

Федеральное государственное автономное
Образовательное учреждение высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Кафедра Медицинской биологии

УТВЕРЖДАЮ Заведующий кафедрой

_____ Е. И. Шишацкая

« _____ » _____ 2018 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01-Биология

Мембранотропные эффекты полимерных наномицелл в кратковременной
культуре эритроцитов

Руководитель _____ д.б.н Шишацкая Е.И.

Выпускник _____ Нихаенко В.И.

Красноярск 2018

СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	4
1. Литературный обзор	6
1.1 Безопасность наночастиц	6
1.2 Биологические эффекты, связанные с размерами наночастиц.....	7
1.3 Репродуктивная токсичность наночастиц	8
1.4 Влияние воздействия наночастиц кремнезема во время беременности.....	8
1.5 Распределение наночастиц в грудном молоке, влияние серебряных наночастиц у младенцев	9
1.6 Влияние воздействия наночастиц кремнезема у мужчин	10
1.7 Проектирование безопасных наночастиц	11
1.8 Ассоциации между физико-химическими свойствами и биологическими эффектами наночастиц	11
1.9 Биомаркеры для прогнозирования биологических эффектов наночастиц	12
1.10 Вклад наночастиц в начало заболевания	12
1.11 Определение реального мирового воздействия наночастиц	13
1.12 Системы доставки лекарств	14
1.13 Передовые наносистемы доставки лекарств и предложение к их классификации	
1.14 Примеры аднасс	21
2. Материалы и методы	24
2.1 Выделение и культивирование эритроцитов.....	24
2.2 Определение жизнеспособности эритроцитов с помощью мтт-теста.....	26
2.3 Определение осмотической резистентности эритроцитов	26
2.4 Морфологический анализ.....	27
2.5 Статистический анализ	27
3. Результаты и обсуждения.....	29
3.1 Морфологический анализ эритроцитов в культуре <i>in vitro</i> Ошибка! Закладка не определена.	
3.2 Определение жизнеспособности эритроцитов с помощью мтт-теста Ошибка! Закладка не определена.	
3.3 Оценка осмотической резистентности.. Ошибка! Закладка не определена.	
Заключение	Ошибка! Закладка не определена.

Список использованных источников	29
--	----

ВВЕДЕНИЕ

В современной медицине широко распространены традиционные системы доставки лекарств, такие как пероральный прием внутрь и внутрисосудистая инъекция. Лекарство распространяется по органам и тканям через системное кровообращение. Для большинства терапевтических агентов только небольшая часть лекарственного средства достигает органа-мишени. Например, при химиотерапии всего лишь 1% вводимого препарата достигает опухоли[1]. В целом, для традиционных систем доставки характерно использование высоких доз лекарственных препаратов и выраженные побочные эффекты.

Новые перспективные системы таргетной доставки лекарств (Targeteddrugdelivery) направлены на то, чтобы сконцентрировать лекарство в тканях-мишенях и снизить относительную концентрацию лекарственного средства в других органах и тканях [2]. Системы «Targeteddrugdelivery» повышают эффективность лекарственного препарата и одновременно снижают побочные эффекты.

В настоящее время активно развивается инжиниринг таргетных систем на основе наночастиц. Таргетная наносистема состоит из: наночастицы, лекарственного агента и таргетной молекулы. Таргетная молекула – это, как правило, моноклональное антитело к мембранному антигену, который специфически экспрессируется в определенных типах клеток. В качестве таргетных молекул могут использоваться и ДНК-аптамеры.

В качестве наноматериалов для систем таргетной доставки используются полимерные наночастицы, наномицеллы, липосомы, наночастицы металлов, углеродные нанотрубки и др.

Одна из ключевых проблем в инжиниринге таргетных наносистем связана с собственной биологической активностью наночастиц. В системах *invitro* и *invivo* показано, что наночастицы активируют процессы свободно-радикального окисления, индуцируют эпигеномные перестройки и обладают

генотоксичностью. В настоящее время наночастицы рассматриваются как факторы риска развития различных заболеваний человека.

Еще одной важной особенностью наночастиц является зависимость их биологической активности от размеров, формы и химических групп, которые экспонированы на их поверхности, свойств материала, из которого изготовлены наночастицы [3].

В настоящее время инжиниринг таргетных наносистем на основе биodeградируемых биополимеров является одним из наиболее перспективных направлений в технологиях доставки лекарственных средств.

В клетке биополимеры таких таргетных систем подвергаются ферментативной деградации в системе эндосомы-лизосомы. Продукты биodeградации не цитотоксичны и включаются в клеточный метаболизм.

К числу таких перспективных биodeградируемых биополимеров относится полигидрооксибутират, который синтезируется бактериями различных родов: *Azotobacter*, *Hydrogenjmonasi* др. Мономеры в ПГБ соединены через эфирную связь. В биологических системах эфирная связь разрушается эстеразами. К образующимся мономерам присоединяется CoA. Активированный бутират (бутират-CoA) включается в метаболизм жирных кислот в митохондриях. Бутирил-CoA окисляется до двух молекул ацетил-CoA, которые в цикле Кребса метаболизируются до CO₂ и H₂O [4].

В связи с этим целью исследования было изучение биологической активности наномицелл из ПГБ *invitro* в кратковременной культуре эритроцитов.

Были поставлены следующие задачи:

1. Изучить влияние наноразмерных мицелл из ПГБ на процессы трансформации эритроцитов в аномальные морфологические фенотипы.
2. Определить влияние наномицелл из ПГБ на жизнеспособность эритроцитов.
3. Оценить влияние наномицелл на осмотическую резистентность клеток.

1. Литературный обзор

1.1 Безопасность наночастиц

Хотя наночастицы обладают многими полезными свойствами, существуют опасения, что эти же свойства могут увеличить токсичность наночастиц по сравнению с сыпучим материалом [5]. Действующие законы и положения, касающиеся безопасного использования химических веществ, относятся только к структурным формулам химического вещества. Поэтому, если объемный или субмикронный материал считается безопасным, наноразмерный материал также считается безопасным. Это означает, что имеется небольшая информация о конкретной безопасности наночастиц, поэтому срочно необходимы анализы рисков на основе наночастиц. Кроме того, мы должны выяснить не только биологические эффекты наночастиц, но и то, как их физико-химические свойства, такие как размер частиц и поверхностные свойства, влияют на их кинетику *in vitro* и *in vivo*.

