

2013 научно-практический рецензируемый журнал

НАНОТЕХНОЛОГИИ И ОХРАНА ЗДОРОВЬЯ

ТОМ V

№ 4 (17)



НС «МБЗ» и Издательский Дом «ВЕЛТ» представляют новую книгу

«Рекомендации населению по защите в чрезвычайных ситуациях природного характера»



VELT·VELT
ИЗДАТЕЛЬСКИЙ ДОМ

www.velt-media.ru

✓ Книга подготовлена к изданию Национальным союзом «Медико-биологическая защита», Всероссийским центром медицины катастроф (ВЦМК) «Защита» и Издательским Домом «ВЕЛТ».



Книга издана в рамках Программы социально значимых проектов, удостоенных Гранта Президента РФ под общей редакцией директора ВЦМК «Защита», генерал-майора медицинской службы запаса, заслуженного деятеля науки РФ, академика РАМН, профессора, доктора медицинских наук С. Ф. Гончарова.

✓ Книга «Рекомендации населению по защите в чрезвычайных ситуациях природного характера» – это полезное научно-популярное пособие по выживанию в различных экстремальных ситуациях. В книге подробно описаны причины и следствия возникновения чрезвычайных ситуаций природного характера, даны полезные советы и рекомендации по правилам поведения.

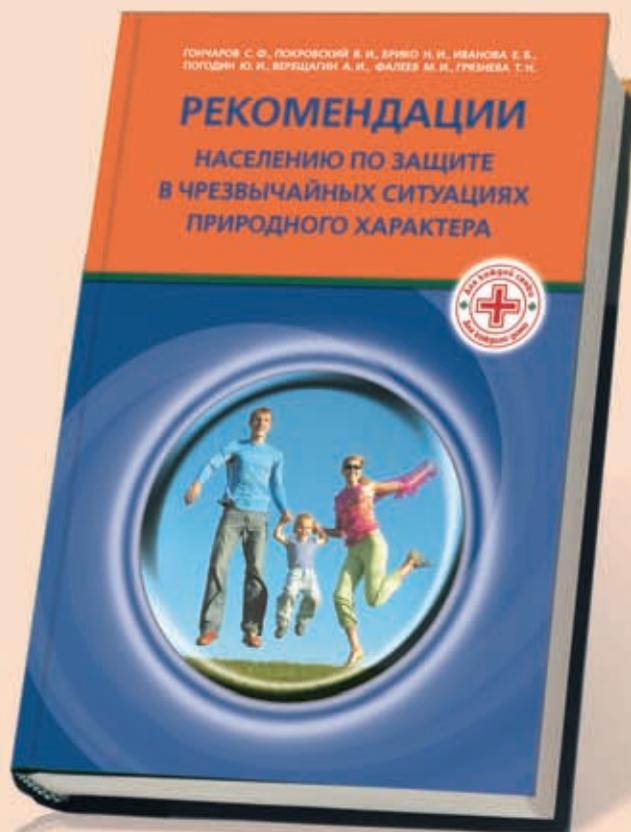
✓ В книге также рассказывается о том, в чём заключается опасность стихийных бедствий и что делать, если неожиданно наступила беда; как оказать первую помощь пострадавшим и уберечься от различных последствий ЧС, в том числе инфекционных заболеваний.

✓ Новая книга – это качественное, полноцветное издание объёмом 560 страниц, которое является наглядно проиллюстрированной энциклопедией подробных рекомендаций специалистов по оказанию первой помощи населению в чрезвычайных ситуациях, с которыми люди могут столкнуться как в повседневной жизни, так и при возникновении различных катастроф и стихийных бедствий.

✓ Важно помнить, что природа – это не только красота, приносящая нам радость и огромную пользу. Она может быть грозным и опасным явлением, которое приводит к большим катастрофам и гибели людей. В этих условиях мы должны быть готовы противостоять разбушевавшейся стихии, уметь не только спасти жизни свои и своих близких, но и сохранить самое дорогое – здоровье.

✓ Помните: если вы владеете современными приёмами само- и взаимопомощи, у вас намного больше шансов спасти себя и прийти на помощь другим!

✓ Будем также благодарны за ваши пожелания и рекомендации по совершенствованию и развитию темы обеспечения безопасности жизни и здоровья людей в различных экстремальных ситуациях любого происхождения.



**Книга — достойный подарок
каждой семье и каждому дому,
помогающий освоить правила
и приёмы оказания первой
помощи себе и своим близким!**

По вопросам приобретения книги можно обратиться:

по телефонам: +7 (495) 739-56-42 (43,44), +7 (495) 449-20-45, 8 (909) 163-25-37, 8 (963) 621-71-86

по e-mail: red1@velt-media.ru, red3@velt-media.ru

по почте: 119517, Россия, Москва, ул. Нежинская, д. 14, корп. 2,

Издательский Дом «ВЕЛТ» • www.velt-media.ru

Научно-практический рецензируемый журнал
НАНОТЕХНОЛОГИИ И ОХРАНА ЗДОРОВЬЯ

Том V
№ 4 (17) – 2013

ПРЕДСЕДАТЕЛЬ РЕДАКЦИОННО-ЭКСПЕРТНОГО СОВЕТА:

ПОКРОВСКИЙ Валентин Иванович

Президент Национального союза «Медико-биологическая защита»
Директор ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора РФ, академик РАМН, профессор, докт. мед. наук

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР:

ИВАНОВА Елена Борисовна

Директор Некоммерческой организации Частного учреждения «Научно-исследовательский институт биоцидов и нанобиотехнологий»
Вице-президент Национального союза «Медико-биологическая защита»

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА:

ВОЛОХОВА Ольга Павловна

Член Союза журналистов РФ, член Союза писателей РФ

НАУЧНЫЕ КОНСУЛЬТАНТЫ:

АРЧАКОВ Александр Иванович — Директор ГУ НИИ биомедицинской химии им. В. Н. Ореховича РАМН, академик РАМН, профессор, докт. биол. наук

ВЕРЕЩАГИН Александр Игоревич — Главный врач ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора РФ, канд. мед. наук

ИВАНОВ Андрей Иванович — Заведующий ФГУП Межбольничная аптека Управления делами Президента РФ, академик РАЕН, Заслуженный работник здравоохранения РФ, профессор, канд. мед. наук, докт. фарм. наук

ШВЕЦ Виталий Иванович — Заведующий кафедрой биотехнологии Московского государственного университета тонкой химической технологии им. М. В. Ломоносова, член-корр. РАМН, профессор, докт. хим. наук

ЯКОВЛЕВА Татьяна Владимировна — Заместитель Министра здравоохранения РФ

НАУЧНЫЕ РЕДАКТОРЫ:

ГРЯЗНЕВА Татьяна Николаевна — Заведующая кафедрой микробиологии и биотехнологии Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии им. К. И. Скрябина, профессор, докт. биол. наук, канд. вет. наук

КАПЛУН Александр Петрович — Профессор кафедры органической химии Московского государственного университета тонкой химической технологии им. М. В. Ломоносова, докт. хим. наук

КОЛКУТИН Виктор Викторович — Консультант Главного государственного центра судебно-медицинских и криминалистических экспертиз Министерства обороны РФ, Заслуженный врач РФ, профессор, докт. мед. наук

ПОГОДИН Юрий Иванович — Заведующий кафедрой мобилизационной подготовки здравоохранения Российской медицинской академии последипломного образования Министерства здравоохранения РФ, член-корр. РАЕН, профессор, докт. мед. наук, генерал-лейтенант медицинской службы, Заслуженный врач РФ

Ответственный редактор: **КОРЖИКОВА Елена Борисовна**

Ведущий менеджер по рекламе: **ЛИХИНИНА Марина Евгеньевна**

Менеджер по распространению: **КОНДРАТЬЕВ Иван Владимирович**

Дизайн и компьютерная вёрстка: **БАКШАЕВ Сергей Юрьевич**

Учредители журнала: Некоммерческая организация Частное учреждение «Научно-исследовательский институт биоцидов и нанобиотехнологий», Издательский Дом «ВЕЛТ»

Издатели журнала: Издательский Дом «ВЕЛТ», Национальный союз «Медико-биологическая защита»

СОДЕРЖАНИЕ

Редакционно-экспертный совет журнала	4
Рассылка журнала	6

АКТУАЛЬНЫЕ ТЕМЫ

Керамика Yb-TZP для ортопедической стоматологии	
<i>Подзорова Л. И., Ильичёва А. А., Анисимова С. В., Аладьева Н. А., Волчёнкова В. А., Шворнева Л. И., Михайлина Н. А.</i>	10

Изучение биобезопасности наногелей для коррекции челюстно-лицевых дефектов	
<i>Полтавцев А. М., Гизатулин Р. М., Осьмак Г. Ж., Зарайский Е. И.</i>	15

НАУЧНАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ

Поражающее действие нанобъектов	
<i>Супотницкий М. В.</i>	22

Аддитивное изготовление моделей кристаллофосфатов кальция, формирующихся на поверхности дентина	
<i>Бессуднова Н. О., Вениг С. Б., Фролова Т. К.</i>	42

Лимфатические узлы при экспериментальной опухоли простаты в условиях химиотерапии комплексом PD (II) с теонином и фитокоррекции	
<i>Ломшаков А. А., Асташов В. В., Бородин Ю. И., Иванова Е. Б., Майоров А. П., Крылова Л. Ф., Казаков О. В.</i>	50

Библиотека	58
Выставка	60
К сведению читателей	62
Вниманию подписчиков	66

CONTENTS

Editorial and expert council	4
Periodical dispatch	6

ACTUAL THEMES

The ceramics Yb-TZP for orthopedic stomatology	
<i>Podzorova L. I., Ilyichova A. A., Anisimova S. V., Aladyeva N. A., Volneonkova V. A., Shvorneva L. I., Mikhailina N. A.</i>	10

The study of biosafety of nanogels for maxillofacial defects	
<i>Poltavtsev A. M., Gizatulin R. M., Osmak G. Zh., Zaraisky Ye. I.</i>	15

SCIENTIFIC ACTIVITIES

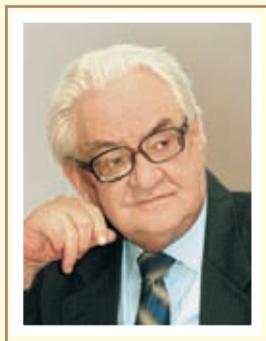
The damaging effect of nanoobjects	
<i>Supotnitsky M. V.</i>	23

The additive production of calcium crystallophosphaticum models, formed on dentine surface	
<i>Bessudnova N. O., Venig S. B., Phrolkova T. K.</i>	42

The lymphatic glands in experimental prostate tumor in the conditions of chemotherapy with PD(II)-complex with theonine and also with phytocorrection	
<i>Lomshakov A. A., Astashov V. V., Borodin Yu. I., Ivanova Ye. B., Majorov A. P., Krylova L. F., Kazakov O. V.</i>	50

Library	58
Exhibition	60
For readers information	62
For subscribers attention	66

*Редакция выражает искреннюю
благодарность авторам,
принявшим участие
в подготовке номера*



**Покровский
Валентин Иванович**

Председатель Совета
Президент Национального союза
«Медико-биологическая защита»
Директор
ЦНИИ эпидемиологии
Роспотребнадзора РФ



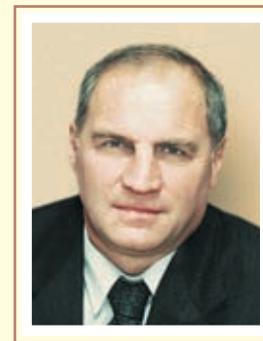
**Арчаков
Александр Иванович**

Директор
НИИ биомедицинской химии
им. В. Н. Ореховича РАМН



**Верещагин
Александр Игоревич**

Главный врач
Федерального центра
гигиены и эпидемиологии
Роспотребнадзора РФ



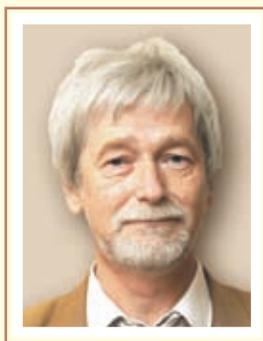
**Гончаров
Сергей Фёдорович**

Директор
Всероссийского центра
медицины катастроф «Защита»
Министерства здравоохранения РФ



**Иванова
Елена Борисовна**

Директор НО ЧУ «НИИ биоцидов
и нанобиотехнологий»
Вице-президент
Национального союза
«Медико-биологическая защита»



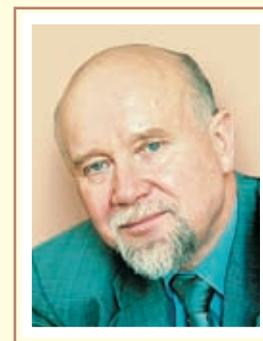
**Каплун
Александр Петрович**

Профессор
кафедры органической химии
Московского государственного
университета тонкой химической
технологии им. М. В. Ломоносова



**Ковальчук
Михаил Валентинович**

Председатель комиссии
по образованию и науке
Общественной палаты РФ
Директор
Российского научного центра
«Курчатовский институт»



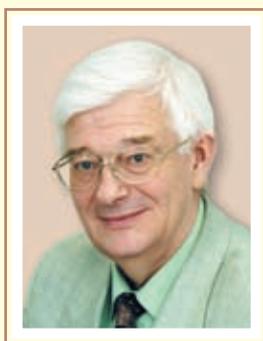
**Колесников
Сергей Иванович**

Советник Президиума РАМН



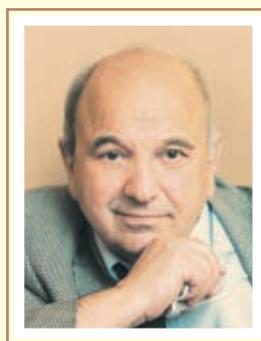
**Рац
Александр Алексеевич**

Член Совета директоров
ОАО «Особая экономическая зона
технично-внедренческого
типа «Дубна»



**Сергиев
Владимир Петрович**

Директор
Института медицинской
паразитологии и тропической
медицины им. Е. И. Марциновского
НИЦ Первого МГМУ
им. И. М. Сеченова



**Тутельян
Виктор Александрович**

Директор
Научно-исследовательского
института питания РАМН
Главный учёный секретарь
Президиума РАМН



**Ушаков
Игорь Борисович**

Директор
Института медико-
биологических проблем РАН



**Грязнева
Татьяна Николаевна**

Зав. кафедрой
микробиологии и биотехнологии
Московской государственной
академии ветеринарной медицины
и биотехнологии им. К. И. Скрябина



**Дятлов
Иван Алексеевич**

Директор
Государственного научного
центра прикладной микробиологии
и биотехнологии
Роспотребнадзора РФ



**Зверев
Виталий Васильевич**

Директор
Научно-исследовательского
института вакцин и сывороток
им. И. И. Мечникова РАМН



**Иванов
Андрей Иванович**

Заведующий
Межбольничной аптекой
Управления делами
Президента РФ



**Колкутин
Виктор Викторович**

Консультант Главного
государственного центра
судебно-медицинских
и криминалистических экспертиз
Министерства обороны РФ



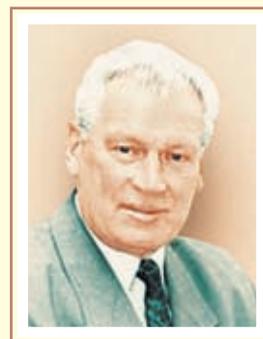
**Краевой
Сергей Александрович**

Заместитель министра
здравоохранения РФ



**Погодин
Юрий Иванович**

Заведующий кафедрой
мобилизационной подготовки
здравоохранения Российской
медицинской академии
последипломного образования
Министерства здравоохранения РФ



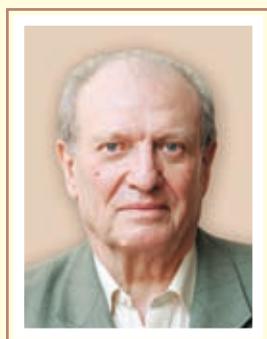
**Рахманин
Юрий Анатольевич**

Директор
НИИ экологии человека
и гигиены окружающей среды
им. А. Н. Сысина Министерства
здравоохранения РФ



**Чанков
Сергей Васильевич**

Главный государственный
санитарный врач
Центра государственного
санитарно-эпидемиологического
надзора Управления делами
Президента РФ



**Швец
Виталий Иванович**

Заведующий
кафедрой биотехнологии
Московского государственного
университета тонкой химической
технологии им. М. В. Ломоносова



**Яковлева
Татьяна Владимировна**

Заместитель министра
здравоохранения РФ

Администрация Президента РФ

Главное управление специальных программ Президента РФ

Полномочные представители Президента РФ в федеральных округах

Совет Федерации Федерального Собрания РФ

Государственная Дума Федерального Собрания РФ

Правительство РФ

Совет безопасности РФ

Министерство внутренних дел РФ

Министерство РФ по делам гражданской обороны, чрезвычайным ситуациям и ликвидации последствий стихийных бедствий (МЧС)

Министерство обороны РФ

Министерство юстиции РФ

Министерство здравоохранения РФ

Министерство труда и социальной защиты РФ

Министерство образования и науки РФ

Министерство промышленности и торговли РФ

Министерство сельского хозяйства РФ

Министерство природных ресурсов и экологии РФ

Министерство транспорта РФ

Федеральная служба РФ по военно-техническому сотрудничеству

Федеральная служба РФ по надзору в сфере здравоохранения

Федеральная служба РФ по труду и занятости

Федеральная служба РФ по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Федеральная служба РФ по оборонному заказу

Федеральная служба исполнения наказаний РФ

Федеральная служба безопасности РФ

Федеральная служба РФ по ветеринарному и фитосанитарному надзору

Федеральная служба РФ по надзору в сфере транспорта

Федеральная служба РФ по надзору в сфере природопользования

Федеральное агентство по государственным резервам РФ

Государственная корпорация по атомной энергии РФ

Федеральное агентство лесного хозяйства РФ

Федеральное агентство водных ресурсов РФ

Федеральное агентство морского и речного транспорта РФ

Федеральное агентство воздушного транспорта РФ

**Министерство спорта, туризма
и молодёжной политики РФ**

**Федеральное космическое
агентство РФ**

**Федеральное медико-биологическое
агентство РФ**

**Федеральное агентство
железнодорожного транспорта РФ**

**Федеральное агентство РФ
по науке и инновациям**

**Федеральное агентство РФ
по печати и массовым
коммуникациям**

Общественная палата РФ

**Торгово-промышленная
палата РФ**

Главы субъектов РФ

Правительство г. Москвы

**Правительство
г. Санкт-Петербурга**

**Министерства здравоохранения
и социального развития
субъектов РФ (департаменты,
управления, комитеты)**

**Территориальные управления
Роспотребнадзора РФ**

**Федеральные государственные
учреждения здравоохранения
«Федеральный центр гигиены
и эпидемиологии»
субъектов РФ**

**Департаменты (управления)
ветеринарии субъектов РФ**

ОАО «ГАЗПРОМ»

ОАО «Российские железные дороги»

Российская академия наук

**Российская академия
медицинских наук**

**Российская академия
естественных наук**

**Научно-исследовательские
учреждения**

**Государственная корпорация
нанотехнологий (РОСНАНО)**

**Всероссийский центр
медицины катастроф «Защита»**

**Предприятия медицинской
промышленности и профильные
бизнес-структуры**

**Общероссийские
общественные и некоммерческие
организации**

**Ведущие учёные,
государственные
и общественные деятели**

**Центральная
медицинская библиотека
Первого МГМУ им. И. М. Сеченова**

**Российская
государственная библиотека**

Парламентская библиотека РФ

**Государственная публичная
научно-техническая библиотека
(ГПНТБ)**

Российская книжная палата

СОТРУДНИЧЕСТВО
ОТРАСЛЕВОЙ ПРИКЛАДНОЙ НАУКИ С ПРОИЗВОДСТВОМ
ДАЁТ ВОЗМОЖНОСТЬ СОЗДАНИЯ ПРОДУКЦИИ ЛЮБОГО НАЗНАЧЕНИЯ,
СПОСОБНОСТЬ КОНКУРИРОВАТЬ НА МИРОВЫХ РЫНКАХ



Создайте свой продукт



НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
БИОЦИДОВ И НАНОБИОТЕХНОЛОГИЙ

некоммерческая организация частное учреждение - основано в 2008 г.

Центр аккредитован по международным стандартам качества ISO 17025

Администрация:
119517, Россия, г. Москва,
ул. Нежинская, д. 14.
Тел./факс: +7 (495) 449-20-46,
+7 (909) 963-42-71
www.nii-bnt.ru

Испытательный лабораторный центр:
121359, Россия, г. Москва,
ул. Маршала Тимошенко, д. 23, стр. 2.
119034, Россия, г. Москва,
пер. Хользунова, д. 16.
e-mail: ilc@nii-bnt.ru, center@nii-bnt.ru

Актуальные темы

Керамика Yb-TZP для ортопедической стоматологии

Подзорова Л. И.¹, Ильичёва А. А.¹, Анисимова С. В.², Аладьева Н. А.¹,
Волчёнкова В. А.¹, Шворнева Л. И.¹, Михайлина Н. А.¹

¹ФГБУН «Институт металлургии и материаловедения им. А. А. Байкова» РАН

²ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова»

Представлены результаты исследования морфологии исходных нанопорошков, микроструктуры, механических и эксплуатационных свойств керамики Yb-TZP как альтернативы реставраций на основе керамики Y-TZP в стоматологической ортопедии.

Ключевые слова: нанопорошки, керамика, диоксид циркония, стоматология.

The article presents results of the research of initial nanopowders morphology, microstructures, mechanical and operational properties of Yb-TZP ceramics, as an alternative of restorations on the basis of Y-TZP ceramics in dental orthopedics.

Keywords: nanopowders, ceramic, zirconia, dental orthopedic.

Введение

С проблемой протезирования утраченных зубов сталкивается более половины населения Российской Федерации. Для этих целей в настоящее время широко используют протезы из сплавов металлов и металлические каркасы с керамическим покрытием. Керамические материалы на основе диоксида циркония обладают высокой степенью биосовместимости, что определяет эффективность ортопедического лечения. Кроме того, светоотражающие свойства и цветность, близкие естественным тканям зубов, представляют эстетическую альтернативу стандартным металлокерамическим коронкам [1, 2].

До недавнего времени применение такой керамики в стоматологии сводилось лишь к реставрационным работам на небольшой площади, что объяснялось трудностями механической обработки. Благодаря достижениям препаративной химии в синтезе исходных нанопорошков для керамики и внедрению в технологию протезирования компьютеризации процессов стало

возможным широкое распространение керамических реставраций [3–5].

Керамические конструкции на основе тетрагонального диоксида циркония, стабилизированного оксидом иттрия (Y-TZP – Yttrium-Tetragonal Zirconia Polycrystal), ведущих фирм Германии, Швейцарии, Лихтенштейна успешно применяются для цельнокерамических зубных протезов.

Керамика на основе Y-TZP имеет эксплуатационный недостаток, заключающийся в постепенной деградации её механических свойств при длительном нахождении в среде организма. [6, 7]. В работе J. Swab [7] указывается, что снижение размеров зёрен микроструктуры керамики, вид и количество стабилизирующего компонента могут благоприятствовать замедлению процесса деградации.

Путём замены стабилизирующего компонента оксида иттрия на оксид иттербия нами разработана керамика, принадлежащая к трансформационно-упрочнёному классу [8], обладающая высокой устойчивостью к хрупкому разрушению [9–11].

*Контакты: 119334, г. Москва, Ленинский пр., д. 49

В данной работе представлены результаты исследования морфологии исходных нанопорошков, микроструктуры, механических и эксплуатационных свойств керамики Yb-TZP как альтернативы керамики на основе Y-TZP в ортопедической стоматологии.

Экспериментальная часть

Известно, что высокая свободная поверхностная энергия, присущая наноразмерным частицам, обуславливает её диссипацию путём агрегации с образованием иерархических систем плотных агломератов, что неблагоприятно влияет на процессы консолидации и спекания нанопорошков [12]. Исходные нанопорошки Yb-TZP использовали золь-гель метод синтеза прекурсоров в виде сложных гидрогелей. Предотвращение конденсации первичных частиц достигалось путём создания пространственных препятствий введением поверхностно-активных веществ (ПАВ). Разработанные условия введе-

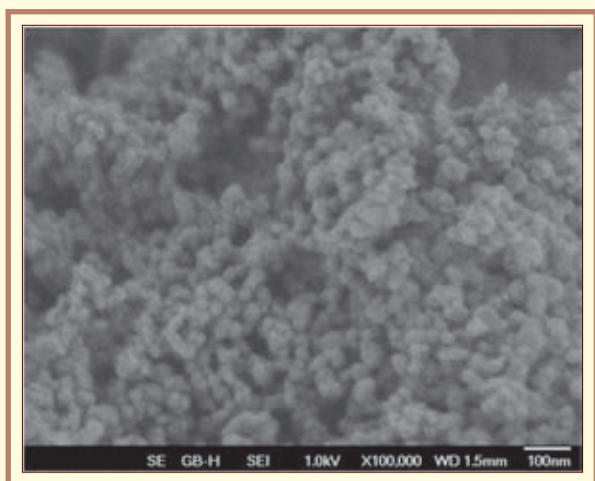


Рис. 1. Морфология исходных нанопорошков (950 °C)

Керамические материалы на основе диоксида циркония обладают высокой степенью биосовместимости, что определяет эффективность ортопедического лечения. Кроме того, светоотражающие свойства и цветность, близкие естественным тканям зубов, представляют эстетическую альтернативу стандартным металлокерамическим коронкам.

ния определённого типа ПАВ позволили получить нанопорошки с размерами индивидуальных частиц от 20 до 50 нм, объединённые в «мягкие» агломераты, частицы в которых связаны слабыми Ван-дер-Вальсовыми силами и после термообработки прекурсоров при температуре 950 °C [8, 12, 13], что иллюстрирует рис. 1.

Золь-гель синтез прекурсоров обеспечивает высокую гомогенность распределения стабилизирующего и модифицирующего компонентов, что служит гарантией образования и стабильности кристаллической фазы керамики в виде твёрдого раствора на основе диоксида циркония тетрагональной структуры (Т – ZrO₂).

Качественный анализ фазового состава образцов порошков и керамики, проведённый на дифрактометре XRD-6000, с идентификацией по международному банку стандартов (JCPDS) подтвердил присутствие одной фазы Т – ZrO₂ и, соответственно, получение монофазного материала.

На рис. 2 приведены фрагменты дифрактограмм нескольких партий нанопорошков и керамики в области основных отражений кубической, тетрагональной и моноклинной модификаций диоксида циркония, соответственно, F – ZrO₂ (JCPDS № 27 – 0997), Т – ZrO₂ (JCPDS № 50 – 1089) и М – ZrO₂ (JCPDS № 37 – 1484).

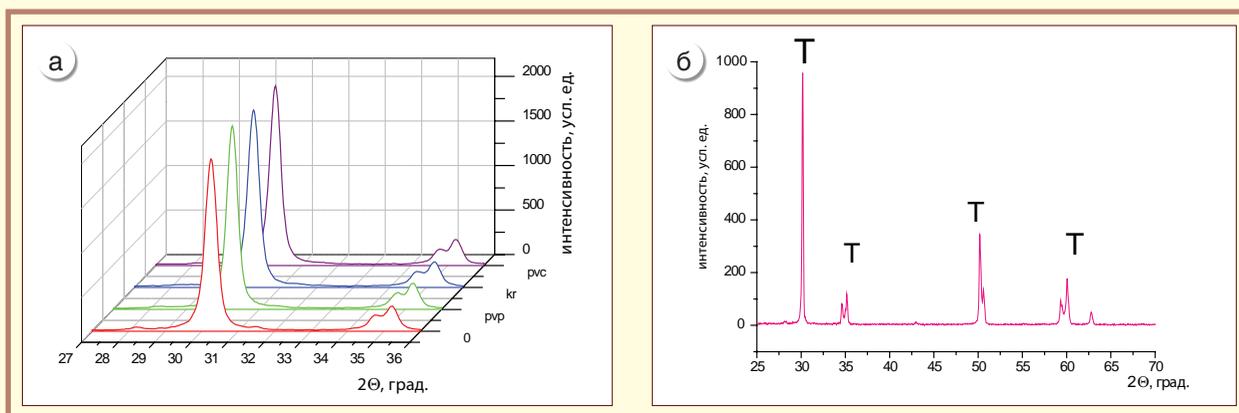


Рис. 2. Фрагменты дифрактограмм образцов а) нанопорошков, б) керамики (Т - ZrO₂)

Содержание примесей в нанопорошках

Элементы примеси	Примеси, масс. %	
	IPSe.max ZirCAD	Yb –TZP
Hf	1,46	1,32
Na	0,59	0,13
Al	0,53	0,27
Si	<	<
Ba	0,52	< 0,01
Ca	0,05	0,01
Mg	0,01	0,01
Fe	0,014	0,08
Cd	<	<

Необходимым условием применения материалов в медицине является высокая степень чистоты и отсутствие токсических и вредных элементов, поэтому был проведён сравнительный анализ качественного и количественного состава примесей в синтезированных порошках и в материале IPSe.max ZirCAD (Ivoclar Vivadent) с использованием спектрометра ULTIMA 2. Элементный состав примесей, представленный в табл. 1, показывает, что в максимальном количестве определяется элемент Hf (гафний), являющийся неотделяемой примесью соединений циркония в природе, а общее количество примесей в синтезированных порошках значительно меньше, чем в материале сравнения.

Токсикологические и санитарно-химические испытания, проведённые на базе Московского государственного медико-стоматологического университета на базе ВНИИИМТ с применением требований нормативных документов к матери-

алам медицинского назначения, контактирующим с тканями зуба и слизистыми оболочками полости рта, подтвердили, что разработанный материал не содержит токсичных для организма элементов [12, 13].

Использование нанопорошков, состоящих из «мягких» агломератов, оказало положительное влияние на получение плотно спечённой керамики: после спекания при 1500 °С достигнута плотность более 99,0 % от теоретической плотности.

Размеры фрагментов микроструктуры керамики находятся в интервале 250 – 400 нм. Данный факт иллюстрирует рис. 4.

Сравнение характеристик керамических материалов Yb –TZP и IPS e.max ZirCAD представлено в табл. 2.

Механические характеристики полученной керамики отвечают техническим требованиям, предъявляемым к материалам, предназначенным для изготовления каркасов зубных протезов: прочность при статическом изгибе более 850 МПа. Устойчивость к хрупкому разрушению керамики Yb –TZP гораздо выше, чем у керамики IPS e.max ZirCAD, соответственно, трещиностойкость к1с 5,5 и 12 МПа·м^{1/2}.

В целях оценки устойчивости прочностных свойств разработанной керамики в условиях, моделирующих биосреду, были проведены испытания прочности керамических образцов до и после гидротермальной обработки (ГТО) в течение 7 ч при 140 °С.

Испытания на прочность при изгибе проводили методом трёхточечного изгиба, база 20 мм, скорость штока 0,56 мм/мин. Результаты определения прочности образцов до и после гидротермальной обработки приведены в табл. 3.

