

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение

высшего образования

«Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова»

Факультет ветеринарной медицины, пищевых и биотехнологий

Кафедра микробиологии, биотехнологии и химии

ДОПУЩЕНО к защите:

Зав. Кафедрой: Ларионова О.С.

« ____ » _____ 20__ г.

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

на тему:

«Исследование противоопухолевой активности наночастиц селена заданного
размера»

Направление подготовки

19.03.01 Биотехнология

Направленность (профиль)

Биотехнология

Обучающийся:

Нечаев Вадим Николаевич _____ (подпись)

Руководитель выпускной квалификационной работы:

кандидат химических наук, доцент, Древяко Ярослав Борисович
_____ (подпись)

Саратов 2021

Содержание

Введение	3
1. Аналитический обзор научно-технической информации по теме исследования	5
1.1. Наночастицы.....	5
1.2. Наночастицы селена.....	6
1.3. Восполнение дефицита Селена	9
1.4. Адресная доставка наночастиц в органы и клетки мишени	22
2. Экспериментальная часть	42
2.1. Характеристика научно исследовательской базы	42
2.2. Синтез наночастиц из дихлордиацетофенонилселенида	47
2.3. Премедикация.....	47
2.4. Введение иммуноглобулина imG	47
2.5. Подготовка и введение раствора наночастиц селена	48
2.6. Подготовка и введение Раковых клеток (EPNT-5).....	48
3. Результаты исследований и их анализ	50
Заключение	76
Выводы	77
Список используемой литературы	78

Введение

Известно, что при малой концентрации (Se) в организме увеличивается шанс развития онкологических заболеваний. Установлено, что в районах с более высоким содержанием селена в почве, на порядок ниже данные о заболеваемости раком прямой кишки, легких и шейки матки. Умеренное потребление селена имеет одно из главных значений в поддержании баланса экспрессии большинства селено-зависимых и селено-независимых микросомальных ферментов, обеспечивающих биотрансформацию ксенобиотиков [109]. В основном, селен (Se) является важнейшим генопротектором, который блокирует повреждения ДНК продуктами перекисного окисления, металлами и регулирует процессы их системной элиминации в живом организме. В литературе обширно обсуждают возможности применения наночастиц (НЧ) при разработке фармацевтических препаратов. В настоящее время не выдано ни 1-го регистрационного удостоверения на НЧ селена [52]. С нашей точки зрения, это заключается в том, что механизмы взаимодействия НЧ с клетками организма исследованы недостаточно.

Изучено, что НЧ селена показывают свою высокую противоопухолевую активность, и они могут выступать в комбинации с другими агентами для химиотерапии рака. Подтверждены некоторые механизмы противоопухолевой активности. Показано, что противоопухолевые эффекты НЧ (Se) опосредованы их возможностью ингибировать рост раковых клеток при помощи индукции остановки клеточного цикла, индукции апоптоза, активации аутофагии. Кроме оригинальной противораковой эффективности, НЧ селена обеспечивают наилучшую селективность между обычными и раковыми клетками [61]. Внедрение всевозможных модификаций НЧ увеличивает клеточное поглощение и противоопухолевую эффективность. Одним из весомых многообещающих применений НЧ селена в медицине считается доставка активных ингредиентов и исследовательских агентов в определённые клетки

или же ткани. Наноплатформы НЧ селена с фармацевтическими продуктами считается перспективной стратегией для одновременной диагностики, прогноза в режиме реального времени и лечения рака. В данной работе будут представлены данные научных исследований по свойствам НЧ селена и механизмам взаимодействия НЧ с различными видами клеток. Будут также описаны главные способы получения НЧ селена и способы изучения взаимодействия НЧ с клетками. На данный момент идет активное изучение НЧ металлов. Особую роль занимают НЧ Se, потому что селен считается необходимым микроэлементом для организма человека.

В настоящее время данная работа имеет актуальность, так как до этого момента не существовало единой точки зрения и единого решения по вопросу, а сама тема была освещена в недостаточной мере.

Цели и задачи нашей работы:

1. Исследовать возможность замедления (отсутствия) развития опухоли у модельных животных при применении наночастиц селена размером 1-2 нм.

2. Изучить возможность замедления (отсутствия) развития опухоли у модельных животных при применении наночастиц селена в комбинации с иммуноглобулином imG.

3. Исследовать развитие опухоли при применении иммуноглобулина imG.

1. Аналитический обзор научно-технической информации по теме исследования

1.1. Наночастицы

Наночастицы – это объекты, которые имеют изолированные, выраженные границы с окружающей средой, сферической формы с размерами в 1-100 нм. Специфические свойства нанообъектов появляются при размерах от 2 до 30 нм. Практика показала, что ярко выраженные изменения наблюдаются при размерах ниже 30 нм. С помощью специальных приборов – анализаторов размеров частиц можно измерять наночастицы. Этот прибор востребован в различных отраслях, технологических процессах, а так же довольно прост в эксплуатации и точен в показателях.

Наночастицы могут оберегать человеческий организм не только от всевозможных заболеваний, но и от электромагнитных лучей. Эксперты в сфере разработки новейших технологий США заявили о том, что обнаружили альтернативу антибиотикам в виде нанотерапевтических средств, как способ борьбы с болезнью. Фармацевты заявляют, что в наше время бессмысленно создавать огромное число антибиотиков, ведь они требуют больших финансовых затрат, вследствие того что микроорганизмам характерно адаптация к медицинским препаратам, а так же они постепенно мутируют. На данный период, эксперты работают над разработкой наночастиц, главной задачей которых станет – борьба с различными инфекциями [34].

Американские исследователи обнаружили, что золото может менять цвет в процессе прикосновения, причём, чем больше на него воздействовали, тем отчётливее менялся цвет, с синего на фиолетовый, с фиолетового на красный. Когда причина стала известной, то были изготовлены сенсоры из золотых наночастиц, которые под давлением меняют свой цвет. Принцип довольно прост, один цвет меняет свой окрас при нажатии или растягивании – разъединение наночастиц.

Ещё одним из интересных свойств наночастиц стала их возможность делать отпечатки пальцев человека более чёткими и повышать вероятность идентификации тех, которые обнаруживают на месте преступления. Данный метод был предложен австралийскими и американскими исследователями. Он заключается в использовании наночастиц с “привязанными” к ним антителами, которые выявляют следы аминокислот [42].

1.2. Наночастицы селена

Селен обеспечивает активность, окислительно-восстановительных ферментов и витаминов; иммунологическую резистентность, но вдобавок антиоксидантную защиту организма. Недостаток селена вызывает большое количество болезней у человека, животных и птиц. У животных и птиц - беломышечную болезнь, токсическую дистрофию печени, энцефаломалицию, экссудативный диатез, депрессию, задержание последа, фиброз поджелудочной железы и, как результат; снижение жирности молока у коров; гемоглобинурию у телят, синдром внезапной смерти у телят, поросят и микроангиопатию у свиней.

Селенодефицитность в организме во многом обусловлена невысоким содержанием данного микроэлемента в почвах [50]. Неравномерное распределение селена в почве и воде оказывает большое влияние на концентрацию его в растениях различных природно - климатических зон. Определена конкретная взаимосвязь между содержанием селена в почве и кормовых растениях с одной стороны, и в организме животных, с другой [4]. Исходя из этого; фармакологическая коррекция селено недостаточности у сельскохозяйственных животных считается важной проблемой ветеринарной науки и практики.

С осознанием роли, селена в организме и воздействие его на формирования различных заболеваний, в последние годы многие эксперты высказывают потребность внедрения данного микроэлемента в состав ветеринарных препаратов [57]. Селен считается необходимым микроэлементом

в жизнедеятельности животных и человека. Более изучено положительное воздействие селена при лечении рака, гепатита С, диабета, цереброваскулярной недостаточности, заболевания Альцгеймера, отравлений солями тяжелых металлов, заболеваний щитовидной железы, сердечно-сосудистых заболеваний, астмы и других болезней. Так же исследуется применение соединений селена в качестве стимуляторов роста, антиоксидантов, восстановителей ферментативных функций печени и мозга. Было подтверждено, что наночастицы селена способны оказывать своё действие постоянно, в отличие от антибиотиков. [49]. Но их целенаправленное применение связано с гарантированной агрегативной устойчивостью в течение продолжительного периода [11].

Исследованиями последних лет представлена важная роль селена в жизнедеятельности растений [26]. Наночастицы влияют на биологические объекты на клеточном уровне, внося собственную избыточную энергию, увеличивающую результативность проходящих в растениях процессов, т.е. считаются биоактивными веществами. Они производят ионы и электроны, которые стремительно включаются в биохимические процессы в период их образования [39]

Неубывающий интерес к элементу селену связан в главную очередь с тем, что он обладает сочетанием множества уникальных и нужных свойств, к примеру, сравнительно значительной фотопроводимостью, каталитической активностью по отношению к гидратации и окислительным реакциям, значительными пьезоэлектрическими, термоэлектрическими, и нелинейно-оптическими качествами, невысокой температурой плавления. Также селен играет немаловажную роль в сфере фотоники и электроники. Электропроводность селена может быть повышена на несколько порядков при влиянии видимого света, и используется в фотоприемниках и датчиках, фотокопировальных приборах, а также электрических выпрямителях. Помимо этого, селен считается достаточно активным веществом и способен вступать в реакцию с различными химическими реагентами с образованием таких

полупроводников, как Ag_2Se и CdSe , CuInSe_2 , применяемых для изготовления солнечных элементов [2].

Применяя коллоидные частицы (селена и золота, исполняющие роль наноразмерного носителя), конъюгированные с антигенами вируса ТГС, была доказана вероятность создания наномодифицированных вакцин. Было доказано иммуногенное действие наночастиц селена и золота, конъюгированных с антигеном вируса ТГС. Проведя изучения, было определено, что при внедрении в организм животного они способны создавать адекватный иммунный ответ организма при минимальных дозах вирусного антигена. Иммунизация наночастицами селена и золота, конъюгированными с антигеном вируса ТГС, приводит к активации дыхательной активности лимфоидных клеток и перитонеальных макрофагов, что непосредственно связано с их трансформирующей активностью и активацией формирования антител. Также отслеживалась стимуляция выработки цитокинов, что обуславливает полный и согласованный иммунный ответ как клеточного, так и гуморального звеньев иммунитета на профилактическую иммунизацию [37].

Были проведены изучения действий развития наноселена при восстановлении селенистой кислоты аскорбиновой кислотой в присутствии ряда искусственных высокомолекулярных соединений (поливинилпирролидон, оксиэтилцеллюлоза, полиметокриловая кислота и др.). В растворе полимера при рН 3,3 в зависимости от массового соотношения селен/полимер в промежутке от 0,01–0,2 были обнаружены агрегативно устойчивые наночастицы красного аморфного селена с радиусом 0,57 нм и со сферической формой [20].

На размер наночастиц оказывают большое влияние подобные характеристики, как начальная концентрация полиоксиметаллатного комплекса и ионная сила раствора. Воздействие изменения температуры на размер частиц никак не исследовалось.

1.3. Восполнение дефицита Селена

Доказано, что микроэлемент селен (Se) является незаменимым компонентом для нормального функционирования организма, так как входит в состав большинства органических соединений, активно участвующих в обмене веществ. Он выполняет регуляторные и каталитические функции в организме; вступает в реакции с витаминами, а также ферментами [80]; участвует в окислительно-восстановительных реакциях, жировом обмене, клеточном дыхании. Важная роль селена(Se) также же заключается в том, что он входит в состав фермента — глутатиопероксидазы, которая защищает клетки от различных продуктов окисления. Таким образом, селен и его вариации проявляют значительную антиоксидантную функцию [116]. Данный элемент входит также в состав других ферментов, участвует в детоксикации ксенобиотиков, регулирует функции эндокринных желез, стимулирует антиоксическую защиту организма, положительно влияет на репродуктивную систему, оказывает радиопротекторное действие [55].

Основными стандартными источниками селена в рационе человека являются морепродукты, грибы и мясные продукты. Содержание селена в нем определяется исходным уровнем почвы и воды, кормами и сезоном; он зависит от метода обработки, а также обладает уникальными свойствами. Например, морская рыба и другие морепродукты содержат больше этого микроэлемента, чем речная рыба. Содержание селена в мясе и мясных продуктах колеблется от 0,05 до 0,17 мг / кг, в рыбе от 0,25 до 0,46, в грибах от 0,55 до 27,9 мг / кг. Селен (Se) содержится в бразильских орехах, пивных дрожжах, брокколи, водорослях, курице, печени, чесноке, красной рыбе, овощах и фруктах, зародышах пшеницы и цельных зернах. Около 60 представителей флоры могут накапливать микроэлемент, особое место которого занимают растения, называемые селеновыми батарейками. В частности, к продуктам с низким содержанием селена относятся молоко и молочные продукты (от 0,005 до 0,018 мг на кг продукта), лапша и кондитерские изделия, овощи и фрукты. В зерне значения микроэлементов также невелики, но в силу особенностей питания человека их

можно считать основными поставщиками селена, особенно если они произрастают в районах, богатых селеном. Пшеница, в отличие от ржи, накапливает большое количество МЕ [14].

Содержание селена в растениях очень различно. Это зависит не только от места произрастания, но и от способности всасывать и накапливать селен из почвы. В целом содержание селена (Se) в овощах выше, в отличие от фруктов. Содержание селена в зернах колеблется от 0,01 до 0,55 мкг / г, в молочных продуктах питания - от 0,001 до 0,17 мкг / г [80].

В природе селен находится в виде органических соединений (селенометионин и селеноцистеин) и неорганических (селенит и селенат). Зная, что органические соединения лучше усваиваются в пищеварительном тракте, некоторые специалисты считают, что они важны для профилактики и лечения заболеваний, вызванных дефицитом селена (Se). Селенометионин содержится в растениях, особенно в зерне, а селеноцистеин - в мясных продуктах. Неорганические формы селена в основном используются в пищевых добавках. Большая часть селена всасывается в тонком кишечнике (50-80%) и выводится через почки (60%). Еще 35% выводится из толстой кишки, 5 % - со слюной и потом [72]. Причина пока не установлена, но содержание селена у курильщиков ниже и уменьшается с возрастом. Кроме того, содержание селена ниже нормы у людей, употребляющих большое количество кофе и других алкогольных напитков. Употребление большого количества яиц и риса также связано со снижением количества селена в организме [107]. ВОЗ советует потреблять 50-55 мкг селена в день [124].

Дефицит селена, как и его избыток, опасен для организма. Дефицит возникает, когда селен потребляется менее 40 мкг / сутки, а избыток - более 400 мкг / сутки. Серьезный дефицит селена приводит к проявлению болезни Кешана, которая проявляется сердечной недостаточностью вследствие кардиомиопатии, атрофией, дегенерацией и некрозом суставного хряща, лихорадкой. Но даже менее выраженный недостаток этого микроэлемента негативно сказывается на состоянии здоровья человека. Селен действует как

каталитический центр для ряда ферментов, таких как глутатионпероксидаза, тиоредуксин редуктаза и йодтирониндеиодиназа, которые защищают клетку от окислительного стресса, повреждения свободными радикалами, укрепляют иммунную систему, участвуют в метаболизме гормонов щитовидной железы и др.

В некоторых исследованиях дефицит селена был связан с повышенным риском сердечно - сосудистых заболеваний, который уменьшался, когда дефицит был устранен. Селен оказывает антиканцерогенное действие на простату, печень, поджелудочную железу и толстую кишку. Кроме того, селен участвует в имплантации эмбрионов, развитии плаценты и повышении фертильности за счет повышения подвижности сперматозоидов, тестостерона и синтеза сперматозоидов [95].

Если вы потребляете более 400 микрограммов селена в день, развивается так называемый селенит. Эта редкая ситуация описана в популяционных исследованиях хронической интоксикации селеном в регионах с высоким природным содержанием. Симптомы селенита включают тошноту, рвоту, боль в животе, диарею, выпадение волос, ломкость ногтей, периферическую невропатию и характерный запах чеснока в поте и выдыхаемом воздухе. Описаны случаи развития селенита при передозировке пищевых добавок с повышенным его содержанием [93].

Селен играет особую роль в функционировании щитовидной железы. Этот орган содержит наибольшее количество селена на грамм ткани в виде селенопротеинов. Участие селена в синтезе тиреоидных гормонов впервые заподозрили после исследований, проведенных в Заире, где был выявлен не только тяжелый дефицит йода, но и выраженный дефицит селена. В то же время население имело ярко выраженный микседемический кретинизм и выраженный интеллектуальный дефицит. С тех пор было проведено много исследований по изучению роли селена в работе щитовидной железы. В результате было показано, что селен влияет на синтез тиреоидных гормонов опосредованно через селенопротеины [121].

Механизм действия наночастиц на организм животных в настоящее время изучается многими научными организациями по всему миру. Изучено влияние различных элементов в виде наночастиц, способов их получения, размеров частиц в диапазоне до 100 нм и более и многих других факторов на живую клетку и организм в целом. Все это связано с набором уникальных свойств веществ и чистых элементов, приобретаемых ими в наноразмерном масштабе.

Наночастицы - это частицы вещества размером менее 100 нм. В частицах такого размера количество атомов, расположенных на поверхности частицы и в объеме, сопоставимо. Свойства атомов НЧ на поверхности отличаются от свойств атомов, находящихся внутри объема частицы. Таким образом, функции частицы зависят от размера, чем она меньше, тем больше процент атомов на поверхности. Это приводит к целому набору универсальных свойств, а также становится возможным изменять свойства вещества не за счет его химического состава (как это обычно делается), а за счет размеров элементов, из которых оно состоит [102].

Селен (Se) - незаменимый микроэлемент, жизненно важный для улучшения продуктивности и благополучия водных животных. Se может защитить животную клетку от окисления, которое происходит под действием нескольких факторов стресса, включая высокую плотность, транспортировку, плохое качество воды и инфекционные заболевания, выделяя антиоксидантные ферменты и гормоны щитовидной железы [104]. Se присутствует в рыбной муке в качестве основного ингредиента рыбных рационов, но настоятельно рекомендуется дальнейшее включение Se, чтобы удовлетворить потребности некоторых видов рыб. Водным животным нужно больше сбалансированные диеты, содержащие макро- и микрокомпоненты, отвечающие высоким уровням метаболизма, связанным с повышением показателей роста. Добавление Se в рационы рыб может зависеть от форм Se, состава рациона, размеров тела рыб и видов. Недавно было доказано, что наночастицы Se (Nano Se) более доступны без побочных эффектов для рыб [70]. Кроме того, Nano Se улучшил рост,

усвоение корма и способность к антиоксидантной защите многих выращиваемых рыб [101].

Было изучено влияния наноселена (Nano Se) или / и витамина E (VE) на показатели роста, здоровье крови, гистоморфологию кишечника, окислительный статус и экспрессию иммунных генов нильской тилапии. Nano Se и / и VE в количестве 0,1 мг Nano Se / кг, 100 мг VE / кг и 1 мг Nano Se / кг + 100 мг VE в рационе скармливали рыбе в течение 8 недель. FBW была значительно ($P < 0,05$) увеличивалась у рыб, получавших Nano Se и VE, в то время как у рыб, получавших рационы Nano Se или Nano Se и VE, наблюдалось значительное ($P < 0,05$) выше WG и SGR, чем в других группах. Самый низкий FCR был значительно ($P < 0,05$), обнаруженного у рыб, получавших Nano Se и VE, в то время как наибольшее значение наблюдалось в рационе fishVE. Морфометрия кишечника (длина и ширина ворсинок) у рыб, которых кормили Nano Se и / или VE, значительно ($P < 0,05$) самые высокие значения с большим количеством бокаловидных ячеек. Параметры гематологии и биохимии крови рыб, получавших Nano Se и / и VE, показали нормальные значения с незначительными различиями, за исключением увеличения общего белка в крови у рыб, которых кормили Nano Se и / и VE ($P < 0,05$). Диетические Nano Se или Nano Se и VE значительно ($P < 0,05$) увеличивали значения GPX, SOD, CAT, NBT, лизоцима и фагоцитоза с уменьшением MDA. Печень и селезенка TNF- α и Ил-1 β выражения были значительно ($P < 0,05$), усиленная у рыб, питающихся Nano Se или Nano Se и VE. Таким образом, Nano Se и / и VE можно эффективно использовать в диетах с тилапией для улучшения роста, здоровья кишечника, здоровья крови, окислительного статуса и экспрессии связанных с иммунитетом генов [66].