Проводились исследования биологических эффектов и токсичности наночастиц, которые в целом называют «исследованиями в области нанозащиты», где проводят анализ абсорбции, распределения, метаболизма, экскреции и токсичности, (ADMET) качественно и количественно определяют кинетику наночастиц *in vitro* и *in vivo* и выявляют любые опасности, создаваемые наночастицами для здоровья человека и окружающей среды. Некоторые из исследований на мышах выявили важную информацию. Например, наночастицы аморфного кремнезема (диаметр менее 100 нм), в отличие от объемного материала, могут проникать в системную циркуляцию через кожу и слизистую оболочку носа или полости рта и распределяться по нескольким тканям, таким как печень или мозг [6]. Также сообщалось, что у мышей кремниевые наночастицы, диаметром 70 нм, могут пересекать плацентарный барьер и мигрировать к мозгу и печени плода, [7] и что системное введение наночастиц кремнезема ухудшает свертывание крови, индуцирует диссеминированную внутрисосудистую коагуляцию и повреждает

плаценту, что приводит к внутриутробному ограничению роста и нейротоксичности развития у плода [8].

1.2 Биологические эффекты, связанные с конкретными размерами наночастиц

Как правило, биологические эффекты наночастиц считаются результатом увеличения проникновения ткани из-за их уменьшенного размера частиц по сравнению с объемным материалом. То есть биологические эффекты наночастиц возрастают по мере уменьшения размера частиц. Однако сообщалось, что биологические эффекты наночастиц также могут уменьшаться по мере уменьшения размера частиц и что эти изменения в биологических эффектах происходят только с некоторыми материалами. Например, углеродные нанотрубки являются канцерогенными, когда размер частиц составляет 50 нм, но не тогда, когда он составляет 145 или 15 нм [9]. Поскольку биологические эффекты наночастиц не могут быть полностью объяснены только относительным размером частиц, сравнительный анализ микрочастиц и наночастиц недостаточен для оценки биологических эффектов наночастиц, поскольку такие сравнения могут привести к чрезмерной или недооценке рисков.

Недавно исследовали взаимосвязь между размером частиц и острой токсичностью внутривенно вводимых наночастиц кремнезема у мышей (в представленных). Обнаружили, что тяжесть нескольких острых токсических веществ, таких как острая летальная токсичность или повреждение печени, возрастает по мере уменьшения размера частиц [10]. Тем не менее, обнаружили, что изменение температуры прямой кишки (один из параметров острой токсичности) имела колоколообразное распределение, где наночастицы диоксида кремния с большим или меньшим диаметром, чем среднее, постепенно оказывали меньшее влияние на температуру прямой кишки, что еще раз доказывает, что не все токсичности, связанные с воздействием наночастиц, следуют парадигме, согласно которой токсичность

возрастает по мере уменьшения размера частиц. Таким образом, анализ безопасности наночастиц не только должен исследовать токсичность, связанную с частицами конкретных размеров, но также должен исследовать, как размер частиц связан с серьезностью токсичности [11].

1.3 Репродуктивная токсичность наночастиц

Младенцы особенно уязвимы для воздействия наночастиц, поскольку их защитные механизмы, такие как гематоэнцефалический барьер и иммунная система, еще не полностью разработаны. Наночастицы могут быть токсичными для плодов и младенцев при концентрациях, которые не имеют отрицательных эффектов у взрослых. Эпидемиологические исследования у женщин показали, что повторное воздействие твердых частиц с диаметром 2,5 мкм или менее во время беременности или лактации увеличивает риск развития у детей расстройства аутистического спектра, а исследования у мужчин показали, что повторное воздействие вещества с диаметром 2,5 мкм или менее может снизить подвижность сперматозоидов [12]. Эти результаты свидетельствуют о том, что важно оценивать влияние наночастиц не только на здоровье детей, но и на потенциальных родителей [13].

1.4 Влияние воздействия наночастиц кремнезема во время беременности

Несколько групп изучали токсичность наночастиц во время беременности у мышей [14]. Сообщалось, что мыши, внутривенно облученные наночастицами кремнезема диаметром 70 нм, развивали большее внутриутробное ограничение роста и плацентарное повреждение, чем те, которые подвергались воздействию частиц диоксида кремния с диаметром более 100 нм, что указывает на то, что осложнения беременности могут возникать в результате действия на организм наночастиц меньшего размера [15].

Считается, что движение наночастиц через плацентарный барьер вызывает осложнение беременности [16]. Гепарин, который предотвращает активацию комплемента и является фактором роста плаценты, предотвращает снижение массы плода, вызванное внутривенным введением беременным мышам наночастиц кварца диаметром 70 нм. Это указывает на то, что осложнения, связанные с воздействием наночастиц кремнезема с диаметром 70 нм, являются результатом повышенной коагуляции, повышенной активации комплемента и большой плацентарной дисфункции [17]. Сообщалось также, что наночастицы кремнезема увеличивают экспрессию нуклеотидсвязывающей олигомеризации доменного семейства рецепторов семейства пуринов, содержащегося у беременных мышей; нокаутные мыши не проявляли плацентарного воспаления или не увеличивали продукцию реакционноспособных видов кислорода, что свидетельствует о том, что осложнения, вызванные кварцевыми наночастицами, связаны с воспалением [18]. Кроме того, известно, что внутривенное воздействие наночастиц кремнезема с диаметром 70 нм, увеличивает количество нейтрофилов у мышей [19], что является первой линией защиты от микробной инфекции во время острого воспаления [20]. Известно, что наночастица кремнезема индуцирует нейтрофилию у беременных мышей, что указывает на то, что нейтрофилы могут играть важную роль в индукции осложнений во время беременности.

1.5 Распределение наночастиц в грудном молоке, влияние серебряных наночастиц у младенцев

Грудное вскармливание - важная форма контакта между матерью и ребенком, оно снижает риск заболеваемости и развития астмы и диабета [21], грудное молоко является основным путем воздействия химических веществ у новорожденных. Химические вещества, принимаемые матерью, такие как полихлорированные дифенилы и диоксины, могут поступать в грудное молоко, что приводит к непреднамеренному воздействию

на младенца [22]. Исследования также необходимы для изучения воздействия на младенцев наночастиц в концентрациях, которых недостаточно для того, чтобы вызвать биологические эффекты у матери, такие как повреждение молочной железы.

Чтобы выяснить физико-химические свойства, которые определяют, распределены ли наночастицы в грудном молоке, группа изучила влияние на мышат наночастиц серебра через грудное молоко [23]. Серебряные наночастицы обладают мощной антибактериальной активностью и используются при производстве многих коммерческих продуктов, таких как пищевая посуда, одежда и антибактериальные спреи. После перорального или внутривенного введения наночастиц серебра, обнаружили, что наночастицы серебра распределялись среди мышат через грудное молоко и что это накопление наночастиц в грудном молоке может быть прямым результатом физико-химических свойств, таких как размер частиц или наличие поверхностных модификаций. Кроме того, хотя обнаружили, что перорально обработанные наночастицы серебра диаметром 10 нм, распределенные потомству через грудное молоко, мигрировали в мозг, не наблюдали никаких эффектов на эмоциональную когнитивную функцию, даже когда самки подвергались воздействию концентрированных наночастиц [24].

