



Обзорная статья

## ОЦЕНКА РИСКА НИКЕЛЬСОДЕРЖАЩИХ НАНОМАТЕРИАЛОВ: ИДЕНТИФИКАЦИЯ ОПАСНОГО ФАКТОРА

**И.В. Гмошинский<sup>1</sup>, С.А. Хотимченко<sup>1,2</sup>**<sup>1</sup>Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи, Россия, 109240, г. Москва, Устьянский проезд, 2/14<sup>2</sup>Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Россия, 119435, г. Москва, ул. Большая Пироговская, 2, стр. 4

*Наночастицы (НЧ) никеля (Ni) и его соединений привлекают большое внимание с точки зрения перспектив их инновационного использования в качестве катализаторов, материалов для электротехники, электроники и фотоники, лекарственных и диагностических препаратов, пестицидов. Производство этих веществ в наноформе имеет широкие перспективы в ближайшем будущем, что влечет за собой усиление нагрузки этими наноматериалами на организм человека. При этом Ni и его соединения даже в формах традиционной дисперсности высокотоксичны для человека. Механизмы их токсичности состоят в развитии окислительного стресса, нарушении функции клеточных мембран и митохондрий, экспрессии ядерных факторов транскрипции, отвечающих за развитие апоптоза, каспаз, а также протоонкогенов. Ведущую роль в токсичности Ni-содержащих наноматериалов играет, по-видимому, эмиссия из них ионов тяжелого металла Ni<sup>++</sup>, обладающего проокислительной активностью, влияющего на активность ферментов и экспрессию генов. В модельных экспериментах in vitro с использованием культур клеток, являющихся морфологическими и функциональными аналогами клеток эпителия дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта, печени, почек, нервной системы, для Ni-содержащих наноматериалов отмечено цитотоксическое действие, способность провоцировать окислительный стресс, влиять на экспрессию белков апоптоза и ядерных транскрипционных факторов, вызывать апоптоз и некроз. Имеются данные, свидетельствующие о наличии у Ni-содержащих наноматериалов злокачественного трансформирующего действия in vitro. В совокупности это указывает на соединения никеля в наноформе как новый опасный фактор, требующий оценки создаваемых им рисков для здоровья работников предприятий, населения и потребителей продукции.*

*В обзоре проанализированы источники литературы по вопросу о цитотоксичности Ni-содержащих наноматериалов и механизмах их действия на молекулярно-генетическом и клеточном уровне за период преимущественно с 2011 г.*

**Ключевые слова:** никель, оксид никеля, наночастицы, цитотоксичность, генотоксичность, трансформирующая способность, апоптоз, экспрессия генов, оценка риска.

Наночастицы (НЧ) никеля Ni и его соединений привлекают большое внимание с точки зрения перспектив их инновационного использования в технике, при производстве потребительской продукции и в медицине. Уже с начала XX в. металлический Ni используется в качестве катализатора при гидрогенизации пищевых и технических жиров [1]. Основным недостатком такого технологического процесса является побочное образование значительных количеств транс-изомеров ненасыщенных жирных кислот вследствие неравновесного характера процессов гидрирования, определяемого кинетическими закономерностями диффузии молекул субстрата к поверхности никелевого катализатора. В значитель-

ной степени снизить влияние этих эффектов можно с использованием катализатора на основе иммобилизованных на инертных носителях (диоксиде кремния, углероде) никелевых НЧ [2]. Сообщается о синтезе широкого ассортимента такого рода катализаторов, содержащих НЧ размером как менее 10 нм (так называемые кластерные частицы), так и существенно большего диаметра [3]. Наноструктурные Ni-содержащие катализаторы находят применение и в технологиях тонкого органического синтеза, в том числе в фармацевтической промышленности [4].

В электронике, электротехнике и фотонике применение НЧ Ni определяется их уникальными магнитными и электрохимическими свойствами.

© Гмошинский И.В., Хотимченко С.А., 2021

**Гмошинский Иван Всеволодович** – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий (e-mail: gmosh@ion.ru; тел.: 8 (495) 698-53-71; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3671-6508>).

**Хотимченко Сергей Анатольевич** – член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий (e-mail: hotimchenko@ion.ru; тел.: 8 (495) 698-52-35; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5340-9649>).

Так сообщается о создании элементов памяти на основе сконструированных из НЧ Ni наноклеец [5]. Гетероструктуры на основе НЧ Ni, его оксида (NiO), а также углеродных нанотрубок и графена предлагаются в качестве материала электродов в обладающих высокой электрической емкостью перезаряжаемых аккумуляторах [6], многослойных керамических суперконденсаторах [7] и солнечных батареях [8]. Разработаны высокочувствительные магнитные и химические сенсоры на основе Ni-содержащих наночастиц [2], находящие применение в медицинской диагностике при выявлении опухолевых клеток [9]. НЧ никеля могут преднамеренно вводиться или случайно присутствовать в косметических средствах, включая тональную косметику и красители [10]. Терапевтическое использование НЧ Ni и его сплавов с медью включает контролирующую магнитную гипертермию и тераностику [11]. Наконец, имеются разработки по использованию НЧ Ni и его соединений, получаемых биотехнологическим путем, в инсектицидах, предназначенных для контроля численности комаров-переносчиков инфекционных болезней [12, 13].

Годовое производство НЧ Ni и его соединений только в США оценивалось в 2019 г. величиной 20 т и имело тенденцию к дальнейшему увеличению [14].

В совокупности все эти данные показывают, что НЧ Ni и его соединений относятся к нанотехнологической продукции, производство которой имеет широкие перспективы роста в ближайшем времени, что с неизбежностью приведет к усилению нагрузки этими наноматериалами как на организм человека, так и на экосистемы [15]. Возникающие при этом возможные риски для здоровья связаны с тем, что Ni и его соединения даже в формах традиционной дисперсности высокотоксичны. Многие экспериментальные и эпидемиологические исследования показали, что металлический никель и его соединения являются канцерогенами (обзор ранних работ см. в [16]). На основании этих данных IARC классифицировал соединения Ni (II) как группу 1 (канцерогенные для человека), тогда как металлический Ni классифицируется как группа 2B (возможно, канцероген для человека). Известна также высокая аллергенность соединений Ni [17]. После публикации в 2008 г. статьи Kornick и Zug по вопросу эпидемиологии никелевого дерматита [18] никель был признан «аллергеном года» Американским обществом по изучению контактного дерматита.

Существуют опасения, что из-за своего очень небольшого размера НЧ Ni и его соединений могут с гораздо большей легкостью попадать в организм через дыхательные пути, желудочно-кишечный тракт или через кожу, чем их аналоги макроскопи-

ческой формы дисперсности, что может привести к усугублению перечисленных вредных эффектов. Наибольшую озабоченность вызывают наноформы Ni как вредные факторы на производстве (в химической, металлургической, электротехнической и других отраслях промышленности), где риски, связанные с экспонированием работников предприятий, являются наибольшими [15, 19].

В совокупности это свидетельствует о необходимости оценки потенциальных рисков для здоровья человека соединений Ni в наноформе как самостоятельных вредных факторов. В соответствии с используемой в России методикой<sup>1</sup> необходимыми предварительными стадиями в оценке риска являются идентификация опасного фактора и оценка зависимости «доза – ответ», то есть количественная характеристика опасности. Первое из этих звеньев в оценке риска включает анализ механизмов токсического действия, проявлений токсичности и биомаркеров, позволяющих идентифицировать факт неблагоприятного влияния изучаемого вещества на организм.

**Цель настоящего обзора** – анализ и обобщение данных об идентификации Ni-содержащих наноматериалов как опасных факторов на основе результатов экспериментов *in vitro* и о предполагаемых молекулярно-генетических, биохимических и цитологических механизмах их токсического действия. При этом основное внимание уделяется данным, опубликованным в течение последнего десятилетия (в период с 2011 г.) и представленным в источниках, удовлетворяющих требованиям научной достоверности и полноты и содержащимся в международных реферативных базах данных PubMed, WoS и Scopus.

**Цитотоксичность Ni-содержащих наноматериалов.** Под «цитотоксичностью» в литературе понимается способность веществ снижать жизнеспособность клеток и оказывать на них повреждающее действие на морфологическом и метаболическом уровне при инкубации *in vitro*. Применительно к НЧ Ni и его соединениями такие исследования интенсивно проводятся с начала 2000-х гг. [20]. Исследования цитотоксичности не дают прямого ответа на вопрос о величине токсических доз для организма в целом, однако они полезны, во-первых, как средство скрининга потенциально токсичных наноматериалов и, во-вторых, являются ценным источником информации о молекулярных механизмах и биомаркерах их действия на клетки и, следовательно, на организм в целом.

Большинство токсикологических исследований *in vitro* выполняются на неограниченно делящихся в культуре клетках, которые, как правило, являются опухолевыми. Тем не менее все эти клетки имеют аналоги среди нормальных клеток органов и тканей,

<sup>1</sup> Р 2.1.10.1920-04. Руководство по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду: руководство. – М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2004. – 143 с.

с которыми они сходны по своим морфофункциональным, геномным и метаболомным параметрам. Поэтому уместно рассмотреть имеющиеся данные в последовательности, отражающей действие Ni-содержащих НЧ на клетки органов, являющихся мишенями действия наноматериала в условиях реальной экспозиции организма.

**Клетки органов дыхания.** НЧ металлического Ni и NiO, но не микрочастицы (МЧ) Ni захватывались эпителиальными клетками легких человека линии H460 и клетками первичной культуры эпителия бронхов человека, причем из поглощенных частиц обоих видов происходило высвобождение ионов Ni<sup>++</sup> [21]. НЧ Ni, NiO и раствора NiCl<sub>2</sub> вызывали стабилизацию и ядерную транслокацию индуцируемого гипоксией транскрипционного фактора HIF-1 $\alpha$ , что приводило к повышению содержания его мишени NRDG1 (Cap43). Микрочастицы (МЧ) Ni не оказывали такого действия, тогда как активация HIF-1 $\alpha$  под действием НЧ была даже более выражена, чем под действием солевой формы. НЧ NiO были в равной степени токсичными для клеток обеих линий, микрочастицы Ni были нетоксичными, а токсичность НЧ Ni была промежуточной. Во всех случаях токсичности наблюдалась активация каспаз и поли (АДФ-рибоза) полимеразы, что указывает на развитие апоптоза.

В культуре эпителиоцитов бронхов человека HEP-2 и клеток рака молочной железы MCF-7 НЧ NiO проявляли цитотоксичность с развитием окислительного стресса, истощением количества глутатиона и накоплением липоперексидов. Наблюдалась активация каспазы-3, фрагментация ДНК, экспрессия маркеров апоптоза. Действие НЧ на клетки могло быть заблокировано добавлением куркумина [22]. В клетках легочного эпителия хомяка V79 при действии НЧ NiO размером 30 нм в концентрации 250 и 2500 мкг/мл наблюдали появление микроядер. В комет-тесте фрагментация ДНК наблюдалась при концентрации НЧ 62 мкг/мл и выше [23].

Изучение токсичности НЧ NiO для двух линий клеток легочного эпителия человека в дозах от 20 до 100 мкг/мл показало, что уже через 45 мин экспозиции возрастала концентрация реакционноспособных форм кислорода (РСК), а через 24 ч происходила гибель значительного числа клеток путем как некроза, так и апоптоза [24]. Это сопровождалось образованием больших количеств интерлейкинов IL-6 и IL-8, опосредуемым сигнальным путем MAPK киназы, запускающим активность транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B. Отмечалось нарушение клеточного цикла, генотоксический эффект, повреждение ДНК. Перечисленные эффекты наблюдались как в A549-клетках, активно захватывающих НЧ, так и в BEAS-2B, для которых их эндоцитоз не был характерным.

