

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА И ДИОКСИДА ТИТАНА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ МАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ И АПОПТОЗА

© 2015 г. Л.А. Баранова, Е.В. Жорник, И.Д. Вологовский

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, 220072, Минск, ул. Академическая, 27

E-mail: r344@ibp.org.by

Поступила в редакцию 15.01.15 г.

С целью оценки токсического действия наночастиц серебра и двуокиси титана было изучено влияние наночастиц на экспрессию генов биомаркеров воспалительных реакций и апоптоза в лимфоцитах человека. Установлено увеличение экспрессии генов ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- α и p53 по критерию транскрипции в диапазоне концентраций наночастиц серебра и диоксида титана 10–40 мкг/мл. Увеличение экспрессии генов ИЛ-6, ИЛ-8 и ФНО- α свидетельствует об активации иммунной системы, а гена p53 – о стимуляции апоптоза.

Ключевые слова: наночастицы серебра, наночастицы диоксида титана, лимфоциты, экспрессия генов ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- α и p53.

Новые материалы, компоненты и системы, получение которых основано на использовании различных нанотехнологий, находят широкое применение в различных отраслях народного хозяйства и медицины.

В медицине наноматериалы используются для целей транспорта лекарственных средств, а наночастицы окиси титана и серебра – в шовных и перевязочных материалах, при создании биосовместимых имплантатов и др. [1]. Оксид титана находит также широкое применение при производстве красок, пластмасс, зубной пасты. В косметической продукции окись титана используется в солнцезащитных кремах для защиты от УФ-излучения [2]. Учитывая, что контакт человека и других биологических объектов с наноматериалами все время увеличивается, изучение вопросов потенциальных рисков их использования представляется первоочередной задачей, особенно, если речь идет о человеке.

Обусловлено это тем обстоятельством, что в форме наночастиц различные материалы приобретают новые, не присущие им способности индуцировать биологические эффекты. Наночастицы проникают в различные типы клеток и способны к трансцитозу через эпителиальные и эндотелиальные клетки, могут распространяться в организме по ходу дендритов и аксо-

нов, кровеносных и лимфатических сосудов [3]. Размеры наночастиц, которые могут взаимодействовать с клетками живого организма, соизмеримы с их мембранными структурами и внутриклеточными компонентами, что, по-видимому, и определяет особенности внутриклеточных процессов, протекающих с их участием.

В связи с опасностью проявления токсических свойств используемых наночастиц представляется актуальным изучение молекулярных механизмов их цитотоксичности и связанного с ней риска негативного воздействия на организм и клеточном уровне.

Взаимодействие наночастиц с клеткой может происходить или на уровне ДНК, или на уровне мембран. Актуальным является исследование генетических аспектов воздействия наноструктур на клетку, поскольку в этом случае повреждающее действие наночастиц может проявляться либо в виде отдаленных эффектов (мутагенность, генотоксичность), либо через влияние на экспрессию различных генов, включая гены таких важнейших белков-маркеров, как биомаркеры окислительного стресса, воспалительных реакций, апоптоза.

Большинство проводимых в настоящее время исследований посвящено изучению влияния искусственных наночастиц при их ингаляционном воздействии [3,4], а также при попадании на кожу [5]. Хотя, как упоминалось выше, наночастицы способны продвигаться вдоль эпителия респираторного тракта и по лимфатиче-

Сокращения: AgNP – наночастицы серебра, TiO₂ – наночастицы двуокиси титана.

ской системе, проникая в кровоток с последующим системным распределением в организме [6], исследований по изучению их влияния на клетки крови относительно мало.

Популяция лимфоцитов периферической крови человека является одним из основных компонентов иммунной системы и участвует в формировании в организме практически всех иммунных ответов. Важная роль в возникновении иммунного ответа клеток принадлежит цитокинам – молекулам-посредникам межклеточных взаимодействий, регулирующим кроветворение, клеточный цикл, апоптоз [7]. Стимуляция клеток цитокинами индуцирует в свою очередь экспрессию ядерного фактора NF-κB, который играет ключевую роль в реализации апоптотического сигнала [8].