Прочность после гидротермальной обработки практически не изменяется, небольшое увели-

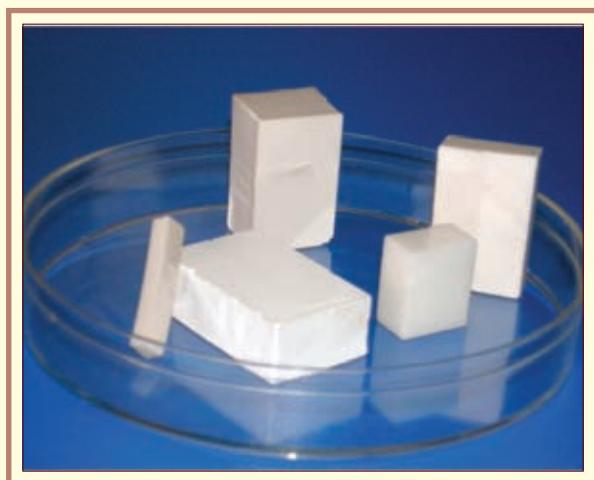


Рис. 3. Морфология исходных нанопорошков (950 °С)

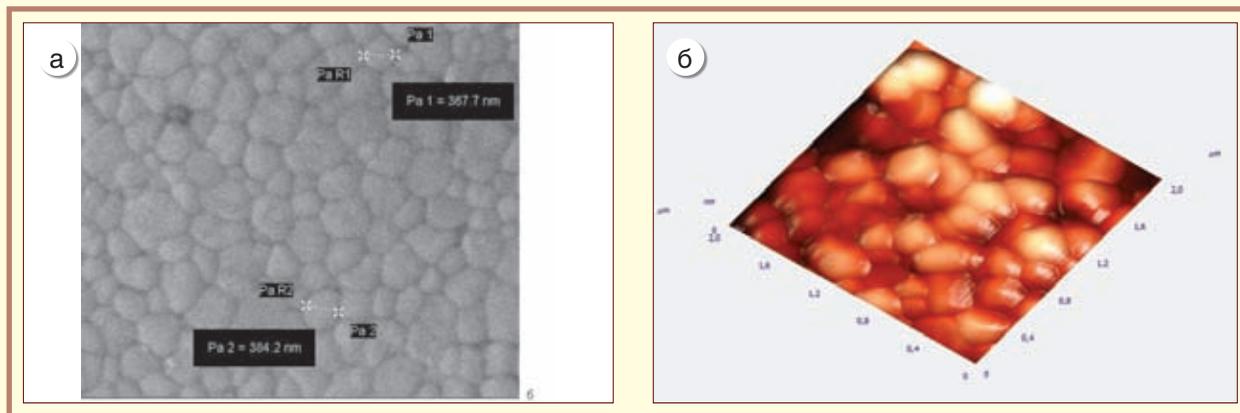


Рис. 4. Микроструктура керамики Yb – TZP снимки, а) электронно-сканирующего «LEO 1420» и б) атомно-силового «Next» микроскопов

Таблица 2

Характеристика керамических материалов

№ состава	Пор.откр, %	ρ отн., %	σ, МПа	K _{1с} , МПа·м ^{1/2}	G, ГПа	E, ГПа
IPSe.max ZirCAD	0,01	99,5	900±	5,5±	78, 4±	207,2±
Yb -TZP	0,00	99,8	850±	12,0±	81,8±	213,8±

где
 ρ – относительная плотность;
 σ – прочность при статическом изгибе;
 K_{1с} – критический коэффициент интенсивности напряжений, характеризующий устойчивость при хрупком разрушении, трещиностойкость;
 G – сдвиговой модуль упругости;
 E – модуль Юнга

Таблица 3

Прочность при статическом изгибе

Обработка	σ _{ср} , МПа
Исходные образцы	850
Образцы после ГТО	860

чение, вероятно, определяется погрешностями измерений.

Проведённая гидротермальная обработка эквивалентна 20-ти годам пребывания имплантата в живом организме, что позволяет говорить о высокой стабильности параметров прочности керамики Yb – TZP.

Заключение

Разработаны условия получения исходных наноразмерных порошков высокой степени чистоты для керамики Yb – TZP с размерами индивидуальных частиц от 20 до 50 нм.

Монофазные керамические материалы Yb – TZP имеют прочность при статическом изгибе не менее 850 МПа и трещиностойкость к_{1с} не менее 12 МПа·м^{1/2}

Керамика Yb – TZP сохраняет прочностные свойства после гидротермальной выдержки, эквивалентной 20-ти годам пребывания имплантата в живом организме.

Токсикологические и санитарно-химические испытания, проведённые на базе Московского государственного медико-стоматологического университета на базе ВНИИИМТ с применением требований нормативных документов к материалам медицинского назначения, контактирующим с тканями зуба и слизистыми оболочками полости рта, подтвердили, что разработанный материал не содержит токсичных для организма элементов.

Механические характеристики полученной керамики отвечают техническим требованиям, предъявляемым к материалам, предназначенным для изготовления каркасов зубных протезов: прочность при статическом изгибе более 850 МПа. Устойчивость к хрупкому разрушению керамики Yb –TZP гораздо выше, чем у керамики IPS e.max ZirCAD, соответственно, трещиностойкость K_{Ic} 5,5 и 12 МПа·м^{3/2}.

Токсикологические и санитарно-химические испытания керамических материалов Yb –TZP подтвердили его нетоксичность.

Это позволяет рекомендовать керамику Yb –TZP как альтернативу существующим материалам, применяемым в ортопедической стоматологии.

Авторы благодарят:

Заведующего лабораторией акустической микроскопии Института биохимической физики им. Н. М. Эммануэля кандидата физико-математических наук Вадима Моисеевича Левина за акустические испытания; ведущего научного сотрудника Института проблем материаловедения им. И. Н. Францевича НАНУ кандидата технических наук Валентину Васильевну Лашневу за проведение независимых испытаний на низкотемпературную стабильность прочности керамики.

Литература

1. Piconi C., Maccauro G. Zirconia as a ceramic biomaterial // *Biomaterials*, 1999, №20. – P. 1–25.
2. Vallet-Regi M. Ceramics for medical applications // *J. Chem. Soc. <Dalton Trans.>*, 2001. – P. 97–108.
3. Лебеденко И. Ю. и др. Компьютерные реставрационные технологии в стоматологии. Реальность и перспективы // *Панорама ортопедии, стоматологии*, 2000, № 2. – С. 40–45.
4. Вольвач С. И. Обзор новых разработок и модификаций известных технологий CAD/CAM стоматологического назначения // *Новое в стоматологии для зубных техников*, 2003, № 7. – С. 98–102.
5. Luthardt R. G., Holzhuter M. S., Rudolph H., Herold V., Walter M. H. CAD/CAM- machining effects on Y-TZP zirconia // *Dent Mater*, 2004, V. 20. – P. 655–662.
6. Sato T. S., Shimada M. Control of the tetragonal-to-monoclinic phase transformation of yttria partially stabilised zirconia in hot water // *J. Mater. Sci.*, 1985, V. 20. – P. 3899–3992.
7. Swab J. J. Low Temperature Degradation of Y-TZP Materials. // *J. Mat. Science*, 1991, V. 26. – P. 6706.
8. Шевченко В. Я., Баринов С. М. Техническая керамика // *М.: Наука*, 1993. – 188 с.
9. Михайлина Н. А., Подзорова Л. И., Румянцева М. Н., Шворнева Л. И., Овчинникова О. А., Анисимова С. В., Лебеденко И. Ю., Лебеденко А. И., Хван В. И. Керамика на основе тетрагонального диоксида циркония для реставрационной стоматологии // *Перспективные материалы*, 2010, № 3. – С. 44–48.
10. Подзорова Л. И., Ильичева А. А., Михайлина Н. А., Куцев С. В., Шворнева Л. И. Оптимизации химических составов нанопорошков на основе T-ZrO2 для материалов реставрационной стоматологии // *Сб. материалов Четвёртой Всероссийской конференции по наноматериалам*, 2011. – М.: ИМЕТ РАН. – С. 574.
11. Анисимова С. В., Подзорова Л. И., Шворнева Л. И., Хван В. И., Лебеденко А. И. Разработка модифицированного стоматологического материала на основе диоксида циркония // *Стоматология*, 2011, Т. 90, № 5. – С. 10–13.
12. Бакунов В. С., Лукин Е. С. Особенности технологии высокоплотной технической керамики. Агрегация частиц исходных порошков // *Стекло и керамика*, 2008, № 3. – С. 15–19.
13. Ильичёва А. А., Куцев С. В., Михайлина Н. А., Подзорова Л. И., Румянцева М. Н., Шворнева Л. И. Метастабильность наноразмерных порошков во времени // *Труды 12-го Международного симпозиума «Порядок, беспорядок и свойства оксидов» «ODPO-12»*, 2009, Т. 2. – С. 85–86.



© Группа авторов, 2013

УДК 621.3: 617.52

Изучение биобезопасности наногелей для коррекции челюстно-лицевых дефектов

Полтавцев А. М.¹, Гизатулин Р. М.², Осьмак Г. Ж.³, *Зарайский Е. И.⁴

^{1,4}Институт прикладной механики Российской академии наук (ИПРИМ РАН)

²ООО Инновационный стоматологический центр «НАНО-ДЕНТ»

³ГБОУ ВПО «Российский научный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова» Минздрава РФ

Проведены исследования биобезопасности наногелей на основе тромбоцитарных факторов роста, коллагена, наносеребра, пористого никелида титана и гидроксиапатита кальция. Исследования проводили с помощью оригинальной системы оценки биобезопасности нанокompозитов культуральным методом. Изучение острой токсичности, хронической токсичности и цитостатического эффекта исследованных наногелей показало их биобезопасность и пригодность для использования в стоматологии.

Ключевые слова: *наногели, коллаген, регенерация костной ткани, колларгол, гидроксиапатит, тромбоцитарный фактор роста, биобезопасность, определение острой и хронической токсичности нанокompозитов.*

The article deals with research of biosafety of nanogels based on platelet-derived growth factors, collagen, nanosilver, porous titanium nickelide and calcium hydroxyapatite. The research was carried out with the help of original system of nanocomposites biosafety estimation by cultural method. The study of acute toxicity, chronic toxicity and cytostatic effect of researches nanogels was showed the biosafety and convenience for use in dentistry.

Keywords: *nanogels, collagen, regeneration of bone tissue, colloid silver, hydroxyapatite, platelet-derived growth factors, biosafety, determination of nanocomposites acute and chronic toxicity.*

Восстановление зубов, а также мягких и твёрдых тканей челюстей, поражённых пародонтитом и пародонтозом, восстановление костной ткани челюстей, разреженной в результате остеопороза – актуальные задачи [22]. Практически 100 % населения в возрасте 35 и более лет страдает от патологий, вызванных системными и местными заболеваниями пародонта и челюстных костей [21]. Развитие нанотехнологий привело к созданию новых материалов и методов для решения стоматологических проблем [23]. Одним из наиболее привлекательных способов восстановления зубов является имплантация протезов, которые функционально и косметически полноценно заменяют утраченные

зубы [13, 21, 27]. Однако эта технология имеет многочисленные минусы [15].

Одной из основных проблем, связанных с имплантацией протезов, является пониженная прочность кости челюстей, связанная с остеопорозом и местными заболеваниями пародонта [17]. Ещё одной проблемой является отсутствие рессорных элементов, демпфирующих боковые колебания протезов при жевательной нагрузке, подобных периодонту, который гасит колебания зуба при таких нагрузках и не позволяет ему расшатывать костное ложе зуба.

Кроме того, существует проблема отторжения имплантов, связанная с пониженной жизнеспособностью клеток пародонта, заселяющих

*Контакты: 125040, Россия, Москва, Ленинградский пр., д. 7

Существует проблема отторжения имплантов, связанная с пониженной жизнеспособностью клеток пародонта, заселяющих имплант. Для решения обозначенных проблем предложен комплекс материалов, позволяющих на длительное время (пожизненно) восстанавливать костную и соединительную ткани, прочно удерживать имплантат в кости.

имплант. Для решения обозначенных проблем предложен комплекс материалов, позволяющих на длительное время (пожизненно) восстанавливать костную и соединительную ткани, прочно удерживать имплантат в кости; при этом восстановленные ткани не инфицируются [1].

Этот материал состоит из богатой тромбоцитами плазмы (БоТП) крови, наноструктурированного серебра с размерами частиц до 20 нм и наноструктурированного проницаемого порошка никелида титана с размерами частиц до 100 нм. Композит интегрирует с окружающей зону имплантации тканью и благодаря слоистой структуре БоТП крови образуется либо композит с соединительной тканью десны, либо композит с костной тканью, хорошо сформированный и добротный.

В результате получается либо высокопрочный композит никелид титана-серебро-костная ткань, либо композит никелид титана-серебро-десневая ткань, свойства которых определяются компонентами. Наносеребро существенно дезинфицирует лунку под имплантат и инъецируемый участок ткани, увеличивает вероятность положительного исхода хирургической операции, а также препятствует проникновению микробов в костный или десневой регенерат (восстановленную ткань).

Структура компонентов и способ приготовления материала делают его удобным для инъекций при восстановлении костных и десневых дефектов. Действия хирурга сводятся к введению материала шприцем в челюстную кость, костный дефект любой конфигурации или в участок дефицита десны.

Важной проблемой, связанной с применением предложенного наногеля в клинической практике, является его биобезопасность. Отрицательное воздействие различных наночастиц [14, 16], нанокompозитов [26] и нанопокровов [30, 31] показано в отдельных работах [2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11], причём токсичными могут быть даже наночастицы таких инертных в составе крупных конгломератов веществ, как золото [24, 19, 28, 31] и углерод (нанотрубки, фуллерены). Несомненно токсичность наночастиц [20], нанокompозитов [18, 25] и нанопокровов [29, 12], включающих в себя наносеребро в определённых дозах.

Таблица 1

Изучение острой токсичности препаратов никелид титана – серебряного нанокompозита на культуры клеток плаценты и клеток контроля (количество живых клеток на 100 клеток)

Концентрация препаратов	Кол-во живых клеток плаценты	Кол-во живых клеток контроля
500 мкг/мл	97	98
50 мкг/мл	96	97
0 мкг/мл	99	95

Таблица 2

Изучение хронической токсичности наногеля на основе тромбоцитарных факторов роста, коллагена и колларгола в композиции с пористыми титансодержащими материалами и гидроксипатита кальция на культуры клеток плаценты и клетки контроля (количество живых клеток на 100 клеток)

Концентрация препаратов	Кол-во живых клеток плаценты	Кол-во живых клеток контроля
500 мкг/мл	97	96
50 мкг/мл	98	95
0 мкг/мл	99	97

Наиболее адекватным, быстрым и недорогим методом изучения токсичности наносоединений является культуральный метод. Он заключается в изучении эффектов воздействия наноматериалов на культуры клеток млекопитающих, в т. ч. и человека. Изучение токсичности на экспериментальных животных, таких как гидробионты и насекомые, хотя и не является дорогостоящим, зачастую обладает малой информативностью вследствие значительных различий в физиологии этих организмов и человека. С другой стороны, более адекватные исследования на млекопитающих являются более дорогостоящими и длительными. Таким образом, первичное изучение токсичности наноматериалов на первичных и первичных культурах клеток позволяет сократить стоимость и продолжительность таких исследований в десятки раз.

Материалы и методы

Готовили серию пятикратных разведений образцов наноматериалов от известной исходной концентрации в среде для культивирования клеток (RPMI 1640 с 10 % эмбриональной сыворотки). В лунки планшета, содержащие монослой клеток мышинных фибробластов McCoу, вносили приготовленные разведения наноматериалов в объёме, составляющем 10 % от общего объёма культуральной среды в лунке планшета.

Клетки мышинных фибробластов McCoу культивировали в среде роста RPMI 1640 с 10 % эмбриональной сыворотки, амфотерицином В (5 мкг/мл) и гентамицином (4 мкг/мл) во флаконах площадью 25 см². При пересевах культуры клеток мышинных фибробластов культуральную среду роста сливали, добавляли 5 мл раствора версена с трипсином (в соотношении 1:1) и инкубировали при комнатной температуре 7 мин. Раствор версена с трипсином сливали и суспендировали клетки фибробластов в 2 мл среды RPMI 1640. Готовили взвесь клеток с концентрацией $1,2 \times 10^5$ клеток/мл в культуральной среде 1640 с 10 % эмбриональной сыворотки, амфотерицином В (5 мкг/мл) и гентамицином (4 мкг/мл) и вносили по 1 мл в каждую лунку культурального планшета. Инкубировали планшет в течение 24 ч в CO₂-инкубаторе при температуре 37 °С до образования монослоя фибробластов.

Культуральную среду из лунок, содержащих монослой клеток мышинных фибробластов, удаляли и вносили в лунки серии пятикратных разведений образцов наноматериалов в объёме, составляющем 10 % от общего объёма культуральной среды. В качестве контроля использовали клетки мышинных фибробластов. Инкубировали плашки в CO₂-инкубаторе при температуре 37 °С до оценки токсического действия.

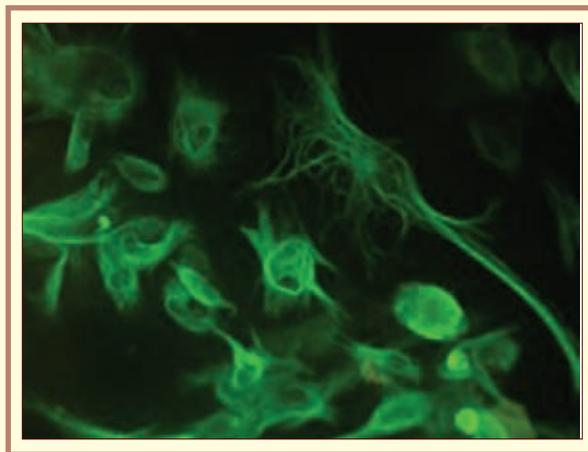


Рис. 1. Культура клеток контроля, обработанная наногелем на основе тромбоцитарных факторов роста, коллагена и колларгола в композиции с пористыми титансодержащими материалами и гидроксиапатитом кальция в концентрации 500 мкг/мл. Люминесцентная микроскопия, окраска витальным красителем, содержащим этидий бромид и акридин оранжевый (x200)

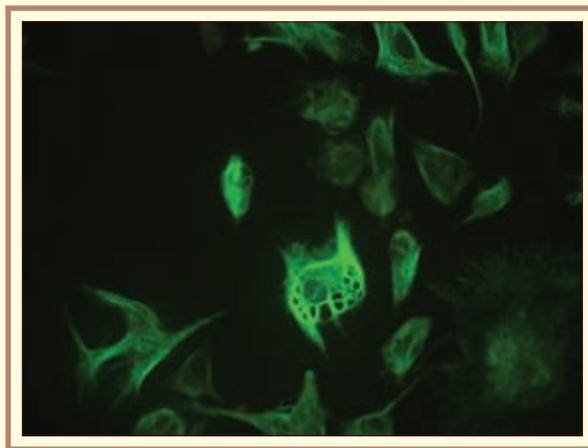


Рис. 2. Культура клеток контроля без обработки (позитивный контроль)

Детекцию количества живых и мёртвых клеток проводили путём подсчёта окрашенных, как описано ниже, клеток монослоя на инвертированном люминесцентном микроскопе. Для этого культуру предварительно окрашивали витальным красителем, содержащим смесь акридин оранжевого с этидий бромидом. Ядра и цитоплазматические структуры живых клеток окрашивались в ярко-зелёный цвет, ядра погибших клеток окрашивались в красно-оранжевый цвет. Клетки подсчитывали в четырёх–шести полях зрения, а затем вычисляли процент жизнеспособных по формуле:

$$\frac{(\text{Живые клетки}) - (\text{Мёртвые клетки})}{\text{Общее количество клеток}} \times 100 \%$$

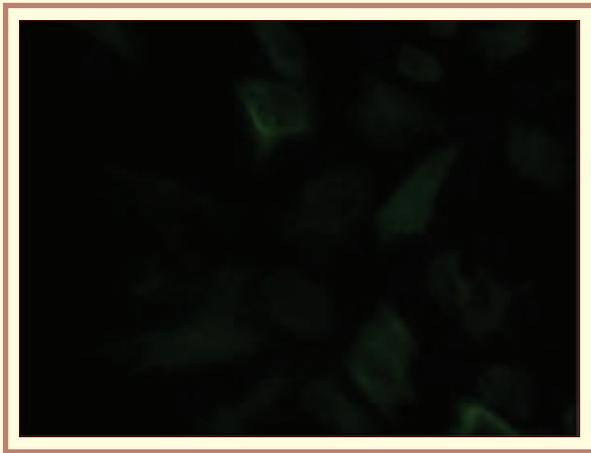


Рис. 3. Культура клеток контроля, убитая температурным шоком (негативный контроль)

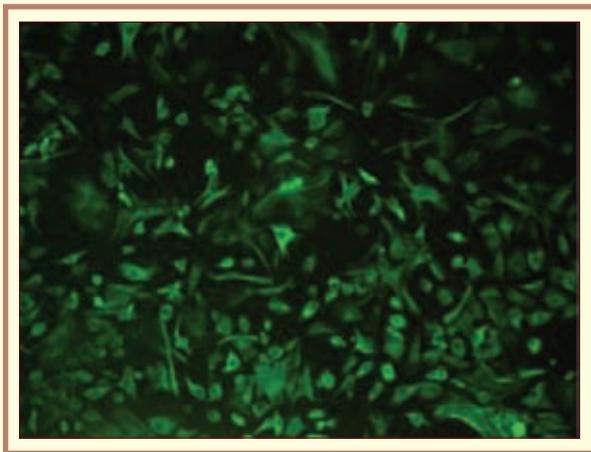


Рис. 4. Культура клеток плаценты, обработанная наногелем на основе тромбоцитарных факторов роста, коллагена и колларгола в композиции с пористыми титансодержащими материалами и гидроксиапатита кальция. Люминесцентная микрофотография, окраска витальным красителем, содержащим этидиум бромид и акридин оранжевый (x400). Ядра погибших клеток окрашиваются в красный цвет

Для изучения биобезопасности наногелей на основе тромбоцитарных факторов роста, коллагена и наносеребра в композиции с пористыми титансодержащими материалами и с наногелем гидроксиапатита кальция проведены их испытания на острую токсичность, хроническую токсичность и цитостатический эффект с помощью перевивной монослойной культуры клеток мышинных фибробластов McCoу, как описано в материалах и методах.

Для оценки острой токсичности наногелей изучали воздействие двух концентраций 500 мкг/мл и 50 мкг/мл геля в культуральной среде. Контролем служили культуры без обработки

гелем. Острую токсичность оценивали по соотношению живых и мёртвых клеток через сутки инкубации при 37 °С в атмосфере, содержащей 6 % CO₂. Оценку жизнеспособности проводили как описано в «материалах и методах». Результаты опытов приведены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, достоверной дозозависимой токсичности наногеля даже в концентрации, которая в 10 раз превосходит используемую в практике, не обнаружено.

Для изучения хронической токсичности наногеля использовали аналогичную схему. Отличием явился срок инкубации с исследуемыми препаратами, который составил семь суток. Результаты исследования хронического токсического действия исследуемых препаратов на культуры клеток представлены в табл. 2.

Как видно из табл. 1, достоверной хронической токсичности наногеля в присутствии используемых и десятикратно повышенных концентрациях, не выявлено.

Типичные культуры представлены на рис. 1–4. Живые клетки при окраске использованным витальным красителем окрашиваются в зелёный цвет, а мёртвые – в красный.

Фотографии наглядно иллюстрируют отсутствие острого и хронического цитотоксического действия наногеля на основе тромбоцитарных факторов роста, коллагена и колларгола в композиции с пористыми титансодержащими материалами и гидроксиапатита кальция на клетки культуры плаценты.

Цитостатическое действие наногеля на основе тромбоцитарных факторов роста, коллагена и колларгола в композиции с пористыми титансодержащими материалами и гидроксиапатита кальция изучали двумя методами, один из которых основан на активности митохондрий с использованием метилтиазолтетразолия (МТТ). МТТ, после превращения его в формазан в присутствии диметилсульфоксида, приобретает синюю окраску, которая впоследствии может быть зарегистрирована при длине волны, равной 590 нм.

Схема эксперимента аналогична описанной выше. Результаты исследования приведены на рис. 6–7.

Как видно из рис. 6–7, статистически достоверного цитостатического действия наногеля на основе тромбоцитарных факторов роста, коллагена и колларгола в композиции с пористыми титансодержащими материалами и гидроксиапатитом кальция не удаётся обнаружить ни одним из использованных методов ни на одной исследованной культуре.

Таким образом, показано, что изученные наногели для лечения стоматологических заболе-

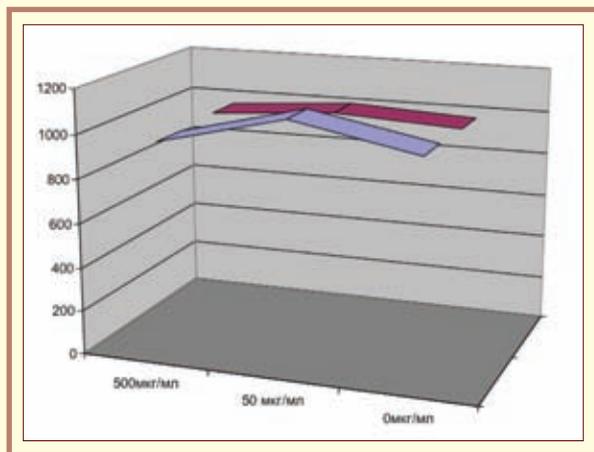


Рис. 5. Цитостатическое действие наногеля на основе тромбоцитарных факторов роста, коллагена и колларгола в композиции с пористыми титансодержащими материалами и гидроксиапатита кальция на культуры клеток плаценты и контроля, измеренное с помощью метилтиазолтетразолия. По оси ординат – оптическая плотность при длине волны 610 нм. По оси абсцисс – концентрация препаратов

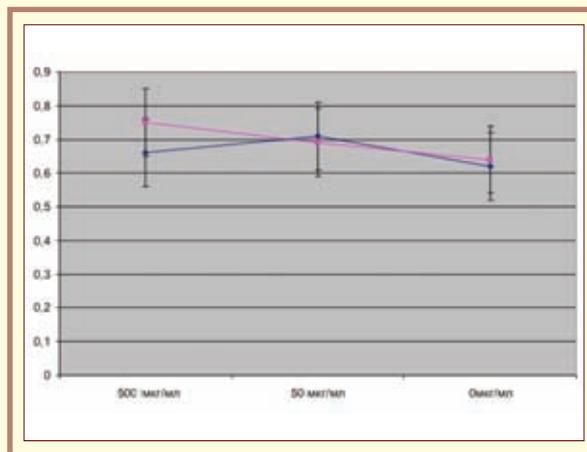


Рис. 6. Цитостатическое действие наногеля на основе тромбоцитарных факторов роста, коллагена и колларгола в композиции с пористыми титансодержащими материалами и гидроксиапатита кальция на культуры клеток плаценты и контроля, измеренное с помощью окраски кристаллвиолетом монослоя, фиксированного параформальдегидом. По оси ординат – оптическая плотность при длине волны 590 нм. По оси абсцисс – концентрация препаратов

ваний, содержащие тромбоцитарные факторы роста, коллаген и колларгол в композиции с пористыми титансодержащими материалами и гидроксиапатитом кальция, не обладают острой и хронической токсичностью на культуральной модели. Также продемонстрировано отсутствие

цитостатического эффекта предложенного наногеля и входящих в него компонентов.

Следовательно, предложенный гель может быть использован для дальнейшей работы по созданию материалов для восстановления костных дефектов в стоматологии.

Литература

1. Патент RU2399387C2 материал для имплантации и пластики пародонта и способ его приготовления Miyawaki J., Yudasaka M., Azami T., Kubo Y., Iijima S.; Toxicity of single-walled carbon nanohorns.; ACS Nano. 2008 Feb;2(2):213–26. doi: 10.1021/nn700185t.
2. Lomer M. C., Thompson R. P., Powell J. J. Fine and ultrafine particles of the diet: influence on the mucosal immune response and association with Crohn's disease //Proc. Soc. Nutr., 2002, 61. – P. 123–130.
3. Lewinski N., Colvin V., Drezek R. Cytotoxicity of Nanoparticles //Small-journal, 2008, 4, No. 1. – P. 26–49.
4. Alt V., Beichert Th., Steinrücke P., Wagener M., Seidel P., Dingeldein E., Domann E., Schnettler R. An in vitro assessment of the antibacterial properties and cytotoxicity of nanoparticulate silver bone cement //Biomaterials, 2004, Vol. 25, Iss., 18. – PP. 4383–4391.
5. Глушкова А. В., Радилев А. С., Рембовский В. П. Нанотехнологии и нанотоксикология – взгляд на проблему //Методологические проблемы изучения и оценки био- и нанотехнологий (нановолны, частицы, структуры, процессы, биообъекты) в экологии человека и гигиене окружающей среды. Материалы пленума Научного совета по экологии человека и гигиене окружающей среды РАМН и Минздравсоцразвития Российской Федерации. Под редакцией академика РАМН Ю. А. Рахманина, Москва, 2007.
6. Пул Ч., Оуэнс Ф. Нанотехнологии. – М.: Техносфера, 2006. – 336 с.
7. Ostiguy C., Lapointe G., Trottier M., Menard L., Cloutier Y., Boutin M., Antoun M., Normand Ch. Health effects of nanoparticles. Studies and research projects. IRSST, 2006. – P. 52.
8. Kang S. J. Titanium dioxide nanoparticles trigger p53-mediated damage response in peripheral blood lymphocytes //Environmental Molecules Mutagen, 2008, Vol. 49, Iss. 5. – P. 399–405.
9. Long T. C., Tajuba J., Sama P., Saleh N., Swartz C., Parker J., Hester S., Lowry G. V., Veronesi B. Nanosize titanium dioxide stimulates reactive oxygen species in brain microglia and damages neurons in vitro // <http://www.ehponline.org/members/2007/10216/10216.pdf>.
10. Lu N. Nano titanium dioxide photocatalytic protein tyrosine nitration: a potential hazard of TiO₂ on skin //Biochem. Biophys. Res. Commun., 2008, Vol. 370, Iss. 4. – P. 675–680.