С использованием клеточной линии A549 в работе [25] НЧ Ni, NiO и МЧ Ni дозозависимо вызывали изменения активности митохондрий и увеличивали пролиферацию клеток. При обработке клеток

A549 НЧ Ni было обнаружено снижение жизнеспособности и повреждение ДНК, причем в сопоставимых по содержанию Ni дозах металлические НЧ обладали большей генотоксичностью, чем МЧ, и вызывали большую активацию онкогенов [26]. Экспонирование клеток A549 сублетальными дозами НЧ NiO сопровождалось признаками эпителиально-мезенхимального перехода, опосредуемого активацией TGF- $\beta$ 1/Smads – сигнального пути. Этому соответствовало усиление экспрессии коллагена 1-го типа, TGF- $\beta$ 1, p-Smad2, p-Smad3,  $\alpha$ -актина, vimentin, E-cadherin и фибронектина, то есть изменения, характеризующие на тканевом уровне развитие фиброза. Вещество SB431542, являющееся антагонистом TGF- $\beta$ 1, обладало способностью блокировать эти изменения [27]. Под действием НЧ NiO (диаметром 20 нм) в клетках A549 возрастала экспрессия гемоксигеназы-1 (HO-1) и сурфактантного белка-D, то есть генов, регулируемых индуцируемой гипоксией транскрипционным фактором HIF-1 $\alpha$  [28]. Эти данные совпали с полученными на альтернативной клеточной модели в исследовании [21].

Окислительный стресс, индуцируемый НЧ NiO в клетках A549, мог быть частично заблокирован эфирным маслом из *Pistacia lentiscus*, содержащим терпеноиды [29].

Под воздействием НЧ NiO в концентрациях 5, 10 и 20 мкг/мл в клетках бронхолегочного эпителия человека BEAS-2B наблюдали снижение экспрессии деацетилазы гистонов SIRT1, что вызывало гиперацетилирование гена p53 и гиперэкспрессию Bax (Bcl-2-ассоциированный X белок). Эффект подавления SIRT1 мог быть снят под действием ресвератрола. Эти данные показывают, что SIRT1 может быть одной из ключевых молекул в развитии клеточной токсичности Ni-содержащих наноматериалов [30]. При культивировании клеток этой линии в течение шести месяцев с очень низкими дозами (0,5 мкг/мл по Ni) НЧ Ni, NiO или солью NiCl<sub>2</sub> наблюдали значительные изменения в транскриптоме при сохранении видимой жизнеспособности клеток [31]. Наибольшее число (197) генов, ответивших изменением экспрессии, отмечено в случае солевой формы. При воздействии всех форм Ni изменялась экспрессия генов Ca-связывающих белков *S100A14* и *S100A2*, а также *TIMP3*, *CCND2*, *EPCAM*, *IL4R* и *DDIT4*. Биоинформатический анализ позволил выявить в качестве мишеней наноформ Ni сигнальные пути цитокинов IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  и VEGF-A.

НЧ Ni и NiO эффективно захватывались клетками BEAS-2B в культуре [32]. В отличие от этого, ионы Ni<sup>++</sup> мало проникали в клетки. Наноформы Ni, NiO и соль Ni вызывали хромосомные аберрации, разрывы ДНК и накопление внутриклеточных РСК в экспонированных клетках. Это сопровождалось ростом уровня внутриклеточного Ca, причем добавление хелатирующих агентов снижало проявления генотоксичности. Генотоксичность и мутагенность НЧ Ni (около 100 нм) и NiO (около 50 нм)

в сравнении с солью  $\text{NiCl}_2$  была изучена для клеток бронхиального эпителия человека HBEC с помощью комет-теста и окрашивания на  $\gamma\text{-H2AX}$  (H2A histone family member X). Оба вида НЧ в значительной степени агрегировали в культуральной среде. Показано возрастание числа разрывов ДНК под действием НЧ NiO и, в меньшей степени, – НЧ Ni; для растворимой соли Ni подобные эффекты отсутствовали при сопоставимых дозах [33].

*Клетки органов ЖКТ.* Эпителий кишки является одной из первичных мишеней воздействия НЧ при их пероральном поступлении. В работе [34] токсичность НЧ NiO размером 15 нм была выявлена в культуре клеток человека Caco-2, являющихся аналогом энтероцитов тонкой кишки. НЧ вызывали снижение на 50 % выживаемости клеток в концентрации 352 мкг/мл, окислительный стресс и повреждение ДНК при 30–150 мкг/мл. Основным механизмом клеточной гибели был апоптоз.

При действии НЧ NiO диаметром 44 нм на клетки HepG2 человека, являющиеся аналогами гепатоцитов, отмечено дозозависимое развитие окислительного стресса и гибель клеток, образование микроядер, конденсация хроматина, экспрессия Вах и каспазы-3, подавление Bcl-2, что указывает на наличие апоптоза. Эти явления ингибировались аскорбиновой кислотой [35]. Ту же линию клеток в работе [36] обрабатывали НЧ металлического Ni диаметром 28 нм в концентрации 25–100 мкг/мл, что вызывало дозозависимый окислительный стресс. При сублетальной нагрузке НЧ выявлено большое количество клеток в subG1 фазе клеточного цикла, что отвечает запуску апоптоза. Отмечалась экспрессия каспазы-3 и апоптотическая фрагментация ДНК, повышение экспрессии p53 и отношения Вах/Bcl-2 с одновременной потерей митохондриального мембранного потенциала, что указывает на развитие апоптоза клеток по «митохондриальному» пути.

Анализ в клетках HepG2 повреждения ДНК с помощью комет-теста показал 26-кратное возрастание фрагментации ДНК при концентрации НЧ NiO 0,1 мг/мл. Одновременно проточная цитометрия выявила повышение концентрации РСК. Было отмечено усиление экспрессии супероксиддисмутазы (СОД), а также p53, Вах и Bcl2 [37]. Транскриптомный анализ с использованием тотального РНК-секвенирования показал [38], что изменения в экспрессии генов клеток HepG2 начинают происходить при содержании НЧ NiO более 5 мкг/мл. Экспрессия связанных с гипоксией HIF-1 $\alpha$  и микро-РНК (miR)-210 повышалась при 25–100 мкг/мл этих НЧ, причем даже при концентрациях, не вызывавших видимого цитотоксического эффекта, наблюдались разнообразные изменения в транскрипте, включая активацию метаболических путей гликолиза, синтеза глутатиона, лизосомального пищеварения и аутофагии. Повышались внутриклеточные уровни NO, кальция, активность эстеразы и отмечалось нарушение мембранного потенциала митохондрий. Дисре-

гуляция клеточного цикла выражалась в появлении 30,5 % subG1 апоптотического пика. Таким образом, цитотоксичность НЧ NiO для клеток печени проявляется, преимущественно, через гипоксию и окислительный стресс, вызывающий транскриптомные изменения, апоптоз и фрагментацию ДНК.

На возможное фиброгенное действие НЧ NiO на клетки печени указывают данные работы [39], в которой при действии этих НЧ в концентрации 100 мкг/мл на клетки HepG2 отмечалась повышенная экспрессия TGF- $\beta$ 1, p-Smad2, p-Smad3,  $\alpha$ -актина гладких мышц, металлопротеиназы матрикса (ММП) изоформы 9, тканевого ингибитора металлопротеиназы (TIMP)-1 и сниженная – E-cadherin и Smad7.

В сравнительном аспекте цитотоксичность НЧ Ni, NiO и Ni(OH) $_2$  для бронхоальвеолярных клеток A549 и гепатоцит-подобных клеток HepG2 изучена в единственном исследовании [40]. НЧ металлического Ni были достоверно более токсичными для первой, чем для второй из этих линий, для оксидных НЧ подобных различий не наблюдалось. Основными механизмами цитотоксичности были окислительный стресс, нарушение митохондриального мембранного потенциала и индукция синтеза каспазы-3, вследствие чего развивался апоптоз. Цитотоксичность различных видов НЧ, выраженная через массу наноматериала, коррелировала с их удельной площадью поверхности и растворимостью в биологическом окружении.

*Клетки почек.* В эксперименте на клетках эпителия почечных канальцев NRK-52E НЧ NiO средним размером 10–20 нм в дозе до 500 мкг/мл захватывались клетками и дозозависимо вызывали повышение уровней малонового диальдегида, продукта окислительной деструкции ДНК 8-оксо-2-дезоксигуанозина (8-охо-G), карбонилированного белка и истощение запасов глутатиона. При концентрации более 290 мкг/мл эти НЧ вызывали гибель более 50 % клеток по пути как апоптоза, так и некроза [41].

*Клетки кожи.* НЧ металлического Ni были цитотоксичными и генотоксичными для эпидермальных клеток кожи человека линии A431 в концентрациях от 2 до 20 мкг/мл и приводили к апоптозу и повреждению ДНК [42]. Гибель клеток происходила при явлениях окислительного стресса, истощения запасов глутатиона и активации каспазы-3, причем это действие ингибировалось N-ацетилцистеином, что указывает на возможную протективную функцию клеточных тиолов и, в частности, глутатиона в отношении токсических эффектов НЧ. При действии на эпидермальные клетки мыши линии JB6 НЧ Ni в тесте восстановления тетразолиевого красителя (МТТ) были более цитотоксичными в сопоставимой концентрации, чем соответствующие МЧ. Обе формы Ni вызывали апоптоз, однако активность НЧ была выше [43]. В этой же линии клеток НЧ Ni вызывали экспрессию активаторного белка-1 (AP-1) и NF- $\kappa$ B, причем эти явления ингибировались эпигаллокатехин-3-галлатом (EGCG). Было показано, что

EGCG ослаблял цитотоксичность НЧ за счет подавления ответа MAPK-сигнального пути [44].

**Клетки иммунной системы.** В работе [45] изучена цитотоксичность НЧ NiO в культуре лимфоцитов периферической крови человека. Размер первичных НЧ составил 18 нм, они сильно агрегировали в водных средах. IC50 через 24 ч экспозиции составила 24 мкг/мл. Комет-тест и анализ микроядер выявили высокую генотоксичность НЧ. Основным механизмом гибели лимфоцитов был апоптоз, вызываемый продукцией PCK и липоперекисей.

В первичной культуре моноцитов мышей интактные и оксидно пассивированные НЧ Ni вызывали усиление экспрессии miR-21, MMP-2, MMP-9, а также TIMP-1 и TIMP-2. Эти эффекты не наблюдались в клетках от мышей с нокаутом гена miR-21, а также в клетках мышей дикого типа под действием НЧ Ni, покрытых слоем углерода. Полученные данные указывают на важную роль miR-21 в индукции воспалительного ответа на никелевые НЧ [46].

**Клетки системы репродукции.** На первичной культуре стволовых клеток Серголи семенников крысы показано, что НЧ Ni стимулировали апоптоз с участием генов *Igfbp3*, некодирующей РНК *LOC102551356* и митохондриального механизма. *Igfbp3* рассматривается как таргетный ген в p53-опосредуемом механизме апоптоза [47]. Действие НЧ Ni на клетки линии GC-1, являющиеся аналогами клеток сперматогоний мыши, сопровождалось изменением ультраструктуры, задержкой клеточного цикла в G1-фазе и активацией апоптоза по механизму ингибирования PI3K/AKT/mTOR сигнального пути [48].

**Эмбриональные клетки.** В работе [33] наблюдали генотоксичность НЧ Ni, которая проявлялась в виде разрывов однонитевой ДНК, в мышечных эмбриональных стволовых клетках линии mES с использованием Hprt-теста, основанного на мутации репортерного гена *HPRT* (гипоксантин фосфорибозилтрансфераза), а также в шести линиях эмбриональных стволовых клеток мыши, реконструированных таким образом, чтобы отвечать флуоресценцией на развитие ряда путей генотоксичности и злокачественной трансформации (так называемая система ToxTracker). Интересно, что в этих системах, НЧ Ni обладали более выраженным генотоксическим действием по сравнению с НЧ NiO и раствором хлорида Ni.

