

## Nanocząstki w zastosowaniach medycznych – kierunek przyszłości?

### Nanoparticles in medical applications – a direction of the future?

Klinika Pediatrii, Nefrologii i Alergologii Dziecięcej, Wojskowy Instytut Medyczny, Warszawa, Polska. Kierownik Kliniki: prof. dr hab. n. med. Anna Jung

Adres do korespondencji: Klinika Pediatrii, Nefrologii i Alergologii Dziecięcej CSK MON WIM, ul. Szaserów 128, 04-141 Warszawa, Polska, tel.: +48 22 681 72 36, faks: +48 22 681 67 63

Paediatric, Nephrology and Allergology Clinic, Military Institute of Medicine, Warsaw, Poland. Head of the Clinic: Professor Anna Jung, MD, PhD

Correspondence: Paediatric, Nephrology and Allergology Clinic, Military Institute of Medicine, Szaserów 128, 04-141 Warsaw, Poland, tel.: +48 22 681 72 36, fax: +48 22 681 67 63

#### Streszczenie

Metody wytwarzania nanocząstek, zwane nanotechnologiami, wzbudzają w ostatnich latach żywe zainteresowanie dzięki szerokim możliwościom zastosowania ich produktów w wielu dziedzinach, w tym w elektronice, informatyce, biotechnologii, medycynie, farmacji, kosmetologii i innych. Nanocząstki są definiowane jako cząstki, które mogą występować w różnych kształtach i których przynajmniej jeden z wymiarów jest mniejszy niż 100 nm. W zależności od procesu powstawania wyróżnia się nanocząstki naturalne, występujące w środowisku, oraz nanocząstki projektowane, będące wytworem działalności człowieka. Nanocząstki projektowane cechują szczególne właściwości fizyczne, które między innymi warunkują ich zastosowanie biomedyczne. Przykładem może być zastosowanie nanokompozytów srebra, które w postaci zmikronizowanej wykazują silne działanie bakteriostatyczne i bakteriobójcze. Duże zainteresowanie badaczy wzbudza również grafen, najnowsze dzieło nanotechnologii, posiadający unikalne właściwości mechaniczne i fizyczne. Dynamiczny rozwój wielu kierunków nowoczesnych technologii opartych na nanotechnologiach jest niewątpliwym wyznacznikiem postępu. Odkrycie unikalnych właściwości nanomateriałów otwiera szerokie możliwości wielu zastosowań, ale jednocześnie wymaga kompleksowych badań zapewniających bezpieczeństwo ich użytkowania.

**Słowa kluczowe:** nanocząstki, nanotechnologie, nanocząstki srebra, grafen, nanokompozyty

#### Abstract

Methods of producing nanoparticles, called nanotechnologies, have inspired lively interest over the recent years due to the broad possibilities for application of nanoparticles in numerous fields, including electronics, information technology, biotechnology, medicine, pharmacy, cosmetology and others. Nanoparticles are defined as particles which may occur in various shapes and which have at least one dimension smaller than 100 nm. Depending on the process of creation we can differentiate between natural nanoparticles occurring in the environment and designed nanoparticles, which are man-made. Designed nanoparticles are characterised by special physical properties which make them suitable for biomedical applications, among others. An example of such an application is the use of silver nanocomposites, which in a micronised form display a strong bacteriostatic and bactericidal effect. Graphene, the latest achievement of nanotechnology with unique mechanical and physical properties, is another material which raises much interest among researchers. The dynamic development of numerous directions in modern technologies based on nanotechnologies is an indisputable sign of progress. The discovery of the unique properties of nanomaterials opens wide possibilities for numerous applications; however, it also requires comprehensive research to ensure they are safe to use.

**Key words:** nanoparticles, nanotechnologies, silver nanoparticles, graphene, nanocomposites

Nowoczesne technologie, oparte na miniaturyzacji, doprowadziły do rozwoju technik umożliwiających powstanie coraz mniejszych struktur, o wielkości do 100 nm, zwanych nanocząstkami. Metody wytwarzania nanocząstek, zwane nanotechnologiami, budzą w ostatnich latach żywe zainteresowanie dzięki szerokim możliwościom zastosowania ich produktów w wielu dziedzinach (elektronice, optyce, biotechnologii, medycynie, farmacji i innych)<sup>(1)</sup>.

**Nanocząstki** definiowane są jako cząstki, których przynajmniej jeden wymiar zawiera się w przedziale poniżej 100 nm i które obejmują zarówno formy kuliste, włókniste, jak i całe warstwy<sup>(2)</sup>.