Согласно существующей в настоящее время гипотезе о взаимодействии наночастиц с поверхностью клетки предполагается, что начальным событием их воздействия на клетку является окислительный стресс, который приводит к запуску сигнального каскада воспалительных реакций и апоптоза с участием интерлейкинов и фактора некроза опухоли (ФНО-α), которые играют ключевую роль в контроле важных функций организма [9,10]. Инициатором окислительного стресса являются активные формы кислорода, которые могут выступать в роли как цитотоксического, так и генотоксического фактора [11,12].

После контакта с клеточной мембраной события могут развиваться по одному из вероятных путей: наночастицы → окислительный стресс → нарушение окислительно-восстановительного баланса → сигнальные пути MAPK → транскрипционные факторы NF-κB, AP-1 → воспалительные реакции. Однако внутриклеточные медиаторы этих реакций могут значительно отличаться для разных наночастиц. Мембранный состав, мембранные домены или рафты, экстраклеточный белковый матрикс оказывают значительное влияние на последовательность событий после взаимодействия наночастиц с мембраной. Окислительный стресс, инициируемый наночастицами, активирует транскрипционный фактор NF-κB через отсоединение ингибиторной единицы IκB, в результате чего происходит транслокация NF-κB в ядро, где NF-κB индуцирует транскрипцию провоспалительных цитокинов, что в конечном счете приводит к воспалительной реакции [13].

К биомаркерам токсичности можно отнести NO-синтазу, белок теплового шока HSP70B, полифункциональный белок p53, выступающий в роли маркера апоптоза, маркеры воспали-

тельных реакций интерлейкины (ИЛ-6, ИЛ-8) и фактор некроза опухоли (ФНО-α) [14].

Для всесторонней оценки токсичности наноматериалов необходимо проводить скрининг их токсичности по ключевым параметрам: физико-химической характеристике наночастиц, а также анализу их эффектов *in vitro* и *in vivo*. Кроме того, важно оценить возможность таких системных ответов клетки на действие наночастиц, как окислительный стресс и воспалительная реакция.

Вопрос о влиянии наночастиц на экспрессию генов биомаркеров важнейших клеточных процессов остается малоизученным, в связи с чем актуальность данной проблемы очевидна и наши исследования были направлены на выяснение молекулярно-генетических механизмов токсичности наночастиц.

Целью работы является исследование воздействия наночастиц серебра (AgNP) и наночастиц диоксида титана (TiO₂) на экспрессию генов биомаркеров воспалительных реакций и апоптоза в лимфоцитах человека.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования использовали лимфоциты периферической крови здоровых доноров, полученной в Республиканском научно-практическом центре трансфузиологии и медицинских биотехнологий. Наночастицы серебра размером 5–20 нм были изготовлены в Институте технологии окружающей среды Вьетнамской академии наук и технологии методом обратного мицеллообразования. Метод обратного мицеллообразования основан на образовании наночастиц в системе водно-углеводной микроэмульсии в присутствии поверхностно-активного вещества. Форма мицелл зависит от геометрического соотношения P [15]:

$$P = v/(a \cdot l),$$

где l , v – длина и объем гидрофобного хвоста углевода, a – поперечное сечение гидрофильной головки углевода.

При производстве наночастиц AgNP использовали AgNO₃ в качестве источника ионов серебра, хитозан – в качестве стабилизатора, NaBH₄ и кверцетин – как восстановители, СТАВ (бромистый цетилтриметиламмоний), SDOSS (диоктилсульфосукцинат натрия) и АОТ (бис(2-этилгексил)сульфосукцинат) – как поверхностно-активные вещества [16]. На микрофотографии наночастицы серебра выглядят в виде круглых пятен с диаметром от 5 до 20 нм (рис. 1).

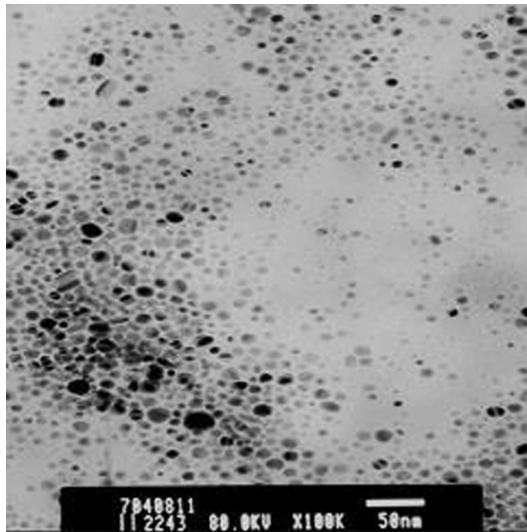


Рис. 1. Микрофотография наночастиц серебра, полученных методом обратного мицеллообразования.