**Клетки соединительной ткани.** Генотоксичность и мутагенность НЧ Ni для линии клеток фибробластов легких китайского хомячка в системе воздействия на поверхности раздела «воздух – жидкость» изучена в работе [49]. Наблюдалась гибель более 50 % клеток после 48 ч воздействия при количествах НЧ 0,15 и 0,32 мкг/см<sup>2</sup> поверхности культуры при увеличении числа разрывов цепей ДНК, которое значительно усиливалось после воздействия ингибитора репарации однонитевой ДНК.

**Нейроны.** НЧ NiO средним диаметром 15,0 нм захватывались дозозависимым образом нейронопо-

добными клетками SH-SY5Y и вызывали 50 % гибель клеток в дозе 229 мкг/мл. Отмечались морфологические изменения, 3–11-кратное возрастание фрагментации ДНК и 80–99%-ный апоптоз на фоне окислительного стресса [50]. В работе [51] в клетках этой же линии указанные НЧ дозозависимо вызывали апоптоз. Для объяснения механизма действия Ni-содержащих НЧ на нейроны было проведено термодинамическое моделирование, показавшее взаимодействие НЧ NiO с tau-белком. Результатом этого явилась экспрессия гена апоптоза *Bax* и повышение отношения *Bax/Bcl-2*, возрастание активности лактатдегидрогеназы и каспаз 3 и 9. В дальнейших исследованиях [52] показано, что в высоких дозах НЧ NiO вызывали окислительный стресс и апоптоз SH-SY5Y-клеток, тогда как при использовании нелетальных доз преобладало взаимодействие наноматериала со структурами tau-белка с увеличением доли гидрофобного tau и образовании его аморфных агрегатов.

Изучение в сравнительном аспекте действия НЧ NiO и Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub> с диаметрами в интервале 12–24 нм на нейрональные клетки человека было проведено в работе [53]. Для анализа множественных данных, характеризующих цитотоксичность, был применен статистический подход «поверхности отклика» (response surface methodology), что, по мнению авторов, позволяло осуществить экстраполяцию полученных результатов на случай действия НЧ *in vivo*. Было показано, что при действии в культуре нейронов НЧ NiO были менее токсичными для клеток, чем НЧ Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, однако при совместном введении вклад НЧ NiO в цитотоксичность был преобладающим. Проведенный авторами статистический анализ выявил разнообразие комбинированных токсических воздействий, зависящих от природы, размера и концентрации частиц. Одним из основных факторов, снижающих цитотоксичность, была растворимость НЧ в биологическом окружении, которая уменьшалась при добавлении к культурам клеток фетальной телячьей сыворотки.

**Трансформирующая активность *in vitro*.** Данные, полученные в ряде рассмотренных выше работ, указывают на возможность протекания процессов, сходных со злокачественной трансформацией, под воздействием НЧ Ni и его соединений. Так, по мнению авторов исследования [21], вызываемая НЧ Ni и NiO устойчивая активация в клетках HIF-1 $\alpha$  сигнального пути может приводить к злокачественной трансформации с последующим формированием опухолей *in vivo*. На линии эпидермальных клеток мыши JB6 [54] показано, что под действием НЧ Ni диаметром 50 нм отмечается активация синтеза промотера опухолевой трансформации activator protein-1 и NF- $\kappa$ B, а также высокий уровень экспрессии R-Ras, c-мус, C-Jun, p65 и p50, что не компенсируется относительно гораздо меньшей экспрессией проапоптотического фактора p53. С использованием метода культивирования на мягком

агаре авторы работы установили, что для клеток, обработанных НЧ Ni, характерно образование колоний, рассматриваемое как аналог злокачественного роста. Интересно, что при изученном в этой же работе действии на клетки МЧ Ni микронного размера экспрессия p53 являлась преобладающим событием. Выявленные в клетках эпителия бронхов человека, обработанных НЧ Ni и NiO, многочисленные разрывы ДНК также рассматриваются как предпосылка злокачественной трансформации [33]. Интерпретация полученных в системах *in vitro* фактов затрудняется тем обстоятельством, что в большинстве работ одновременно с активацией онкогенов наблюдали экспрессию проапоптотических факторов, включая Akt-киназу и p53 под действием Ni-содержащих наноматериалов [43]. Возможные расхождения в оценках генотоксичности и трансформирующей способности наночастиц Ni в различных тест-системах *in vitro* могут быть связаны и с различиями между используемыми клеточными линиями в параметрах поглощения НЧ клетками. Механизмами захвата НЧ Ni и его соединений клетками являются, предположительно, макропиноцитоз или клатрин-зависимый эндоцитоз [55]. Поглощение частиц может зависеть от концентрации ионов Ca<sup>++</sup> в среде культивации, а также от размера, заряда и свойств поверхности частиц.

Кроме того, следует иметь в виду, что подавляющее большинство данных о генотоксичности и «канцерогенной» активности Ni-содержащих наноматериалов были получены на клеточных линиях, которые уже были в той или иной степени трансформированы по сравнению со своими первичными аналогами. Таким образом, вопрос о наличии у НЧ Ni и NiO канцерогенного действия, по-видимому, не может быть решен однозначно с привлечением одних только данных, полученных на клеточных культурах.

**Молекулярные и клеточные механизмы цитотоксичности.** Полученные в исследованиях *in vitro* данные позволяют сделать содержательные выводы о молекулярных и клеточных механизмах цитотоксичности Ni-содержащих НЧ.

**Окислительный стресс.** Окислительный стресс развивается вследствие дисбаланса между окислением (преимущественно ферментативным) органических субстратов в процессах метаболизма и активностью антиоксидантной системы. При этом синтезируется избыточное количество РСК, превышающее способность организма к их элиминации, что вызывает необратимое окислительное повреждение белков и липидов мембран. Избыток РСК может повредить митохондрии, которые, вследствие этого, сами могут усилить накопление РСК, то есть окислительный стресс способен развиваться по механизму положительной обратной связи с активизацией в конечном счете митохондриального пути апоптоза [20].

Окислительный стресс рассматривается как один из основных видов нанотоксичности, реали-

зуемых в случае большого числа искусственных наноматериалов. Для тех из них, которые обладают относительно высокой устойчивостью и низкой растворимостью в биологических средах (например, НЧ оксидов Si, Ti, Ce, Zr, Al), его первичным пусковым механизмом является ферментативная каталитическая генерация РСК на межфазной границе НЧ со средой [56]. В случае углеродных нанотрубок преобладает, по-видимому, развитие окислительного стресса вследствие гиперпродукции окислителей клетками (в первую очередь макрофагами), являющимися первичными мишенями действия наноматериала. Для Ni-содержащих НЧ, с учетом их довольно высокой растворимости, второй из указанных механизмов сочетается, по-видимому, с влиянием ионов Ni на ферментативные системы, отвечающие за баланс синтеза и элиминации РСК [20].

Повреждение клеток и их мембран под действием РСК может быть основным механизмом токсичности НЧ Ni, благодаря тому, что Ni<sup>++</sup> способен связываться с аминокислотами, полипептидами и ферментами, провоцируя синтез РСК [57]. На роль окислительного стресса в цитотоксичности НЧ Ni и его соединений указывают и многочисленные факты ингибирования их действия при введении антиоксидантов [29, 35, 42, 44].

**Аномотоз.** Апоптоз представляет собой запрограммированную гибель клеток с очень сложным механизмом, включающим действие семейства цистеиновых протеаз, белков p53, Bcl-2 и других. Выделяют два основных пути апоптоза, а именно путь рецептора смерти и митохондриальный путь [20]. Первый из них в основном заключается в том, что апоптотический фактор Fas (CD95) и Fas-ассоциированный белок домена смерти (FADD) образуют Fas-ассоциированный сигнальный комплекс клеточной смерти (DISC) с расщеплением lamin A и β-актина, которые могут связываться и активировать каспазу-8 и последующую каспазу-3. Митохондриальные пути апоптоза включают каспазо-зависимый и каспазо-независимый путь. Механизм первого из них состоит в том, что факторы Bax и Bak связываются с мембраной митохондрий, высвобождая из них цитохром С. Он, в свою очередь, образует апоптотические комплексы с адаптерным белком Araf-1 и каспазой-8, которые затем активируют каспазу-3, запуская апоптоз. Механизм независимого от каспаз апоптоза заключается в том, что фактор, индуцирующий апоптоз (AIF), непосредственно высвобождается митохондриями в цитоплазму, откуда проникает в ядро, где происходит разрушение ДНК [16]. Апоптоз, индуцированный НЧ Ni и его соединений, включает как путь, опосредованный рецептором смерти, так и пути, опосредованные митохондриями. Это следует из данных о том, что в яичниках самок крыс НЧ Ni одновременно увеличивают уровни проапоптотических факторов, таких как каспаза-3, каспаза-8, каспаза-9, Fas, Bax, Bid, цитохром С и AIF, и при этом снижают уровни антиапопто-

ческого фактора Bcl-2 [58]. По данным работы [43] цитотоксичность НЧ Ni в основном развивается вследствие апоптоза, обусловленного рецептором смерти, а именно по пути активации Fas. Однако в этой же работе было показано, что НЧ Ni активируют Bcl-2, вследствие чего цитохром С не высвобождается из митохондрий в цитоплазму, и данный путь развития апоптоза, по-видимому, не реализуется.

Сходные результаты получены в работах [54, 59], где было показано, что высвобождение цитохрома С под действием НЧ Ni ингибируется Bcl-2. Как известно, Bcl-2 является разновидностью протоонкогена, который может ингибировать апоптоз [20]. Таким образом, НЧ Ni могут парадоксальным образом не только стимулировать, но и ингибировать апоптоз за счет активации Bcl-2, и за счет этого индуцировать клеточный «канцерогенез». Было также обнаружено [54, 59], что НЧ Ni подавляют экспрессию проапоптотического фактора p53. Если активация p53 снижена, апоптоз, опосредованный каспазой-8 и каспазой-3, ингибируется, что может в конечном итоге приводить к возникновению опухолей.

**Повреждение ДНК и генотоксичность.** Как известно, клеточный цикл делится на четыре фазы, а именно профазу синтеза ДНК (фаза G0/G1), фазу синтеза ДНК (фаза S), анафазу синтеза ДНК (фаза G2) и фазу деления клетки (фаза M). Фаза G0/G1 – это ключ к нормальному началу клеточного цикла. Если фаза G0/G1 заблокирована, клетки не перейдут на стадию митоза и пролиферации, что в конечном итоге приведет к апоптозу. В клетках эпидермиса человека фаза G0/G1 блокируется НЧ Ni при 2,5 и 5,0 мкг/мл, что влечет за собой апоптоз, в то время как фаза G2/M блокируется НЧ Ni при 7,5 и 10,0 мкг/мл, что приводит к появлению большого числа разрывов ДНК [44]. Эти результаты позволяют понять, почему низкая концентрация НЧ Ni способствует апоптозу, в то время как высокая концентрация НЧ Ni повреждает клеточную ДНК и приводит к мутагенезу с возможностью дальнейшей злокачественной трансформации.

**МАРК-сигнальный путь.** Путь передачи сигнала МАРК, также известный как путь митоген-активируемой протеинкиназы, включает три параллельных пути, а именно путь ERK, путь JNK/SAPKK и путь P38МАРК. Далее по ходу пути передачи сигнала МАРК находятся два фактора транскрипции: активаторный белок-1 (AP-1) и ядерный фактор- $\text{jB}$  (NF- $\text{jB}$ ), которые участвуют в регуляции сразу многих важных процессов клеточной активности, таких как пролиферация, дифференцировка клеток и апоптоз. AP-1 представляет собой димер, состоящий из субъединиц c-Fos и c-Jun, а NF- $\text{jB}$  представляет собой димер, состоящий из субъединиц p65 и p50. Три пути МАРК играют важную роль в онкогенезе. ERK1/2 активируется путем фосфорилирования, которое регулирует c-Fos, c-myc и C-Jun, тем самым повышая активность фактора транскрипции AP-1. Путем фосфорилирования также могут быть активированы конечные кина-

зы JNK, фосфорилирующие C-Jun и далее AP-1. Фосфорилирование P38МАРК приводит к деполимеризации I $\text{jB}$  и NF- $\text{jB}$ . Под действием НЧ Ni экспрессия белков R-Ras, c-myc, C-Jun, p65 и p50 медленно повышается, и, по сравнению с МЧ Ni, НЧ с большей вероятностью повышают активность AP-1 и NF- $\text{jB}$  [54]. В концентрации свыше 2,5 мкг/мл НЧ Ni значительно повышали экспрессию фосфорилированного ERK1/2 (p-ERK1/2), фосфорилированного JNK (p-JNK) и фосфорилированного P38 (p-P38) [44]. Таким образом, НЧ Ni обладают способностью в модельных системах *in vitro* активировать AP-1 и NF- $\text{jB}$  посредством сигнального пути МАРК, что в конечном итоге может приводить к злокачественной трансформации.

