**Попов Антон Леонидович. Исследование биологической активности цитрат-стабилизированных наночастиц диоксида церия (СеО2): диссертация ... кандидата Биологических наук: 03.01.02 / Попов Антон Леонидович;[Место защиты: ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук], 2017.- 144 с.**

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ**

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ**

**ИНСТИТУТ ТЕОРЕТИЧЕСКОЙ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БИОФИЗИКИ**

**РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК**

*На правах рукописи*

ПОПОВ АНТОН ЛЕОНИДОВИЧ

**Исследование биологической активности цитрат-стабилизированных**

**наночастиц диоксида церия (СеО2).**

03.01.02 – биофизика

ДИССЕРТАЦИЯ на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель:

кандидат физико-математических наук,

Селезнева Ирина Ивановна

Пущино 2016

1

ОГЛАВЛЕНИЕ

**Список сокращений** 5

**Введение** 6-10

**ГЛАВА 1. Обзор литературы** 11

1. **Методы синтеза, структура и физико-химические свойства** 11-16 **нанодисперсного диоксида церия**
2. **Токсичность нанодисперсного диоксида церия** 17
3. Факторы влияющие на токсичность нанодисперсного диоксида церия 17-20
4. Накопление в организме и клиренс нанодисперсного диоксида церия 20-22

**1.3. Биологическая активность нанодисперсного диоксида церия** 22

1. Энзимоподобная активность нанодисперсного диоксида церия 22-27
2. Влияние нанодисперсного диоксида церия на репродуктивную систему 27-28 млекопитающих.
3. Влияние нанодисперсного диоксида церия на пролиферативную 28-29 активность клеток.
4. Антиоксидантные, УФ- и радиопротекторные свойства нанодисперного 29-35 диоксида церия.

**1.4. Адресная внутриклеточная доставки нанодисперсного диоксида** 35-36
**церия**

1. Наночастицы церия как активное средство внутриклеточной доставки 36-38 лекарств.
2. Полиэлектролитные микрокапсулы как системы доставки 38 бионаноматериалов.

**Заключение по обзору литературы**

**ГЛАВА 2. Материалы и методы** 39

1. **Химические реактивы, среды и материалы** 39
2. **Схема синтеза и анализ физико-химических характеристик** 39-40 **нанодисперсного диоксида церия**
3. Пробоподготовка нанодисперсного диоксида церия 39
4. Анализ гидродинамического радиуса и дзета-потенциала нанодисперсного 39 диоксида церия
5. Просвечивающая электронная микроскопия нанодисперсного диоксида 40 церия
6. УФ видимая спектроскопия нанодисперсного диоксида церия 40
7. **Анализ уровня пероксида водорода и гидроксильного радикала** 40-41
8. **Модели окислительного стресса *in vitro* и *in vivo*** 41-42 2.4.1. Окислительный стресс, индуцированный экзогенным пероксидом 41 водорода

2.4.2.Окислительный стресс, индуцированный воздействием 41

низкотемпературной аргоновой плазмы (НТАП).

1. Окислительный стресс, индуцированный воздействием ультрафиолетового 42 излучения.
2. Окислительный стресс, индуцированный воздействием рентгеновского 42 излучения.
3. **Культуры клеток** 42-44
4. **Анализ жизнеспособности клеточных культур** 44
5. Приготовление суспензии клеток и подсчет клеток. 44
6. ЛДГ-тест 44
7. Метод дифференцированного флуоресцентного окрашивания клеток 44-45
8. Анализ уровней АФК *in vitro*. 45
9. Конфокальная микроскопия клеточных культур 45

2

1. Просвечивающая электронная микроскопия клеточных культур 45
2. Сканирующая электронная микроскопия клеточных культур 46
3. Проточная цитометрия 46
4. МТТ-тест 46-47
5. Культивирование клеток в трехмерном матриксе коллагенового геля. 47
6. Анализ пролиферативной активнсоти клеточной культуры
7. **Выделение и культивирование ооцитов** 47
8. **Животные** 48
9. **Микроядерный тест** 49
10. **ПЦР в реальном времени** 49 2.10.1.Экстракция тотальной РНК тризоловым методом 49 2.10.2.Электрофорез РНК 50
11. Обратная транскрипция 50
12. ПЦР-амплификация в режиме реального времени 50 2.10.5.Определение уровня экспрессии генов 50 2.10.6. Гены 51-52
13. **Анализ распределения нанодиспесного диоксида церия в организме** 52 **модельных животных**
14. **Полиэлектролитные микрокапсулы** 52-53
15. Синтез полиэлектролитных микрокапсул 52
16. Просвечивающая электронная микроскопия полиэлектролитных 52 микрокапсул
17. Сканирующая электронная микроскопия полиэлектролитных 52 микрокапсул
18. Конфокальная микроскопия полиэлектролитных микрокапсул 52
19. Элементный анализ полиэлектролитных микрокапсул 52