Добавки селена обычны для молочных коров, но важность источника селена не ясна. Исследователями было проведено сравнение добавок наноселена (Nano-Se) и селенита натрия для молочных коров на продуктивность лактации, уровни Se в молоке и экспрессию гена селенопротеина (Sel). Двенадцать повторнородящих коров голштинской

породы случайным образом были разделены на две группы: контрольную группу кормили основным рационом плюс 0,30 мг Se / кг сухого вещества в виде селенита натрия или нано-Se в течение 30 дней. На потребление сухого вещества, удой и состав молока не влиял пищевой источник селена ($P > 0,05$); однако общие уровни Se в молоке и активность глутатионпероксидазы молока (GSH-Px) были выше при добавлении Nano-Se, чем при приеме селенита натрия ($P < 0,05$). В конце эксперимента добавка Nano-Se значительно увеличила уровни Se в плазме и активность GSH-Px по сравнению с добавкой селенита натрия. Уровни экспрессии мРНК глутатионпероксидазы 1, 2 и 4; тиоредоксинредуктазы 2 и 3; и селенопротеины W, T, K и F были значительно активированы ($P < 0,05$) в молочной железе группы Nano-Se. Таким образом, источник селена играет важную роль в антиоксидантном статусе и, в частности, в экспрессии гена Sel в молочных железах дойных коров, которые стимулируются наноисточниками.

Селен (Se) - это питательный микроэлемент, который действует как кофактор антиоксидантных ферментов (таких как глутатионпероксидаза) и влияет на антиоксидантную активность и иммунные функции животных [129]. Дефицит селена может вызвать повреждение иммунной системы или нервов, а также несколько заболеваний у животных [79]. Добавка Se обладает антиоксидантным действием, тем самым повышая клеточную защиту от окислительного стресса [85]. Свободные радикалы повреждают клетки и ограничивают бактерицидное действие высвобождения нейтрофилов. Следовательно, Se необходим для здоровья животных, в том числе людей, для которых $\geq 55 \mu\text{г} / \text{день}$ снижает риск рака [67]. Молоко потенциально может внести важный вклад в жизнь человека суточное потребление Se, поскольку потребление 100 г молока в день обеспечит не менее 10% суточной потребности в Se для взрослых. Поэтому для коров были разработаны добавки с диетическим Se для увеличения содержания Se в молоке [127]. Ранние исследования показали, что после кормления неорганическими формами Se, такими как селенит натрия, небольшие количества Se переходили в молоко

[97]. Диетический органический Se (дрожжи Se) также приводит к повышению концентрации Se в крови и молоке, что связано со снижением статуса окислительного стресса у коров [114]. Наноселен (Nano-Se) - это новый метод добавления Se, в котором белок используется в качестве диспергатора, а красный элемент Se - в качестве мембраны. Nano-Se содержит больше активных центров, чем обычные продукты Se, с более высокой биологической активностью и более низкой токсичностью, и более эффективен в повышении экспрессии селенопротеина (Sel) [128].

Известно, что НЧ селена влияют на урожайность, потребительское качество и продолжительность хранения растительного сырья, в частности, овощные культуры [92]. Селен увеличивает скорость фотосинтеза растений [100] и обладает способствующим росту эффектом [115]. Он также регулирует водный баланс растений под засушливые условия [120].

Исследователями доказано, что методы лазерной абляции и ультразвукового диспергирования являются эффективными методами получения коллоидных растворов, позволяя синтезировать биологически активные коллоидные растворы с концентрацией селена до 9,8 мг / л. Эти растворы позволяют получать проростки редиса, обогащенные селеном, с биохимическими показателями, отличными от контрольных проростков. Их главной задачей являлась разработка метода получения водных растворов коллоидного селена методами лазерной абляции и ультразвукового диспергирования, и изучение их влияния на редис, как широко распространенный вид овощной культуры.

Использование элементарного селена в наноразмерном состоянии перспективно для удовлетворения физиологических потребностей человека [99]. При переходе в наноразмерное состояние изменяется ряд фундаментальных характеристик соединения. Профилактические формы обычно содержат коллоидные растворы биологически активных соединений. Для приготовления таких растворов используется лазерная абляция [118]. Это перспективный технологический процесс, позволяющий строго контролировать образование

наноразмерных частиц. Использование метода ультразвукового диспергирования является альтернативой для получения металлических наночастиц с использованием воды в качестве экологически чистого растворителя [103]. Оценка эффективности использования наноразмерного селена проводилась на семенах редиса. Известно о высокой антиоксидантной активности проростков редиса и их выраженном антиканцерогенном действии [110]. Установлено, что обогащение рассады селеном, приводило к накоплению в продукте метилированных форм селенсодержащих аминокислот, что усиливало противораковое действие продукта.

В последнее десятилетие отмечается значительный рост уровня заболеваемости дерматитами, что вызвано многими факторами: экологическим состоянием окружающей среды, климатическими условиями, нерациональным использованием лекарственных препаратов и другими [8]. Дерматиты – это заболевания кожи, представляющие собой воспалительный процесс, обусловленный клеточно-опосредованной реакцией, ключевую роль в которой играют Т-лимфоциты. Процесс воспаления запускается при контакте с сенсбилизаторами, которые, связываясь с белками, изменяют их структуру и образуют антиген [60]. Для лечения дерматитов используются противовоспалительные, антиоксидантные лекарственные препараты. Инновационным методом лечения дерматозов может быть использование лекарственных препаратов с наноструктурными активными компонентами. Например, использование липосом обеспечивает доставку лекарственных веществ к органам-мишеням или поражённым тканям [44]. Анализ доступных литературных источников и патентной базы выявил три наиболее широко используемых способа получения липосом (инъекция, метод ручного встряхивания, обращение фаз) [60].

Препараты селена активно используются в дерматологии и косметологии. Например, французская лаборатория «Цитолнат» выпускает крем для наружного применения цитолнат селен, который используется в качестве антиоксидантного средства [58]. Также выпускают различные

биологические активные добавки с селеном, которые применяются для лечения псориаза, аллергических дерматитов, нейродермитов (неоселен в форме раствора для внутреннего применения, солгар селен и селен-актив в форме таблеток). Для введения в полость липосом мы предлагаем использовать наноселен, так как доказана его низкая токсичность в сравнении с другими препаратами селена (селенитом натрия) и лучшее усвоение за счет размера частиц до 60 нм [25]. Применение липосом с содержанием наноселена позволит обеспечить доставку наночастиц селена через кожный барьер, избежать нежелательных побочных эффектов, поддерживать локальную концентрацию препарата, регулировать необходимую дозировку и пролонгировать его действие. Объектом исследования служили раствор наночастиц селена с содержанием селена 1,4 мг/мл и средним гидродинамическим радиусом частиц 25 нм, липосомальная основа MIRRA PROFESSIONAL (соответствует ГОСТу 316952012) и лецитин АртЛайф (соответствует ISO 9001, ISO 22000, GMP). Раствор наночастиц селена был предоставлен Северо - Кавказским федеральным университетом (г. Ставрополь). Исследования проводили на испарителе ротационном ИП-1-ЛТ Labtex, лабораторном ультразвуковом экстракторе НО-230.00 производства компании ООО «Александра-плюс» г. Вологда, лабораторной центрифуге ОПН-0539 производства ОАО «ТНК «ДАСТАН» г. Бишкек, Кыргызская Республика, анализаторе вольтамперометрическом АКВ-07МК производства компании АО «Аквилон» г. Москва. Анализ полученных липосом проводили с помощью микроскопа Биолам Д.11. Микрофотографии выполнены с использованием цифровой насадки DigitalMicroscope 20 MPIX с последующей обработкой фотографий в программе AdobePhotoshop 6.0. Липосомы получали тремя способами: методом инъекции, методом ручного встряхивания и методом обращения фаз.

Получение липосом инъекционным методом (методом впрыскивания). В пробирку, содержащую 1,5 мл раствора наночастиц селена и 3,5 мл фосфатного буфера (рН 7,5), впрыскивали 0,35 мл 5% раствора липосомальной основы в 95% этаноле. Иглу шприца максимально погружали в водную фазу при

постоянном помешивании на магнитной мешалке. Структуру липосом изучали под микроскопом [60]. Полученные липосомы располагаются одиночно, отличаются по размерам, имеют тонкую стенку. Технологический выход продукта составил около 54 %. Получение липосом методом ручного встряхивания. Лецитин в количестве 200 мг растворяли в 100 мл хлороформа в круглодонной колбе роторного испарителя емкостью 200 мл. Колбу подсоединяли к роторному испарителю и при пониженном давлении, создаваемом вакуумным насосом, проводили выпаривание органического растворителя. Давление регулировали таким образом, чтобы не допустить его кипения. После полного удаления хлороформа на стенках колбы образовывалась тонкая пленка липидов. В колбу с пленкой добавляли 5 мл буферного раствора, содержащего 0,2 г наночастиц селена, и выдерживали 1-2 часа при комнатной температуре для набухания фосфолипидов. Затем колбу встряхивали в течение нескольких минут механическим способом. Для этого в колбу вносили стеклянные бусинки и интенсивно перемешивали содержимое колбы скоростной мешалкой. При этом образовывалась взвесь липосом, структуру которых наблюдали под микроскопом.

Полученные липосомы одинаковых размеров, расположены парно, имеют достаточно плотную стенку. Технологический выход продукта составил более 76 %. Получение липосом методом обращения фаз. 100 мг лецитина растворяли в 10 мл смеси эфира с хлороформом в соотношении 2:1 и вносили в круглодонную колбу роторного испарителя. Наноселен в количестве 0,2 г в 3 мл фосфатного буфера pH 7,5 добавляли к раствору лецитина в органической фазе и обрабатывали ультразвуком частотой 16 кГц в ультразвуковом экстракторе в течение 1 минуты. Образовывалась эмульсия, колбу с которой присоединяли к роторному испарителю и при вращении колбы постепенно понижали давление так, чтобы не происходило кипения хлороформа, который полностью удаляли. Затем к образовавшемуся гелю добавляли 5 мл фосфатного буфера (pH 7,5) и встряхивали до образования суспензии [31]. Образование липосом не наблюдалось, что возможно связано с низкой частотой ультразвука

на используемом ультразвуковом экстракторе. Далее проводили микроскопический анализ липосом, полученных разными методами. Липосомы наносили бактериологической петлей на сетку – подложку, покрытую вольфрамовой пленкой. Затем исследуемый препарат контрастировали 1% водным раствором уранилацетата. Материал исследовали на электронном микроскопе при инструментальном увеличении в 50000-80000 раз. Размеры липосом измеряли на электронных микрофотографиях, полученных с микроскопа с увеличением в 50000 – 60000 раз.

Определение процента включения наночастиц селена в липосомы осуществляли вольтамперометрическим методом. Для чего к навеске липосом добавляли 10 мл деионизированной воды, осторожно перемешивали стеклянной палочкой, а затем центрифугировали в лабораторной центрифуге ОПН-0539 при скорости 4000 тыс. оборотов в минуту в течение 5 минут. Надосадочную жидкость декантировали и использовали для количественного определения селена на приборе анализатор вольтамперометрический АКВ-07МК. Проведенные расчеты показали, что уровень связывания (включения) наноселена с липосомами, получаемыми методом встряхивания, составляет порядка 40%. Таким образом, можно сделать вывод, что из трех методов получения липосом наиболее оптимальным является метод ручного встряхивания. Липосомы, полученные этим методом, имеют однородный размер, достаточно устойчивую стенку и более стабильны при хранении. Мультиламилярная структура способствует глубокому проникновению активных ингредиентов и активизации восстановительных процессов кожи.

В последнее время наблюдается огромное внимание к селену, который имеет важное значение для жизни человека, так как он участвует в различных биохимических процессах и является мощным антиоксидантом, повышает иммунитет, снижает риск развития сердечно - сосудистых заболеваний, входит в состав ряда ферментов [18]. Продукты россиян большинства регионов бедны на селен из-за его минимальной концентрации в почве и как итог в растительных продуктах. Поэтому необходимо употреблять пищевые добавки,

содержащие селен. В настоящее время существует несколько видов препаратов неорганического и органического селена. Уточнить, что все соединения селена токсичны, поэтому вполне понятно, что все ученые заинтересованы в поиске новых менее токсичных форм селена. Наноселен с размером частиц менее 41 нм имеет низкую токсичность, что позволяет применять его в дозах, превышающих дневную потребность, без вреда. НЧ селена редко получают диспергированием, в основном с использованием химических методов восстановления соединений селена. В качестве восстановителей обычно используют кислоту аскорбиновую, реже цистеин. В результате окислительно-восстановительных реакций образуется аморфный селен красного цвета с диаметром частиц 100-170 нм [75]. Полученные частицы нестабильны и постепенно агрегируются, выпадая в осадок. Одним из наиболее перспективных методов получения агрегативно стабильных НЧ является восстановление селена из ионных форм в растворах полимеров. Согласно литературе, для высокой стабилизации НЧ используются молекулярные соединения различной природы (поливинилпирролидон, полиэтиленгликоль, гидроксипропилцеллюлоза и др.) [10]. Одним из новейших способов получения наночастиц селена можно считать "зеленый" синтез с использованием глюкозы. Для получения сферических наночастиц размером 20-80 нм использовали селеносульфат натрия и свежеприготовленный раствор глюкозы [84]. В настоящее время для стабилизации НЧ используются природные биополимеры – полисахариды морских водорослей, которые имеют широкий спектр биологической активности, успешно используются. Перспективы использования альгинатов связаны с их свойствами: природным происхождением, низкой токсичностью, биосовместимостью, сорбционной способностью, гелеобразованием [63]. Для дальнейшего использования альгината натрия необходимо установить ряд параметров, характеризующих взаимодействие полисахарида с наночастицами селена, полученными путем восстановления селенита натрия L - цистеином. В связи с этим целью ученых было изучение физико-химические свойства альгината натрия в различных

отраслях промышленности (Германия, Норвегия и США) и его влияние на формирование и стабильность НЧ селена, а также определение размера НЧ селена в альгинатной матрице методом сканирующей электронной и атомно-силовой микроскопии.

В работе ученых использовался альгинат натрия различного производства: Германия (Fluka), Норвегия (биополимер) и США (Algogel 3001, Algogel 6021). Некоторые физико-химические величины были изучены физико-химическими методами альгинатов. Относительная вязкость и критическая концентрация степень образования ассоциации растворов альгината натрия (1,00 г/дл) определяли вискозиметрическим методом (вискозиметр Оствальда, $d=0,56$ мм). Потенциометрическим методом измеряли рН альгинатных растворов и содержание свободных карбоксильных групп. Измерение проводилось на иономере АНИОН 4100 со стеклянным комбинированным электродом. Наночастицы селена были получены восстановлением раствора селенита натрия (ч. ч.) аминокислотой L-цистеином (ч. ч., "Синекс Фарма", Китай) в соответствии с методами, описанные в литературе [75]. Следует отметить, что водные растворы селенита натрия и цистеина не очень стабильны, поэтому они пригодны для использования в день приготовления. Нанобиокомпозит селена и альгината готовили следующим образом: к раствору альгината натрия добавляли раствор цистеина постоянной концентрации (0,05–0,25 г/дл) при перемешивании в течение 20-30 минут. Затем в эту смесь при перемешивании добавляли окислитель-селенит натрия. Концентрация селена оставалась постоянной-0,005 г / дл. Соотношение наноселена и альгината ... 93 натрий ($y=C_{Sel}/C_{Alg}$) находится в диапазоне 0,10–0,02. В результате реакции образуется красновато-оранжевый коллоидный раствор нанобиокомпозита. Оптическую плотность отдельных веществ и нанобиокомпозита селена с альгинатом измеряли с помощью спектрофотометра (СФ-2000, Россия) в кварцевых кюветах ($l=1$ см, $t=20$ °С) в диапазоне длин волн $\lambda=200-700$ нм. Агрегатную стабильность полученных наночастиц селена контролировали фотометрическим методом, основанным на изменении оптической плотности

при длине волны 315 нм (KFC-2, Россия). Размер полученных наночастиц селена и поверхность тонких пленок, полученных из водных растворов полимера и наноселена, определяли с помощью сканирующего мультимикроскопа (СММ-2000, Россия). Используемый мультимикроскоп имеет атомно-силовой микроскоп (АСМ) и сканирующий туннельный микроскоп (СТМ). Выбор режима АСМ определил метод пробоподготовки. Несколько капель раствора нанобиокомпозита наносили на предметное стекло и сушили на воздухе при комнатной температуре. Фрагмент пленки размером 5x5 мм был прикреплен к подставке держателя образца. Сканирование проводилось "мягкими" кантилеверами со скоростью 4 мкм/сек и количеством средних в точке-16, что давало приемлемые результаты при достаточно высокой скорости сканирования. Обработка полученной информации включала выравнивание изображений, применение фильтров и использование программ для статического анализа. В результате был определен размер наночастиц селена и получены изображения рельефа сканируемой поверхности с разрешением до нескольких ангстрем.

На основании измерений оптической плотности, рН и относительной вязкости коллоидных растворов наноселена было установлено, что лучшим стабилизатором среди альгинатов различных производителей является альгинат производства Биополимер (Норвегия). Полученные нанобиокомпозиты стабильны в течение 20-25 дней.

С помощью сканирующей электронной и атомно-силовой микроскопии было установлено, что полученные наночастицы селена в матрице альгината натрия имеют средний диаметр 34 нм (52 %) [51].

1.4. Адресная доставка наночастиц в органы и клетки мишени

Таргетная радионуклидная терапия (ТРТ) в первую очередь основана на концепции доставки терапевтических доз ионизирующего излучения в очаги заболевания с минимальной токсичностью для окружающих нормальных тканей с использованием специфичной для мишени части, включающей

антитело или фрагменты антител, пептиды, нуклеотиды и лиганды с низкой молекулярной массой, связанные с соответствующим радионуклидом. Экспрессия внутриклеточных белков, таких как нуклеолин, на клеточной поверхности опухолевых клеток и опухолевых эндотелиальных клеток стала наиболее распространенной мишенью потому что модальность по своей сути зависит от связывания с доступными мишенями на поверхности клетки, а не от общего уровня экспрессии. Хотя ТРТ представляет собой успешную парадигму лечения целого ряда заболеваний, включая рак, успех этого метода лечения связан со многими проблемами, которые включают отбор и доступность радионуклидов с соответствующим периодом полураспада и наличие средств доставки, способных включать оптимальные уровни активности радионуклидов с благоприятной фармакокинетикой. Кроме того, должны быть идентифицированы подходящие биомаркеры опухоли, которые могут использоваться для направления транспортного средства доставки к целевым объектам. Также должны быть доступны специфические лиганды, нацеленные на опухоль, которые могут быть легко конъюгированы с транспортными средствами доставки. На протяжении многих лет ТРТ прогрессировала быстрыми темпами и испытывала экспоненциальный рост в результате достижений в области биологии опухолей, химии и биоинженерные технологии. Чтобы эффективно достичь целевого участка, радиофармпрепарат должен пройти через несколько биологических барьеров, которые включают кровеносные сосуды, ткани, органы, клетки и даже субклеточные компартменты внутри клетки-мишени. Стратегия таргетирования, основанная на специфичности радиофармпрепарата для очага заболевания в соответствии с его биологической функцией, не только исключает применение всех уровней активности, необходимых для достижения достаточных локальных концентраций, но также должна сводить к минимуму неспецифическую токсичность и другие неблагоприятные побочные эффекты. Некоторые из этих систем используют чрезмерную экспрессию поверхностных маркеров, связанных с раком, на больных клетках или развитие плотной, но

негерметичной сосудистой системы внутри опухоли, образуя основу стратегии таргетирования опухоли. Поэтому важно обеспечить, чтобы радиофармпрепарат проявлял достаточную стабильность во время введения, которая поддерживается в течение необходимого периода времени *in vivo* для достаточной доставки излучения к целевому участку до катаболизма и последующей экскреции. Основная проблема со многими из используемых в настоящее время средств таргетирования опухолей заключается в том, что реагент, направленный на опухолевые клетки, будет затруднен недостаточным количеством опухолевых клеток для агентов в сосудистой сети. Эта проблема особенно заметна при солидных опухолях, которые имеют высокую интерстициальную давление, предположительно, потому, что кровеносные сосуды могут быть “дырявыми” и из-за плохо функционирующих лимфатических сосудов. Радиофармпрепараты, как правило, не проникают дальше, чем на три-пять диаметров клеток из кровеносных сосудов, что может значительно снизить облучение более удаленных опухолевых клеток. Это явление может затем способствовать развитию сопротивления. Несмотря на быстрый прогресс, имеющиеся в настоящее время стратегии таргетирования часто ограничены недостаточной доставкой радионуклидов в места опухоли из-за относительно низкой и гетерогенной поверхности клеток экспрессия рецепторов, а также токсичность, ограничивающая дозу, для нормальных тканей. С целью максимизации терапевтического индекса и минимизации токсичности крайне важно доставить радионуклиды в точное место действия с адекватной дозой и в соответствующие сроки. По этим причинам существует необходимость в разработке новых подходов, которые открывают возможности для множественного распознавания мишеней на раковых клетках, в то же время с возможностью интенсификации переноса радионуклидов с каждым событием распознавания мишеней.