11. Полтавцев А. М., Завьялова И. В., Зарайский Е. И. Изучение биобезопасности геля для обработки рук хирургов «Серебряная органза» на основе шунгит-серебряного нанокompозита; *Механика композиционных материалов и конструкций //Тезисы докладов IV-го Всероссийского симпозиума. Москва, 4 – 6 декабря 2012 г. – М.: ИПРИМ РАН, 2012. – С. 142.*
12. Полтавцев А. М., Завьялова И. В., Зарайский Е. И. Система восстановления зубов и тканей челюсти на основе нанокompозита (наноструктурированного никелида титана). *Механика композиционных материалов и конструкций. Тезисы докладов IV-го Всероссийского симпозиума. Москва, 4 – 6 декабря 2012 г. – Москва, ИПРИМ РАН, 2012. – С. 143.*
13. Зарайский Е. И., Полтавцев А. М., Завьялова И. В. Экспресс-диагностика методом ИХА с применением золотых наночастиц потенциальных онкомаркеров – плацентарных белков гликоделина и IGFBP-1.; *Механика композиционных материалов и конструкций //Тезисы докладов IV-го Всероссийского симпозиума. Москва, 4 – 6 декабря 2012 г. – Москва, ИПРИМ РАН, 2012. – С. 144.*
14. Завьялова И. В., Полтавцев А. М., Зарайский Е. И.; *Композиция для лечения и профилактики заболеваний пародонта на основе листерина, шунгит-серебряного нанокompозита и перекиси водорода; Механика композиционных материалов и конструкций. Тезисы докладов IV-го Всероссийского симпозиума. Москва, 4 декабря – 6 декабря 2012 г. – Москва, ИПРИМ РАН, 2012. – С. 145.*
15. Осьмак Г. Ж., Полтавцев А. М., Зарайский Е. И., Завьялова И. В. Выявление наиболее диагностически ценных онкомаркеров для массовой скрининговой диагностики населения. *Тезисы докладов IV-го Всероссийского симпозиума. Москва, 4 – 6 декабря 2012 г. – Москва, ИПРИМ РАН, 2012. – С. 146.*
16. Гизатуллин Р. М., Зарайский Е. И., Жогин В. А. Нанокompозиты на основе титана и серебра для регенерации костной ткани. *Механика и наномеханика структурно-сложных и гетерогенных сред. Тезисы докладов. Всероссийская конференция, приуроченная к 20-летию ИПРИМ РАН. – М.: ИПРИМ РАН, 2009. – С. 94.*
17. Suslov O., Poltavtsev A., Poltavtseva R. A., Zاراisky E. I. Development of test-system LD-50 for diagnostics of toxicity nano-objects // *International Journal of Nanobiotechnology and Pharmacy, 2013, № 1. – P. 45 –63.*
18. Zاراisky E. I. Nagold in nanobiotechnology // *International Journal of Nanobiotechnology and Pharmacy, 2013, № 1 may. – P. 2–12.*
19. Poltavtsev A. Evaluation of toxicity and hazards of nanoparticles and nanomaterials // *International Journal of Nanobiotechnology and Pharmacy, 2013, № 1, may. – P. 12–24.*
20. Гизатуллин Р. М., Зарайский Е. И. *Материал для имплантации и пластики пародонта и способ его приготовления. Патент РФ 2399387, Москва, 2010*
21. Гизатуллин Р., Гурфинкель Л., Борисенко Н., Зарайский Е. *Лечение пародонтоза с использованием имплантационной системы на основе наноструктурированных интеллектуальных материалов и наногелей //«Дентал Юг», 2012, N10. – С. 24–27.*
22. Зарайский Е. И., Маркин А. В. *Способ количественной оценки результатов иммунохроматографического анализа. Патент РФ № 2217755 от 27 ноября 2003.*
23. Fuks Boris, Boltovskaya Maria, Konstantinov Alexander, Nazimova Svetlana, Starosvetskaya Nelli, Stepanov Alexander. *Method for detecting free IGFBP-1 US patent 5968758, 1999, Oct. 19.*
24. Naumenko A. V., Kovalev G. N., Snegireva N. S., Naumenko V. Yu., Zاراisky E. I. *Viscoelastic characteristics of protein solutions and the micromechanics of their motion in porous carriers //Biophysics, 2006, T. 51, № 2. – С. 209–214.*
25. Friedman Michael, Fuks Boris, Petrunin Dmitri, Zاراisky Evgeny, Boltovskaya Marina, Nazimova Svetlana, Starosvetskaya Nelly, Konstantinov Alexandr, Marshiskaia Margarita. *Devices and methods for detecting amniotic fluid in vaginal secretions – US patent 20060240498, 2006, October 26.*
26. Зарайский Е. И., Яновский Ю. Г., Жогин В. А., Погорелова Л. В., Муркин Е. И., Черников В. П. *Альманах клинической медицины, 2008, 17, 2. – С. 339.*
27. Fuks Boris, Petrunin Dmitrii D., Zاراisky Evgeny I., Boltovskaya Marina N., Nazimova Svetlana V., Starosvetskaya Nelly A., Konstantinov Alexandr, Marshiskaia Margarita I. *Devices and methods for detecting amniotic fluid in vaginal secretions. N-Dia May, 2010: US 7709272.*
28. Зарайский Е. И. (RU), Жогин В. А. (RU), Азарова Ю. В. (RU), Черников В. П. (RU), Муркин Е. В. (RU), Павлова Г. В. (RU), Решетов В. А. (RU), Яновский Ю. Г. (RU). *Биоцидная добавка для водоземulsionных красок. – Патент РФ 2398805, Москва, 2010.*
29. Petrunin Dmitrii D. (RU), Fuks Boris B. [US], Zاراisky Evgeny I. (RU), Boltovskaya Marina N. (RU), Nazimova Svetlana V. (RU), Starosvetskaya Nelly A. (RU). *Vorrichtungen und verfahren zum nachweis von fruchtwasser in vaginalsekreten; EP 1535068, 2010.*
30. Konstantinov Alexandr [US]; Boltovskaya Marina (RU), Starosvetskaya Nelli (RU), Nazimova Svetlana (RU), Stepanov Alexandr (RU), Zاراiski Evgueny (RU), Foux Boris (RU). *Procede et dispositif de detection de l'igfbp-1 libre; EP 0755515, 1999.*



Научная деятельность

© Супотницкий М. В., 2013

УДК 54.01; 616.31; 546.41.185

Поражающее действие нанобъектов



**СУПОТНИЦКИЙ
Михаил Васильевич**

*ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения РФ*

Центр планирования и координации научных работ

Заместитель директора,

канд. биол. наук

Об авторе

Супотницкий Михаил Васильевич родился в 1956 г. в городе Усть-Каменогорске. В настоящее время живёт и работает в Москве.

Область научных интересов – научно-техническое прогнозирование возможных направлений конструирования средств профилактики и лечения опасных инфекционных заболеваний, эволюционная и молекулярная генетика микроорганизмов; механизмы возвращения «забытых» и появление новых инфекционных болезней; патентная политика биотехнологических организаций; история химического и биологического оружия первой половины XX века.

Автор пяти патентов, более десяти книг, более 200 научных статей.

Статья посвящена проблеме поражающего действия нанобъектов. Перечислены виды поражений людей, полученных после применения нанотехнологических препаратов. Рассмотрена токсичность нанобъектов.

Ключевые слова: *нанобъекты, наночастицы, нейротоксичность, гемотоксичность, дермотоксичность.*

The article deals with destructive effect of nanoobjects. The types of human destruction after use of nanotechnologic drugs are specified. The toxicity of nanoobjects is considered.

Keywords: *nanoobjects, nanoparticles, neurotoxicity, hemotoxicity, dermatotoxicity.*

Целью настоящей работы является обозначение контуров проблемы поражающего действия нанобъектов. К нанобъектам относятся наночастицы известных веществ, полученные путём их дезагрегирования или конденсирования, искусственно созданные конструкции, способные переносить генетическую информацию (искусственные генетические конструкции) или осуществлять механические действия (наномеханизмы) в диапазоне размеров до 100 нм.

Нанобъекты могут вызывать смертельные поражения людей, проявляющиеся клиникой болезни, неизвестной врачам, либо эта болезнь может маскироваться под уже известные описания, однако иметь совершенно иную этиологию, чем та, что традиционно рассматривается врачами при выборе способов лечения пациентов.

Первое боевое применение наночастиц состоялось в июле 1917 г., когда германской армией были применены специальные снаряды, переводящие арсины в наноагрегаты размером менее 100 нм, свободно преодолевавшие угольные фильтры противогазов.

Известно не менее шести путей проникновения нанобъектов в организм человека – через лёгкие, обонятельный эпителий, кожу, желудочно-кишечный тракт, барьеры глаза и парентерально. В зависимости от структуры, состава, физических свойств и способа проникновения в организм человека нанобъекты оказывают разрушительное действие на лёгочную ткань, проявляют нейро-, дермо- и генотоксичность. Наибольшую опасность представляют нанобъекты размером менее 50 нм, способные проникать в ядра клеток, формирующие инкапсулирующие структуры или биофункционализированные. Распознавание вызванных ими поражений невозможно без определения случая поражения, т. е. формирования стандартного клинического, патологоанатомического и патоморфологического описания случая болезни, вызванного определённым типом нанобъекта.

Нанобъекты – это огромный мир в диапазоне наноразмеров. К ним относятся как наночастицы известных веществ, полученные путём их дезагрегирования или конденсирования, так и искусственно созданные конструкции, способные переносить генетическую информацию (искусственные генетические конструкции) или осуществлять механические действия (наномеханизмы). D. M. Goncalves et al. [23] пишут о необходимости формирования новой ветви токсикологии – нанотоксикологии, т. е. науки, изучающей потенциальную опасность наноструктур и наномеханизмов.

Границы наномира

Наномир представлен структурами нанометрового диапазона размеров ($1 \text{ нм} = 10^{-9} \text{ м} = 10^{-6} \text{ мм} = 10^{-3} \text{ мкм}$), но это не значит, что если объект измерять нанометрами, то мы проникнем в наномир. Размер атомов и атомных молекул – около 0,1 нм, но наноструктурой отдельный атом не является. В химии принято считать, что наноструктурой становится результат самоконденсации атомов и молекул в малые атомные агрегации (кластеры), являющиеся промежуточным звеном между изолированными атомами и молекулами (с одной стороны), и массивным (объёмным) твёрдым телом, с другой. Отличительной чертой кластеров атомов (молекул) от исходных атомов (молекул) является «немонотонная зависимость свойств от количества атомов в кластере». Переход к твёрдому телу осуществляется через укрупнение кластеров – минимальное число атомов в кластере равно двум, верхняя граница соответствует числу атомов, когда добавление ещё одного атома не меняет свойства кластера, так как переход количественных изменений в качественные уже закончился.

Обычно такая структура соответствует 1–2 тыс. атомов и она является границей между кластером и изолированной наночастицей. Следовательно, нижняя граница наномира начинается в диапазоне размеров от 1 до 4 нм, т. е. с образованием твёрдого тела – наночастицы. Верхнюю границу наномира определяют свойства приповерхностного слоя наночастицы. Дело тут в том, что доля атомов (α), находящихся в тонком приповерхностном слое ($\sim 1 \text{ нм}$), растёт с уменьшением размеров частички вещества R , поскольку $\alpha \approx S/V \approx R^2/R^3 \approx 1/R$ (здесь S – поверхность частички, V – её объём). Атомы, дислоцирующиеся на поверхности частички, обладают свойствами, отличающимися от «объёмных», поскольку они связаны с окружающими их атомами по-иному, нежели в объёме.

В результате ненасыщенности связей на поверхности наночастицы может произойти атомная реконструкция и появиться новый порядок расположения атомов. На свободных поверхностях могут находиться атомы и молекулы, адсорбированные из внешней среды; дополнительные особенности появляются в окрестностях атомов, находящихся на краях моноатомных террас, уступов и впадин. Взаимодействие электронов со свободной поверхностью тоже приводит к возникновению специфических приповерхностных явлений. Возникают и другие эффекты, более подробно о них можно узнать в специаль-

ной литературе (например, из монографий Головина Ю. И. [1] и Суздальёва И. П. [3]).

Всё это вместе взятое позволяет химикам рассматривать приповерхностный слой частиц, у которых соотношение числа атомов (молекул), лежащих на поверхности, больше или равно объёмным, как некое новое состояние вещества. Внешне оно проявляется резким увеличением химической и каталитической активности поверхности, увеличением её сорбционной ёмкости и другими эффектами. Поэтому в химии под наночастицами понимают те, у которых отношение числа поверхностных атомов (молекул) к объёмным ≥ 1 . При таком определении наночастицами низкомолекулярных веществ считаются объекты с размером до 10 нм, для высокомолекулярных – до 100 нм.

Первое боевое применение частиц нано- и субмикронных размеров

После появления в 1916 г. на фронтах Первой мировой войны у воюющих армий угольных противогазов многие военные специалисты считали, что теперь «противогаз победил газ». Однако в июле 1917 г. германской армией во Фландрии впервые были применены новые отравляющие

вещества (ОВ) раздражающего действия – арсины (дифенилхлорарсин, адамсит, дифенилцианарсин), от которых угольный противогаз не защищал. Объясняется это следующим. В отличие от использовавшихся ранее фосгена, хлора, синильной кислоты арсины в тех же условиях представляют собой твёрдые вещества. Температура кипения дифенилхлорарсина – 333 °С; адамсита – 277,5 °С; дифенилцианарсина – 346 °С. Их плавляли и заливали в стеклянные ёмкости, затем эти ёмкости помещали в корпуса снарядов и заливали тротилом. Снаряды маркировались синим крестом.

При взрыве снаряда арсины превращались в пар и конденсировались с образованием наноагрегатов размером менее 100 нм (предел разрешения методов измерения размеров частиц в то время). Такой способ образования наночастиц называется сегодня самоконденсацией, правда для получения наночастиц заданного размера и структуры он выполняется в специальных камерах и атмосфере инертного газа низкого давления с последующей конденсацией пара в охлаждающей среде или на охлаждающих устройствах. Но в 1917 г. размер и структура получаемых твёрдых частиц арсинов германское командование не интересовали. Целью применения таких снарядов было заставить солдат противника сбросить противогазы и вдохнуть пары фосгена и дифосгена, образовавшиеся в результате одновременного обстрела химическими снарядами другого типа, маркировавшимися зелёным крестом (рис. 1).

Частицы арсинов свободно преодолевали угольные фильтры противогазов и вызывали у солдат сильный рвотный рефлекс. Борьба с такими «дымами» оказалась более сложной, чем с ОВ, применявшимися в газообразном состоянии. До конца войны не было создано удовлетворительных противодымных фильтров. Артиллерийская подготовка, проводимая одновременно химическими снарядами синего и зелёного крестов, получила у германских военных красивое название – «стрельба разноцветным крестом» [3].

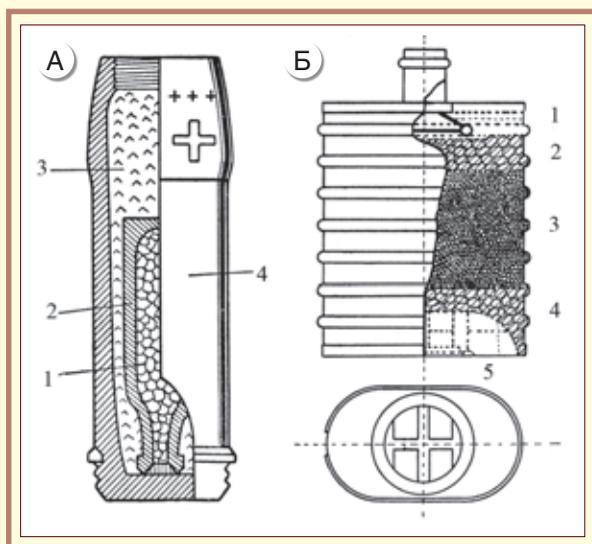


Рис. 1. Нано- и субмикронные частицы арсинов против противогазов.
А. Схема германского химического снаряда «синий крест» (1917–1918 гг.): 1 – ОВ (дифенилхлорарсин); 2 – футляр для ОВ; 3 – разрывной заряд; 4 – корпус снаряда.
Б. Британский малый коробчатый противогаз начала 1918 г. – лучший противогаз Первой мировой войны: 1 – пружина; 2 – слой угля; 3 – химический поглотитель; 4 – слой угля; 5 – медная сетка. Защищал до 30 мин от фосгена в концентрации в атмосфере 1 %, но был бесполезен для защиты от частиц арсинов нано- и субмикронных размеров [5]

Особенности наночастиц, обуславливающие их поражающее действие

Прежде всего, это химическая и каталитическая активность поверхности наночастиц, отсутствующая у этого же вещества при более крупной дисперсности частиц. Второй особенностью наночастиц, проявляющейся их токсичностью, является их высокая концентрация в воздухе при

незначительном количестве самого распылённого вещества. Например, 10 мкг/м³ вещества образует более чем 1х10⁶ частиц/см³ при их размере в 20 нм.

Третья особенность наночастиц, проявляющаяся их токсическими свойствами, это их способность к ингаляционному, трансдермальному, транснейральному и энтеральному проникновению в любые органы и ткани человека, включая ЦНС. Четвёртая особенность наночастиц, проявляющаяся генотоксическим действием – их способность проникать в ядра неделящихся клеток, если диаметр частиц менее 40 нм, т. е. менее размера внутрен-

ней полости поры ядра клетки [2, 13]. Физические свойства частиц наноразмеров, определяющие их распространение в организме человека и поражающее действие, приведены в табл. 1.

Наночастицы по размеру сходны с рецепторами клеток и молекулами, осуществляющими сигнальную функцию внутри клетки. Исследования, проведённые в условиях *in vitro* с использованием различных клеточных систем, показали развитие у клеток, экспонированных к наночастицам, провоспалительных и связанных с окислительным стрессом реакций [13, 18, 23, 34] (рис. 2).

Таблица 1

Физические свойства наноразмеров, определяющие распространение в организме человека и поражающее действие

Физические свойства	Распространение наночастиц в организме человека	Поражающее действие наночастиц
Размер	Определяет её биодоступность и продолжительность циркуляции в кровеносном русле. Частицы размером <5–10 нм удаляются из организма путём почечного клиренса; >200 нм депонируются в селезёнке. Частицы размером до 70 нм могут пенетрировать капилляры. Наноконплексы размером в пределах 35–120 нм собираются в лимфатических узлах. Частицы менее 40 нм способны проникать в ядро клетки. Размер частицы определяет механизм её интернализации в клетку (фагоцитоз, эндоцитоз, пикноцитоз) и внутриклеточную локализацию, а также то, будет ли она опсонизирована белками сыворотки плазмы, фагоцитирована макрофагами или удалена клетками РЭС	Варьирование размером наночастицы позволяет более точно нацелить на клетки, содержащие специфические сайты для наночастицы, тем самым уменьшая их поражающую дозу
Мультифункциональность	Размер частицы определяет её биодоступность и создание более высоких концентраций в органах-мишенях, структура той же частицы (например, нанотрубка) позволяет использовать её в качестве носителя токсического соединения в клетку-мишень, поверхность частицы определяет её сродство с определённым рецептором и др.	Повышение специфичности поражающего действия наночастиц
Большая площадь поверхности	Плохо растворимые в воде токсические вещества могут быть сорбированы на поверхности частиц	Расширение круга поражающих агентов
Высокий поверхностный заряд	Поверхность клетки имеет отрицательный заряд, придание частице положительного заряда повышает её проникающий потенциал. Позволяет повысить эффективность доставки в клетки химических и биологических соединений, имеющих отрицательный заряд	Снижение поражающей дозы и расширение круга поражающих агентов
Формирование стабильных структур, способных инкапсулировать химические и биологические соединения (нанокапсулы и нанотрубки)	Инкапсуляция позволяет защитить биологическое или химическое соединение от действия факторов внешней среды при хранении, переводе в аэрозоль, нахождении в аэрозолированном состоянии и от воздействия факторов организма (кислая среда желудочного сока, иммунные ответы и др.), а также доставлять в клетки плохо растворимые в воде соединения. Но только частицы размером менее 100 нм могут попасть вовнутрь везикулы в ходе эндоцитоза, что определяет наиболее оптимальный размер наночастиц, включающих биологические активные соединения; должен находиться в пределах от 10 до 100 нм	То же
Возможность биофункционализации	Достигается путём присоединения наночастиц к биоактивным молекулам. Например, присоединение к ПЭГ (пэгилирование) продлевает длительность циркуляции наночастицы в крови, уменьшает их взаимодействие с опсонизирующими белками; конъюгирование с белками-лигандами повышает эффективность проникновения наночастиц в клетки-мишени	Снижение поражающей дозы

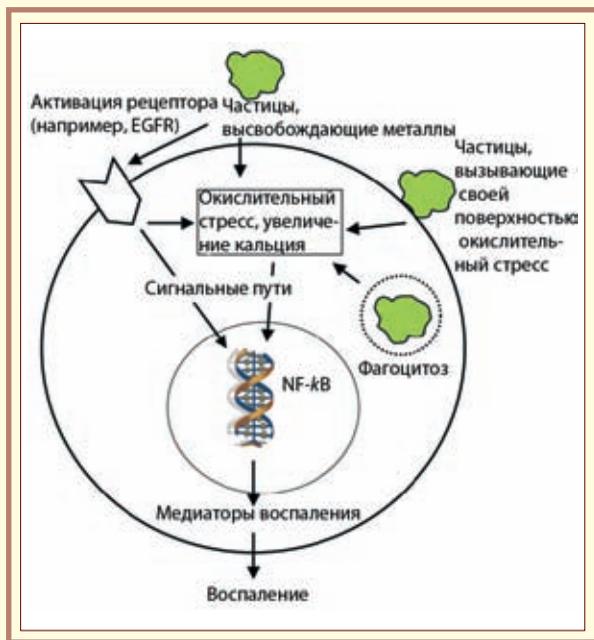


Рис. 2. Гипотетический механизм клеточного взаимодействия с частицами наноразмера. Проникшие в клетку наночастицы металла вызывают окислительный стресс, тем самым увеличивая внутриклеточное содержание кальция и активируя отдельные гены. EGFR (epidermal growth factor receptor) – рецептор эпидермального фактора роста. NF-kB (ядерный фактор kB) — основной транскрипционный активатор воспалительных цитокинов (по [18])

Токсическое действие наночастиц на культуры клеток зависит от типа клетки-мишени, условий среды, в которой произошло взаимодействие наночастицы с клеткой, химического состава наночастицы, её размера, формы, химии поверхности и дозы [53].

В условиях *in vivo* наночастицы вызывают различные патологические реакции. В зависимости от способа проникновения в организм человека и физических свойств (табл. 1) они могут оказывать разрушительное действие на лёгочную ткань, проявлять нейро-, дермо- и генотоксичность. Без экспериментального исследования на лабораторных животных наночастиц конкретного вещества, структуры, определённого диапазона дисперсности и степени агрегации частиц их патологическое действие можно только предполагать. Однако даже если оно установлено в эксперименте или эпидемиологическим исследованием, необходимо понимать, что это действие воспроизводимо только в тех условиях, в которых оно обнаружено. На другие условия эксперимента мы можем его только экстраполировать, как это показано на рис. 3 для наночастиц, оказывающих нейротоксическое действие.

Например, при исследовании в условиях *in vitro* ответов микроглии на частицы кварца размером 200 нм обнаружено, что они не обладают токсическим эффектом даже при высоких кон-

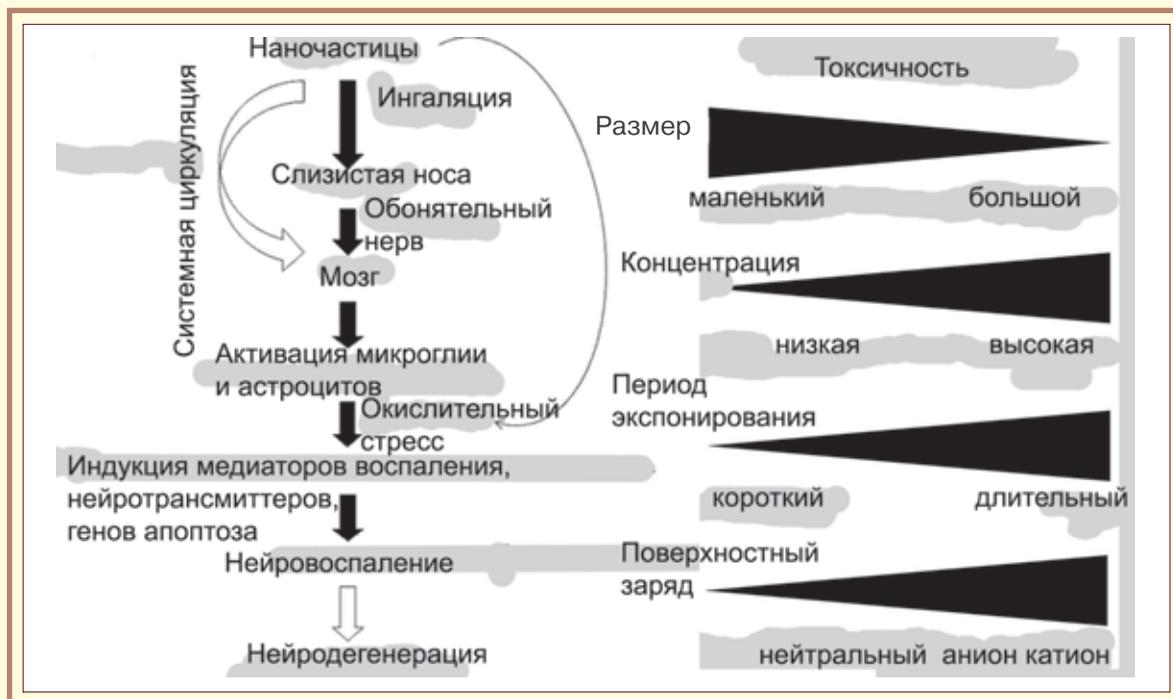


Рис. 3. Нейротоксическое действие наночастиц. А. Предполагаемый механизм нейротоксического действия наночастиц. По [59]. Б. Общие закономерности проявления нейротоксичности при экспонировании к наночастицам. Нейротоксичность выше при меньшем размере частиц, большей концентрации, большей величине положительного заряда и длительности экспонирования (по [32])

центрациях (292 мкг/мл). Частицы того же вещества размером 50 нм уменьшают количество живых нейронов дозозависимым образом [6]. Наночастицы меди размером 40 нм обладают максимальным токсическим эффектом на соматосенсорные нейроны в сравнении с таким же эффектом, оказываемым наночастицами меди размером 60 и 80 нм [47].

В патологических эффектах нанообъектов, проявившихся в условиях *in vivo* при одном способе введения, прослеживается определённая специфичность, обусловленная их структурой и химическим строением. Например, агрегированные одностеночные углеродные нанотрубки в лёгочной ткани мышей индуцируют образование гранулём, главным образом связанных гипертрофией эпителиальных клеток. Эти же трубки, но в диспергированном состоянии, вызывают развитие диффузного интерстициального фиброза с утолщением стенок альвеол [51].

Внутренний объём нанотрубок может быть заполнен токсическими соединениями биологической и химической природы. Стенки нанотрубок исключают взаимодействие биологических компонентов с клетками иммунной системы и последующие иммунные ответы. Благодаря достижениям в конструировании таких структур стала возможной доставка биологически активных веществ и генов в клетки, очень трудные для трансфекции, включая В-клетки и первичные нейроны [22, 36].

Искусственные генетические конструкции

Разрабатываются в рамках технологий генной терапии наследственных и инфекционных болезней. Предназначены для доставки генов в клетки-мишени. В настоящее время сформировалось два альтернативных направления их создания – на основе вирусов и на основе искусственных векторных систем (табл. 2).

Искусственные генетические конструкции на основе вирусов в организме человека имитируют поведение вирусной частицы, но не вызывают инфекционный процесс. В их состав входят: белки вируса, формирующие оболочку частицы, способную к узнаванию клеток-мишеней и к интернализации в цитоплазму; и трансген-экспрессирующая кассета, осуществляющая после доставки в клетку длительную экспрессию одного или нескольких генов.

Наибольшее распространение в практике генной терапии наследственных и инфекционных болезней приобрели векторные системы на основе лентивирусов, аденовирусов, аденоассоциированных вирусов, ортопоксвирусов, герпесвирусов и отдельных РНК-вирусов (вирусов

гриппа, бешенства, везикулярного стоматита, кори, респираторно-синтициальной болезни, лихорадок Синдбис, Сендай, ВЭЛ и др.), не относящихся к ретровирусам.

Искусственные векторные системы разрабатываются по трём направлениям: комплексы, образованные нуклеиновыми кислотами и катионными полимерами (полиплексы); комплексы, образованные нуклеиновыми кислотами и липидами (липоплексы); комплексы на основе наночастиц двуокиси кремния. На рис. 4 показаны механизмы формирования первых двух комплексов и их проникновения в клетку.

Третьим направлением получения искусственных векторных систем, развитие которого прослеживается только с 2005 г., стало использование наночастиц двуокиси кремния в качестве носителя терапевтических генов. Их основными преимуществами перед липо- и полиплексами разработчики считают низкую токсичность, контролируемость размеров и простоту приготовления векторной системы [10, 14].

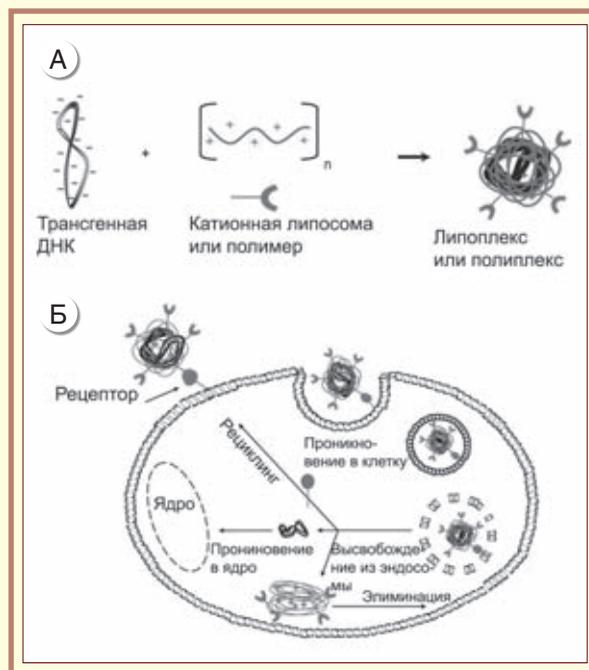


Рис. 4. Механизмы формирования искусственных векторных систем наноразмера и их проникновения в клетку. А. Формирование комплекса. Имеющие отрицательный заряд нуклеиновые кислоты взаимодействуют с катионными липидами или поликатионами через электростатические взаимодействия. В результате формируются положительно заряженные липоплексы или полиплексы. Б. Положительно заряженные наночастицы связываются со специфическими рецепторами или непосредственно с поверхностью клетки. Комплексы проникают в клетку по механизму эндоцитоза. После высвобождения из эндосомы и разборки комплекса, нуклеиновая кислота проникает через поры в ядро клетки (по [27])

Таблица 2

Сравнение свойств наиболее распространённых генотерапевтических векторных систем

Характеристика	Гамма-ретровирусные (MLV, FLV и др.)	Лентивирусные (ВИЧ-1 и ВИЧ-2, FIV, CAEV, EIAV, JDV, MVV и др.)	Аденовирусные (Ad)	Вирус герпеса (HSV-1)	Аденоассоциированный вирус	Плазмидная ДНК в искусственной векторной системе
Размеры частицы, нм	80–100	80–100	70–90	120–300	20	15–5000
Максимальный размер вставки, т. п. о.	7–7,5	7–7,5	До 30	До 30 (на основе рекомбинантного вируса) до 150 т. п. о. на основе ампликона)	3,5–4,0	Неограничен
Концентрация (количество вирусных частиц в мл)	> 10 ⁸	> 10 ⁸	> 10 ¹¹	До 10 ⁸ (на основе ампликона)	> 10 ¹²	Неограничен
Схема доставки генов	<i>Ex vivo</i>	<i>Ex/in vivo</i>	<i>Ex/in vivo</i>	<i>In vivo</i>	<i>Ex/in vivo</i>	<i>Ex/in vivo</i>
Интеграция с ДНК реципиента	Возможна	Возможна	Невозможна	Невозможна для ампликонов	Возможна/ невозможна	Маловероятна
Продолжительность экспрессии <i>in vivo</i>	Короткая	Продолжительная	Короткая	Короткая	Продолжительная	Короткая
Стабильность	Хорошая	Не проверялась	Хорошая	Нестабилен	Хорошая	Очень хорошая
Лёгкость приготовления	Пилотные установки размером 20–50 л	Неизвестно	Легко масштабируется	Неизвестно	Трудно очищать от клеточных фрагментов и масштабировать производство	Легко получать в больших количествах
Иммунологические проблемы	Незначительны	Незначительны	Серьёзные	Незначительны для ампликонов	Неизвестны	Нет
Наличие иммунитета у реципиента	Маловероятно	Маловероятно, за исключением больных СПИД	Возможно	Возможно	Возможно	Невозможно
Проблемы безопасности	Инсерционный мутагенез?	Инсерционный мутагенез?	Воспалительный ответ, токсичность	Незначительны для ампликонов	Воспалительный ответ, токсичность	Преодолимы в рамках подбора нетоксичных компонентов системы

Таблица составлена по работам [11, 31, 42, 46, 49]

Наиболее распространённым вариантом конструирования искусственных векторных систем стало создание комплексов наноразмеров, подвергающихся декомплексации в эндосомах и высвобождающих ДНК трансгена в цитоплазму. Нанополиплексы размером меньше 25 нм эффективно трансфецируют неделящиеся клетки, так как они меньше, чем размер пор в мембране ядра. Нанополиплексы стабильны в солевых растворах.