В экспериментах также использовали коммерческий препарат наночастиц диоксида титана размером ~ 21 нм (Sigma, США).

Получение лимфоцитов проводили согласно стандартной методике выделения мононуклеаров периферической крови в градиенте плотности смеси фиколл-урографин [17].

РНК выделяли из лимфоцитов периферической крови с помощью набора GeneJet RNA purification kit (Fermentas, Литва). После этого осадок промывали 70% спиртом, осаждали, подсушивали, растворяли в 40 мкл воды и использовали для синтеза кДНК. Далее измеряли концентрацию РНК на приборе NanoDrop 2000. Доведя ее концентрацию до 150 нг/мкл, на матрице РНК методом обратной транскрипции с oligo(dT) праймерами получали кДНК в соответствии с протоколом производителя (Fermentas). После синтеза кДНК измеряли кон-

центрацию полученного продукта и проводили выравнивание концентрации кДНК в образцах по поглощению при $\lambda = 260$ нм.

Обработку лимфоцитов наночастицами проводили в CO_2 -инкубаторе при 37°C в питательной среде RPMI 1640, содержащей 0,3 мг/мл L-глутамина, 5 мМ HEPES-буфера, 10% инактивированную бычью сыворотку, пенициллин (100 U/мл) и стрептомицин (100 U/мл). По истечении времени воздействия лимфоциты отмывали от наночастиц.

Уровень экспрессии генов определяли по критерию транскрипции при проведении ПЦР в реальном времени. Для количественной оценки полученных результатов использовали анализ экспрессии генов методом $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ [18].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

С целью изучения экспрессии генов, вовлеченных в процессы, связанные с сигнальной трансдукцией воспалительных реакций и апоптоза, инициируемых наночастицами, проведен анализ структуры генов ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- α и p53. В базе данных GenBank были выбраны нуклеотидные последовательности, соответствующие мРНК исследуемых генов человека: M54894.1 – ИЛ-6, NM_000584.3 – ИЛ-8, AV082923.1 – p53 и NM_000594.3 – TNF- α . На основе анализа их нуклеотидных последовательностей проведен расчет и синтез праймеров с использованием программы Primer 3 (таблица).

Была исследована экспрессия генов ИЛ-6, ИЛ-8 и ФНО- α на контрольных образцах лимфоцитов и после воздействия наночастиц TiO_2 и серебра.

С праймерами на гены ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- α и p53 амплифицируются фрагменты ожидаемого размера 193, 300, 80 и 199 п.о. соответст-

Праймеры, используемые в работе

Специфичность к кДНК генов	Последовательность праймеров	
ФНО- α	TNF α -F	5'-AATAAATCATAATGCCCAATCCSTTTATT-3'
	TNF α -R	5'-AATAAATCATAAATAAGCCCCCAATTCTCT-3'
ИЛ-6	ИЛ-6-F	5'-TCTCCACAAGCGCCTTTCG-3'
	ИЛ-6-R	5'-CTCAGGGCTGAGATGCCG-3'
ИЛ-8	ИЛ-8-F	5'-GTGTAACATGACTTCCAAGCTGG-3'
	ИЛ-8-R	5'-TCTCAGCCCTTTCAAAACTTCTC-3'
p53	p53-F	5'-TTGCCGTCCCAAGCAATGGATGA-3'
	p53-R	5'-TCTGGGAAGGGACAGAAGATGAC-3'
18SrRNA	18SrRNA-F	5'-GGACCAGAGCGAAAGCATTTGC-3'
	18SrRNA-R	5'-CGCCAGTCGGCATCGTTTATG-3'

