

В развитии этой патологии принимают участие различные факторы. Следует отметить, что сочетанное течение гастроэнтерологической и эндокринной патологии является актуальной темой для современной медицины, остаются нерешенными многие ключевые вопросы, которые требуют дальнейших исследований с использованием современных методов доказательной медицины.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балаболкин М. И. Диабетология. — М.: Медицина, 2000.
2. Губергриц Н. Б., Фоменко П. Г., Колкина В. Я. // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол. и колопроктол. — 2009. — № 5. — С. 61—66.
3. Дедов И. И., Шестакова М. В. Сахарный диабет: острые и хронические осложнения. — М.: МИА, 2011.
4. Демичева Т. П., Циммерман И. Я. // Мед. альманах. — 2011. —

№ 2 (15). — С. 66—68.

5. Малиновская Н. А. // Буковинський мед. вісн. — 2010. — № 1 (53). — С. 169—171.
6. Мкртумян А. М., Маева И. В., Бауровой К. И. // Сахарный диабет. — 2009. — № 2. — С. 46—49.
7. Шестакова М. В., Дедов И. И. Сахарный диабет и хроническая болезнь почек. — М.: МИА, 2009.
8. Anastasios R., Goritsas C., Paramihail C. et al. // Eur. J. Intern. Med. — 2002. — Vol. 13, N 6. — P. 376—379.
9. Ebert E. C. // Dis. Mon. — 2005. — Vol. 51, N 12. — P. 620—663.
10. Orstavik K. // J. Neurosci. — 2006. — Vol. 26. — P. 11287—11294.
11. Selin J. H. // Nat. Clin. Prac. Gastroenterol. Hepatol. — 2008. — Vol. 5, N 3. — P. 162—171.
12. Shakil A. // Am. Family Physician. — 2008. — Vol. 77, N 12. — P. 1697.
13. Vinik A., Mehrabyan A., Colen L., Boulton A. // Diabetes Care. — 2004. — Vol. 27. — P. 1783—1788.

Поступила 22.03.11

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012

УДК 615.46:008

А. Ш. Хубутия¹, А. В. Бабич¹, А. А. Темнов^{1*}, А. С. Ботин¹, Т. С. Попова¹, А. Н. Склифас², В. Ю. Науменко³

ПРИМЕНЕНИЕ НАНОМАТЕРИАЛОВ В МЕДИЦИНЕ. ЧАСТЬ 1

¹НИИ скорой помощи им. Н. В. Склифосовского, Москва; ²Институт биофизики клетки, Пушкино;

³Российский государственный медицинский университет, Москва

*Темнов Андрей Александрович, д-р мед. наук, зав. лабораторией, 129090, Москва, Б. Сухаревская пл., д. 3

Благодаря малым пространственным размерам, возможности специфического связывания поверхности с разнообразными лигандами, проявлению резонансного характера поглощения различных падающих видов энергии внешних воздействий с последующей их релаксацией и быстрой регистрации изменений энергетического состояния наночастицы получили широкое применение в клеточной инженерии и разработке новых методов эффективной экспресс-диагностики и терапии различных заболеваний на ранних стадиях развития [5, 19, 20], например в онкологической медицине, где ранняя диагностика и эффективность лечения неразрывно связаны.

В настоящее время для терапевтических и исследовательских нужд современной медицины достаточно давно активно применяются разнообразные по форме и дисперсному составу металлические, полупроводниковые, полимерные, оксидные, углеродные наноструктуры. В то же время многие вопросы взаимодействия наночастиц с биологическими структурами как *in vitro*, так и *in vivo* по-прежнему не имеют однозначных ответов.

Нанообъект — физический объект, отличающийся по своим физико-химическим свойствам от соответствующего массивного материала и имеющий как минимум один из размеров в нанодиапазоне (не более 100 нм).

Нанотехнологией называется технология, имеющая дело как с отдельными нанообъектами, так и с материалами и устройствами на их основе, а также с процессами, протекающими в нанометровом диапазоне [1].

