

УДК 577.322.2 : 546.26 : 54-148

## ВОЗМОЖНЫЙ МЕХАНИЗМ АВТООКИСЛЕНИЯ ГЕМОГЛОБИНА В ВОДНЫХ ДИСПЕРСИЯХ УГЛЕРОДНЫХ НАНОМАТЕРИАЛОВ

**А. С. Горюнов, А. Г. Борисова**

*Институт биологии Карельского научного центра РАН*

Исследовано воздействие водных нанодисперсий шунгитового углерода и фуллера C<sub>60</sub> на автоокисление гемоглобина человека *in vitro*. Обнаружено, что концентрационно-зависимое окисление железа гема гемоглобина, вызываемое фуллереном C<sub>60</sub> и шунгитовым нанокуглеродом в водной дисперсии, не зависит от pH среды. Анализ путей автоокисления гемовых белков показывает, что наиболее вероятный механизм действия C<sub>60</sub> и шунгитового углерода на процесс автоокисления гемоглобина обусловлен их электрон-акцепторными свойствами и связан с не зависящим от pH переносом электрона с деоксигема на молекулу O<sub>2</sub>, а не с диссоциацией супероксид-аниона.

**К л ю ч е в ы е с л о в а:** гемоглобин, автоокисление, фуллерен, шунгитовый нанокуглерод.

### **A. S. Goryunov, A. G. Borisova. PROBABLE MECHANISM OF HAEMOGLOBIN AUTOXIDATION IN WATER DISPERSIONS OF CARBON-BASED NANOMATERIALS**

The effects of fullerene C<sub>60</sub> and shungite carbon water nanodispersions on human haemoglobin autooxidation *in vitro* have been examined. No effect of dispersion pH on the concentration-dependent ferrous heme oxidation in haemoglobin caused by fullerene C<sub>60</sub> and shungite nanocarbon has been revealed. Heme proteins autooxidation pathways consideration has shown that the most probable mechanism of C<sub>60</sub> and shungite carbon effect on the haemoglobin autooxidation process is determined by their electron-acceptor capacity and involves a pH-independent transfer of an electron from a deoxyheme to an O<sub>2</sub> molecule, but not the dissociation of superoxide-anion.

**Key words:** haemoglobin, autoxidation, fullerene, shungite nanocarbon.

### **Введение**

Быстрое развитие нанотехнологий постоянно повышает вероятность контакта человека и окружающей среды с вновь разработанными наноматериалами, которые проявляют при этом разного рода биологическую активность. Хотя современные представления о токсичности углеродных наночастиц совершенно недостаточны для оценки рисков, имеющиеся ре-

зультаты указывают на то, что возможно повреждающее воздействие при проникновении наночастиц в организм, отдельные органы и системы, ткани, клетки [Sayes et al., 2007; Panessa-Warren et al., 2009; Kumar et al., 2012].

С другой стороны, огромный интерес в последние годы вызывает синтез биоконъюгатов неорганических наночастиц с биомолекулами – такими, как белки и ДНК – в связи с широким разнообразием приложений подобных гибри-

ных материалов во многих областях – от наук о жизни до материаловедения [Aubin-Tam, Namad-Schifferli, 2008]. Все это определяет огромное значение, которое имеет изучение и описание взаимодействия «белок – наночастица». Уже достаточно убедительно показано, что основные физические и физико-химические характеристики наноматериалов существенным образом влияют на структуру и стабильность белка [Shang et al., 2009]. Имеются данные, свидетельствующие о том, что фуллерен  $C_{60}$  оказывает окислительное воздействие на клетки и их компоненты [Colvin, Kulinowski, 2007]. Механизм этого воздействия остается неясным, поскольку в водной среде – водных суспензиях агрегатов  $C_{60}$  (aq/n $C_{60}$ ) – ни синглетного кислорода, ни супероксид-радикала обнаружено не было [Fei, Perett, 2009].