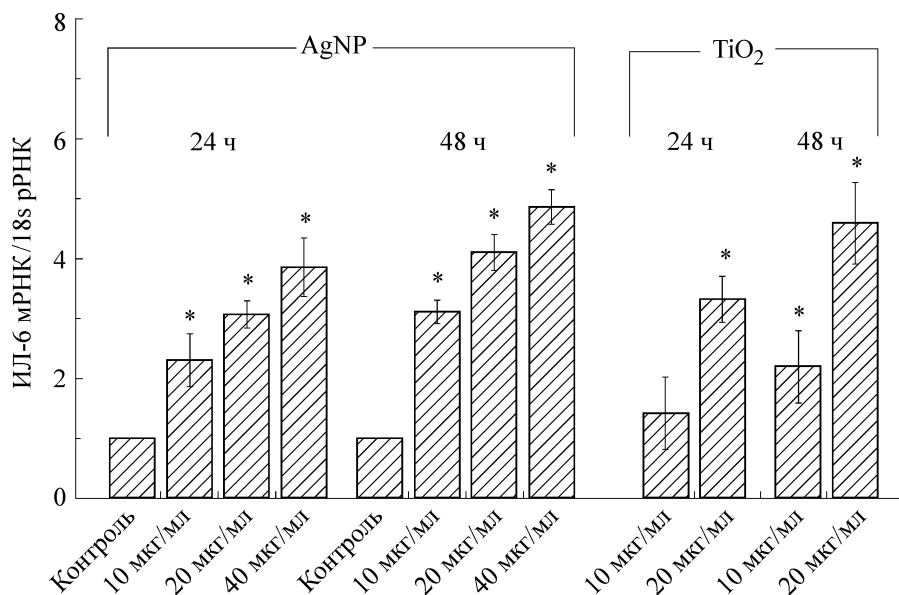


Рис. 2. Влияние различных концентраций и времени воздействия наночастиц серебра и диоксида титана на экспрессию генов ИЛ-6 в лимфоцитах человека.

венно. В качестве гена нормализатора использовали ген 18S rRNA.

Нами было проведено определение уровня экспрессии генов ИЛ-6, ИЛ-8 и ФНО- α в лимфоцитах человека после воздействия на них AgNP и TiO₂.

Интерлейкин-6 – один из белков межклеточного взаимодействия (цитокинов), который синтезируется активированными макрофагами и клетками и стимулирует иммунный ответ при воспалении [19]. Повышение содержания ИЛ-6 в крови наблюдается при воспалительных процессах, инфекциях, травмах и при длительных стрессах.

Показано увеличение уровня экспрессии гена ИЛ-6 в пробах после 48-часовой инкубации образцов с AgNP и TiO₂ (диапазон концентраций 10–20 мкг/мл), а при концентрации наночастиц 20 мкг/мл – после 24-часовой инкубации (рис. 2).

Интерлейкин-8 – один из основных провоспалительных хемокинов, и его основная роль заключается в опосредовании воспалительного ответа [19].

В результате проведенных экспериментов было также выявлено статистически достоверное увеличение уровня экспрессии гена ИЛ-8 под влиянием AgNP при всех используемых концентрациях при 24-часовой и 48-часовой инкубации, а для TiO₂ – при концентрации 20 мкг/мл при таком же времени инкубации (рис. 3). Следует отметить, что уровень экспрессии генов ИЛ-6 и ИЛ-8 в ответ на воздей-

ствии наночастиц серебра и диоксида титана изменялся при данных условиях практически одинаково.

На культуре клеток кератиноцитов показано, что воздействие многостенных углеродных трубок приводит к изменению экспрессии 36 белков, в том числе ИЛ-8, ИЛ-6 [20]. Имеются также данные о стимуляции транскрипции провоспалительных генов ИЛ-8, ИЛ-6 и ФНО- α через активацию наночастицами внутриклеточных сигнальных путей с участием MAP-киназ и ядерного фактора (NF- κ B) [21].

Фактор некроза опухоли ФНО- α , чрезвычайно важный и плейотропный цитокин, является одним из основных маркеров воспалительных реакций организма, образующихся в макрофагах, эозинофилах и естественных киллерах и обладает противоопухолевым эффектом [22]. Свои функции ФНО- α осуществляет через клеточный рецептор p55 (TNFR1), который экспрессируется во многих типах клеток, что и объясняет плейотропность действия ФНО. Рецепторы семейства ФНО- α через свою систему адаптерных молекул рекрутируют и активируют сигнальные киназы, которые в конечном итоге активируют факторы транскрипции двух важнейших семейств: NF- κ B и AP-1.