**2.13. Статистический анализ данных** 53
**ГЛАВА 3. Результаты** 54

3.1. Исследование физико-химических характеристик и агрегативной 54-58
устойчивости цитрат-стабилизированных наночастиц диоксида церия в
различных биологических средах.

3.2. Исследование воздействия нанодисперстного диоксида церия на 58-61
культуры субстратзависимых клеток млекопитающих.

3.3. Исследование влияния цитрат-стабилизированных наночастиц диоксида 61-63
церия на активность митохондриальных дегидрогеназ.

3.4. Исследование влияния наночастиц СеО2 на жизнеспособность и 63-69
пролиферативную активность первичных эмбриональных фибробластов *in vitro*

3.5. Исследование эмбриотоксического действия наночастиц СеО2 и их влияния 70-72
на эмбриогенез *in vitro.*

3.6. Исследование влияния нанодисперстного диоксида церия на морфологию 72-75
клеток

1. Исследование влияния цитрат-стабилизированных наночастиц диоксида 75-76 церия на морфологию и функциональную активность фибробластов человека, культивируемых в трехмерном матриксе коллагенового геля.
2. Исследование внутриклеточной локализации цитрат-стабилизированных 76-79 наночастиц диоксида церия и их влияния на ультраструктуру клеток млекопитающих.

**3. 3.9. Протекторное действие цитрат-стабилизированных наночастиц СеО2, вразличных моделях окислительного стресса.**

3.9.1. Протекторное действие цитрат-стабилизированных наночастиц СеО2, 80-81 вмодели окислительного стресса, индуцированного экзогенным пероксидом водорода.

3

1. Протекторное действие цитрат-стабилизированных наночастиц СеО2 , 81 вмодели окислительного стресса, индуцированного воздействие УФ излучения.
2. Протекторное действие цитрат-стабилизированных наночастиц СеО2, 82-84 вмодели окислительного стресса, индуцированного воздействием низкотемпературной аргоновой плазмы.
3. Протекторное действие цитрат-стабилизированных наночастиц СеО2, 84-96 вмодели окислительного стресса, индуцированного воздействием рентгеновского излучения.

**3.10. Разработка системы внутриклеточной доставки цитрат-** 97
**стабилизированных наночастиц СеО2 на основе полиэлектролитных
микрокапсул.**

1. Оценка физико-химических свойств и морфологии синтезированных 96-99 микрокапсул
2. Исследование процесса поглощения и внутриклеточной локализации 99-101 синтезированных микрокапсул.
3. Исследование защитного действия модифицированных микрокапсул в 102-105 модели окислительного стресса, индуцированного экзогенным пероксидом водорода.

**3.11. Анализ перспектив использования полиэлектролитных микрокапсул** 105-115
**модифицированных наночастицами диоксида церия в биомедицинских**