Одним из основных свойств наночастиц является то, что их физико-химические свойства качественно отличаются при переходе от микро- к наноразмеру [5]. Это связано с тем, что если хотя бы один из размеров частицы сопоставим с радиусом корреляции какого-либо физического или химического свойства (длиной свободного пробега электрона, размером магнитного

домена и т. д.), то проявляются «размерные» эффекты [5, 33].

Так, для наночастиц металлов различают два типа размерных эффектов: внутренний и наружный. Внутренний эффект проявляется в изменении объемных и поверхностных свойств частиц, внешний эффект является размерно-зависимым ответом на воздействие внешних полей и сил [5].

При переходе вещества в стационарное состояние электромагнитная энергия излучается во всех направлениях. Подобные процессы характеризуются определенной частотой колебания носителей заряда (электронов проводимости). При совпадении частоты падающего излучения с частотой собственных колебаний наблюдается эффект резонансного поглощения падающей энергии, так называемый плазмонный резонанс, на основании существования которого реализуются методы обнаружения различных терапевтических или диагностических комплексов на основе наночастиц, связанных с лекарственными препаратами и/или антителами для специфического взаимодействия с клеточными структурами.

Кроме переизлучения, наноструктуры могут преобразовывать часть падающей электромагнитной энергии в другие ее виды (например, тепло). Подобный процесс называется поглощением. Для наночастиц поглощение преобладает над рассеянием, если и в объемном материале наблюдается заметное поглощение этих конкретных длин волн [7].

При распространении света в наноструктурированном веществе с уменьшением размера нанобразований падает значение коэффициента поглощения, материал становится более прозрачным для большего интервала длин волн. При рассмотрении явления интерференции ее максимум смещается в коротковолновую область, а коэффициент экстинкции при этом резко возрастает.

В металлических частицах спектральные характеристики экстинкции имеют ряд особенностей. Так как

у металлов вклад свободных электронов преобладает над всеми другими механизмами, то он оказывается доминирующим в полосе частот от радиодиапазона до области дальнего ультрафиолета. Уменьшение диаметра наночастиц приводит к уширению пика поглощения, одновременно уменьшается его высота, но положение максимума при этом не изменяется. Уширение и уменьшение максимума поглощения наблюдается у сверхмелких частиц. Для более крупных размеров пик сдвигается в сторону больших длин волн [7].

Для практического использования в биомедицинской технологии требуются наночастицы, которые при заданном объеме наиболее интенсивно поглощали бы излучение в заданном диапазоне частот. Варьируя их размеры и форму, ученые синтезируют наноматериалы с необходимыми физическими свойствами.

Таким образом, становится возможным осуществлять контроль длины волны оптического поглощения и излучения, например, квантовых точек или нанодисперсных металлических частиц, варьируя основные размерные характеристики материалов, что позволяет от теоретических изысканий перейти к практическим диагностическим и терапевтическим приложениям наноматериалов: гипертермии (процесс преобразования наночастицами падающей электромагнитной энергии в тепловую энергию для последующих перегреваний очагов патологии), маркированию биологических объектов для последующей люминесцентной микроскопии (процесс переизлучения падающей поглощенной энергии веществом с последующей регистрацией рассеянного излучения) и др.

Для диагностических приложений в медицине перспективны полупроводниковые или металлические наночастицы, способные поглощать и переизлучать падающее электромагнитное излучение. Для простоты их регистрации настраиваемые в процессе синтеза наночастиц оптические свойства, зависящие от размерных характеристик структур, должны соответствовать узким спектральным линиям поглощения и испускания энергии. Следовательно, наночастицы должны иметь как можно более узкое распределение по размерам в образце. Наиболее перспективными инструментами для медицинской диагностики среди прочих являются наночастицы золота и оксидов железа ввиду их большей биосовместимости, варьируемых в зависимости от размеров нанообъектов размерных оптических резонансных эффектов, относительной простоты получения и доступности.

Золотые наноструктуры

Интенсивная красная окраска золотосодержащего маркера позволяет легко обнаруживать золотые частицы с применением различных методик исследования (просвечивающая и сканирующая электронная микроскопия, световая, зондовая микроскопия, фотометрия, проточная цитометрия и др.) [3].

