

На правах рукописи

УДК 538.9, 620.3



НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР  
«КУРЧАТОВСКИЙ ИНСТИТУТ»

АНЦИФЕРОВА АННА АЛЕКСАНДРОВНА

ИЗУЧЕНИЕ ТРАНСПОРТА НЕОРГАНИЧЕСКИХ НАНОЧАСТИЦ В ЖИВЫХ  
ОРГАНИЗМАХ

Специальность 01.04.07 – физика конденсированного состояния

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата физико-математических наук

Москва 2016 г.

Работа выполнена в Федеральном Государственном Бюджетном Учреждении «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт».

**Научный руководитель:**

Кашкаров Павел Константинович, доктор физико-математических наук, профессор, помощник президента НИЦ «Курчатовский институт».

**Официальные оппоненты:**

*Сигов Александр Сергеевич*, академик РАН, президент Московского технологического университета (МИРЭА).

*Головин Юрий Иванович*, доктор физико-математических наук, профессор, директор научно-исследовательского института «Нанотехнологии и наноматериалы» Тамбовского государственного университета имени Г.Р. Державина.

**Ведущая организация:** Национальный исследовательский Томский государственный университет.

Защита состоится 15 декабря 2016 г. в 11.00 на заседании диссертационного совета Д 520.009.01 при НИЦ «Курчатовский институт» по адресу 123182 Россия, г. Москва, пл. академика Курчатова, д. 1, Главное здание, конференц-зал (ауд. 231-236).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке НИЦ «Курчатовский институт» и на сайте НИЦ «Курчатовский институт» по ссылке <http://nrcki.ru/files/pdf/1475242666.pdf>

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2016 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета Д 520.009.01

кандидат физико-математических наук



А.В. Мерзляков

## Общая характеристика работы

### Актуальность

Значимость исследований свойств наночастиц (НЧ) в проекции на биологические объекты связана, в первую очередь, с обширным применением наноматериалов в различных отраслях индустрии. НЧ применяются в легкой, пищевой и косметической промышленности, фармакологии, медицине, в частности, для адресной доставки лекарств, входят в состав широко используемых биологически-активных добавок (БАД). При этом, в настоящее время производится обширное количество вариаций НЧ с различной химической и кристаллической структурой, размерами, формой и функционализацией поверхности, которые могут по-разному взаимодействовать с живыми организмами. Другим важным аспектом является также и способ проникновения НЧ в живой организм. Так, НЧ могут попадать непосредственно в желудочно-кишечный тракт организма в составе БАД, лекарств и другой продукции индустрии, через кожные покровы и при вдыхании взвешенных в воздухе НЧ. Способ попадания НЧ в организм определяет характер взаимодействия с биообъектами, т.к. в данном случае НЧ приходится преодолевать различные естественные барьеры организма, составленные из определенного типа клеток. Современная научная литература изобилует данными о выраженном токсическом действии НЧ, способности оказывать негативное действие на клеточном уровне, приводя к нарушению метаболизма, генетическим изменениям и, в конечном итоге, апоптозу и некрозу.

Другой важной проблемой является защита окружающей среды от негативного влияния НЧ. Так, НЧ проникая в сточные воды, почву и воздух, естественным образом встраиваются в пищевую цепочку, достигая, в конечном итоге, человеческого организма. Например, использование НЧ в составе зубных паст, порошков для стирки приводит к попаданию НЧ в водоемы, где они поглощаются водными организмами, начиная с самых примитивных и заканчивая рыбами и млекопитающими. В настоящее время не предусмотрена система очистки сточных вод от НЧ, которые, оказываются в системе водоснабжения после утилизации. В особенности, данное обстоятельство играет важную роль для трудно окисляемых НЧ из благородных металлов. Было подсчитано, что после использования НЧ серебра в краске для покрытия жилых построек из древесины для предотвращения гниения, через 12 месяцев 30% НЧ оказывалось в почве [1]. Уместно предположить, что после возможного метаболизирования их растениями, НЧ попадают и в организмы высших млекопитающих, не исключая человека.

В воздухе НЧ могут распространяться при использовании их в качестве антибактериальных покрытий для кондиционеров. Более того, выхлопные газы автомобилей и продукты горения содержат огромное количество углеродных НЧ, которые в мировой литературе именуется «ultrafine particles», т.е. «чрезвычайно мелкие частицы».