Wykryto, że wraz z miniaturyzacją zmieniają się właściwości cząstek, które jako nanocząstki rozwijają inne działania. Przykładem mogą być nanocząstki srebra, które jako nanokompozyty nabierają silnych właściwości przeciwbakteryjnych i mogą być wykorzystane w produktach medycznych, między innymi w materiałach opatrunkowych – jako środek bakteriostatyczny i bakteriobójczy są alternatywą dla antybiotyków i chemioterapeutyków<sup>(3)</sup>. Są to tzw. **nanocząstki projektowane**, które w odróżnieniu od **nanocząstek naturalnych** pojawiły się na skutek działalności człowieka. W klasyfikacji nanocząstek, w zależności od sposobu powstawania, wyróżnia się także **frakcję ultrafine**, często współistniejącą z większymi cząstkami, określaną jako produkt uboczny powstający podczas procesu tworzenia nanocząstek projektowanych (ryc. 1).

**Nanocząstki naturalne** szeroko występują w środowisku. Jednym ze źródeł ich powstawania jest proces erozji materiałów geologicznych, a także rozkład materiałów biologicznych, w tym głównie szczątków roślinnych. Pojawiają się spontanicznie na skutek utleniania substancji w fazie gazowej w atmosferze, występują też w dymach wulkanicznych. Nanocząstki uwalniane do środowiska w większości są niezamierzonym wytworem działalności człowieka. Powstają w wyniku procesów spalania, przede wszystkim z paliw pochodzenia mineralnego, ale również innych produktów opałowych. Podczas procesów spalania dochodzi do uwalniania dużej ilości nanocząstek poprzez kondensację gazów. Początkowo są to cząstki o średnicy około 10 nm, które następnie ulegają agregacji, tworząc większe struktury o wielkości do 100 nm, utrzymujące się w powietrzu nawet przez okres kilku tygodni. Innym źródłem są różne rozpylane płyny, z których uwalniane są nanocząstki po odparowaniu rozpuszczalnika. Z kolei w rolnictwie nanocząstki występują w bioaerozolach tworzonych przez pyłki roślinne i inne elementy organiczne<sup>(4,5)</sup>.

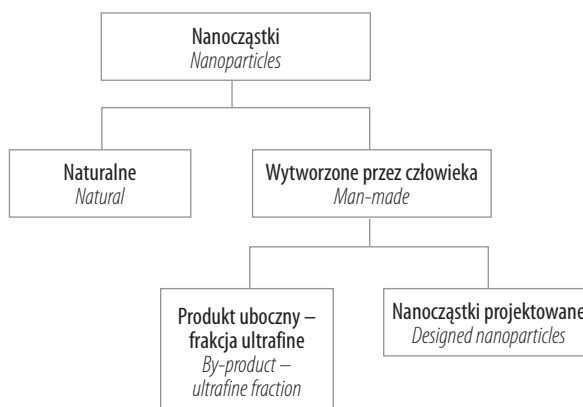
**Nanocząstki projektowane** cechują szczególne właściwości. Poza małymi rozmiarami mają relatywnie małą masę. Rozwijają tzw. efekt kwantowy, polegający na zmianie właściwości fizycznych, chemicznych i biologicznych, co przekłada się na zmienioną reaktywność, podwyższone zdolności adsorpcyjne i absorpcyjne. Wykazują większą odporność mechaniczną, niższą temperaturę topnienia, tendencję do szybkiej agregacji.

Modern technologies, which are based on miniaturisation, have led to the development of techniques used to create increasingly smaller structures of up to 100 nm in size, called nanoparticles. Methods of producing nanoparticles, called nanotechnologies, have inspired lively interest over the recent years due to the broad possibilities for application of nanoparticles in numerous fields (electronics, optics, biotechnology, medicine, pharmacy and others)<sup>(1)</sup>.

**Nanoparticles** are defined as particles wherein at least one dimension is within the range of below 100 nm and which occur in the form of spheres, fibres as well as whole layers<sup>(2)</sup>. It has been discovered that miniaturisation involves a change in the properties of particles, which display other effects as nanoparticles. For example, silver nanoparticles develop strong antibacterial properties as nanocomposites and may be used in medical products, such as dressings for example, as a bacteriostatic and bactericidal agent and are an alternative to antibiotics and chemical medicines<sup>(3)</sup>. These are the so-called **designed nanoparticles**, which unlike **natural particles** were created as a result of human activity. Based on the method of creation some nanoparticles are also classified as the **ultrafine fraction**, which often coexists with larger particles and which is defined as a by-product of producing designed nanoparticles (fig. 1).

**Natural nanoparticles** are widely present in the environment. One of the sources of their origin is the process of erosion of geological material as well as the decomposition of biological material, including mainly plant remains. Nanoparticles occur spontaneously through oxidation of gaseous substances in the atmosphere; they are also found in volcanic smoke.

Nanoparticles released to the environment are usually inadvertent products of human activity. They are formed during combustion processes, especially of mineral fuels, but also of other fuel products. During combustion large amounts of nanoparticles are released in the process of condensation of gases. Initially this involves particles approximately 10 nm



Ryc. 1. Podział nanocząstek ze względu na sposób powstawania wg Świdwińskiej-Gajewskiej<sup>(2)</sup>

Fig. 1. Division of nanoparticles by mode of origin by Świdwińska-Gajewska<sup>(2)</sup>

W zależności od wielkości i kształtu wśród nanocząstek projektowanych wyróżnia się: fulereny, nanorurki węglowe, kropki kwantowe, nanosfery, nanopręty, nanowłókna.