Золотые наночастицы, обладающие свойством плазмонного резонанса, используются в медицине в клинической экспресс-диагностике [5, 17, 19, 20] для иммунной индикации [26, 28] и детекции биоспецифического связывания макромолекул [21, 34, 35] и оптической визуализации биологических объектов [32]. Коллоидно-золотые препараты применяются в методах проведения анализа больших массивов антигенов [25] и в иммунографических стрип-тестах [15].

Для эффективного применения в биомедицине нанокомплексов, проявляющих *резонансные* оптические

свойства в диапазоне длин волн, в котором наблюдается резонансное поглощение падающей электромагнитной энергии и ее релаксация наноструктурами, эти процессы должны соответствовать окну прозрачности тканей организма пациента ~ 650—750 нм (по другим данным, 900—1000 нм). Спектральная настройка наночастиц и соотношения между их эффективностями поглощения и рассеяния осуществляется за счет изменения размера, формы, типа и структуры частиц [9].

Относительно недавно были обнаружены уникальные поляризационные оптические свойства и у золотых наностержней [29], которые также могут быть использованы для визуализации и мониторинга молекулярных маркеров на поверхности клеток.

Композитные наноразмерные структуры, представляющие собой неорганическое ядро (например, кремния [30]), покрытое золотой оболочкой толщиной наномасштаба в жидкой матрице, обладают высокой агрегативной стабильностью. Параметры оптического резонанса таких частиц настраиваются отношением толщины золотой оболочки к размеру ядра. Резонансное рассеяние энергии на частицах таких размеров более чем на порядок превышает рассеяние на обычных золотых коллоидных частицах и интенсивнее флюоресценции молекул типичных красителей [4].

Серебряные наноструктуры

Наночастицы серебра (Ag НЧ) также весьма интересуют исследователей в связи с их антибактериальным эффектом. В современной медицине Ag НЧ применяются для создания перевязочных материалов, хирургических инструментов и биоматериальных тканезаменителей (например, костная ткань) [22]. В зависимости от технологии производства, определяющей размеры, форму, стабилизирующее и функциональное покрытие Ag НЧ, они могут поглощаться клетками и накапливаться в их перинуклеарном пространстве [22, 23]. Авторами работы [23] было показано, что цитотоксический потенциал Ag НЧ в человеческих мезенхимальных стволовых клетках (МСК) присутствует в значительно более высоких концентрациях по сравнению с концентрациями, необходимыми для эффективного достижения антимикробного воздействия.

Наночастицы — аналог QD

Наночастицы с выраженной дискретностью энергетических уровней часто называют «квантовыми точками», в основном это полупроводниковые наноматериалы, имеющие интенсивную и узкую линию люминесценции в видимой и ближней инфракрасной области спектра [41]. Неорганические полупроводники способны хорошо поглощать электромагнитное излучение и фотосенсибилизировать окислительно-восстановительные реакции [18]. Полупроводники обеспечивают возможность многоэлектронных фотопроцессов, что существенно для реализации многих химических реакций, в том числе фоторазложения воды. Поверхность частицы полупроводника может играть роль стабилизатора образующихся промежуточных соединений, оказывая влияние на эффективность химических реакций и их избирательность [6]. В настоящее время перспективными для биомедицинских применений в качестве флюоресцентных меток считаются наночастицы золота и на основе CdTe или CdSe, поверхность которых стабилизирована CdS и ZnS соответственно. Однако соединения на основе кадмия довольно токсичны и их использование в ме-