1.6 Влияние воздействия наночастиц кремнезема у мужчин

Группа также изучила репродуктивную токсичность наночастиц у мужчин. Эпидемиологические исследования показали, что воздействие твердых частиц с диаметром 2,5 мкм или менее снижает подвижность сперматозоидов [25], кроме того, эксперименты на животных показали, что инъецированные наночастицы серебра (20 и 200 нм) уменьшают количество сперматозоидов, увеличивают скорость развития сперматозоидов и индуцируют ДНК повреждения в зародышевых клетках [26]. В дополнение к предыдущим сообщениям о том, что некоторые наночастицы мигрируют к яичкам, [27] выяснилось, что внутривенно введенные наночастицы диоксида

кремния диаметром 70 нм пересекают барьер крови и распространяются в зародышевых клетках [28]. Также наблюдали накопление наночастиц кремнезема в клетках Сертоли. Трансцитоз-это один из механизмов, благодаря которому кремниевые наночастицы после поглощения клетками могут переноситься через барьер крови. Недавние сообщения показали, что мелкие частицы, такие как наночастицы диоксида титана, ослабляют щелевые соединения, воздействуя на структурные белки адгезивных соединений между клетками, такими как сосудистый эндотелиальный кадгерин [29]. Таким образом, наночастицы кремнезема могут мигрировать к яичкам за счет увеличения проницаемости эпителия.

1.7 Проектирование безопасных наночастиц

Настоятельно необходимы новые средства для разработки безопасных наночастиц и оценки их токсичности. В настоящее время накапливается информация, связанная с разработкой безопасных наночастиц. Например, выяснение механизмов, лежащих в основе их биологических эффектов и разработка. Для улучшения информации, касающейся безопасности наночастиц, проводятся несколько текущих качественных и количественных исследований воздействия наночастиц [30].

1.8 Ассоциации между физико-химическими свойствами и биологическими эффектами наночастиц

Ранее сообщалось, что поверхностная модификация наночастиц кремнезема, такая как добавление аминогрупп или карбоксильных групп, является полезным средством для снижения их острой летальной и репродуктивной токсичности у мышей и предотвращения их активации собственного каскада коагуляции [31]. Кроме того, выяснили, что переход наночастиц в грудное молоко зависит от их физико-химических свойств; более крупные наночастицы серебра более легко мигрировали в грудное молоко, чем меньшие наночастицы, и это количество зависело от состава и характеристик

поверхности наночастиц [32]. Эта информация об ассоциациях между физико-химическими свойствами и биологическими эффектами наночастиц, может привести к осветлению регуляторных факторов, которые определяют биологические эффекты или *in vivo* / *invitro* кинетику наночастиц.

В биологических жидкостях наночастицы взаимодействуют с биологическими компонентами через слой, называемый короной белка, который образуется вокруг каждой наночастицы, состав которой зависит от физико-химических характеристик наночастиц [33]. Предполагается, что корона белка дает наночастицы с биологической идентичностью, которая определяет, где они будут локализованы и какие биологические эффекты они будут иметь. Поэтому модуляция белой короны представляет собой потенциальное средство повышения безопасности наночастиц.

1.9 Биомаркеры для прогнозирования биологических эффектов наночастиц

Ученые пытаются установить методы оценки биологических эффектов наночастиц у животных путем разработки биомаркеров с использованием подхода на основе протеомики [34]. Точное прогнозирование биологических эффектов наночастиц затруднено, поскольку они вызывают широкий спектр биологических эффектов; поэтому ученые также пытаются разработать биомаркеры не только для белков, но и для биообразующих молекул, таких как микроРНК [35].

1.10 Вклад наночастиц в начало заболевания

Наночастицы могут играть важную роль в начале металлических аллергий [36]. Механизм, лежащий в основе развития аллергии на металлы, остается неясным, поскольку исследование сенсibilизации *invivo* затруднено.

1.11 Определение реального мирового воздействия наночастиц

Недавние качественные клинические исследования показали, что углеродные нанотрубки иногда присутствуют в легких у пациентов [37]. Кроме того, у людей было продемонстрировано пероральное всасывание частиц диоксида титана в фармацевтическом или пищевом продукте [38]. Поэтому важно выяснить связь между долговременным накоплением тканями наночастиц и началом заболевания. Учитывая, что воздействие наночастиц на здоровье человека может стать очевидным только после длительного воздействия, существует настоятельная необходимость начать сбор информации о влиянии на здоровье человека наночастиц в мире.

Обычные методы оценки, такие как просвечивающая электронная микроскопия или методы динамического светорассеяния, трудны для оценки количественных и физико-химических характеристик наночастиц. Поэтому ученые пытаются установить методику измерения, которая использует одночастичную индуктивно связанную плазменную масс-спектрометрию для количественного определения физико-химических характеристик наночастиц на основе металлов, которые, как известно, накапливаются в организме человека [39]. Хотя концентрации наночастиц в окружающей среде в настоящее время контролируются более строго, фактическое воздействие наночастиц на человека остается неясным [40]. Аналитический метод сочетает в себе преимущества двух традиционных методов оценки: количественного и селективного анализа элементов с помощью масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой, и оценки характеристик частиц с помощью динамического рассеяния света, этот метод будет обеспечивать не только средство идентификации наночастиц, но и средство быстрого и легкого определения реальных значений экспозиции.

1.12 Системы доставки лекарств

DDS определяется как технологическая формулировка или устройство, которое позволяет вводить терапевтическое вещество в организм и улучшает его эффективность и безопасность, контролируя скорость, время и место высвобождения лекарств в организме. Преимущества для создания систем нано-доставки основаны не только на их свойствах из-за их ограниченного размера, но и на способности контролировать следующее:

1. Ориентация органов или тканей.
2. Биохимическая защита препарата с повышенной стабильностью и меньшей токсичностью.
3. Системы наночастиц как инструменты для улучшения доставки лекарств и терапевтической эффективности.
4. Отсутствие неблагоприятных взаимодействий с биологическим окружением.
5. Влияние фармацевтических наук на здравоохранение: отражение последних 50 лет.
6. Длительный срок службы.
7. Системы наночастиц как инструменты для улучшения доставки лекарств и терапевтической эффективности.
8. Биоразлагаемость.
9. Системы наночастиц как инструменты для улучшения доставки лекарств и терапевтической эффективности.
10. Легкое и недорогое производство.
11. Длительный срок хранения.
12. Наномедицина (и) под микроскопом.