Szerokie zainteresowanie możliwościami, jakie niesie nanotechnologia, pozwala przypuszczać, że nanocząstki mogą w najbliższej przyszłości stać się stałym elementem naszego otoczenia. Wyraźnie widać to między innymi na przykładzie zastosowań w biologii i medycynie. I tak we fluorescencyjnym znakowaniu struktur biologicznych oraz komórek używane są kropki kwantowe, które są tworzone przez fluorescencyjne nanocząstki wzbudzone światłem UV<sup>(6)</sup>. Nanocząstki stanowią także cenne narzędzie w genomice i proteomice<sup>(7)</sup>. Są wykorzystywane w terapii genowej oraz w bezpośrednim, celowanym dostarczaniu cząstek leku do chorych tkanek<sup>(8,9)</sup>. Używa się ich przy produkcji materiałów do endoprotez, a w zastosowaniach ortopedycznych nanorurki węglowe służą do rekonstrukcji kości<sup>(10)</sup>.

Wśród nanokompozytów, których zastosowanie w medycynie budzi szczególnie duże nadzieje, wymienia się nanocząstki srebra oraz nanocząstki grafenu.

## NANOCZĄSTKI SREBRA

Metody otrzymywania nanokompozytów o właściwościach antybakteryjnych od kilkunastu lat są przedmiotem badań ośrodków naukowych na całym świecie. Zainteresowanie srebrem (Ag) wynika z jego silnych właściwości antybakteryjnych, przeciwgrzybiczych, przeciwprzetrwańcowych, a także przeciwwirusowych. Takie działanie rozwija srebro w postaci zmikronizowanej, ponieważ właściwości fizyczne zdyspergowanych metali w postaci nanocząsteczek różnią się od właściwości warstw metalicznych o strukturze ciągłej<sup>(11)</sup>.

Mechanizm aktywności przeciwbakteryjnej nanocząstek srebra jest złożony i nie do końca wyjaśniony. Przypuszcza się, że zachodzi oddziaływanie Ag z grupami tiolowymi w enzymach oddechowych bakterii. Ag przyłącza się do ścian komórek, powodując zmiany w ich przepuszczalności, co prowadzi do utraty substancji ważnych dla metabolizmu drobnoustroju lub niekontrolowanego pobierania składników środowiska.

Kędziora i wsp. w swoich badaniach nad wykorzystaniem materiałów opartych na częściowo zredukowanym tlenku grafenu z nanocząstkami srebra jako środków bakteriostatycznych i bakteriobójczych wykazali, że antybakteryjna skuteczność nanokompozytów srebra zależy od indywidualnych cech testowanego szczepu bakterii. Właściwości bakteriostatyczne i bakteriobójcze zaprojektowanych nanokompozytów wyznaczano, określając wartości minimalnego stężenia hamującego wzrost komórek bakteryjnych (*minimal inhibitory concentration*, MIC) oraz minimalnego stężenia bakteriobójczego (*minimal bactericidal concentration*, MBC) oznaczonych w warunkach *in vitro*.

Do badań wykorzystano szczepy bakteryjne: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*. Badany nanokompozyt grafen – srebro charakteryzowała wysoka

in diameter, which then aggregate to form larger structures of up to 100 nm, which remain in the air for as long as a few weeks' time. Another source of nanoparticles are sprayed liquids, from which they are released once the solvent evaporates. Nanoparticles are also found in agriculture where they occur in bioaerosols formed by plant pollen and other organic elements<sup>(4,5)</sup>.

**Designed nanoparticles** display special properties. In addition to a small size they also have a relatively low mass. They are characterised by the so-called quantum effect where by physical, chemical and biological properties are altered, which corresponds to a changed reactivity as well as higher adsorption and absorption abilities. They display higher mechanical resistance, a lower melting point and a tendency for rapid aggregation.

Based on the size and shape designed nanoparticles are divided into fullerenes, carbon nanotubes, quantum dots, nanospheres, nanorods and nanofibres.

The wide interest in the possibilities presented by nanotechnology is a reason to expect that in the nearest future nanoparticles may become a permanent part of our environment. This is evident in the case of applications in biology and medicine, among other fields. In fluorescent labelling of biological structures and cells quantum dots are used, which are formed by fluorescent nanoparticles excited by UV light<sup>(6)</sup>. Nanoparticles are also a valuable tool for genomics and proteomics<sup>(7)</sup>. They are used in gene therapy and for direct, targeted delivery of particles of a medicine to tissues affected by disease<sup>(8,9)</sup>. Nanoparticles are used in the production of endoprostheses and carbon nanotubes are used for bone reconstruction in orthopaedics<sup>(10)</sup>.