**целях**.

**Заключение**

116-117

**Выводы**

**Список основных публикаций по теме диссертации**

**Список использованных литературных источников**

118

119-122

123-143

4

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

НДЦ, СеО2- наночастицы диоксида церия

ПАА - полиаллиламин гидрохлорид

ПСС - полистиролсульфонат натрия

ПЛА - поли L-аргинин гидрохлорид

ДС - декстран сульфат

АФК - активные формы кислорода

в/в - внутривенное введение

в/б - внутрибрюшинное введение

0,9% NaCI - физиологический раствор

ПХЭ-полихроматофильные эритроциты

МЯ – микроядра

НТАП - низкотемпературная аргоновая плазма

ζ – дзета потенциал

СОД-супероксиддисмутаза

ФСБ – фосфатно-солевой буферный раствор

МСК –мезенхимальные стволовые клетки

5

**ВВЕДЕНИЕ Актуальность проблемы.**

Современный уровень развития нанотехнологий позволяет получать новые

полифункциональные материалы, обладающие уникальными физико-химическими свойствами, которые находят свое широкое применение в биомедицинских приложениях. Одним из наиболее перспективных материалов для биомедицинских целей является нанокристаллический диоксид церия (СеО2) (Patil S. et al, 2007, Colon J. et al, 2011, Rubio L. et al, 2015, Liying H. et al, 2015). Наличие дефектов кристаллической решетки («кислородных вакансий»), двух стабильных степеней окисления (Ce3+ и Ce4+) и низкая энергия их образования, обуславливают уникальную редокс- активность данного соединения, в том числе его антиоксидантное действие в системах *in vitro* и *in vivo* (Shcherbakov A. et al, 2015, Walkey C. et al, 2015, Vinardell М. et al, 2015). В отличие от классических природных антиоксидантов (мелатонин, цистеин, аскорбиновая кислота), наночастицы СеО2 способны восстанавливать свою антиоксидантную активность, что позволяет им многократно участвовать во внутриклеточных редокс-реакциях, инактивируя широкий спектр свободных радикалов и активных форм кислорода (АФК) (Dowding D. et al, 2012, Xue Y. et al, 2011).

Ранее показано, что наночастицы СеО2 обладают защитным действием в некоторых моделях окислительного стресса (Zholobak N. et al, 2011) и при воздействии ксенобиотиков (Zhang Q. et al, 2014). Большинство исследователей рассматривают его способность инактивировать АФК и свободные радикалы как основной механизм защитного действия в условиях окислительного стресса (Baker C., 2013[, von Montfort](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213231714001190) C. et al, 2015). Однако совсем недавно было показано, что наночастицы СеО2 также способны модулировать экспрессию ряда генов (Rim T. et al, 2012, , Cai X. et al, 2013) и влиять на внутриклеточные сигнальные пути (Niu J. et al, 2011, Selvaraj V. et al, 2015, Nelson B. et al, 2016). В связи с этим исследование механизмов защитного действия нового типа цитрат-стабилизированных наночастиц СеО2, в условиях окислительного стресса, индуцированного различными физико-химическими факторами, является актуальной задачей.

Ультрамалые размеры и высокая реакционная активность поверхности наночастиц ограничивают возможность их эффективной и высокоточной доставки в целевые ткани и органы (Wilczewska А. et al, 2012). В частности, физико-химические свойства поверхности наночастиц СеО2 обуславливают адсорбцию различных белков (Patil S. et al, 2007), пептидов (Shruti R. et al, 2013), ионов (Horie M. et al, 2011), функциональных групп биомолекул (Singh S. et al, 2011), оказывая влияние на время их циркуляции в кровотоке, органную локализацию и биологический эффект (Portioli C. et al, 2015). Взаимодействие наночастиц с белками крови

6

может приводить к образованию так называемой «белковой короны» на ее поверхности [(Horie M.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Horie%20M%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=19216582) et al, 2009), что определяет тип (Cedervall T. et al, 2007) и время эндоцитоза [(Patil S.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Patil%20S%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=17675227) et al, 2007), а также их финальную внутриклеточную локализацию (Vertegel A. et al, 2007, Maiorano G. et al, 2010). В связи с этим разработка эффективных систем адресной доставки наночастиц СеО2, способных обеспечить процессы их дозирования и контролируемого выхода, а также заданную биологическую активность, является актуальной задачей современной биомедицины.

Вместе с тем существует ряд работ, демонстрирующих токсические эффекты наночастиц СеО2 в моделях *in vitro* и *in vivo* (Frieke К. et al, 2015, Pulido-Reyes G. et al 2015), которые связывают с их способностью генерировать АФК за счет их редокс-активной поверхности (Park et al. 2008, Kumari et al. 2014). Вследствие этого основным в определении перспектив применения НДЦ в биомедицинских технологиях является вопрос биобезопасности, в том числе вопрос вопроса клиренса (Yang S. et al, 2013, Li R. et al, 2015, Rui Q. et al, 2013). Форма, размер, кристалличность, заряд поверхности являются ключевыми физико-химическими характеристиками наночастиц, обуславливающими их биологическую активность (Shin S. et al, 2015, Ould-Moussa et al. 2014, Kim Y. et al, 2014). Данные параметры зависят от схемы и условий синтеза, природы использованных прекурсоров и сурфактантов (Asati A. 2010, Dahle J., 2015). В связи с этим каждая новая схема синтеза наночастиц СеО2 требует проведения комплексной оценки их агрегативной стабильности в различных средах, цитотоксичности и биологической активности в системах *in vitro* и *in vivo.*

**Цель и задачи работы.**

Исследование физико-химических характеристик и биологической активности цитрат-стабилизированных наночастиц СеО2 в моделях *in vitro* и *in vivo*, а также разработка систем их внутриклеточной доставки.

Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи:

1. Исследовать влияние цитрат-стабилизированных наночастиц СеО2 на жизнеспособность и пролиферативную активность клеток млекопитающих различного типа.
2. Исследовать биологическую активность цитрат-стабилизированных наночастиц СеО2 в моделях окислительного стресса, индуцированного различными химическими и физическими факторами *in vitro* и *in vivo*.
3. Разработать систему внутриклеточной доставки наночастиц СеО2 на основе полиэлектролитных микрокапсул.

7

**Научная новизна.**

* Показано, что цитрат-стабилизированные наночастицы СеО2 не обладают эмбрио- и цитотоксическим действием в широком диапазоне концентраций (10-4-10-9 М) и способны стимулировать пролиферацию первичных эмбриональных фибробластов мыши и мезенхимальных стволовых клеток человека.
* Выявлено, что цитрат-стабилизированные наночастицы СеО2 способны эффективно защищать клетки млекопитающих от окислительного стресса, индуцированного различными физико-химическими факторами, включающими ионизирующее излучение и экзогенные оксиданты. Выдвинута гипотеза о комплексном механизме радиозащитного действия наночастиц СеО2.
* Показана возможность инкапсуляции цитрат-стабилизированных наночастиц СеО2 в полиэлектролитный матрикс из синтетических (полиаллиламин гидрохлорид 56 кДа и полистиролсульфонат натрия 70 кДа) и биодеградируемых полимеров (поли-L- аргинин 15-70 кДа и декстран сульфат 40 кДа). Показано, что синтезированные микрокапсулы являются биосовместимыми, проникают в клетку и защищают ее от окислительного стресса, индуцированного экзогенным пероксидом водорода, при этом время деградации микрокапсулы зависит от природы инкапсулирующего полимера.

**Практическая ценность.**

Разработанные подходы к культивированию МСК мыши и человека с использованием наночастиц СеО2, регламент их пробоподготовки и схемы внесения в культуру клеток могут быть использованы для создания протоколов клеточных технологий.

Полученные данные биологической активности цитрат-стабилизированных наночастиц СеО2 могут быть использованы при разработке нового класса антиоксидантных препаратов для биомедицинских целей.

Предложенная схема интеграции наночастиц в структуру полиэлектролитных микрокапсул закладывает основы для создания новой системы внутриклеточной доставки терапевтически активных наноматериалов с возможностью сохранения их заданных свойств и контроля конечной концентрации в заданном органе/клетке.

**Основные положения диссертации, выносимые на защиту:**

**•** Цитрат-стабилизированные наночастицы диоксида церия в широком диапазоне

концентраций 10-3 -10-11 М не проявляют цитотоксических свойств в моделях *in vitro* и *in*

*vivo,* т.о. они могут считаться биосовместимыми;

8

* Цитрат-стабилизированные наночастицы диоксида церия модулируют функциональное состояние клеток млекопитающих, предотвращая развитие окислительного стресса после воздействия различных физико-химических факторов: экзогенного пероксида водорода, низкотемпературной аргоновой плазмы, ультрафиолетового и рентгеновского излучения;
* Модулирующее воздействие наночастиц СеО2 связано с регуляцией экспрессии генов, ответственных за пролиферативную активность и систему антиоксидантной защиты клетки.
* Полиэлектролитные микрокапсулы могут быть использованы в качестве эффективной системы внутриклеточной доставки цитрат-стабилизированных наночастиц диоксида церия.