Конденсированный пептид, содержащий в своей структуре тридцатимерный полилизин с цистеином на N-конце, к которому «пришит» 10 кДа ПЭГ, при температуре 4 °С стабилен в солевом растворе более трёх лет; 9 мес. он сохраняет свои основные свойства при комнатной температуре и один месяц при температуре 37 °С [17].

Перечисленные подходы к конструированию искусственных векторных систем позволяют

разрабатывать векторы с тонко управляемой специфичностью для направленной доставки трансгенов в целевые клетки (в печень, надпочечники, глубокие отделы мозга, медуллярные двигательные нейроны, костные ткани, гладкую мускулатуру кровеносных сосудов, лёгочную ткань, опухоли эндотелия и др.).

Пути проникновения нанобъектов в организм человека

Их не менее шести – через лёгкие, обонятельный эпителий, кожу, желудочно-кишечный тракт, барьеры глаза и парентерально. Наиболее доступны для наночастиц лёгкие. В газообменной области альвеол барьер между альвеолярной стенкой и капиллярами очень тонок, всего 500 нм и легко проницаем для объектов наноразмеров [30]. Распространение наночастиц по дыхательным путям показано на рис. 6.

До 90 % ингалированных 1-нм частиц оседают в назофарингеальном тракте, до альвеол они «не доходят». 5-нм частицы распределяются относительно равномерно по назофарингеальному тракту, трахеобронхиальному тракту и альвеолам (~ по 30 %). Частицы диаметром в 20 нм наиболее эффективно оседают в альвеолах

(~ 50 %). В то же время в трахеобронхиальном и назофарингеальном регионах задерживается ~ по 15 % от их общего количества.

Скорость проникновения нанобъектов из лёгких в кровеносное русло варьирует для наночастиц разных размеров и химического состава. В некоторых случаях этот процесс может осуществляться очень быстро. А. Nemmar et al. [42] установили, что ингалированные углеродные частицы размером менее 100 нм уже через одну минуту после экспозиции можно обнаружить в крови экспериментального животного.

По данным Choi H. S. et al. [15], некатионные наночастицы размером менее чем ~ 34 нм способны перемещаться из лёгких в лимфатические узлы средостения. Такие же наночастицы размером < 6 нм проникают из лёгких в кровь, а затем выводятся из организма почками. Наночастицы, покрытые сурфактантом, выстилающим стенки альвеолы, более эффективно проникают через альвеолярно-капиллярную мембрану, чем частицы, не имеющие такого покрытия [7].

Наибольшим токсическим потенциалом для лёгочной ткани обладают углеродные нанотрубки. Их диаметр измеряется в нанометрах, длина может достигать сотен микрон. Такие структуры имеют сходство с нитями асбеста. Экспери-

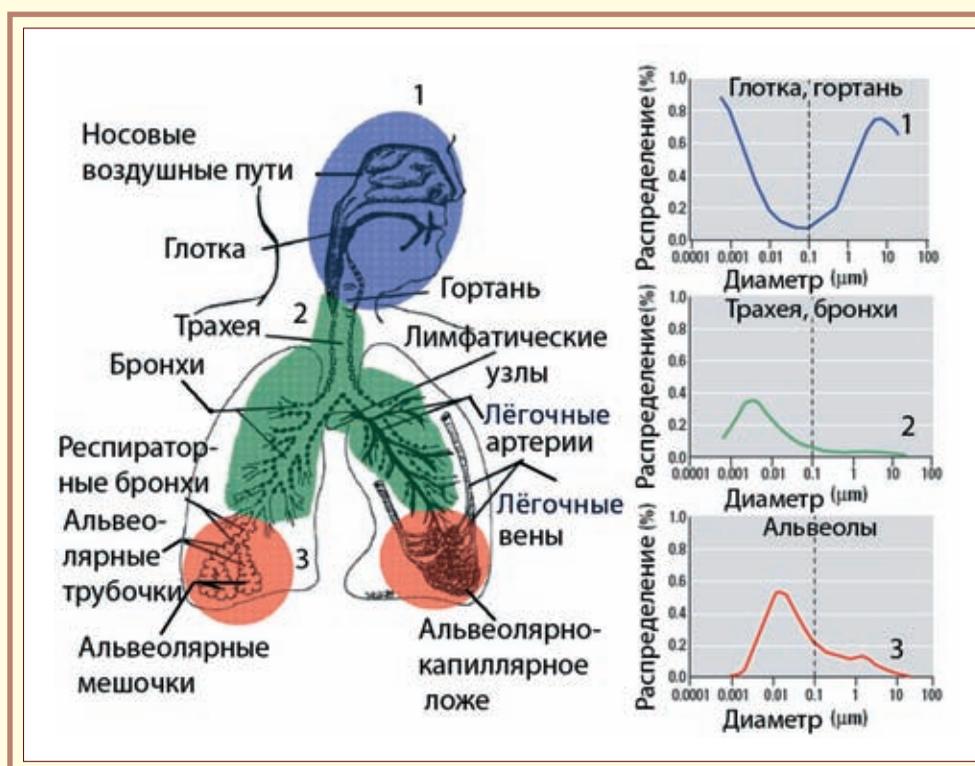


Рис. 5. Фракционное отложение ингалированных частиц в назофарингеальном (1), трахеобронхиальном (2) и альвеолярном (3) регионах респираторного тракта при носовом дыхании. По [44]

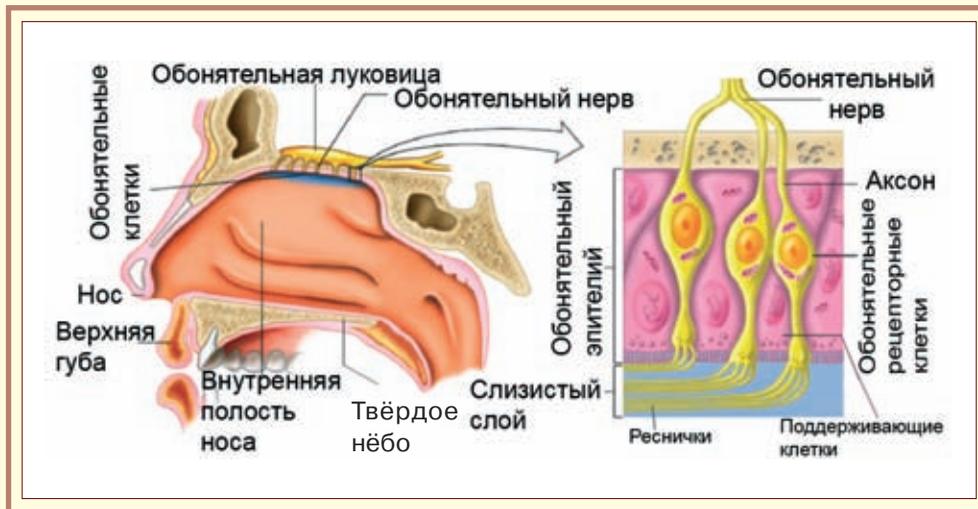


Рис. 6. Проникновение наночастиц в мозг через обонятельный эпителий носовых ходов (по [44])

ментальные результаты, полученные в условиях *in vitro* F. A. Murphy et al. [40], показывают, что прямое экспонирование к CNT ведёт к значительному цитокиновому выбросу макрофагами, но не клетками мезотелия. Выраженность этих провоспалительных ответов макрофагов зависит от длины нитей CNT. Она меньше, чем ожидалось при проведении аналогии с нитями асбеста. К тому же действие CNT на клетки мезотелия носит непрямой характер. Мезотелиальные клетки реагируют на цитокины, выброшенные макрофагами во время незавершённого фагоцитоза CNT. Поэтому авторы выдвинули гипотезу, что этот механизм лежит в основе воспаления, развивающегося в плевральной полости человека в ответ на проникновение туда нанонитей. Данные по острой лёгочной токсичности CNT приведены в табл. 3.

Своеобразной «новинкой» для токсикологов, характерной именно для частиц нанодиапазона, является возможность их проникновение в ЦНС по нервным волокнам, идущим от обонятельного эпителия и сетчатки глаза (рис. 6).

D. H. Jo et al. [32] показали проникновение в мозг через сетчатку глаза наночастиц золота размером 20 нм, введённых внутривенно.

Установлены три пути проникновения частиц наноразмеров через кожу: в промежутки между клетками, через клетки и через волосяные фолликулы. Например, липоплексы с размерами в пределах от 20 нм до 200 нм легко «проходят» между клетками. Проникновение в организм человека через кожные покровы для наночастиц облегчается тонкостью верхнего слоя кожи, эпидермиса. Лежащий же под ним слой – дерма, богат макрофагами крови и тканей, лимфати-

ческими узлами, дендритными клетками и в него «выходят» окончания сенсорных нервов пяти различных типов; все эти «обитатели» дермального слоя способны поглощать и распространять нанобъекты за пределы их первоначальной аппликации [44].

S. S. Tinkle et al. [58] продемонстрировали способность неповреждённой кожи в местах сгиба, например, в области запястья, становиться проницаемой для наночастиц. L. Mortensen et al. [39] опубликовали экспериментальные данные, показывающие значительное увеличение проницаемости кожи для наночастиц после ультрафиолетового облучения.

При внутривенном введении способность нанобъектов распространяться в организме животного и человека зависит от их размеров. Например, частицы золота размером 10 нм при внутривенном введении крысе были обнаружены в крови, печени, селезёнке, почках, яичках, тимусе, сердце и мозге. Частицы этого же вещества, но более крупного размера (50, 100, 250 нм), были обнаружены только в крови, печени и селезёнке экспериментального животного [33].

D. H. Jo et al. [32] показали способность введённых внутривенно частиц золота размером 20 нм проникать во все слои сетчатки глаза, включая нейрональный, эндотелиальный и периендотелиальные глиальные клетки, однако частицы золота размером 100 нм не проникали в ткани сетчатки. Из циркулирующих в крови наночастиц ГЭБ способны преодолевать катионные наночастицы и, в высоких концентрациях (!), анионные наночастицы [35].

Кишечник является значительно более проницаемым для наночастиц, чем для частиц

Таблица 3

Результаты исследования острой лёгочной токсичности CNT*

Животное	Наночастица	Путь введения/ продолжительность исследования	Доза	Патологический эффект/повреждение
Мышь	MWCNT	И/т через 1, 2, 3, 7 и 30 сут.	1; 2,5 и 5 мг/кг	Зависимые от дозы летальность и воспаление; зависимые от дозы и времени экспонирования фиброз и гранулёмы
Морская свинка	MWCNT	И/т, 90 сут.	15 мг/животное	Неспецифическая десквамативная интерстициальная пневмония
Мышь	SWCNT	То же	0,1 и 0,5 мг/животное	Гибель животных в группах с наибольшей дозой, прогрессирующие и зависящие от дозы мультифокальные эпителиальные гранулёмы
Крыса	MWCNT	И/т, 1 и 2 мес.	0,5; 2,0 и 5 мг/животное	Дозозависимое развитие воспаления и фиброза
Мышь	SWCNT	Фарингеальная аспирация, 1, 3, 7, 28 и 60 сут.	40 мкг/животное	Транзиентные воспалительные ответы, зависящие от дозы эпителиоидные гранулёмы, интерстициальный фиброз и утрата лёгочной функции
Крыса	SWCNT	И/т, 24 ч, 1 нед.; 1 и 3 мес.	1 и 5 мг/кг	Смерть при наиболее высокой дозе, вызванная механической асфиксией из-за обструкции верхних дыхательных путей, вызванной агрегацией наночастиц; транзиентные воспалительные ответы и неспецифические повреждения; непрогрессирующие и не зависящие от дозы мультифокальные гранулёмы

* По [56]

микронного размера, благодаря тому, что поверхность его слизистой оболочки имеет поры диаметром до 100 нм. Положительно заряженные наночастицы проникают в кровеносное русло через кишечник гораздо быстрее, чем отрицательно заряженные наночастицы. Чем меньше размер частицы, тем меньшее влияние на скорость её проникновения оказывает её заряд [21].

Подробно с токсическими свойствами нанобъектов, производимых промышленным путём, можно ознакомиться в работах [12, 38, 52, 56]. В табл. 4 приведены примеры острой системной токсичности нанобъектов в условиях эксперимента.

Случай группового поражения людей наночастицами двуокиси кремния¹

С января 2007 г. по апрель 2008 г. в Beijing Chaoyang Hospital в Пекине поступили семь женщин в возрасте от 19 до 47 лет (средний возраст 29 лет), работавших на одном предприятии. Все

они жаловались на одышку и затруднённое дыхание. Объективно при поступлении: поверхностное дыхание; гипоксемия, но без задержки углекислоты; на лице, кистях рук и предплечьях – интенсивная зудящая сыпь. Ультразвуковое исследование позволило обнаружить у всех пациенток плевральные выпоты, у пяти из них – перикардиальный выпот глубиной 4–8 мм. Других патологических изменений со стороны сердца, почек и печени не выявлено.

Ранее они проходили лечение в местных больницах, которое включало многократный торакоцентез, выполняемый для удаления жидкости из плевральной полости; антибиотикотерапию; антитуберкулёзное лечение; преднизолон и метилпреднизолон.

Все пациентки работали в одном, плохо вентилируемом помещении площадью 70 м², с одной дверью и без окон. В помещении установлена машина для воздушного распыления полиакрилатов на листы оргстекла и последующего нагревания и высушивания полученных поверхностей. Полиакрилатные покрытия обычно

¹ По работам Y. Song et al. [54, 55].

Таблица 4

Острая системная токсичность нанобъектов в условиях эксперимента*

Животное	Нанобъект	Путь введения	LD ₅₀ (г/кг)	Патологический эффект
Мышь	Фуллерен (C ₆₀)	В/б	> 2,5**	Смертельных исходов не наблюдалось, фуллерены обнаружены в селезёнке и печени, гипертрофия перисинусоидальных клеток печени
Мышь	G7, катионный полиамидаминный дендример	В/б	> 0,045	Погибла 1/5 часть животных, вакуолизация печени***
Мышь	G3, катионный меламинавый дендример	В/б	0,040–0,160	Некроз печени
Крыса	Полисульфонируемый фуллерен (C ₆₀)	В/б	0,6	Лизосомальная перегрузка почек, нефроз
Мышь	Полигидроксилированный фуллерен (C ₆₀)	В/б	1,2	Отмечено зависимое от дозы увеличение веса печени
Мышь	Zn, 58 нм	<i>Per os</i>	> 5	Погибли 2 из 20 экспериментальных животных вследствие непроходимости кишечника. Расширение канальцев почек, отёчная дегенерация печени
Мышь	Cu, 25 нм	<i>Per os</i>	0,4	Проксимальный тубулярный некроз почек, жировая дегенерация печени, атрофия селезёнки
Мышь	Cu, 25 нм	<i>Per os</i>	> 5**	Почки – расширение клубочков; печень – отёчная дегенерация, очаговый некроз

* По [56]. ** Указана максимальная доза. *** Жирным шрифтом выделен орган-мишень.

содержат связующее вещество, пигменты, растворители, наполнители и добавки. Наполнители и добавки представляют собой композиционные материалы, содержащие диоксид кремния, сульфат бария, карбонат кальция, силикаты (тальк, слюда или каолин).

Даже спустя 20 мес. после поступления в Beijing Chaoyang Hospital у пациенток обнаруживали ослабленное дыхание, продолжающееся истечение жидкости в плевру и медленно прогрессирующий лёгочный фиброз. У двух пациенток (случаи 1 и 5) плевральный выпот образовался чрезвычайно быстро, что потребовало установить непрерывный дренаж плевральной полости. В сутки врачи откачивали 300–800 мл плевральной жидкости.

Наиболее тяжёлой девятнадцатилетней пациентке (случай 5) через 18 мес. после начала болезни было проведено оперативное вмешательство на грудной клетке под видеонаблюдением (VATS). Процедура включала фенестрацию (прокол) перикарда и откачивание почти 170 мл жидкости из перикардального пространства, декортикацию плевральных фиброзных пластинок, клиновидную резекцию плевры, лёгочную биопсию и дренаж плевральной жидкости.

Через 24 ч после VATS у пациентки развился тяжёлый пневмоторакс, на 10-е сутки – острая перикардальная тампонада, которые не удалось купировать. Пациентка умерла на 16 сутки после хирургического вмешательства на фоне лёгочной недостаточности. Течение болезни у 29-летней пациентки было сходным с вышеописанным. Она умерла от лёгочной недостаточности в местном госпитале через 21 мес. после появления первых симптомов болезни.

Общие анализы мочи у пациенток при поступлении в стационар были в пределах нормы. Общий анализ крови обнаружил моноцитоз с увеличением абсолютного количества моноцитов и нейтропению, с уменьшением абсолютного количества нейтрофилов, повышенную СОЭ, гипопротейнемию, повышенные уровни ALT и AST. Спирометрия показала снижение лёгочного объёма. Иммунологические тесты были в пределах нормы.

Рентгенография и компьютерная томография грудной клетки показали наличие у всех пациенток плеврального выпота, у пяти из них обнаружен перикардальный выпот. У четырёх пациенток обнаружены диффузные затемнения в лёгких, у шести – узелки в лёгочном интерсти-

ции, у трёх – аденопатия лимфатических узлов. Не обнаружено плевральных бляшек, утолщений плевры и узлов. У всех пациенток выявлено воспаление лёгочного интерстиция и лёгочный фиброз.

После 7 мес. наблюдения у двух пациенток (случаи 1 и 5) замечено быстрое прогрессирование лёгочного интерстициального фиброза и у одной – образование кальцификатов в плевральной полости (случай 1).

Всем пациенткам была выполнена бронхоскопия, у четырёх обнаружено увеличение и гиперемия слизистой оболочки бронхов. В жидкости бронхоальвеолярного лаважа количество макрофагов снижено, лимфоцитоз, нейтрофилия, количество эозинофилов соответствовало норме. Трахеобронхиальная лёгочная биопсия показала скопления фагоцитов, воспалительных клеток и белковые выпоты в альвеолярных пространствах, набухшие и расширенные альвеолярные септы с нейтрофильными лейкоцитами и участки лёгочного фиброза. Слизистая оболочка бронхов инфильтрирована воспалительными клетками.

Торакоскопия, проведённая у трёх пациенток, позволила обнаружить у двух из них ровные уплотнения на поверхности плевры, не имеющие отношения к злокачественным образованиям. Биопсия плевры и жидкости показала наличие гранулём, вызванных наличием инородного тела, геморрагии, воспалительные клетки.

Изучение грудной полости с помощью VATS позволило обнаружить отсутствие слипания плевральных листков. На биопсию были взяты участки плевры. С лёгочной поверхности плевры, где рассеяны маленькие туберкулы, взяты гистологические образцы из участков, соответствующих верхней, средней и нижней долям лёгкого. Световая микроскопия гистологических препаратов не дала ничего специфического: фиброзные уплотнения на поверхности плеврального листка; эмфиземо-подобные изменения лёгочных альвеол; расширение альвеолярных септ; отложение коллагеновых нитей; капилляры расширены, заполнены лимфоцитами; альвеолярные пространства инфильтрированы фагоцитами; в альвеолах встречаются многоядерные гигантские клетки; пролиферация альвеолярных эпителиальных клеток II типа.

Трансмиссионная электронная микроскопия дала более интересные результаты. Лёгочная ткань была повреждена. Обнаружены лёгочный интерстициальный отёк; признаки гиперплазии и дегенерации пневмоцитов второго типа, почти утративших микроворсинки; уплотнение базальной мембраны альвеолярных эпителиальных

клеток первого типа. Клетки сосудистого эндотелия имели признаки повреждения: они были увеличены, наблюдалась вакуолизация клеточных органелл и уплотнение базальной мембраны. В газообменной области альвеол барьер между альвеолярной стенкой и капиллярами был нечётким и значительно более толстым, чем в норме (норма ~ 500 нм).

В поздней стадии болезни повреждения лёгких, описанные выше, были более выраженными. Барьер между альвеолярной стенкой и капиллярами в газообменной области альвеол был практически неразличим. В альвеолярном пространстве находили эритроциты, что указывало на наличие альвеолярной геморрагии и отёка. Обнаружен лёгочный фиброз с пролиферацией фибробластов и фибринозный некроз. Плевральные мембраны отёчные, рыхлые, с признаками фиброза и неясной клеточной структурой. Большое количество макрофагов образовывали агрегаты, что показывает на их участие в развитии патологического процесса.

У пациентов на ранней стадии болезни (три месяца после появления первых симптомов) в цитоплазме, ядре и органеллах макрофагов, микрососудах лёгких, эндотелиальных клетках лёгочных сосудов и в микролимфатических сосудах, в жидкости плеврального выпота были обнаружены наночастицы неизвестной природы диаметром ~ 20–2 нм. В альвеолярных эпителиальных клетках и интерстициальных тканях их тоже находили, но в значительно меньших количествах. Размер наночастиц в жидкости плеврального выпота был меньшим, чем в тканях лёгких, что говорит о размерозависимой транслокации наночастиц по тканям лёгких. Для того чтобы установить химическую природу наночастиц, использовался метод энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (EDX). Он показал, что большинство наночастиц состоят из двуокиси кремния (рис. 7).

В поздней стадии болезни (18 мес. от начала появления симптомов) небольшое количество наночастиц двуокиси кремния было обнаружено пульмонарных клетках, ткани интерстиция и в макрофагах. Однако в ядрах и цитоплазме альвеолярных эпителиальных клеток были обнаружены отдельные нитчатые наноструктурные включения (длиной ~ 70 нм), сформировавшие сложные агрегаты или пересекающие мембраны ядер альвеолярных эпителиальных клеток. Используя EDX, исследователи установили, что нитчатые наноструктуры содержат Fe, Ca, Mg, но не Si. Эти структуры не были обнаружены в лёгочной ткани пациентов, что говорит о том, что они не имеют отношения к лёгочной патологии.

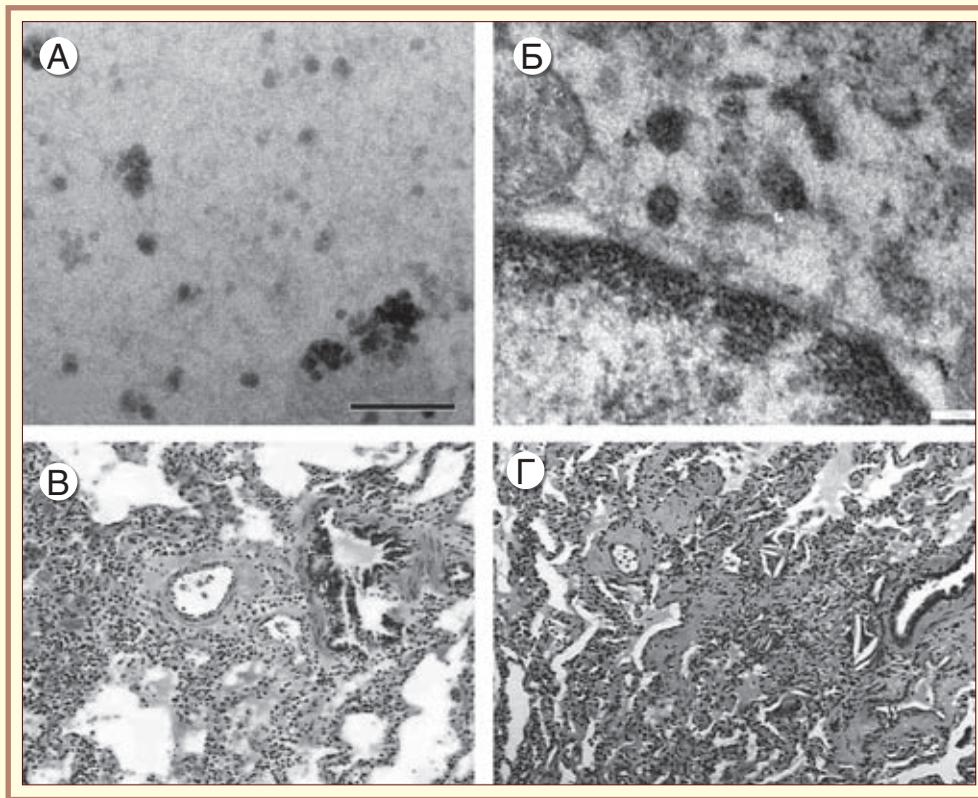


Рис. 7. Обнаружение в лёгочной ткани человека наночастиц двуокиси кремния и вызванные ими гистологические изменения. А. Трансмиссионные электронномикроскопические изображения наночастиц в лёгочной ткани (случай 5). Наночастицы имеют размер 20–21 нм в диаметре, рассеяны по цитоплазме макрофага (размер маркерной полосы 200 нм). Б. Артефакт, который можно принять за наночастицы. Поэтому с помощью EDX устанавливается химический состав наноструктур (размер маркерной полосы 150 нм). В. Ранняя стадия болезни. Агрегация макрофагов в альвеолярном пространстве, набухание альвеолярной септы и лёгочный фиброз (окрашивание гематоксилином и эозином, увеличение в 100 раз). Г. Поздняя стадия болезни. Лёгочные альвеолы частично эмфизематозны с агрегированными макрофагами и пролиферированными альвеолярными эпителиальными клетками второго типа. Альвеолярные септы и кровеносные сосуды расширены и застойны (окрашивание гематоксилином и эозином, увеличение в 100 раз) (по [54])

Нацеливание искусственных генетических наноконструкций на отдельные типы клеток человека

Для искусственных генетических конструкций на основе вирусов задача повышения или даже изменения их специфичности к отдельным типам клеток решается следующими путями:

- физический таргетинг заключается в том, что вирусная частица покрывается специальной оболочкой, изменяющей её природный тропизм и делающей её «неузнаваемой» для иммунной системы. В качестве такой оболочки используют полимеры (полиэтиленгликоль или poly-[N-(2-hydroxypropyl)methacrylamide, рНРМА]) или вирусную частицу включают в биodeградируемую альгинатную микро-частицу. Природный тропизм вектора заменяется селективным таргетингом, т. е. в эти полимеры водятся различные таргетирующие

щие лиганды (пептиды, белки или антитела). Другой стратегией для физического таргетинга стало использование биспецифических адапторных молекул (биспецифические антитела или белки слияния), состоящих из двух компонентов – один из них с высокой специфичностью связывается участком капсида искусственной генетической конструкции, другой с высокой специфичностью связывает рецептор клетки-мишени. Обе стратегии физического таргетинга в основном используются для изменения специфичности векторов на основе аденовирусов, однако они дают плохо воспроизводимые результаты [50]. Поэтому физическому таргетингу исследователи предпочитают генетическую модификацию векторов на основе вирусов;

- генетический таргетинг – объектом модификации генно-инженерными способами становятся белки капсида вируса, играющие основную роль в специфическом узнавании

клеток-мишеней. Для векторов на основе аденовирусов объектом модификации обычно является волокнистый «набалдашник» капсида, играющий основную роль в специфическом узнавании аденовирусом клеток-мишеней, и, в частности, расположенные на нём два участка: С-конец и Н1-петля [50].

Для векторов на основе лентивирусов эта задача может решаться благодаря псевдотипированию вируса. Смысл методического приёма в следующем. Так как из лентивирусной векторной системы удалён собственный оболочечный ген *env* ВИЧ, то его можно заменить на другой, направляющий синтез оболочечного гликопротеина другого вируса, чью специфичность исследователям необходимо использовать для введения генов в клетки-мишени. Такие вирусы называют псевдотипированными или вирусами-обманщиками [46].

Например, химерный гликопротеин RD114, полученный благодаря слиянию трансмембранного и внеклеточного доменов гликопротеина эндогенного ретровируса кошачьих с цитоплазматическим доменом гликопротеина амфотропного вируса MLV 4070A, позволяет псевдотипированному вектору эффективно трансдуцировать мезенхимальные стволовые клетки с очень низкой цитотоксичностью [62].

Лентивирусные векторы, псевдотипированные с гликопротеинами оболочки вируса бешенства (PV-штамм), приобретают тропность к нейрональной ткани и способность к ретроградному транспорту в условиях *in vivo*. Введённый в периферическом участке нервной системы псевдотипированный лентивирусный вектор по нейрональным аксонам доставил трансгены в ЦНС [19]. Подробно стратегия использования таких

векторов для целей генотерапии описана в работах [16, 20, 46, 60].

Для искусственных векторных систем задача повышения специфичности к отдельным типам клеток решается путём введения в их поверхность лигандов, специфически взаимодействующих с рецепторами на поверхности клеток-мишеней. Введение в состав липосомы галактолипидов повышает их тропность к паренхиматозным тканям. Липосомы, содержащие диметиламиноэтан-карбамоил-холестерол (DC-Chol), обладают повышенной тропностью к клеткам гиппокампа головного мозга² [28].

Другой путь таргетирования липоплексов – введение в их состав специфических антител. Такие комплексы называются ПЭГилированными иммуносомами. Они сохраняют коллоидную стабильность при внутривенном введении и эффективно доставляют гены в ЦНС [45, 62].

Наибольшую эффективность при доставке генов в ЦНС показали полиплексы на основе PEI. Их трансфецирующая активность превосходит таковую у векторов, полученных на основе ВИЧ-1, сопоставима с трансдуцирующей активностью аденовирусов, но уступает векторам на основе HSV [9].

Тонкое управление специфичностью искусственных векторных систем стало возможным благодаря обнаружению на поверхности нейронов нескольких классов рецепторов, с которыми взаимодействуют нейропептиды, нейротрофины и нейротоксины. Для перенацеливания искусственных векторных систем с одного участка мозга на другой в их состав включают таргетинговые группы, соответствующие отдельному классу рецепторов (табл. 5).

