффекта соответствует уровню контроля, имеющему место при pH 5,2. Кроме того, факт, что зависимости при pH 7,9 для 5, 10 и 15 $\mu\text{g/ml}$ C_{60} имеют характер, близкий к линейному, означает, что скорость окисления не меняется со временем.

Все эти особенности, очевидно, связаны не столько с влиянием аqu/nC_{60} на кинетику окисления Hb, сколько с различиями в характере процесса окисления при двух значениях pH, поскольку амплитуды эффектов при pH 5,2 и pH 7,9 близки. Кроме того, при pH 7,9 окисление происходит столь медленно, что количество окисленного мет Hb невозможно зарегистрировать в течение нескольких часов наблюдения как в контроле, так и при малых концентрациях аqu/nC_{60} . В присутствии же 5–15 $\mu\text{g/ml}$ аqu/nC_{60} это количество существенно возрастает, и эффект становится заметен. И все же при pH 7,9 скорость окисления даже в присутствии аqu/nC_{60} остается малой, что и не позволяет проявиться какому-либо насыщению, как это происходит при pH 5,2.

Кривые при pH в интервале от 5,2 до 7,9 имеют форму, промежуточную между кривыми при pH 5,2 и pH 7,9, поэтому соответствующие результаты здесь не приведены.

На рисунке 3 (а, б) представлены кинетические кривые спонтанного окисления Hb для случая, когда в водном растворе вместе с белком присутствовал диспергированный шунгитовый нанокристалл углерода (ShC). Для сравнения взяты значения pH 5,2 и 7,9. Характер зависимостей для ShC в значительной степени аналогичен тому, который наблюдается для фуллерена и по величине эффекта, и по форме кривых. Некоторые же различия состоят в наклоне кривых и, соответственно, скорости реакции окисления Hb. Это позволяет предполагать и аналогию механизма воздействия нанодисперсий этих двух форм углерода на процесс окисления Hb.

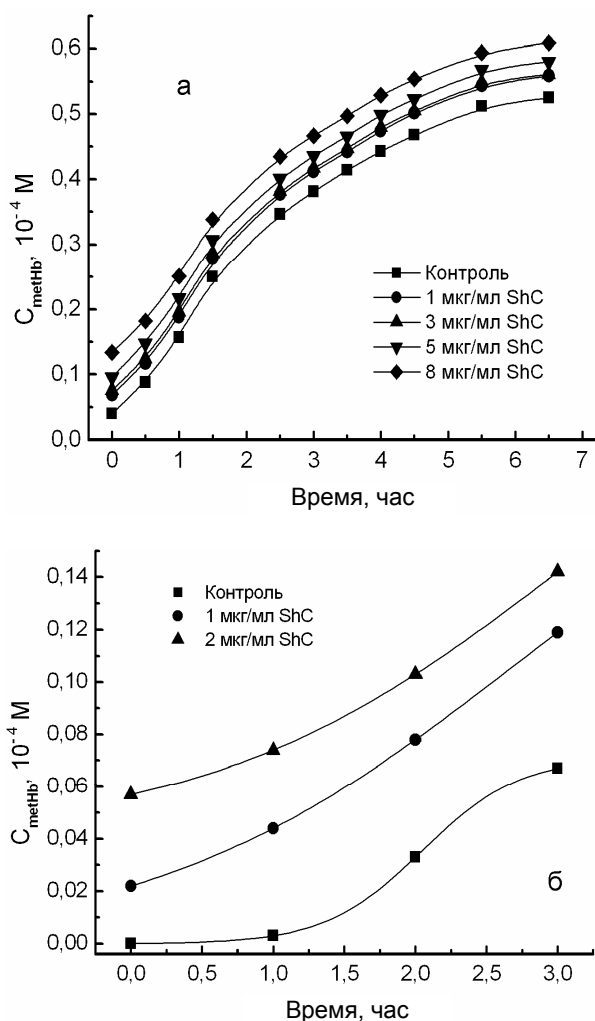


Рис. 3. Кинетические кривые окисления гемоглобина в нанодисперсиях шунгитового углерода (ShC) различных концентраций при pH 5,2 (а) и pH 7,9 (б). Исходная концентрация оксигемоглобина 1,5 мг/мл