дицине проблематично [5]. Результаты экспериментов, направленных на определение токсичности образцов квантовых точек на основе ZnS и CdS с одинаковым размером, поверхностным покрытием и концентрациями наночастиц в образцах, показали цитотоксичность CdS и ее отсутствие при использовании наноструктур на базе соединения ZnS [31]. Биосовместимость ZnS квантовых точек (КТ) делает их благоприятными для применения *in vivo*. Проблему токсичности наноконструктов с включениями кадмия, вероятно, можно решить правильным подбором ПАВ. Авторы исследования [40] утверждают, что антитела Anti-HER2, сопряженные с квантовыми точками на основе CdSe/ZnS и позволяющие осуществлять люминесцентную диагностику и визуализацию опухолей при онкологических патологиях молочной железы, а также определение статуса белка HER2 в исследуемой опухоли, не оказывают токсического воздействия на организмы крыс линии Wistar. Совокупные данные этого исследования подтверждают биосовместимость anti-HER2ab-КТ-комплекса для визуализации рака молочной железы, исходя из предположения, что подобные конъюгационные к КТ покрытия ослабляют или же полностью блокируют возможное негативное воздействие исследуемых квантовых точек на организм [40].

Магнитные наночастицы

Для решения задач биологии и медицины широкое применение нашли магнитные наночастицы, которые при связывании с биологически активными компонентами или клеточными структурами делают образовавшиеся конъюгаты магнитоуправляемыми при наложении внешнего поля, что позволяет их высокоэффективно использовать при выделении многих пептидов, белков и поликлональных антител [38].

Нанотомографии, проявляющие магнитные свойства, среди прочего вызывают повышенный интерес исследователей ввиду их потенциальной эффективности в терапии и диагностике методами избирательного взаимодействия с клеточными структурами, которое успешно реализуется, например, при проведении клеточной сепарации, удаления из кровотока одиночных злокачественных клеток и подготовки клеточного материала перед его трансплантацией онкологическим больным [24, 37]. Так, применение клеточной сортировки для восстановительной трансплантологии после химио- и лучевой терапии онкологических больных позволяет значительно снизить гематоксические осложнения при лечении и уменьшить сроки реабилитации пациентов [40].

Магнитно-резонансная (МР) томография предлагает решение для отслеживания клеток *in vivo* с использованием инновационных подходов к мечению клеточных структур магнитными маркерами, которые уменьшают время релаксации T1- и T2-протонов и таким образом усиливают контрастность на томограммах, и получению изображений. Для реализации успешного мониторинга меченых клеток необходимо добиться оптимальной эффективности маркеров без каких-либо побочных эффектов. Магнитная клеточная визуализация является относительно новым и развивающимся методологическим комплексом, который позволяет наблюдать и выделять имплантированные клетки *in vivo*.

При нейтрализации негативных последствий взаимодействий наноконструктов на основе редкоземельных элементов с клеточными структурами они могут стать инструментами для эффективной диагностики

различных заболеваний. Кластеры лантаноидов обладают способностями проявлять размерные эффекты [12, 13, 16], в частности наночастицы гадолиния, обнаруживающие суперпарамагнитные свойства, определяемые магнитными свойствами атомов с не полностью заполненными электронными d- и f-оболочками, на которых присутствуют электроны с неспаренным спином, и поэтому в них возникают значительные по величине и нескомпенсированные магнитные моменты. Для того чтобы гадолиний мог выводиться почками, не оказывая на них токсического действия, он используется в виде комплекса с диэтилентриаминпентауксусной кислотой. Однако впоследствии было выяснено, что существует возможность развития нефрогенного системного фиброза у больных с почечной недостаточностью и некоторыми воспалительными заболеваниями [10, 14, 39].

Магнитные наночастицы оксидов железа

Наночастицы оксидов железа являются наиболее подходящими магнитными материалами для биомедицинских исследований. Основное преимущество оксидов железа — это высокая стабильность коллоидного раствора, высокоэффективная поверхность наночастиц, которая позволяет связывать различные лиганды, и биосовместимость. Как было отмечено, движением таких наночастиц можно управлять посредством наложения внешнего магнитного поля и локализовать их в заданной области организма или органе [5].

Используя наноконструкты на основе сверхмелких суперпарамагнитных частиц оксидов железа, в настоящее время ученые активно разрабатывают методики детектирования клеточных структур, предварительно связанных с модифицированными магнитными маркерами [11, 27, 42].