Nanocomposites whose application in medicine raises especially big hope are silver nanoparticles and graphene nanoparticles.

## SILVER NANOPARTICLES

Methods of creating nanocomposites with antibacterial properties have been a subject of interest of research centres all over the world for over a decade. The interest in silver (Ag) stems from its strong antibacterial, antifungal, anti-protozoal as well as antiviral properties. Silver demonstrates such an effect in a micronised form, since physical properties of metals dispersed as nanoparticles differ from the properties of metallic layers with a continuous structure<sup>(11)</sup>. The mechanism of antibacterial activity of silver nanoparticles is complex and not fully explained. It is suspected that Ag interferes with thiol groups in respiratory enzymes of bacteria. Ag binds to cell walls causing changes in their permeability, which causes the loss of substances important for the microbe's metabolism or uncontrolled absorption of substances from the environment.

Kędziora *et al.* in their research on the use of materials based on partly reduced graphene oxide and silver nanoparticles as bacteriostatic and bactericidal agents demonstrated that the antibacterial efficacy of silver nanocomposites

skuteczność bakteriostatyczna i bakteriobójcza wobec testowanych szczepów bakteryjnych. Zaobserwowano bardzo silną wrażliwość bakterii Gram-ujemnych (wartość MBC równa wartości MIC) wobec opracowanego nanokompozytu, nieco słabszą, ale również istotną wobec bakterii Gram-dodatnich<sup>(12)</sup>.

Podobnie silniejsze działanie bakteriobójcze nanokompleksu grafenu – srebro wobec bakterii Gram-ujemnych, w porównaniu z bakteriami Gram-dodatnimi, wykazali w swoich badaniach Bao i wsp.<sup>(13)</sup> W analizie uzyskanych wyników przedstawili, że nanokompozyt tlenek grafenu – srebro podczas czterogodzinnej inkubacji w stężeniu 45 µg/ml, w temperaturze 37°C, redukuje o 87% liczbę komórek bakterii *Staphylococcus aureus* oraz o 100% liczbę komórek bakterii *E. coli*<sup>(13)</sup>.

Z kolei inne badania<sup>(14,15)</sup> dotyczyły przeciwwirusowego działania nanocząstek srebra (AgNP). Istotą badań było określenie ich wpływu na zakażenie wirusem opryszczki genitalnej – HSV-2. Wirus ten, przechodząc przez błony śluzowe, zasiedla krzyżowe zwoje nerwowe i daje nawroty opryszczki genitalnej. Zakażenie HSV-2 stanowi znaczący problem epidemiczny, ponieważ występuje u 10–60% populacji, a w krajach rozwijających się nawet u 80% mieszkańców. Autorzy w swoich badaniach zastosowali nanokompozyty AgNP o wielkości 13 nm, 33 nm i 46 nm, stabilizowane za pomocą kwasu taninowego do testów prowadzonych na liniach keratynocytów. Wykazali, że nanocząstki o wielkości 13 nm i 33 nm całkowicie chroniły komórki keratynocytów przed zakażeniem HSV-2.

Podobnie obiecujące wydają się rezultaty badań na komórkach zakażonych wirusem HIV. W obecności AgNP komórki wirusa nie łączyły się z komórkami gospodarza, co więcej obserwowano zahamowanie rozwoju komórek HIV<sup>(11)</sup>.

## GRAFEN

Odkrycia nowej, alotropowej odmiany węgla zwanej grafenem dokonali w 2004 roku dwaj rosyjscy fizycy pracujący na Uniwersytecie w Manchesterze: Andriej Geim i Konstantin Novoselov<sup>(16)</sup>. O znaczeniu tego odkrycia dobitnie świadczy fakt przyznania obu uczonym Nagrody Nobla przez Królewską Akademię Nauk w 2010 roku.

Grafen, najnowsze dzieło nanotechnologii, posiada unikalne właściwości mechaniczne i fizyczne. Ma strukturę warstwy płasko ułożonych atomów węgla o grubości jednego nanometra, które tworzą płaską, dwuwymiarową siatkę o sześciokątnych oczkach przypominającą plaster miodu.

Grafen jest nietypowym materiałem określanym mianem 2D. Charakteryzuje się bardzo niskim ciężarem właściwym, niezwykłą wytrzymałością mechaniczną, wysokim przewodnictwem elektrycznym i cieplnym. Jest stokrotnie bardziej wytrzymały od stali, a jednocześnie elastyczny i rozciągliwy. Przewodzi elektryczność lepiej niż miedź czy srebro, transferuje elektrony sto razy szybciej niż krzem. Wykazuje właściwości hydrofobowe<sup>(17,18)</sup>.

depends on the individual properties of the tested strain of bacteria. Bacteriostatic and bactericidal properties of designed nanocomposites were determined by establishing minimal inhibitory concentration (MIC) affecting the development of bacteria cells and minimal bactericidal concentration (MBC) tested *in vitro*. The following bacterial strains were used in the studies: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. The investigated graphene-silver nanocomposite was characterised by high bacteriostatic and bactericidal efficacy against the tested strains of bacteria. Gram-negative bacteria were observed to have very strong sensitivity to the nanocomposite under development (MBC value equal to the MIC value), while the sensitivity of Gram-positive bacteria was slightly lower, but still significant<sup>(12)</sup>.