Фармакокинетический анализ, основанный на концепциях клиренса, обеспечивает количественную информацию о биораспределении, которая может быть связана с физико-химическими свойствами системы доставки,

особенно в наномасштабе. Модели *in vitro* и *in vivo* для изучения пероральной доставки наночастиц. На сегодняшний день разработаны различные системы доставки, включая липосомы, дендримеры и полимеры и носители лекарственных веществ в виде частиц. Доставка активных веществ или лекарств-кандидатов может быть улучшена с помощью продвинутых DDS, таких как ранее описанные, с использованием терапевтических коллоидных неорганических материалов.

Наносистемы доставки лекарств (DDnSs), такие как липосомы и дендримеры, составляют значительную часть нанотехнологий. Липосомы широко используются для улавливания терапевтических агентов, включая широкий спектр молекулы лекарственного средства и биоматериалов, таких как пептиды и олигонуклеотиды. Кроме того, часто предлагаются липосомные препараты для улучшения терапевтического действия лекарств, особенно для тех, которые используются против рака, для снижения токсичности и повышения эффективности и фармакокинетического профиля.

Амфифильные блок-сополимеры состоят из двух блоков разного поведения растворимости в воде, то есть гидрофобного и гидрофильного, являются широко изученным случаем. Асимметричные амфифильные блок-сополимеры самоорганизуются в водных средах с образованием мицеллярных структур и морфологий основной оболочки с мезоскопическим или наноскопическим узким диапазоном размеров (порядка 10-100 нм). Ядро образует внутреннюю часть частицы и создается путем агрегации нерастворимых (меньших) блоков, а корона, которая подвергается воздействию водной среды, производится растворимыми блоками. Наблюдалось также несколько различных агрегатных морфологий в зависимости от состава сополимера и физико-химических параметров дисперсии. Вышеупомянутые применения блок-сополимеров в наномедицине и фармацевтике приводят к более глубокому пониманию их самоорганизующихся свойств, которые в значительной степени определяют их потенциал применения. Например, наномасштабное свойство

самоорганизованной структуры позволяет легко поглощать клетки, в то время как подробная химическая структура сополимера и морфология определяют способность к загрузке лекарственного средства и способность полимерных наноструктур [41].

История дендримеров началась около 30 лет назад, и сегодня существует много видов, которые имеют сходную структуру. Дендримеры сильно отличаются от традиционных линейных полимеров. Как правило, их конструкции состоят из разветвленных ветвей, выходящих из ядра, наряду с четко определенным числом активных групп на их площади поверхности. Их уникальные структурные особенности обещают множество применений в области нанoeлектроники и датчиков, или они могут использоваться как носители активных веществ, лекарств, изоляционных материалов и трансфекционных агентов. Дендритная макромолекулярная структура состоит из центрального ядра, ветвящихся единиц и терминальных функциональных групп, которые могут быть модифицированы [42]. Благодаря своей точной архитектуре, дендримеры обладают преимуществом по сравнению с другими полидисперсными наночастицами, что обеспечивает больший контроль над их фармакодинамическим профилем, а в качестве транспортных средств для доставки лекарств они могут быть использованы либо для инкапсуляции биологически активных соединений, либо для их ковалентных или нековалентных прикреплений на периферии. Они также предлагают другие потенциальные преимущества, такие как продление времени циркуляции лекарственного средства, защита лекарственного средства от его окружения, повышение стабильности лекарственного средства. Существуют две хорошо известные стратегии синтеза дендримеров; дивергентная стратегия, введенная Фогтлом, Томалиа и Ньюкомем и сходящимся синтетическим путем, введенным Хоуком и Фреше.

Полимерсомы являются одной из самых интересных и универсальных архитектур среди различных самоорганизующихся систем доставки лекарств. Стабильность и способность загружать как гидрофильные, так и

гидрофобные молекулы делают их превосходными кандидатами для использования в качестве DDS. Они требуют определенных физико-химических параметров; особенно гидрофильного, к гидрофобному блочному соотношению сополимера с образованием везикулярных морфологий. Различные амфифильные сополимеры, а также их архитектуры демонстрируют различия в требовании соотношения гидрофильных и гидрофобных блоков с образованием полимеров с различными типами морфологий. С биофизической точки зрения полимеры, а также липосомы, можно рассматривать как интересные мембранные мимики, в то время как мембранные белки могут быть включены в такие биомиметические мембраны методами воссоздания, что приводит к так называемым протеополимерсомам. С другой стороны, амфифильные блок-сополимеры широко изучались в биомедицинских и фармацевтических применениях, начиная от передовых технологий с пролонгированным высвобождением до доставки лекарств. Усовершенствованные устройства доставки лекарств посредством самосборки амфифильных блок-сополимеров [43].

Твердые липидные наночастицы (SLN), введенные в 1991 году, представляют собой альтернативную систему носителей для традиционных коллоидных носителей, таких как; эмульсии, липосомы и полимерные частицы. SLN и новейшая категория наноструктурированных липидных носителей (NLC) сочетают преимущества традиционных систем (загрузочная способность и высвобождение лекарственного средства, особенно механизмы высвобождения лекарств), но избегают некоторых их основных недостатков. Подготовка, характеристика и физико-химические свойства твердых липидных наночастиц (SLN) и наноструктурированных липидных носителей (НЖК): их преимущества в качестве коллоидных систем носителей лекарств. Липидные наночастицы являются новыми системами доставки косметических средств и дермальных лекарственных средств. SLN и NLC характеризуются как наносодержащие носители из-за их полного биодegradации и их биосовместимой химической природы. Липидные

наночастицы являются новыми системами доставки косметических средств и дермальных лекарственных средств [44].

Кроме того, наногели представляют собой набухшие наноразмерные сети, состоящие из гидрофильных или амфифильных полимерных цепей. Наногель может содержать и защищать лекарственные и регулировать их высвобождение путем включения в полимерную сеть высокоаффинных функциональных групп, реагирующих на стимулы конформаций и биodeградируемых связей. Подобно другим наноразмерным DDS, наногели легко вводятся в жидкой форме для парентеральной доставки лекарств. Наномасштабный размер наногелей дает им высокую удельную площадь поверхности, которая доступна для дальнейшего биоконъюгации активных целевых агентов и макромолекул. Свойства высвобождения лекарственного средства, биораспределение и экскреция также могут быть модулированы путем корректировки размеров.

Растущий интерес к использованию неорганических наночастиц, которые в последнее время характеризуются как самолечение, в медицине объясняется уникальными оптико-электронными свойствами, зависящими от размера, формы и морфологии. Наночастицы золота, серебра и платины разработаны для терапевтических применений в отношении рака с точки зрения использования наночастиц как носителя доставки, так и терапевтических агентов.