Такие частицы обычно крупнее типичных НЧ и могут иметь различные включения другой химической структуры, как органические, так и неорганические. Согласно литературным данным такие частицы по степени токсичности не уступают НЧ из благородных металлов. При этом, известно, что через легкие усваивается максимальная доля НЧ, по сравнению с другими способами поступления в организм.

Необходимо отметить, что большинство исследований по нанобезопасности проводится на клеточных культурах *in vitro*. Работ по исследованию транспорта НЧ в живых организмах известно значительно меньше. Тем не менее, именно исследования, выполненные с использованием лабораторных млекопитающих позволяют достичь максимального приближения к реальной ситуации и могут быть экстраполированы на человека для принятия норм по работе с наночастицами и их рациональному использованию.

## **Цели и задачи работы**

### *Цель*

Изучение кинетических свойств некоторых неорганических НЧ при естественных путях попадания в организм, их транспорта в организме, процессов бионакопления, биораспределения и выведения из органов и тканей животных на основе разработанных высокопрецизионных и интегральных физических методов оценки массового содержания искомых элементов в органах и тканях млекопитающих, а также исследование влияния экспонирования НЧ на функции организма, в частности, когнитивные.

### *Задачи*

1. Разработка математического аппарата для описания транспорта НЧ в живом организме с целью построения прогностических моделей. Наиболее приемлемой моделью является общая модель биокинетики фармацевтического препарата, которую можно свести к описанию транспорта конкретных НЧ.

2. Усовершенствование и повышение точности метода инструментального нейтронно-активационного анализа (ИНАА) для детектирования и количественного определения содержания небioфильного элемента в биологических пробах.

3. Изучение биокинетики НЧ серебра с определенными химическими и геометрическими характеристиками в живом организме при коротких и длительных периодах приема.

4. Апробация рентгенофлуоресцентного анализа (РФА) на возможность количественного определения содержания НЧ в биологических образцах и разработка наиболее приемлемого подхода для данной цели.

5. Исследование влияния НЧ серебра на некоторые когнитивные функции млекопитающих: пространственную память и обучаемость.

6. Разработка методов детектирования НЧ селена и диоксида титана на основе получения радиоактивных меток при облучении тепловыми нейтронами и ускоренными заряженными частицами.

7. Исследование биокинетики НЧ селена в сравнении с этой характеристикой для солей селена. Оценка степеней усвоения НЧ селена и солей селена.

8. Оптимизация выбора условий для проведения исследований биокинетики НЧ диоксида титана в соответствии с характерным поведением НЧ диоксида титана в водных растворах.

### **Научная новизна**

1. Разработана математическая «камерная» модель транспорта фармацевтического препарата в живом организме. Предложено ее аналитическое решение в общем виде в случае длительного введения препарата. Экспериментальные данные по накоплению НЧ серебра в организме численно аппроксимированы полученными аналитическими решениями.

2. Предложено повышение точности ядерно-физического метода (ЯФМ) на основе ИНАА для определения содержания некоторого небioфильного элемента в биологических пробах с помощью нормировки нейтронного потока в канале ядерного реактора на измеренные активности селена.

3. Получены и исследованы данные по массовому содержанию серебра и кинетики для однократного и длительного до 8 месяцев перорального введения НЧ серебра в организм млекопитающих, а также кинетики выведения в случае пролонгированной экспозиции НЧ. Обнаружен эффект накопления НЧ серебра в головном мозге мышей, а также чрезвычайно низкий уровень выведения при относительно коротких сроках приема препарата. Определено, что период полувыведения серебра при длительных сроках экспозиции НЧ сокращается. Эффекта накопления в печени и крови не выявлено.

4. Предложено использование РФА для детектирования НЧ серебра в органах млекопитающих, разработана и успешно апробирована методика проведения таких экспериментов.

5. Проведено исследование оценки влияния НЧ серебра на когнитивные функции млекопитающих: пространственную память и обучаемость. Никаких отклонений в поведении экспериментальной группы животных от контрольной группы в пределах погрешности измерения не было зафиксировано.

6. Разработаны методы детектирования НЧ селена и диоксида титана в организме млекопитающего на основе метода радиоактивных индикаторов при

предварительном мечении НЧ в канале ядерного реактора и с помощью ускоренных заряженных частиц, соответственно.

7. Проведено сравнительное исследование биокинетики НЧ селена и солей селена в организме млекопитающих с дефицитом селена и в норме обогащенных селеном. Определено, что степень усвоения НЧ селена сравнима со степенью усвоения солей селена.