Существует также потенциал для достижения цели, радионуклиды избирательно поступают в более радиочувствительные компартменты внутри пораженной ткани. В данной работе подробно рассматривались перспективы

использования наночастиц (НЧ) в качестве носителей для адресной радионуклидной терапии. Такая стратегия вызвала широкий интерес и особенно привлекательна, поскольку она открывает возможности для преодоления ограничений, связанных с традиционным ТРТ. В то же время эти методы могут позволить лечить заболевания на молекулярном уровне и уменьшить нежелательные побочные эффекты системная доставка за счет увеличения накопления опухоли и повышения эффективности. Основными преимуществами использования НЧ являются возможность создания частиц, функционализированных с широким спектром целевых лигандов и физико-химических свойств. Эта универсальность позволяет создавать агенты, специально адаптированные для каждого применения.

Радионуклидная терапия, основанная на включении радионуклидов со специфическими свойствами излучения в НЧ, представляющая собой гибридную науку, возникающую из разветвлений четырех мощных научных областей, которые включают материаловедение, биологию, радиохимию и медицинские приложения, может представлять собой новую парадигму в эпоху доставки радионуклидов на основе изображений и доставки доз. Эти стратегии эффективно сочетают использование биологических материалов, радионуклидной терапии и инструментов из фундаментальных наук физики, химии, биоинженерии, физиологии, и генетика, и т.д., чтобы создавать мельчайшие синтетические структуры. Эти комбинированные специальности отражают растущую способность к исследованиям за пределами молекулярного уровня, что приводит к получению выгодных результатов, которые окажут значительное влияние, например, на терапию рака. Его больше нет просто обещание, но представляет собой появление новой терапевтической модальности. Успех нанотехнологий в ядерной медицине зависит от специфичности таргетирования опухолей. Доставка радионуклида к целевому участку с наноносителей может происходить с помощью различных механизмов, которые включают диффузию, слияние частиц и клеточную интернализацию, компонент (липид-липид) обмен и конвективный поток,

биолистика или комбинация этих механизмов. Основные преимущества наносистем для доставки радионуклидных платных нагрузок включают возможность подготовки в размерах <100 нм и нацеливаются на определенный участок, избирательно увеличивают локализацию радиофармпрепаратов в опухоли и доставляют требуемую локализованную дозу облучения, сохраняя при этом нецелевую ткань, обеспечивая минимальную утечку радиоактивных веществ во время циркуляции. Способность синтезировать НЧ функционализацией с широким спектром целевых лигандов и физико-химических свойств также важна, и эта универсальность позволяет создавать агенты, специально адаптированные для конкретных применений. НЧ также обладают уникальной способностью получать доступ к ячейкам и даже работать в них, который предлагает возможность НЧ взаимодействовать с субклеточными структурами. Благодаря своим небольшим размерам НЧ могут экстравазировать из внутрисосудистого пространства через слои эндотелиальных клеток и взаимодействуют с клеточными структурами различных тканей; однако они также достаточно велики, чтобы транспортировать высокую полезную нагрузку терапевтических или диагностических агентов. Использование НЧ дает возможность использовать радионуклиды с более низкой удельной активностью из-за больших площадей поверхности. Дополнительное преимущество наночастиц это их способность преодолевать различные биологические барьеры и локализовываться в ткани-мишени. Платформы доставки НЧ обеспечивают многофункциональную емкость, которая предлагает область применения для загрузки нескольких фрагментов, таких как целевые лиганды и терапевтические агенты, с использованием нескольких стадий реакции. Один НЧ также может быть помечен различными радионуклидами для визуализации, а также терапии с сопутствующим присоединением различных целевых лигандов для введения селективности или активных групп для нерадиоактивного мониторинга. Способность загружать больше молекул или радионуклидов на одну частицу, чем обычные носители, является очень уникальной способностью наночастиц,

поскольку иногда более одного типа терапевтического агента или радиоизотопа можно прикрепить. Таким образом, способность переносить несколько потенциально различных целевых лигандов на наночастицу, может обеспечить повышенную аффинность / специфичность связывания рецепторов. Способность НЧ обходить биологические барьеры может повысить эффективность таргетирования. Платформы доставки НЧ позволяют взаимодействовать с биомолекулами на поверхности клеток и внутри клеток таким образом, чтобы это не влияло на поведение и биохимические свойства этих молекул. НЧ, как правило, демонстрируют длительное время удержания крови, начиная от 30 мин до более чем 24 ч, а радиомеченые НЧ остаются стабильными во многих физиологических условиях и выдерживают преждевременную деградацию. Гибкие химические свойства наночастиц позволяют поверхностным модификациям увеличивать период полураспада их кровообращения и улучшать их профиль биораспределения, а использование НЧ с радиометкой может обеспечить возможность предотвращения преждевременного высвобождения радионуклидов с последующим взаимодействием с биологической средой. По этим причинам использование НЧ может улучшить внутриклеточное проникновение и усилить поглощение радионуклиды попадают в отдельные участки тканей, такие как солидные опухоли. НЧ также обладают способностью контролировать фармакокинетику и распределение радионуклидов в тканях, а также интернализацию рецепторов, нацеленных на НЧ приводит к высокой полезной нагрузке радионуклида в клетках -мишенях, что, как ожидается, приведет к эффективному уничтожению опухолевых клеток, которые демонстрируют лишь относительно низкий уровень экспрессии рецепторов. Уникальные химические и физические свойства НЧ также могут включать намагничивание и фотосенсибилизацию, которые обеспечивают дополнительные возможности и функции для улучшения доставки радионуклидов, например, внешнее применение магнитного поля и для мониторинга терапевтического ответа. Включение радионуклидов в НЧ может быть достигнуто различными методами, включая

химическое поверхностное прикрепление радиотрейсера через связь и/или хелатирующую молекулу. Синтез НЧ использует радиомеченые предшественники и диффузию радиоизотопов в НЧ. Они также могут быть получены различными другими методами, включая прямую активацию нейтронов, прямую активацию ионного пучка и имплантацию радионуклидов с отдачей.

Выбор метода в первую очередь зависит от многих факторов, таких как физико-химические и поверхностные свойства НЧ, размер НЧ, способ доставки, который будет принят, продолжительность терапии и другие. В то время как терапевтическая полезность наноносителя лежит на стыке многих дисциплин, выбор НЧ основан на различных критериях и зависит от многих факторов, таких как выбор размера НЧ, поскольку методы нанотехнологий позволяют беспрецедентно контролировать материальный мир на наноуровне, обеспечивающий средства, с помощью которых можно синтезировать материалы, соответствующие желаемым спецификациям, а также характеристикам. Наиболее желательный размер поддерживается до 100 нм, чтобы достичь пораженных опухолью клеток и обеспечить возможность превзойти синусоиду в селезенке и фенестре печени Клетки Купфера (150-200 нм) и размер зазора между эндотелиальными клетками кровеносной системы опухоли (100-600 нм). Химический состав и структура НЧ необходимы для контроля их взаимодействия. Радиофармпрепараты свойства, такие как растворимость в воде, стабильность и т.д., Могут быть запрограммированы и загружены. НЧ должны иметь длительный период полураспада циркуляции, низкую скорость агрегации и длительный срок хранения. Для характеристик поверхности и функциональности они должны демонстрировать высокую дифференциальную эффективность поглощения в клетках-мишенях по сравнению с нормальными нецелевыми клетками. Для достижения желаемой степени биоразлагаемости и биосовместимости желательно, чтобы НЧ были изготовлены из материалов, которые являются биосовместимыми, хорошо характеризуются и легко функционализируются. Для практичности,

эффективности доставки дозы облучения конечного продукта, должна быть благоприятной. Ключевые свойства системы доставки радионуклидов с помощью наноносителей являются: биосовместимость, нужный размер и заряд, чтобы лучше взаимодействовать с хозяином, высокой нагрузкой и защиты нужных молекул гостя, не иметь досрочного освобождения не дойдя до своей цели, стабильности в обращении, и увеличении части принятой дозы, накапливаемой в опухоли. Для того чтобы использовать наноноситель с подходящими характеристиками для радионуклидной терапии, необходимо учитывать несколько факторов. Они включают в себя характеристику и обширную оценку перед проведением экспериментов на животных, поскольку производительность *in vivo* тесно связана с формой, зарядом, модификацией поверхности и размером. Стабильность *in vivo* должна быть скрупулезно оценена с помощью экспериментов на животных, поскольку некоторые НЧ могут быть нарушены в кровотоке. Также чрезвычайно важно, чтобы хелатирование радионуклидов с терапевтическими агентами остались стабильными в течение всего курса лечения. Поэтому усилия должны быть сосредоточены на подготовке агентов на основе НЧ, которые могут обеспечить эффективную, специфичную доставку терапевтических агентов *in vivo* без системной токсичности. Истинная сила радиоактивных терапевтических НЧ заключается в их способности разумно взаимодействовать с болезнетворными процессами, чтобы обеспечить необходимую дозу облучения. Доставка полезной нагрузки радионуклидов в клетки–мишени из наноносителей может происходить путем диффузии, слияния частиц и интернализации в клетки, компонентного (липид - липидного) обмена, биолистика или некоторые другие механизмы, сочетающие эти факторы. Стабильность в циркуляции можно повысить, разработав стратегии, направленные на сокращение связывания белков и уклонение от иммунной системы. Эффективность накопления опухолевых очагов может быть повышена за счет активного таргетирования системы доставки радионуклидов или за счет увеличения экстравазации за счет усиленного эффекта проникновения и удержания (ЭПР). Перспективными

свойствами наноматериалов для таргетной радионуклидной терапии являются их способность концентрировать полезную нагрузку радионуклидов для каждого целевого события молекулярного распознавания в опухоли. Двумя основными механизмами системы доставки радионуклидов НЧ к участкам опухолевой ткани являются специфичное пассивное таргетирование на опухоль и требуемое молекулярное сродство и специфичное активное таргетирование на опухоль для терапии опухоли.

Пассивный таргетинг НЧ при пассивном таргетировании НЧ и радиоактивные полезные нагрузки достигают опухоли через богатую, хаотичную и высокопроницаемую сосудистую сеть опухоли, накапливаются и впоследствии остаются в опухоли из-за отсутствия лимфодренажа. Накопление (НЧ) в опухолях происходит из-за патофизиологических особенностей опухолевых кровеносных сосудов. Когда размер опухоли достигает приблизительно 2 мм³ объем, повышенное интерстициальное давление внутри опухоли, по-видимому, препятствует диффузии необходимых метаболитов и питательных веществ для роста опухоли. Как следствие, состояние клеточной гипоксии инициирует наряду с прорастанием новых кровеносных сосудов из установленной сосудистой сети или ангиогенеза, чтобы облегчить снабжение кислородом и питательными веществами опухолевых клеток для выживания и пролиферации. Неполная сосудистая сеть опухоли приводит к образованию негерметичных сосудов с увеличенными зазорными соединениями от 100 нм до 2 мкм, в зависимости от типа опухоли, ее окружения и локализации. Когда компоненты крови достигают аномального, прерывистого сосудистого русла, фенестрации оказывают незначительное сопротивление экстравазации опухоли интерстиция. Из-за отсутствия хорошо развитой лимфатической системы у таких опухолей время удержания соединения выше, чем у нормальных тканей. Эти особенности обеспечивают эффект повышенной проницаемости и удержания (ЭПР) и стали важным механизмом пассивного таргетирования, а также селективного накопления (НЧ) в интерстициальном пространстве опухолевых клеток. В пассивном таргетинге, НЧ и полезные нагрузки могут

достигать опухоли и впоследствии оставаться в опухоли из-за отсутствия у нее лимфодренажа. (НЧ) с оптимальным размером частиц дают возможность более эффективно воздействовать на сосудистую сеть опухоли там, где эндотелиальный барьер имеет открытую фенестрацию, поскольку нормальные ткани имеют плотное эндотелиальное соединение. Одним из способов повышения ЭПР является усиление стабильности наноносителя, чтобы увеличить время циркуляции, чтобы у него было больше возможностей пройти целевую позицию и собраться вместе. Уровни накопления опухоли зависят от таких факторов, как размер НЧ и протекающие сосуды, поры и период полураспада циркуляции крови, так как более длительный период полураспада приводит к более высокому накоплению. Кроме того, степень васкуляризации опухоли, поскольку накопление меньше в плохо васкуляризованных опухолях, и степень ангиогенеза, поскольку плохое накопление в небольших доангиогенных опухолях или крупных некротических опухолях, имеют решающее значение. Среди различных требований и факторов, влияющих на эффект ЭПР, наиболее важным является наличие размера молекулы более 40 кДа. Биосовместимость (НЧ) также играет преобладающую роль. Наноноситель не должен взаимодействовать с компонентами крови или кровеносными сосудами, не проявлять антигенности, сохраняться ретикулоэндотелиальной системой (RES) и не подвергаться лизису клеток. Хорошо известно, что люминальная поверхность кровеносных сосудов имеет отрицательно заряженную поверхность из-за присутствия многих сульфатированных и карбоксильных сахаров. Эта характеристика диктует, что наноноситель с высокими положительными зарядами будет неспецифически связываться с люминальной поверхностью сосудистых стенок и быстро очищаться от кровообращения. Гидрофобность (НЧ) играет важную роль. Увеличение гидрофобности НЧ не только приведет к повышению аффинности к клеточной мембране, но и продемонстрирует гораздо более быстрое поглощение эндоцитоза параллельно с увеличением константы клеточной ассоциации примерно в 10-100 раз. Однако подходы к пассивному таргетированию

страдают от ограничений, которые, как ожидается, преграждают путь к широкомасштабной пользе. Из-за больших различий в степени васкуляризации опухоли и пористости опухолевых сосудов при различных типах и статусе опухоли нацеливание на раковые клетки с использованием эффекта ЭПР невозможно во всех опухолях. Интернализация НЧ также затрудняется уменьшением числа специфических взаимодействий раковых клеток. Поскольку пассивный процесс накопления не оптимально ориентирован на биологический рецептор, для получения достаточной доставки лекарственного средства требуется длительный период полураспада циркуляции и в значительной степени зависит от размера и поверхностного заряда НЧ. Таким образом, пассивное таргетирование иногда рассматривается как “нетаргетинг”, поскольку НЧ, несущие радиоактивную полезную нагрузку, распределяются через негерметичную сосудистую сеть и определяются биологической средой, а не активным распознаванием опухолей [64].

Активный таргетинг НЧ предназначен для того, чтобы обойти указанные ограничения. В то время как основной механизм активного таргетирования заключается в распознавании лиганды его целевым субстратом, специфичность таргетирования и способность доставки являются двумя важными аспектами, определяющими эффективность системы активного таргетирования. Специфичность таргетинга диктуется лигандом, а также свойство НЧ определяется биораспределением функционализированного лиганда НЧ и тем, как конъюгированный лиганд и система НЧ взаимодействуют с нецелевыми молекулами и клетками. Доставка полезной нагрузки радионуклидов на конкретный участок напрямую связана с материалом и структурой НЧ. Активное целеуказание увеличивает вероятность перенаправления давно циркулирующих частиц на назначенные, но доступные цели. В отличие от пассивного нацеливания, в этом случае лиганды или устройства самонаведения, которые специфически связываются с поверхностными эпитопами или рецепторами на целевых участках, соединяются с поверхностью длительноциркулирующих носителей. Стратегии активного нацеливания на

опухоли, в первую очередь, включают нацеливание на поверхность мембранных белков, которые регулируются в раковых клетках. Активное таргетирование предлагает дополнительный приёмник для платформы НЧ, поскольку экспрессия молекул-мишеней обычно отличается тем, что мишень высоко экспрессируется в опухолевых клетках, но экспрессируется на низких уровнях в других типах клеток сосудистой системы. Поскольку площадь поверхности сосудистой сети намного больше, чем опухоль, активное связывание в ткани может быть значительным даже для мишеней, которые экспрессируются на относительно низких уровнях. Кроме того, целевые фрагменты сами по себе могут быть мишенями для рецепторов на фагоцитарных клетках. В свете предполагаемой необходимости поощрения и усиления специфических взаимодействий между НЧ и микроокружением поверхность частиц должна быть сопряжена с целевыми фрагментами, которые специфически распознаются целевыми клетками. Поскольку avidность НЧ диктуется плотностью лигандов, подходы, используемые для введения лигандов на поверхность НЧ, представляют собой краеугольный камень успеха активно нацеленных систем. Стабильность связи лиганд–НЧ это ключевой фактор, определяющий, как частица сохраняет целевую часть на своей поверхности. В то время как ковалентное присоединение лиганда является предпочтительной стратегией, физическая адсорбция с использованием комплексов аффинности также может использоваться в каждом конкретном случае. Из-за различных физико-химических свойств органических и неорганических материалов тип используемых НЧ будет определять сложность стадии конъюгации лиганды [84].

Фототераностические агенты широко исследуются для диагностической визуализации и лечения таких заболеваний, как рак, с помощью фотодинамической терапии (ФДТ) [88,108]. После системной доставки терапевтически неактивный фототераностический агент предпочтительно нацеливается на место заболевания и накапливается там. При последующей ФДТ или освещении проникающим в ткань светом фототераностический агент

взаимодействует со светом, позволяя визуализировать пораженную ткань. Свет также активирует химические вещества в фототераностическом агенте для создания эффекта уничтожения клеток. Фототераностическая сущность, как правило, представляет собой наноразмерную комбинацию диагностических визуализирующих агентов, терапевтических агентов и возможных агентов, нацеленных на очаг заболевания. Наночастицы общего диапазона размеров 1-100 нм обычно используются в качестве визуализирующих агентов, а также для поддержки других необходимых молекул фототераностического агента. Освещение проникающим в ткани светом вызывает терапевтически неактивные, относительно нетоксичные фотосенсибилизаторы, которые присутствуют в фототераностическом агенте для генерации активных форм кислорода. Сочетание диагностических, терапевтических и целевых компонентов в одном агенте обеспечивают быстрое лечение и сокращают количество этапов, связанных с лечением. Лечение может быть высоко персонализированным или адаптированным к индивидуальным потребностям. Фототераностика наиболее часто используется в визуализации и лечении рака. Было показано, что и в лечении некоторых микробных инфекций. Предпринимаются попытки разработать фотодинамическое лечение некоторых сердечно - сосудистых заболеваний с помощью фототераностических средств. Разработка и оценка фототераностических агентов требуют знаний в области медицины, химии, биологии, физики и инженерии [122]. В этой области ведутся обширные исследования, о чем свидетельствуют недавние публикации [125].