Металлические наночастицы также представляют собой новый класс наночастиц с сильно перестраиваемыми оптическими свойствами, которые часто состоят из золота для биомедицинских применений. В течение последних двух десятилетий гравитационные способности нанонасосов золота, сферических наночастиц с сердечниками из двуокиси кремния и золотыми раковинами привлекли огромное внимание, поскольку наночастицы стали многообещающим инструментом для лечения рака и повышения биоизображения [45].

Использование полупроводниковых квантовых точек (или

полупроводниковых нанокристаллов), которые синтезируются ионами металлов и коллоидными стабилизаторами, в биологическом зондировании и маркировке и в медицинских применениях, продолжает расти с каждым годом. Текущие и прогнозируемые применения включают использование в качестве флуоресцентных меток для клеточной маркировки внутриклеточных сенсоров, агентов глубокой ткани и опухоли, сенсбилизаторов для фотодинамической терапии, поскольку химия их поверхности расширяет их использование в биологических применениях, снижает их цитотоксичность. В последнее время интерес был вызван их использование в качестве векторов для изучения доставки лекарств, опосредованных [46]. Согласно недавней литературе, наносферы уже внедрены в качестве универсальной платформы, которая может быть принята для противораковых лекарств и целевых специфических применений и может быть объединена с клинически новым методом целенаправленной терапии. Открытые многостенные углеродные нанотрубки (УНТ) с магнитными наночастицами, инкапсулированные в их графитовые стены, были изготовлены для биомедицинских и фармацевтических применений.

1.13 Передовые наносистемы доставки лекарств и предложение к их классификации

Свойства идеальной доставки лекарственного средства или биомедицинского вектора являются структурным контролем над размером и формой грузового пространства с лекарственным средством или визуализирующим агентом, биосовместимой, нетоксичной полимерной / подвесной функциональностью и точными, наномасштабируемыми и / или строительными свойствами с высоким лекарственным средством или возможности для работы с изображениями. С фармакокинетической точки зрения идеальный DDS представляет собой хорошо определенную структуру и / или модифицируемую поверхность для функциональных групп, нацеленных

на клетки. Соответствующая клеточная адгезия, эндоцитоз и внутриклеточная торговля наночастицами могут позволить терапевтическую доставку или визуализацию в цитоплазме или ядре. Приемлемая биоэлиминация или биodeградация и контролируемое или инициируемое высвобождение лекарственного средства являются одними из преимуществ нановекторов.

Основными достижениями таких систем являются возможность контролировать размер, структуру и морфологию наноразрядки, а также возможность интеграции многофункциональных функций в одно наноустройство или сложную наносистему и, следовательно, системные коллоидные свойства в различных дисперсионных средах с помощью большого разнообразия физико-химических параметров, таких как химический состав, концентрация и температура [47].

Недавно сообщалось о модуляторной системе липосомного контролируемого высвобождения (MLCRS) комбинированной липосомальной и дендримерной технологии, включающей противоопухолевое лекарственное средство доксорубин. Doxorubicin-Pamamdendrimer, связанный с липосомами и цитотоксическими исследованиями против линий раковых клеток. Новые химерные передовые нанотехнологические препараты (Chi-aDDnSs) в качестве носителей доксорубина [48].

Недавно группа профессора Деметсосу классифицировала нанопереходы MLCRS в гибридных и химерных и характеризовалась как передовые наносистемы доставки лекарств (aDDnSs). Доклинические исследования показали, что aDDnSs могут влиять на фармакокинетический профиль встроенной биоактивной молекулы и, следовательно, изменять ее абсорбцию, биораспределение, метаболизм и профиль экскреции. aDDSS можно охарактеризовать как смешанные наносистемы из-за сочетания различных в природе бионаноматериалов, используемых для биомиметической доставки. Интерес к таким системам связан с возможностями базового понимания биологических поведенческих мотивов, поскольку биологические

системы широко используют смешанные материалы для создания многофункциональных самоорганизующихся наноструктур [49].

Природа используемых биоматериалов является решающим фактором и может быть одинаковой или различной. В первом случае система должна быть определена как гибридная (Hy-), а во втором случае – химерная.

Взаимодействия между биоматериалами сильно влияют на стабильность, загрузочную способность и контролируемое высвобождение лекарственного средства [50].

1.14 Примеры aDDnSs

Основным недостатком многих биологически активных соединений, которые препятствуют их клиническому применению, является его слабая растворимость в воде, что приводит к низкой биодоступности. Мицеллярные носители, состоящие из синтетических блок-сополимеров, использовали в качестве DDS для облегчения исследований *invitro* и *invivo*. Недавно синтезированные β -лактамыфункционализированные поли (изопрен-*b*-этиленоксидные) амфифильные блок-сополимеры, которые составлены в виде мицелл, использовали в качестве носителей биологически активного соединения куркумина. В пробирке цитотоксическую активность конечных мицеллярных составов с куркумином или без него изучали против группы клеточных линий колоректального рака по сравнению с активностью свободного куркумина против той же панели. Результаты этого исследования показали, что увеличение липофильного блока мицелл привело к более высокой эффективности включения с сопутствующим снижением скорости высвобождения куркумина. Цитотоксические исследования против клеточных линий колоректального рака показали, что куркумин, загруженный в мицеллы, показал сходную или немного более высокую активность, чем свободный куркумин. Из-за большого интереса к доставке лекарств, носители, состоящие из новых биоматериалов, таких как блок-сополимеры или новые синтетические дендримеры, могут смешиваться с липосомами и могут

создавать aDDnS, которые можно классифицировать в соответствии с предлагаемой классификацией [51]. Противоопухолевое лекарственное средство доксорубин включали в дендримеры 4-го поколения PAMAM при молярном отношении доксорубина к PAMAM 3: 1. Липосомы, состоящие из HePC: eggphosphatidylcholine: стеариламин (HePC: EPC: SA) 10: 10: 0,1 (молярное соотношение) и яичный фосфатидилхолин: стеариламин (EPC: SA) 10: 0,1 (молярное отношение) включают доксорубин-PAMAM (3: 1). Комплекс, включенный в липосому (HePC: EPC: SA) 10: 10: 0,1 (молярное соотношение), показал замедленное высвобождение доксорубина, которое имеет решающее значение для снижения его неблагоприятных эффектов и увеличения его терапевтического показателя. Эти результаты были очень близки к тем, которые были опубликованы для кислого лекарственного метотрексата, где заявлено, что высвобождение было снижено из дендримернолипосомальной композиции. Противораковый препарат доксорубин загружали в чистые липосомы или в смешанную систему, состоящую из липосом DOPC / DPPG и синтетических полимеров (дендримеров). Взаимодействие между липидами и дендримерами носило энтропийный характер, полученный из результатов термоанализа, что привело к выводу, что, вероятно, нет связи между липидами и дендримерами, но взаимодействия имеют стерическую природу и предпочтительны внутри ацильных цепей [52].