Эффективная нейрон-специфическая трансфекция искусственных векторных систем до-

Таблица 5

Нейрон-таргетирующие лиганды, используемые при конструировании искусственных векторных систем, предназначенных для доставки генов в ЦНС*

Класс лиганда	Примеры лигандов	Таргетируемые популяции нейронов
Нейропептиды	Нейротенсин	Нигростинальная и мезолимбическая системы
Нейротрофины	Фактор роста нерва	Дорсальный корневой ганглий, симпатические сенсорные нейроны, нейроны базального отдела переднего мозга
Нейропептиды	Столбнячный токсин	Все периферические нейроны (относящиеся к вегетативной нервной системе, моторные и сенсорные)

* По [8]

² Гиппокамп – центральная часть лимбической системы – комплекса структур среднего, промежуточного и конечного мозга, участвующих в организации висцеральных, мотивационных и эмоциональных реакций организма.

стигается введением в их оболочку химерного белкового комплекса, включающего четвёртую петлю фактора роста нервов или шпилечный мотив, содержащий петли 1 и 2 NGF, слитый с ДНК-связывающим доменом из 10 лизиновых последовательностей [61]. Трансфецирующая активность в отношении нейронов, сравнимая с трансдуцирующей активностью HSV, в условиях *in vivo* показана для наночастиц (~30 нм), созданных на основе кремния, модифицированного путём добавления аминокислотных групп и комплексированных с плазмидной ДНК [10].

Наряду с разработкой типовых структур искусственных векторных систем для направленной доставки трансгенов в целевые клетки (в печень, в мозг и надпочечники, в медуллярные двигательные нейроны, в костные ткани, в гладкую мускулатуру кровеносных сосудов, в опухоли эндотелия и др.), в 1990-е гг. была оптимизирована структура трансгена. Для того чтобы трансген мог автономно функционировать в данной ткани, в него включают соответствующие регионы транскрипции и инициации мРНК, регуляции терминации транскрипции.

Нацеливание искусственных генетических наноконструкций на отдельные участки генома человека

В первом десятилетии текущего века наиболее распространённым подходом к нацеливанию ретровирусного вектора на конкретные участки в геноме человека было использование в составе вирусной частицы слитых белков, образующих вирусный преинтеграционный комплекс, импортирующийся внутрь нуклеуса. Такие белки обычно включают IN-белок (вирусная интеграз), полученный из ВИЧ-1; и ДНК-связывающие последовательности клеточных и бактериальных белков, слитых с N- или C-концом IN.

Для того чтобы вирус не утратил инфекционности, слитые белки вводят в вирион ВИЧ-1 вместе с исходным IN (wild-type IN). Одна из используемых моделей нацеливания ретровирусных векторов на конкретные участки ДНК в геноме человека (таргетинговой интеграции) показана на рис. 8.

Случаи поражения людей искусственными генетическими наноконструкциями

Такие поражения имели место при введении людям искусственных генетических наноконструкций на основе аденовирусов и ретровирусов.

Наиболее тяжёлые генетические последствия наблюдали при терапевтическом использовании ретровирусных векторов для лечения пациентов с тяжёлым комбинированным иммунодефицитом, связанным с X-хромосомой. Иммунодефицитное состояние у таких пациентов возникает из-за мутации в гене гамма-субъединицы рецептора интерлейкина 2 (interleukin-2 receptor subunit gamma gene, *IL2RG*), общей для рецепторов интерлейкинов IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 и IL-21.

Эти интерлейкины и их рецепторы вовлечены в процессы развития Т- и В-лимфоцитов. Без функционирования Т-клеток невозможна активизация В-клеток. Ген *IL2RG* находится на X-хромосоме. Мутация в гене *IL2RG* приводит к инактивации общей гамма-цепи рецепторов интерлейкинов, и, как следствие, нарушаются процессы сигнализации, в которых они участвуют. Происходит почти полный отказ иммунной системы с отсутствием или очень малым количеством Т-лимфоцитов, NK-клеток и нефункциональными В-лимфоцитами. Дети с X-SCID погибают от инфекции в течение года [57].

Так как X-SCID вызван мутацией в одном хорошо охарактеризованном гене, его лечение путём введения пациенту полноценного гена в конце 1990-х гг. представлялось исследовате-

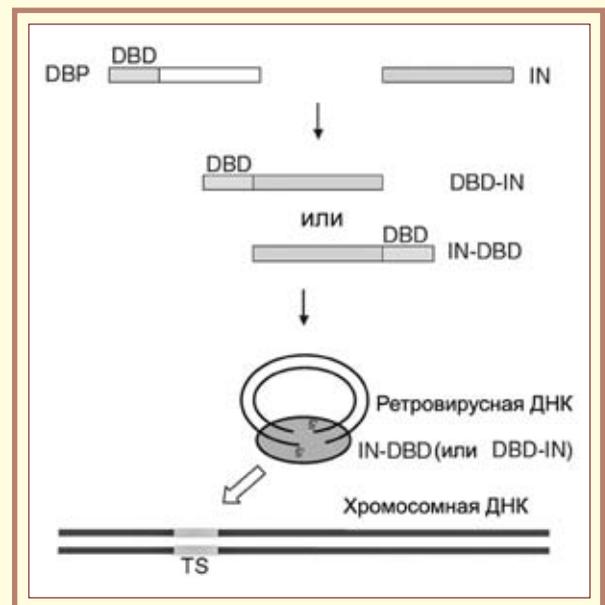


Рис. 8. Модель таргетинговой интеграции ретровирусных векторов. Интеграция осуществляется посредством использования модифицированной интегразы, слитой гетерологичными ДНК-связывающими доменами. DBD – ДНК-связывающий домен; IN – интеграза. TS – белок, образовавшийся в результате слияния DBD и IN. Преинтеграционный комплекс интегрируется с участком хромосомной ДНК (target site, TS), узнаваемым DBD (по [44])

лям одним из самых перспективных направлений в генотерапии. Группой французских исследователей из костного мозга девяти пациентов в возрасте от 1 до 9 мес. были получены аутологичные гемопоэтические стволовые клетки CD34⁺. Эти клетки культивировали в условиях *ex vivo* и трансдуцировали ретровирусным вектором на основе вируса мышиной лейкемии Молони, в который включили ген *IL2R γ* человека. Затем клетки вводили обратно пациентам.

Функция Т-клеток постепенно восстанавлилась. В течение нескольких месяцев количество Т-клеток и натуральных киллеров в крови у восьми пациентов достигло нормы. Был установлен минимальный порог количества трансдуцированных клеток, которое необходимо ввести пациенту для достижения терапевтического эффекта – 1×10^6 – 3×10^6 CD34⁺-клеток/кг массы тела. Однако почти 11-летнее наблюдение дало обескураживающие результаты: у четырёх пациентов в течение 31–68 мес. развился острый Т-клеточный лейкоз, и один из них умер [25, 26]. Причиной развития острого лейкоза стала интеграция ретровирусного вектора вблизи нескольких протоонкогенов и перестройка генома клеток-мишеней, приведшие к многокаскадной активации протоонкогенов и, как следствие, неконтролируемой пролиферации Т-клеток (рис. 9).

Наиболее часто вовлекаемый в онкогенез ген *LMO2* (LIM domain-only 2) локализован у человека на 11-й хромосоме. Он экспрессируется в ядре клетки и действует как транскрипционный активатор факторов, необходимых для дифференциации эритроцитов в костном мозге. В норме ген *LMO2* экспрессируется в различных тканях, таких, как почки, печень, лёгкие, селезёнка и ЦНС, участвует в ангиогенезе. Однако его активизация в Т-клетках в результате встраивания ретровируса или хромосомной транслокации приводит их к неконтролируемому размножению и развитию острого Т-клеточного лейкоза.

Химиотерапия оказалась успешной у трёх пациентов с развившимся лейкозом. Она позволила добиться восстановления поликлональных трансдуцированных Т-клеточных популяций [24, 37, 57].

S. E. Raper et al. [46] описали случай летального исхода при лечении пациентов с врождённым дефицитом орнитинтранскарбамилазы. Мужчине 18 лет, участвовавшем в пилотном проекте по оценке безопасности нового метода генной терапии, была введена векторная наноконструкция на основе человеческого аденовируса 5 типа с делетированными генами E1 (необходим для репликации вируса) и E4 (участвует в регуляции транскрипции вирусной ДНК), включающий кло-

нированную кДНК гена ОТС человека. Пациенту было введено через правую печёночную артерию 6×10^{11} векторных частиц/кг. Приблизительно через 18 ч были замечены изменения в его психике и развитие желтухи, чего не наблюдалось у первых 17 пациентов, участвовавших в этом же исследовании. В дальнейшем у пациента развились диссеминированная внутрисосудистая коагуляция, синдром системного воспалительного ответа и множественная органная недостаточность, приведшие к его смерти через 98 ч после введения аденовирусного вектора.

При посмертном исследовании вектор с клонированным геном обнаружен почти во всех тканях погибшего пациента. Причины его смерти авторами не объяснены. Ими только сделан вывод, что такие способы лечения нуждаются в значительно большем количестве опытов на животных, чем было проведено, и изучении возможных иммунных ответов у пациента.

Распознавание поражения людей нанобъектами

Самым трудным в распознавании таких поражений будет определение случая поражения, т. е. формирование стандартного клинического, патологоанатомического и патоморфологического описания случая болезни, вызванного определённым типом нанобъекта. Сделать предположение о поражении нанобъектами (среди других причин) отдельных лиц или групп населения можно на основе сопоставления их анамнеза и клинических проявлений поражения. Например, развитие однотипных онкологических процессов у объединённых общей идеей (врагом) политических деятелей, или развитие медленно прогрессирующей лёгочной патологии у рабочих, занятых на одном производстве.

Однако для установления фактора нанобъекта в развитии патологии пациента необходимо: 1) для наночастиц известных веществ, полученных дезагрегированием или конденсацией – обнаружение этих наночастиц в поражённых тканях; 2) для доставленных в клетки-мишени векторных конструкций – обнаружение векторных молекул вместе с трансгенами и с соответствующими регионами транскрипции и инициации мРНК.

Первый подход хорошо иллюстрируется приведённым выше описанием группового поражения людей наночастицами двуокиси кремния, где в установлении связи между патоморфологией и наличием наночастиц основную роль сыграла трансмиссионная электронная микроскопия, а в определении химической природы

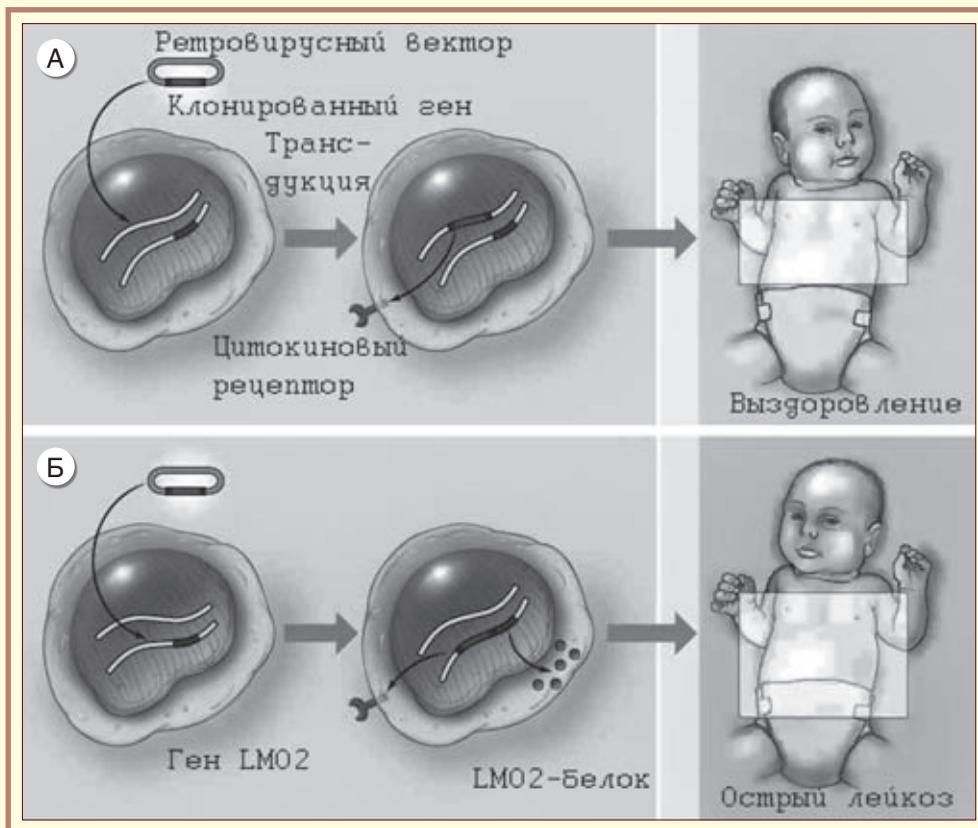


Рис. 9. Развитие острого лейкоза у четырёх пациентов после введения ретровирусной искусственной генетической нано-конструкции. А. Терапевтический эффект. Б. Развитие острого лейкоза. У двух пациентов (№№ 4, 5) геном бластных клеток³ включает активный вектор вблизи протоонкогена *LMO2*. У пациента № 10 бластные клетки содержат интегрировавшийся вектор вблизи протоонкогена *LMO2* и второй интегрировавшийся вектор вблизи протоонкогена *BMI1*. У пациента № 7 бластные клетки содержат интегрировавшийся вектор вблизи протоонкогена *CCND2*. Хромосомные транслокации, вызванные интеграцией вектора, у некоторых пациентов привели к активизации протоонкогена *NOTCH1*, делеции гена *CDKN2*, супрессирующего развитие опухолей, и к перестройке гена *SIL-TAL1*, приведших к неконтролируемой пролиферации Т-клеток. У пациентов №№ 4 (умер) и пациента № 7 обнаружены обширные делеции хромосомы 6q16-16 (по [24, 43])

наночастиц – метод EDX. Второй подход иллюстрирован примерами с поражениями людей векторными конструкциями на основе ретровируса мышинной лейкемии Молони и человеческого аденовируса 5 типа. И в том и в другом случае в тканях-мишенях жертв этих экспериментов были обнаружены векторные конструкции с клонированными в них трансгенами и регуляторными элементами.

Случай с развитием острого лейкоза у детей очень показателен для разработки подходов к выявлению таких поражений. Для гена *LMO2* ранее уже было показано участие в развитии острого лейкоза, когда в основе механизма его активизации в Т-клетках лежат спонтанные перестройки (транслокации) хромосомы 11. Одна-

ко в случае искусственно вызванной у детей лейкемии было обнаружено, что этот ген в Т-клетках находится под контролем LTR⁴ вируса мышинной лейкемии Молони, в геноме человека никогда ранее не встречавшегося.

Для сбора данных об обстоятельствах, приведших к поражению нанообъектами и масштабах поражения, проводится анализ научной литературы на предмет описания сходных случаев и выстраиваются аналогии. Также анализируются истории болезни в стационарах и поликлиниках, поднимаются протоколы патологоанатомических вскрытий, собираются и исследуются соответствующими методами образцы тканей пациентов, подпадающих под описание данного случая поражения нанообъектами. Прово-

³ Blast cells — незрелая клетка-предшественникных реакций организма.

⁴ Область U3 каждого LTR несет промотор, запускающий экспрессию, находящегося вблизи гена.

дятся опросы (анкетирование) установленных поражённых и их лечащих врачей; выполняются медицинские осмотры лиц, находившихся на территории, где произошло поражение, или взаимодействующих с факторами, которые могут привести к такому поражению, но пока не имеющих клинических признаков болезни.

* * *

Нанообъекты могут вызывать массовые смертельные поражения людей, проявляющиеся клиникой болезни, неизвестной врачам, либо она может маскироваться под уже известные описания, однако иметь совершенно иную этиологию, чем та, что традиционно рассматривается врачами при выборе способов лечения пациентов. Среди наночастиц известных веществ, получен-

ных путём их дезагрегирования или конденсирования, наибольшую опасность в настоящее время представляют объекты, имеющие размер менее 50 нм, формирующие инкапсулирующие структуры и подвергнутые биофункционализации.

Среди искусственно созданных конструкций, способных переносить генетическую информацию, наибольшую опасность для здоровья людей представляют наноструктуры, включающие ретровирусные векторы, вызывающие их пожизненное генетическое поражение, и наноструктуры типа искусственных векторных систем, пределы развития которых сегодня трудно предсказать, но уже сегодня в рамках технологий их создания возможно получение наноструктур, обладающих способностью проникать в любые клетки-мишени и распространяться любым способом, включая ингаляционный.

Список сокращений, нераскрытых в тексте

- В/б – внутрибрюшинное введение
 ВИЧ – вирус иммунодефицита человека
 ВЭЛ – вирус энцефалита лошадей
 ГЭБ – гематоэнцефалический барьер
 И/т – интратрахеальное введение
 кДа – килодальтон
 мкм – микрон
 нм – нанометр
 ПЭГ – полиэтиленгликоль
 РЭС – ретикулоэндотелиальная система
 СОЭ – скорость оседания эритроцитов
 т.п.о. – тысяча пар оснований
 ЦНС – центральная нервная система
 ALT (alanine aminotransferase) – аланинаминотрансфераза
 AST (aspartate aminotransferase) – аспартатаминотрансфераза
 CAEV (Caprine arthritis-encephalitis virus) – вирус артрита-энцефалита коз
 EDX (energy-dispersive X-ray spectroscopy) – метод энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии
 EIAV (Infectious anemia virus) – вирус инфекционной анемии лошадей
 FIV (Feline immunodeficiency virus) – вирус иммунодефицита кошачьих
 HSV (Herpes simplex virus) – вирус герпеса простого
 JDV (Jembrana disease virus) – вирус болезни Джембраны (лентивирус, вызывающий иммунодефицит у крупного рогатого скота)
 LTR (viral long terminal repeat) – вирусный длинный терминальный повтор
 MLV (Moloney Murine leukemia virus) – вирус мышинной лейкемии Молони
 MVV (Maedi-Visna virus) – вирус Висна-Маэди
 MWCNT (multiwall carbon nanotube) – мультистеночные углеродные нанотрубки
 PEI (polyethylene imine) – полиэтиленимин
 SWCNT (single-wall carbon nanotube) – одностеночные углеродные нанотрубки
 VATS (video-assisted thoracic surgery) – оперативное вмешательство на грудной клетке под видеонаблюдением

Литература

1. Головин Ю. И. Введение в нанотехнику. – М., 2007.
2. Гусев А. И. Наноматериалы, наноструктуры, нанотехнологии. – М., 2007.
3. Де Лазари А. Н. Химическое оружие на фронтах мировой войны. – М., 1935.
4. Суздаlev И. П. Физико-химия нанокластеров, наноструктур и наноматериалов. – М., 2009.
5. Хлопин Г. В. Военно-санитарные основы противогазового дела. – Л., 1930.
6. Ariano P., Zamburlin P., Gilardino A. et al. Interaction of spherical silica nanoparticles with neuronal cells: size-dependent toxicity and perturbation of calcium homeostasis // *Small*, 2011, Vol. 7. – P. 766–774.
7. Banerjee R. Nanoparticle aerosols: boon or bane for breathing? // *Nanomedicine*, 2012, Vol. 7, № 6. – P. 795–798.
8. Bergen J. M., Park In-Kyu, Horner P. J. et al. Nonviral approaches for neuronal delivery of nucleic acids // *Phar. Res.*, 2008, Vol. 25, № 5. – P. 983–998.
9. Berry B., Barrett L., Seymour L. et al. Gene therapy for central nervous system repair // *Curr. Opin. Mol. Ther.*, 2001, Vol. 3. – P. 338–349.
10. Bharali D. J., Klejbor I., Stachowiak E. et al. Organically modified silica nanoparticles: a nonviral vector for in vivo gene delivery and expression in the brain // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 2005, Vol. 102. – P. 11539–11544.
11. Boeckle S., Wagner E. Optimizing targeted gene delivery: chemical modification of viral vectors and synthesis of artificial virus vector systems // *AAPS J.*, 2006, Vol. 8, № 4. – P. 731–742.
12. Bonner J. S. Nanoparticles as a potential cause of pleural and interstitial lung disease // *Proc. Am. Thorac. Soc.*, 2010, Vol. 7. – P. 138–141.
13. Brown D. M., Wilson M. R., MacNee W. et al. Size-dependent proinflammatory effects of ultrafine poly-styrene particles: a role for surface area and oxidative stress in the enhanced activity of ultrafines // *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2001, Vol. 175. – P. 191–199.
14. Cheang Tuck-yun, Tang Bing, Xu An-wu et al. Promising plasmid DNA vector based on APTEsmodified silica nanoparticles // *Intern. J. of Nanomed.*, 2012, Vol. 7. – P. 1061–1067.
15. Choi H. S., Ashitate Y., Lee Rapid J. H. et al. Translocation of nanoparticles from the lung airspaces to the body // *Nat Biotechnol.*, 2010, Vol. 28, № 12. – P. 1300–1303.
16. Cronin J., Zhang X. Y., Reiser J. Altering the tropism of lentiviral vectors through pseudotyping // *Curr. Gene. Ther.*, 2005, Vol. 5. – P. 387–398.
17. Davis P. B., Cooper M. Vectors for airway gene delivery // *AAPS J.*, 2007, Vol. 9, № 1. – P. E11–E17.
18. Donaldson K., Tran T. Inflammation caused by particles and fibers // *Inhal. Toxicol.*, 2002, Vol. 14. – P. 5–27.
19. Federici T., Kutner R., Zhang X. Y. et al. Comparative analysis of HIV-1-based lentiviral vectors bearing lyssavirus glycoproteins for neuronal gene transfer // *Genet. Vaccin. Ther.*, 2009, Vol. 7, № 1.
20. Frecha C., Szecsi J., Cosset F. L. et al. Strategies for targeting lentiviral vectors // *Curr. Gene Ther.*, 2008, Vol. 8. – P. 449–460.
21. Frohlich E., Roblegg E. Models for oral uptake of nanoparticles in consumer products // *Toxicology*, 2012, Vol. 291. – P. 10–17.
22. Goldberg M., Langer R., Jia X. Nanostructured materials for applications in drug delivery and tissue engineering // *J. Biomater. Sci. Polym.*, 2007, Vol. 18, № 3. – P. 241–268.
23. Goncalves D. M., de Liz R., Girard D. Activation of neutrophils by nanoparticles // *The Sci. World J.*, 2011, Vol. 11. – P. 1877–1885.
24. Hacein-Bey-Abina S., Garrigue A., Wang C. P. et al. Insertional oncogenesis in 4 patients after retrovirus-mediated gene therapy of SCID-X1 // *J. Clin. Invest.*, 2008, Vol. 118. – P. 3132–3142.
25. Hacein-Bey-Abina S., Hauer J., Lim A. et al. Efficacy of gene therapy for X-linked severe combined immunodeficiency // *N. Engl. J. Med.*, 2010, Vol. 363, № 4. – P. 355–364.
26. Hacein-Bey-Abina S., Le Deist F., Cartier F. et al. Sustained correction of X-linked severe combined immunodeficiency by ex vivo gene therapy // *N. Engl. J. Med.*, 2002, Vol. 346. – P. 1185–1193.
27. Halama A., Kulinski M., Librowski T. et al. Polymer-based non-viral gene delivery as a concept for the treatment of cancer // *Pharm. Rep.*, 2009, Vol. 61. – P. 993–999.
28. Harvie P., Wong F. M., Bally M. B. Use of poly (ethylene glycol)–lipid conjugates to regulate the surface attributes and transfection activity of lipid–DNA particles // *J. Pharm. Sci.*, 2000, Vol. 89. – P. 652–663.
29. Hartzell J., Wood-Morris R., Martinez L. et al. Q fever: epidemiology, diagnosis, and treatment // *Mayo Clin. Proc.*, 2008, Vol. 83, № 5. – P. 574–579.
30. Hoet P., Brüske-Hohlfeld I., Salata O. Nanoparticles – known and unknown health risks // *J. Nanobiotech.*, 2004, Vol. 2 (<http://www.jnanobiotechnology.com/content/2/1/12>).
31. Inder M. V., Nikunj S. Gene therapy promises, problems and prospects // *Nature*, 1997, Vol. 389. – P. 239–242.
32. Jo D. H., Lee T., Kim J. H. Nanotechnology and nanotoxicology in retinopathy // *Int. J. Mol. Sci.*, 2011, Vol. 12. – P. 8288–8301.
33. Krug H. F., Wick P. Nanotoxicology: an interdisciplinary challenge // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2011, Vol. 50. – P. 1260–1278.
34. Li N., Sioutas C., Cho A. et al. Ultrafine particulate pollutants induce oxidative stress and mitochondrial damage // *Environ. Health. Perspect.*, 2003, Vol. 111. – P. 455–460.

35. Lockman P. R., Koziara J. M., Mumper R. J. et al. Nanoparticle surface charges alter blood-brain barrier integrity and permeability // *J. Drug Target*, 2004, Vol. 12. – P. 635–641.
36. Mataraza C., Qin Z. H., Huang Z. et al. Highly efficient molecular delivery into mammalian cells using carbon nanotube spearing // *Nature Methods*, 2005, Vol. 2. – P. 449–454.
37. McCormack M. P., Rabbitts T. H. Activation of the T-cell oncogene LMO2 after gene therapy for X-linked severe combined immunodeficiency // *N. Engl. J. Med.*, 2004, Vol. 350. – P. 913–922.
38. Morimoto Y., Kobayashi N., Shinohara N. et al. Hazard assessments of manufactured nanomaterials // *J. Occup. Health*, 2010, Vol. 52. – P. 325–334.
39. Mortensen L. J., Oberdorster G., Pentland A. P. et al. In vivo skin penetration of quantum dot nanoparticles in the murine model: the effect of UVR // *Nano Lett.*, 2008, Aug 8.
40. Murphy F. A., Schinwald A., Poland C. A. et al. The mechanism of pleural inflammation by long carbon nanotubes: interaction of long fibres with macrophages stimulates them to amplify proinflammatory responses in mesothelial cells // *Particle and Fibre Toxicology*, 2012, Vol. 9, № 8 (<http://www.particleandfibretoxicology.com/content/9/1/8>).
41. Nemmar A., Hoet P., Vanquickenborne B. et al. Passage of inhaled particles into the blood circulation in humans // *Circulation*, 2002, Vol. 105. – P. 411–414.
42. Nemunaitis J., Edelman J. Selectively replicating viral vectors // *Canc. Gen. Ther.*, 2002, Vol. 9. – P. 987–1000.
43. Noguchi P. Risks and benefits of gene therapy // *N. Engl. J. Med.* 2003. Vol. 348, № 3. – P. 193–192.
44. Oberdorster G., Oberdorster E., Oberdorster J. Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles // *Environ. Health. Perspect*, 2005, Vol. 113. – P. 823–839.
45. Partridge W. M. Drug and gene targeting to the brain with molecular Trojan horses // *Nat. Rev. Drug. Discov.*, 2002, Vol. 1. – P. 131–139.
46. Pluta K., Kacprzak M. M. Use of HIV as a gene transfer vector // *Act. Biochim. Pol.*, 2009, Vol. 56, № 4. – P. 531–595.
47. Prabhu B. M., Ali S. F., Murdock R. C. et al. Copper nanoparticles exert size and concentration dependent toxicity on somatosensory neurons of rat // *Nanotoxicol.*, 2010, Vol. 4. – P. 150–160.
48. Raper S. E., Chirmule N., Lee F. S. et al. Fatal systemic inflammatory response syndrome in a ornithine transcarbamylase deficient patient following adenoviral gene transfer // *Mol. Genet. Metab*, 2003, Vol. 80 (1–2). – P. 148–158.
49. Sena-Esteves M., Saeki Y., Fraefel C. et al. HSV-1 amplicon vectors – simplicity and versatility // *Mol. Ther.*, 2000, Vol. 2, № 1. – P. 9–15.
50. Sharma A., Lia X., Bangari D. S. et al. Adenovirus receptors and their implications in gene delivery // *Virus. Res.*, 2009, Vol. 143, № 2. – P. 184–194.
51. Shvedova A., Kisin E., Mercer R. et al. Unusual inflammatory and fibrogenic pulmonary responses to single-walled carbon nanotubes in mice // *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.*, 2005, Vol. 289. – L698–L708.
52. Skocaj M., Filipic M., Petkovic J. et al. Titanium dioxide in our everyday life; is it safe? // *Radiol. Oncol*, 2011, Vol. 45. – P. 227–247.
53. Smith P., Giroud M., Wiggins H. et al. Cellular entry of nanoparticles via serum sensitive clathrin-mediated endocytosis, and plasma membrane permeabilization // *Inter. J. of Nanomed.* 2012, Vol. 7. – P. 2045–2055.
54. Song Y., Li X., Wang L. et al. Nanomaterials in humans: identification, characteristics, and potential damage // *Toxicol. Pathol.*, 2011, Vol. 39. – P. 841–849.
55. Song Y., Li X., Du X. Exposure to nanoparticles is related to pleural effusion, pulmonary fibrosis and granuloma // *Eur. Respir. J.*, 2009, Vol. 34. – P. 559–567.
56. Stern S., McNeil S. Nanotechnology safety concerns revisited // *Toxicol. Sci.*, 2008, Vol. 101. – Vol. 4–21.
57. Strauss B. E., Costanzi-Strauss E. Combating oncogene activation associated with retrovirus-mediated gene therapy of X-linked severe combined immunodeficiency // *Brazil. J. Med. Biol. Res.*, 2007, Vol. 40. – P. 601–613.
58. Tinkle S. S., Antonini J. M., Rich B. A. et al. Skin as a route of exposure and sensitization in chronic beryllium disease // *Environ. Health. Perspect*, 2003, Vol. 111. – P. 1202–1208.
59. Win-Shwe Tin-Tin., Fujimaki H. Nanoparticles and neurotoxicity // *Int. J. Mol. Sci.*, 2011., Vol. 12. – P. 6267–6280.
60. Verhoeven E., Cosset F. L. Surface-engineering of lentiviral vectors // *J. Gene Med.*, 2004, Vol. 6 (Suppl 1). – P. 83–94.
61. Zeng J., Wang S. Enhanced gene delivery to PC12 cells by a cationic polypeptide // *Biomaterials*, 2005, Vol. 26. – P. 679–686.
62. Zhang J. Evolution by gene duplication: an update // *Trends. Ecol. Evol.*, 2003, Vol. 18, № 6. – P. 292–298.

Аддитивное изготовление моделей кристаллофосфатов кальция, формирующихся на поверхности дентина

**Бессуднова Н. О., Вениг С. Б., Фролова Т. К.*

ФГБОУ ВПО НИУ «Саратовский государственный университет
им. Н. Г. Чернышевского»

В настоящей работе цифровые технологии и методы 3D-печати применены для создания прототипов образований микронных размеров, обнаруженных на поверхности образцов человеческого дентина, помещённых на месяц в 96 % раствор этанола при комнатной температуре. На основе анализа РЭМ изображений поверхностной морфологии кристаллофосфата кальция на дентинной подложке построена его трёхмерная модель и изготовлен прототип.