**HIF-1 $\alpha$ -сигнальный путь.** Фактор-1, индуцируемый гипоксией (HIF-1) – это гетеродимер, состоящий из субъединиц HIF-1 $\alpha$  и HIF-1 $\beta$  [20]. HIF-1 $\alpha$  отвечает за активность комплекса и первоначально локализован в цитоплазме, тогда как HIF-1 $\beta$  экспрессирован как в цитоплазме, так и в нуклеоплазме, и его функция состоит в стабилизации активного комплекса. Транслокация HIF-1 $\alpha$  в ядро клетки под влиянием Ni-содержащих НЧ рассматривается рядом авторов как ключевое звено в проявлении ими фиброгенной, генотоксической и трансформирующей активности. По данным исследования на моноцитах человека, воздействие 10 и 30 мкг/мл НЧ Ni увеличивало содержание HIF-1 $\alpha$ , который участвовал в активации MMP-2 и MMP-9 и TIMP-1 [60]. Предполагается, что путь HIF-1 $\alpha$  участвует в аномальной экспрессии и изменениях активности MMP, индуцированных НЧ Ni. Помимо этого активация пути HIF-1 $\alpha$  может приводить к злокачественной трансформации клеток и возникновению опухолей. Известно, что НЧ Ni сильнее активируют путь HIF-1 $\alpha$  по сравнению с МЧ Ni или его растворимой солью [21].

Гипотетическая схема событий, развивающихся под воздействием Ni-содержащих наноматериалов на клеточном уровне, приведена на рисунке.

Наиболее информативные биомаркеры токсического действия Ni-содержащих наноматериалов, выявленные в экспериментах на клеточных культурах, представлены в таблице.

**Выводы.** Таким образом, анализ литературы показывает, что НЧ металлического Ni, его соединений (NiO, Ni(OH) $_2$ ), а также никелевые нановолокна и наностержни являются высокотоксичными. На уровне клеток первичными проявлениями токсичности являются, по-видимому, развитие окислительного стресса, нарушение функции клеточных мембран, митохондрий, экспрессия ядерных факторов транскрипции, отвечающих за развитие апоптоза, каспаз, а также ряда протоонкогенов. Для НЧ Ni и его соединений в различных дозах парадоксальным образом характерны как стимуляция апоптоза, так и его угнетение с провоцированием злокачественной трансформации клеток. В основе этих противоречивых эффектов, как можно предположить,

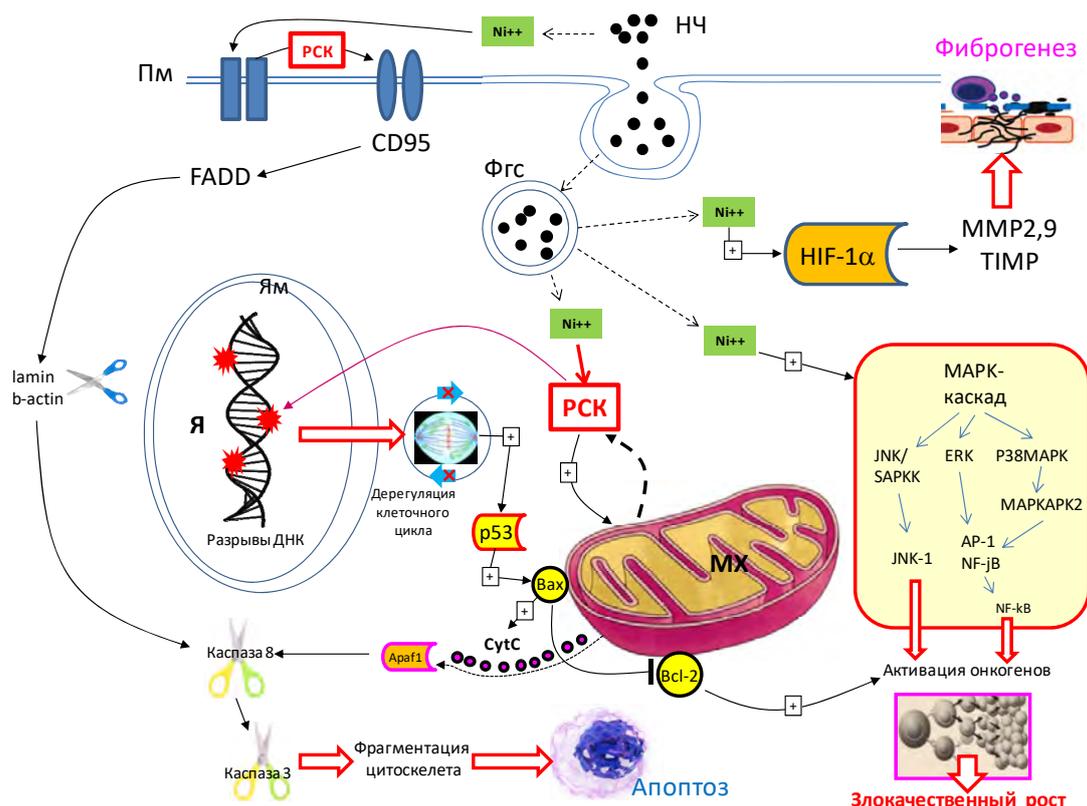


Рис. Основные контуры и мишени токсического действия НЧ Ni и его соединений на клеточном уровне: НЧ – наночастицы; Ni<sup>++</sup> – ионы никеля, Пм – плазматическая мембрана, Ям – ядерная мембрана, Я – ядро, МХ – митохондрии, Фгс – фагосома/фаголизосома; РСК – реакционноспособные формы кислорода; ⊕ – стимуляция; ⊖ – ингибирование

Наиболее значимые биомаркеры цитотоксического действия Ni-содержащих наноматериалов *in vitro*

| № п/п | Наименование                            | Сокращенное обозначение               | Клеточная модель (аналог) | Источник |
|-------|---|---------------------------------------|---------------------------|----------|
| 1     | Фактор, индуцируемый гипоксией          | HIF-1α                                | Клетки эпителия легкого   | [21]     |
| 2     | Член семейства N-мус-подавляемых белков | NRDG1                                 | То же                     | [21]     |
| 3     | Ядерный транскрипционный фактор         | NF-κB                                 | То же                     | [24]     |
| 4     | Интерлейкины                            | IL-1α, IL-1β, IL-2, IL-6, IL-8, INF-γ | То же                     | [24]     |
| 5     | Трансформирующий фактор роста           | TGF-β1                                | То же                     | [27]     |
| 6     | Гемоксигеназа 1                         | HO-1                                  | То же                     | [28]     |
| 7     | Ингибитор апоптоза                      | Bcl2                                  | Клетки печени,            | [35, 43] |
| 8     | Bcl-2-ассоциированный X-белок           | Bax                                   | Клетки эпителия легкого   | [30]     |
| 9     | Металлопротеазы матрикса                | MMP 2, 9                              | Клетки печени, лейкоциты  | [39]     |
| 10    | Ингибиторы металлопротеаз матрикса      | TIMP 1,3                              | Клетки эпителия легкого   | [31]     |
| 11    | Рецептор интерлейкина 4                 | IL-4R                                 | То же                     | [31]     |
| 12    | Микро-РНК 210                           | miR210                                | Клетки печени, лейкоциты  | [38, 46] |
| 13    | 8-гидрокси-2-дезоксигуанозин            | 8-охо-G                               | Клетки почек              | [41]     |
| 14    | Промотор опухоли трансформации          | AP-1                                  | Клетки кожи               | [54]     |
| 15    | Протоонкогены                           | R-Ras, C-мус, C-Jun, p65, p50, JNK1   | Клетки кожи               | [54]     |
| 16    | Апоптозный антиген 1                    | Fas (CD95)                            | Клетки кожи               | [43]     |

лежат различия в чувствительности к высоким и низким дозам ионов Ni<sup>++</sup> контуров митохондриального Bax/Bcl-2-опосредуемого апоптоза и каскада активации онкогенов через MAPK-сигнальный путь. Каких-либо принципиальных различий в механизмах токсического действия наноматериалов на основе Ni, его оксида, а также растворимых солей

(хлорида, нитрата, сульфата) на клетки, по-видимому, не имеется, откуда можно сделать вывод, что ведущую роль в проявлении токсичности этих наноматериалов играет эмиссия из них ионов Ni<sup>++</sup>. В этом отношении Ni-содержащие наноматериалы существенно отличаются от практически нерастворимых в биологических средах наночастиц, таких

как охарактеризованные ранее наночастицы аморфного диоксида кремния [61], для которых ведущую роль в проявлении токсического действия играет каталитическая генерация РСК на их поверхности, а также ограниченно растворимые наночастицы серебра, активно влияющие на микроэлементный гомеостаз [62]. Вместе с тем действующие дозы НЧ Ni и его соединений часто оказывается ниже, чем у растворимых солей этого металла, что указывает на важную роль облегченных процессов внутриклеточного проникновения этих наноматериалов в их цитотоксических эффектах.

Следующим необходимым звеном в оценке риска является характеристика опасности, то есть определение токсических и максимальных недействующих доз (NOAEL) вредного химического фактора при различных путях его поступления в организм, то есть через органы дыхания, неповрежден-

ные кожные покровы и желудочно-кишечный тракт. Такая информация не может быть получена исключительно в исследованиях *in vitro*, не учитывающих биокинетические закономерности вредного фактора, его способность к проникновению через биологические барьеры и биоаккумуляции, и требует проведения экспериментов *in vivo* на лабораторных животных, а также обобщения имеющихся данных клинических наблюдений. Эти вопросы, применительно к Ni-содержащим наноматериалам, будут рассмотрены в следующей обзорной статье.