Главное преимущество применения суперпарамагнитных наночастиц состоит в том, что они имеют размеры порядка 10 нм и легко могут быть введены в клетки без серьезных пагубных побочных эффектов. Одна четверть железа, присутствующего в теле человека, находится в молекулах ферритина, а 70% — в гемоглобине. Ферритин — биологическая молекула, содержащая 25% железа по массе и состоящая из симметричной белковой оболочки в форме полый сферы с внутренним диаметром 7,5 нм и внешним диаметром 12,5 нм. Эта молекула в биологических системах играет роль «хранилища» Fe^{3+} в организме.

Поскольку железо как вещество в организме человека находится естественно и в достаточном количестве, так как это важный переносящий кислород компонент молекулы гемоглобина, оно вряд ли способно оказать какое-либо вредоносное воздействие на поведение и жизнедеятельность клеточных структур и здоровье пациентов при правильном подборе концентраций внедряемых агентов.

Контрастные средства на основе суперпарамагнитных наночастиц оксида железа идеальны для МР-ангиографии у человека. Препарат АМІ-277 (синерем) улучшал визуализацию почечной артерии и правой коронарной артерии. Кроме того, с помощью АМІ-277 удалось визуализировать аорту, нижнюю полую вену и воротную вену у 16 больных в течение 45 мин. С помощью вещества NC100150 (кларискан) можно проводить коронарную МР-ангиографию и получать изображение крупных, сегментарных и субсегментарных артерий. При использовании контрастного средства в виде болюса для перфузионных исследований не

обнаружено каких-либо побочных реакций. Наночастицы суперпарамагнитного оксида железа помогают выявлять ишемические поражения головного мозга на ранних стадиях, идентифицировать участки ишемии миокарда, оценивать функцию почек и их гемодинамику [43].