8. Определены оптимальные условия для исследования биокинетики НЧ диоксида титана на основе разработанного метода. Предложено проведение облучения таких НЧ с модифицированной поверхностью непосредственно в жидкости и модификация заранее облученных НЧ поливинилпирролидоном (ПВП).

### **Научно-практическая значимость**

Полученные результаты обладают несомненной практической ценностью. Разработанные ядерно-физические и рентгеновские методы детектирования НЧ серебра, диоксида титана и селена могут быть использованы для создания лаборатории по сертификации наноматериалов. Полученные биокинетики могут быть успешно использованы для оценки риска использования НЧ и создания нормативных документов по разработке, внедрению продукции наноиндустрии и работе с НЧ в части техники безопасности для человека и окружающей среды. Данные по биокинетике селена могут лечь в основу для создания перспективных БАД нового поколения. А разработанная «камерная» математическая модель в совокупности с полученными аналитическими решениями в общем виде пригодны для описания и предсказания транспорта фармацевтических препаратов.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Предложена математическая «камерная» модель для описания биокинетики фармацевтического препарата и получены аналитические решения для данной модели в общем виде. Экспериментально установлено, что поведение НЧ серебра, использованных в работе, в жидких средах удовлетворяет лимитирующим условиям применимости данной модели для описания биокинетики НЧ серебра.

2. Использование нормировки неоднородного нейтронного потока в вертикальном канале ядерного реактора на измеренные активности биофильного элемента селена в составе биологических проб животных или растений одинакового возраста и выращенных с использованием единого пищевого рациона или почв (в случае растений) позволяет существенно повысить точность относительных гамма-спектрометрических измерений массового содержания НЧ небioфильного искомого элемента.

3. Экспериментально установлено, что при пероральном однократном введении в организм мышей НЧ серебра, последние, после 24 часов содержания животных,

распределяются по органам неравномерно. Наибольшее количество НЧ серебра обнаружено в печени, наименьшее – в головном мозге и крови.

4. Экспериментально установлено, что при пероральном длительном от одного до двух месяцев периодах введения НЧ серебра с различным типом стабилизации в организм лабораторных мышей, серебро перераспределяется между органами, демонстрируя тропизм к печени и головному мозгу, что было показано для обоих типов НЧ. При таких относительно длительных сроках приема, наименьшие концентрации серебра наблюдались в крови.

5. После двухмесячного введения НЧ серебра в организм мышей и одномесечного вымывания его дистиллированной водой, из крови и печени выводится 80% и 75% серебра, соответственно. Из головного мозга же выводится всего 5 % накопленного серебра за указанный период времени. Таким образом, обнаружен кумулятивный эффекте НЧ серебра в головном мозге млекопитающих (мышей).

6. На основе экспериментальных данных по длительному до 8 месяцев введению НЧ серебра в организм мышей и численной аппроксимации этих данных аналитическими функциями – полученными решениями для «камерной» модели, показана нелинейность процессов транспорта в организме млекопитающего в течение всего рассматриваемого периода накопления, а также различный характер биокинетики НЧ серебра в головном мозге и крови.

7. На основе экспериментальных данных по выведению НЧ серебра из организма мышей и их аппроксимации известными функциями, получены зависимости периодов полувыведения серебра из головного мозга и крови в зависимости от времени введения. Оказалось, что период полувыведения для крови относительно постоянен и лишь незначительно возрастает со временем, что связано с обогащенностью крови клетками иммунной системы. Незначительное возрастание периода полувыведения со временем может быть связано со старением организма и замедлением метаболизма. Период полувыведения НЧ серебра из головного мозга мышей имеет существенно другой характер по сравнению с кровью: при относительно коротких временах введения НЧ около 2-х месяцев период полувыведения достаточно длителен и сопоставим с продолжительностью жизни мыши. С увеличением времени накопления НЧ серебра, период полувыведения существенно убывает, что может быть связано с функциональным повреждением гематоэнцефалического барьера.

8. Доказана эффективность применения методики для проведения РФА с биологическими пробами, содержащими НЧ, на основе использования метода относительных измерений с использованием стандартных образцов в случае определения массового количества НЧ серебра в биопробах.

9. Исследование влияния длительного приема НЧ серебра мышами на пространственную память и обучаемость в водном лабиринте Морриса не выявили

негативных эффектов в пределах погрешности измерений, что свидетельствует об отсутствии влияния НЧ серебра на гиппокамп и лимбические структуры мозга. Однако данные результат не могут являться основанием для утверждения о безопасности приема НЧ серебра и его накопления в головном мозге для других отделов мозга и их функций.