Ключевые слова: *цифровые технологии в стоматологии, CAD-системы, компьютерный дизайн, 3D-прототипирование, дентин, кристаллы фосфата кальция.*

In the present study digital technologies and 3D-printing have been used to construct the prototypes of micro-scaled formations observed on the dentine surface immersed in ethanol in solution for 30 days at room temperature. Analyzing SEM images of a calcium – phosphate crystal on a dentine substrate its model has been designed and the prototype has been produced.

Keywords: *digital technologies in dentistry, CAD-systems, additive manufacturing, dentine, calcium-phosphate crystals.*

Введение

В настоящее время аддитивное производство или 3D-печать является одной из наиболее перспективных и быстро развивающихся прикладных отраслей [1]. В технике и строительстве 3D-печать используется для изготовления макетов зданий, сооружений или целых микрорайонов с дорогами, деревьями; создания объёмных цветных карт, отображающих ландшафт местности или указывающих уровни залегания пород; изготовления концепт-моделей будущих потребительских изделий, их анализа, оценки и доработки, а также проведения

функциональных испытаний; в автомобилестроении – для создания прототипов деталей и тестирования; в медицине – для изготовления протезов и трансплантационных органов, муляжей для обучения врачей-интернов; в образовании – для создания наглядных моделей, визуализации пособий, облегчающих восприятие и способствующих пониманию изучаемого; в полиграфии – для изготовления макетов упаковок, бутылок, флаконов, в искусстве – для производства точных копий музейных экспонатов и декораций для представлений; в индустрии моды – для изготовления одежды и обуви; в ювелирном деле – для «выращивания» восковых моделей украшений.

В частности, в реконструктивной стоматологии и челюстно-лицевой хирургии 3D-прототипирование обычно применяется при разработке прототипов протезов для восстановления органов и тканей лицевой области и полости рта.

В настоящей работе исследуются возможности применения технологии 3D-печати для создания объёмных моделей обнаруженных нами микронных образований, формирующихся на поверхности дентина, помещенного в 96 % раствор этанола на 30 суток при комнатной температуре [2].

3D-визуализация и изучение морфологии таких образований, представляющих собой кристаллофосфаты кальция, могут быть полезными при исследовании вопросов самопроизвольной направленной регенерации твёрдых тканей зуба.

Целью данной работы является изготовление прототипов кристаллов фосфата кальция на дентинной подложке с применением технологии 3D-печати.

Материалы и методы

➤ Для построения объёмной модели кристалла фосфата кальция на матрице из дентина использовалась система автоматизированного проектирования (САПР) Solid Works [3], относящаяся к классу CAD-систем.

CAD (англ. *Computer Aided Design* – система автоматизированного проектирования) – общий термин для обозначения всех аспектов проектирования с использованием средств вычислительной техники. Обычно охватывает создание геометрических моделей изделия, генерацию чертёжных изделий и их сопровождений.

САПР Solid Works – система автоматизированного проектирования, инженерного анализа и подготовки производства изделий любой сложности и назначения – представляет собой инструментальную среду, предназначенную для автоматизации проектирования сложных изде-

Таблица 1

Основные технологии печати

Тип	Технология	Материал	Фирмы-изготовители
Экструзия	FDM Моделирование расплавленным пластиком	Термопластики, легкоплавкие металлы и сплавы, съедобные материалы	Настольные, офисные и промышленные системы прототипирования Dimension и Fortus компании Stratasys
	DODJet Напыление каплей нагретого материала	Литейный воск	3D-принтеры Solidscape
Гранулирование	DMLS Прямое металлическое лазерное спекание	Практически любой металлический сплав в виде гранулы/крошки/порошка	
	EBM Электронно-лучевая плавка	Сплавы титана	
	SHS Избирательное тепловое спекание	Термопластичный порошок	Принтер SHS 3D Printer от компании Blue Printer
	SLS Селективное лазерное спекание	Термопластик, металлический порошок, керамический порошок	3D-принтеры серии sPro от компании 3dsystems
3DP Послойное распределение клеящего вещества по гипсовому порошку		Гипс, композит на основе гипса, гипсовый порошок	3D-принтеры ZPrinter компании 3D Systems
Ламинирование	LOM Послойное склеивание тонких плёнок и последующего вырезания контуров объекта	Бумага, металлическая фольга, полиэтиленовая плёнка	Solido
Фото-полимеризация	PolyJet, PolyJetMatrix	Фотополимерная смола	Objet Geometries
	MJM	Фотополимерная смола, акриловый пластик, литейный воск	ProJet
	SLA Стереолитография	Фотополимерная смола	3D-принтеры ProJet серий 6000/7000 и ZBuilder Ultra
	DLP Обработка светом	Жидкая смола	Envisiontec Ultra и Perfactory

лий в машиностроении и в других областях промышленности.

Solid Works является системой гибридного (твёрдотельного и поверхностного) параметрического моделирования, предназначенной главным образом для проектирования деталей и сборок в трёхмерном пространстве (3D-проектирования), а также оформления конструкторской документации.

Система относится к САПР «среднего класса». В отличие от «тяжёлых» САПР (Unigraphics NX, Pro/Engineer, CATIA), разработанных для Unix-платформ, Solid Works изначально создавалась для работы на персональных компьютерах в системе Microsoft Windows. Имеет стандартный графический пользовательский

интерфейс, максимально использует все преимущества системы Microsoft Windows, такие как контекстные меню, режимы copy-and-paste, drag-and-drop, быстрый просмотр, поиск и открытие файлов с помощью проводника, возможность «отката». Кроме того, Solid Works эффективно взаимодействует с такими Windows-приложениями, как Excel, Word. Очевидными достоинствами системы являются её полная русификация и поддержка ЕСКД, что выгодно отличает Solid Works от других зарубежных САПР. В системе Solid Works поддерживаются все основные стандарты представления и обмена данными. В состав базового пакета Solid Works входит более 20 трансляторов для экспорта и импорта.



Рис. 1. 3D-принтер Object Eden 350V. Слева – общий вид принтера, справа – рабочая область



Рис. 2. Технология 3D печати на принтере Object Eden 350V

Недостатками САПР Solid Works являются сложности, связанные с редактированием больших сборок и моделированием достаточно сложной геометрии, что, впрочем, как показал наш опыт работы с системой, не бесспорно.

➤ Для изготовления прототипа кристалла на поверхности дентина использовалась технология 3D – прототипирования или 3D – печати.

Трёхмерная или 3D-печать – это процесс создания физических объектов – прототипов на основе цифровых моделей, созданных при помощи систем автоматизированного проектирования (САПР).

Непосредственное изготовление модели производится на 3D-принтере – устройстве, на котором реальный объект создаётся сразу в трёх измерениях. Принцип действия основан на «выращивании» образца путём спекания используемого материала слой за слоем.

Внешне 3D-принтер мало отличается от офисного аналога; принципиальная разница состоит в том, что 3D-принтер воспроизводит образец по трём осям. Этот факт объясняет ещё одно название трёхмерного прототипирования – аддитивное изготовление моделей.

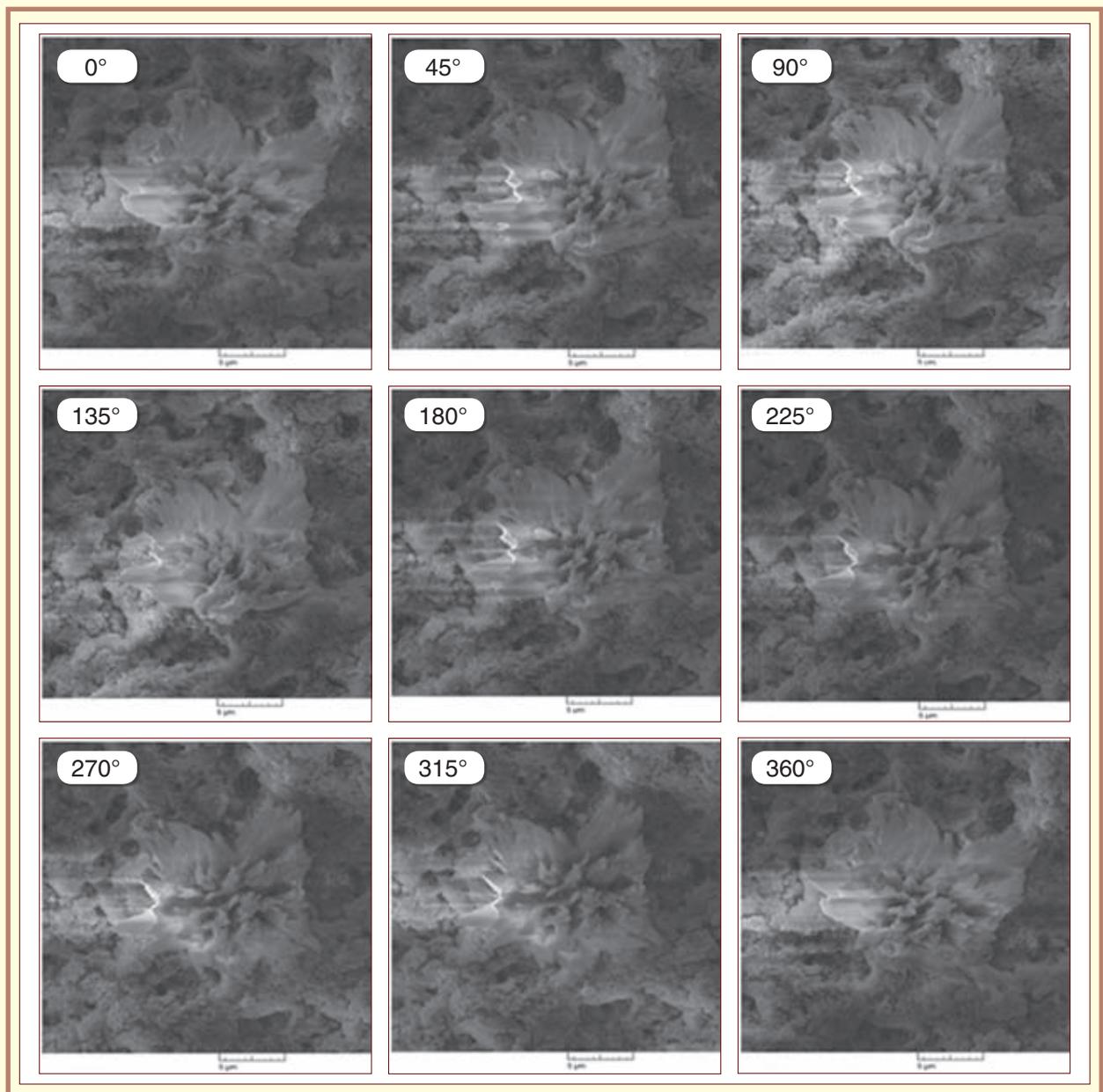


Рис. 3. Изображения морфологии поверхности кристалла на подложке под разными углами с шагом 45° (вид сверху)

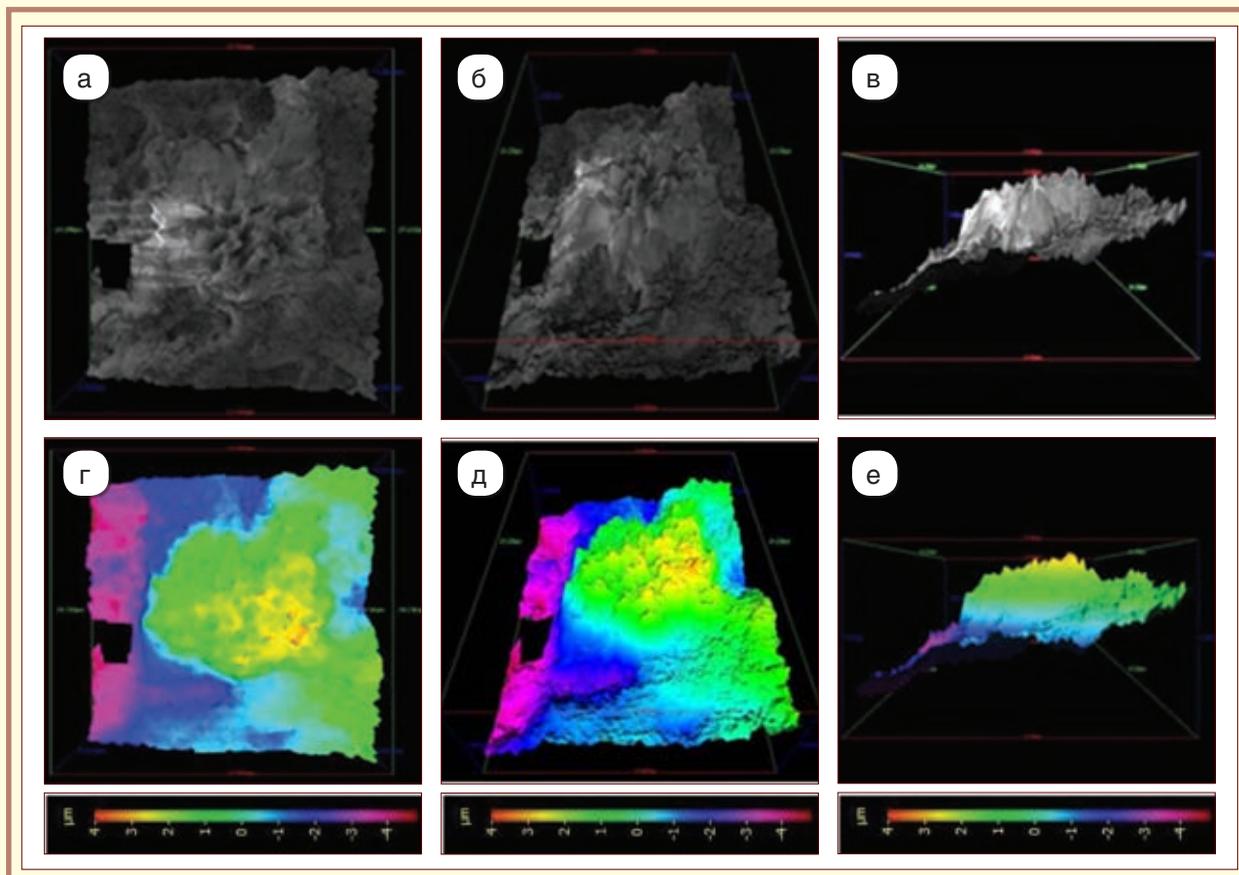


Рис. 4. Трёхмерная модель кристалла фосфата кальция, построенная с использованием программного обеспечения Alicona 3D MeX (а–в) и соответствующие цветные карты распределения высот по поверхности (г–е)

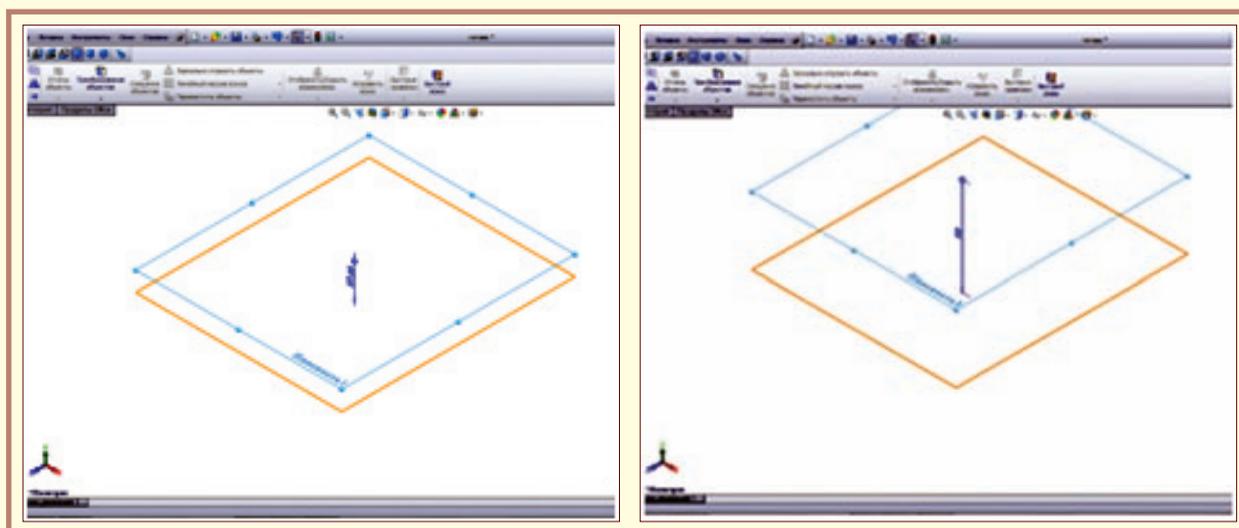


Рис. 5. 3D-принтер Object Eden 350V. Слева – общий вид принтера, справа – рабочая область

Преимущества 3D-принтеров определяются:

- высокой скоростью создания объекта;
- простотой моделирования;
- автоматизацией производства;
- отсутствием погрешностей и ошибок, обусловленных человеческим фактором;
- экологической безопасностью: при печати не выделяются токсичные вещества;
- относительно низкой себестоимостью изделия.

3D-принтеры классифицируются:

- по назначению:
- персональные (домашние). Устройства данного типа эксплуатируются пользователями ПК в личных целях, для реализации собственных проектов;
- профессиональные. Используются для создания и испытания сложных объектов;
- промышленные. Используются в промышленности на различных предприятиях для моделирования, создания и испытания деталей для

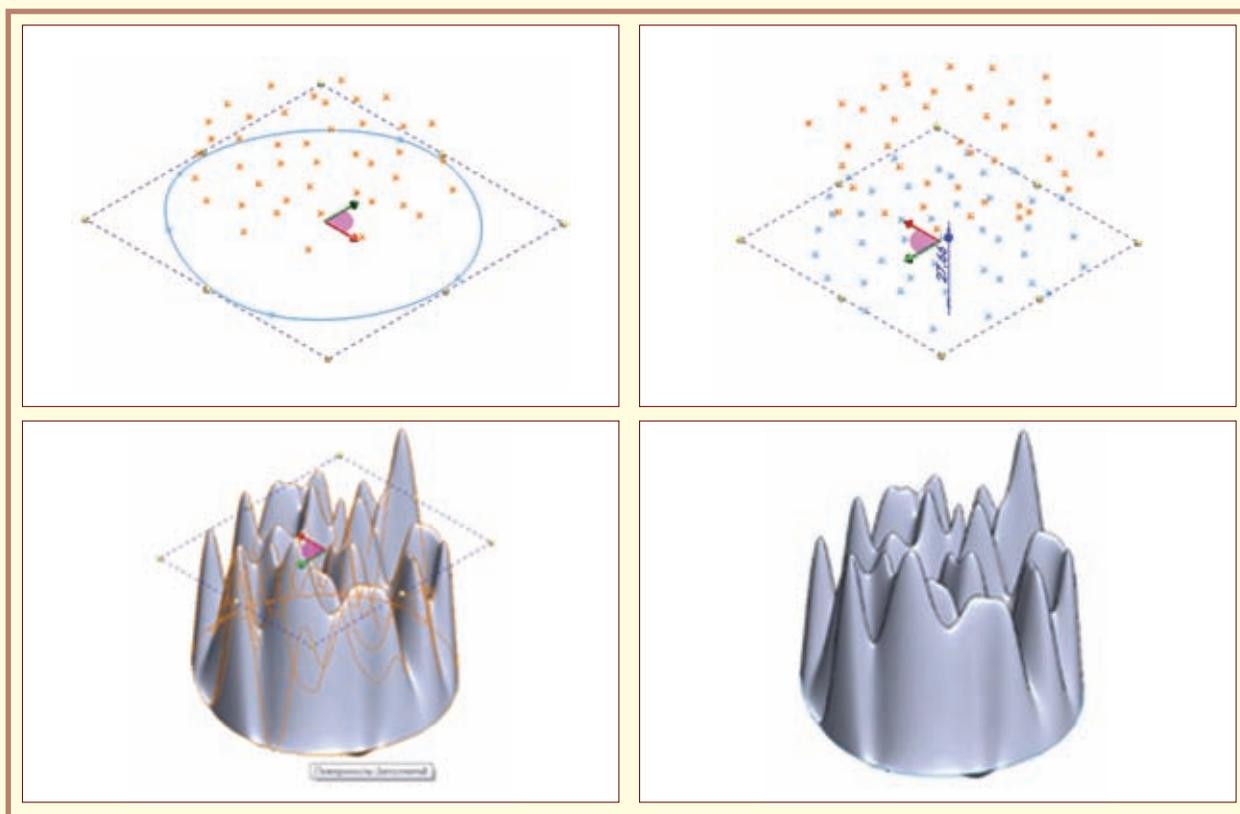


Рис. 6. Построение эскизов на плоскостях и заполнение созданной поверхности

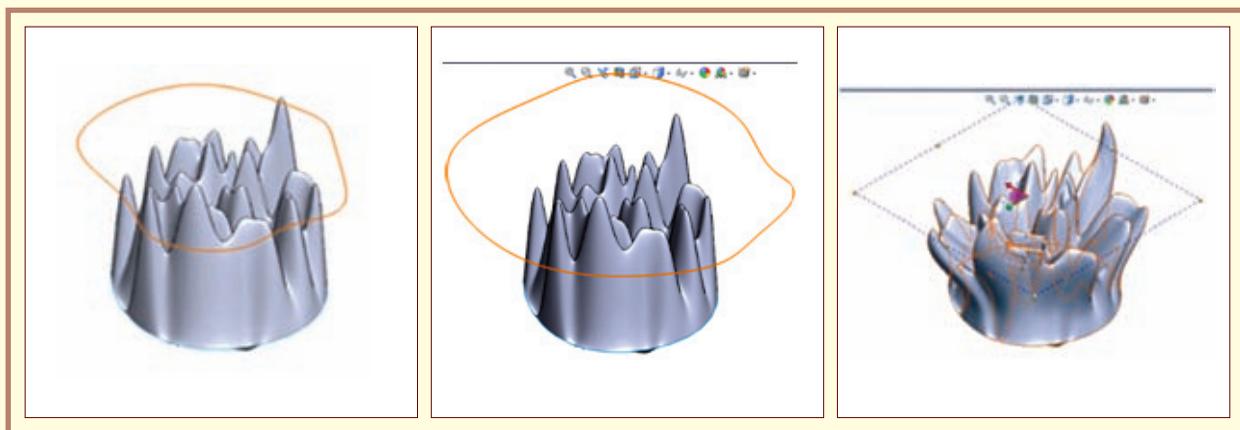


Рис. 7. Деформация поверхности модели

объектов, рассчитанных на массовое производство.

➤ **по применяемой технологии печати:**

В настоящее время существует множество технологий 3D-прототипирования. При явном сходстве принципа работы их основное отличие состоит в способе создания слоёв формируемого объекта. По данному критерию различают четыре вида технологий:

- экструдирование – выдавливание расплавленного материала;
- гранулирование – склеивание/спекание частиц материала;
- ламинирование – склеивание слоёв материала и последующее вырезание объекта;
- фотополимеризация – отвердевание материала под действием УФ- или лазерного излучения.

Основные технологии печати представлены в табл. 1:

Описание наиболее востребованных технологий приводится ниже.

PolyJet и PolyJetMatrix – технологии, основанные на отвердевании фотополимерной смолы; гарантируется практически ювелирная точность мелких элементов, гладкая поверхность сразу после печати.

FDM (Fused deposition modeling) – послойное создание модели расплавленным пластиком высокого уровня прочности; оптимально для последующего проведения функциональных тестов (test-drive, crash-test).

SLA (Stereolithography) – технология, сочетающая в себе преимущества двух вышеназван-

ных методик: высокая точность микроформ + прочность и гладкость материала.

ZDP (3D-printing, Powder bed & InkJet head 3D-printing, Plaster – based 3D-printing) – наилучший выбор для визуализации идей и макетирования; низкая себестоимость и высокая цветовая отдача (390 000 цветов по палитре CMYK).

MJM (Multi Jet Modeling) – технология создания высокоточных прототипов для микролитья.

➤ **по используемому материалу:**

Для распечатывания моделей должны использоваться термопластичные материалы, при застывании приобретающие определённую прочность, твёрдость и ряд других необходимых характеристик. В 3D-принтерах используют АБС-пластик, PLA-пластик, нейлон (полиамид), нейлоновое стекловолокно, фотополимеры, поликарбонаты, воск; в настоящее время широко применяются серебро, титан и сталь.

Условно используемые материалы разделяют на три группы:

- композитные материалы;
- материалы для создания гибких моделей;
- материалы для литейных форм.

Аддитивное изготовление прототипа кристалла проводилось на 3D-принтере Object Eden 350V, «Objet Geometries Ltd», изображение которого представлено на рис. 1.

Принцип действия используемого принтера основан на технологии PolyJet, заключающейся в отвердевании полимера под действием ультрафиолетового излучения. Используемая технология позволяет воспроизводить мелкие детали с высокой точностью, получать гладкую поверх-

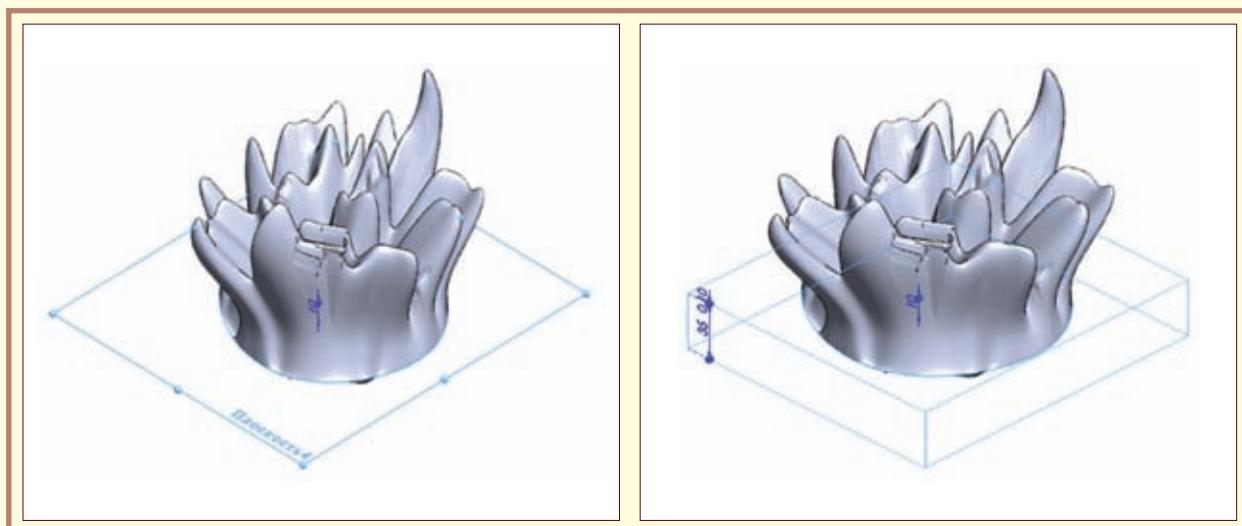


Рис. 8. Построение платформы

ность прототипа, а также даёт возможность применять широкий спектр материалов с различными характеристиками [4].

Технология 3D-печати схематично представлена на рис. 2.

Печатная головка перемещается в плоскости ХоУ, при этом полимер наносится на текущую по-

верхность создаваемой модели. При необходимости используются конструкции поддержки для построения правильной геометрии образца. После полимеризации нанесённого слоя ультрафиолетом область построения перемещается по оси оZ на 16 или 30 мкм для создания следующего слоя. Процесс повторяется до полного изготовления модели.