ЛИТЕРАТУРА

1. Губин С. П., Кокишаров Ю. А., Хомутов Г. Б., Юрков Г. Ю. // Успехи химии. — 2005. — Т. 74. — С. 539.
2. Гусев А. Н., Рампель А. А. Нанокристаллические материалы. — М.: Физматлит, 2001.
3. Дыкман Л. А., Богатырев В. А. // Успехи химии. — 2007. — Т. 76, № 2. — С. 199—213.
4. Загайнова Е. В., Ширманова М. В., Каменский В. А. и др. // Рос. нанотехнол. — 2007. — Т. 2, № 7—8. — С. 135—143.
5. Нанотех 2004. — 2004. — № 1. — С. 90.
6. Никандров В. В. // Успехи биол. химии. — 2000. — Т. 40. — С. 357—396.
7. Николаев В. И., Шипилин А. М. // Физика твердого тела. — 2003. — Т. 45. — № 6. — С. 1029—1030.
8. Рыжонков Д. И., Лёвина В. В., Дзидзигури Э. Л. Наноматериалы. — М., Лаборатория знаний, 2008.
9. Хлебцов Н. Г. // Квантовая электроника. — 2008. — Т. 38, № 6. — С. 504—529.
10. Abraham J. L., Thakral C., Skov L. et al. // Br. J. Dermatol. — 2008. — Vol. 158. — P. 273—280.
11. Babich M., Horák D., Trchová M. et al. // Bioconjugate Chem. — 2008. — Vol. 19, N 3. — P. 740—750.
12. Billas L. M. L., Chatelain A., de Heer W. A. // Surf. Rev. Lett. — 1996. — Vol. 3. — P. 429.
13. Billas L. M. L., Chatelain A., de Heer W. A. // J. Magn. Mater. — 1997. — Vol. 168. — P. 64.
14. Broome D. R., Girguis M. S., Baron P. W. et al. // Am. J. Roentgenol. — 2007. — Vol. 188. — P. 586—592.
15. Cho J.-H., Paek S.-H. // Biotechnol. Bioengineer. — 2001. — Vol. 75. — P. 725—732.
16. Douglas D. C., Bucher J. P., Bloomfeld L. A. // Phys. Rev. Lett. — 1992. — Vol. 68. — P. 1774.
17. El-Sayed I. H., Huang X., El-Sayed M. A. // Nano Lett. — 2005. — Vol. 5. — P. 829—834.
18. Energy resources through photochemistry and catalysis / Ed. M. Gratzel. — New York: Acad. Press, 1983.
19. Englebinne P. // Analyst. — 1998. — Vol. 123, N 7. — P. 1599—1603.
20. Englebinne P., van Hoonacker A., Valsamis J. // Clin. Chem. — 2000. — Vol. 46.
21. Frederix F., Fredt J. M., Choi K. H. et al. // Anal. Chem. — 2003. — Vol. 75. — P. 6890—6894.
22. Greulich C., Diendorf J., Simon T. et al. // Acta Biomater. — 2011. — Vol. 7, N 1. — P. 347—354.
23. Hackenberg S., Scherzed A., Kessler M. et al. // Toxicol. Lett. — 2011. — Vol. 201, N 1. — P. 27—33.
24. Halbreich A., Roger J., Pons L. N. et al. // Biochimie. — 1998. — Vol. 80, N 5—6. — P. 379—390.
25. Han A., Dufva M., Bellevin E., Christensen C. B. V. // Lab. Chip. — 2003. — Vol. 3. — P. 329—332.
26. Hirsch L. R., Jacson J. B., Jee A. et al. // Anal. Chem. — 2003. — Vol. 75. — P. 2377—2381.
27. Jin Sook Suh, Jue Yeon Lee, Young Suk Choi et al. // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 2009. — Vol. 379, N 3. — P. 669—675.
28. Khlebtsov B. N., Dykman L. A., Bogatyrev V. A., Zharov V. P., Khlebtsov N. G. // Nanoscale Rev. Lett. — 2006. — Vol. 2. — P. 6—11.
29. Khlebtsov B. N., Khanadeyev V. A., Khlebtsov N. G. // J. Phys. Chem. C. — 2008. — Vol. 112. — P. 1270—12768.
30. Khlebtsov B. N., Khanadeyev V. A., Jian Ye et al. // Phys. Rev. B. — 2008. — Vol. 77, N 3. — P. 035440 (1—14).
31. Li H., Li M., Shih W. Y. et al. // J. Nanosci. Nanotechnol. — 2011. — Vol. 11, N 4. — P. 3543—3551.
32. Loo C., Hirsch L., Lee M. et al. // Opt. Lett. — 2005. — Vol. 30, N 9. — P. 1012—1014.
33. Moriarty P. // Rep. Prog. Phys. — 2001. — Vol. 64. — P. 297.
34. Nath N., Chilkoti A. // Anal. Chem. — 2002. — Vol. 74. — P. 504—509.
35. Ribon J. C., Haes A. J., McFariland A. D. // J. Phys. Chem. B. — 2003. — Vol. 107. — P. 1772—1780.
36. Saden B., Doi M., Shimizu T., Matsui M. J. // J. Magn. Soc. Jpn. — 2000. — Vol. 24. — P. 511.
37. Safarik I., Safarikova M. // Monatshefte für Chem. — 2002. — Vol. 133. — P. 737—759.
38. Safarik I., Safarikova M. // Biomagn. Res. Technol. — 2004. — Vol. 2, N 1. — P. 7—34.
39. Sieber M. A., Pietsch H., Walter J. et al. // Invest Radiol. — 2008. — Vol. 43. — P. 65—75.
40. Tiwari D. K., Jin T., Behari J. // Int. J. Nanomed. — 2011. — Vol. 6. — P. 463—475.
41. Wang K. L., Balandin A. A. // Optics of Nanostructured materials. / Eds V. A. Markel et al. — New York, 2001. — P. 515.
42. Wang Yajie, Wang Yanming, Wang Ling, Che Yongzhe, Li, Zongjin, Kong Deling // J. Nanosci. Nanotechnol. — 2011. — Vol. 11, N 5. — P. 3749—3756 (8).
43. Zhang Z., Dharmakumar R., Mascheri N. et al. // Mol. Imaging. — 2009. — Vol. 8, N 3. — P. 148—155.

Поступила 09.02.12