10. В экспериментальном исследовании на основе разработанного метода радиоактивных индикаторов по детектированию НЧ селена в организме млекопитающих показано, что степень усвоения наноселена крысами сопоставима со степенью усвоения солей селена. Соли селена, в частности, селенит натрия являются крайне токсичным и нежелательным для использования. С другой стороны, селен в наноформе является гораздо менее токсичным по сравнению с солями селена. Следовательно, использование наноселена в качестве БАД для восполнения недостатка этого жизненно важного микроэлемента является весьма перспективным и конкурентоспособным.

11. Разработана методика создания радиоактивной метки на основе  $^{48}\text{V}$  на НЧ диоксида титана путем облучения порошков или жидких суспензий диоксида титана быстрыми протонами. Показано, что для задач нанобезопасности необходимо проводить эксперименты с устойчивыми в водных растворах НЧ диоксида титана с модифицированной поверхностью в связи со значительной агрегацией НЧ диоксида титана при нейтральном или близких к нейтральным показателям кислотности растворов.

### **Личный вклад автора**

В основу диссертации легли результаты исследований, проведенные автором в период 2013 – 2016 гг. в НИЦ «Курчатовский институт», Московском областном научно-исследовательском клиническом институте имени М.Ф. Владимирского (МОНИКИ) и ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России (ФМБЦ им. А.И. Бурназяна). Личный вклад автора заключается в планировании экспериментов, непосредственном выполнении исследований по определению размеров, формы и степени агломерации НЧ до введения в организм животных, работе с лабораторными млекопитающими, обработке, анализе и интерпретации данных всех измерений. Непосредственно самим автором были предложены и апробированы инновационные математические и экспериментальные подходы, использованные в исследовании, в частности, метод нормировки нейтронного потока на биофильный элемент, использование относительных измерений в РФА для определения массового содержания НЧ и найдены аналитические выражения для решения разработанной математической модели для описания транспорта фармацевтического препарата. Все указанные печатные работы, а также устные и стендовые доклады выполнены автором лично.

### **Апробация результатов работы**

Основные результаты диссертации докладывались и обсуждались на следующих отечественных и международных научных конференциях: 8th International Conference on



Instrumental Methods of Analysis: Modern Trends And Applications. Thessaloniki, Greece, 2013; IV и VII Конференции Нанотехнологического Общества России, Москва, Россия, 2013, 2016; Iran NanoSafety Congress, Tehran, Iran, 2014; VI Троицкая конференция «Медицинская физика и инновации в медицине», Троицк, Россия, 2014; International Symposium on Food Safety and Quality: Applications of Nuclear and Related Techniques, IAEA, Vienna, Austria, 2014; Нанотоксикология: достижения и перспективы, Волгоград, Россия, 2014, XII и XIII Курчатовская молодежная школа, Россия, Москва, 2014, 2015; 57-я научная конференция МФТИ, Москва, Россия, 2014; Sustainable Nanotechnology Conference, Venice, Italy, 2015; XXII и XXIII Международные конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов», Москва, Россия, 2015, 2016; III Международная молодежная научно-практическая конференция «Междисциплинарные проблемы нанотехнологий, биомедицины и нанотоксикологии» Тамбов, Россия, 2015; V Seminario Internacional Sobre Nanociencias y Nanotecnologias, Habana, Cuba, 2015; 4th International Conference on Radiation and Applications in Various Fields of Research RAD-2016, Nis, Serbia, 2016; IV международная научно-практическая конференция «Наноматериалы и живые системы» NLS-2016, Москва, Россия, 2016.

#### **Публикации по теме диссертации**

В диссертацию включены результаты исследований, опубликованные в 33 печатных работах, 7 из которых являются статьями в рецензируемых научных изданиях из списка ВАК.

#### **Структура и объем диссертации**

Диссертация состоит из введения, 5 глав, заключения, списка цитируемой литературы, состоящего из 118 ссылок и объявленным благодарностям. Объем диссертации составляет 145 страниц, включая 53 рисунка и 4 таблицы.

#### **Основное содержание работы**

Во *введении* обоснована актуальность выбранной темы диссертации, сформулирована цель работы, обоснована ее научная новизна и практическая ценность, приведены основные положения, выносимые на защиту, описан личный вклад автора и приведен список опубликованных работ, отражающих результаты диссертационного исследования, а также приведен перечень научных конференций, на которых проходила апробация работы.