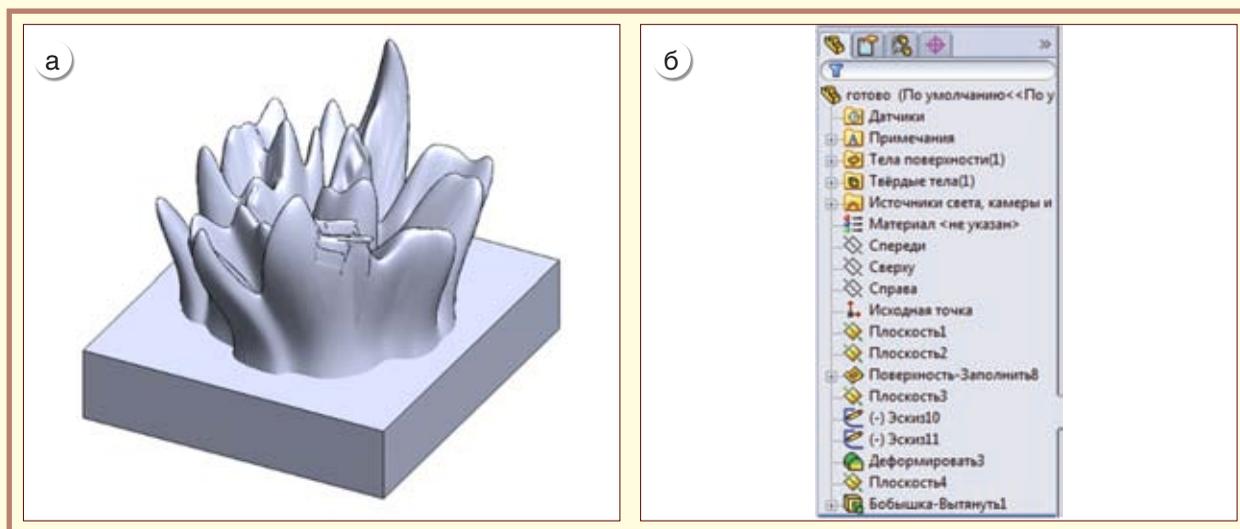


Рис. 9. Построенная модель кристалла фосфата кальция на дентинной подложке (а) и дерево конструирования (б)

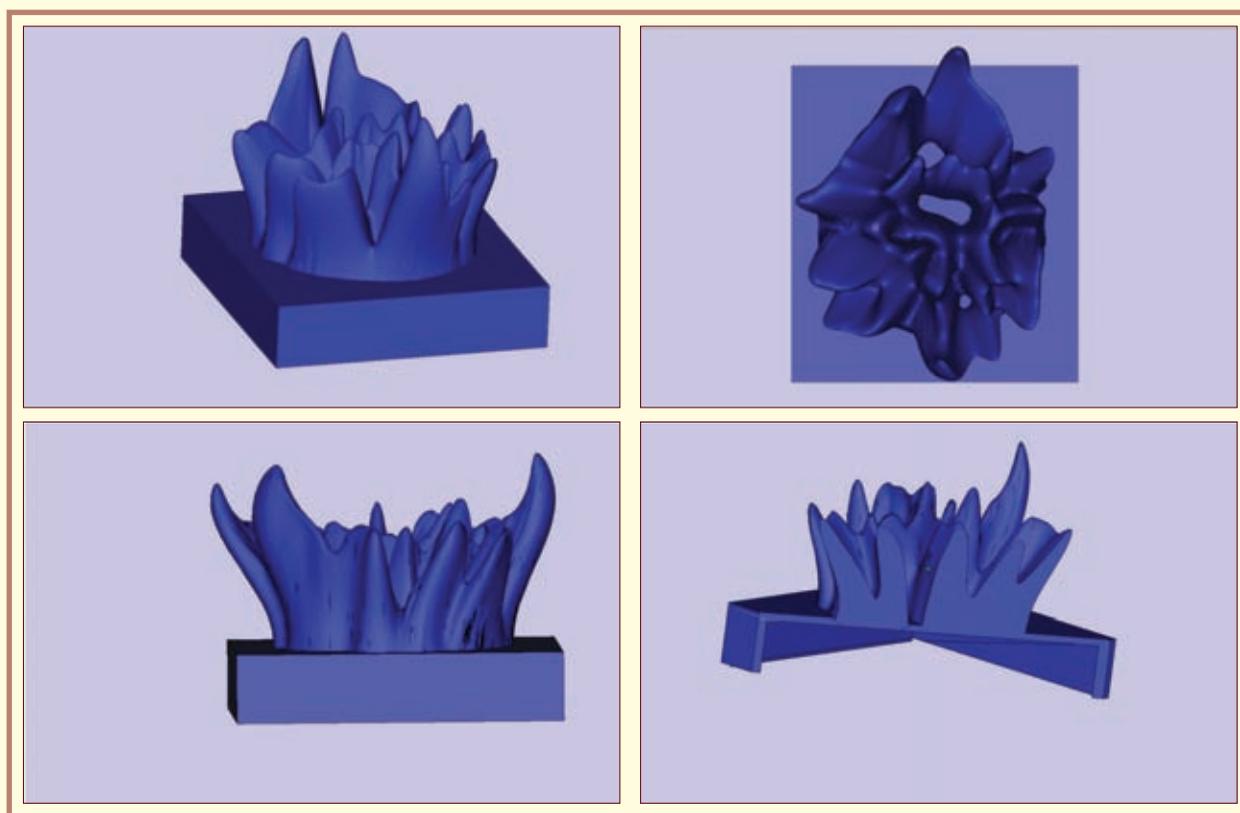


Рис. 10. Построенная модель кристалла на дентинной подложке в различных проекциях

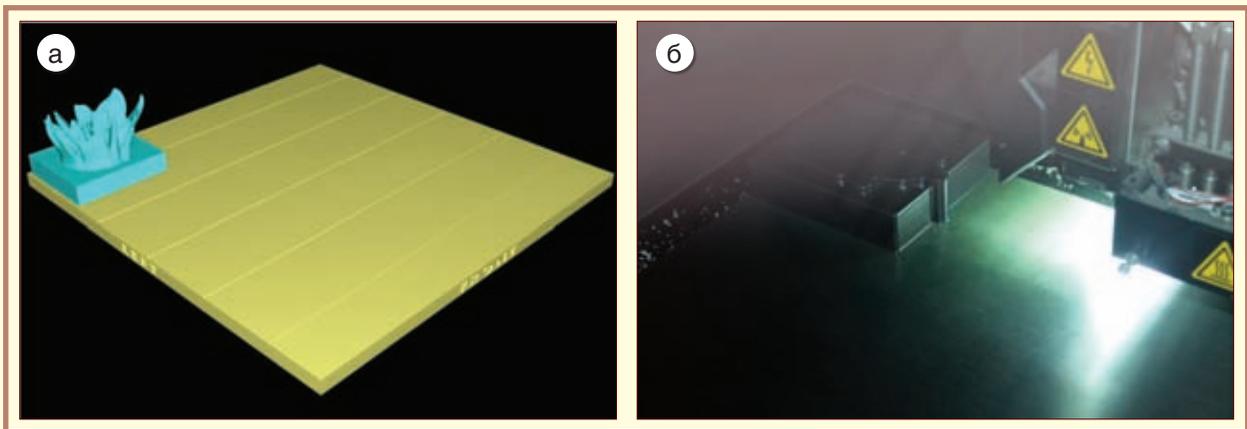


Рис. 11. Позиционирование объекта на рабочей поверхности принтера (а), послойное изготовление модели (б)

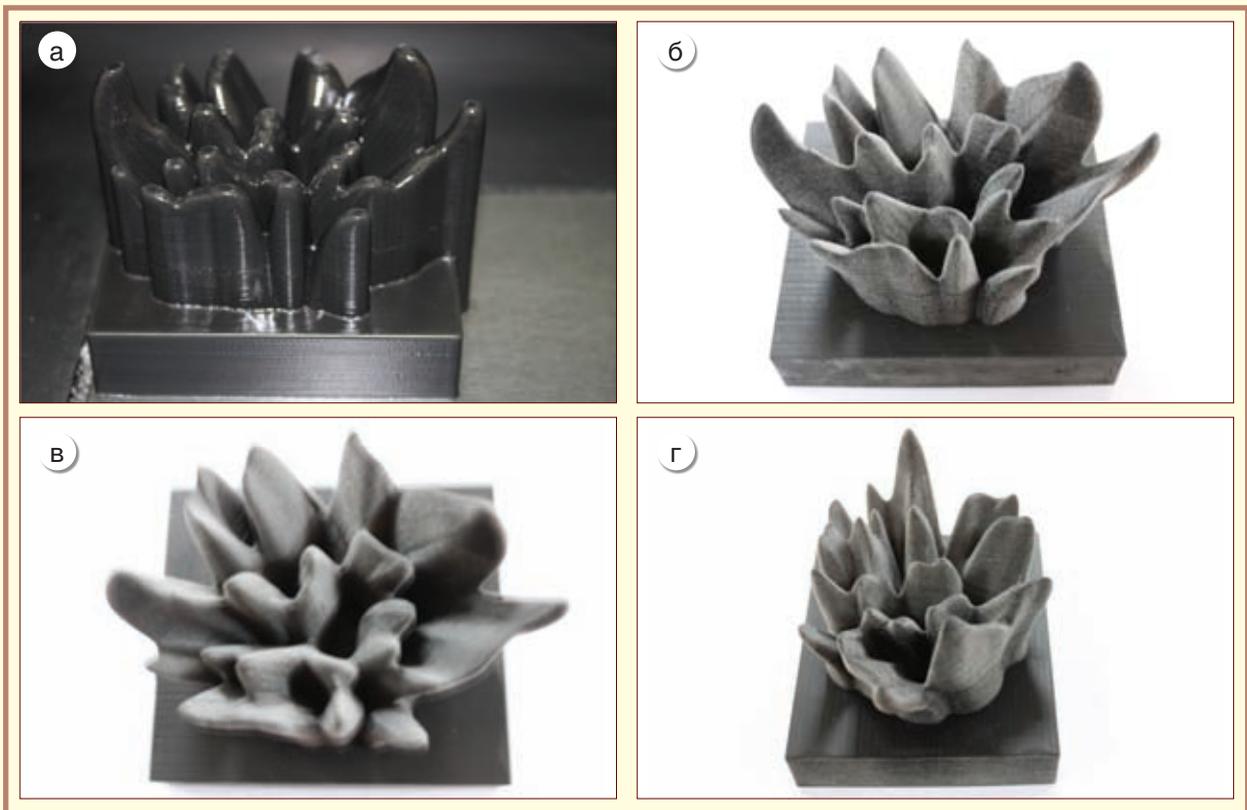


Рис. 12. Прототип кристалла фосфата кальция в материале поддержки (а) и без него (б) – (г).

2. Ход работы

Построение трёхмерной модели кристалла фосфата кальция осуществлялось в программном комплексе Solid Works. Исходными данными для создания 3D-модели являлись РЭМ-изображения поверхностной морфологии кристаллов и 3D-изображения, построенные с применением встроенного в РЭМ программного обеспечения Alicona 3D MeX (рис. 3, 4) [5].

Этапы построения модели в САПР Solid Works:

1. Определение точки начала отсчёта и создание вспомогательных плоскостей – ориентировочных уровней модели (рис. 5).
2. Создание эскизов на плоскостях для построения поверхности (рис. 6).
3. Деформация модели для придания сходства с РЭМ-изображениями кристалла (рис. 7)
4. Моделирование платформы, имитирующей дентинную подложку (рис. 8)

Изображение построенной 3D модели кристалла в среде Solid Works представлено на рис. 9.

Для сглаживания созданной модели применяется программный пакет Delcam PowerSHAPE – мощный моделировщик, сочетающий в себе набор инструментов для каркасного твёрдотельного и поверхностного моделирования.

3. Результаты

Построенная модель кристалла на дентинной подложке представлена на рис. 10.

Перед началом процесса 3D-печати проводилось позиционирование построенной модели на рабочей поверхности принтера (рис. 11, а). Для изготовления прототипа кристалла использовалась фотополимерная смола Transparent

FullCure. Нанесение и полимеризация материала проводились в высокоскоростном режиме слоями толщиной 30 мкм (рис. 11, б.)

Результат аддитивного изготовления прототипа кристалла представлен на рис. 12.

4. Заключение

В настоящем исследовании современные программные комплексы (Solid Works, Delcam PowerShape, Magic и др.) и технология 3D-печати применены для создания прототипов образований микронных размеров на поверхности дентина. Построена трёхмерная модель и изготовлен прототип кристаллофосфата кальция на дентинной подложке для визуализации его структуры и изучения морфологии.

Литература

1. Основы трёхмерной печати (электронный ресурс) // GLOBATEK.3D: (сайт). (2008). URL: http://3d.globatek.ru/world3d/osnovy_3D_pechati (дата обращения: 15.04.2013).
2. Бессуднова Н. О., Биленко Д. И., Вениг С. Б., Аткин В. С., Галушка В. В., Захаревич А. М. Механизмы формирования и роста кристаллов фосфата кальция на подложке из дентина // Биотехносфера, 2012, № 5–6 (23–24). – С. 21–27.
3. Справка по Solid Works (электронный ресурс) // Solid Works Web Help: (сайт). (1995). URL: <http://help.solidworks.com/2010/Russian/SolidWorks/sldworks/LegacyHelp/Sldworks/Overview/StartPage.htm> (дата обращения: 23.04.2013).
4. 3D-принтеры (электронный ресурс) // 3D-Format: [сайт]. (2012). URL: http://www.3d-format.ru/printer_64.html (дата обращения: 11.05.2013).
5. Бессуднова Н. О., Биленко Д. И., Аткин В. С., Захаревич А. М., Галушка В. В. Визуализация трёхмерной структуры кристаллов фосфата кальция, выращенных на дентинной подложке // Медицинская физика. 2012, №2 (54). – С. 83–90.

НАНОТЕХНОЛОГИИ. ТЕРМИНОЛОГИЧЕСКИЙ СЛОВАРЬ

Наноионика — раздел химии и физики твёрдого тела, предметом изучения которого являются специфические свойства, явления, эффекты, механизмы процессов, связанные с ионным транспортом в твёрдотельных наносистемах.

Нанофотоника — раздел фотоники, занимающийся изучением физических явлений, возникающих при взаимодействии фотонов с объектами нанометровых размеров, и практическим применением указанных явлений.

Туннелирование — проявление туннельного эффекта, когда частица, первоначально локализованная по одну сторону потенциального барьера (области, пересечение которой недоступ-

но для классической частицы, поскольку потенциальная энергия превышает её полную энергию), может с отличной от нуля вероятностью проникнуть через барьер и быть обнаруженной по другую его сторону.

Фуллерен – аллотропная модификация углерода, часто называемая молекулярной формой углерода.

Фуллерид – интеркалированный фуллерит; в более широком смысле – соли (комплексы с переносом заряда), анионами в которых являются фуллерены.

<http://thesaurus.rusnano.com/wiki/article1065>

© Группа авторов, 2013

УДК 616.-0066; 611.42/611.637

Лимфатические узлы при экспериментальной опухоли простаты в условиях химиотерапии комплексом Pd (II) с треонином и фитокоррекции

Ломшаков А. А.¹, Асташов В. В.^{2,3}, Бородин Ю. И.¹, Иванова Е. Б.²,
Майоров А. П.³, Крылова Л. Ф.⁴, Казаков О. В.¹

¹ФГБУ «НИИ клинической и экспериментальной лимфологии» СО РАМН, г. Новосибирск

²Некоммерческая организация Частное учреждение «Научно-исследовательский институт биоцидов и нанобиотехнологий», г. Москва

³ФГБУ «Институт лазерной физики» СО РАН, г. Новосибирск

⁴Кафедра общей химии Факультета естественных наук Новосибирского государственного университета, г. Новосибирск

Изучена структура простаты и тазовых лимфатических узлов мышей на 18 сутки индукции экспериментальной злокачественной опухоли простаты и коррекции новым противоопухолевым комплексом Pd(II) с треонином и фитоконкомплексом «Берег». После проведённой химиотерапии комплексом цис-Pd(Thr)₂, а также при сочетании её с фитокоррекцией морфологические изменения в опухоли носят распространённый характер и выражаются в дисконкомплектации клеток и их дистрофических изменениях. В лимфатических узлах выявлено восстановление структурной организации (соотношение Т- и В-зависимых зон), активации транспортной и барьерно-детоксикационной функций, лимфопоэза.

Ключевые слова: лимфатические узлы, простата, опухоль простаты, комплекс Pd(II) с треонином, фитотерапия.

Тhe article deals with study of mice prostate and pelvic lymph glands on the 18th day after induction of experimental prostate malignant lymphatic glands tumor and its correction by the new antitumor complex Pd(II) with threonine and phytocomplex «Bereg». After conducted chemotherapy by complex of cis-Pd(Thr)₂ and its combination with phytocorrection morphological changes in tumor carry wide threonine and phytocomplex «Bereg». After conducted chemotherapy by spread nature and express in cellular discomplection and its dystrophic changes. The recovery of structural organization (the correlation of T- and B-dependent zones), activation of transport and barrier-detoxication function and lymphopoiesis in lymphatic glands was also revealed in the article.

Keywords: lymphatic glands, lymphatic glands, prostate tumor, the complex of Pd(II), phytotherapy.

Введение

В структуре онкологической заболеваемости мужского населения рак предстательной железы составляет в среднем 24,8 случаев на 100 000 населения [1]. Цитостатическая терапия остаётся одним из основных методов

лечения злокачественных новообразований в настоящее время. Однако возможности химиотерапии лимитируются выраженными побочными эффектами цитостатических препаратов, связанными в первую очередь с низкой селективностью канцеролитического эффекта большинства известных в настоящее время цитостатиков и их

Контакты: zarazara@yandex.ru

токсическим влиянием на нормальные активно пролиферирующие клеточные системы организма [2]. Кроме того, применение противоопухолевых препаратов усугубляет и без того нарушенный баланс основных звеньев иммунитета, приводя к вторичному иммунодефициту [3].

Менее ядовитые и лучше растворимые в физиологическом растворе (R,S) – аминокислотные комплексы Pt (II) и Pd (II) изначально рассматривались как возможная замена цисплатину [4, 5]. При проведении химиотерапии для повышения эффективности лечения применяют модификаторы биологических реакций (МБР) – агенты различной природы, воздействующие как на опухолевые клетки, так и различные регуляторные системы организма. Препараты растительного происхождения – особая группа модификаторов, вызывающих биологические реакции, выгодно отличающаяся от остальных лекарственных средств, прежде всего, широким спектром регулирующих эффектов, низкой токсичностью и отсутствием побочных явлений, а также высокой биологической доступностью [6].

Многие лекарственные растения не только сами обладают противоопухолевой активностью, но и многократно усиливают действие некоторых противоопухолевых препаратов, применяемых при химиотерапии опухолей. При этом они ослабляют их побочное токсическое действие на организм, защищая печень, почки, слизистые оболочки желудочно-кишечного тракта, органы кроветворения от разрушающего действия химио- и лучевой терапии.

Сравнительный анализ структурных изменений в лимфатических узлах и простате при экспериментальном опухолевом росте в условиях коррекции комплексом Pd(II) с треонином позволит более дифференцировано подходить к выбору противоопухолевого препарата при лечении опухолей простаты и в перспективе расширит спектр используемых при данном заболевании препаратов. В связи с этим цель нашей работы – выявить структурные преобразования в экспериментальной опухоли простаты, тазовых лимфатических узлах в условиях парентерального введения нового противоопухолевого комплекса Pd(II) и энтерального введения фитокомплекса «Берег».

Материалы и методы исследования

В работе использовали половозрелых 14-недельных самцов-мышей СВА в количестве 60 особей (Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск). Все эксперименты выполнены в соответствии с «Правилами проведения

Возможности химиотерапии лимитируются выраженными побочными эффектами цитостатических препаратов, связанными в первую очередь с низкой селективностью канцеролитического эффекта большинства известных в настоящее время цитостатиков и их токсическим влиянием на нормальные активно пролиферирующие клеточные системы организма.

работ с использованием экспериментальных животных», утверждёнными приказом Минздрава СССР №577 от 12.08.77 г. Эксперименты выполнены с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директиве Европейского Сообщества (86/609/ЕС).

Экспериментальная модель злокачественного опухолевого роста в простате создавалась путём инокуляции (под эфирным наркозом) разведённого клеточного штамма трансплантируемой асцитной опухоли Эрлиха (АОЭ) в паренхиму простаты: инъекциями вводили 0,2 мл асцитической жидкости, содержащей 500-550х10³ атипичных опухолевых клеток [7]. Экспериментальные животные были разделены на группы: 1. интактные животные; 2. экспериментальная опухоль простаты (18 суток); 3. экспериментальная опухоль простаты (18 суток) с введением цис-Pd(Thr)2.; 4. экспериментальная опухоль простаты (18 суток) с введением, цис-Pd(Thr)2 и фитокомплекса «Берег».

Комплекс палладия (II) с треонином вводились ежедневно (в дозе – 2 мг/кг веса животного, внутрибрюшинно) один раз в сутки в течение пяти дней, начиная с шестого дня после индукции опухолевого процесса в простате. Фитокомплекс «Берег» (БАД к пище, Свидетельство о государственной регистрации № 77.99.23.3.У.5796.6.09, ООО «НПО Гармония ВИТА») экспериментальные

Многие лекарственные растения не только сами обладают противоопухолевой активностью, но и многократно усиливают действие некоторых противоопухолевых препаратов, применяемых при химиотерапии опухолей. При этом они ослабляют их побочное токсическое действие на организм, защищая печень, почки, слизистые оболочки желудочно-кишечного тракта, органы кроветворения.

Сравнительный анализ структурных изменений в лимфатических узлах и простате при экспериментальном опухолевом росте в условиях коррекции комплексом Pd(II) с треонином позволит более дифференцировано подходить к выбору противоопухолевого препарата при лечении опухолей простаты и в перспективе расширит спектр используемых при данном заболевании препаратов.

животные получали вместе с пищей, в дозе 0,2 г/кг с шестого по 17-й день роста опухоли. В состав фитокомплекса входят отруби пшеничные, мука овсяная, корневища с корнями копеечника чайного, чага, корневища и корни лопуха, листья подорожника большого, цветки ноготков.

Этаназия животных осуществлялась под эфирным наркозом на 18-е сутки роста опухоли.

Сtereoизомерный комплекс Pd(II) с треонином (цис-Pd(Thr)₂) синтезирован и охарактеризован на кафедре неорганической химии Новосибирского государственного университета и в Институте неорганической химии СО РАН [8].

Для гистологического исследования забирали простату, тазовые (каудальные) лимфатические узлы, являющиеся по своему анатомо-топографическому расположению регионарными лимфатическими узлами I порядка для органов малого таза и простаты у мышей. По стандартной гистологической методике выполняли проводку материала, заливали объекты исследования в парафиновые блоки, с которых делали гистологические срезы толщиной 5–7 мкм [9].

Срезы окрашивали гематоксилин – эозином и азур II – эозином. Гистологические препараты изучали на световых микроскопах Leica (Германия), МБС-10 при увеличении 32, 400 и 1000 раз, с помощью окулярной тестовой системы производили морфометрию срезов и подсчёт клеточных элементов в опухоли и отдельных структурно-функциональных зонах лимфатических узлов, определяли соотношение паренхиматозного и соединительно-тканного компонента в опухолевой ткани [10].

Статистическую обработку данных проводили с помощью t-критерия Стьюдента для зависимых выборок и определяли значимость различий (p – стандартная ошибка среднего). Критический уровень значимости в данном исследовании принимался p < 0,05.

Таблица 1

Относительная площадь структурно-функциональных зон тазовых лимфатических узлов в условиях нормы, при экспериментальной опухоли простаты (ЭОП) и в условиях химиотерапии ЭОП комплексом цис-Pd(Thr)₂ и фитокоррекции (Ф) (M±m) %

№ п/п	Структурно-функциональные зоны лимфатических узлов	Интактные животные	ЭОП	ЭОП+ цис-Pd(Thr) ₂	ЭОП+ цис-Pd(Thr) ₂ +Ф
1	2	3	4	5	6
1.	Светлый центр вторичных лимфоидных узелков	1,62±0,21	1,2±0,09	1,77±0,11	1,24±0,06*
2.	Мантий вторичных лимфоидных узелков	2,77±0,17	3,1±0,16	1,03±0,12*	1,69±0,1*
3.	Вторичные лимфоидные узелки	4,39±0,16	4,3±0,09	2,8±0,08*	2,93±0,06*
4.	Первичные лимфоидные узелки	3,6±0,2	1,82±0,15*	0,93±0,08*	1,67±0,08*
5.	Корковое плато	2,63±0,21	1,82±0,15*	0,58±0,08*	1,55±0,13**
6.	Паракортикальная зона	19,5±0,47	27,23±1,55*	19,86±0,35	24,25±1,04**
7.	Мозговые тяжи	46,0±0,86	44,64±1,67	52,5±1,03*	43,56±0,98**
8.	Мозговые синусы	18,54±1,2	15,21±0,92*	18,0±0,24	21,65±0,77**
9.	Краевой синус	2,29±0,21	1,91±0,2	1,57±0,12*	2,03±0,13**
10.	Капсула	2,87±0,21	2,45±0,18	3,65±0,15*	2,3±0,15**
11.	Трабекулы	0,19±0,09	0,6±0,12*	0,14±0,05	0,06±0,03*
12.	Корковое вещество	30,1±0,83	35,18±0,8*	24,17±0,59*	30,4±0,8**
13.	Мозговое вещество	64,54±1,58	59,85±1,25*	70,5±1,41*	65,21±1,08**
14.	В-зависимая зона	56,6±1,53	52,59±1,24	56,8±1,48	49,71±1,37**
15.	Корково/мозговой индекс	0,47±0,01	0,59±0,02	0,39±0,01	0,47±0,02

* – отличия достоверны в сравнении с интактными животными при P<0,05
 • – отличия достоверны в сравнении с группой ЭОП при P<0,05
 ** – отличия достоверны в сравнении с группой ЭОП + цис-Pd(Thr)₂ при P<0,05

Результаты исследования и их обсуждение

На 18-е сутки роста опухоли (вторая экспериментальная группа) выявлено практически полное замещение структурных компонентов простаты атипичными полиморфными клетками (паренхима опухоли – 82,3±0,63 %, строма опухоли – 17,7±0,43%, стромально-перенхиматозный индекс – 0,22±0,01). Строма опухоли скудная, хорошо выражена лимфоплазмодитарная инфильтрация, локализующаяся, преимущественно, по ходу сосудов; много очагов некрозов и кровоизлияний.

Паренхима опухоли представлена крупными атипичными клетками, отличающимися выраженным полиморфизмом, овальной, иногда вытянутой или полигональной формы с гиперхромными ядрами. Встречаются крупные клетки с двумя или несколькими ядрами. Отмечается значительное варьирование их формы, размеров и плотности. Ядра крупные или мелкие, резко полиморфные, гиперхромные. Содержат по одному, или сразу несколько гипертрофированных ядрышек.

Цитоплазма клеток вакуолизирована, иногда содержит мелкие гранулы. Микроскопическое исследование атипичных опухолевых клеток показало, что их ядерно-цитоплазматический индекс равен 1,66±0,3.

На 18-е сутки опухолевого роста в краевом и мозговых синусах лимфатических узлов выявлены метастазы опухоли – крупные атипичные клетки, отличающиеся выраженным полиморфизмом. По сравнению с интактными животными, в лимфатических узлах налицо выраженные признаки паракортикальной гиперплазии – площадь паракортикальной зоны увеличиваются на 40 % (табл. 1).

При опухоли простаты нами обнаружены кардинальные изменения в цитоархитектонике лимфатических узлов, свидетельствующие об активации процессов лимфопоэза и выраженной макрофагальной реакции в В-зависимой зоне лимфатических узлов: в светлых центрах возрастает число иммунобластов на 48%, макрофагов – на 40%, а мозговых тяжах – количество иммунобластов увеличивается в 4 раза, незрелых плазматических клеток – на 40 %, макрофагов – на 41 % в сравнении с интактными животными (табл. 2).

В опухолевом узле простаты при применении комплекса цис-Pd(Thr)₂ в сравнении с группой без коррекции, сохраняется картина клеточно-го полиморфизма. Паренхима опухоли представлена атипичными опухолевыми клетками, расположенными беспорядочно, хаотично, их

В гладкомышечных отделах простаты сохраняются участки с нормальной цитоархитектоникой волокон. Микроскопическое исследование атипичных опухолевых клеток показало, что применение комплекса цис-Pd(Thr)₂ при экспериментальной опухоли простаты приводит к увеличению стромально-паренхиматозного индекса (0,52±0,02) опухолевой ткани по сравнению с нелеченной группой в 2,4 раза.

количество в различных участках значительно варьирует – определяются зоны более или менее плотно заселённые клетками. При этом в некоторых полях зрения опухолевая ткань замещена полями некроза, отмечаются участки разрастания соединительной ткани, встречаются сохраненные тканевые участки, в просвете желез определяются единичные атипичные опухолевые клетки.

В гладкомышечных отделах простаты сохраняются участки с нормальной цитоархитектоникой волокон. Микроскопическое исследование атипичных опухолевых клеток показало, что применение комплекса цис-Pd(Thr)₂ при экспериментальной опухоли простаты приводит к увеличению стромально-паренхиматозного индекса (0,52±0,02) опухолевой ткани по сравнению с нелеченной группой в 2,4 раза, а ядерно-цитоплазматический индекс составляет 1,8±0,08 (1,66±0,09 в группе без коррекции экспериментальной опухоли простаты).

При противоопухолевой коррекции соединением цис-Pd(Thr)₂ в тазовых лимфатических узлах (табл. 1), по сравнению с группой с опухолью простаты без лечения, выявлено увеличение размеров мозгового вещества и уменьшение площади коркового. Структурно-функциональная организация лимфатического узла при опухоли простаты и коррекции цис-Pd(Thr)₂ соответствует фрагментированному типу (0,39±0,01), но при этом характер структурных преобразований в них наиболее выражен.

После проведённой химиотерапии комплексом цис-Pd(Thr)₂ в сочетании с фитокоррекцией морфологические изменения в опухоли носят распространённый характер и выражаются в дисконфлектации клеток и их дистрофических изменениях. Наблюдается резкое увеличение размеров клеток, в ядре и цитоплазме появляются вакуоли. Образуются многоядерные клетки, а также клетки с уродливыми гиперхромными ядрами.

Таблица 2

Клеточный состав структурно-функциональных зон тазовых лимфатических узлов в условиях нормы, при экспериментальной опухоли простаты (ЭОП) и в условиях химиотерапии ЭОП комплексом цис-Pd(Thr)2 и фитокоррекции (Ф) (M±

№ п/п	Клеточные элементы	Интakтные жи- вотные	ЭОП	ЭОП+ цис-Pd(Thr)2	ЭОП+ цис-Pd(Thr)2+Ф
1	2	3	4	5	6
1	Светлые центры вторичных лимфоидных узелков				
2	Иммунобласты	7,86±	11,65±	10,1±	14,38±
3	Средние лимфоциты	18,11±	19,83±	6,51±	14,96±
4	Малые лимфоциты	64,5±	56,6±	74,0±	59,5±
5	Макрофаги	4,29±	6,0±	4,9±	5,77±
6	Ретикулярные клетки	3,96±	4,78±	3,75±	4,0±
7	Клетки на стадии митоза	1,27±	1,11±	0,78±	1,39±
8	Мозговые тяжи				
9	Средние лимфоциты	6,55±	21,18±	24,38±	12,9±
10	Малые лимфоциты	34,0±	27,69±	22,91±	37,66±
11	Иммунобласты	1,98±	8,71±	14,36±	5,37±
12	Незрелые плазмоциты	3,83±	5,32±	5,34±	5,67±
13	Зрелые плазмоциты	44,17±	28,26±	20,0±	24,76±
14	Макрофаги	3,46±	4,89±	7,55±	5,67±
15	Ретикулярные клетки	5,43±	3,07±	4,0±	6,86±
16	Клетки на стадии митоза	0,58±	0,88±	1,4±	1,12±
17	Мозговые синусы				
18	Средние лимфоциты	5,12±	10,16±	9,31±	10,5±
19	Малые лимфоциты	23,0±	23,04±	28,6±	43,6±
20	Иммунобласты	1,96±	2,93±	1,93±	3,96±
21	Незрелые плазмоциты	5,95±	9,63±	11,67±	4,78±
22	Зрелые плазмоциты	53,76±	44,92±	38,12±	24,13±
23	Макрофаги	2,21±	2,51±	1,93±	2,68±
24	Ретикулярные клетки	7,72±	6,38±	8,0±	9,91±
25	Тучные клетки	0,25±	0,42±	0,43±	0,47±

* – отличия достоверны в сравнении с интактными животными при P<0,05
 • – отличия достоверны в сравнении с группой ЭОП при P<0,05
 ** – отличия достоверны в сравнении с группой ЭОП + цис-Pd(Thr)2 при P<0,05

Встречаются клетки с фрагментированными разрушенными ядрами. Клетки не имеют чётких границ. Ядерно-цитоплазматическое соотношение снижается в сравнении с группой с монокоррекцией комплексом цис-Pd(Thr)2 (1,7+0,04), стромально-паренхиматозное, наоборот, увеличивается (0,6+0,02). Отмечается наличие обширных некрозов в опухоли с разрастанием вокруг них грануляционной ткани. Сохраняется инфильтрация плазматическими и лимфоидными клетками. Эти изменения можно рассматривать как признак глубокого повреждения опухоли.

По сравнению с группой с монокоррекцией комплексом цис-Pd(Thr)2, в тазовых лимфатических узлах при опухоли простаты при сочетанной химиотерапии и фитокоррекции (комплекс цис-Pd(Thr)2, фитокоррекция «Берег») выявлены структурные преобразования, свидетельствующие об активации Т-зависимой зоны (площадь паракортикальной зоны увеличилась на 4 %

и угнетении В-зависимой зоны (площадь уменьшается на 7 %) (табл. 1).

В цитоархитектонике лимфатических узлов при опухоли простаты и сочетанной химиотерапии и фитокоррекции в сравнении с монокоррекцией комплексом цис-Pd(Thr)2 отмечали уменьшение выраженности плазматической реакции в мозговых тяжах – уменьшалось число иммунобластов на 9 % на фоне увеличения численности зрелых плазматических клеток, сопровождающееся возрастанием количества иммунобластов и клеток на стадии митоза в светлых центрах вторичных лимфоидных узелков, сокращением численности зрелых и незрелых плазматических клеток в мозговых синусах (табл. 2). Транспортная функция лимфатических узлов при опухоли простаты и сочетанном введении комплекса цис-Pd(Thr)2 и фитокоррекции, в сравнении с монокоррекцией, восстанавливается (увеличиваются размеры мозговых и краевого синусов).