В предыдущем исследовании [Горюнов и др., 2013] нами было установлено, что наноглерод в водной дисперсии способствует частичному окислению гемового железа в гемоглобине и переходу последнего в функционально неактивную мет-форму. Целью настоящей работы было продолжение исследования этого эффекта для выяснения механизма окислительного воздействия водных дисперсий фуллерена aq/n $C_{60}$  и шунгитового наноглерода (ShC) на молекулы гемоглобина (Hb) и вопроса о том, какого рода окислительно-восстановительная активность проявляется при взаимодействии наноглерода (НУ) с белковыми макромолекулами.

## Материалы и методы

Исследования выполнены с использованием приборной базы Центра коллективного пользования научным оборудованием ИБ КарНЦ РАН.

Особенностью предлагаемого подхода является то, что было исследовано не собственное окислительное воздействие углеродных наночастиц (УНЧ) на белок, а их влияние на уже имеющий место в эритроците окислительно-восстановительный процесс – спонтанное превращение Hb в окси-форме Hb(II)O<sub>2</sub> в физиологически неактивную мет-форму Hb(III) (т. н. автоокисление Hb).

Реакцию автоокисления проводили в растворах гемоглобина с концентрацией  $(1,5-2) \cdot 10^{-6}$  М (в расчете на гем) в различных буферных системах с известными величинами pH в аэробных условиях при температуре 43 °С. Через установленные промежутки времени спектрофотометрически определяли содержание окси- и метгемоглобина в пробе.

Измерения были выполнены в 0,1 М натрий-ацетатном буфере (pH 5,2–5,6), 0,035 М фосфатном буфере (pH 5,6–7,4) и в 0,1 М трис-буфере (pH 7,4–9,1). Ионная сила была постоянной, составляла 0,1 и регулировалась путем добавления NaCl.

Дисперсии aq/n $C_{60}$ , ShC в различных концентрациях добавлялись в раствор Hb и выдерживались заданное время. Автоокисление Hb в буферном растворе и в дисперсиях УНЧ оценивалось по уровню равновесия структуры Hb между окисленной и восстановленной (мет  $\rightleftharpoons$  окси,  $Fe^{3+} \rightleftharpoons Fe^{2+}$ ) формами.

Спектры поглощения белков и наноглерода регистрировались с помощью спектрофотометров Specord M40 (Carl Zeiss, Jena) и СФ-56 (ЛОМО-Спектр, СПб) в кюветках длиной 1 см в характерных интервалах длин волн. Данные по поглощению использовались для определения концентрации, а также для идентификации структурного состояния белка.

Концентрации окси- и метгемоглобина рассчитывали на основании уравнений для спектрофотометрического анализа смесей гемоглобинов [Benesch et al., 1973], в которых используются данные по поглощению на длинах волн 560, 576 и 630 нм. Пользуясь этими уравнениями, рассчитывали концентрацию участников реакции через определенные промежутки времени, затем из начальной скорости реакции автоокисления рассчитывали кажущиеся константы скорости реакции.

Источниками наночастиц углерода были: порошок шунгита I разновидности (месторожд. Шуньга), порошок фуллеренов, содержащий  $C_{60}/C_{70} = 83/16$  и около 1 вес. % высших фуллеренов (производства компании «Интеллект», С.-Петербург).

Наноглерод исследовался в форме водных нанодисперсий фуллерена  $C_{60}$  и шунгитового углерода. 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 – 70–100 нм. Шунгитовый наноглерод в водной дисперсии представлен наночастицами (90–100 нм), сформированными из многослойных наноглобул < 10 нм, которые в свою очередь образованы базовыми структурными элементами – непланарными графеновыми фрагментами размером < 1 нм [Рожкова, 2011]. Водные нанодисперсии шунгитового углерода были получены по методике, описанной ранее в работах [Brant et al., 2006; Рожков и др., 2007; Rozhkova et al., 2007; Рожкова, 2011].