Similarly stronger bactericidal action of the graphene-silver nanocomplex towards Gram-negative bacteria in comparison to Gram-positive bacteria was demonstrated by Bao *et al.*<sup>(13)</sup> In the analysis of results they showed that a graphene oxide-silver nanocomposite during a four hours' long incubation at a concentration of 45 µg/ml and a temperature of 37°C reduced the number of *Staphylococcus aureus* cells by 87% and the number of *E. coli* cells by 100%<sup>(13)</sup>. Other studies<sup>(14,15)</sup> covered antiviral action of silver nanoparticles (AgNP). The goal of these studies was to determine the influence of these particles on genital herpes virus infection – HSV-2. When passing through mucous membranes, this virus colonises nerve ganglia and causes recurrence of genital herpes. HSV-2 infection is a significant epidemic problem, because it is present in 10–60% of the population and in developing countries this rate is as high as 80%. The authors of the studies used AgNP nanocomposites of 13 nm, 33 nm and 46 nm stabilised using tannic acid for tests on keratinocyte cell lines. They demonstrated that nanoparticles of 13 nm and 33 nm fully protected keratinocyte cells against HSV-2 infection.

Results of studies on cells infected with HIV appear similarly promising. In the presence of AgNP the cells of the virus did not bind with the host's cells; what is more, inhibition of HIV cells development was observed<sup>(11)</sup>.

## GRAPHENE

In 2004 two Russian physicists working at the University of Manchester – Andre Geim and Konstantin Novoselov – discovered a new allotropic variety of carbon called graphene<sup>(16)</sup>. The significance of this discovery is manifested by the fact that the two scientists received a Nobel Prize from the Royal Swedish Academy of Sciences in 2010.

Graphene, the latest product of nanotechnology, has unique mechanical and physical properties. It has a structure of a one nanometre thick layer of flatly distributed atoms of carbon, which form a flat, two-dimensional grid with hexagonal holes resembling a honey comb.

Graphene is an unusual material defined as a 2D material. It is characterised by very low specific weight, exceptional



W naturze czysty grafen nie występuje, ponieważ jego cienkie płatki w kontakcie z powietrzem gniotą się i zwijają. Dlatego poszukuje się nośników dla warstwy grafenu, które pozwolą na zachowanie jego właściwości. Jedną z metod, opracowaną w Instytucie Technologii Materiałów Elektronicznych przez polskiego badacza dr. inż. Włodzimierza Strupińskiego, polega na osadzeniu warstw grafenu na podłożu z węgliku krzemu i w 2011 roku została objęta międzynarodowym patentem. Inną technologią, zaproponowaną przez badaczy koreańskich, jest wytrącanie grafenu na nagrzaną miedzianą folię.

Do celów badawczych wykorzystuje się również prekursor do otrzymywania grafenu – tlenek grafenu. Nanowymiarowe płatki tlenku grafenu cieszą się dużym zainteresowaniem z uwagi na nieskomplikowany i wydajny proces syntezy oraz możliwości dyspergowania w środowisku wodnym. Znajdują również zastosowanie jako środki bakteriostatyczne, np. do systemów oczyszczania wody lub jako dodatek do materiałów opatrunkowych<sup>(19)</sup>.

Udowodniono, że grafen wykazuje silne właściwości bakteriostatyczne i bakteriobójcze, co w zestawieniu z jego pozostałymi cechami otwiera szerokie możliwości zastosowań biomedycznych. Mechanizm działania antybakteryjnego rozwija poprzez uszkodzający dla wielu szczepów bakteryjnych wpływ tlenu wprowadzanego do wnętrza komórek, a także przez fizyczne niszczenie błon komórkowych w kontakcie z ostrymi krawędziami nanocząstek<sup>(20)</sup>.

W ostatnich latach aplikacje biomedyczne grafenu są przedmiotem intensywnych badań i tematem realizowanych projektów przez wiele grup badaczy na świecie, co skutkuje dużą ilością obiecujących, ale ciągle jeszcze wstępnych wyników.

Trwają badania nad zastosowaniem grafenu jako nanośnika leków w onkologii – być może będą one przełomem w celowanej terapii nowotworów<sup>(21,22)</sup>. Wykazano, że grafen może być włączony w metody nowatorskich terapii, takich jak terapia fotodynamiczna czy terapia genowa<sup>(23)</sup>.

Na bazie grafenu tworzone są biosensory stosowane w testowaniu różnych biomolekuł i patogenów<sup>(24,25)</sup>.

Wyjątkowa wytrzymałość mechaniczna grafenu stała się inspiracją do zastosowań w ortopedii, gdzie nanorurki węglowe mogą służyć jako wzmocnienie struktur układu kostnego, a nanocząstki grafenu są wykorzystywane przy produkcji endoprotez<sup>(10)</sup>.