Обсуждение и выводы

Результаты проведенного исследования позволяют сделать заключение, что введение нового противоопухолевого соединения на основе палладия цис-Pd(Thr)2 сопровождается устойчивым антиканцерогенным действием и вызывает выраженную трансформацию опухолевой ткани (обширные поля некроза, увеличение площади соединительной ткани, с сохранением мышечных фрагментов, числа высококодифференцированных атипичных клеток).

Полученные результаты позволяют заключить, что комплекс цис-Pd(Thr)2 при экспериментальной опухоли простаты вызывает характерные структурные преобразования в регионарных лимфатических узлах, свидетельствующие о тенденции к восстановлению их структурной организации (соотношение Т- и В-зависимых зон), замедлению тока лимфы через них – увеличение размеров мозгового вещества за счёт возрастания площади мозговых тяжей и сокращения синусной системы. Структурные трансформации в лимфатических узлах и простате при применении нового соединения цис-Pd(Thr)2 при опухоли простаты можно в целом расценить как лимфосупрессивные, ограничивающие рост и распространение опухоли, а значит благоприятные в прогностическом плане, что даёт основание рассматривать данное соединение как

Введение нового противоопухолевого соединения на основе палладия цис-Pd(Thr)2 сопровождается устойчивым антиканцерогенным действием и вызывает выраженную трансформацию опухолевой ткани (обширные поля некроза, увеличение площади соединительной ткани, с сохранением мышечных фрагментов, числа высококодифференцированных атипичных клеток).

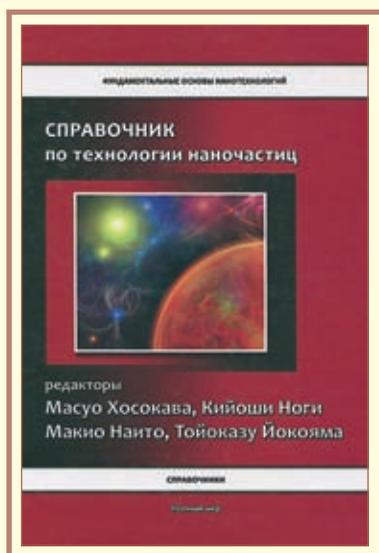
перспективное средство химиотерапевтического лечения.

Введение фитокомплекса «Берег» на фоне химиотерапии при опухоли простаты способствует восстановлению структурной организации регионарных лимфатических узлов, их транспортной функции, снижению выраженности плазматической и макрофагальной реакции, активации процессов лимфопоэза, что в целом свидетельствует о восстановлении функциональной активности лимфатических узлов и активации их барьерно-детоксикационной функции. Результаты исследования дают основания использовать фитокомплекс «Берег» в качестве фоновой терапии сопровождения при опухоли простаты и в условиях проведения химиотерапии.

Литература

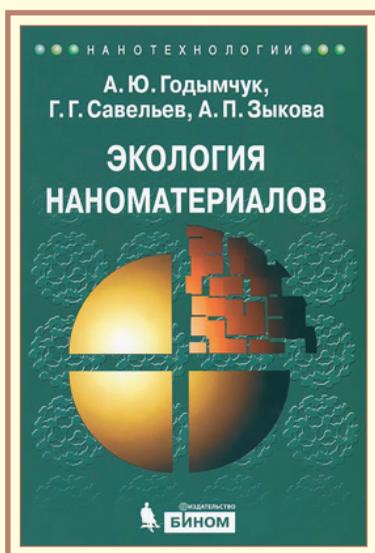
1. Давыдов М. И., Аксель Е. М. Заболеваемость злокачественными новообразованиями населения России и стран СНГ в 2007 // *Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН*, 2009, Т. 20, № 3 (прил. 1). – С. 52–56.
2. Гольдберг Е. Д., Новицкий В. В. Противоопухолевые антибиотики антрациклинового ряда и система крови. – Томск: ТГУ., 1986. – 236 с.
3. Напалков Н. П. и др. Клиническая онкология для семейного врача. – СПб.: Гиппократ, 1995. – 178 с.
4. Pettit L. D., Bezer M. Complex formation between palladium (II) and amino acids, peptides and related ligands // *Coordination Chemistry Review*, 1985, V. 61 – P. 97–114.
5. Jakovidis A., Hadjiliadis N. Complex compounds of platinum(II) and (IV) with amino acids, peptides and their derivatives // *Coordination Chemistry Review*, 1994, V. 135/136, №1. – P. 17–63.
6. Гольдберг Е. Д., Зуева Е. П. Препараты из растений в комплексной терапии злокачественных заболеваний – Томск: Изд-во Томского ун-та, 2000. – 129 с.
7. Асташов В. В. и др. Лимфатические узлы и сосуды при экспериментальной опухоли простаты // *Вестник НГУ, Серия: Биология, медицина*, 2011, Т.9., №2. – С. 118–125.
8. Крылова Л. Ф. и др. Стереоизомерные комплексы Pd(II) с серином, треонином и аллотреонином // *Журнал неорганической химии*, 2011, Т.56, № 1. – С. 56–64
9. Саркисов Д. С., Перов Ю. Л. Микроскопическая техника: Руководство // М.: Медицина, 1996. – 544 с.
10. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия. Руководство. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.

Библиотека



Справочник по технологии наночастиц.

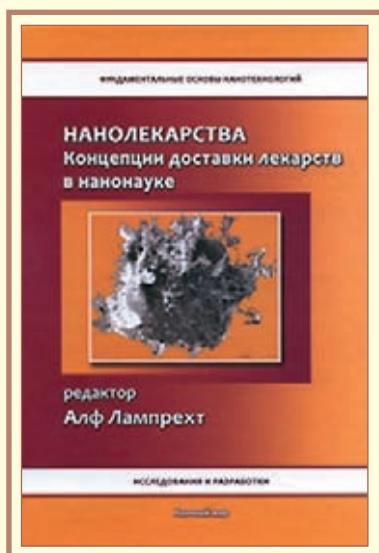
Редакторы: Масао Хосокава, Кийоши Ноги, Макио Наито, Тойоказу Йокояма. — М.: Научный мир, 2013. — 732 с.



Годымчук А. Ю., Савельева Г. Г., Зыкова А. П.
Экология наноматериалов. — М.: Бином, 2012. — 272 с.



Швердьяев О. Н., Ибрагимов И. М.
Нанотехнологии и наноматериалы. — М.: МГОУ, 2012. — 124 с.



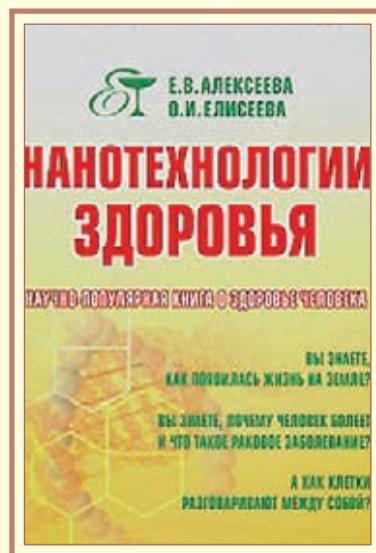
Наноллекарства. Концепции доставки лекарств в нанонауке.

Под редакцией Алфа Лампрехта. — М.: Научный мир, 2010. — 236 с.



Нанотехнологии в биологии и медицине.

Редактор Евгений Шляхто. — М.: Любавич, 2009. — 320 с.



Алексеева Е. В., Елисеева О. И.
Нанотехнология здоровья. — М.: АСТ, Сова, ВКТ, 2008. — 192 с.

Выставка

Научно-производственный центр «ВЕЛТ» представляет ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕЕ СРЕДСТВО – КОЖНЫЙ АНТИСЕПТИК

«ВЕЛТОСФЕР»

Свидетельство о гос. регистрации № 77.99.1.2.У.3842.6.10 от 03.06.2010 г.



100 мл



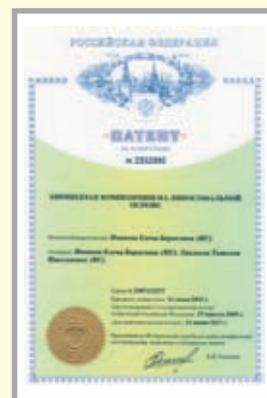
100 мл



300 мл



1 л



Патент № 2353395

НАЗНАЧЕНИЕ

- ✓ Обработка рук хирургов и других лиц, участвующих в проведении операций, приёме родов и др.
- ✓ Обработка кожи операционного поля.
- ✓ Обработка локтевых сгибов доноров и инъекционного поля.
- ✓ Гигиеническая обработка рук медицинского персонала в лечебно-профилактических учреждениях, персонала скорой медицинской помощи, работников лабораторий.
- ✓ Гигиеническая обработка рук работников детских дошкольных и школьных учреждений, учреждений соцобеспечения, работников парфюмерно-косметических предприятий, предприятий общественного питания и пищевой промышленности, объектов коммунальных служб.
- ✓ Обработка ступней ног с целью профилактики грибковых заболеваний.
- ✓ Частичная санитарная обработка кожных покровов представителей силовых ведомств, пациентов лечебно-профилактических учреждений, включая лежащих больных в отделениях гериатрического, онкологического профиля, хосписах, домах-интернатах, учреждениях социальной защиты; лиц, поступающих в приёмные отделения стационаров и социальных приютов.
- ✓ Гигиеническая обработка рук и кожных покровов населением в быту.

Широкий спектр антимикробной активности в отношении:

- ✓ Бактерий, в т. ч. грамположительных и грамотрицательных, включая возбудителей внутрибольничных инфекций, туберкулёза.
- ✓ Вирусов, в т. ч. возбудителей парентеральных гепатитов, ВИЧ-инфекции, нового пандемического вируса гриппа А/Н1N1/ («свиного» гриппа).
- ✓ Патогенных грибов, в т. ч. возбудителей кандидозов и дерматофитий.
- ✓ Возбудителей особо опасных инфекций – чумы, туляремии, холеры.

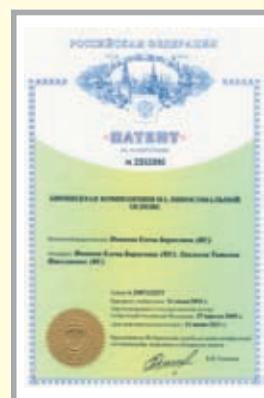
ПРЕИМУЩЕСТВА

- ✓ **На основе нанотехнологий.**
- ✓ **Не содержит спиртов.**
- ✓ Надёжная защита от инфекций.
- ✓ Бережная забота о коже.
- ✓ Гарантированный антимикробный эффект в течение 3-х часов.
- ✓ Не вызывает аллергических реакций.
- ✓ Не оказывает отрицательного воздействия на окружающую среду.
- ✓ Пожаро- и взрывобезопасность при хранении.

Научно-производственный центр «ВЕЛТ» представляет ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕЕ СРЕДСТВО – КОЖНЫЙ АНТИСЕПТИК

САЛФЕТКА «ВЕЛТОСФЕР»

Свидетельство о гос. регистрации № 77.99.1.2.У.3115.5.10 от 12.05.2010 г.



НАЗНАЧЕНИЕ

- ✓ Обработка рук хирургов и других лиц, участвующих в проведении операций, приёме родов и др.
- ✓ Обработка кожи операционного поля.
- ✓ Обработка локтевых сгибов доноров и инъекционного поля.
- ✓ Гигиеническая обработка рук медицинского персонала в лечебно-профилактических учреждениях, персонала скорой медицинской помощи, работников лабораторий.
- ✓ Гигиеническая обработка рук работников детских дошкольных и школьных учреждений, учреждений соцобеспечения, работников парфюмерно-косметических предприятий, предприятий общественного питания и пищевой промышленности, объектов коммунальных служб.
- ✓ Обработка ступней ног с целью профилактики грибковых заболеваний.
- ✓ Частичная санитарная обработка кожных покровов представителей силовых ведомств, пациентов лечебно-профилактических учреждений, включая лежачих больных в отделениях гериатрического, онкологического профиля, хосписах, домах-интернатах, учреждениях социальной защиты; лиц, поступающих в приёмные отделения стационаров и социальных приютов.
- ✓ Гигиеническая обработка рук и кожных покровов населением в быту.

Патент № 2353395

Широкий спектр антимикробной активности в отношении:

- ✓ Бактерий, в т. ч. грамположительных и грамотрицательных, включая возбудителей внутрибольничных инфекций, туберкулёза.
- ✓ Вирусов, в т. ч. возбудителей парентеральных гепатитов, ВИЧ-инфекции, нового пандемического вируса гриппа А/Н1N1/ («свиного» гриппа).
- ✓ Патогенных грибов, в т. ч. возбудителей кандидозов и дерматофитий.
- ✓ Возбудителей особо опасных инфекций – чумы, туляремии, холеры.

ПРЕИМУЩЕСТВА

- ✓ **На основе нанотехнологий.**
- ✓ **Не содержит спиртов.**
- ✓ Надёжная защита от инфекций.
- ✓ Бережная забота о коже.
- ✓ Гарантированный антимикробный эффект в течение 3-х часов.
- ✓ Не вызывает аллергических реакций.
- ✓ Не оказывает отрицательного воздействия на окружающую среду.
- ✓ Пожаро- и взрывобезопасность при хранении.

ГДЕ КУПИТЬ

г. Москва: «Торговый Дом «ВЕЛТ», ул. Нежинская, д. 14, корп. 2. Тел./факс: (495) 739-56-42 (43, 44).

Единый федеральный бесплатный номер: 8-800-100-39-51. E-mail: sales@velt-npo.ru.

Приглашаем к сотрудничеству

Уважаемые коллеги! Уважаемые читатели! Высшая аттестационная комиссия Министерства образования и науки Российской Федерации включила научно-практический рецензируемый журнал «Нанотехнологии и охрана здоровья» в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание учёных степеней доктора и кандидата наук (редакция от 17.06.2011). Кроме того, наш журнал включён в российские и международные системы цитирования в Интернете.

Продолжая сложившиеся традиции, редакция журнала «Нанотехнологии и охрана здоровья» приглашает к сотрудничеству авторов. Ваши научные статьи, аналитические и информационные публикации, ориентированные на специалистов различных профилей, связанных по роду деятельности с решением проблем разработки и внедрения инновационных технологий, применения нанотехнологий и наноматериалов, будут способствовать развитию отечественной медицинской промышленности, продвижению инноваций, в том числе и в области современных нанотехнологий, укреплению национальной безопасности нашей страны. Они смогут оказать содействие государственным органам управления в проведении экспертиз и иных видов оценок, в разработке стандартов, регламентов, методик, инструкций, рекомендаций, программ и проектов законодательных документов.

Правила для авторов статей

- Статья (научная, обзорная, популярная, проблемная) предоставляется в редакцию в напечатанном и электронном вариантах. Объём статьи не должен превышать 25 000 знаков, к статье прилагается аннотация объёмом 250–300 знаков на русском и английском языках.
- В начале статьи указывается название, сведения об авторах (учёные звания и степени, должность, фамилия, инициалы, название учреждения или организации). Работа должна быть подписана всеми авторами. На отдельном листе указываются: адреса организаций или физических лиц, контактные телефоны, факс, фамилия, имя, отчество контактного лица. Авторам статьи (если их не более двух) предлагается также предоставить данные о себе (включая цветное фото) и своей профессиональной деятельности для размещения в разделе «Об авторе»: место и дата рождения, важные события и этапы жизненного пути, особые заслуги, награды и др.
- Научные статьи оформляются в соответствии с «Едиными требованиями к рукописям, предоставляемым в биомедицинские журналы» (1997). Рукописи авторам не возвращаются.
- Плата за опубликованные рукописи аспирантов не взимается.
- В электронном виде статья предоставляется в форматах DOCX, DOC, TXT или RTF, кегль 12 через 1,5 интервала, шрифт Times New Roman Cyr, формулы набираются в программе Math Type. Графики, диаграммы и рисунки предоставляются отдельными файлами.

НАШИ ПАРТНЁРЫ



НПО «ВЭЛТ»



Национальный союз
«Медико-биологическая защита»



НИИ биоцидов
и нанобиотехнологий

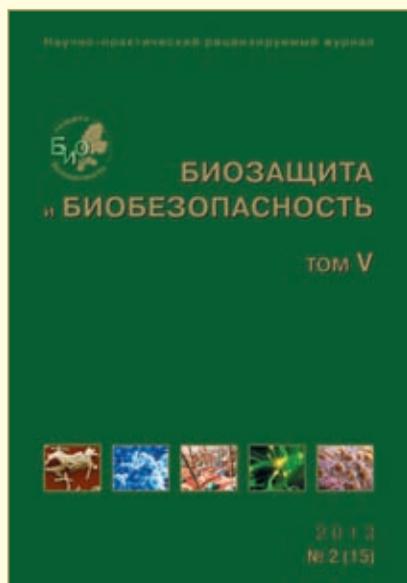


Научно-технический
центр «Экспертиза»

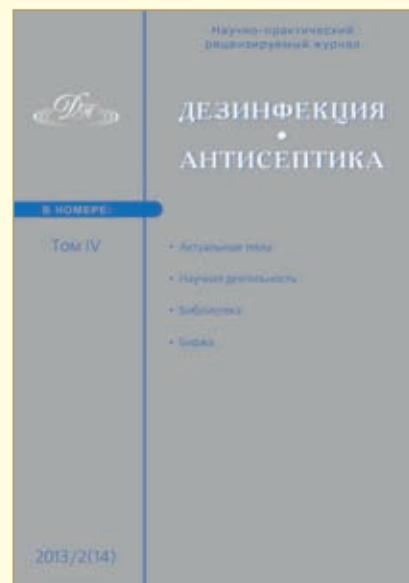
ПРЕДСТАВЛЯЕМ ВАШЕМУ ВНИМАНИЮ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЕ ЖУРНАЛЫ



Нанотехнологии и охрана здоровья



Биозащита и биобезопасность



Дезинфекция. Антисептика



Прикладная энтомология



Прикладная токсикология



Прикладная
аналитическая химия



Прикладная микробиология

ВАШИ НОВЫЕ ЗНАНИЯ — ЭТО ВАШ ПРОФЕССИОНАЛЬНЫЙ РОСТ И УСПЕХ!

СРЕДИ НАШИХ ПОДПИСЧИКОВ

Федеральные государственные учреждения – поликлиники УДП РФ
Руководители крупнейших производственных предприятий России
Госпитали, здравницы и санатории
Медицинские вузы
Крупнейшие образовательные учреждения России
Поставщики и производители медицинского оборудования
Фармацевтические компании
Частные медицинские центры и клиники. Диагностические центры
Институты РАМН и МЗ России
Крупнейшие коммерческие косметологические центры России
Государственные и коммерческие роддома
Многопрофильные центры
Химико-технологические центры и производственные объединения
Производители и потребители дезинфицирующих средств
Дезинфекционные региональные станции и центры
Институты и научно-производственные компании в сфере нанотехнологий
Производители, поставщики и потребители наноматериалов
Производители детского питания, экологически чистых продуктов
Производители бытовых электроприборов для экологии дома и охраны здоровья
Производители ортопедического оборудования, оптики, поливитаминов, гомеопатии
Страховые медицинские компании
Производители косметических и медицинских химических препаратов

Крупные косметические салоны, салоны красоты
Спортивные центры, крупные фитнес-центры
Консультационные компании и центры
Диспансеры
Поликлиники
Аптеки
Центры планирования семьи
Женские консультации
Производители экологической посуды, предметов для дома и офиса
Крупнейшие экспоцентры России и СНГ
Фитоцентры
Травмпункты
Ветеринарные клиники и центры
Крупные торговые центры
Крупные производители сельскохозяйственных культур, продукции животноводства
Медицинские энтомологические центры и организации
Энтомологические сообщества и центры
Организации биологической направленности
Производители токсичных веществ и материалов
НИИ профессиональных заболеваний
Крупнейшие предприятия химической промышленности
Производители органических удобрений
Производители лабораторного оборудования, реагентов, химических препаратов

Специальные корреспонденты и редакторы журнала «Нанотехнологии и охрана здоровья» всегда готовы взять у Вас интервью по актуальным вопросам тематики издания.

Уважаемые рекламодатели!

Все журналы нашего Издательского Дома ориентированы на читательскую аудиторию, которая по роду своей деятельности интересуется достижениями науки, инновационными технологиями и продуктами, а также их разработчиками.

На стр. 6 и 7 электронной версии журнала представлен список ведомств и учреждений, в которые осуществляется бесплатная обязательная рассылка журнала.

Вашей продукцией и услугами могут заинтересоваться руководители различных медицинских и других учреждений, крупных компаний, представители научного сообщества и самых разнообразных экономических сфер, общественные организации, население.

Коммерческий отдел Издательского Дома «ВЕЛТ» внимательно отнесётся к Вашей продукции, подберёт индивидуальный план размещения рекламы и информационных статей согласно Вашим маркетинговым планам и нашим широким возможностям: восемь научных журналов, книги и интернет-ресурсы.

По вопросам размещения информации обращайтесь в отдел рекламы по телефонам: +7 (495) 739-56-42 (43, 44) Мобильный телефон: +7 (909) 163-25-37 Электронная почта: red1@velt-media.ru, union@velt-media.ru

СТОИМОСТЬ ЖУРНАЛА	Один номер – 335,00 руб.	Полугодие – 670,00 руб.	Год – 1 340,00 руб.
--------------------------	--------------------------	-------------------------	---------------------

Извещение

Форма № ПД-4

ООО «Издательский Дом «ВЕЛТ»

(наименование получателя платежа)

7 7 2 9 5 9 1 5 7 0 4 0 7 0 2 8 1 0 0 0 0 0 0 0 0 4 7 2 7 0

(ИНН получателя платежа)

(номер счета получателя платежа)

в банк ВТБ 24 (ЗАО), г. Москва БИК 044525716

(наименование банка получателя платежа)

Номер кор./сч. банка получателя платежа 3010181010000000000716

Журнал «Нанотехнологии и охрана здоровья»

(наименование платежа)

(номер лицевого счета (код) плательщика)

Ф.И.О. плательщика _____

Адрес плательщика _____

Сумма платежа _____ руб. _____ коп. Сумма платы за услуги _____ руб. _____ коп.

Итого _____ руб. _____ коп. « _____ » _____ 20 ____ г.

С условиями приема указанной в платежном документе суммы, в т.ч. с суммой взимаемой платы за услуги банка, ознакомлен и согласен.

Подпись плательщика _____

Кассир

ООО «Издательский Дом «ВЕЛТ»

(наименование получателя платежа)

7 7 2 9 5 9 1 5 7 0 4 0 7 0 2 8 1 0 0 0 0 0 0 0 0 4 7 2 7 0

(ИНН получателя платежа)

(номер счета получателя платежа)

в банк ВТБ 24 (ЗАО), г. Москва БИК 044525716

(наименование банка получателя платежа)

Номер кор./сч. банка получателя платежа 3010181010000000000716

Журнал «Нанотехнологии и охрана здоровья»

(наименование платежа)

(номер лицевого счета (код) плательщика)

Ф.И.О. плательщика _____

Адрес плательщика _____

Сумма платежа _____ руб. _____ коп. Сумма платы за услуги _____ руб. _____ коп.

Итого _____ руб. _____ коп. « _____ » _____ 20 ____ г.

С условиями приема указанной в платежном документе суммы, в т.ч. с суммой взимаемой платы за услуги банка, ознакомлен и согласен.

Подпись плательщика _____

Квитанция

Кассир

ВЫ МОЖЕТЕ ОФОРМИТЬ ПОДПИСКУ НА ЖУРНАЛЫ ИЗДАТЕЛЬСКОГО ДОМА «ВЕЛТ» ЛЮБЫМ УДОБНЫМ ДЛЯ ВАС СПОСОБОМ

Через Почту Российской Федерации

- Каталог Агентства «Роспечать» «Газеты. Журналы».....подписной индекс 22825
- Объединённый каталог «Пресса России»подписной индекс 12968

Через альтернативные подписные агентства

- ООО «Интер-Почта» +7 (495) 500-00-60
- НПО «Информ-система» +7 (499) 789-45-55
- ООО «Информнаука» +7 (495) 787-38-73
- ООО «ИнформСервис» +7 (495) 651-82-19
- ГК «Урал-Пресс»..... +7 (495) 789-86-36
- ООО «Деловые издания» +7 (495) 685-59-78

На интернет-ресурсах

- **www.nasha-pressa.de** +7 (10 49241) 515-87-60
Читатели, проживающие в Германии, странах Европы и других странах,
могут подписаться в режиме online
- **www.presscafe.ru** Интернет-магазин «PRESS cafe» +7 (495) 921-25-52
- **www.delpress.ru** Сайт «Агентства подписки «Деловая пресса» ... +7 (495) 665-68-92
- **www.read.ru** Интернет-магазин «Read.ru» +7 (495) 780-07-08
Бесплатно для регионов..... +7 (800) 333-07-08
- **www.mega-press.ru** Сайт агентства «Юнипресс» +7 (499) 500-97-08
- **www.pressa.ru** Сайт агентства «Пресса.ру» +7 (495) 722-51-00
- **www.periodicals.ru** ЗАО «МК-Периодика» +7 (495) 672-70-12

Электронная версия изданий

- **www.elibrary.ru** Научная электронная библиотека +7 (495) 935-01-01
- **www.eastview.com** Ист Вью Информэйшн Сервисез +7 (495) 777-65-57
- **www.biblioclub.ru** Университетская библиотека online +7 (495) 334-46-65
- **www.rucont.ru** Агентство «Книга–Сервис» +7 (495) 680-99-76
- **www.iprbookshop.ru** Iprbooks..... +7 (800) 555-22-35
- **www.ibooks.ru** ЗАО «Айбукс» +7 (812) 703-73-72
- **www.e.lanbook.ru** ООО «Издательство Лань» +7 (812) 412-54-93

Через редакцию

Подписаться на все журналы можно с любого номера и на любой срок

- Редакция Издательского Дома «ВЕЛТ»..... +7 (495) 739-56-42 (43, 44)

Вы всегда можете приобрести журналы в точках продаж периодики и книг в научных и учебных учреждениях, государственных структурах и в коммерческих организациях, занимающихся вопросами здоровья.

По вопросам, связанным с подпиской, обращайтесь в отдел распространения по телефонам: +7 (495) 739-56-42 (43,44); 7 (963) 621-71-86; +7 (909) 163-25-37,
или по e-mail: red3@velt-media.ru, union@velt-media.ru

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи и массовых коммуникаций.
Свидетельство о регистрации: ПИ № ФС 77-35505 от 4 марта 2009 г.
Периодичность выхода: ежеквартально. Номер подписан в печать 20.12.2013 г. Тираж 1000 экз.
Отпечатано в ООО «Тверская Городская Типография».

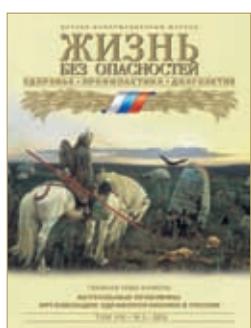
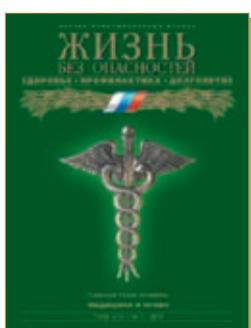
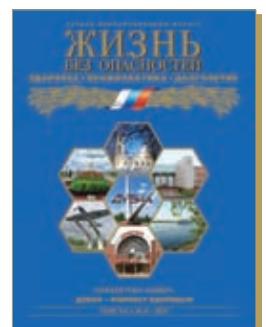
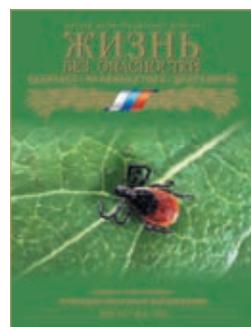
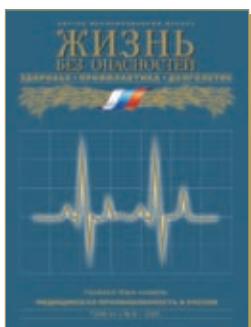
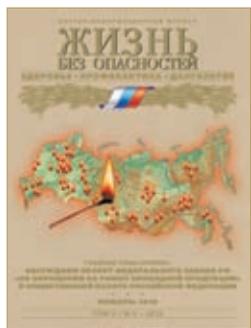
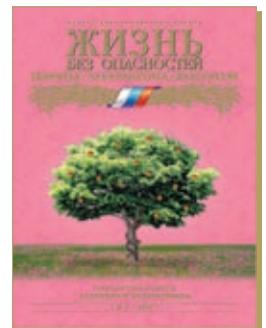
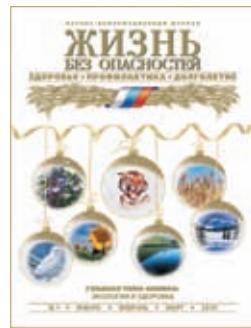
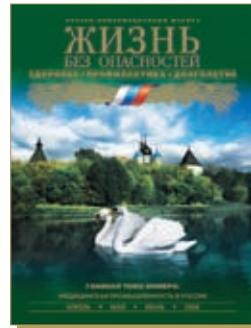
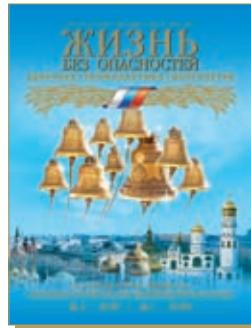
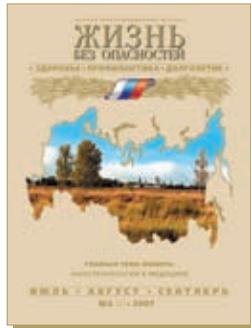
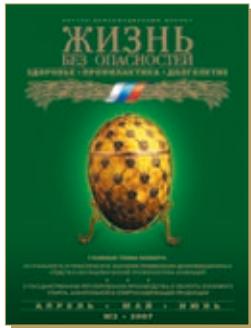
Адрес редакции: 119517, г. Москва, ул. Нежинская, д. 14, корп. 2.
Тел.: +7 (495) 739-56-42 (43, 44); +7 (495) 449-20-45; +7 (909) 163-25-37.
E-mail: red1@velt-media.ru, union@velt-media.ru

© «Нанотехнологии и охрана здоровья», ISSN 2076-4804. © Издательский Дом «ВЕЛТ»

Перепечатка материалов без разрешения редакции запрещена. При использовании и цитировании материалов издания ссылка обязательна. Мнение редакции может не совпадать с точкой зрения авторов. Редакция не несёт ответственности за достоверность информации, содержащейся в рекламных и авторских материалах. Все услуги и товары, рекламируемые в издании, подлежат государственной регистрации. Рукописи не возвращаются.

Все журналы Издательского Дома «ВЕСТ» выпускаются для Вас, дорогие читатели и коллеги!

Научно-информационный рецензируемый журнал
«Жизнь без опасностей. Здоровье. Профилактика. Долголетие»



Ваш любимый профессиональный журнал



НИИ БНТ
www.nii-bnt.ru

НТЦ
“ЭКСПЕРТИЗА”
“EXPERTIZE”



www.ntc-expertize.ru



www.velt-media.ru



www.velt-npo.ru



www.ns-mbz.ru

ISSN 2076-4804



9 772076 480772 >