При определении влияния наночастиц AgNP и TiO₂ на уровень экспрессии гена ФНО- α в лимфоцитах установлено, что оба вида наночастиц приводят к увеличению уровня экспрессии данного гена (рис. 4). При этом значительную роль играет время воздействия. При кон-

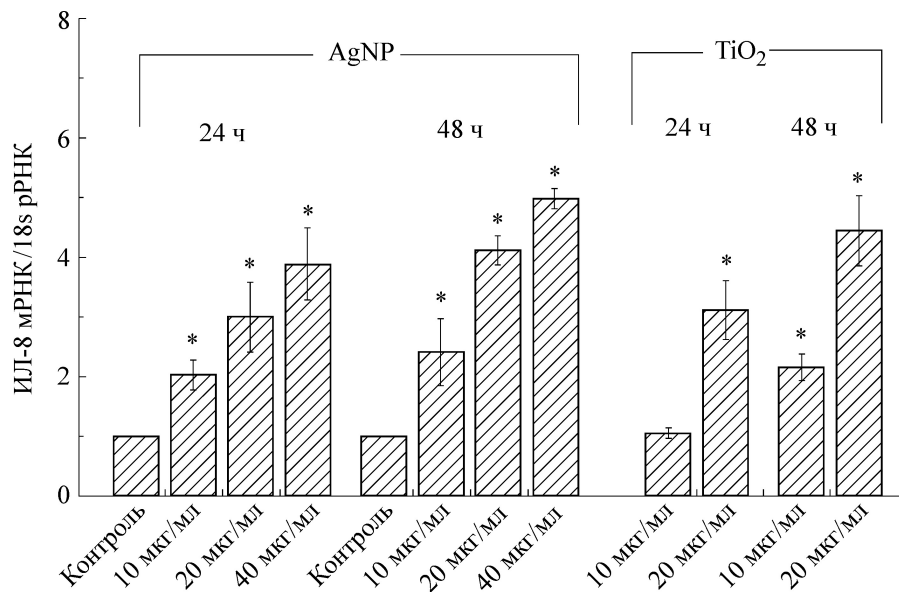


Рис. 3. Влияние различных концентраций и времени воздействия наночастиц серебра и диоксида титана на экспрессию гена ИЛ-8 в лимфоцитах человека.

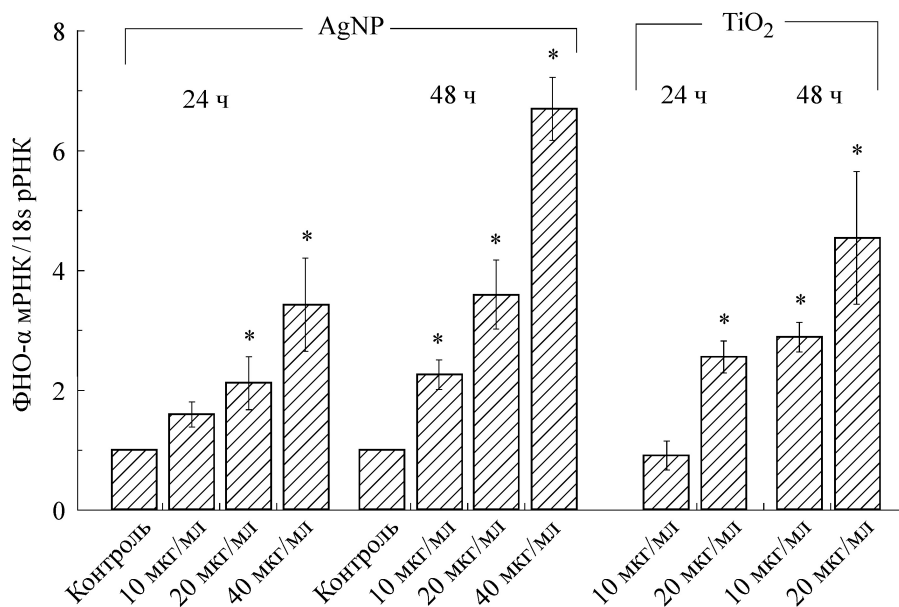


Рис. 4. Влияние различных концентраций и времени воздействия наночастиц серебра и диоксида титана на экспрессию гена ФНО-α в лимфоцитах человека.