## Результаты и обсуждение

Ранее нами было показано [Горюнов и др., 2013], что часть молекул окси Hb окисляется достаточно быстро в условиях повышенной температуры, и особенно быстро – при низких значениях pH раствора; так, в среде с pH 5,2 уже в начальный момент измерения содержится некоторое количество окисленного Hb.

На рис. 1 представлены зависимости от времени величины эффекта коллоида фуллерена  $aq/nC_{60}$ , т. е. разницы между концентрациями мет Hb в дисперсии с разными концентрациями  $C_{60}$  и контролем (без  $C_{60}$ ):  $[мет\ Hb]_{C_{60}} - [мет\ Hb]_{К}$ ; для сравнения взяты значения pH 5,2 и 7,9.

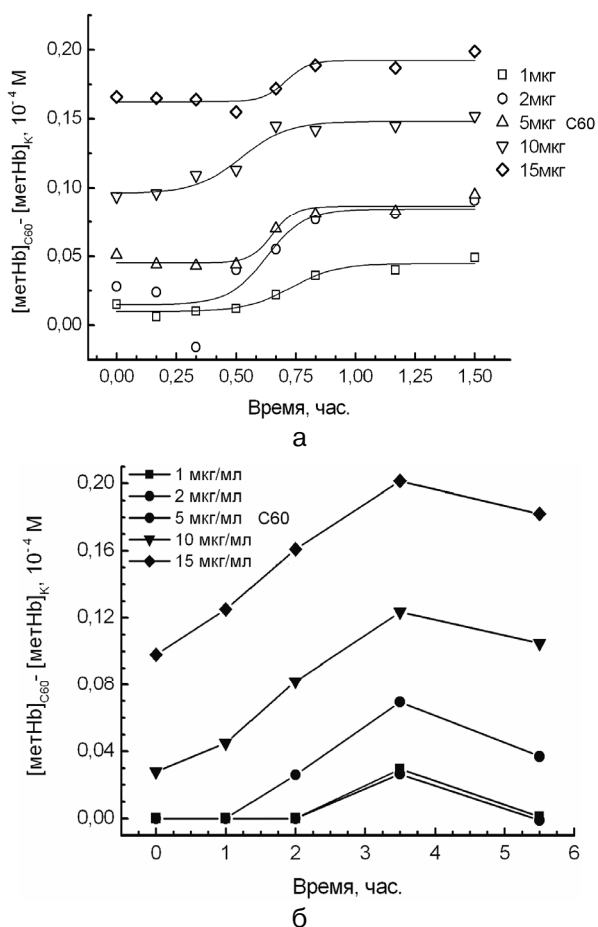


Рис. 1. Кинетические кривые величины эффекта, производимого фуллереном  $C_{60}$  ( $aq/nC_{60}$ ) в нанодисперсии на концентрацию окисленного гемоглобина (мет Hb) при pH 5,2 (а) и pH 7,9 (б). Исходная концентрация оксигемоглобина 1,5 мг/мл

Видно, что имеет место зависимость величины эффекта не только от концентрации  $C_{60}$ , но и от времени. Особое значение имеет тот факт, что характер временной зависимости – сигмоидный, с выраженным переходом с одного уровня эффекта на другой. Этот переход-

ный процесс от одного уровня окисления Hb до другого происходит в интервале 30–40 мин. Переход к новому состоянию заканчивается за время около 1 часа, т. к. кривая полностью выходит на плато к данному моменту. Таким образом, это процесс, скорость которого значительно выше, чем самого автоокисления, которое приводит к выходу на плато только за время более 1,5 часа, как это следует из данных по кинетике окисления при pH 5,2 [Горюнов и др., 2013]. Здесь весьма интересно заметить, что именно за время примерно в 1 час устанавливается равновесие и происходит релаксация при адсорбции белка на твердой поверхности [Norde, Giacomelli, 2000]. Зависимости момента перехода (от 31 до 44 мин), продолжительности перехода (от 3 до 7 мин) или амплитуды перехода (ступеньки) (от 0,03 до 0,13 мг/мл Hb) от концентрации  $C_{60}$  не наблюдается (табл.).