Innym nurtem są badania nad bezpieczeństwem zastosowania nanocząstek grafenu w materiałach biologicznych. Nanomateriały, w porównaniu z większymi cząstkami, mają większą powierzchnię w stosunku do masy, co wpływa na właściwości i sposób oddziaływania z organizmami żywymi, a także na toksyczność. Jednym z zastosowanych rozwiązań jest utworzenie pegylowanej formy nanografenu. Jest to metoda używana w badaniach *in vitro* w celu wygaszania toksyczności linii komórkowych<sup>(26)</sup>. Kolejnym kierunkiem jest poszukiwanie i opracowanie materiałów,

mechanical resistance and high electrical and thermal conductivity. It is a hundred times more resistant than steel and at the same time it is flexible and extendible. It conducts electricity better than copper or silver and transfers electrons at a hundred times higher rate than silicon. It shows hydrophobic properties<sup>(17,18)</sup>.

Pure graphene is not found in the natural environment, since its fine flakes bend and roll up following contact with air. For this reason there is a search for carriers for layers of graphene which would allow for the preservation of its properties. One method was developed in the Institute of Electronic Materials Technology in Poland by a Polish researcher dr inż. Włodzimierz Strupiński and consists in placing layers of graphene on a silicon carbide bed. It was covered by an international patent in 2011. Another technology, proposed by Korean researchers, involves precipitating graphene on a heated copper foil.

For research purposes graphene oxide is used as a precursor for graphene formation. Nanodimensional graphene oxide flakes attract wide interest due to a simple and efficient process of their synthesis and the possibility of their dispersal in water. They are also applied as bacteriostatic agents e.g. in water treatment systems and as an additive to dressing materials<sup>(19)</sup>.

It has been demonstrated that graphene displays strong bacteriostatic and bactericidal properties, which, in combination with other properties of graphene, create wide possibilities for biomedical applications. The mechanism of antibacterial action of graphene involves destructive influence on numerous bacterial strains of oxygen introduced into the inside of the cells as well as physical damage to cell membranes inflicted by sharp edges of the nanoparticles<sup>(20)</sup>. Over the recent years biomedical applications of graphene have been the subject of intensive research and projects conducted by numerous groups of researchers in the world, which results in a large number of promising, but still preliminary results.

Research is under way on the use of graphene as a nanocarrier of medicines in oncology – this will probably be a breakthrough in targeted cancer therapy<sup>(21,22)</sup>. It has been demonstrated that graphene can be included in innovative therapy methods such as photodynamic therapy or gene therapy<sup>(23)</sup>.

Biosensors used for testing various biomolecules and pathogens are being developed on the basis of graphene<sup>(24,25)</sup>.

The exceptional mechanical resistance of graphene has become an inspiration for orthopaedic applications whereby carbon nanotubes can serve as a reinforcement for the skeletal system structures and graphene nanoparticles are used for the production of endoprostheses<sup>(10)</sup>.

Another line of research covers the safety of using graphene nanoparticles in biological materials. Nanomaterials in comparison with larger particles have a larger area in relation to their mass, which determines their properties, their influence on living organisms and their toxicity. One of the solutions in use is the development of a pegylated

które będą spowalniać uwalnianie nanocząstek grafenu do środowiska.

### CZY PRODUKTY NANOTECHNOLOGII MOGĄ STANOWIĆ ZAGROŻENIE DLA ZDROWIA?

Nanomateriały mogą przedostawać się do organizmu drogą inhalacyjną, pokarmową oraz przez skórę.

Największe zagrożenie stanowi ekspozycja inhalacyjna, ponieważ nanocząstki mają zdolność przenikania przez komórki nabłonka dróg oddechowych – zależy ono od długości okresu ekspozycji oraz stężenia nanocząstek w powietrzu inhalowanym. Takie zagrożenie stwarza nawet najbliższe środowisko człowieka, a w nim obecność m.in. nanocząstek powstałych podczas spalania paliw pochodzenia mineralnego w silnikach samochodowych, z produktów opałowych czy utleniania lotnych produktów pochodzenia naturalnego.

Ilość nanocząstek obecnych w powietrzu w środowiskach miejskich i wiejskich, w zależności od warunków, wynosi  $10^6$ – $10^8$  nanocząstek na litr.

Zwiększone stężenie nanocząstek występuje w środowiskach niektórych miejsc pracy, w tym w przemyśle chemicznym, farmaceutycznym i kosmetycznym, w gałęziach przemysłu zajmujących się materiałami w postaci pyłów i innych procesach z udziałem nanocząstek jako półproduktów<sup>(27)</sup>.