**Финансирование.** Работа проведена за счет средств субсидии на выполнение государственного задания в рамках программы фундаментальных научных исследований (тема Минобрнауки России № 0529-2019-0057).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Список литературы

1. О'Брайен Р. Жиры и масла. Производство, состав и свойства, применение. – СПб.: Профессия, 2007. – 383 с.
2. Role of NF- $\kappa$ B activation and Th1/Th2 imbalance in pulmonary toxicity induced by nano NiO / X. Chang, A. Zhu, F. Liu, L. Zou, L. Su, S. Li, Y. Sun // *Environ. Toxicol.* – 2017. – Vol. 32, № 4. – P. 1354–1362. DOI: 10.1002/tox.22329
3. Solid-state synthesis of ordered mesoporous carbon catalysts via a mechanochemical assembly through coordination cross-linking / P. Zhang, L. Wang, S. Yang, J.A. Schott, X. Liu, S.M. Mahurin, C. Huang, Y. Zhang [et al.] // *Nat. Commun.* – 2017. – Vol. 28, № 8. – P. 15020. DOI: 10.1038/ncomms15020
4. A reusable magnetic nickel nanoparticle based catalyst for the aqueous synthesis of diverse heterocycles and their evaluation as potential antibacterial agent / D. Bhattacharjee, S.K. Sheet, S. Khatua, K. Biswas, S. Joshi, B. Myrboh // *Bioorganic Medicinal Chemistry.* – 2018. – Vol. 26, № 18. – P. 5018–5028. DOI: 10.1016/j.bmc.2018.08.033
5. Magnetic bistability and controllable reversal of asymmetric ferromagnetic nanorings / F.Q. Zhu, G.W. Chern, O. Tchernyshyov, X.C. Zhu, J.G. Zhu, C.L. Chien // *Phys. Rev. Lett.* – 2006. – Vol. 96, № 2. – P. 027205. DOI: 10.1103/PhysRevLett.96.027205
6. Performance enhancement and side reactions in rechargeable nickel-iron batteries with nanostructured electrodes / D. Lei, D.C. Lee, A. Magasinski, E. Zhao, D. Steingart, G. Yushin // *ACS Appl. Materials. Interfaces.* – 2016. – Vol. 8, № 3. – P. 2088–2096. DOI: 10.1021/acsami.5b10547
7. Chou K.S., Chang S.C., Huang K.C. Study on the characteristics of nanosized nickel particles using sodium borohydride to promote conversion // *Azo J. Mater. Online.* – 2007. – Vol. 3. – P. 172–179. DOI: 10.2240/azojomo0232
8. Graphene supported nickel nanoparticle as a viable replacement for platinum in dye sensitized solar cells / R. Bajpai, S. Roy, N. Kulshrestha, J. Rafiee, N. Koratkar, D.S. Misra // *Nanoscale.* – 2012. – Vol. 4, № 3. – P. 926–930. DOI: 10.1039/c2nr11127f
9. A micro-/nano-chip and quantum dots-based 3D cytosensor for quantitative analysis of circulating tumor cells / X. Wu, T. Xiao, Z. Luo, R. He, Y. Cao, Z. Guo [et al.] // *J. Nanobiotechnol.* – 2018. – Vol. 16, № 1. – P. 65. DOI: 10.1186/s12951-018-0390-x
10. Borowska S., Brzóska M.M. Metals in cosmetics: implications for human health // *J. Appl. Toxicol.* – 2015. – Vol. 35, № 6. – P. 551–752. DOI: 10.1002/jat.3129
11. Synthesis of copper-nickel nanoparticles prepared by mechanical milling for use in magnetic hyperthermia / I. Ban, J. Stergar, M. Drogenik, G. Ferk, D. Makovec // *J. Magn. Magn. Mater.* – 2011. – Vol. 323, № 17. – P. 2254–2258. DOI: 10.1016/j.jmmm.2011.04.004
12. Angajala G., Ramya R., Subashini R. In-vitro anti-inflammatory and mosquito larvicidal efficacy of nickel nanoparticles phytofabricated from aqueous leaf extracts of *Aegle marmelos* Correa // *Acta Tropica.* – 2014. – № 135. – P. 19–26. DOI: 10.1016/j.actatropica.2014.03.012
13. Spectroscopic investigation of biosynthesized nickel nanoparticles and its larvicidal, pesticidal activities / G. Elango, S.M. Roopan, K.I. Dhamodaran, K. Elumalai, N.A. Al-Dhabi, M.V. Arasu // *J. Photochem. Photobiol. B: Biology.* – 2016. – Vol. 162. – P. 162–167. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2016.06.045
14. High-throughput transcriptomics: insights into the pathways involved in (nano) nickel toxicity in a key invertebrate test species / S.I.L. Gomes, C.P. Roca, J.J. Scott-Fordsmand, M.J.B. Amorim // *Environ. Pollut.* – 2019. – № 245. – P. 131–140. DOI: 10.1016/j.envpol.2018.10.123
15. Some inferences from in vivo experiments with metal and metal oxide nanoparticles: the pulmonary phagocytosis response, subchronic systemic toxicity and genotoxicity, regulatory proposals, searching for bioprotectors, a self-overview / B. Katsnelson, L. Privalova, M.P. Sutunkova, V.B. Gurvich, N.V. Loginova, I.A. Minigalieva, E.P. Kireyeva, V.Y. Shur [et al.] // *Int. J. Nanomed.* – 2015. – Vol. 16, № 10. – P. 3013–3029. DOI: 10.2147/IJN.S80843
16. Magaye R., Zhao J. Recent progress in studies of metallic nickel and nickel-based nanoparticles' genotoxicity and carcinogenicity // *Environ. Toxicol. Pharmacol.* – 2012. – Vol. 34, № 3. – P. 644–650. DOI: 10.1016/j.etap.2012.08.012
17. Nanomaterial induced immune responses and cytotoxicity / A. Ali, M. Suhail, S. Mathew, M.A. Shah, S.M. Harakeh, S. Ahmad, Z. Kazmi, M.A.R. Alhamdan [et al.] // *J. Nanosci. Nanotechnol.* – 2016. – Vol. 16, № 1. – P. 40–57. DOI: 10.1166/jnn.2016.10885

18. Kornick R., Zug K.A. Nickel // *Dermatitis*. – 2008. – Vol. 19, № 1. – P. 3–8. DOI: 10.2310/6620.2008.07082
19. Nano-metal oxides: exposure and engineering control assessment / A. Garcia, A. Eastlake, J.L. Topmiller, C. Sparks, K. Martinez, C.L. Geraci // *J. Occup. Environ. Hyg.* – 2017. – Vol. 14, № 9. – P. 727–737. DOI: 10.1080/15459624.2017.1326699
20. Wu Y., Kong L. Advance on toxicity of metal nickel nanoparticles // *Environ. Geochem. Health.* – 2020. – Vol. 42, № 7. – P. 2277–2286. DOI: 10.1007/s10653-019-00491-4
21. Bioavailability, intracellular mobilization of nickel, and HIF-1 $\alpha$  activation in human lung epithelial cells exposed to metallic nickel and nickel oxide nanoparticles / J.R. Pietruska, X. Liu, A. Smith, K. McNeil, P. Weston, A. Zhitkovich, R. Hurt, A.B. Kane // *Toxicol. Sci.* – 2011. – Vol. 124, № 1. – P. 138–148. DOI: 10.1093/toxsci/kfr206
22. Nickel oxide nanoparticles induce cytotoxicity, oxidative stress and apoptosis in cultured human cells that is abrogated by the dietary antioxidant curcumin / M.A. Siddiqui, M. Ahamed, J. Ahmad, M.A.M. Khan, J. Musarrat, A.A. Al-Khedhairi, S.A. Alrokayan // *Food Chem. Toxicol.* – 2012. – Vol. 50, № 3–4. – P. 641–647. DOI: 10.1016/j.fct.2012.01.017
23. Evaluation of the genotoxic properties of nickel oxide nanoparticles in vitro and in vivo / R.F. De Carli, D.D.S. Chaves, T.R. Cardozo, A.P. de Souza, A. Seeber, W.H. Flores, K.F. Honatel, M. Lehmann, R.R. Dihl // *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.* – 2018. – Vol. 836, Pt. B. – P. 47–53. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2018.06.003
24. Capasso L., Camatini M., Gualtieri M. Nickel oxide nanoparticles induce inflammation and genotoxic effect in lung epithelial cells // *Toxicol. Lett.* – 2014. – Vol. 226, № 1. – P. 28–34. DOI: 10.1016/j.toxlet.2014.01.040
25. Nickel release, ROS generation and toxicity of Ni and NiO micro- and nanoparticles / S. Latvala, J. Hedberg, S. Di Bucchianico, L. Moller, I. Odnevall Wallinder, K. Elihn, H.L. Karlsson // *PLoS ONE*. – 2016. – Vol. 11, № 7. – P. e0159684. DOI: 10.1371/journal.pone.0159684
26. In vitro and in vivo evaluation of the toxicities induced by metallic nickel nano and fine particles / R. Magaye, Y. Gu, Y. Wang, H. Su, Q. Zhou, G. Mao, H. Shi, X. Yue [et al.] // *J. Mol. Histol.* – 2016. – Vol. 47, № 3. – P. 273–286. DOI: 10.1007/s10735-016-9671-6
27. Nano nickel oxide promotes epithelial-mesenchymal transition through transforming growth factor  $\beta$ 1/smads signaling pathway in A549 cells / X. Chang, M. Tian, Q. Zhang, J. Gao, S. Li, Y. Sun // *Environ Toxicol.* – 2020. – Vol. 35, № 12. – P. 1308–1317. DOI: 10.1002/tox.22995
28. Evaluation of acute oxidative stress induced by NiO nanoparticles in vivo and in vitro / M. Horie, H. Fukui, K. Nishio, S. Endoh, H. Kato, K. Fujita, A. Miyauchi, M. Shichiri [et al.] // *J. Occup. Health.* – 2011. – Vol. 53, № 2. – P. 64–74. DOI: 10.1539/joh.L10121
29. NiO nanoparticles induce cytotoxicity mediated through ROS generation and impairing the antioxidant defense in the human lung epithelial cells, A549: preventive effect of Pistacia lentiscus essential oil / M. Khiari, Z. Kechrid, F. Klibet, A. Elfeki, M.S. Shaarani, D. Krishnaiah // *Toxicol. Rep.* – 2018. – Vol. 21, № 5. – P. 480–488. DOI: 10.1016/j.toxrep.2018.03.012
30. NiO nanoparticles induce apoptosis through repressing SIRT1 in human bronchial epithelial cells / W.-X. Duan, M.-D. He, L. Mao, F.-H. Qian, Y.-M. Li, H.-F. Pi, C. Liu, C.-H. Chen [et al.] // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2015. – Vol. 286, № 2. – P. 80–91. DOI: 10.1016/j.taap.2015.03.024
31. Transcriptome profiling and toxicity following long-term, low dose exposure of human lung cells to Ni and NiO nanoparticles-comparison with NiCl<sub>2</sub> / A.R. Gliga, S. Di Bucchianico, E. Åkerlund, H.L. Karlsson // *Nanomaterials (Basel)*. – 2020. – Vol. 10, № 4. – P. 649. DOI: 10.3390/nano10040649
32. Calcium-dependent cyto- and genotoxicity of nickel metal and nickel oxide nanoparticles in human lung cells / S. Di Bucchianico, A.R. Gliga, E. Åkerlund, S. Skoglund, I.O. Wallinder, B. Fadeel, H.L. Karlsson // *Part. Fibre Toxicol.* – 2018. – Vol. 15, № 1. – P. 32. DOI: 10.1186/s12989-018-0268-y
33. Genotoxic and mutagenic properties of Ni and NiO nanoparticles investigated by comet assay,  $\gamma$ -H2AX staining, Hprt mutation assay and ToxTracker reporter cell lines / E. Åkerlund, F. Cappellini, S. Di Bucchianico, S. Islam, S. Skoglund, R. Derr, I.O. Wallinder, G. Hendriks, H.L. Karlsson // *Environ. Mol. Mutagen.* – 2018. – Vol. 59, № 3. – P. 211–222. DOI: 10.1002/em.22163
34. Abudayyak M., Guzel E., Özhan G. Cytotoxic, genotoxic, and apoptotic effects of nickel oxide nanoparticles in intestinal epithelial cells // *Turk. J. Pharm. Sci.* – 2020. – Vol. 17, № 4. – P. 446–451. DOI: 10.4274/tjps.galenos.2019.76376
35. Nickel oxide nanoparticles exert cytotoxicity via oxidative stress and induce apoptotic response in human liver cells, HepG2 / M. Ahamed, D. Ali, H.A. Alhadlaq, M.J. Akhtar // *Chemosphere.* – 2013. – Vol. 93, № 10. – P. 2514–2522. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2013.09.047
36. Concentration-dependent induction of reactive oxygen species, cell cycle arrest and apoptosis in human liver cells after nickel nanoparticles exposure / J. Ahmad, H.A. Alhadlaq, M.A. Siddiqui, Q. Saquib, A.A. Al-Khedhairi, J. Musarrat, M. Ahamed // *Environ. Toxicol.* – 2015. – Vol. 30, № 2. – P. 137–148. DOI: 10.1002/tox.21879
37. Nickel oxide nanoparticles induced transcriptomic alterations in HEPG2 cells / Q. Saquib, M. Siddiqui, J. Ahmad, S. Ansari, M. Faisal, R. Wahab, A. Alatar, A.A. Al-Khedhairi, J. Musarrat // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2018. – Vol. 1048. – P. 163–174. DOI: 10.1007/978-3-319-72041-8\_10
38. High-throughput transcriptomics: an insight on the pathways affected in HepG2 cells exposed to nickel oxide nanoparticles / Q. Saquib, P. Xia, M.A. Siddiqui, J. Zhang, Y. Xie, M. Faisal, S.M. Ansari, H.A. Alwathnani [et al.] // *Chemosphere.* – 2020. – Vol. 244. – P. 125488. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2019.125488
39. TGF- $\beta$ 1 mediated Smad signaling pathway and EMT in hepatic fibrosis induced by Nano NiO in vivo and in vitro / Q. Zhang, X. Chang, H. Wang, Y. Liu, X. Wang, M. Wu, H. Zhan, S. Li, Y. Sun // *Environ. Toxicol.* – 2020. – Vol. 35, № 4. – P. 419–429. DOI: 10.1002/tox.22878
40. Cytotoxicity of NiO and Ni(OH)<sub>2</sub> nanoparticles is mediated by oxidative stress-induced cell death and suppression of cell proliferation / M.H. Cambre, N.J. Holl, B. Wang, L. Harper, H.-J. Lee, C.C. Chusuei, F.Y.S. Hou, E.T. Williams [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2020. – Vol. 21, № 7. – P. 2355. DOI: 10.3390/ijms21072355
41. Abudayyak M., Guzel E., Özhan G. Nickel oxide nanoparticles induce oxidative DNA damage and apoptosis in kidney cell line, NRK-52E // *Biol. Trace Elem. Res.* – 2017. – Vol. 178, № 1. – P. 98–104. DOI: 10.1007/s12011-016-0892-z