Параметры кинетики перехода, обусловленного влиянием  $aq/nC_{60}$  в отношении спонтанного окисления гемоглобина в водной нанодисперсии

Концентрация $nC_{60}$ , мг/мл	Амплитуда перехода, мг/мл мет Hb	Продолжительность перехода, мин.	Средняя точка перехода, мин.
1	0,034	5,7	44
2	0,062	7,2	40
5	0,041	2,8	39
10	0,130	5,8	31
15	0,030	2,8	43

Иной характер временной зависимости величины эффекта  $aq/nC_{60}$  наблюдается при pH 7,9 (см. рис. 1, б). При отсутствии  $aq/nC_{60}$  окисление не отмечается в течение первых 3,5 часа эксперимента, и лишь в дальнейшем происходит умеренное, до  $0,06 \cdot 10^{-4}$  М мет Hb, окисление.

При концентрации 1 и 2 мг/мл  $C_{60}$  окисление, регистрируемое через 3,5 часа, уже весьма значительно, что однозначно указывает на ускорение процесса окисления железа гема даже в присутствии малых количеств  $aq/nC_{60}$ . При 5, 10 и 15 мг/мл  $C_{60}$  наблюдается тот же эффект, что и при pH 5,2, с той лишь разницей, что при pH 7,9 даже для 15 мг/мл  $C_{60}$ , величина эффекта соответствует уровню контроля, имеющему место при pH 5,2. Кроме того, кинетические кривые автоокисления при pH 7,9 для 5, 10 и 15 мг/мл  $C_{60}$  имеют характер, близкий к линейному [Горюнов и др., 2013], что означает неизменность скорости окисления со временем.

При pH 7,9 процесс перехода, выявленный при pH 5,2, не обнаруживается. Имеет место линейная кинетика нарастания эффекта окисления, обусловленного присутствием нанопуль-

да, что позволяет определить скорость этого процесса как величину порядка  $8,2 \cdot 10^{-10}$  М/с Нб. Скорость не зависит от концентрации  $C_{60}$ .

Сигмоидной формы кинетических кривых величины эффекта  $aq/nC_{60}$  не наблюдается, хотя зависимость от времени, т. е. кинетика, имеет место. При этом важной особенностью является то, что основная тенденция при обоих значениях pH – это рост величины эффекта со временем с признаками последующего насыщения: примерно через 1 час при pH 5,2 и примерно через 3,5 часа при pH 7,9.

Все эти особенности, очевидно, связаны не столько с влиянием  $aq/nC_{60}$  на кинетику окисления Нб, 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 Нб невозможно зарегистрировать в течение нескольких часов наблюдения как в контроле, так и при малых концентрациях  $aq/nC_{60}$ . В присутствии же 5–15 мкг/мл  $aq/nC_{60}$  это количество существенно возрастает и эффект становится заметен. И все же при pH 7,9 скорость окисления даже в присутствии  $aq/nC_{60}$  остается малой.

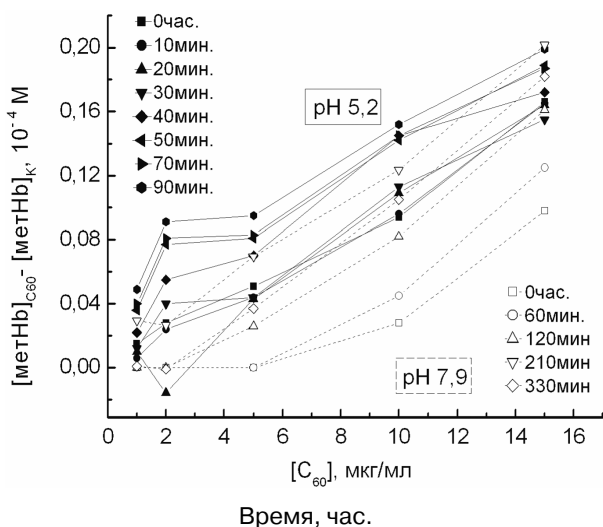


Рис. 2. Зависимости величины эффекта, производимого фуллереном  $C_{60}$  ( $aq/nC_{60}$ ) в нанодисперсии на концентрацию окисленного гемоглобина (мет Нб), от концентрации (дозы)  $C_{60}$  (зависимости «доза – эффект») при pH 5,2 и pH 7,9