центрации AgNP 20 и 40 мкг/мл и времени воздействия 48 ч уровень экспрессии ФНО-α увеличивается в 3,5 и 6,5 раз, а при концентрации наночастиц TiO₂ 10 и 20 мкг/мл – в 2,75 и 4,5 раза соответственно, что может свидетельствовать об активации иммунной системы.

В клеточной культуре перевиваемых клеток фибробластов эмбриона человека ранее было отмечено, что наночастицы окислов металлов Cu и Fe способствуют активации транскрипции

генов ИЛ-2, ИЛ-6 и ФНО-α, являющихся в условиях организма показателями функциональной активности клеток Т-хелперов Th1 и Th17 [23].

У млекопитающих существует система проапоптотических генов, главная функция которых заключается в контроле целостности ДНК. Одним из ключевых в этой системе является ген p53 [24]. Функция p53 заключается в обеспечении оптимальной сбалансированно-

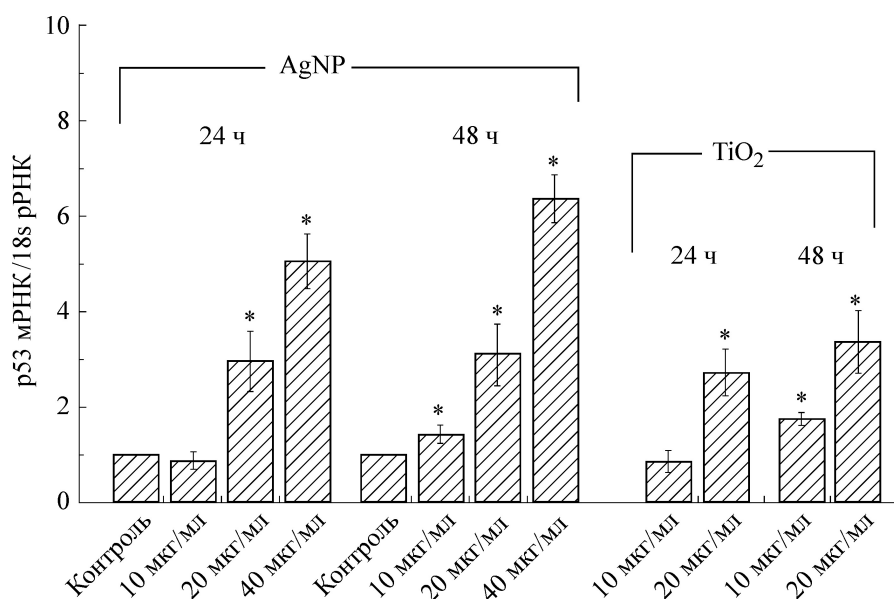


Рис. 5. Влияние различных концентраций и времени воздействия наночастиц серебра и диоксида титана на экспрессию генов p53 в лимфоцитах человека.

сти всех процессов во всех тканях и при любых условиях, в том числе процессов репарации ДНК, регуляции гликолитического и аэробного метаболизма, регуляции уровней основных метаболитов, а также уровней кислородных радикалов [25]. Можно условно выделить два различающихся режима функционирования p53. При умеренных стрессах, физиологических нагрузках, нарушениях диеты, незначительных воспалительных процессах и т.п. в пределах физиологически допустимых отклонений действие p53 при его сравнительно низком, базовом, уровне активности направлено на обеспечение гомеостаза, поддержание адекватного уровня репарации и защиты генома от мутагенных воздействий со стороны избытка кислородных радикалов [26]. При превышении физиологически допустимого уровня повреждений в задачу p53 входит избавление от генетически опасных дефектных клеток, что достигается либо путем активации апоптоза, либо за счет терминального выхода клеток из процесса деления, что является формой генетической смерти [27]. Внешние сигналы запускают апоптоз через путь сигнальной трансдукции, которая включает стимулирование рецепторов, активацию каскадов протеинкиназ, а также высвобождение вторичных посредников транскрипционных факторов, которые усиливают или подавляют транскрипцию специфических генов [28]. В индукции апоптоза участвуют специальные гены-супрессоры и продуцируемые ими белки Rb, p53. Они запускают апоптоз поврежденной клетки, при этом p53 индуцирует апоптоз в G₁/S-фазе кле-

точного цикла, а Rb в G₁/M-фазе клеточного цикла [29].