**Апробация результатов**

По теме работы имеется 28 публикаций, включая 3 статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК. Отдельные части работы были представлены на российских и международных конференциях в виде устных и стендовых докладов, в том числе на Международной Пущинской школе-конференции молодых ученых «Биология-наука 21 века» -2011, 2012, 2013, 2014, 2015 (Пущино, Россия), Международной конференции молодых ученых Экспериментальная и теоретическая биофизика - 2011, 2012, 2013, 2014, 2015 (Пущино, Россия), Конкурсе молодых ученых ИТЭБ РАН-2011, 2012, 2013, 2014, 2015 (Пущино, Россия), Международной научной конференции «Полифункциональные химические материалы и технологии» (Томск, 2013), Первой региональной конференции инновационных проектов Московской области «УМНИК»-2011 (Москва), The European Human Genetics Conference 2015, [(Glasgow, UК)](https://www.eshg.org/fileadmin/www.eshg.org/conferences/2015/downloads/ESHG2015_Abstracts_May_19.pdf), Конференции молодых ученых «Перспективные направления онкологии и радиологии-2015» (г. Обнинск, Россия), Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых Ломоносов- 2015 (Москва, Россия), научной конференции ToxRad-2015 (Санкт-Петербург), Конгрессе молодых ученых-биологов «СИМБИОЗ» 2013, 2015 (Воронеж, Новосибирск), IX Международной конференции «Биоантиоксидант-2015» (Москва), IV и V Съезд биофизиков России-2014, 2015 (Нижний Новгород, Ростов-на-Дону), в рамках Международных школ DoReMi InterRAD Сourse, «Modelling radiation effects from initial physical events -2014» (Pavia, Italy), DoReMi InterRAD course, «Integrating Low Dose Research-2013» (Munich, Germany), DoReMi InterRAD course «The Molecular Mechanisms of Radiation Carcinogenesis-2015» (Munich, Germany), Международной конференции «Актуальные вопросы биологической физики и химии-2016» (Севастополь), Международной конференции «Nanomaterials and Living Systems» NLS-2016 (Москва).

9

**Личный вклад автора.**

Основная экспериментальная часть выполнена лично автором (работа с клеточными культурами, анализ биологической активности наночастиц СеО2 после воздействия различных стресс-факторов, синтез и исследование микрокапсул) в период с 2010 по 2016 гг., а также совместно с сотрудниками лаборатории роста клеток и тканей ИТЭБ РАН. В работе использованы материалы, полученные как автором лично, так и в результате сотрудничества: в части синтеза образцов нанокристаллического диоксида церия с лабораторией синтеза функциональных материалов и переработки минерального сырья ИОНХ РАН (чл.-корр. РАН, проф., д.х.н., Иванов В.К.), в части разработки систем внутриклеточной доставки наноматериалов с лабораторией нано- и биоматериалов Школы инженерии и материаловедения Лондонского университета Королевы Марии (профессор Сухоруков Г.Б.).

Работа выполнялась в соответствии с планами проектов РФФИ *№* [*14-04-32199*](https://kias.rfbr.ru/Application.aspx?id=5552139) *мол\_а*, [*14-44-03615*](https://kias.rfbr.ru/Application.aspx?id=10071054) *р\_центр\_а*, проекта УМНИК-2011, а также *«Стипендии Президента РФ для обучения за рубежом-2014»* в рамках зарубежной стажировки под руководством профессора Сухорукова Г.Б. по теме «Разработка дистанционно управляемых микро-и наноразмерных систем для адресной доставки терапевтических нанобиоматериалов в клетку» в Лондонском университете Королевы Марии.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Целью работы было изучение физико-химических характеристик и биологической активности цитрат-стабилизированных наночастиц диоксида церия, а также разработка системы их адресной доставки на основе полиэлектролитных микрокапсул.

Показано, что биологическое окружение влияет на агрегативную устойчивость и дзета-потенциал наночастиц. Разведение наночастиц в культуральной среде приводило к ее агрегации и уменьшению дзета-потенциала. При этом использование культуральной среды, содержащей сыворотку, обеспечивало сохранение размера наночастиц близкого к исходному.

Мы обнаружили, что цитрат-стабилизированные наночастицы диоксида церия оказывают стимулирующее дозо-зависимое действие на пролиферацию первичных эмбриональных фибробластов мыши, а также мезенхимальные стволовых клеток человека. Данная стимуляция связана со снижением уровня внутриклеточных АФК и модуляцией экспрессии антиоксидантных генов в начальной стадии клеточного роста. При этом высокие концентрации наночастиц (10-3 -10-4 М) значительно индуцировали мРНК антиоксидантных ферментов, что, по всей видимости, является причиной ингибирования пролиферации. В связи с этим подбор оптимальных концентраций наночастиц, обеспечивающих физиологическое состояние редокс-системы клетки, является необходимым для контролируемой стимуляции их пролиферации. Также было показано стимулирующее дозо-зависимое действие цитрат-стабилизированные наночастицы диоксида церия на культуру мезенхимальных стволовых клеток человека.

Установлено, что цитрат-стабилизированные наночастицы диоксида церия способны инактивировать пероксид водорода и гидроксильный радикал в водных растворах после воздействия рентгеновского излучения, причем данный процесс носил дозо-зависимый характер. Показано, что предварительное введение наночастиц диоксида церия мышам снижает количество цитогенетических повреждений в костном мозге мышей, подвергшихся воздействию рентгеновского излучения, на 50 % и более в зависимости от способа введения. Установлено, что внутрибрюшинное введние (до и после облучения) наночастиц диоксида церия мышам обеспечивает радиозащитный и радиомитигирующий эффект, сохраняя жизнеспособность животных на уровне 60 и 40 %, соответственно.