Большая поверхность НЧ позволяет прикреплять агенты с различными функциональными возможностями. Таким образом, к одной и той же наночастице может быть присоединен целевой агент (например, антитело, пептид, аптамер, малые молекулы), диагностический или визуализирующий агент (например, флуорофор, контрастное вещество) и один или несколько типов терапевтических молекул (например, желаемые лекарственные средства). Агент таргетинга необходим для направления наночастицы к пораженному

участку. В качестве целевых агентов могут использоваться различные антитела, соответствующие заболеванию. Для наночастицы требуется визуализирующий агент визуализироваться в биологической системе. Флуорофор может служить средством визуализации или диагностики. Наконец, один или несколько типов лекарств (в зависимости от заболевания-мишени) прикрепляются к наночастице, чтобы создать самодостаточную сущность, способную к таргетированию, визуализации и терапии. Полученный многофункциональный наноагент сначала нацеливается на больную область с помощью антитела. После локализации на мишени функция визуализации используется для отображения местоположения пораженного участка с прикрепленным наноагентом. За этим следует локализованное лечение с использованием прилагаемых препаратов. Термин "тераностический", представляющий собой комбинацию "терапевтического" и "диагностического", впервые был упомянут Фанкхаузером в 2002 году. Тераностическая платформа размером с наночастицу может быть изготовлена из различных наночастиц, включая углеродные наночастицы, полимерные наночастицы, липосомы, квантовые точки, наночастицы кремнезема и оксида железа, дендримеры и наночастицы благородных металлов (например, серебро, золото). Среди многих вопросов, которые необходимо учитывать при подготовке подходящего нанотераностического агента, наиболее важными являются размер частиц и их биосовместимость [94].

Наночастицы предоставляют интерес в возможности доставки лекарств из-за широкого спектра их оптических и магнитных свойств, их небольшого размера и особенностей поверхности, которыми можно легко манипулировать. Наночастицы могут быть изготовлены для контролируемого и устойчивого высвобождения лекарственного средства, как во время транспортировки, так и в месте назначения. При опосредованной наночастицами доставке лекарственного средства, распределении и последующем выведении лекарственного средства из организма может контролироваться для усиления терапевтического эффекта и уменьшения побочных эффектов. Однако

токсичность и безопасность использования наночастиц требуют тщательного рассмотрения [117] для применения в естественных условиях. Различные режимы визуализации могут использоваться в сочетании с наночастицами, как описано ниже. Для визуализации часто используются МРТ-агенты на основе лантаноидов [65]. Суперпарамагнитные наночастицы оксида железа (СПИОНЫ) также широко используются в клинических приложениях. Радионуклиды несущие вызывают все больший интерес [82]. Радионуклиды, такие как индий-111 октреотид, используются для визуализации перед лечением некоторых видов рака. Флуоресцентная визуализация Флуоресцентные материалы для визуализации включают квантовые точки [126] и другие флуоресцентные молекулы, такие как родаминовые и цианиновые красители. Основным преимуществом использования флуоресценции в качестве диагностической платформы является яркость изображения, что позволяет легче выявлять опухоли *in vivo*. Ультразвуковая визуализация Контрастность или разрешение изображения в обычном ультразвуковом визуализация может быть улучшена с помощью наночастиц или нанодроплетов для локализации опухоли.

Комплекс наночастиц визуализирующих агентов и терапевтических средств распознает целевое место (место заболевания) использование агента таргетинга. Различные типы аффинных лигандов используются в качестве агентов таргетинга, как описано далее. Антитела являются наиболее часто используемыми целевыми агентами в тераностике. Антитела распознают специфические рецепторы в месте заболевания и связываются с этими рецепторами. Например, определенные типы раковых опухолей продуцируют специфические рецепторы, которые могут стать мишенями антител, повышенных специально против этих рецепторов [87]. Недостатком является то, что антитела могут разлагаться протеолитическими ферментами *in-vivo*.

Подобно антителам, пептиды, сконструированные для связывания со специфическими ферментами и другими целевыми фрагментами, могут быть прикреплены к наноагенту, чтобы позволить ему целенаправленно

воздействовать на пораженный участок. По сравнению с антителами пептиды, как правило, меньше и легче синтезируются. Как и антитела, пептиды склонны к протеолитической деградации [68].

Фототераностический агент либо сам по себе представляет собой наночастицу с функциями визуализации и терапии, либо включает наноматериалы в качестве носителей изображений и терапевтических агентов, которые могут быть активированы в присутствии света/лазера определенной длины волны. Высокая удельная площадь поверхности позволяет наночастице поддерживать большое количество терапевтических молекул, визуализирующих агентов и целевых фрагментов. Кроме того, поверхность может быть покрыта стабилизирующими агентами (например, полиэтиленгликолем) для повышения стабильности *in vivo* и биосовместимости. Наночастицы, используемые в фототераностике, могут быть чрезвычайно разнообразными, включая квантовые точки (т.е. полупроводниковую частицу, которая настолько мала, что проявляет квантово-механические свойства), наночастицы металлов, липосомы, дендримеры, углеродные нанотрубки, частицы кремнезема и оксида железа. *In vivo* эффективность фототераностика определяется такими факторами, как размер частиц и функционализация поверхности. Несколько терапевтически значимых молекул могут переноситься одной наночастицей, или наноносителем. Наночастицы могут быть цитотоксичными, но их можно сделать биосовместимыми, покрыв их другими молекулами [123]. Такие покрытия повышают их выживаемость *in vivo*. Некоторые наночастицы металлов взаимодействуют со светом и, следовательно, особенно подходят для использования в фототераностических агентах. Наночастицы металлов, таких как золото и серебро, демонстрируют поверхностный плазмонный резонанс (SPR): То есть поверхностные электроны частицы коллективно колеблются при освещении светом с частотой, соответствующей частоте собственных колебаний электронов. Поверхностный плазмонный резонанс влияет на отраженный свет и сам зависит от природы молекул, адсорбированных на

поверхности. Размер и форма наночастицы влияют на поверхностный плазмонный резонанс, позволяя настраивать ее на определенные длины волн света. Безызлучательный распад поверхностных электронных колебаний преобразует поглощенный свет в тепло, вызывая фототермический эффект. Поверхностный плазмонный резонанс и связанные с ним фототермические эффекты могут быть использованы, например, для преобразования неактивного соединения в активное лекарственное средство. Фототермический эффект может использоваться сам по себе для разрушения или удаления пораженной ткани. Поверхностный плазмонный резонанс наночастиц металлов с большей длиной волны (например, красное или ближнее инфракрасное поглощение) позволяет их оптически визуализировать. Наноразмерные частицы, связанные с антителами, были использованы для нацеливания на клетки рака легких [98]. Полимерные наночастицы, содержащие металл, способный к SPR, или флуоресцентный краситель, могут быть оптически визуализированы. Красители, пригодные для фотоизображения, включают индоцианиновый зеленый, диалкилкарбоцианиновые флуорофоры и цианин-7. Использование оптических зондов с ближней инфракрасной флуоресценцией далее обсуждается Хильдербрандом и Вайследер [83]. Фототермический эффект декапируемого металла может быть использован для модулированного высвобождения лекарственного средства из полимерной структуры, инкапсулирующей такую металлическую наночастицу. Для достижения целевой специфичности можно использовать металлическую наночастицу, покрытую биосовместимым полимером, поддерживающим целевой агент. Полимерные дендримеры, макромолекулы нанометрового масштаба с многочисленными ветвящимися структурами, исходящими из центральной области ядра, могут быть использованы для создания фототераностики путем связывания фотосенсибилизаторов, визуализирующих агентов и нацеливания фрагментов на ветви. Углеродные нанотрубки, легированные другими материалами, могут быть использованы в фототераностике. Наполненные металлом углеродные нанотрубки потенциально полезны, но биосовместимость

углеродных наноструктур требует дальнейшего изучения. Наночастицы некоторых неорганических материалов могут быть использованы в фототераностике [98]. Например, фототермический эффект биосовместимого титана оксидные нанотрубки перспективны для визуализации и терапии. Также обсуждалось потенциальное использование нанографена в тераностике. Для получения биосовместимых нанотераностиков были разработаны различные методы. Визуализирующие и терапевтические фрагменты могут быть инкапсулированы наночастицей во время синтеза. В качестве альтернативы эти фрагменты могут быть прикреплены к поверхности наночастицы.

При системной доставке фототераностический агент подвергается различным биологическим воздействиям в организме и подвержен повреждению. Понимание потенциальных повреждающих механизмов *in vivo* имеет важное значение для разработки эффективных фототераностических агентов. Повреждение может быть вызвано компонентами крови и попаданием в организм моноцитов. Доставка наноагента неповрежденным в больную ткань может быть сложной задачей. Биосовместимые поверхностные покрытия могут быть использованы для улучшения доставки к целевому участку. После инъекции фототераностик быстро распространяется по организму через кровообращение. Наночастицы с гидродинамическим диаметром менее 5 нм легко экстравазируются через эндотелий, выстилающий кровеносные сосуды и систему кровообращения. Частицы проникают в мельчайшие капилляры, которые обычно имеют диаметр около 5 нм. Клиренс или элиминация наночастиц из организма также сильно зависит от их размера. Конкретные механизмы очистки были обсуждены в литературе. Некоторые виды рака особенно поддаются визуализации и фотодинамическое лечение с помощью фототераностики. Непрерывный рост раковых клеток приводит к тому, что кровеносные сосуды в раковой ткани расширяются и становятся негерметичными. Это облегчает экстравазацию фототераностика из кровеносного сосуда в окружающую опухолевую ткань. Плохой лимфодренаж из области опухоли приводит к задержке фототераностика в опухолевой ткани.

Это явление экстравазации и удержания наночастиц известно как эффект повышенной проницаемости и удержания (ЭПР). Доставка и удержанию фототераностического агента на целевом участке способствует эффект ЭПР и дополнительно усиливается при использовании специфических целевых агентов. Фототераностическая наночастица может проникать в клетку с помощью различных механизмов. Например, положительно заряженные молекулы на поверхности конкретного нанотераностика могут взаимодействовать с отрицательно заряженными молекулами на поверхности клетки для интернализации наноагента. Альтернативно, проникающие в клетку пептиды или антитела, прикрепленные к наноагенту, могут быть использованы для нацеливания на клетку и содействие интернализации [64]. Фагоцитоз еще один возможный механизм интернализации наночастиц. Интернализация наночастиц приводит к образованию эндосом, которые доставляют наноагент в другие части клетки.

Фотодинамическая терапия ФДТ свет используется для локального получения эффекта уничтожения клеток с использованием в основном нетоксичного фотосенсибилизатора. В отличие от других системно вводимых препаратов, локализованный убивающий эффект ограничивает повреждение целевой области, и любые побочные эффекты терапии сводятся к минимуму [112]. Использование фотосенсибилизаторов в сочетании с наночастицами лучше, чем использование наночастиц, связанных с активным лекарственным средством, поскольку последнее будет широко распространяться в своей токсичной форме. Как лечебная процедура ФДТ менее рискованна по сравнению с хирургическим вмешательством и обычной химиотерапией. Фотосенсибилизаторы состоят из различных типов светопоглощающих хромофоров. Как правило, фотосенсибилизатор активируется светом до молекулы, которая взаимодействует с кислородом в ткани, чтобы генерировать активные формы кислорода (АФК) для уничтожения опухолей. Сам фотосенсибилизатор в основном нетоксичен. Чтобы действовать в качестве фотосенсибилизатора, молекула должна сильно поглощать свет либо в видимой

области спектра, либо в ближней инфракрасной области . Ближний инфракрасный свет обладает особенно высокой способностью проникать в ткани. Методы визуализации тканей, связанные с фототераностикой, включают оптическую визуализацию, позитронно-эмиссионную томографию, оптическую когерентную томографию, фотоакустическую визуализацию и другие. Оптическая визуализация основана на обнаружении света, проходящего через ткань. Методы визуализации рака рассматриваются в других работах. Фототераностический агент может включать два или более типов контрастных агентов, чтобы обеспечить визуализацию несколькими методами. Такая возможность мультимодальной визуализации улучшает диагностику и функции мониторинга. Например, комбинация оптической визуализации и магнитно-резонансной томографии полезна для определения местоположения опухоли и количественной оценки ее размера. Мультимодальная визуализация может быть использована для мониторинга активности ферментов опухоли и выявления атеросклероза в сосудистой системе [98].

2. Экспериментальная часть

2.1. Характеристика научно исследовательской базы

Исследования проводились на кафедре «Микробиология, биотехнология и химия» Саратовского государственного аграрного университета в научно-исследовательской лаборатории.

Лаборатория имеет современное оборудование, требуемое для проведения исследований, высокоэффективный жидкостной хроматограф с УФ детектором, лиофильную сушку, роторный испаритель, магнитные мешалки, спектрофотометры и флуоресцентный микроскоп, раковину, вытяжной шкаф, используемом при работе с щелочами, кислотами и другими ядовитыми жидкостями. Также, лаборатория оснащена всеми необходимыми реактивами и химической посудой.

В лаборатории соблюдаются все требования федеральных законов в сфере экологии. Они беспрекословно выполняются и обеспечивают соответствие нормам и стандартам. Природоохранная деятельность лаборатории соответствует «Закону об охране окружающей среды».

При испарении в воздушное пространство лаборатории могут попадать химические вещества, оказывающие вредное воздействие на организм человека, такие как щелочи и кислоты. Для предотвращения этого в герметически закрытых сосудах хранятся все химические реактивы, манипуляции с ними проводятся исключительно под вытяжным шкафом. Количество вредных веществ в воздухе лаборатории не превышает норм, установленных ГОСТ 12.1.005-88. Атмосферный воздух в обычных условиях не имеет значения в распространении патогенных инфекций бактериальной и вирусной природы. Большую роль в распространении аэрогенных инфекций играет воздух закрытых помещений [48].

Нормативы содержания в воздухе микроорганизмов - продуцентов разработаны в основном для воздуха рабочей зоны промышленных предприятий

микробиологического синтеза. Максимальная величина ПДК микроорганизмов - продуцентов в воздухе рабочей зоны ограничивается 50000 кл/м³, в атмосферном воздухе – 5000 кл/м³.

В лаборатории нет условий, при которых возможны залповые и аварийные выбросы.

Источником водоснабжения лаборатории является городская водопроводная сеть. Вода расходуется на приготовление растворов химреактивов, на мытье лабораторной посуды и инструментов, на хозяйственно-бытовые нужды, на противопожарные цели. Предварительное кондиционирование воды не проводится.

При проведении данной работы необходимо строго соблюдать инструкцию по технике безопасности работы в лаборатории, которая разработана на основании государственных нормативных требований охраны труда. Данные требования учитывают вредные и опасные условия труда, исключают вероятность получения профзаболеваний и травм, обеспечивают безопасную деятельность на рабочем месте при условии выполнения каждым работником стандартов и нормативной документации: ГОСТ ССБТ (государственный стандарт системы стандартов безопасности труда); СанПиН (санитарные правила и нормы); ПОТ (правила охраны труда); НПБ (нормы пожарной безопасности); ПБ (правила безопасности) и т.п.

Каждый сотрудник перед началом работы обязан ознакомиться с техникой безопасности, пройти инструктаж по охране труда, медицинский осмотр и не иметь противопоказаний по состоянию здоровья. Для оказания первой медицинской помощи в лаборатории должна быть аптечка. Перед началом работы у сотрудника должны иметься средства индивидуальной защиты для предотвращения заражения и прямого попадания вредных веществ на кожу: халат, резиновые перчатки, чепчик, сменная обувь или бахилы.

Каждый сотрудник должен соблюдать правила пожарной безопасности. В лаборатории должны иметься первичные средства пожаротушения: огнетушители, ящик с песком, автоматические извещатели системы пожарной

сигнализации [24]. В процессе работы сотрудник должен соблюдать правила личной гигиены: тщательно мыть руки с мылом. В лаборатории категорически запрещается принимать пищу, курить, вносить посторонние вещи (верхнюю одежду, обувь).

Перед тем, как начать работу в лаборатории, необходимо провести уборку помещения. При проведении работы следует держать максимально закрытыми дверцы, створки и заслонки вытяжных шкафов.

По завершении работы необходимо привести рабочее место в порядок: провести уборку и проветрить помещение.

Перед тем как выйти из лаборатории следует снять средства индивидуальной защиты и халат, затем тщательно помыть руки с мылом и выключить электроприборы из сети.

Правила безопасности в лаборатории при работе с биологическими объектами:

1. Необходимо четко следовать инструкциям для лабораторных занятий.
2. Запрещается есть или пить воду в лаборатории.
3. Работа с биологическим материалом должна проводиться только с помощью инструментов.
4. При случайном попадании биологического материала (особенно микроорганизмов) на стол, руки необходимо провести обработку дезинфицирующим раствором (например, хлорамином).
5. После работы тщательно вымойте руки с помощью дезинфицирующих средств (моющих средств).

Меры предосторожности при работе с лабораторными животными:

Прежде всего, работники должны быть защищены от естественных инфекционных заболеваний животных и от воспроизводимых на них экспериментальных инфекций, возбудители которых патогенны для человека.

Наиболее распространенной естественной инфекцией среди лабораторных животных является сальмонеллез. Инфицированные люди переносят заболевание в желудочно-кишечной или брюшной

(генерализованной) форме. Листерия, псевдотуберкулез, туберкулез и туляремия также опасны для людей.

Поскольку многие инфекционные заболевания животных протекают в бессимптомной персистирующей форме, животных следует периодически осматривать.

Источником инфекции человека могут быть экспериментально зараженные животные и их эктопаразиты. Профилактика заражения людей от животных проводится с учетом возможного пути передачи этого возбудителя.

Во всех химических лабораториях вентиляция должна полностью обеспечивать сохранение гигиенических условий работы при наибольшей нагрузке производственного помещения.

Оборудование

При проведении исследований было использовано следующее современное оборудование: магнитная мешалка, лиофильная сушка, пипет дозатор, центрифуга лабораторная Sigma-202МК Refrigerated, фирмы "Sigma" (США); MicroCC-20 Plus (ветеринарный) - автоматический гематологический анализатор на 20 параметров с дифференциацией лейкоцитов на 3 популяции и построением 3 гистограмм; стерилизатор воздушный ПП-40-Ох "ПЗ", производство "Касимовский приборный завод" (Россия); холодильник; вентилятор; поляризационно-интерференционный микроскоп Biolar PI, фирмы "PZO" (Польша); аналитические весы Explorer Pro EP214С, фирмы "Ohaus Europe" (Швейцария); лабораторные электронные весы ВК-300, фирмы "ЗАО Масса-К" (Россия) и другие приборы.



Рисунок 2.1 - Весы



Рисунок 2.2 - Магнитная мешалка



Рисунок 2.3 - MicroCC-20 (ветеринарный) - автоматический гематологический анализатор

2.2. Синтез наночастиц из дихлордиацетофенонилселенида

В стеклянную колбу объемом на 500 мл наливаем ИПС 500 мл, затем вносим 57,72 г поливинилпирролидона. Ставим нагреваться на мешалку при температуре 50 градусов. После полного перемешивания вносим 28,86 г дихлордиацетофенонилселенида, смесь перемешивается при 1000 оборотах в минуту. Засаекаем 40 минут. После берём высокий стеклянный лабораторный стакан объёмом 2000 мл, добавляем полученный раствор и доводим дистиллированной водой до 2000 мл.

После приготовления образца с нано Se мы исследуем ТСХ. Тонкослойная хроматография (ТСХ) – это хроматографический метод, основанный на использовании тонкого слоя адсорбента в качестве неподвижной фазы.

Далее полученный раствор ставим на заморозку в морозильную камеру и после отправляем на лиофильную сушку. Размер наночастиц Se составил 1-2 нм

2.3. Премедикация

Перед введением иммуноглобулина imG предварительно проводится премедикация. Она состоит из Димедрола, Анальгина и Преднизолонa. Каждый

препарат разводим 1:1 в дистиллированной воде из-за сложности дозирования, т.к. на 1 мышь приходится 5 мкл. каждого средства.

Вводим преднизолон внутримышечно 10 мкл. на 1 лабораторную мышь, соблюдая технику безопасности.

Главное условие, введение преднизолона отдельным шприцем, потому что он несовместим с другими препаратами.

Растворы анальгина и димедрола набираем в один инсулиновый шприц и вводим по 20 мкл. (на одно животное) внутримышечно, соблюдая технику безопасности. По правилам, после введения необходимо выждать 30 минут перед следующими манипуляциями.