При исследовании влияния наночастиц AgNP и TiO₂ на уровень экспрессии p53 было показано, что обработка лимфоцитов наночастицами приводит к увеличению экспрессии данного гена при всех используемых концентрациях (рис. 5). Так, AgNP в концентрации 40 мкг/мл после 48-часовой обработки вызывает увеличение уровня экспрессии гена в 6,5 раз по отношению к контролю. Аналогичный эффект оказывают и наночастицы TiO₂. Уровень экспрессии гена после обработки TiO₂ в концентрации 20 мкг/мл увеличивается в 4,5 раза. Следует отметить, что изменение уровня экспрессии у генов ФНО- α и p53 при воздействии AgNP в концентрации 40 мкг/мл более выражено, чем у генов ИЛ-6 и ИЛ-8. Можно думать, что в ответ на действие наночастиц, выступающих в качестве повреждающего фактора, иммунные клетки выделяют большое количество высокоактивных химических соединений, в том числе цитокинов. Зарегистрированное нами увеличение уровня экспрессии гена p53 свидетельствует о том, что наночастицами активируются процессы апоптоза.

Генотоксический эффект наночастиц может проявляться как через прямое взаимодействие с ДНК, так и опосредовано через индуцированный наночастицами окислительный стресс. В наших экспериментах прямое воздействие наночастиц на структуру ДНК не было подтверждено экспериментами по внесению наночастиц в инкубационную среду для ПЦР, к тому же исследуемые гены расположены на различных