На рисунке 4 показаны данные о кинетике окисления Hb в водных дисперсиях нанокристаллов углерода (НА) при pH 5,2. В этом случае зависимость вида кривых и скорости автоокисления от концентрации НА оказалась крайне слабо выра-

женной: наклон и форма кривых практически не зависели от концентрации нанокристаллов углерода в дисперсии, т. е. как концентрация окисленного Hb в начальный момент времени, так и скорость реакции окисления очень мало менялись при изменении концентрации этой формы нанокристалла углерода. В отличие от aqC_{60} и ShC присутствие нанокристаллов углерода в реакционной среде не вызывало и мгновенного окисления части Hb при внесении нанокристалла углерода в белковый раствор. Данные, полученные при других значениях pH, здесь не приводятся, поскольку они свидетельствуют об отсутствии какого-либо влияния нанокристаллов углерода на процесс окисления Hb.

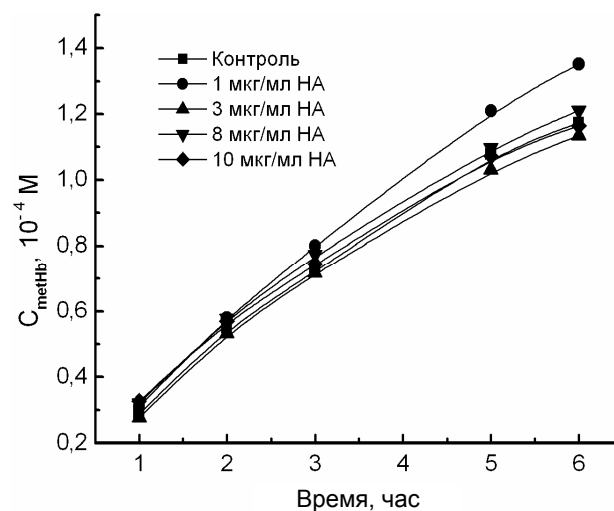


Рис. 4. Кинетические кривые окисления гемоглобина в дисперсиях нанокристаллов углерода различных концентраций при pH 5,2. Исходная концентрация оксигемоглобина 1,5 мг/мл

Таким образом, присутствие в белковом растворе двух из трех исследованных форм нанокристалла углерода – aqC_{60} и ShC – приводит к тому, что концентрация окисленного Hb существенно повышается концентрационно-зависимым образом за счет того, что наличие этих форм нанокристалла углерода в реакционной среде вызывает окисление некоторой части Hb уже в процессе их внесения в раствор. Более того, даже при высоких pH (физиологических и выше), когда автоокисление почти не наблюдается, присутствие aqC_{60} и ShC в растворе способно инициировать ускорение реакции окисления гемоглобина, а вместе с ней и весьма устойчивый процесс перехода значительной части окси Hb в мет Hb, т. е. в данном случае и aqC_{60} , и ShC выступают как прооксиданты.

Известно, что спонтанное окисление (автоокисление) Hb протекает как реакция окисления железа и восстановления кислорода до супероксид-аниона с превращением окси Hb в мет Hb.

Она сопровождается нуклеофильным вытеснением супероксид-аниона входящей молекулой воды и требует протонирования имидазольной группы дистального гистидина, т. е. происходит с участием H^+ . Поэтому при понижении pH автоокисление облегчается [Benesh et al., 1973], что объясняет типичный характер изменения вида зависимости концентрации окисленного Hb от времени при разных pH (рис.1). Это позволяет предположить, что две из трех рассматриваемых нами форм нанок углерода обладают свойством способствовать процессу протонирования дистального гистидина Hb в водной дисперсии, и это свойство играет важную роль в механизме окислительного воздействия нанодисперсии углерода на вводимый в нее Hb.