Доставка лекарств созрела из первоначальной цели продления продолжительности высвобождения препарата; теперь он включает в себя индивидуальные системы, предназначенные для достижения определенного пространственного и временного контроля; будущие поколения систем доставки лекарств будут включать «умные» функции биозависимости, которые будут позволять без посторонней помощи *in vivo* контролировать обратную связь.

MCRnS рассматриваются как DDS, которые могут модулировать выпуск инкапсулированного лекарственного средства. CDDnSs и aDDSS с

регулятором контролируемого высвобождения лекарственного средства являются те, которые состоят из простого или смешанного, т.е. гибридного (Hy-) или химерного (Chi-), соответственно бionаноматериалов, которые могут влиять на профиль высвобождения инкапсулированного лекарственного средства, могут изменять фармакокинетические параметры и наконец, повысить его эффективность. Взаимодействие между биоматериалами и процесс смешивания имеют большое значение и должны быть приняты во внимание. *in vivo* это может быть достигнуто путем понимания свойств вещества на наноразмерном уровне и легко распознать качественные и количественные свойства носителя лекарственного средства в процессе эволюции физики. Характер элементов, используемых для производства передовых биоматериалов, имеет большое значение, и химия, и новые синтетические биоэлементы (т.е. новые полимерные и дендритные структуры) играют решающую роль в производстве эффективных aDDnS [53].

2 Материалы и методы

В качестве объекта исследования использовали эритроциты капиллярной крови.

В работе использовали следующие реактивы и реагенты:

- 0,1М PBS с 5мМ глюкозой (рН = 7,4);
- ЭДТА (0,2 мг/мл);
- 2,5% глутаровый альдегид;
- МТТ (полностью);
- DMSO (диметилсульфоксид);
- 0,9% NaCl;
- 0,0025% раствор красителя метиленового синего (МС), приготовленный на 0,9% NaCl;
- 0,005% раствор красителя ализановый синий, приготовленный 0,9% NaCl.

Наномицеллы из ПГБ были предоставлены Лабораторией биотехнологии новых биоматериалов, СФУ.

2.1 Выделение и культивирование эритроцитов

Выборку доноров крови формировали на основе анкетирования.

Таблица 1 – Анкета для доноров

Вопрос	Ответ
Пол	
Возраст	
Наличие наследственных патологий (Сахарный диабет, аутоиммунные	

заболевания, болезни крови и т. д.)	
Перенесенные инфекционные заболевания (гепатит, полиомиелит и т.д.)	
Особенности питания: * В рационе преобладает пища растительного происхождения * В рационе преобладает пища животного происхождения * Соотношение животной и растительной пищи составляет 1:1	
Употребление спиртных напитков: * Никогда не употреблял * Редкое употребление слабоалкогольных напитков * Редкое употребление крепких напитков	
Курение: * Никогда не курил * Курил, но бросил * 1 сигарета в неделю * 1 пачка сигарет в неделю * 5 пачек сигарет в неделю	

Эритроциты выделяли из капиллярной крови. Эритроциты отмывали от компонентов плазмы 0,1М фосфатным буфером с 5мМ глюкозой и ЭДТА (0,2 мг/мл). Концентрацию клеток определяли в камере Горяева и доводили до 10⁷ кл/мл. Эритроциты культивировали на 0,1 фосфатном буфере с 5мМ глюкозой (рН=7,4) при T=37°C, 1, 2 и 3 часа.

2.2 Определение жизнеспособности эритроцитов с помощью МТТ-теста

После завершения инкубации контрольные и экспериментальные пробы центрифугировали 3000 об/мин, 10 мин. Супернатант удаляли и к полученному клеточному осадку добавляли 200 мкл раствора МТТ (0,01 мг/мл). Пробы инкубировали 1 ч при 37° С.

После завершения инкубации пробы центрифугировали 3000 об/мин, 10 мин. Супернатант отбрасывали. В полученные клеточные осадки вносили 100 мкл диметилсульфоксида (DMSO). После полного растворения материала аликвоты (50 мкл) вносили в 96-луночный планшет и определяли оптическую плотность при длине волны 550 нм.

Оптическую плотность контрольных образцов принимали за 100%. Значения экспериментальных проб выражали в % от экстинкции контрольных проб [55].

2.3 Определение осмотической резистентности эритроцитов

После завершения инкубации контрольные и экспериментальные пробы центрифугировали 3000 об/мин, 10 мин. Супернатант отбрасывали. Клеточные суспендировали в 100 мкл 0,9% NaCl. Из каждой пробы в 2 пробирки отбирали аликвоты по 40 мкл. Клетки осаждали центрифугированием, 3000 об/мин, 10 мин. Супернатант удаляли.

В 1-й пробирке клеточный осадок суспендировали в 100 мкл 0,45% NaCl, во 2-й пробирке клеточный осадок суспендировали 100 мкл дистиллированной воды, инкубировали 10 мин при комнатной температуре. Через 10 мин пробы центрифугировали, 3000 об/мин, 10 мин.

Из супернатанта отбирали аликвоты 50 мкл и вносили в 96-луночный планшет. Оптическую плотность определяли при длине волны 500 нм.

Экстинкцию проб, в которые вносили дист. воду принимали за 100%. Экстинкцию проб, в которые вносили 0,45% NaCl, выражали в % от варианта

с дистиллированной водой. Это значение (%) определяли как степень гемолиза [56].

2.4 Морфологический анализ

После завершения инкубации клетки фиксировали 2,5% глутаровым альдегидом. Морфологию клеток анализировали под световым микроскопом. В каждой пробе анализировали 200 клеток. Численность различных морфологических классов выражали в % от общего числа проанализированных клеток [54].

2.5 Статистический анализ

Статистический анализ полученных результатов проводили по методу Критерия χ^2 Пирсона – это непараметрический метод, который позволяет оценить значимость различий между фактическим (выявленным в результате исследования) количеством исходов или качественных характеристик выборки, попадающих в каждую категорию, и теоретическим количеством, которое можно ожидать в изучаемых группах при справедливости нулевой гипотезы.

Значение критерия χ^2 находили по формуле (1):

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^c \frac{(O_{ij} - E_{ij})^2}{E_{ij}} \quad (1)$$

Где:

i – номер строки (от 1 до r),

j – номер столбца (от 1 до c),

O_{ij} – фактическое количество наблюдений в ячейке ij ,

E_{ij} – ожидаемое число наблюдений в ячейке ij .

Определяли число степеней свободы по формуле (2):

$$f=(r-1)*(c-1) \quad (2)$$

Где:

f – число степеней свободы,

r – количество рядов в таблице,

c – количество столбцов в таблице.