хромосомах, что делает маловероятным возможность непосредственного взаимодействия наночастиц с участками ДНК, в которых они локализованы. Наиболее вероятно, что повреждение ДНК при воздействии наночастиц может осуществляться в результате так называемой «окислительной атаки». Ранее нами показано, что наночастицы серебра при воздействии на лимфоциты человека в культуре клеток способны индуцировать образование активных форм кислорода [30]. Установлено также, что наночастицы TiO_2 способны индуцировать повреждение структуры ДНК в лимфоцитах человека [31]. Имеются литературные данные, свидетельствующие о морфологических нарушениях ультраструктуры ДНК и генерации 8-гидрокси-2-деоксигуанозина в культуре клеток кератиноцитов после обработки их наночастицами TiO_2 . Повышенный уровень 8-гидрокси-2-деоксигуанозина является отражением окислительных процессов в ДНК, индуцируемых наночастицами [32].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные данные показывают, что инкубация лимфоцитов с наночастицами серебра и диоксида титана приводит к стимуляции генов, кодирующих синтез провоспалительных цитокинов, таких как ИЛ-6 и ИЛ-8 и ФНО- α и проапоптотического гена p53. Можно предположить, что увеличение экспрессии гена ФНО- α приводит к активации факторов транскрипции NF- κ B, AP-1, которые в свою очередь регулируют активность генов медиаторов воспалительных реакций. В то же время известно, что ФНО- α способен усиливать экспрессию Fas-антигена на клетках-мишенях, подготавливая их тем самым к апоптозу. Увеличение экспрессии гена p53 наночастицами также свидетельствует об активации апоптоза. Данная ситуация может наблюдаться при хронических воспалительных реакциях, возникающих под влиянием наночастиц. Повреждение внутриклеточных структур высокоактивными эндогенными молекулами ведет либо к мутациям, либо к гибели клеток и даже к возникновению онкологических заболеваний.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. N. Lewinski, V. Colvin, and R. Drezek, *Small: nano micro* **4** (1), 26 (2008).
2. G. Oberdorster, E. Oberdorster, and J. Oberdorster, *Environmental Health Perspectives* **113** (7), 823 (2005).
3. О. А. Подколотная, Е. В. Игнатьева, Н. Л. Подколотный и др., *Успехи современной биологии* **132** (1), 3 (2012).
4. G. Oberdorster, A. Maynard, K. Donaldson, et al., *Particle and Fibre Toxicology* **2**, 8 (2005).
5. В. Н. Федосеева, Г. В. Порядин и Л. В. Ковальчук, *Руководство по иммунологическим и аллергологическим методам в гигиенических исследованиях* (Промедж, М., 1993).
6. A. Nemmar, P. Hoet, B. Vanquickenborne, and D. Dinsdale, *Circulation* **105** (4), 411 (2002).
7. В. А. Мордвинов и Д. П. Фурман, *Вестник ВОГиС*. **13** (1), 53 (2009).
8. S. K. Manna, S. Sarkar, and J. Barr, *Nano Lett.* **5** (9), 1676 (2005).
9. S. Haider and M. Knöfler, *Placenta* **30** (2), 111 (2009).
10. H. Brightbill and R. Modlin, *Immunology* **101**, 1 (2000).
11. E.-J. Park, J. Yi, Y. Kim, et al., *Toxicology in Vitro* **24**, 872 (2010).
12. P. V. Asha Rani, G. L. K. Mun, M. P. Hande, and S. Valiyaveetil, *ACS Nano* **3** (2), 279 (2009).
13. M. Y. Wani, M. A. Hashim, F. Nabi, and M. A. Malik, *Adv. Phys. Chem.* ID450912, (2011).
14. J. Okuda-Shimazaki, S. Takaku, K. Kanehira, et al., *Int. J. Mol. Sci.* **11**, 2383 (2010).
15. C. Petit, P. Loxon, and M. P. Pileni, *J. Phys. Chem.* **97**, 12974 (1993).
16. N. H. Chau, L. A. Bang, N. Q. Buu, et al., *Adv. Nat. Sci. (VAST)* **9** (2), 241 (2008).
17. Е. В. Жорник, Л. А. Баранова, А. М. Струкова и др., *Биофизика* **57** (3), 446 (2012).
18. T. D. Schmittgen and K. J. Livak, *Nature Protocols* **3**, 1101 (2008).
19. A. Mantovani, F. Bussolino, and M. Introna, *Immunol. Today* **18**, 231 (1997).
20. F. A. Witzmann, N. A. Monteiro-Riviere, *Nanomedicine: Nanotech., Biol. and Med.* **2**, 158 (2006).
21. K. M. K. Rao, J. Y. C. Ma, T. Meighan, et al., *Environmental Health Perspectives* **113** (3), 612 (2005).
22. J. R. Bradley, *J. Pathol.* **214** (2), 149 (2008).
23. Л. И. Руссу, И. А. Суегина, Л. А. Потапова и др., *Сборник статей XXVI Международной конференции «Инновации в науке»* (Новосибирск, 2013), с. 23.
24. П. М. Чумаков, *Успехи биол. химии* **47**, 3 (2007).
25. П. М. Чумаков, *Биохимия* **65** (1), 34 (2000).
26. D. P. Lane, *Nature* **358**, 15 (1992).
27. J. A. Royds and B. Iacopetta, *Cell Death. Differ.* **13**, 1017 (2006).
28. K. H. Vousden, *Cell* **103**, 691 (2000).
29. E. S. Helton and X. J. Chen, *Cell Biochem.* **100**, 883 (2007).
30. Е. В. Жорник, Л. А. Баранова, Е. С. Дрозд и др., *Биофизика* **59** (3), 466 (2014).
31. Е. В. Жорник и Л. А. Баранова, в сб. *Материалы XI съезда БООФиб «Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем»* (Минск, 2014), с. 66.
32. R. Z. Rong, S. L. Wang, et al., *Materials Science and Engineering* **29**, 691 (2009).

Influence of Silver and Titanium Dioxide Nanoparticles on the Expression of Genes of Biomarkers of Inflammatory Responses and Apoptosis

L.A. Baranova, E.V. Zhornik, and I.D. Volotovskii

*Institute of Biophysics and Cell Engineering, National Academy of Sciences of Belarus,
ul. Akademicheskaya 27, Minsk, 220072 Belarus*

In order to evaluate the toxic effect of silver (AgNP) and titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles their influence on the expression of genes of biomarkers of inflammatory responses and apoptosis in human lymphocytes was studied. An increase in the IL-6, IL-8, TNF- α and p53 genes expression in the concentration range of silver and titanium dioxide nanoparticles of 10–40 $\mu\text{kg/ml}$ was found. Increased expression of IL-6, IL-8, TNF- α and p53 genes under the nanoparticles action indicates the stimulation of the immune system and of apoptosis, respectively.

Key words: silver nanoparticles, titanium dioxide nanoparticles, lymphocytes, IL-6, IL-8, TNF- α and p53 genes expression