2.4. Введение иммуноглобулина imG

Иммуноглобулин imG вводим внутрибрюшинно с соблюдением всех санитарных норм и правил. Доза в растворе при концентрации (50мг/мл) - 100 мкл. на одно животное из расчёта 400 мкг/кг веса. Вводим препарат в течение 30 секунд, предварительно разведя его 1:1 в дистиллированной воде или с раствором наноселена.

2.5. Подготовка и введение раствора наночастиц селена

Для приготовления раствора наночастиц берём Нано Se - 0,0175 г. и 10 мл. дистиллированной воды. Взвешиваем Наночастицы в пенициллиновом флаконе и заливаем дистиллированной водой. Плотно закрываем и перемешиваем до полного растворения Нано Se.

Вводим 100 мкл. раствора наноселена на одну мышь (внутрибрюшинно) это 0,0175 мг наночастиц = 7мг/кг веса.

2.6. Подготовка и введение Раковых клеток (EPNT-5)

Соблюдая технику безопасности, пробирку с клеточной линией центрифугируем 5 минут при 2500 об/мин, далее, соблюдая стерильность, удаляем надосадок до 2 мл, осадок ресуспендируем без пузырей. Взвесь клеток

с концентрацией 10^{-7} отбираем в шприц и вводим подкожно. Группам без введения иммуноглобулина imG вводим 100 мкл. на одно животное. Группам с иммуноглобулином imG вводим 200 мкл. на одно животное.

3. Результаты исследований и их анализ

Объектом исследования послужили лабораторные животные (мыши), которым были привиты раковые клетки (EPNT-5). Была проведена работа по формированию опытных и контрольной группы животных. На момент исследований животные были клинически здоровы.

Исследования выполнялись согласно «Правилам лабораторной практики в Российской Федерации» (Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 708н от 23.08.2010 г.). Эксперименты на животных проводились в соответствии с правилами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей.

Исследования осуществлялись согласно утверждённому письменному протоколу и в соответствии со Стандартными операционными процедурами исследователя (СОП).

Предметом исследования были наночастицы селена, которые вводили для оценки их противоопухолевой активности. Также дополнительно использовали иммуноглобулин imG.

Все животные подвергались обследованию, которое включало в себя клиническое, микробиологическое и лабораторное исследование.

Исследования проводились на мышах, они были разделены на:

1 группа - Положительный контроль состояла из 5 клинически здоровых животных;

2 группа - Отрицательный контроль состояла из 3 животных - раковые клетки (EPNT-5) вводили подкожно в область холки;

3 группа - опытная состояла из 5 животных - раствор наноселена (0,75 мг/мл) вводили внутривентриально, 1 раз сразу же после введения раковых клеток (EPNT-5);

4 группа - опытная состояла из 3 животных - раствор наноселена (0,75 мг/мл) и иммуноглобулин imG вводили внутривбрюшинно, 1 раз, сразу же после введения клеточной линии (EPNT-5);

5 группа - опытная состояла из 3 животных - иммуноглобулин imG вводили внутривбрюшинно, 1 раз, сразу же после введения раковых клеток (EPNT-5).

За время исследования мыши не проявляли видимой реакции на вводимые им препараты. В течение 13 дней изменений не наблюдалось.

На 15 день исследования были обнаружены образования у групп №2, №3 и №4. У группы №5 явные изменения не наблюдались.

У 2 группы наблюдали наиболее выраженные образования. Размерность составляла от 0,4 до 1,6 см. в диаметре. Форма круглая, границы ровные и чёткие (см. рисунок 3.1).



Рисунок 3.1 - Новообразования у группы №2. День 15

У группы №2 процент образований был на порядок меньше, в сравнении с контрольной группой. Образования круглой формы с оформленными краями. Их размерность варьировалась в пределах от 4 до 8 мм. (см. рисунок 3.2).

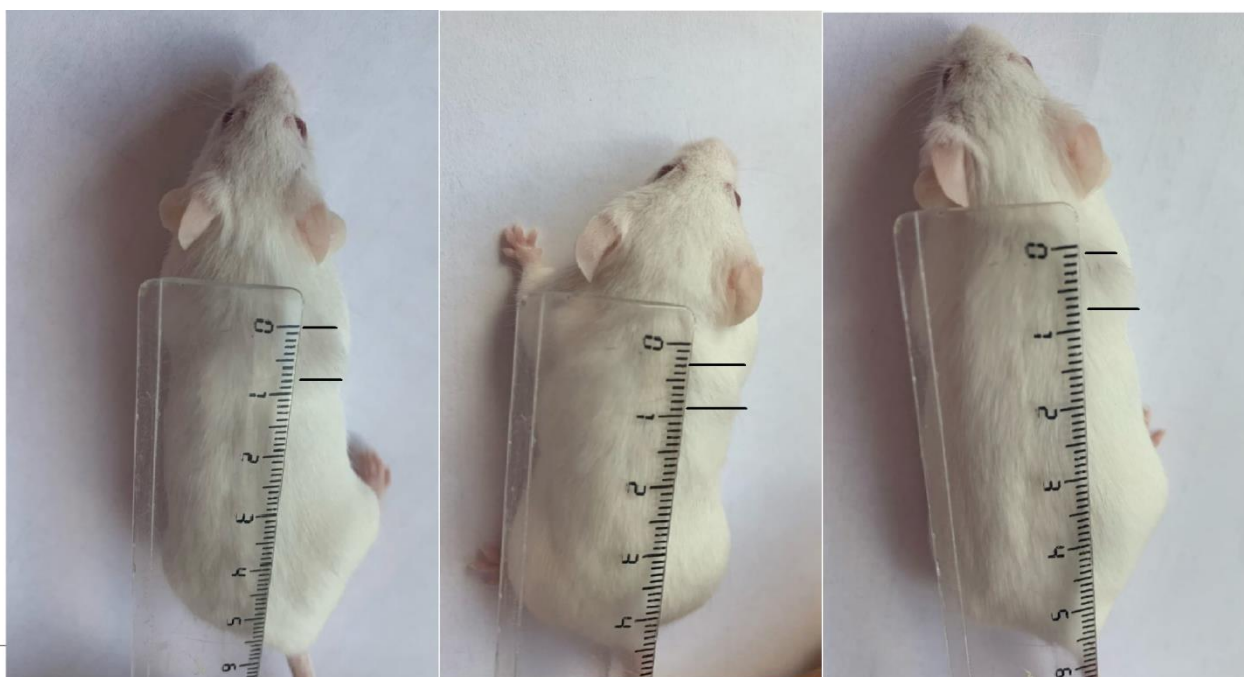


Рисунок 3.2 - Новообразования у группы №3. День 15

У группы №4 процент образования был на уровень выше, чем у группы №3. Новообразования имели различную форму, в основном они имели размер в пределах 7- 10 мм. В особых случаях достигали до 2 см. в диаметре. Но образования отчётливо выделялись на фоне остальных групп разнородной формой (см. рисунок 3.3).



Рисунок 3.3 - Новообразования у группы №4. День 15

На 18 день исследования образования прогрессировали пропорционально, равномерно (см. рисунок 3.4, 3.5, 3.6). Также у одной мыши из группы №5 появилось новообразование (см. рисунок 3.7)

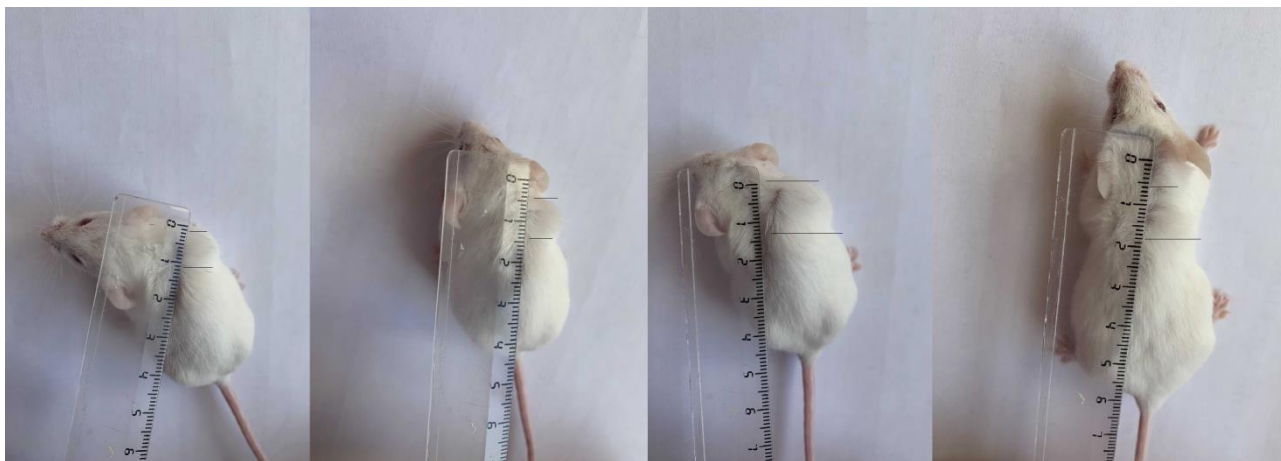


Рисунок 3.4 - Новообразования у группы №2. День 18



Рисунок 3.5 - Новообразования у группы №3. День 18

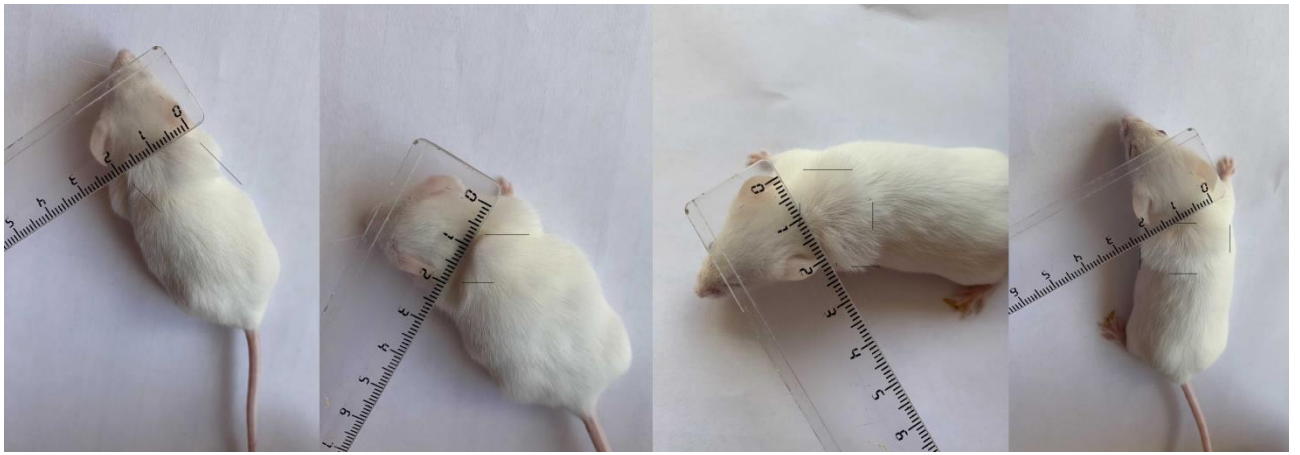


Рисунок 3.6 - Новообразования у группы №4. День 18

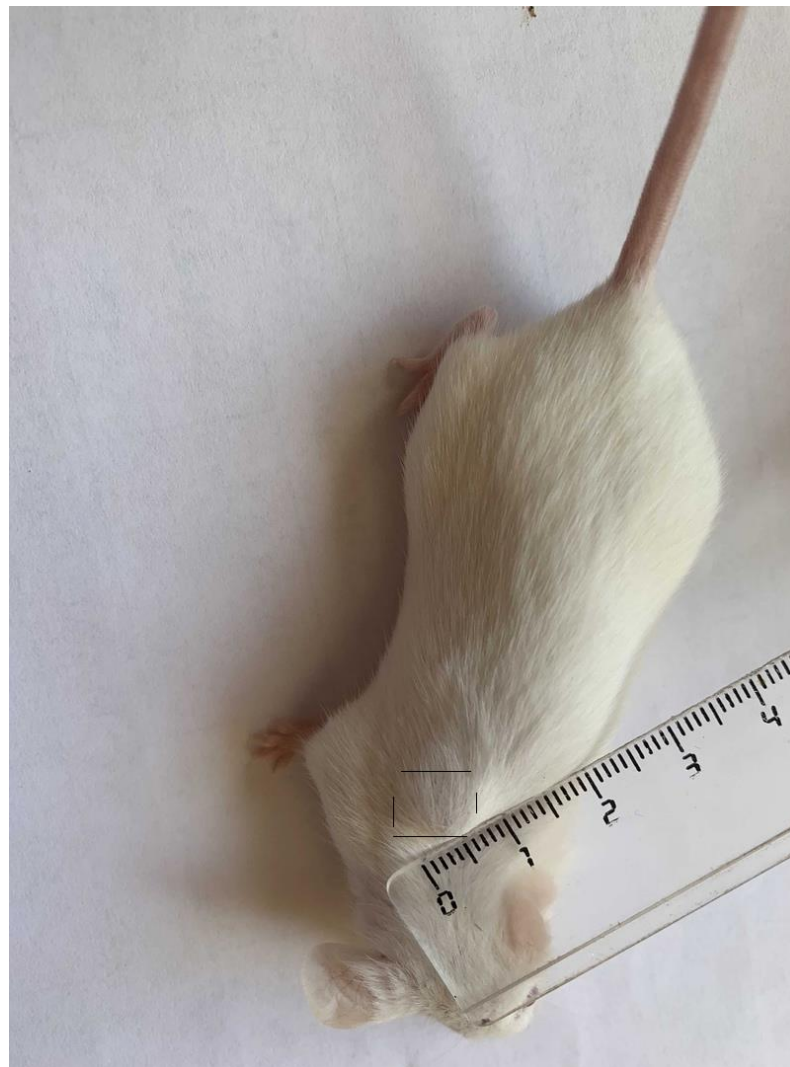


Рисунок 3.7 - Новообразования у группы №5. День 18

К концу эксперимента необходимо было оценить изменения крови и внутренних органов животных. Кровь у мышей отбирали при помощи декапитации головы животных. Кровь брали на общий и биохимический анализ. После вскрытия органы были взвешены, а также составлен их процент от общей массы животных (см. Таблицы 1-15). Визуально у 4 группы печень была бледнее, чем в остальных группах.

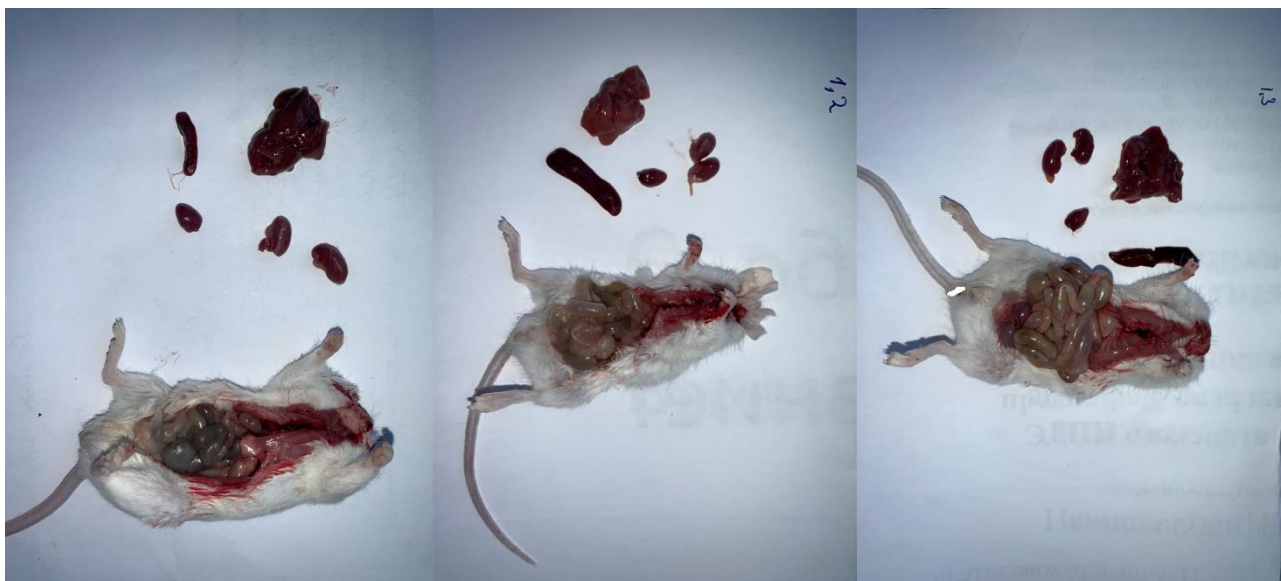


Рисунок 3.8 - Вскрытие группы №2

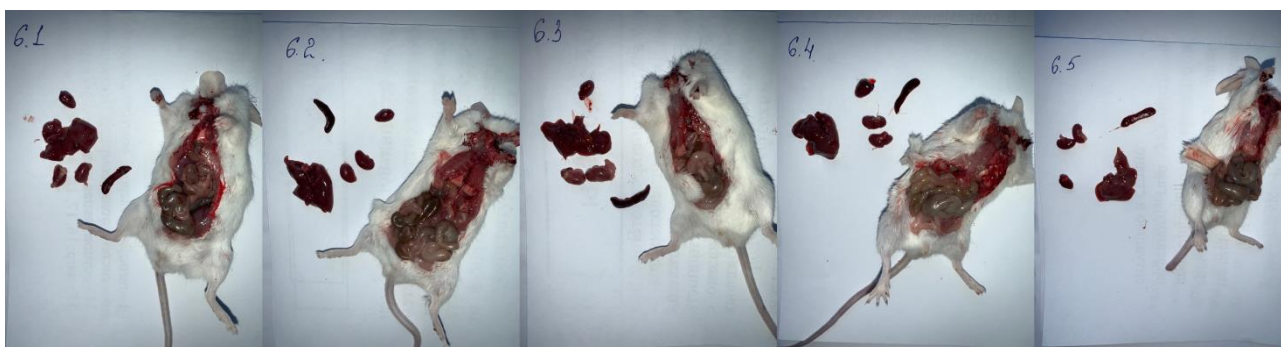


Рисунок 3.9 - Вскрытие группы №3



Рисунок 3.10 - Вскрытие группы №4



Рисунок 3.11 - Вскрытие группы №5

Таблица 3.1 - масса и процент органов группы №1

№	1	2	3	4	5		среднее	доверит норм	станд откл
Масса мышы	30,2	29,84	28,34	26,4	30,4	29,04+/-1,47	29,04	1,47	1,680
Масса сердца	0,17	0,18	0,12	0,1	0,1	0,134+/-0,03	0,134	0,03	0,038
% сердца	0,56	0,60	0,42	0,38	0,33	0,459+/-0,1	0,46	0,1	0,119
Масса печени	1,33	1,2	0,79	1,1	1,4	1,16+/-0,21	1,16	0,21	0,239
% печени	4,40	4,02	2,79	4,17	4,61	4+/-0,62	4	0,62	0,712
Масса почек	0,33	0,41	0,2	0,24	0,24	0,284+/-0,07	0,284	0,07	0,085
% почек	1,09	1,37	0,71	0,91	0,79	0,974+/-0,23	0,974	0,23	0,267
Масса селезенки	0,09	0,08	0,06	0,08	0,11	0,084+/-0,02	0,084	0,02	0,018
% селезенки	0,30	0,27	0,21	0,30	0,36	0,289+/-0,05	0,29	0,05	0,055

Таблица 3.2 - масса и процент органов группы №2

№	1	2	3		среднее	доверит	ст откл
Масса мышы	32,9	15,6	26,7		25,07+/-9,92	25,07	8,76489
Масса сердца	0,13	0,08	0,1		0,103+/-0,03	0,103	0,02517
% сердца	0,40	0,51	0,37		0,427+/-0,08	0,43	0,07461
Масса печени	1,76	0,92	1,64		1,44+/-0,51	1,44	0,45431
% печени	5,35	5,90	6,14		5,8+/-0,46	5,8	0,40593
Масса почек	0,4	0,21	0,31		0,307+/-0,11	0,307	0,09504
% почек	1,22	1,35	1,16		1,241+/-0,11	1,24	0,09509
Масса селезенки	0,1	0,29	0,26		0,217+/-0,12	0,217	0,10214
% селезенки	0,30	1,86	0,97		1,05+/-0,88	1,05	0,77999