На рис. 2 представлены зависимости «доза – эффект», полученные на основании тех же исходных данных (см. рис. 1). Видно, что зависимость от pH имеет место, но она обусловлена тем, что автоокисление вообще не регистрируется при низких концентрациях  $C_{60}$  в течение первых часов: нет автоокисления – нет его зави-

симости от концентрации НУ. Это также следует и из зависимостей величины эффекта от времени при разных концентрациях УНЧ. Величина эффекта сильнее зависит от концентрации НУ при pH 7,9, чем 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.

В присутствии в растворе окси Нб диспергированного ShC концентрация мет Нб также существенно повышалась как при pH 5,2, так и при pH 9,1, причем в прямой зависимости от концентрации ShC [Горюнов и др., 2013], что свидетельствует о его прооксидантном действии. Характер зависимостей для ShC в значительной степени аналогичен тому, который наблюдался для  $C_{60}$  и по величине эффекта, и по форме кривых. Различия же состояли в наклоне кривых и, соответственно, скорости реакции окисления Нб.

Для наглядного представления влияния ShC на автоокисление Нб на рис. 3 показаны зависимости разницы между концентрациями мет Нб в дисперсии с различными концентрациями ShC и контролем:  $[метНб]_{ShC} - [метНб]_K$  (величины эффекта ShC).

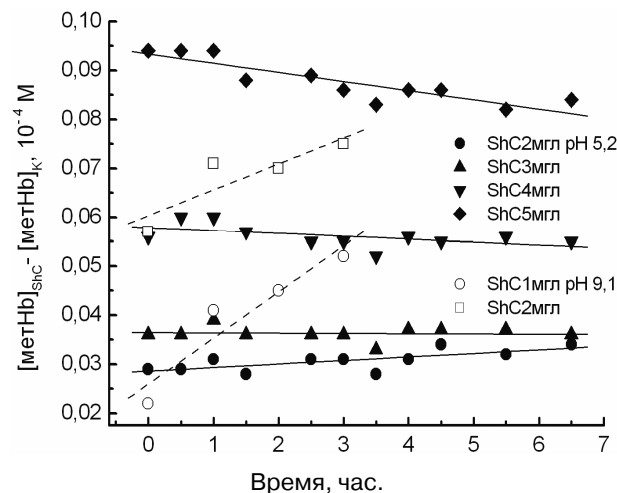


Рис. 3. Кинетические кривые величины эффекта, производимого шунгитовым наноглеродом (ShC) на концентрацию окисленного гемоглобина (мет Нб) при pH 5,2 и pH 9,1

Кинетические зависимости эффекта ShC при pH 5,2 уже не имеют сигмообразной формы, но тем не менее свидетельствуют об увеличении эффекта с ростом концентрации НУ. Величина же эффекта очень мало меняется со временем, т. е. находится примерно на одном уровне все время наблюдения. При повышении pH характер кривых меняется, хотя основная особенность – рост эффекта с концентрацией НУ – ос-

тается неизменной. При pH 9,1 кинетические кривые свидетельствуют о монотонном росте эффекта со временем.

На рис. 4 представлены зависимости «доза – эффект», полученные на основании тех же исходных данных (см. рис. 3). Снова наблюдается зависимость от pH, и опять она обусловлена тем, что автоокисление вообще не регистрируется при низких концентрациях ShC в начальный период наблюдения. Тенденция же к увеличению эффекта НУ с увеличением времени наблюдения при pH 5,2 практически отсутствует. При pH 9,1 она проявляется, однако только между начальным моментом и всеми последующими (1, 2, 3 часа), которые между собой отличаются мало. Это указывает на то, что зависимость скорости автоокисления от присутствия ShC несущественна.