Informacje dotyczące potencjalnego narażenia na nanocząstki drogą pokarmową są bardzo ograniczone. Wiadomo, że przez warstwę śluzu przechodzą do enterocytów tylko małe cząstki, większe, o średnicy 1000 nm, nie przekraczają bariery śluzowej. Również nanocząstki o ładunku dodatnim są wychwytywane przez ujemnie naładowaną warstwę śluzu i nie docierają do enterocytów<sup>(28)</sup>.

Nanocząstki są szeroko reprezentowane w kosmetologii w postaci liposomów, cząstek polimerów czy nanocząstek ditlenku tytanu ( $\text{TiO}_2$ ) stosowanych w filtrach ochronnych przeciw promieniowaniu UV. Nie wykazano szkodliwych następstw penetracji nanocząstek przez skórę. Badania z zastosowaniem mikroskopii optycznej i elektronowej wykazały, że nanocząstki stosowane w preparatach kosmetycznych odkładają się wyłącznie na zewnętrznej powierzchni warstwy rogowej naskórka i nie wykryto ich w głębszych warstwach naskórka ani w skórze właściwej<sup>(29,30)</sup>.

Dynamiczny rozwój wielu kierunków nowoczesnych technologii opartych na nanotechnologiach jest niewątpliwym wyznacznikiem postępu. Odkrycie unikalnych właściwości nanomateriałów, na przykład takich, jakie posiada grafen, otwiera szerokie możliwości wielu zastosowań, ale jednocześnie wymaga kompleksowych badań zapewniających bezpieczeństwo ich użytkowania.

#### Konflikt interesów

*Autorka nie zgłasza żadnych finansowych ani osobistych powiązań z innymi osobami lub organizacjami, które mogłyby negatywnie wpłynąć na treść publikacji oraz rościć sobie prawo do tej publikacji.*

form of nanographene. This method is used in *in vitro* studies in order to reduce toxicity of cell lines<sup>(26)</sup>. Another direction is searching for and developing materials that will decelerate the release of graphene nanoparticles into the environment.

### CAN PRODUCTS OF NANOTECHNOLOGY POSE A RISK TO THE ENVIRONMENT?

Nanomaterials can enter the body through inhalation, ingestion or via the percutaneous route.

The biggest risk is posed by exposure through inhalation, since nanoparticles have the ability to pass through the epithelium of the respiratory tract. It depends on the length of exposure and the concentration of nanoparticles in the inhaled air. Such a risk is present even in the immediate human environment, where nanoparticles are present which are formed during the combustion of fuel of mineral origin in car engines and which originate from fuel products or from the oxidation of gaseous products of natural origin. The amount of nanoparticles present in the air in urban and rural environments, depending on the conditions, is  $10^6$ – $10^8$  of nanoparticles per litre.

There is an increased concentration of nanoparticles in some work environments, including the chemical, pharmaceutical and cosmetic industries as well as those industries in which particulate materials are used and processes using nanoparticles as intermediates are applied<sup>(27)</sup>.

Information on the potential exposure to nanoparticles through the digestive tract is very limited. It is known that only small particles enter the enterocytes through the mucus layer, while larger particles – 1000 nm in diameter – do not cross the mucus barrier. Positively charged nanoparticles are also caught by a negatively charged layer of mucus and do not reach the enterocytes<sup>(28)</sup>.

Nanoparticles are widely represented in cosmetology in the form of liposomes, polymer particles and titanium dioxide ( $\text{TiO}_2$ ) nanoparticles used in protective filters against UV rays. No harmful effect of nanoparticles penetrating the skin has been demonstrated. Studies using optical and electron microscopies have demonstrated that nanoparticles used in cosmetic preparations are deposited exclusively on the external surface of the stratum corneum of the epithelium and they were not detected in deeper layers of the epithelium or in the dermis<sup>(29,30)</sup>.

The dynamic development of numerous directions of modern technologies based on nanotechnologies is an indisputable sign of progress. The discovery of the unique properties of nanomaterials such as those of graphene opens wide possibilities for numerous applications; however, it also requires comprehensive research to ensure they are safe to use.

#### Conflict of interest

*The author does not report any financial or personal affiliations to persons or organisations that could negatively affect the content of this publication or claim to have rights to this publication.*