Таблица 3.3 - масса и процент органов группы №3

№	1	2	3	4	5		среднее	доверит	ст откл
Масса мышы	31,4	29,5	29,7	30,4	22,9	28,78+/-2,95	28,78	2,95	3,370
Масса сердца	0,1	0,13	0,13	0,18	0,1	0,128+/-0,03	0,128	0,03	0,033
% сердца	0,32	0,44	0,44	0,59	0,44	0,445+/-0,09	0,45	0,09	0,097
Масса печени	1,23	1,48	1,32	1,38	0,99	1,28+/-0,16	1,28	0,16	0,186
% печени	3,92	5,02	4,44	4,54	4,32	4,45+/-0,35	4,45	0,35	0,397
Масса почек	0,29	0,3	0,5	0,35	0,2	0,328+/-0,1	0,328	0,1	0,110
% почек	0,92	1,02	1,68	1,15	0,87	1,13+/-0,29	1,13	0,29	0,327
Масса селезенки	0,07	0,09	0,2	0,1	0,07	0,106+/-0,05	0,106	0,05	0,054
% селезенки	0,22	0,31	0,67	0,33	0,31	0,367+/-0,15	0,37	0,15	0,176

Таблица 3.4 - масса и процент органов группы №4

№	1	2	3		среднее	доверит	ст откл
Масса мышы	27,5	25	28,1	26,87+/-1,86	26,87	1,86	1,6441816
Масса сердца	0,1	0,1	0,14	0,113+/-0,03	0,113	0,03	0,0230940
% сердца	0,36	0,40	0,50	0,421+/-0,08	0,42	0,08	0,0696210
Масса печени	1,4	1,41	1,33	1,38+/-0,05	1,38	0,05	0,0435889
% печени	5,09	5,64	4,73	5,15+/-0,52	5,15	0,52	0,4568015
Масса почек	0,38	0,35	0,31	0,347+/-0,04	0,347	0,04	0,0351188
% почек	1,38	1,40	1,10	1,295+/-0,19	1,30	0,19	0,1663558
Масса селезенки	0,25	0,2	0,11	0,187+/-0,08	0,187	0,08	0,0709459
% селезенки	0,91	0,80	0,39	0,7+/-0,31	0,7	0,31	0,2728703

Таблица 3.5 - масса и процент органов группы №5

№	1	2	3		среднее	Доверит норм	ст откл
Масса мышы	30,6	26,8	25,9	$27,77\pm 2,82$	27,77	2,82	2,4946609
Масса сердца	0,14	0,1	0,1	$0,113\pm 0,03$	0,113	0,03	0,0230940
% сердца	0,46	0,37	0,39	$0,406\pm 0,05$	0,41	0,05	0,0454398
Масса печени	1,5	1,16	1,23	$1,3\pm 0,2$	1,3	0,2	0,1795364
% печени	4,90	4,33	4,75	$4,66\pm 0,34$	4,66	0,34	0,2970339
Масса почек	0,47	0,29	0,28	$0,347\pm 0,12$	0,347	0,12	0,1069267
% почек	1,54	1,08	1,08	$1,233\pm 0,3$	1,23	0,3	0,2623267
Масса селезенки	0,13	0,09	0,11	$0,11\pm 0,02$	0,11	0,02	0,02
% селезенки	0,42	0,34	0,42	$0,4\pm 0,06$	0,4	0,06	0,051356856

Таблица 3.6 - общий анализ крови группы №1

Показатель	№						среднее	доверит норм	станд откл
	1	2	3	4	5				
WBC, x10 ⁹ /L	0,9	1,8	0,6	2,2	0,8	1,26+/- 0,61	1,26	0,61	0,70
LYM, x10 ⁹ /L	0,6	1,6	0,4	1,6	0,6	0,96+/- 0,52	0,96	0,52	0,59
MID, x10 ⁹ /L	0,3	0,2	0,2	0,5	0,2	0,28+/- 0,11	0,28	0,11	0,13
GRA, x10 ⁹ /L	0	0	0,00 014	0,1	0	0,02+/- 0,04	0,02	0,04	0,04
LYM%	62,0 %	84,5 %	62,5 %	74,9%	72,3%	0,71+/- 0,08	71,00%	8,00%	9,38%
MID%	34,2 %	11,2 %	30,4 %	22,8%	18,8%	0,23+/- 0,08	23,00%	8,00%	9,16%
GRA%	4%	4,3%	7,1%	2,3%	8,9%	0,05+/- 0,02	5,00%	2,00%	2,67%
RBC, x10 ¹² /L	8,28	5,85	6,89	5,72	4,1	6,17+/- 1,36	6,17	1,36	1,55
HGB, g/L	127	83	101	88	64	92,6+/- 20,49	92,6	20,49	23,37
MCHC, g/L	346	358	349	374	379	361,2+/- 12,93	361,2	12,93	14,75
MCH, pg	15,3	14,2	14,7	15,4	15,6	15,04+/- 0,51	15,04	0,51	0,58
MCV, fL	44,3	39,7	42	41,2	41,1	41,66+/- 1,48	41,66	1,48	1,69
RDW-CV, %	17,4 %	15,1 %	17,1 %	14,1%	15,50 %	0,16+/- 0,01	16,00%	1,00%	1,39%
RDW-SD, fL	38,6	29,9	35,8	29,1	31,9	33,06+/- 3,54	33,06	3,54	4,04
HCT, %	36,7	23,2	29,0	23,6%	16,90	0,26+/-	26,00%	6,00%	7,41%

	%	%	%		%	0,06			
PLT, x10 ⁹ /L	676	398	341	175	266	371,2+/- 166,36	371,2	166,36	189,8 0
MPV, fL	6,4	12,6	5,7	5,8	5,4	7,18+/- 2,67	7,18	2,67	3,05
PDW, fL	6,4	19	5,4	5,1	3,9	7,96+/- 5,47	7,96	5,47	6,24
PCT, %	0,43 4%	0,50 %	0,19 4%	0,102 %	0,143 %	0,216+/- 0,05	0,216%	0,05%	0,18%
P-LCR, %	11%	54,5 %	2,3%	3,3%	1,50%	0,15+/- 0,2	15,00%	20,00%	22,66 %

Таблица 3.7 - общий анализ крови группы №2

Показатель	1	2	3		среднее	доверит норм	стандоткл
WBC, x10 ⁹ /L	2	7,9	3,2	4,37+/-3,53	4,37	3,53	3,12
LYM, x10 ⁹ /L	1,3	3,8	2	2,37+/-1,46	2,37	1,46	1,29
MID, x10 ⁹ /L	0,6	3,2	1	1,6+/-1,58	1,6	1,58	1,40
GRA, x10 ⁹ /L	0,1	0,9	0,1	0,37+/-0,52	0,37	0,52	0,46
LYM%	64%	48%	61%	0,58+/-0,1	58%	10,00%	8,52%
MID%	30,60 %	39,9 0%	32,30%	0,34+/-0,06	34%	6,00%	4,95%
GRA%	5,40 %	12,1 0%	6,60%	0,08+/-0,04	8%	4,00%	3,57%
RBC, x10 ¹² /L	8,93	8,82	5,4	7,72+/-2,27	7,72	2,27	2,01
HGB, g/L	132	141	87	120+/-32,74	120	32,74	28,93
MCHC, g/L	344	376	388	369+/-25,74	369	25,74	22,74
MCH, pg	14,8	16,2	16,1	15,7+/-0,88	15,7	0,88	0,78
MCV, fL	43	43,1	41,5	42,53+/-1,01	42,53	1,01	0,90
RDW- CV, %	13,50 %	15,5 0%	15,80%	0,15+/-0,01	15,00%	1,00%	1,25%
RDW-SD, fL	29	33,4	32,9	31,77+/-2,73	31,77	2,73	2,41
HCT, %	38,40 %	38,0 0%	22,40%	0,33+/-0,1	33,00%	10,00%	9,12%
PLT, x10 ⁹ /L	491	347	373	403,67+/- 86,84	403,67	86,84	76,74
MPV, fL	6,3	7,3	5,3	6,3+/-1,13	6,3	1,13	1,00
PDW, fL	5,5	10	4	6,5+/-3,53	6,5	3,53	3,12
PCT, %	0,307 %	0,25 2%	0,197%	0,0025+/-0	0,25%	0,00%	0,06%
P-LCR, %	10,80 %	20,8 0%	2,00%	0,112+/-0,11	11,20%	11,00%	9,41%

Таблица 3.8 - общий анализ крови группы №3

Показатель	1	2	3	4	5		среднее	доверит норм	Ст откл
WBC, x10 ⁹ /L	1,3	0,5	1	1,5	0,8	1,02+/- 0,35	1,02	0,35	0,40
LYM, x10 ⁹ /L	1,1	0,3	0,9	1	0,6	0,78+/- 0,29	0,78	0,29	0,33
MID, x10 ⁹ /L	0,2	0,1	0,1	0,4	0,2	0,2+/- 0,11	0,2	0,11	0,12
GRA, x10 ⁹ /L	0	0,1	0,002	0,1	0	0,04+/- 0,05	0,04	0,05	0,05
LYM%	77,2%	62,8 %	91,8 %	69,4 %	72,3 %	0,75+/- 0,1	75,00%	10,00%	10,89 %
MID%	11,8%	21,7 %	6,3%	25,2 %	18,8 %	0,17+/- 0,07	17,00%	7,00%	7,65%
GRA%	11%	15,5 %	1,9%	5,4%	8,9%	0,09+/- 0,05	9,00%	5,00%	5,21%
RBC, x10 ¹² /L	5,48	6,61	5,26	6,64	4,1	5,62+/- 0,93	5,62	0,93	1,06
HGB, g/L	89	107	79	97	64	87,2+/- 14,51	87,2	14,51	16,56
MCHC, g/L	400	407	392	348	379	385,2+/- 20,38	385,2	20,38	23,25
MCH, pg	16,2	16,2	15	14,6	15,6	15,52+/- 0,63	15,52	0,63	0,72
MCV, fL	40,6	39,8	38,3	42	41,1	40,36+/- 1,23	40,36	1,23	1,40
RDW- CV, %	16,7%	19,1 %	20,4 %	16,3 %	15,50 %	0,18+/- 0,02	18,00%	2,00%	2,06%
RDW-SD, fL	33,8	38,1	39,2	34,2	31,9	35,44+/- 2,7	35,44	2,7	3,08
HCT, %	22,2%	26,3 %	20,2 %	27,9 %	16,90 %	0,23+/- 0,04	23,00%	4,00%	4,48%
PLT, x10 ⁹ /L	413	516	1265	440	266	580+/- 344,92	580	344,92	393,51
MPV, fL	5,8	5,4	12,9	5,5	5,4	7+/-2,89	7	2,89	3,30

PDW, fL	4,7	4,8	3,9	3,4	3,9	4,14+/- 0,52	4,14	0,52	0,59
PCT, %	0,238 %	0,28 %	1,627 %	0,243 %	0,143 %	0,01+/- 0,01	1,00%	1,00%	0,63%
P-LCR, %	6%	2,3%	56,3 %	5,1%	1,50 %	0,14+/- 0,21	14,00%	21,00%	23,59 %

Таблица 3.9 - общий анализ крови группы №4

Показатель	1	2	3		среднее	доверит норм	Ст откл
WBC, x10 ⁹ /L	2,8	2,3	1,4	2,17+/-0,8	2,17	0,8	0,71
LYM, x10 ⁹ /L	1,3	1,6	0,8	1,23+/-0,46	1,23	0,46	0,40
MID, x10 ⁹ /L	0,6	0,7	0,4	0,57+/-0,17	0,57	0,17	0,15
GRA, x10 ⁹ /L	0,092	0,1	0,12	0,1+/-0,01	0,1	0,01	0,01
LYM%	61%	67,1%	69,4%	0,66+/-0,05	66,00%	5,00%	4,29%
MID%	32,3%	27,2%	25,2%	0,28+/-0,04	28,00%	4,00%	3,66%
GRA%	6,6%	5,5%	5,4%	0,06+/-0,01	6,00%	1,00%	0,67%
RBC, x10 ¹² /L	5,4	5,7	4,45	5,18+/-0,74	5,18	0,74	0,65
HGB, g/L	92	90	79	87+/-7,92	87	7,92	7,00
MCHC, g/L	381	380	374	378+/-4,28	378	4,28	3,79
MCH, pg	16,2	15,2	16,9	16,1+/-0,97	16,1	0,97	0,85
MCV, fL	40,8	44,2	45,5	43,5+/-2,75	43,5	2,75	2,43
RDW- CV, %	15,4%	13,6%	15,6%	0,15+/-0,01	15,00%	1,00%	1,10%
RDW-SD, fL	34,2	27,9	33,9	32+/-4,02	32	4,02	3,55
HCT, %	25,50%	23,50%	21,10%	0,23+/-0,02	23,00%	2,00%	2,20%
PLT, x10 ⁹ /L	378	290	257	308,33+/- 70,78	308,33	70,78	62,55
MPV, fL	6,1	5,9	5,5	5,83+/-0,35	5,83	0,35	0,31
PDW, fL	4,1	3,8	4,2	4,03+/-0,24	4,03	0,24	0,21
PCT, %	0,215%	0,161%	0,141%	0,0017+/-0	0,17%	0,00%	0,04%
P-LCR, %	8,20%	3,10%	2,90%	0,047+/- 0,03	4,70%	3,00%	3,00%

Таблица 3.10 - общий анализ крови группы №5

Показатель	1	2	3		среднее	доверит норм	станд откл
WBC, x10 ⁹ /L	12,1	20,4	3,2	11,9+/-9,73	11,9	9,73	8,60
LYM, x10 ⁹ /L	11,8	19,9	3,2	11,63+/-9,45	11,63	9,45	8,35
MID, x10 ⁹ /L	0,3	0,4	0	0,23+/-0,24	0,23	0,24	0,21
GRA, x10 ⁹ /L	0,0017	0,1	0	0,03+/-0,06	0,03	0,06	0,06
LYM%	97,6%	98%	99,6%	0,98+/-0,01	98,00%	1,00%	1,10%
MID%	2,3%	2,20%	0,4%	0,02+/-0,01	2,00%	1,00%	1,07%
GRA%	0,00002 0%	0%	0,0001 50%	0+/-0	0,00%	0,00%	0,00%
RBC, x10 ¹² /L	5,03	5,7	4,18	4,97+/-0,86	4,97	0,86	0,76
HGB, g/L	74	90	62	75+/-15,9	75	15,9	14,05
MCHC, g/L	372	388	388	383+/-10,45	383	10,45	9,24
MCH, pg	14,7	15,8	14,8	15,1+/-0,69	15,1	0,69	0,61
MCV, fL	39,6	40,7	38,2	39,5+/-1,42	39,5	1,42	1,25
RDW- CV, %	14,2%	13,0%	14,5%	0,14+/-0,01	14,00%	1,00%	0,79%
RDW-SD, fL	28,1	26,5	27,7	27,43+/-0,94	27,43	0,94	0,83
HCT, %	19,9%	23%	16%	0,2+/-0,04	20,00%	4,00%	3,60%
PLT, x10 ⁹ /L	425	288	421	378+/-88,23	378	88,23	77,97
MPV, fL	5,1	5,4	5,1	5,2+/-0,2	5,2	0,2	0,17
PDW, fL	4,2	4,3	3,5	4+/-0,49	4	0,49	0,44
PCT, %	0,216%	0,156%	0,213 %	0,002+/-0	0,20%	0,00%	0,03%
P-LCR, %	0%	1,3%	1,1%	0,008+/-0,01	0,80%	1,00%	0,70%

Таблица 3.11 - биохимический анализ крови группы №1

Показатель	1	2	3	4	5		среднее	доверит норм	станд откл
АЛТ	34	36,1	31,2	29,7	41,6	34,52+/- 4,09	34,52	4,09	4,67
АСТ	111,3	102,1	98,7	81,3	131,2	104,92+/- 16,02	104,92	16,02	18,27
Креатинин	56,2	60	63,1	59,2	54,6	58,62+/- 2,92	58,62	2,92	3,33
Мочевина	6,1	6,2	5,8	6	6,4	6,1+/-0,2	6,1	0,2	0,22
Фосфор	1,6	1,7	1,5	1,7	1,6	1,62+/- 0,07	1,62	0,07	0,08

Таблица 3.12 - биохимический анализ крови группы №2

Показатель	1	2	3		среднее	доверит норм	станд откл
АЛТ	32	26	74,2	44,07+/-29,72	44,07	29,72	26,27
АСТ	184,6	173,4	218,72	192,24+/-26,71	192,24	26,71	23,61
Креатинин	148	118	135	133,67+/-17,02	133,67	17,02	15,04
Мочевина	5,5	7	4	5,5+/-1,7	5,5	1,7	1,50
Фосфор	2,3	3,3	2,8	2,8+/-0,57	2,8	0,57	0,50

Таблица 3.13 - биохимический анализ крови группы №3

Показатель	1	2	3	4	5		среднее	доверит норм	Ст откл
АЛТ	33,4	54,5	54,8	48,1	57,4	49,64+/- 8,5	49,64	8,5	9,70
АСТ	147,2	130	128,1	123,7	113,5	128,5+/- 10,74	128,5	10,74	12,25
Креатинин	124,7	97,1	131,9	107,3	92,6	110,72+/- 14,99	110,72	14,99	17,10
Мочевина	6,1	6,7	5,2	6,1	7,8	6,38+/- 0,84	6,38	0,84	0,96
Фосфор	1,6	1,6	1,8	2,9	1,3	1,84+/- 0,54	1,84	0,54	0,62

Таблица 3.14 - биохимический анализ крови группы №4

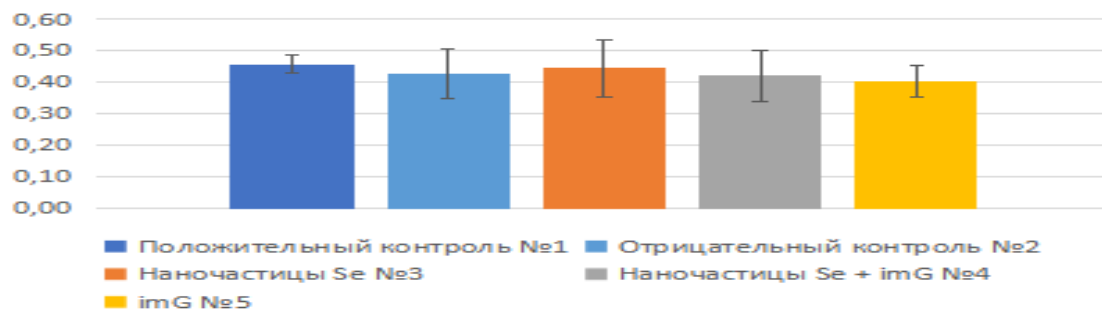
Показатель	1	2	3		среднее	доверит норм	Ст откл
АЛТ	31,4	83	33,4	49,27+/-33,08	49,27	33,08	29,23
АСТ	489,8	240,2	267	332,33+/- 155,06	332,33	155,06	137,03
Креатинин	37	58,6	53,4	49,67+/-12,76	49,67	12,76	11,27
Мочевина	4,8	5,6	6	5,47+/-0,69	5,47	0,69	0,61
Фосфор	3,2	2,9	2,4	2,83+/-0,46	2,83	0,46	0,40