Впервые установлено, что наночастицы диоксида церия способны защищать клетки млекопитающих от окислительного стресса, индуцированного действием низкотемпературной аргоновой плазмой *in vitro*. Низкотемпературная аргоновая плазама включает в себя целый ряд повреждающих живые объекты факторов: свободные радикалы и электроны, АФК и АФА, ультрафиолетовое и инфракрасное излучение. Нами показано дозо-зависимое снижение

117

уровней АФК и количества мертвых клеток в культуре, а также увеличение уровня дегидрогеназной активности клеток в присутствии наночастиц. Таким образом можно сделать вывод, что наночастицы диоксида церия обладают комплексным защитным эффектом, включающим «химический», «физический» и «биологический» факторы.

Мы впервые доказали возможность использования полиэлектролитных микрокапсул в
качестве системы внутриклеточной доставки цитрат-стабилизированных наночастиц диоксида
церия. Показано, что цитрат-стабилизированных наночастиц диоксида церия можно
интегрировать в полиэлектролитный матрикс с достаточно высокой эффективностью за счет их
высокого отрицательного дзета-потенциала. Проведенный комплексный анализ морфологии и
структуру синтезированных микрокапсул подтвердил эффективность интеграции и их
локализацию. Использование различных биополимеров (синтетических или биодеградируемых)
позволяет обеспечить различное поведение микрокапсул внутри клетки: биодеградируемые
высвобождали наночастицы в цитоплазму уже через несколько часов, при этом синтетические
микрокапсулы сохраняли свою структуру внутри клетки на протяжении нескольких дней.
Доказано, что инкапсуляция не влияет на антиоксидантные свойства цитрат-

стабилизированных наночастиц диоксида церия, защищая клетки от окислительного стресса, индуцированного воздействием экзогенным пероксидом водорода. В рамках работы представлены и обоснованы перспективы использования полиэлектролитных микрокапсул, модифицированных наночастицами диоксида церия, для использования в рамках тераностики онкологических заболеваний.

118

**Выводы:**

1. Цитрат-стабилизированные наночастицы СеО2 в диапазоне концентраций (10-4-10-11М) не проявляют цитотоксического действия в отношении клеток млекопитающих различного типа, в концентрациях (10-5-10-9М) наночастицы СеО2 стимулируют пролиферацию первичных эмбриональных фибробластов мыши и мезенхимальных стволовых клеток человека. Стимулирующее воздействие наночастиц СеО2 связано с модуляцией экспрессии генов, ответственных за пролиферативную активность и систему антиоксидантной защиты клетки.
2. Цитрат-стабилизированные наночастицы СеО2 в диапазоне концентраций (10-5-10-9М) не обладают эмбриотоксическим действием в условиях *in vitro* и *in vivo*. Внесение наночастиц СеО2 (10-5М) в культуральную среду нормализует развитие ранних эмбрионов мыши в условиях культивирования *in vitro*, повышая качество формирующихся клеток трофобласта и ВКМ, а также увеличивая жизнеспособность эмбрионов в целом.
3. Цитрат-стабилизированные наночастицы СеО2 в диапазоне концентраций (10-5-10-9М) ингибируют развитие окислительного стресса после воздействия экзогенного пероксида водорода, низкотемпературной аргоновой плазмы, ультрафиолетового и рентгеновского излучения. Защитное действие наночастиц СеО2 обусловлено их антиоксидантной активностью, способностью стимулировать экспрессию ключевых генов, вовлеченных в клеточный ответ на окислительный стресс, а также их способностью снижать количество цитогенетических повреждений в костном мозге облученных животных после их внутривенного или внутрибрюшинного введения.
4. Показана возможность инкапсуляции цитрат-стабилизированных наночастиц СеО2 в полиэлектролитный матрикс из синтетических (полиаллиламин гидрохлорид 56 кДа и полистиролсульфонат натрия 70 кДа) и биодеградируемых полимеров (поли-L- аргинин 15-70 кДа и декстран сульфат 40 кДа). Показано, что синтезированные микрокапсулы являются биосовместимыми, проникают в клетку и защищают ее от окислительного стресса, индуцированного экзогенным пероксидом водорода.