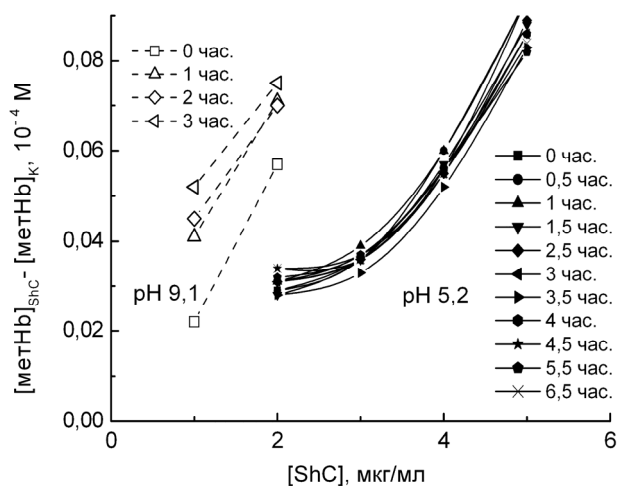


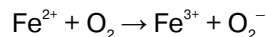
Рис. 4. Зависимости величины эффекта, производимого шунгитовым наноглеродом (ShC) на концентрацию окисленного гемоглобина (мет Hb), от концентрации ShC (зависимости «доза – эффект») при pH 5,2 и pH 9,1

Таким образом, в целом характер эффекта ShC остается таким же, как и  $aqu/nC_{60}$ , за исключением сигмоидной формы кинетических зависимостей. Это позволяет предполагать и аналогию механизма воздействия нанодисперсий этих двух форм углерода на процесс окисления Hb.

Важнейшим с точки зрения понимания механизма влияния НУ на автоокисление Hb результатом как для  $aqu/nC_{60}$ , так и для ShC является отсутствие зависимости величины эффекта от pH, хотя характер зависимости эффекта от концентрации НУ при разных pH несколько отличается.

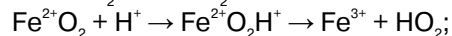
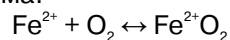
Известно, что метаболизм эритроцитов главным образом направлен на поддержание Hb в ферро-состоянии Fe(II), поскольку свободный гем в растворе очень быстро окисляется в присутствии кислорода до ферри-состоя-

ния. Для гемовых белков, физиологической функцией которых является связывание кислорода, белковая матрица служит для минимизации тенденции гемового железа к окислению. Продуктом окисления гема в ферро-состоянии наряду с ферри-гемом является супероксид-радикал – независимо от механизма, общая схема реакции кислорода с железом ферро-гема – это:

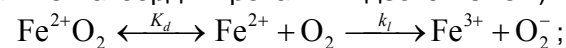


Имеющиеся сведения об автоокислении гемовых белков свидетельствуют о трех возможных путях этого процесса [Gonzalez et al., 1998]:

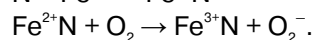
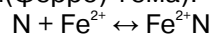
1) диссоциация (или вытеснение растворителем) протонированного супероксида с оксигема:



2) перенос электрона с пентакоординированного деоксигема-посредника (реакция между некоординированной молекулой кислорода и пентакоординированным деоксигемом):



3) перенос электрона с гексакоординированного деоксигема-посредника (реакция между некоординированной молекулой кислорода и посредником, имеющим молекулу воды в шестом координационном положении деокси(ферро)-гема):



В отношении 2-го и 3-го путей в нашем случае особенно важным является то, что перенос электрона (внешней сферы) не зависит от pH в отличие от диссоциации супероксида по 1-му пути.