Таблица 3.15 - биохимический анализ крови группы №5

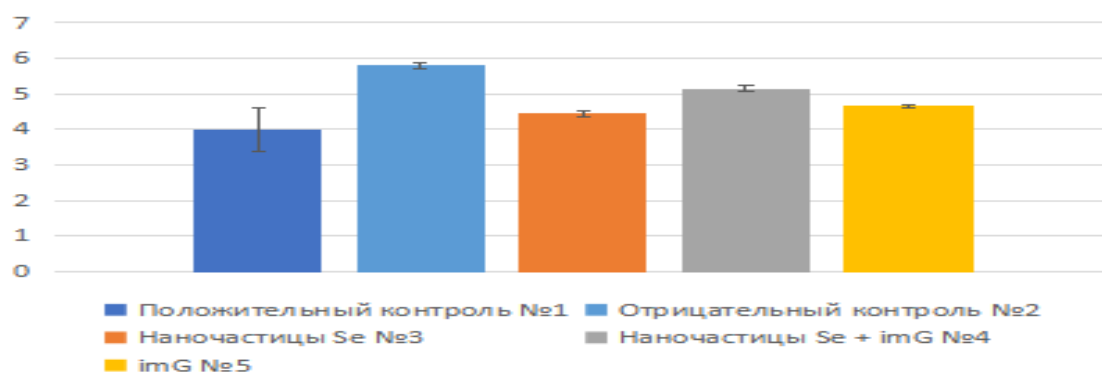
Показатель	1	2	3		среднее	доверит норм	Ст откл
АЛТ	45,5	59	24	42,83+/-19,97	42,83	19,97	17,65
АСТ	176	184,5	119,6	160,03+/-39,91	160,03	39,91	35,27
Креатинин	35	131	101	89+/-55,57	89	55,57	49,11
Мочевина	6,5	6,5	7	6,67+/-0,33	6,67	0,33	0,29
Фосфор	2,3	2	2,4	2,23+/-0,24	2,23	0,24	0,21

Также была составлена диаграмма по всем полученным результатам для наглядности и оценки достоверности данных по доверительному интервалу. Достоверность результатов составляет 95% (см. Рисунок 3.12, 3.13, 3.14)

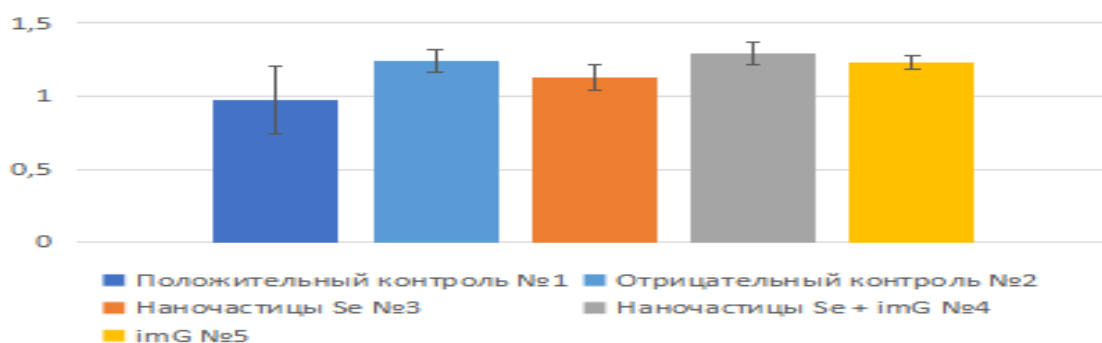
Коэффициент массы сердца



Коэффициент массы печени



Коэффициент массы почек



Коэффициент массы селезёнки

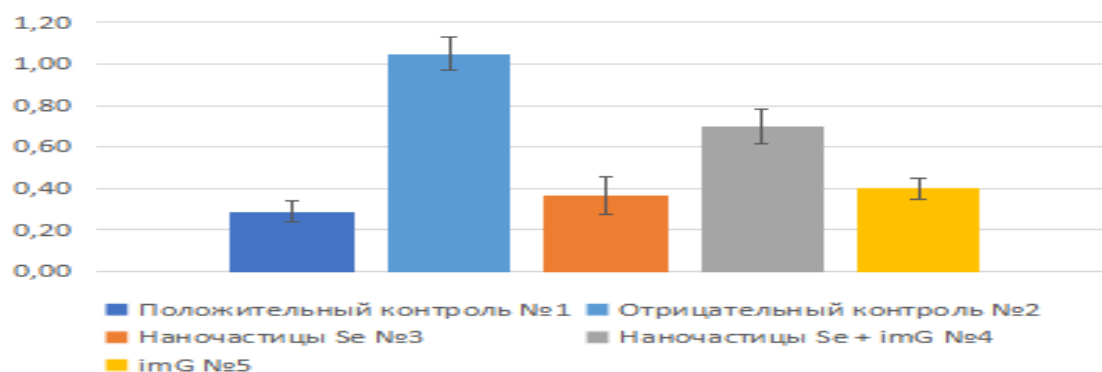


Рисунок 3.12 - Диаграммы коэффициентов массы органов



Рисунок 3.13 - Диаграммы общего анализа крови

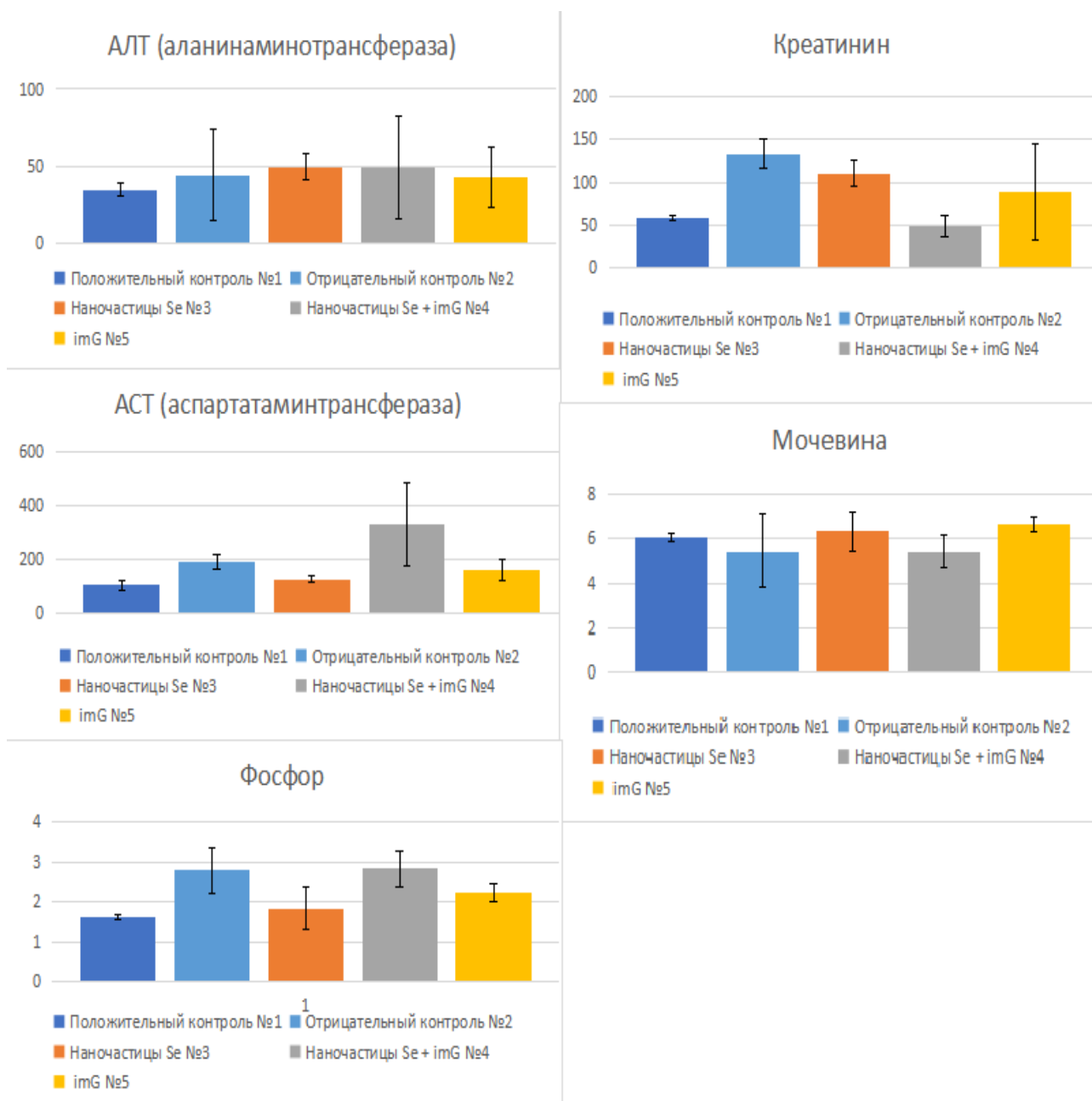


Рисунок 3.14 - Диаграмма биохимического анализа крови

По диаграммам можно оценить состояние каждой из групп. Достоверно установлено, что наиболее проблемными являются группы №2 и №4. Это свидетельствует о угнетающих последствиях развития опухоли у данных групп.

Заключение

За последние два десятилетия активно развивается направление применения наночастиц в различных областях, в частности использования их для таргетной доставки биологически активных веществ, однако и сами наночастицы различного состава могут применяться в качестве лекарственных веществ. В частности, в различных исследованиях было установлено, что наночастицы селена в отличие от кристаллического или аморфного селена могут усваиваться клетками. Онкологические заболевания на данный момент времени являются одним из наиболее важных направлений развития фармацевтики в связи с широким распространением данных заболеваний и отсутствием эффективной и безопасной терапии. В литературе приводится достаточно много информации касательно зависимости размера частиц от их биологических свойств, поэтому исследования возможности использования частиц селена размером 1-2 нм в качестве средства предотвращения и борьбы с онкологическими заболеваниями позволяет расширить спектр возможных фармацевтических препаратов в данной области. Нами было установлено на модельных животных, что наночастицы селена размером 1-2 нм могут быть применены в качестве веществ предупреждающих развитие онкологических заболеваний.

Выводы

1. Наночастицы селена в дозировке 7 мг/кг уменьшают вероятность развития опухоли EPNT5 на 60%.
2. Иммуноглобулин imG уменьшает вероятность развития опухоли.
3. Совместное применение наночастиц селена с иммуноглобулином imG не препятствует развитию опухоли.

Список используемой литературы

1. А.Д. Помогайло. Наночастицы металлов в полимерах / А. Д. Помогайло, А. С. Розенберг, И. Е. Уфлянд. М.: Химия, 2000 - 672 с.
2. А.И. Степчин. Методы получения несоразмерного селена в жидкости
3. Алексеев К.В. Технология самоэмульгирующихся систем доставки лекарственных веществ. /, Турчинская К.Г., Блынская Е.В., Тихонова Н.В. / Вестн. новых мед. технол. 2014. Т. 21, №1. С.128–133.
4. Алешко С.Ф. Применение селена для повышения привесов и сохранности телят в условиях Белоруссии / С.Ф. Алешко // Химия в сельском хозяйстве. — 1971. — Т. 9. — С. 126 – 128.
5. Асланов Л.А., Захаров М.А., Князева Е.Е., Яценко А.В. // Журн. неорганич. химии. 2007. Т. 54. № 10. С. 1613.
6. Бучик А. Методы стабилизации наночастиц. Яглов В.Н. уdk 625.7 г. Минск
7. В. Н. Селиванов. Пролонгированное воздействие ультрадисперсных порошков металлов на семена злаковых культур / В. Н. Селиванов, Е. В. Зорин, Е. Н. Сидорова //Перспективные материалы. – 2001. – № 4. – С. 66–69. СТРОЭНТЕРИТА СВИНЕЙ / УДК 619:615.3
8. В.А.Мальцева. Фаркология, 2015 Разработка самоэмульгирующихся систем для пероральной доставки инсулина. Д.И.Ефимова, Е.А.Рудько, А.К.Назаров, Е.А.Афонькина, А.Н.Семенов ФГУП «Научный центр «Сигнал», Москва, 107014, ул. Большая Оленья, д. 8.
9. В.В. Вапиров. Селен. Некоторые аспекты химии, экологии и участия в развитии патологии (обзор) / В.В. Вапиров, М.Э. Шубина, Н.В. Вапирова [и др.]. – Петрозаводск: ПетрГУ, 2000. – 68 с.
10. Валуева С. В. Самоорганизация и структура селеносодержащих биологически активных наночастиц / С. В. Валуева, Т. Е. Суханова, Л. Н. Боровикова [и др.] // Электр. жур. «Структура и динамика молекулярных систем». – 2011. – № 10 (А). – С. 3–11.

11. Валуева С.В. Влияние соотношения компонентов комплекса селен: поливинилпирролидон на формирование и морфологические характеристики наноструктур / С.В. Валуева, Л.Н. Боровикова, А.И. Киппер // Журнал физической химии. – 2008. – Т. 82, № 6. – С. 1131–1136.
12. Ващенко Ф., Набатова Т.Д. Методические рекомендации по проведению опытов с овощными культурами в сооружениях защищенного грунта. - М.: ЛСХНИЛ, 1971. 115 – 121.
13. Верзилов В.Ф. Регуляторы роста и их применение в растениеводстве. - М.: ИАУКА, 1971. – 144 с.
14. Вихрева В.А., Хрянин В.Н., Гинс В.К., Блинох-ватов А.Ф. Адаптогенная роль селена в высших растениях // Вестник Башкирского университета. 2001. №2 (II). С. 65-66.
15. ВШ.: Антипов; Леченко А.Ж. и др., 2004; В.Т. Самохин; 2005; В.А. Антипов, 2006; И.Ф. Горлов, 2005; Т.И.; Лапина, Л.В. Иванова; 2005; 2008; Е. Ко1; JLSeehawer, 2001
16. Г. Г. Эмелло, Ж. В. Бондаренко, Е. В. Грукалова, Л. Д. Фирсова / Коллоидно-химические свойства технических препаратов ПАВ, используемых в косметической промышленности / 2012
17. Гидрофобные свойства пленки фторполимера, покрывающей наночастицы золота © А.И. Сафонов, С.В. Старинский, В.С. Суляева, Н.И. Тимошенко, Е.Я. Гатапова Институт теплофизики им. С.С. Кутателадзе СО РАН, Новосибирск Институт неорганической химии им. А.В. Николаева СО РАН, Новосибирск.
18. Громова О. А. Впечатляющие итоги и перспективы применения / О. А. Громова, И. В. Гоголева // Медицина неотложных состояний. – 2010. – Т. 6, № 31 – С. 124–128.
19. Губин С. П. Наночастицы: получение, строение, свойства / С. П. Губин, Юрков Г. Ю. // Химия твердого тела и современные микро- и нанотехнологии. V Межд. конф. - Кисловодск– Ставрополь/ СевКавГТУ. 2005. - 368 с

20. Д.Ю. Ершов. Влияние условий синтеза и рН среды на размерные характеристики наноконплексов селена с химотрипсином / А.И. Киппер, Л.Н. Боровикова [и др.] // Журнал физической химии. – 2013. – Т. 87, № 12. – С. 2116–2118.
21. Ермаков В.В, Ковальский В.В. Биологическое значение селена. — М.: Наука, 1974.
22. Ермилов Г. Б., Некоторые биологические особенности периода прорастания семян с.-х. культур и возможности прогнозирования полевой всхожести. // Авто-еф. докл. дисс. - Харьков, 1964. - 30 с.
23. Ермилов Г.Б. Полевая всхожесть семян и причины ее снижения. - М.: Мин. с- . РСФСР, 1960. - 40 с.
24. Зотов Б.И. Безопасность жизнедеятельность на производствах / Б.И. Зотов, В.И. Курдюмов. - М.: АГРАФ. - 2003. – С. 70 -75
25. Карпова Е.А., Демиденко О.К., Ильина О.П. К вопросу о токсичности препаратов на основе наноселена // Вестник КрасГАУ. – 2014. – №4. –С. 207-210.
26. Кашин В. К. Биологическое действие и накопление селена в пшенице в условиях селенодефицитной биогеохимической провинции / В. К. Кашин, О. И. Шубина //Химия в интересах устойчивого развития. – 2011.– № 19. – С. 1
27. Кизилова Е.Г. Разнокачественность семян, ее природа и продуктивность растений. //В кн.: Физиол.-биохим. проблемы семеноведения и семеноводства. - ч. 1. Иркутск, 1973. - с. 42...45.
28. Коваленко Л. В. Активация прорастания семян ультрадисперсными порошками железа / Л. В. Коваленко, Г. Э. Фолманис // Достижения науки и техники АПК. – 2001. – № 9. – С. 7–8.
29. Космачев В.К. Селен, витамин Е и другие биологически активные вещества в профилактике некоторых заболеваний обмена веществ. — М.: ВНИИТЭИСХ, 1974.

30. Кузякова Л.М. Конструирование трансдермальных липосомальных препаратов с заданными свойствами // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. – 2005. – Т. 46. – №1. – С. 74-79.
31. Кузякова Л.М., Черницова М.А. Состав косметических средств и инновационные технологии эффективной доставки в организм человека известных активных веществ // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2016. – №2 (часть 3) – С. 437-440.
32. Ланге К. Р. Поверхностно-активные вещества: синтез, свойства, анализ, применение/ под науч. ред. Л. П. Зайченко. СПб.: Профессия, 2004. 240 с.
33. Ловкова М. Я. Лекарственные растения – концентраторы селена. Перспективы расширения спектра использования / М. Я. Левкова, С. М. Соколова, Г. Н. Бузук // Доклады Академии наук. –2008. – Т. 418, № 5. – С. 709–711.
34. Матлаев А.Г., Пронин С.П. Метод и средство контроля всхожести семян пшеницы // Естественные и технические науки, №3, 2009. С.308 – 311.
35. Меженный П.В. Изучение иммуногенных свойств наночастиц селена и золота конъюгированных с антигеном вируса трансмиссивного гастроэнтерита свиней. Староверов С.А. 1, 2, 3 , Волков А.А. 1 , Козлов С.В., Рыбин А.О. , Домницкий И.Ю., Ласкавый В.Н., Дыкман Л.А
36. Меженный П.В. Изучение иммуногенных свойств наночастиц селена и серебра, конъюгированных с антигеном вируса трансмиссивного ГА11. Староверов С.А. , Волков А.А. , Козлов С.В. , Рыбин А.О. , Домницкий И.Ю. , Ласкавый В.Н. , Дыкман Л.А.
37. Меженный П.В. Конструирование конъюгатов коллоидного селена и коллоидного золота с белком вируса гриппа и изучение их иммуногенных свойств // Вестник Саратовского госагроуниверситета им Исаева А.Ю. Староверов С.А., Волков А.А., Козлов С.В., Ласкавый В.Н., Дыкман Л.А. / Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н.И. Вавилова. - 2013. - № 2. - С. 29-32. 2. Смирнова

38. Мирошниченко М. В. Изучение закономерностей синтеза и разработка технологии концентрации наночастиц нульвалентного селена для новых профилактических продуктов: автореф. дисс. на соискание научн. степени канд. техн. наук: спец. 05.18.04 «Технология мясных, молочных и рыбных продуктов и холодильных производств» / М. В. Мирошниченко – Ставрополь, 2013 – 25 с.

39. Н. П. Егоров. Разработка и проведение экспериментальной оценки эффективности применения в растениеводстве новых видов удобрений, полученных с использованием нанотехнологий / Н. П. Егоров, О. Д. Шафранов,

40. Н.С., Сайфулина В.К. Профилактика неспецифической бронхопневмонии у свиней на комплексе / Калюжный И.И., Баринов Н.Д. / Ветеринарная медицина XXI века. Инновации, обмен опытом и перспективы развития : материалы Международной научно-практической конференции / под ред. А.А. Волкова. - 2012. - С. 294-296.

41. НАНОЧАСТИЦЫ ЖЕЛЕЗА И СЕЛЕНА ДЛЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОГО ПРОИЗВОДСТВА Д-р техн. наук Л.В. Коваленко, д-р техн. наук Г.Э. Фолманис (ИМЕТ РАН, г. Москва)

42. Оболенская М. Н. Приоритетные направления совершенствования организационно-экономического механизма производства овощей в Краснодарском крае // Проблемы и перспективы развития науки в России и мире : сб. ст. Междунар. науч.-практ. конф. - Екатеринбург, 2017. - С. 136 – 140.

43. Оболенская М. Н. Приоритетные направления совершенствования организационно-экономического механизма производства овощей в Краснодарском крае // Проблемы и перспективы развития науки в России и мире : сб. ст. Междунар. науч.-практ. конф. - Екатеринбург, 2017. - С. 136 – 140.

44. Огай М.А., Степанова Э.Ф. Разработка и технологические исследования лекарственного препарата инсулин в липосомальной форме // Научные ведомости БелГУ. Серия Медицина. Фармация. – 2010.– № 10(81). – С. 79-84.