С другой стороны, известно, что способность Hb к автоокислению существенно зависит от степени агрегации гемоглобина: димеры и отдельные субъединицы значительно более подвержены автоокислению [Benesh et al., 1973]. При этом имеются данные о том, что наночастицы способны воздействовать на степень агрегации белка в растворе [Nel et al., 2009] и тем самым на скорость автоокисления. В то же время полученные нами ранее данные по гель-фильтрации белков в нанодисперсиях углерода [Goryunov et al., 2011] показывают, что Hb, в отличие, например, от сывороточного альбумина, не образует сколько-нибудь устойчивых комплексов с наночастицами углерода. Это, скорее всего, означает, что и влияние наночастиц на агрегацию данного белка не может быть существенным, тем более и сам Hb не относится к белкам со склонностью к агрегации. Кроме того, равновесие димер-тетрамер или мономер-тетрамер в гемоглобине не может устанавливаться мгновенно. Это активационный процесс, характеризующийся своей кинетикой. Он неизбежно должен был бы проявиться, во-первых, в отличии формы кинетических кривых контрольных образцов и образцов, содержащих нанок углерод, при любых значениях pH, чего в эксперименте обнаружено не было. Во-вторых, окисления некоторой части гемоглобина уже в начальный момент времени также не могло бы наблюдаться. Поэтому влияние нанодисперсии углерода на автоокисление Hb через воздействие на его агрегацию является маловероятным механизмом эффекта.

Другой возможный механизм токсичности водной дисперсии C_{60} (aqu/nC_{60}) по отношению к биологическим системам может быть связан с тем, что водная нанодисперсия C_{60} способна инициировать независимые от активных форм кислорода окислительные повреждения [Fang et al., 2007; Lyon et al., 2008; Lyon, Alvarez,

2008], которые приводят к изменению электропотенциала клеточной мембраны, нарушению клеточного дыхания и окислению белка. Последнее проявляется в снижении количества SH-групп белка, что свидетельствует о влиянии на процессы с участием протонов, на процессы водородного обмена между интерьером белковой глобулы и свободным растворителем. Это может играть важную роль и в процессе протонирования дистального гистидина, который находится в интерьере молекулы Hb.

Различие в эффекте наноалмазов и двух других типов нанок углерода, вероятно, связано с тем, что наноалмаз является нанокристаллом, тогда как фуллерены и базовый структурный элемент шунгитового нанок углерода являются молекулярными структурами. Это может обуславливать различную степень их вовлечения в процессы с участием протонов в водной среде.

Таким образом, наиболее вероятным механизмом прооксидантного действия углеродных наночастиц на гемоглобин в водной дисперсии является влияние на процесс протонирования дистального гистидина, а механизмом их прооксидантного действия вообще является способность влиять на процессы с участием протонов в водной среде.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (грант № 13-03-00422).

Литература

- Борисова А. Г., Горюнов А. С. Гемоглобины позвоночных: сравнительный анализ физико-химических свойств // Труды КарНЦ РАН. 2007. Вып. 11. С. 10–14.
- Борисова А. Г. Сравнительный анализ различных гемоглобинов: автоокисление и спектральные свойства // Журн. эвол. биохим. физиол. 2008. Т. 44, № 4. С. 449–450.
- Лазаров Л., Ангелова Г. Структура и реакции углей. София: Издательство Болгарской АН, 1991. 231 с.
- Рожков С. П., Ковалевский В. В., Рожкова Н. Н. Фуллеренсодержащие фазы, получаемые из водных дисперсий наночастиц углерода // Журн. физ. химии. 2007. Т. 81, № 6. С. 1089–1096.
- Рожкова Н. Н. Нанок углерод шунгитов. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2011. 100 с.
- Alpatova A. L., Shan W., Babica P., Upham B. L., Rogensues A. R., Masten S. J., Drown E., Mohanty A. K., Alocilja E. C., Tarabara V. V. Single-walled carbon nanotubes dispersed in aqueous media via non-covalent functionalization: effect of dispersant on the stability, cytotoxicity, and epigenetic toxicity of nanotube suspensions // Water Res. 2010. Vol. 44, N 2. P. 505–520.
- Andrievsky G. V., Kosevich M. V., Vovk O. M., Shelkovsky V. S., Vashenko L. A. On the production of an aqueous colloidal solution of fullerenes // J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1995. Vol. 12. P. 1281–1282.