42. Reactive oxygen species-mediated DNA damage and apoptosis in human skin epidermal cells after exposure to nickel nanoparticles / S. Alarifi, D. Ali, S. Alakhtani, E.S. Al Suhaibani, A.A. Al-Qahtani // *Biol. Trace Elem. Res.* – 2014. – Vol. 157, № 1. – P. 84–93. DOI: 10.1007/s12011-013-9871-9
43. Metallic nickel nano- and fine particles induce JB6 cell apoptosis through a caspase-8/AIF mediated cytochrome c-independent pathway / J. Zhao, L. Bowman, X. Zhang, X. Shi, B. Jiang, V. Castranova, M. Ding // *J. Nanobiotechnol.* – 2009. – Vol. 7. – P. 2. DOI: 10.1186/1477-3155-7-2
44. Inhibition of nickel nanoparticles-induced toxicity by epigallocatechin-3-gallate in JB6 cells may be through down-regulation of the MAPK signaling pathways / Y. Gu, Y. Wang, Q. Zhou, L. Bowman, G. Mao, B. Zou, J. Xu, Y. Liu [et al.] // *PLoS One.* – 2016. – Vol. 11, № 3. – P. e0150954. DOI: 10.1371/journal.pone.0150954
45. Dumala N., Mangalampalli B., Grover P. In vitro genotoxicity assessment of nickel (II) oxide nanoparticles on lymphocytes of human peripheral blood // *J. Appl. Toxicol.* – 2019. – Vol. 39, № 7. – P. 955–965. DOI: 10.1002/jat.3784
46. The role of miR-21 in nickel nanoparticle-induced MMP-2 and MMP-9 production in mouse primary monocytes: in vitro and in vivo studies / Y. Mo, Y. Zhang, L. Mo, R. Wan, M. Jiang, Q. Zhang // *Environ. Pollut.* – 2020. – Vol. 267. – P. 115597. DOI: 10.1016/j.envpol.2020.115597
47. Molecular mechanisms underlying nickel nanoparticle induced rat Sertoli-germ cells apoptosis / L. Kong, W. Hu, X. Gao, Y. Wu, Y. Xue, K. Cheng, M. Tang // *Sci. Total Environ.* – 2019. – Vol. 692. – P. 240–248. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.07.107
48. Effect and mechanism of PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in the apoptosis of GC-1 cells induced by nickel nanoparticles / Y. Wu, J. Ma, Y. Sun, M. Tang, L. Kong // *Chemosphere.* – 2020. – Vol. 255. – P. 126913. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2020.126913
49. In vitro genotoxicity of airborne Ni-NP in air-liquid interface / S. Latvala, D. Vare, H.L. Karlsson, K. Elihn // *J. Appl. Toxicol.* – 2017. – Vol. 37, № 12. – P. 1420–1427. DOI: 10.1002/jat.3510
50. Abudayyak M., Guzel E., Özhan G. Nickel oxide nanoparticles are highly toxic to SH-SY5Y neuronal cells // *Neurochem. Int.* – 2017. – Vol. 108. – P. 7–14. DOI: 10.1016/j.neuint.2017.01.017
51. The effects of nickel oxide nanoparticles on tau protein and neuron-like cells: biothermodynamics and molecular studies / M. Hajimohammadjafartehrani, S.H. Hosseinali, A. Dehkohneh, P. Ghoraeian, M. Ale-Ebrahim, K. Akhtari, K. Shahpasand, A.A. Saboury, F. Attar, M. Falahati // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2019. – Vol. 127. – P. 330–339. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.01.050
52. Biophysical, molecular dynamics and cellular studies on the interaction of nickel oxide nanoparticles with tau proteins and neuron-like cells / S.H. Hosseinali, Z.P. Boushehri, B. Rasti, M. Mirpour, K. Shahpasand, M. Falahati // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2019. – Vol. 125. – P. 778–784. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.12.062
53. Are in vivo and in vitro assessments of comparative and combined toxicity of the same metallic nanoparticles compatible, or contradictory, or both? A juxtaposition of data obtained in respective experiments with NiO and Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles / I. Minigalieva, T. Bushueva, E. Fröhlich, C. Meindl, K. Öhlinger, V. Panov, A. Varaksin, V. Shur [et al.] // *Food Chem Toxicol.* – 2017. – Vol. 109, Pt. 1. – P. 393–404. DOI: 10.1016/j.fct.2017.09.032
54. Metallic nickel nanoparticles may exhibit higher carcinogenic potential than fine particles in JB6 cells / R. Magaye, Q. Zhou, L. Bowman, B. Zou, G. Mao, J. Xu, V. Castranova, J. Zhao, M. Ding // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9, № 4. – P. e92418. DOI: 10.1371/journal.pone.0092418
55. Muñoz A., Costa M. Elucidating the mechanisms of nickel compound uptake – a review of particulate and nano-nickel endocytosis and toxicity // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2012. – Vol. 260, № 1. – P. 1–16. DOI: 10.1016/j.taap.2011.12.014
56. Manke A., Wang L., Rojanasakul Y. Mechanisms of nanoparticle-induced oxidative stress and toxicity // *Biomed. Res. Int.* – 2013. – Vol. 2013. – P. 942916. DOI: 10.1155/2013/942916
57. Cameron K.S., Buchner V., Tchounwou P.B. Exploring the molecular mechanisms of nickel-induced genotoxicity and carcinogenicity: a literature review // *Rev. Environ. Health.* – 2011. – Vol. 26, № 2. – P. 81–92. DOI: 10.1515/reveh.2011.012
58. Mechanisms involved in reproductive toxicity caused by nickel nanoparticle in female rats / L. Kong, X. Gao, J. Zhu, K. Cheng, M. Tang // *Environ. Toxicol.* – 2016. – Vol. 31, № 11. – P. 1674–1683. DOI: 10.1002/tox.22288
59. Acute toxicity of nickel nanoparticles in rats after intravenous injection / R.R. Magaye, X. Yue, B. Zou, H. Shi, H. Yu, K. Liu, X. Lin, J. Xu [et al.] // *Int. J. Nanomed.* – 2014. – Vol. 9. – P. 1393–1402. DOI: 10.2147/ijn.S56212
60. The role of hypoxia inducible factor-1alpha in the increased MMP-2 and MMP-9 production by human monocytes exposed to nickel nanoparticles / R. Wan, Y. Mo, S. Chien, Y. Li, D.J. Tollerud, Q. Zhang // *Nanotoxicology.* – 2011. – Vol. 5, № 4. – P. 568–582. DOI: 10.3109/17435390.2010.537791
61. Токсикологическая оценка наноструктурного диоксида кремния. IV. Иммунологические и аллергологические показатели у животных, сенсибилизированных пищевым аллергеном, и заключительное обсуждение / А.А. Шумакова, В.А. Шипелин, Э.Н. Трушина, О.К. Мустафина, И.В. Гмошинский, П.А. Ханферьян, С.А. Хотимченко, В.А. Тутельян // *Вопросы питания.* – 2015. – Т. 84, № 5. – С. 102–111.
62. Influence of orally introduced silver nanoparticles on content of essential and toxic trace elements in organism / I.V. Gmshinski, A.A. Shumakova, V.A. Shipelin, G.Yu. Maltsev, S.A. Khotimchenko // *Nanotechnologies in Russia.* – 2016. – Vol. 11, № 9–10. – P. 646–652. DOI: 10.1134/S1995078016050074

**Список сокращений:** 8-охо-G – 8-гидрокси-2-дезоксигуанозин; MMP – металлопротеиназа матрикса; МЧ – микро-частицы; НЧ – наночастицы; РСК – реакционноспособные формы кислорода; Вах – Vcl-ассоциированный X-белок; Vcl-2 – внутриклеточный регулятор апоптоза; HIF – фактор, индуцируемый гипоксией; HO-1 – гемоксигеназа-1; IARC – Международное агентство по исследованию рака; IC50 – концентрация 50 % ингибирования; IL – интерлейкин; INF – интерферон; MAPK – активируемая митогенами протеинкиназа; miR – микро-РНК; p53 – фактор стимуляции апоптоза; SOD – супероксиддисмутаза; TGF – трансформирующий фактор роста; TIMP – ингибитор протеиназа матрикса.

*Гмошинский И.В., Хотимченко С.А. Оценка риска никельсодержащих наноматериалов: идентификация опасного фактора // Анализ риска здоровью. – 2021. – № 2. – С. 177–191. DOI: 10.21668/health.risk/2021.2.17*

Review

**ASSESSING RISKS CAUSED BY NICKEL-BASED NANOMATERIALS:  
HAZARDOUS FACTOR IDENTIFICATION****I.V. Gmoshinski<sup>1</sup>, S.A. Khotimchenko<sup>1,2</sup>**<sup>1</sup>Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, 2/14 Ustinsky lane, Moscow, 109240, Russian Federation<sup>2</sup>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, 4 Bldg., 2 Bol'shaya Pirogovskaya Str., Moscow, 119435, Russian Federation

*Nanoparticles of nickel (Ni) and its compounds attract a lot of attention bearing in mind their promising innovative properties allowing their use as catalysts, components in electrical appliances, electronic devices and photonic appliances, and materials used in producing medications, diagnostic preparations, and pesticides. Production volumes of these materials in their nano-form are likely to grow rapidly in the nearest future and it involves greater loads created by these nanomaterials on a human body. And we should remember that Ni and its compounds are highly toxic for humans even in their traditional disperse forms. Their toxicity induces oxidative stress, cellular membranes and mitochondria dysfunction, expression of nuclear transcription factors that are responsible for apoptosis, caspases, as well as proto-oncogenes. Leading role in toxicity of Ni-containing nanomaterials obviously belongs to ions of heavy Ni<sup>++</sup> being emitted from them since this heavy metal has pro-oxidant properties and influences enzyme activity and gene expression. Cytotoxic effects produced by Ni-containing nanomaterials were revealed in Model experiments in vitro performed with using cellular cultures that were morphologically and functionally similar to epithelial cells of respiratory and gastrointestinal tract, liver, kidneys, and nervous system; these materials were able to stimulate oxidant stress, influence expression of apoptosis proteins and nuclear transcription factors, induce apoptosis and necrosis. There are data indicating that Ni-containing nanomaterials can produce malignant transforming effects in vitro. All the above mentioned proves that nickel compounds in their nanoform are a new hazardous factor that requires assessing related risks for workers, consumer, and population in general.*

*Our review focuses on analyzing literature sources on cytotoxicity of Ni-containing nanomaterials and their effects produced on molecular-genetic and cellular levels taken over a period starting from 2011.*

**Key words:** nickel, nickel oxide, nanoparticles, cytotoxicity, genotoxicity, transforming ability, apoptosis, gene expression, risk assessment.