Сравнивали значение критерия χ^2 с критическим значением при числе степеней свободы f (по таблице χ^2).

3 Результаты и обсуждение

Из текста бакалаврской работы изъяты результаты интеллектуальной деятельности, которые имеют потенциальную коммерческую научную ценность в силу неизвестности их третьим лицам.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Mills, N. L. Adverse cardiovascular effects of air pollution / N.L. Mills // *Nature Reviews Cardiology*. – 2009. – V. 6. – №. 1. – P. 36.

2. Mozaffarian, D. American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention, Council on Nutrition, Physical Activity and Metabolism, Council on Clinical Cardiology, Council on Cardiovascular Disease in the Young, Council on the Kidney in Cardiovasc. Population approaches to improve diet, physical activity, and smoking habits: a scientific statement from the American Heart Association / D. Mozaffarian // *Circulation*. – 2012. – V. 126. – №. 12. – P. 1514-1563.

3. Delfino, R. J. Potential role of ultrafine particles in associations between airborne particle mass and cardiovascular health / R. J. Delfino, C. Sioutas, S. Malik // *Environmental health perspectives*. – 2005. – V. 113. – №. 8. – P. 934.

4. Midander, K. Characterisation of nano- and micron-sized airborne and collected subway particles, a multi-analytical approach / K. Midander. // *Science of the Total Environment*. – 2012. – V. 427. – P. 390-400.

5. Kaur, I. P. Nanotechnology: a new paradigm in cosmeceuticals / I.P. Kaur, R. Agrawal // *Recent patents on drug delivery & formulation*. – 2007. – V. 1. – №. 2. – P. 171-182.

6. Martirosyan, A. Engineered nanomaterials in food: implications for food safety and consumer health / A. Martirosyan, Y. J. Schneider // *International journal of environmental research and public health*. – 2014. – V. 11. – №. 6. – P. 5720-5750.

7. Schilling, K. Human safety review of “nano” titanium dioxide and zinc oxide / K. Schilling. // *Photochemical & Photobiological Sciences*. – 2010. – V. 9. – №. 4. – P. 495-509.

8. Peters, R. Presence of nano-sized silica during in vitro digestion of foods containing silica as a food additive / R. Peters. // *Acs Nano*. – 2012. – V. 6. – №. 3. – P. 2441-2451.

9.Zhang, M. Toxicological properties of nanomaterials/ M. Zhang. //Journal of nanoscience and nanotechnology. – 2014. – V. 14. – №. 1. – P. 717-729.

10.Fard, J. K. A review of molecular mechanisms involved in toxicity of nanoparticles /J. K.Fard, S. Jafari, M. A. Eghbal//Advanced pharmaceutical bulletin. – 2015. – V. 5. – №. 4. – P. 447.

11.Hirai, T. Amorphous silica nanoparticles size-dependently aggravate atopic dermatitis-like skin lesions following an intradermal injection / T. Hirai.//Particle and fibre toxicology. – 2012. – V. 9. – №. 1. – P. 3.

12.Yoshida, T. Intranasal exposure to amorphous nanosilica particles could activate intrinsic coagulation cascade and platelets in mice / T. Yoshida. //Particle and fibre toxicology. – 2013. – V. 10. – №. 1. – P. 41.

13.Yoshida, T. Intestinal absorption and biological effects of orally administered amorphous silica particles / T. Yoshida//Nanoscale research letters. – 2014. – V. 9. – №. 1. – P. 532.

14.Yamashita, K. Silica and titanium dioxide nanoparticles cause pregnancy complications in mice / K. Yamashita. //Nature nanotechnology. – 2011. – V. 6. – №. 5. – P. 321.

15.Nabeshi, H. Amorphous nanosilicas induce consumptive coagulopathy after systemic exposure / H.Nabeshi. //Nanotechnology. – 2012. – V. 23. – №. 4. – P. 045101.

16.Nagai, H. Diameter and rigidity of multiwalled carbon nanotubes are critical factors in mesothelial injury and carcinogenesis / H. Nagai. //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2011. – V. 108. – №. 49. – P. 1330-1338.

17.Nagai, H. Intraperitoneal administration of tangled multiwalled carbon nanotubes of 15 nm in diameter does not induce mesothelial carcinogenesis in rats / H. Nagai. //Pathology international. – 2013. – V. 63. – №. 9. – P. 457-462.

18. Faustman, E. M. Mechanisms underlying Children's susceptibility to environmental toxicants / E. M. Faustman. //Environmental Health Perspectives. – 2000. – V. 108. – №. Suppl 1. – P. 13.

19. Wigle, D. T. Epidemiologic evidence of relationships between reproductive and child health outcomes and environmental chemical contaminants / D. Wigle. //Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B. – 2008. – V. 11. – №. 5-6. – P. 373-517.
20. Koopman-Esseboom, C. Effects of polychlorinated biphenyl/dioxin exposure and feeding type on infants' mental and psychomotor development / C. Koopman-Esseboom. //Pediatrics. – 1996. – V. 97. – №. 5. – P. 700-706.
21. Santos, I. S. Maternal caffeine consumption and infant nighttime waking: prospective cohort study / I. S. Santos, A. Matijasevich, M. R. Domingues //Pediatrics. – 2012. – V. 129. – №. 5. – P. 860-868.
22. Hammoud, A. Decreased sperm motility is associated with air pollution in Salt Lake City / A. Hammoud. //Fertility and sterility. – 2010. – V. 93. – №. 6. – P. 1875-1879.
23. Volk, H. E. Traffic-related air pollution, particulate matter, and autism / H. E. Volk. //JAMA psychiatry. – 2013. – V. 70. – №. 1. – P. 71-77.
24. Li, Y. Nanotoxicity overview: nano-threat to susceptible populations / Y. Li, Y. Zhang, B. Yan //International journal of molecular sciences. – 2014. – V. 15. – №. 3. – P. 3671-3697.
25. Zhang, X. F. Silver nanoparticles cause complications in pregnant mice / X. F. Zhang. //International journal of nanomedicine. – 2015. – V. 10. – P. 7057.
26. Shi, H. Titanium dioxide nanoparticles: a review of current toxicological data / H. Shi. //Particle and fibre toxicology. – 2013. – V. 10. – №. 1. – P. 15.
27. Liu, Y. Distribution and biological effects of nanoparticles in the reproductive system / Y. Liu, H. Li, K. Xiao //Current drug metabolism. – 2016. – V. 17. – №. 5. – P. 478-496.
28. Girardi, G. Heparin prevents antiphospholipid antibody–induced fetal loss by inhibiting complement activation / G. Girardi, P. Redecha, J. E. Salmon //Nature medicine. – 2004. – V. 10. – №. 11. – P. 1222.