45. Панов Д. А. Синтез и биологическая активность водорастворимых наночастиц селена в матрице альгината / Д. А. Панов, И. Н. Юркова, А. М. Кацев, А. В. Омельченко // Пятая Международная конференция «От наноструктур, наноматериалов и нанотехнологий к nanoиндустрии. – Ижевск (Россия), 2015. – С. 149–150.
46. Плетнев Ю. М. Косметико-гигиеническиемоющие средства./Образование эмульсий в системах «Вода – препарат CREMOPHOR 25A –вазелиновое масло» Е. В. Грукалова, Г. Г. Эмелло, Ж. В. Бондаренко М.: Химия, 1990. 272 с.21.
47. Помогайло, А. Д. Наночастицы металлов в полимерах / А.Д. Помогайло, А.С. Розенберг, И.Е. Уфлянд. - М.: Химия, 2000-672 с.
48. Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР. 2010. – С. 18.
49. Решетняк Л.А. Селен и здоровье человека (обзор литературы) / Л.А. Решетняк, Е.О. Парфенова // Экология моря. – 2000. – № 59. – С. 20–25.
50. Родионова Т.Н. Фармакодинамика селеноорганических препаратов их применение, в животноводстве:.. Автореф; дисс. на соиск. учен. степ. д-ра. биол. наук / Т.Н. Родионова. Краснодар. - 2004. - 45 с.
51. Скоринова К.Д., Кузьменко В.В., Василенко А.И. Перспектива создания лекарственных препаратов на основе наночастиц селена (обзор). Разработка и регистрация лекарственных средств. 2020;9(2):33-44. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2020-9-2-33-44>
52. Скоринова, К. Д. Перспектива создания лекарственных препаратов на основе наночастиц селена / К. Д. Скоринова, В. В. Кузьменко, И. А. Василенко. – Москва: РАЗРАБОТКА И РЕГИСТРАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ. Т. 9, № 2, 2020. – 33-44 с.
53. Асланов Л.А. Стабилизация наночастиц кремния карбенами © 2010 г. Л. А. Асланов, В. Н. Захаров, М. А. Захаров, А. Л. Камышный,

54. Ткач А.В., Иванова Л.А., Измерова Н.И., Стаценко Ю.В. Современные представления о клеточных механизмах патогенеза профессиональных аллергических контактных дерматитов // Медицина труда и промышленная экология. – 2006. – № 7. – С. 23-28.

55. Тутельян В.А., Княжев В.А., Хотимченко С.А., Голубкина Н.А., Кушлинский Н.Е., Соколов Я.А. Селен в организме человека. Метаболизм. Антиоксидантные свойства. Роль в канцерогенезе. — М.: Издательство РАМН, 2002.

56. УДК 546.62:541.13 А. Р. Курбангалеева, А. И. Куркин, Ю. Н. Хакимуллин, Е. В. Петрова, А. Ф. Дресвянников Возможности стабилизации наночастиц гидроксида алюминия, полученных электрохимическим способом.

57. Фердман Н.А. Эффективность селенсодержащих препаратов при гепатозе коров: Автореф. дисс. на соиск. учен. степени канд. вет. наук. — Н.А.Фердман. Екатеринбург, 2007. — 21 с

58. Ходжаева М.Х., Табаров М.С., Исаева М.С., Тоштемирова З.М. Нарушение показателей функционального состояния эндотелия у больных дерматитами // Научно-медицинский журнал «Вестник Авиценны». – 2015. – №4. – С. 99-103.

59. Хромцов А. Г. Новый биологически активный препарат на основе наночастиц селена / А. Г. Хромцов, А. В. Серов, В. П. Тимченко [и др.] // Вестник Северо-Кавказского государственного технического университета. – 2010. – № 4 – С. 122–125.

60. Цитолнат селен [Электронный ресурс] // cytolnat.ru – Режим доступа: <http://cytolnat.ru/selen>, свободный (28.05.17).

61. Шурыгина И. А. , Шурыгин М. Г. Наноконпозиты селена - перспективы применения в онкологии // Journal of new medical technologies. - 2020 . - №27. - с. 81-86.

62. Юркова И. Н. Влияние наночастиц селена и селенита натрия на рост и развитие растений пшеницы / И. Н. Юркова, А. В. Омельченко // Ученые

записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского. Серия: Биология, химия. – 2015. – Т. 1 (67), № 3. – С. 99–106.

63. Юркова И. Н. Наноконпозиция серебра в матрице альгината натрия / И. Н. Юркова, Д. А. Панов // Тенденции и инновации фундаментальных и прикладных наук (Под редакцией И.Б. Красиной). – Ставрополь: Центр научного знания «Логос», 2016. – Т. 3. – С. 98–117.

64. Abdelghany, S. M.; Schmid, D.; Deacon, J.; Jaworski, J.; Fay, F.; McLaughlin, K. M.; Gormley, J. et al. Enhanced anti-tumor activity of the photosensitizer meso-tetra (N-methyl-4-pyridyl) porphine tetra tosylate (TMP) through encapsulation in antibody targeted chitosan/alginate nanoparticles. *Biomacromol.* 2013, 14, 302–310.

65. Aime, S.; Castelli, D. D.; Crich, S. G.; Gianolio, E.; Terreno, E. Pushing the sensitivity envelope of lanthanidebased magnetic resonance imaging (MRI) contrast agents for molecular imaging applications. *Acc. Chem. Res.* 2009, 42, 822–831.

66. Biological Trace Element Research / Alameh Babajani , Alireza Iranbakhsh , Zahra Oraghi Ardebili , Bahman Eslami —2020—Vol. 195— P.624–635

67. Ceballos A, Sanchez J, Stryhn H, Montgomery JB, Barkema HW, Wichtel JJ (2009) Meta-analysis of the effect of oral selenium supplementation on milk selenium concentration in cattle. *J Dairy Sci* 92(1):324–342.

68. Cheng, Z.; Wu, Y.; Xiong, Z.; Gambhir, S. S.; Chen, X. Nearinfrared fluorescent RGD peptides for optical imaging of integrin alphavbeta3 expression in living mice. *Bioconjug. Chem.* 2005, 16, 1433–1441.

69. Choi, K. Y.; Liu, G.; Lee, S.; Chen, X. Y. Theranostic nanoplatfoms for simultaneous cancer imaging and therapy: Current approaches and future perspectives. *Nanoscale* 2012, 4, 330–342.

70. Dawood MAO, Koshio S, Zaineldin AI, Van Doan H, Moustafa EM, Abdel-Daim MM, Esteban MA, Hassaan MS (2019) Dietary supplementation of selenium nanoparticles modulated systemic and mucosal immune status and stress

resistance of red sea bream (*Pagrus major*). *Fish Physiol Biochem* 45(1):219–230.
<https://doi.org/10.1007/s10695-018-0556-3>

71. Drakopoulou, M.; Toutouzas, K.; Michelongona, A.; Tousoulis, D.; Stefanadis, C. Vulnerable plaque and inflammation: Potential clinical strategies. *Curr. Pharm. Design* 2011, 17, 4190–4209.

72. Duntas L.H., Benvenga S. Selenium: an element for life // *Endocrine*. 2015. Vol. 48(93). P. 756–775.

73. E. E. Kazilin, V. I. Roldugin, G. E. Folmanis, L. V. Kovalenko, M. A. Fedotov, V. A. Volchenkova, and I. G. Tananev, “Influence of laser radiation on selenium particle morphology in a colloidal solution,” *Perspekt. Mater.*, No. 8, 31–36 (2016).

74. F.F. (Russ) Knapp, A. Dash, *Radiopharmaceuticals for Therapy*, DOI 10.1007/978-81-322-2607-9_16

75. Facile and controllable one-step fabrication of selenium nanoparticles assisted by L-cysteine / Q. Li, T. Chen, F. Yang [et al.] // *Materials letters*. – 2010. – Vol. 64, № 5. – P. 614–617.

76. Fernandez-Fernandez, A.; Manchanda, R.; McGoron, A. J. Theranostic applications of nanomaterials in cancer: Drug delivery, image-guided therapy, and multifunctional platforms. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2011, 165, 1628–1651.

77. Folmanisa, G.E., M.A. Fedotov, N.A. Golubkina and A.V. Soldatenko, 2018. Synthesis and Characteristics of Selenium Nanoparticles for Enriching Radish Seedlings. ISSN 1995-0780, *Nanotechnologies in Russia*, 13(9-10): 516-520.

78. G. Alfthan, “A micromethod for the determination of selenium in tissues and biological fluids by single-test tube fluorimetry,” *Anal. Chim. Acta* 184, 187–194 (1984).

79. Gandin V, Khalkar P, Braude J, Fernandes AP (2018) Organic selenium compounds as potential chemotherapeutic agents for improved cancer treatment. *Free Radic Biol Med* 127:80–97.

80. Gupta M., Gupta S. An overview of selenium uptake, metabolism, and toxicity in plants // *Frontiers in plants science*. 2017. Vol. 7. P. 2074.

81. Gupta M., Gupta S. An overview of selenium uptake, metabolism, and toxicity in plants // *Frontiers in plants science*. 2017. Vol. 7. P. 2074.
82. Hamoudeh, M.; Kamleh, M. A.; Diab, R.; Fessi, H. Radionuclides delivery systems for nuclear imaging and radiotherapy of cancer. *Adv. Drug Deliver Rev.* 2008, 60, 1329–1346.
83. Hilderbrand, S. A.; Weissleder, R. Near-infrared fluorescence: Application to in vivo molecular imaging. *Curr. Opin. | www.editorialmanager.com/nare/default.asp* 20 Nano Res. Chem. Biol. 2010, 14, 71–79.
84. Ingole Atul. R. Green synthesis of selenium nanoparticles under ambient condition / Atul. R. Ingole, Sanjay R. Thakare, N. T. Khati [et al.] // *Chalgonide Letters* – 2010 – Vol.7, No7 – P.485-489.
85. Juniper DT, Phipps RH, Givens DI, Jones AK, Green C, Bertin G (2008) Tolerance of ruminant animals to high dose in-feed administration of a selenium-enriched yeast. *J Anim Sci* 86(1):197–204.
86. Kelkar, S. S.; Reineke, T. M. Theranostics: combining imaging and therapy. *Bioconjugate Chem.* 2011, 22, 1879– 1903.
87. Kobayashi, H.; Wu, C. C.; Kim, M. K.; Paik, C. H.; Carrasquillo, J. A.; Brechbiel, M. W. Evaluation of the in vivo biodistribution of indium-111 and yttrium-88 labeled dendrimer-1B4M-DTPA and its conjugation with anti-Tac monoclonal antibody. *Bioconjug. Chem.* 1999, 10, 103–111.
88. Kudinova, N. V.; Berezov, T. T. Photodynamic therapy of cancer: Search for ideal photosensitizer. *Biochemistry (Moscow)* 2010, 4, 95–103.
89. Lammers, T.; Aime, S.; Hennink, W. E.; Storm, G.; Kiessling, F. Theranostic nanomedicine. *Acc. Chem. Res.* 2011, 44, 1029–1038.
90. Lim, C. K.; Heo, J.; Shin, S.; Jeong, K.; Seo, Y. H.; Jang, W. D.; Park, C. R.; Park, S. R.; Kim, S.; Kwon, I. C. Nanophotosensitizers toward advanced photodynamic therapy of cancer. *Cancer Lett.* 2012, 334, 176–187.
91. Liqiang Han, Kun Pang, Tong Fu, Clive J. C. Phillips, Tengyun Gao Nano-selenium Supplementation Increases Selenoprotein (Sel) Gene Expression

Profiles and Milk Selenium Concentration in Lactating Dairy Cows // *Biological Trace Element Research*. 2021. 199. 13–119.

92. M. Puccinelli, F. Malorgio, and B. Pezzarossa, “Selenium enrichment of horticultural crops,” *Molecules* 22, 933–951 (2017).

93. MacFarquhar J.K., Broussard D.L., Melstrom P. et al. Acute selenium toxicity associated with a dietary supplement // *Arch Intern Med*. 2010. Vol. 170(3). P. 256–261.

94. McCarthy, J. R. The future of theranostic nanoagents. *Nanomedicine* 2009, 4, 693–695.

95. Mehdi Y., Hornick J. L., Istasse L., Dufrasne I. Selenium in the environment, metabolism and involvement in body functions // *Molecules*. 2013. Vol. 18. P. 3292–3311.

96. Melancon, M. P.; Stafford, R. J.; Li, C. Challenges to effective cancer nanotheranostics. *J. Control. Release* 2012, 164, 177–182.

97. Meng TT, Liu YL, Xie CY, Zhang B, Huang YQ, Zhang YW, Yao YJ, Huang RL, Wu X (2019) Effects of different selenium sources on laying performance, egg selenium concentration, and antioxidant capacity in laying hens. *Biol Trace Elem Res* 189(2):548– 555.

98. Menon, J. U.; Jadeja, P.; Tambe, P.; Vu, K.; Yuan, B. H.; Nguyen, K. T. Nanomaterials for photo-based diagnostic and therapeutic applications. *Theranostics* 2013, 3, 152–166.

99. N. A. Golubkina and T. T. Papazyan, *Selenium in the Nutrition: Plants, Animals, Humans* (Pechatnyi gorod, Moscow, 2006) [in Russian].

100. N. Terry, A. M. Zayed, M. P. Souza, and A. S. Tarun, “Selenium in higher plants,” *Plant. Mol. Biol.* 51, 401– 432 (2000).

101. Naderi M, Keyvanshokoo S, Ghaedi A, Salati AP (2019) Interactive effects of dietary nano selenium and vitamin E on growth, haematology, innate immune responses, antioxidant status and muscle composition of rainbow trout under high rearing density. *Aquac Nutr*. <https://doi.org/10.1111/anu.12931?af=R>

102. Nano zinc, an alternative to conventional zinc as animal feed supplement / S. Partha [et al.] // *Animal Nutrition*. - 2016. - Vol. 2, Issue 3. - P. 134-141.
103. O. V. Trineeva, "Methods for determining the antioxidant activity of objects of plant and synthetic origin in pharmacy (review)," *Razrab. Registr. Lek. Sredstv* 21, 180–197 (2017).
104. Pacitti D, Lawan MM, Feldmann J, Sweetman J, Wang T, Martin SA, Secombes CJ (2016) Impact of selenium supplementation on fish antiviral responses: a whole transcriptomic analysis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed supranutritional levels of SelPlex®. *BMC Genomics* 17(1):116.
105. Pankaj, K. S. Use of Nano Feed Additives in Livestock Feeding / K. SD. Pankaj // *International Journal of Livestock Research*. - Vol. 6(1). - P. 1-14.
106. Prabhu, P.; Patravale, V. The upcoming field of theranostic nanomedicine: An overview. *J. Biomed. Nanotechnol.* 2012, 8, 859–882.
107. Prk K., Rimm E., Siscovick D. et al. Demographic and lifestyle factors and selenium levels in men and women in U.S // *Nutrition research and practice*. 2011. Vol. 5(4). P. 357–364.
108. Rai, P.; Mallidi, S.; Zheng, X.; Rahmanzadeh, R.; Mir, Y.; Elrington, S.; Khurshid, A.; Hasan, T. Development and applications of photo-triggered theranostic agents. *Adv. Drug Deliv Rev.* 2010, 62, 1094–1124.
109. Rayman M.P. // *Lancet* 2000; 356: 233-241
110. S. O. Lee and I. S. Lee, "Induction of quinone reductase, the phase 2 anticarcinogenic marker enzyme, cells by radish sprouts, *Raphanus sativus* L," *J. Food Sci.* 71, 144–148 (2006).
111. S. Sugihara, M. Kondo, Y. Chihara, M. Yuji, H. Hattori, and M. Yoshida, "Preparation of selenium enriched sprouts and identification of their selenium species by high performance liquid chromatography inductively coupled plasma mass-spectrometry," *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 68, 193–199 (2004)
112. Senge, M. O.; Radomski, M. W. Platelets, photosensitizers, and PDT. *Photodiagnosis. Photodyn. Ther.* 2012, 10, 1–16. [175] Menon, J. U.; Jadeja, P.;

Tambe, P.; Vu, K.; Yuan, B. H.; Nguyen, K. T. Nanomaterials for photo-based diagnostic and therapeutic applications. *Theranostics* 2013.

113. Shibu, E. S.; Hamada, M.; Murase, N.; Biju, V. Nanomaterials formulations for photothermal and photodynamic therapy of cancer. *J. Photochem. Photobiol. C* 2013, 15, 53–72.

114. Sun LL, Gao ST, Wang K, Xu JC, Sanz-Fernandez MV, Baumgard LH, Bu DP (2019) Effects of source on bioavailability of selenium, antioxidant status, and performance in lactating dairy cows during oxidative stress-inducing conditions. *J Dairy Sci* 102(1):311–319.

115. T. Xue, H. Hartikainen, and V. Piironen, “Antioxidative and growth-promoting effect of selenium on senescing lettuce,” *Plant Soil* 237, 55–61 (2001).

116. Tappel AX.//*Amer.J.Clin.Nutrit.* 1974. V. 27. P. 960.

117. Tinkle, S. S. Maximizing safe design of engineered nanomaterials: The NIH and NIEHS research perspective. *WIREs. Nanomed. Nanobio.* 2010, 2, 88–98.

118. V. I. Roldugin, M. A. Fedotov, G. E. Folmanis, L. V. Kovalenko, and I. G. Tananaev, “Formation of aqueous colloidal solutions of selenium and silicon by laser ablation,” *Dokl. Phys. Chem.* 463, 161–164 (2015).

119. V. L. Lanin, N. V. Dezhkunov, and A. V. Kotukhov, “Application of ultrasonic effects in liquid media for fabrication of nanomaterials,” *Surf. Eng. Appl. Electrochem.* 46, 223 (2010).

120. V. V. Kuznetsov, V. P. Kholodova, V. V. Kuznetsov, and B. A. Yagodin, “Selenium regulates the water status of plants during drought,” *Dokl. Akad. Nauk* 390, 713–715 (2003).

121. Ventura M., Melo M., Carrilho F. Selenium and thyroid disease: from pathophysiology to treatment // *Intrnational J of Endocrinologl.* 2017. Vol. 1297658. doi: 10.1155/2017/1297658.

122. Wang, S. Y.; Fan, W. Z.; Kim, G.; Hah, H. J.; Lee, Y. E.; Kopelman, R.; Ethirajan, M.; Gupta, A.; Goswami, L. N.; Pera, P.; Morgan, J.; Pandey R. K. Novel methods to incorporate photosensitizers into nanocarriers for cancer treatment by photodynamic therapy. *Laser Surg. Med.* 2011, 43, 686–695.

123. Wang, S. Y.; Kim, G.; Lee, Y. E. K.; Hah, H. J.; Ethirajan, M.; Pandey, R. K.; Kopelman, R. Multifunctional biodegradable polyacrylamide nanocarriers for cancer theranostics—A “see and treat” strategy. *ACS Nano* 2012, 6, 6843–6851.
124. WHO. Global Health Risks: Mortality and Burden of Disease Attributable to Selected Major Risks. Available online at http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/GlobalHealth.2009:Risks_report_annex.pdf (Accessed March 5, 2014).
125. Xia, L.; Kong, X. G.; Liu, X. M.; Tu, L. P.; Zhang, Y. L.; Chang, Y. L.; Liu, K.; Shen, D. Z.; Zhao, H. Y.; Zhang, H. An upconversion nanoparticle—Zinc phthalocyanine based nanophotosensitizer for photodynamic therapy. *Biomaterials* 2014, 35, 4146–4156.
126. Xing, Y.; Rao, J. H. Quantum dot bioconjugates for in vitro diagnostics & in vivo imaging. *Cancer Biomark.* 2008, 4, 307–319.
127. Zhang JS, Gao XY, Zhang LD, Bao YP (2001) Biological effects of a nano red elemental selenium. *BioFactors* 15(1):27–38
128. Zhang JS, Gao XY, Zhang LD, Bao YP (2001) Biological effects of a nano red elemental selenium. *BioFactors* 15(1):27–38
129. Zhang L, Zeng HW, Cheng WH (2018) Beneficial and paradoxical roles of selenium at nutritional levels of intake in healthspan and longevity. *Free Radic Biol Med* 127:3–13.