**References**

1. O'Braien R. Zhiry i masla. Proizvodstvo, sostav i svoystva, primeneniye [Fats and oils. Manufacturing, structure and properties, use]. Sankt-Peterburg, Professiya Publ., 2007, 383 p. (in Russian).
2. Chang X., Zhu A., Liu F., Zou L., Su L., Li S., Sun Y. Role of NF- $\kappa$ B activation and Th1/Th2 imbalance in pulmonary toxicity induced by nano NiO. *Environ. Toxicol.*, 2017, vol. 32, no. 4, pp. 1354–1362. DOI: 10.1002/tox.22329
3. Zhang P., Wang L., Yang S., Schott J.A., Liu X., Mahurin S.M., Huang C., Zhang Y. [et al.]. Solid-state synthesis of ordered mesoporous carbon catalysts via a mechanochemical assembly through coordination cross-linking. *Nat. Commun.*, 2017, vol. 28, no. 8, pp. 15020. DOI: 10.1038/ncomms15020
4. Bhattacharjee D., Sheet S.K., Khatua S., Biswas K., Joshi S., Myrboh B. A reusable magnetic nickel nanoparticle based catalyst for the aqueous synthesis of diverse heterocycles and their evaluation as potential antibacterial agent. *Bioorganic. Medicinal. Chemistry.*, 2018, vol. 26, no. 18, pp. 5018–5028. DOI: 10.1016/j.bmc.2018.08.033
5. Zhu F.Q., Chern G.W., Tchernyshyov O., Zhu X.C., Zhu J.G., Chien C.L. Magnetic bistability and controllable reversal of asymmetric ferromagnetic nanorings. *Phys. Rev. Lett.*, 2006, vol. 96, no. 2, pp. 027205. DOI: 10.1103/PhysRevLett.96.027205
6. Lei D., Lee D.C., Magasinski A., Zhao E., Steingart D., Yushin G. Performance enhancement and side reactions in rechargeable nickel-iron batteries with nanostructured electrodes. *ACS Appl. Materials. Interfaces*, 2016, vol. 8, no. 3, pp. 2088–2096. DOI: 10.1021/acsami.5b10547
7. Chou K.S., Chang S.C., Huang K.C. Study on the characteristics of nanosized nickel particles using sodium borohydride to promote conversion. *Azo J. Mater. Online*, 2007, vol. 3, pp. 172–179. DOI: 10.2240/azojomo0232

© Gmoshinski I.V., Khotimchenko S.A., 2021

**Ivan V. Gmoshinski** – Doctor of Biological Sciences, Leading researcher at the Laboratory for Food Toxicology and Nanotechnologies Safety Assessment (e-mail: gmosh@ion.ru; tel.: +7 (495) 698-53-71; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3671-6508>).

**Sergey A. Khotimchenko** – RAS Corresponding Member, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Laboratory for Food Toxicology and Nanotechnologies Safety Assessment (e-mail: hotimchenko@ion.ru; tel.: +7 (495) 698-52-35; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5340-9649>).

8. Bajpai R., Roy S., Kulshrestha N., Rafice J., Koratkar N., Misra D.S. Graphene supported nickel nanoparticle as a viable replacement for platinum in dye sensitized solar cells. *Nanoscale*, 2012, vol. 4, no. 3, pp. 926–930. DOI: 10.1039/c2nr11127f
9. Wu X., Xiao T., Luo Z., He R., Cao Y., Guo Z. [et al.]. A micro-/nano-chip and quantum dots-based 3D cytosensor for quantitative analysis of circulating tumor cells. *J. Nanobiotechnol.*, 2018, vol. 16, no. 1, pp. 65. DOI: 10.1186/s12951-018-0390-x
10. Borowska S., Brzóska M.M. Metals in cosmetics: implications for human health. *J. Appl. Toxicol.*, 2015, vol. 35, no. 6, pp. 551–752. DOI: 10.1002/jat.3129
11. Ban I., Stergar J., Drogenik M., Ferik G., Makovec D. Synthesis of copper-nickel nanoparticles prepared by mechanical milling for use in magnetic hyperthermia. *J. Magn. Magn. Mater.*, 2011, vol. 323, no. 17, pp. 2254–2258. DOI: 10.1016/j.jmmm.2011.04.004
12. Angajala G., Ramya R., Subashini R. In-vitro anti-inflammatory and mosquito larvicidal efficacy of nickel nanoparticles phytofabricated from aqueous leaf extracts of *Aegle marmelos* Correa. *Acta Tropica*, 2014, no. 135, pp. 19–26. DOI: 10.1016/j.actatropica.2014.03.012
13. Elango G., Roopan S.M., Dharmodaran K.I., Elumalai K., Al-Dhabi N.A., Arasu M.V. Spectroscopic investigation of biosynthesized nickel nanoparticles and its larvicidal, pesticidal activities. *J. Photochem. Photobiol. B: Biology*, 2016, vol. 162, pp. 162–167. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2016.06.045
14. Gomes S.I.L., Roca C.P., Scott-Fordsmand J.J., Amorim M.J.B. High-throughput transcriptomics: insights into the pathways involved in (nano) nickel toxicity in a key invertebrate test species. *Environ. Pollut.*, 2019, no. 245, pp. 131–140. DOI: 10.1016/j.envpol.2018.10.123
15. Katsnelson B., Privalova L., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Loginova N.V., Minigalieva I.A., Kireyeva E.P., Shur V.Y. [et al.]. Some inferences from in vivo experiments with metal and metal oxide nanoparticles: the pulmonary phagocytosis response, subchronic systemic toxicity and genotoxicity, regulatory proposals, searching for bioprotectors, a self-overview. *Int. J. Nanomed*, 2015, vol. 16, no. 10, pp. 3013–3029. DOI: 10.2147/IJN.S80843
16. Magaye R., Zhao J. Recent progress in studies of metallic nickel and nickel-based nanoparticles' genotoxicity and carcinogenicity. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 2012, vol. 34, no. 3, pp. 644–650. DOI: 10.1016/j.etap.2012.08.012
17. Ali A., Suhail M., Mathew S., Shah M.A., Harakeh S.M., Ahmad S., Kazmi Z., Alhamdan M.A.R. [et al.]. Nanomaterial induced immune responses and cytotoxicity. *J. Nanosci. Nanotechnol.*, 2016, vol. 16, no. 1, pp. 40–57. DOI: 10.1166/jnn.2016.10885
18. Kornick R., Zug K.A. Nickel. *Dermatitis*, 2008, vol. 19, no. 1, pp. 3–8. DOI: 10.2310/6620.2008.07082
19. Garcia A., Eastlake A., Topmiller J.L., Sparks C., Martinez K., Geraci C.L. Nano-metal oxides: exposure and engineering control assessment. *J. Occup. Environ. Hyg.*, 2017, vol. 14, no. 9, pp. 727–737. DOI: 10.1080/15459624.2017.1326699
20. Wu Y., Kong L. Advance on toxicity of metal nickel nanoparticles. *Environ. Geochem. Health*, 2020, vol. 42, no. 7, pp. 2277–2286. DOI: 10.1007/s10653-019-00491-4
21. Pietruska J.R., Liu X., Smith A., McNeil K., Weston P., Zhitkovich A., Hurt R., Kane A.B. Bioavailability, intracellular mobilization of nickel, and HIF-1 $\alpha$  activation in human lung epithelial cells exposed to metallic nickel and nickel oxide nanoparticles. *Toxicol. Sci.*, 2011, vol. 124, no. 1, pp. 138–148. DOI: 10.1093/toxsci/kfr206
22. Siddiqui M.A., Ahamed M., Ahmad J., Khan M.A.M., Musarrat J., Al-Khedhairi A.A., Alrokayan S.A. Nickel oxide nanoparticles induce cytotoxicity, oxidative stress and apoptosis in cultured human cells that is abrogated by the dietary antioxidant curcumin. *Food Chem. Toxicol.*, 2012, vol. 50, no. 3–4, pp. 641–647. DOI: 10.1016/j.fct.2012.01.017
23. De Carli R.F., Chaves D.D.S., Cardozo T.R., de Souza A.P., Seeber A., Flores W.H., Honatel K.F., Lehmann M., Dohl R.R. Evaluation of the genotoxic properties of nickel oxide nanoparticles in vitro and in vivo. *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen*, 2018, vol. 836, pt. B, pp. 47–53. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2018.06.003
24. Capasso L., Camatini M., Gualtieri M. Nickel oxide nanoparticles induce inflammation and genotoxic effect in lung epithelial cells. *Toxicol. Lett.*, 2014, vol. 226, no. 1, pp. 28–34. DOI: 10.1016/j.toxlet.2014.01.040
25. Latvala S., Hedberg J., Di Bucchianico S., Moller L., Odnevall Wallinder I., Elihn K., Karlsson H.L. Nickel release, ROS generation and toxicity of Ni and NiO micro- and nanoparticles. *PLoS ONE*, 2016, vol. 11, no. 7, pp. e0159684. DOI: 10.1371/journal.pone.0159684
26. Magaye R., Gu Y., Wang Y., Su H., Zhou Q., Mao G., Shi H., Yue X. [et al.]. In vitro and in vivo evaluation of the toxicities induced by metallic nickel nano and fine particles. *J. Mol. Histol.*, 2016, vol. 47, no. 3, pp. 273–286. DOI: 10.1007/s10735-016-9671-6
27. Chang X., Tian M., Zhang Q., Gao J., Li S., Sun Y. Nano nickel oxide promotes epithelial-mesenchymal transition through transforming growth factor  $\beta$ 1/smads signaling pathway in A549 cells. *Environ Toxicol.*, 2020, vol. 35, no. 12, pp. 1308–1317. DOI: 10.1002/tox.22995
28. Horie M., Fukui H., Nishio K., Endoh S., Kato H., Fujita K., Miyauchi A., Shichiri M. [et al.]. Evaluation of acute oxidative stress induced by NiO nanoparticles in vivo and in vitro. *J. Occup. Health*, 2011, vol. 53, no. 2, pp. 64–74. DOI: 10.1539/joh.L10121
29. Khiari M., Kechrid Z., Klibet F., Elfeki A., Shaarani M.S., Krishnaiah D. NiO nanoparticles induce cytotoxicity mediated through ROS generation and impairing the antioxidant defense in the human lung epithelial cells, A549: preventive effect of *Pistacia lentiscus* essential oil. *Toxicol. Rep.*, 2018, vol. 21, no. 5, pp. 480–488. DOI: 10.1016/j.toxrep.2018.03.012
30. Duan W.-X., He M.-D., Mao L., Qian F.-H., Li Y.-M., Pi H.-F., Liu C., Chen C.-H. [et al.]. NiO nanoparticles induce apoptosis through repressing SIRT1 in human bronchial epithelial cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2015, vol. 286, no. 2, pp. 80–91. DOI: 10.1016/j.taap.2015.03.024
31. Gliga A.R., Di Bucchianico S., Åkerlund E., Karlsson H.L. Transcriptome profiling and toxicity following long-term, low dose exposure of human lung cells to Ni and NiO nanoparticles-comparison with NiCl<sub>2</sub>. *Nanomaterials (Basel)*, 2020, vol. 10, no. 4, pp. 649. DOI: 10.3390/nano10040649
32. Di Bucchianico S., Gliga A.R., Åkerlund E., Skoglund S., Wallinder I.O., Fadeel B., Karlsson H.L. Calcium-dependent cyto- and genotoxicity of nickel metal and nickel oxide nanoparticles in human lung cells. *Part. Fibre Toxicol.*, 2018, vol. 15, no. 1, pp. 32. DOI: 10.1186/s12989-018-0268-y
33. Åkerlund E., Cappellini F., Di Bucchianico S., Islam S., Skoglund S., Derr R., Wallinder I.O., Hendriks G., Karlsson H.L. Genotoxic and mutagenic properties of Ni and NiO nanoparticles investigated by comet assay,  $\gamma$ -H2AX staining,