29. Hossain, N. Heparin and maternal fetal interface: why should it work to prevent pregnancy complications / N. Hossain, F. Schatz, M. J. Paidas//Thrombosis research. – 2009. – V. 124. – №. 6. – P. 653-655.
30. Shirasuna, K. Nanosilica-induced placental inflammation and pregnancy complications: different roles of the inflammasome components NLRP3 and ASC / K. Shirasuna. //Nanotoxicology. – 2015. – V. 9. – №. 5. – P. 554-567.
31. Higashisaka, K. Neutrophilia due to silica nanoparticles induces release of double-stranded DNA / K. Higashisaka.//Journal of Nanomedicine & Nanotechnology. – 2014. – V. 5. – №. 5. – P. 1.
32. Kolaczowska, E., Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation / E. Kolaczowska, P. Kubes//Nature Reviews Immunology. – 2013. – V. 13. – №. 3. – P. 159.
33. Szucs, A. American Academy of Pediatrics Section on Breastfeeding / A. Szucs. //Journal of Human Lactation. – 2011. – V. 27. – №. 4. – P. 378-379.
34. Focant, J. F. Levels of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans and polychlorinated biphenyls in human milk from different regions of France / J. F. Focant. //Science of the Total Environment. – 2013. – V. 452. – P. 155-162.
35. Rivezzi, G. A general model of dioxin contamination in breast milk: results from a study on 94 women from the Caserta and Naples areas in Italy / G. Rivezzi. //International journal of environmental research and public health. – 2013. – V. 10. – №. 11. – P. 5953-5970.
36. Zhang, C. Induction of size-dependent breakdown of blood-milk barrier in lactating mice by TiO₂ nanoparticles / C. Zhang. //PloS one. – 2015. – V. 10. – №. 4. – P. 22591.
37. Gao, X. Effects of developmental exposure to TiO₂ nanoparticles on synaptic plasticity in hippocampal dentate gyrus area: an in vivo study in anesthetized rats / X. Gao. //Biological trace element research. – 2011. – V. 143. – №. 3. – P. 1616-1628.

38. Melnik, E. A. Transfer of silver nanoparticles through the placenta and breast milk during in vivo experiments on rats / E. A. Melnik. // *Acta Naturae*. – 2013. – V. 5. – №. 3 (18).
39. Franci, G. Silver nanoparticles as potential antibacterial agents / G. Franci. // *Molecules*. – 2015. – V. 20. – №. 5. – P. 8856-8874.
40. Contado, C. Nanomaterials in consumer products: a challenging analytical problem / C. Contado. // *Frontiers in chemistry*. – 2015. – V. 3. – P. 48.
41. Ramdhan, D. H. Nanoparticle-rich diesel exhaust may disrupt testosterone biosynthesis and metabolism via growth hormone / D. H. Ramdhan. // *Toxicology letters*. – 2009. – V. 191. – №. 2-3. – P. 103-108.
42. Gromadzka-Ostrowska, J. Silver nanoparticles effects on epididymal sperm in rats / J.Gromadzka-Ostrowska. // *Toxicology letters*. – 2012. – V. 214. – №. 3. – P. 251-258.
43. Sleiman, H. K. Effects of prepubertal exposure to silver nanoparticles on reproductive parameters in adult male Wistar rats / H.K. Sleiman. // *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*. – 2013. – V. 76. – №. 17. – P. 1023-1032.
44. Balasubramanian, S. K. Biodistribution of gold nanoparticles and gene expression changes in the liver and spleen after intravenous administration in rats / S.K. Balasubramanian. // *Biomaterials*. – 2010. – V. 31. – №. 8. – P. 2034-2042.
45. van der Zande, M. Distribution, elimination, and toxicity of silver nanoparticles and silver ions in rats after 28-day oral exposure / M. van der Zande. // *ACS nano*. – 2012. – V. 6. – №. 8. – P. 7427-7442.
46. Morishita, Y. Distribution and histologic effects of intravenously administered amorphous nanosilica particles in the testes of mice / Y. Moroshita. // *Biochemical and biophysical research communications*. – 2012. – V. 420. – №. 2. – P. 297-301.
47. Setyawati, M. I. Titanium dioxide nanomaterials cause endothelial cell leakiness by disrupting the homophilic interaction of VE-cadherin/ M. Setyawati. // *Nature communications*. – 2013. – V. 4. – P. 1673.

48. Yoshida, T. Surface modification of amorphous nanosilica particles suppresses nanosilica-induced cytotoxicity, ROS generation, and DNA damage in various mammalian cells / T. Yoshida. //Biochemical and biophysical research communications. – 2012. – V. 427. – №. 4. – P. 748-752.

49. Yoshida, T. Protein corona changes mediated by surface modification of amorphous silica nanoparticles suppress acute toxicity and activation of intrinsic coagulation cascade in mice / T. Yoshida. //Nanotechnology. – 2015. – V. 26. – №. 24. – P. 245101.

50. Morishita, Y. Distribution of silver nanoparticles to breast milk and their biological effects on breast-fed offspring mice / Y. Morishita. //ACS nano. – 2016. – T. 10. – №. 9. – C. 8180-8191.

51. Cedervall, T. Understanding the nanoparticle–protein corona using methods to quantify exchange rates and affinities of proteins for nanoparticles / T. Cedervall. //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2007. – V. 104. – №. 7. – P. 2050-2055.

52. Nel, A. E. Understanding biophysicochemical interactions at the nano–bio interface / A. E. Nel. //Nature materials. – 2009. – V. 8. – №. 7. – P. 543.

53. Higashisaka, K. Acute phase proteins as biomarkers for predicting the exposure and toxicity of nanomaterials / K. Higashisaka. //Biomaterials. – 2011. – V. 32. – №. 1. – P. 3-9.

54. Исследование морфологии эритроцитов – [Электронный ресурс]: Режим доступа <http://onlab.info/sanguis/haema8.html>.

55. Исследование жизнеспособности эритроцитов – [Электронный ресурс]: Режим доступа <https://ru.wikipedia.org/wiki>

56. Исследование осмотической резистентности эритроцитов – [Электронный ресурс]: Режим доступа <https://www.smed.ru/guides/291>

Федеральное государственное автономное
Образовательное учреждение высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Кафедра Медицинской биологии

УТВЕРЖДАЮ Заведующий кафедрой

 Е. И. Шишацкая

«19» июля 2018 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01- Биология

Мембранотропные эффекты полимерных наномицелл в кратковременной
культуре эритроцитов

Руководитель



д.б.н

Шишацкая Е.И.

Выпускник



Нихаенко В.И.

Красноярск 2018