- Arbogast J. W., Darmanyan A. P., Foote C. S., Rubin Y., Diederich F. N., Alvarez M. M., Anz S. J., Whetten R. L. Photophysical properties of C₆₀ // J. Phys. Chem. 1991. Vol. 95, N 1. P. 11–12.
- Arbogast J. W., Foote C. S., Kao M. Electron-transfer to triplet C₆₀ // J. Am. Chem. Soc. 1992. Vol. 114, N 6. P. 2277–2279.
- Benesh R. E., Benesh R., Yung S. Equations for the spectrophotometric analysis of hemoglobin mixtures // Analytical Biochem. 1973. Vol. 55, N 1. P. 245–248.
- Buseck P. R., Tsipursky S. J., Hettich R. Fullerenes from the geological environment // Science. 1992. Vol. 257, N 5067. P. 215–217.
- Buseck P. Geological Fullerenes: review and analysis // Earth and Planetary Science Letters. 2002. Vol. 203, N 3–4. P. 781–792.
- Chiang L. Y., Lu F. J., Lin J. T. Free-radical scavenging activity of water-soluble fullereneols // J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1995. Vol. 12. P. 1283–1284.
- Fang J., Lyon D. Y., Wiesner M. R., Dong J., Alvarez P. J. Effect of a fullerene water suspension on bacterial phospholipids and membrane phase behavior // Environ. Sci. Technol. 2007. Vol. 41, N 7. P. 2636–2642.
- Gharbi N., Pressac M., Hadchouel M., Szwarc H., Wilson S. R., Moussa F. Fullerene is a powerful antioxidant in vivo with no acute or subacute toxicity // Nano Lett. 2005. Vol. 5, N 12. P. 2578–2585.
- Goryunov A. S., Rozhkov S. P., Borisova A. G., Sukhanova G. A. Interaction and properties of blood proteins in shungite nanocarbon dispersions // Nanobiophysics: fundamental and applied aspects: abstr. 2nd Internat. conference. (Kyiv, 6–9.10.2011) P. 66.
- Hotze E. M., Labille J., Alvarez P., Wiesner M. R. Mechanisms of photochemistry and reactive oxygen production by fullerene suspensions in water // Environ. Sci. Technol. 2008. Vol. 42, N 11. P. 4175–4180.
- Isobe H., Tanaka T., Maeda R., Noiri E., Solin N., Yudasaka M., Iijima S., Nakamura E. Preparation, purification, characterization, and cytotoxicity assessment of water-soluble, transition-metal-free carbon nanotube aggregates // Angew. Chem., Int. Ed. 2006. Vol. 45, N 40. P. 6676–6680.
- Lyon D. Y., Brunet L., Hinkal G. W., Wiesner M. R., Alvarez P. J. Antibacterial activity of fullerene water suspensions (nC₆₀) is not due to ROS-mediated damage // Nano Lett. 2008. Vol. 8, N 5. P. 1539–1543.
- Lyon D. Y., Alvarez P. J. Fullerene water suspension (nC₆₀) exerts antibacterial effects via ROS-independent protein oxidation // Environ. Sci. Technol. 2008. Vol. 42, N 21. P. 8127–8132.
- Nakajima N., Nishi C., Li F. M., Ikada Y. Photo-induced cytotoxicity of water-soluble fullerene // Fullerene Sci. Technol. 1996. Vol. 4, N 1. P. 1–19.
- Nakamura E., Tokuyama H., Yamago S., Shiraki T., Sugiura Y. Biological activity of water-soluble fullerenes. Structural dependence of DNA cleavage, cytotoxicity, and enzyme inhibitory activities including HIV-protease inhibition // Bull. Chem. Soc. 1996. Vol. 69, N 8. P. 2143–2151.
- Nel A. E., Mädler L., Velegol D., Xia T., Hoek M. V. H., Somasundaran P., Klaessig F., Castranova V., Thompson M. Understanding biophysicochemical interactions at the nano-bio interface // Nature Materials. 2009. Vol. 8, N 7. P. 543–557.
- Osawa E. Monodisperse single nanodiamonds particulates // Pure Appl. Chem. 2008. Vol. 80, N 7. P. 1365–1379.
- Panessa-Warren B. J., Maye M. M., Warren J. B., Crosson K. M. Single walled carbon nanotube reactivity and cytotoxicity following extended aqueous exposure // Environ Pollut. 2009. Vol. 157, N 4. P. 1140–1151.