Hprt mutation assay and Tox Tracker reporter cell lines. *Environ. Mol. Mutagen.*, 2018, vol. 59, no. 3, pp. 211–222. DOI: 10.1002/em.22163

34. Abudayyak M., Guzel E., Özhan G. Cytotoxic, genotoxic, and apoptotic effects of nickel oxide nanoparticles in intestinal epithelial cells. *Turk. J. Pharm. Sci.*, 2020, vol. 17, no. 4, pp. 446–451. DOI: 10.4274/tjps.galenos.2019.76376

35. Ahamed M., Ali D., Alhadlaq H.A., Akhtar M.J. Nickel oxide nanoparticles exert cytotoxicity via oxidative stress and induce apoptotic response in human liver cells, HepG2. *Chemosphere*, 2013, vol. 93, no. 10, pp. 2514–2522. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2013.09.047

36. Ahmad J., Alhadlaq H.A., Siddiqui M.A., Saquib Q., Al-Khedhairi A.A., Musarrat J., Ahamed M. Concentration-dependent induction of reactive oxygen species, cell cycle arrest and apoptosis in human liver cells after nickel nanoparticles exposure. *Environ. Toxicol.*, 2015, vol. 30, no. 2, pp. 137–148. DOI:10.1002/tox.21879

37. Saquib Q., Siddiqui M., Ahmad J., Ansari S., Faisal M., Wahab R., Alatar A., Al-Khedhairi A.A., Musarrat J. Nickel oxide nanoparticles induced transcriptomic alterations in HEPG2 cells. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2018, vol. 1048, pp. 163–174. DOI: 10.1007/978-3-319-72041-8\_10

38. Saquib Q., Xia P., Siddiqui M.A., Zhang J., Xie Y., Faisal M., Ansari S.M., Alwathnani H.A. [et al.]. High-throughput transcriptomics: an insight on the pathways affected in HepG2 cells exposed to nickel oxide nanoparticles. *Chemosphere*, 2020, vol. 244, pp. 125488. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2019.125488

39. Zhang Q., Chang X., Wang H., Liu Y., Wang X., Wu M., Zhan H., Li S., Sun Y. TGF- $\beta$ 1 mediated Smad signaling pathway and EMT in hepatic fibrosis induced by Nano NiO in vivo and in vitro. *Environ. Toxicol.*, 2020, vol. 35, no. 4, pp. 419–429. DOI: 10.1002/tox.22878

40. Cambre M.H., Holl N.J., Wang B., Harper L., Lee H.-J., Chusuei C.C., Hou F.Y.S., Williams E.T. [et al.]. Cytotoxicity of NiO and Ni(OH)<sub>2</sub> nanoparticles is mediated by oxidative stress-induced cell death and suppression of cell proliferation. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, vol. 21, no. 7, pp. 2355. DOI: 10.3390/ijms21072355

41. Abudayyak M., Guzel E., Özhan G. Nickel oxide nanoparticles induce oxidative DNA damage and apoptosis in kidney cell line, NRK-52E. *Biol. Trace Elem. Res.*, 2017, vol. 178, no. 1, pp. 98–104. DOI: 10.1007/s12011-016-0892-z

42. Alarifi S., Ali D., Alakhtani S., Al Suhaibani E.S., Al-Qahtani A.A. Reactive oxygen species-mediated DNA damage and apoptosis in human skin epidermal cells after exposure to nickel nanoparticles. *Biol. Trace Elem. Res.*, 2014, vol. 157, no. 1, pp. 84–93. DOI: 10.1007/s12011-013-9871-9

43. Zhao J., Bowman L., Zhang X., Shi X., Jiang B., Castranova V., Ding M. Metallic nickel nano- and fine particles induce JB6 cell apoptosis through a caspase-8/AIF mediated cytochrome c-independent pathway. *J Nanobiotechnol.*, 2009, vol. 7, pp. 2. DOI: 10.1186/1477-3155-7-2

44. Gu Y., Wang Y., Zhou Q., Bowman L., Mao G., Zou B., Xu J., Liu Y. [et al.]. Inhibition of nickel nanoparticles-induced toxicity by epigallocatechin-3-gallate in JB6 cells may be through down-regulation of the MAPK signaling pathways. *PLoS One*, 2016, vol. 11, no. 3, pp. e0150954. DOI: 10.1371/journal.pone.0150954

45. Dumala N., Mangalampalli B., Grover P. In vitro genotoxicity assessment of nickel(II)oxide nanoparticles on lymphocytes of human peripheral blood. *J. Appl. Toxicol.*, 2019, vol. 39, no. 7, pp. 955–965. DOI: 10.1002/jat.3784

46. Mo Y., Zhang Y., Mo L., Wan R., Jiang M., Zhang Q. The role of miR-21 in nickel nanoparticle-induced MMP-2 and MMP-9 production in mouse primary monocytes: in vitro and in vivo studies. *Environ. Pollut.*, 2020, vol. 267, pp. 115597. DOI: 10.1016/j.envpol.2020.115597

47. Kong L., Hu W., Gao X., Wu Y., Xue Y., Cheng K., Tang M. Molecular mechanisms underlying nickel nanoparticle induced rat Sertoli-germ cells apoptosis. *Sci. Total Environ.*, 2019, vol. 692, pp. 240–248. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.07.107

48. Wu Y., Ma J., Sun Y., Tang M., Kong L. Effect and mechanism of PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in the apoptosis of GC-1 cells induced by nickel nanoparticles. *Chemosphere*, 2020, vol. 255, pp. 126913. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2020.126913

49. Latvala S., Vare D., Karlsson H.L., Elihn K. In vitro genotoxicity of airborne Ni-NP in air-liquid interface. *J. Appl. Toxicol.*, 2017, vol. 37, no. 12, pp. 1420–1427. DOI: 10.1002/jat.3510

50. Abudayyak M., Guzel E., Özhan G. Nickel oxide nanoparticles are highly toxic to SH-SY5Y neuronal cells. *Neurochem. Int.*, 2017, vol. 108, pp. 7–14. DOI: 10.1016/j.neuint.2017.01.017

51. Hajimohammadjafartehri M., Hosseinali S.H., Dehkohneh A., Ghoraeian P., Ale-Ebrahim M., Akhtari K., Shahpasand K., Saboury A.A., Attar F., Falahati M. The effects of nickel oxide nanoparticles on tau protein and neuron-like cells: biothermodynamics and molecular studies. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2019, vol. 127, pp. 330–339. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.01.050

52. Hosseinali S.H., Boushehri Z.P., Rasti B., Mirpour M., Shahpasand K., Falahati M. Biophysical, molecular dynamics and cellular studies on the interaction of nickel oxide nanoparticles with tau proteins and neuron-like cells. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2019, vol. 125, pp. 778–784. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.12.062

53. Minigalieva I., Bushueva T., Fröhlich E., Meindl C., Öhlinger K., Panov V., Varaksin A., Shur V. [et al.]. Are in vivo and in vitro assessments of comparative and combined toxicity of the same metallic nanoparticles compatible, or contradictory, or both? A juxtaposition of data obtained in respective experiments with NiO and Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles. *Food Chem Toxicol.*, 2017, vol. 109, pt. 1, pp. 393–404. DOI: 10.1016/j.fct.2017.09.032

54. Magaye R., Zhou Q., Bowman L., Zou B., Mao G., Xu J., Castranova V., Zhao J., Ding M. Metallic nickel nanoparticles may exhibit higher carcinogenic potential than fine particles in JB6 cells. *PLoS One*, 2014, vol. 9, no. 4, pp. e92418. DOI: 10.1371/journal.pone.0092418

55. Muñoz A., Costa M. Elucidating the mechanisms of nickel compound uptake—a review of particulate and nano-nickel endocytosis and toxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2012, vol. 260, no. 1, pp. 1–16. DOI: 10.1016/j.taap.2011.12.014

56. Manke A., Wang L., Rojanasakul Y. Mechanisms of nanoparticle-induced oxidative stress and toxicity. *Biomed. Res. Int.*, 2013, vol. 2013, pp. 942916. DOI: 10.1155/2013/942916

57. Cameron K.S., Buchner V., Tchounwou P.B. Exploring the molecular mechanisms of nickel-induced genotoxicity and carcinogenicity: a literature review. *Rev. Environ. Health*, 2011, vol. 26, no. 2, pp. 81–92. DOI: 10.1515/reveh.2011.012

58. Kong L., Gao X., Zhu J., Cheng K., Tang M. Mechanisms involved in reproductive toxicity caused by nickel nanoparticle in female rats. *Environ. Toxicol.*, 2016, vol. 31, no. 11, pp. 1674–1683. DOI: 10.1002/tox.22288
59. Magaye R.R., Yue X., Zou B., Shi H., Yu H., Liu K., Lin X., Xu J. [et al.]. Acute toxicity of nickel nanoparticles in rats after intravenous injection. *Int. J. Nanomed.*, 2014, vol. 9, pp. 1393–1402. DOI: 10.2147/ijn.S56212
60. Wan R., Mo Y., Chien S., Li Y., Tollerud D.J., Zhang Q. The role of hypoxia inducible factor-1alpha in the increased MMP-2 and MMP-9 production by human monocytes exposed to nickel nanoparticles. *Nanotoxicology*, 2011, vol. 5, no. 4, pp. 568–582. DOI: 10.3109/17435390.2010.537791
61. Shumakova A.A., Shipelin V.A., Trushina E.N., Mustafina O.K., Gmshinski I.V., Khanfer'yan R.A., Khotimchenko S.A., Tutel'yan V.A. Toxicological assessment of nanostructured silica. IV. Immunological and allergological indices in animals sensitized with food allergen and final discussion. *Voprosy pitaniya*, 2015, vol. 84, no. 5, pp. 102–111 (in Russian).
62. Gmshinski I.V., Shumakova A.A., Shipelin V.A., Maltsev G.Yu., Khotimchenko S.A. Influence of orally introduced silver nanoparticles on content of essential and toxic trace elements in organism. *Nanotechnologies in Russia*, 2016, vol. 11, no. 9–10, pp. 646–652. DOI: 10.1134/S1995078016050074

**Abbreviations:** 8-oxo-G – 8-oxo-2-desoxyguanosine; MMP – matrix metalloproteinase; MP – microparticles; NP – nanoparticles; ROS – reactive oxygen species; Bax – Bcl-associated X-protein; Bcl-2 – intracellular apoptosis regulator; HIF – hypoxia-induced factor; HO-1 – hemoxygenase-1; IARC – International Agency for Research on Cancer; IC50 – 50% inhibition concentration; IL – interleukin; INF – interferon; MAPK – mitogen-activated protein kinase; miR – micro-RNA; p53 – apoptosis stimulating factor; SOD – superoxide dismutase; TGF – transforming growth factor; TIMP – tissue inhibitor of metalloproteinase.

*Gmshinski I.V., Khotimchenko S.A. Assessing risks caused by nickel-based nanomaterials: hazardous factor identification. Health Risk Analysis, 2021, no. 2, pp. 177–191. DOI: 10.21668/health.risk/2021.2.17.eng*

Получена: 07.04.2021

Принята: 07.06.2021

Опубликована: 30.06.2021