В действительности, как показывают исследования гем-белков с различными функциями, при автоокислении каждый из этих путей вносит свой определенный вклад. Соотношение же этих вкладов может зависеть от многих факторов, влияющих на автоокисление [Gonzalez et al., 1998]. В целом же известно, что скорость реакции автоокисления зависит от pH среды, температуры, а также от присутствия восстановителей и окислителей.

Поскольку окислительно-восстановительный потенциал пары  $O_2/O_2^-$  (-0,33 В) ниже, чем у системы  $Hb^{III}/Hb^{II}$  (-0,046 В), одноэлектронный перенос с  $Fe^{2+}$  на свободный  $O_2$ , необходимый для путей 2 и 3, не может быть спонтанным [Antonini et al., 1964]. Эти реакции управляются спонтанным превращением супероксида в перекись водорода:  $2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$  [Shikama, 1990]. Поэтому во всех трех путях автоокисления стадии реакции, ведущие к образованию пероксида, можно считать необрати-



мами. Именно воздействие pH на самоокисление-самовосстановление супероксида до пероксида является причиной ускорения автоокисления при кислых значениях pH.

Эти представления отличаются от преобладавших ранее объяснений типичного характера изменений вида кинетических кривых автоокисления Hb ускорением этого процесса при понижении pH благодаря облегчению протонирования имидазольной группы дистального гистидина, необходимого для автоокисления ферро-гема [Antonini, Brunori, 1971]. Такое понимание позволяло предполагать, что рассматриваемые нами формы наноглерода обладают свойством способствовать процессу протонирования дистального гистидина Hb в водной дисперсии и что это свойство играет важную роль в механизме окислительного воздействия нанодисперсии углерода на вводимый в нее Hb. Однако отсутствие зависимости эффекта НУ от pH исключает возможность влияния НУ на этот механизм автоокисления.

Следовательно, вариантом объяснения эффекта НУ на автоокисление Hb, который не зависит от pH, остается воздействие НУ на 2-й и 3-й пути автоокисления, связанные с не зависящим от pH переносом электрона с деоксигема на молекулу кислорода, а не на диссоциацию супероксида, которая зависит от pH. При этом такое воздействие на 2-й и 3-й пути может быть заметно только в том случае, если вклад этих путей в автоокисление довольно значителен. Поэтому полученные данные проливают свет также и на механизм самого автоокисления, а конкретно – на соотношение вкладов различных путей этого процесса. Возможно, именно под действием НУ это соотношение изменяется в пользу 2-го и 3-го путей.

Ярким примером того, как наноструктуры, подобные ShC и C<sub>60</sub>, способны выступать в качестве окислителя, является обнаруженная недавно окислительно-восстановительная реакция между углеродными нанолуковицами и ферроценом, адсорбированным на их поверхности. В этом случае [Cioffi et al., 2009] ферроцен, в состав которого входит Fe<sup>2+</sup>, выступает в качестве донора электрона, а нанолуковица – в качестве акцептора. Поэтому наиболее вероятный механизм действия наночастиц фуллерена и шунгитового углерода на процесс автоокисления гемоглобина связан с облегчением переноса электрона с деоксигема на молекулу кислорода.

Таким образом, наноглерод в водной дисперсии вызывает концентрационно-зависимое окисление железа гема и проявляет электрон-

акцепторные свойства, что обуславливает автоокисление гемоглобина по механизму, связанному с не зависящим от pH переносом электрона с деоксигема на молекулу O<sub>2</sub>, а не с диссоциацией супероксида.

*Выражаем признательность Н. Н. Рожковой (Институт геологии КарНЦ РАН) за предоставленные нанодисперсии шунгитового углерода.*

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 13-03-00422).*

## Литература

Горюнов А. С., Борисова А. Г., Рожков С. П. и др. Окисление гемоглобина в водных нанодисперсиях углерода // Труды КарНЦ РАН. Экспериментальная биология. 2013. № 3. С. 93–100.