- Rozhkova N. N., Gribanov A. V., Khodorkovskii M. A. Water mediated modification of structure and physical chemical properties of nanocarbons // Diamond Relat. Mater. 2007. Vol. 16, N 12. P. 2104–2108.
- Savolainen K., Vainio H. Health risks of engineered nanomaterials and nanotechnologies // Duodecim. 2011. Vol. 127, N 11. P. 1097–1104.
- Turco R. F., Bischoff M., Tong Z. H., Nies L. Environmental implications of nanomaterials: are we studying the right thing? // Curr. Opin. Biotechnol. 2011. Vol. 22, N 4. P. 527–532.
- Uo M., Akasaka T., Watari F., Sato Y., Tohji K. Toxicity evaluations of various carbon nanomaterials // Dent. Mater. J. 2011. Vol. 30, N 3. P. 245–263.
- Xia T., Kovoichich M., Brant J., Hotze M., Sempf J., Oberley T., Sioutas C., Yeh J. I., Wiesner M. R., Nel A. E. Comparison of the abilities of ambient and manufactured nanoparticles to induce cellular toxicity according to an oxidative stress paradigm // Nano Lett. 2006. Vol. 6, N 8. P. 1794–1807.
- Yamago S., Tokuyama H., Nakamura E., Kikuchi K., Kananiishi S., Sueki K., Nakahara H., Enomoto S., Ambe F. In-Vivo Biological Behavior of a Water-Miscible Fullerene ¹⁴C Labeling, Absorption, Distribution, Excretion and Acute Toxicity // Chem. Biol. 1995. Vol. 2, N 6. P. 385–389.
- Yu C., Bhonsle J. B., Wang L. Y., Lin J. G., Chen B.-J., Chiang L. Y. Synthetic aspects and free-radical scavenging efficiency of polyhydroxylated C₆₀ // Fullerene Sci. Technol. 1997. Vol. 5, N 7. P. 1407–1421.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Горюнов Андрей Сергеевич

ведущий научный сотрудник, к. ф.-м. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск,
Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: goryunov@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 769810

Goryunov, Andrey

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk,
Karelia, Russia
e-mail: goryunov@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 769810

Борисова Александра Григорьевна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск,
Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: borisova@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 769810

Рожков Сергей Павлович

ведущий научный сотрудник, д. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск,
Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: rozhkov@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 769810

Суханова Галина Антоновна

главный физик
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск,
Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: sukhanova@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 769810

Рожкова Наталья Николаевна

заведующая лабораторией, к. т. н.
Институт геологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск,
Республика Карелия, Россия, 185910
эл. почта: rozhkova@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 780189

Borisova, Alexandra

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk,
Karelia, Russia
e-mail: borisova@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 769810

Rozhkov, Sergey

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk,
Karelia, Russia
e-mail: rozhkov@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 769810

Sukhanova, Galina

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk,
Karelia, Russia
e-mail: sukhanova@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 769810

Rozhkova, Natalia

Institute of Geology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk,
Karelia, Russia
e-mail: rozhkova@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 780189