## Piśmiennictwo/References

- Priestly BG, Harford AJ, Sim MR: Nanotechnology: a promising new technology – but how safe? *Med J Aust* 2007; 186: 187–188.
- Świdwińska-Gajewska AM: Nanocząstki (część 1) – produkt nowoczesnej technologii i nowe zagrożenie w środowisku pracy. *Med Pr* 2007; 58: 243–251.
- Lansdown AB: Silver in health care: antimicrobial effects and safety in use. *Curr Probl Dermatol* 2006; 33: 17–34.
- Wagner AL, Cooper S, Riedlinger M: Natural nanotubes enhance biodegradable and biocompatible nanocomposites; nanotubes in halloysite clay may provide increased strength and new capabilities for consumer product, packaging, medical, and other applications. *Ind Biotechnol* 2005; 1: 190–193.
- Zhiqiang Q, Siegmund K, Keller A *et al.*: Nanoparticle air pollution in major cities and its origin. *Atmos Environ* 2000; 34: 443–451.
- Pinaud F, Michalet X, Bentolila LA *et al.*: Advances in fluorescence imaging with quantum dot bio-probes. *Biomaterials* 2006; 27: 1679–1687.
- Chow DC, Johannes MS, Lee WK *et al.*: Nanofabrication with biomolecules. *Nano Today* 2005; 8: 30–39.
- Salata O: Applications of nanoparticles in biology and medicine. *J Nanobiotechnology* 2004; 2: 3.
- Win KY, Feng SS: Effects of particle size and surface coating on cellular uptake of polymeric nanoparticles for oral delivery of anticancer drugs. *Biomaterials* 2005; 26: 2713–2722.
- Kubota S, Johkura K, Asanuma K *et al.*: Titanium oxide nanotubes for bone regeneration. *J Mater Sci Mater Med* 2004; 15: 1031–1035.
- Sionkowski G, Kaczmarek H: Polimery z nanocząstkami srebra – wybrane układy – otrzymywanie, właściwości, zastosowania. *Polimery* 2010; 55: 545–551.
- Kędziora A, Gerasymchuk Y, Sroka E *et al.*: Wykorzystanie materiałów opartych na częściowo zredukowanym tlenku grafenu z nanocząstkami srebra jako środków bakteriostatycznych i bakteriobójczych. *Polim Med* 2013; 43: 129–134.
- Bao Q, Zhang D, Qi P: Synthesis and characterization of silver nanoparticle and graphene oxide nanosheet composites as a bactericidal agent for water disinfection. *J Colloid Interface Sci* 2011; 360: 463–470.
- Orlowski P, Krzyżowska M, Winnicka A *et al.*: Toxicity of silver nanoparticles in monocytes and keratinocytes: potential to induce inflammatory reactions. *Centr Eur J Immunol* 2012; 37: 123–130.
- Orlowski P, Krzyżowska M, Zdanowski R *et al.*: Assessment of in vitro cellular responses of monocytes and keratinocytes to tannic acid modified silver nanoparticles. *Toxicol In Vitro* 2013; 27: 1798–1808.
- Novoselov KS, Geim AK, Morozov SV *et al.*: Electric field effect in atomically thin carbon films. *Science* 2004; 306: 666–669.
- Loh KP, Bao Q, Ang PK *et al.*: The chemistry of graphene. *J Mater Chem* 2010; 20: 2277–2289.
- Geim AK: Graphene: status and prospects. *Science* 2009; 324: 1530–1534.
- Chook SW, Chia CH, Zakaria S *et al.*: Antibacterial performance of Ag nanoparticles and AgGO nanocomposites prepared via rapid microwave-assisted synthesis method. *Nanoscale Res Lett* 2012; 7: 541.
- Hu W, Peng C, Luo W *et al.*: Graphene-based antibacterial paper. *ACS Nano* 2010; 4: 4317–4323.
- Zhang L, Xia J, Zhao Q *et al.*: Functional graphene oxide as a nanocarrier for controlled loading and targeted delivery of mixed anticancer drugs. *Small* 2010; 6: 537–544.
- Yang X, Zhang X, Liu Z *et al.*: High-efficiency loading and controlled release of doxorubicin hydrochloride on graphene oxide. *J Phys Chem C* 2008; 112: 17554–17558.
- Yang K, Zhang S, Zhang G *et al.*: Graphene in mice: ultrahigh in vivo tumor uptake and efficient photothermal therapy. *Nano Lett* 2010; 10: 3318–3323.
- Zhou M, Zhai Y, Dong S: Electrochemical sensing and biosensing platform based on chemically reduced graphene oxide. *Anal Chem* 2009; 81: 5603–5613.
- Jung JH, Cheon DS, Liu F *et al.*: A graphene oxide based immune-biosensor for pathogen detection. *Angew Chem Int Ed Engl* 2010; 49: 5708–5711.
- Liu Z, Robinson JT, Sun X *et al.*: PEGylated nanographene oxide for delivery of water-insoluble cancer drugs. *J Am Chem Soc* 2008; 130: 10876–10877.
- Maynard AD, Kuempel ED: Airborne nanostructured particles and occupational health. *J Nanopart Res* 2005; 7: 587–614.
- Hussain N, Jaitley V, Florence AT: Recent advances in the understanding of uptake of microparticulates across the gastrointestinal lymphatics. *Adv Drug Deliv Rev* 2001; 50: 107–142.
- Schulz J, Hohenberg H, Pflücker F *et al.*: Distribution of sunscreens on skin. *Adv Drug Deliv Rev* 2002; 54 Suppl 1: S157–S163.
- Jenning V, Gysler A, Schäfer-Korting M *et al.*: Vitamin A loaded solid lipid nanoparticles for topical use: occlusive properties and drug targeting to the upper skin. *Eur J Pharm Biopharm* 2000; 49: 211–218.