Рожков С. П., Ковалевский В. В., Рожкова Н. Н. Фуллереносодержащие фазы, получаемые из водных дисперсий наночастиц углерода // Журн. физ. химии. 2007. Т. 81, № 6. С. 952–958.

Рожкова Н. Н. Наноглерод шунгитов. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2011. 100 с.

Antonini E., Wyman J., Brunori M. et al. Studies on the oxidation-reduction potentials of heme proteins. I. Human hemoglobin // J. Biol. Chem. 1964. Vol. 239. P. 907–912.

Antonini E., Brunori M. Hemoglobin and Myoglobin in their Reactions with Ligands / Frontiers of biology. Vol. 21. North Holland Publishing Company: Amsterdam-London, 1971. P. 152.

Aubin-Tam M. E., Hamad-Schifferli K. Structure and function of nanoparticle-protein conjugates // Biomed Mater. 2008. Vol. 3, N 3. P. 034001–034017.

Benesch R. E., Benesch R., Yung S. Equations for the Spectrophotometric Analysis of Hemoglobin Mixtures // Analytical Biochem. 1973. Vol. 55, N 1. P. 245–248.

Brant J. A., Labille J., Bottero J. Y. et al. Characterizing the impact of preparation method on fullerene cluster structure and chemistry // Langmuir. 2006. Vol. 22. P. 3878–3885.

Cioffi C. T., Palkar A., Melin F. et al. A carbon nanocation-ferrocene donor-acceptor system: synthesis, characterization and properties // Chemistry. 2009. Vol. 15, N 17. P. 4419–4427.

Colvin V. L., Kulinowski K. M. Nanoparticles as catalysts for protein fibrillation // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2007. Vol. 104. P. 8679–8680.

Fei L., Perrett S. Effect of Nanoparticles on Protein Folding and Fibrillogenesis // Int. J. Mol. Sci. 2009. Vol. 10. P. 646–655.

Gonzalez G., Gilles-Gonzalez M. A., Rybak-Akimova E. V. et al. Mechanisms of Autoxidation of the Oxygen Sensor FixL and Aplysia Myoglobin: Implications for Oxygen-Binding Heme Proteins // Biochemistry. 1998. Vol. 37. P. 10188–10194.

Kumar V., Kumari A., Guleria P. et al. Evaluating the toxicity of selected types of nanochemicals // Rev. Environ. Contam. Toxicol. 2012. Vol. 215. P. 39–121.

Norde W., Giacomelli C. E. BSA structural changes during homomolecular exchange between the adsorbed and the dissolved states // J. Biotechnol. 2000. Vol. 79, N 3. P. 259–268.

Panessa-Warren B. J., Maye M. M., Warren J. B. et al. Single walled carbon nanotube reactivity and cytotoxicity following extended aqueous exposure // Environ Pollut. 2009. Vol. 157, N 4. P. 1140–1151.

Rozhkova N. N., Griбанov A. V., Khodorkovskii M. A. Water mediated modification of structure and physical chemical properties of nanocarbons // Diamond and Related Materials. 2007. Vol. 16. P. 2104–2108.

Sayes C. M., Marchione A. A., Reed K. L. et al. Comparative Pulmonary Toxicity Assessments of C<sub>60</sub> Water Suspensions in Rats: Few Differences in Fullerene Toxicity in Vivo in Contrast to in Vitro Profiles // Nano Letters. 2007. Vol. 7, N 8. P. 2399–2406.

Shang W., Nuffer J., Muniz-Papandrea V. et al. Cytochrome c on Silica Nanoparticles: Influence of Nanoparticle Size on Protein Structure, Stability, and Activity // Small. 2009. Vol. 5, N 4. P. 470–476.

Shikama K. Autoxidation of oxymyoglobin: a meeting point of the stabilization and the activation of molecular oxygen // Biol. Rev. Camb. Philos. Soc. 1990. Vol. 65. P. 517–527.

## **СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:**

### **Горюнов Андрей Сергеевич**

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

### **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

### **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