В *первой главе диссертации* представлен литературный обзор, отражающий современное состояние изучаемой проблемы. Рассмотрены механизмы взаимодействия НЧ с клеткой [2] и причины токсичности НЧ [3], а также методы, позволяющие анализировать токсические свойства [4]. Подробно рассматриваются области применения различных

неорганических НЧ. В частности, НЧ серебра являются превосходным антисептиком, способным подавить вирусы ВИЧ и герпеса на начальных стадиях [5]. НЧ золота находят потенциальное применение в гипертермии, адресной доставке лекарств и биоимиджинге [6]. НЧ диоксида титана широко применяются для придания различной продукции, в том числе, пищевой белого оттенка, а также в солнцезащитных кремах благодаря способности поглощать ультрафиолетовое излучение [7]. НЧ биофильных элементов представляют собой несколько иной класс НЧ, которые могут использоваться в качестве перспективных БАД нового поколения для восполнения недостатка жизненно важных микроэлементов в организме человека [8]. Но вместе с тем перечисленные НЧ могут оказывать определенное токсическое действие на организмы млекопитающих, что довольно детально изучено [9]. Однако информации о транспорте НЧ в организме млекопитающих в научной литературе значительно меньше. Тем не менее, этот вопрос является наиболее актуальным, поскольку исследования транспорта НЧ в живых организмах и влияния НЧ на функции цельного организма в большей мере приближают к решению проблемы защиты человека и окружающей среды от негативного воздействия НЧ, чем исследования *in vitro*. В завершении литературного обзора делается вывод об особой актуальности таких работ в настоящее время, когда осуществляется практически неограниченное производство продукции наноиндустрии для совершенно разных применений [10]. Ставятся основные задачи исследования.

Во *второй главе диссертации* представлена информация об использованных в эксперименте НЧ серебра, селена и диоксида титана; экспериментальных животных. В ней подробно рассматриваются методы по изучению геометрических параметров НЧ, их химической и кристаллической структуры; методы, использованные для изучения транспорта НЧ в организме млекопитающих: ИНАА, метод радиоактивных индикаторов (МРИ) и РФА. Ставится проблема, связанная с недостатком относительных измерений при проведении ИНАА, а именно, с неоднородностью нейтронного потока в активной зоне и вертикальных каналах ядерного реактора и невозможностью размещения монитора потока в каждом биологическом образце. Кроме того, в главе рассмотрена методика оценки влияния потенциального токсина на когнитивные функции гиппокампа и лимбических структур мозга на основе водного лабиринта Морриса.

В *третьей главе* представлена методическая часть работы по повышению точности относительных гамма-спектрометрических измерений при проведении ИНАА биологических образцов на основе использования измерения активностей дополнительного реперного биофильного элемента селена. В данном случае животные или растения должны быть одного возраста и выращены в одинаковых условиях с использованием одного и того же корма (для животных) и на одной почве (для растений), что позволяет считать концентрацию селена постоянной. Приведено математическое

рассмотрение, обосновывающее использование такого подхода и выведена расчетная формула для вычисления массы искомого элемента (1).

$$m_{agn} = \frac{\overline{m_{ref}} \overline{A_{agn}} \overline{M_n} \overline{A_{se}}}{\overline{A_{ref}} \overline{A_{sen}} \overline{M}} \quad (1),$$

где  $m_{agn}$  – масса искомого элемента под номером  $n$ ,  $\overline{m_{ref}}$  – средняя масса эталонного элемента,  $\overline{M_n}$  – масса  $n$ -ого экспериментального образца,  $\overline{A_{se}}$  – средняя активность экспериментального образца по селену,  $\overline{A_{ref}}$  – средняя активность эталонных образцов,  $\overline{A_{sen}}$  – активность по селену в  $n$ -ом экспериментальном образце,  $\overline{M}$  – средняя масса  $n$  экспериментальных образцов.

В этой же главе предлагается математическая модель описания транспорта фармацевтического препарата в организме млекопитающего при условии не взаимодействия его единиц друг с другом и их неметаболизируемости, основанная на кинетических уравнениях обмена. На рис. 1 представлена схема обмена веществом между органами-камерами, которая описывается системой линейных неоднородных дифференциальных уравнений 1-ого порядка (2) в случае ежесуточного поступления фармацевтического препарата в желудочно-кишечный тракт в количестве  $m$ .

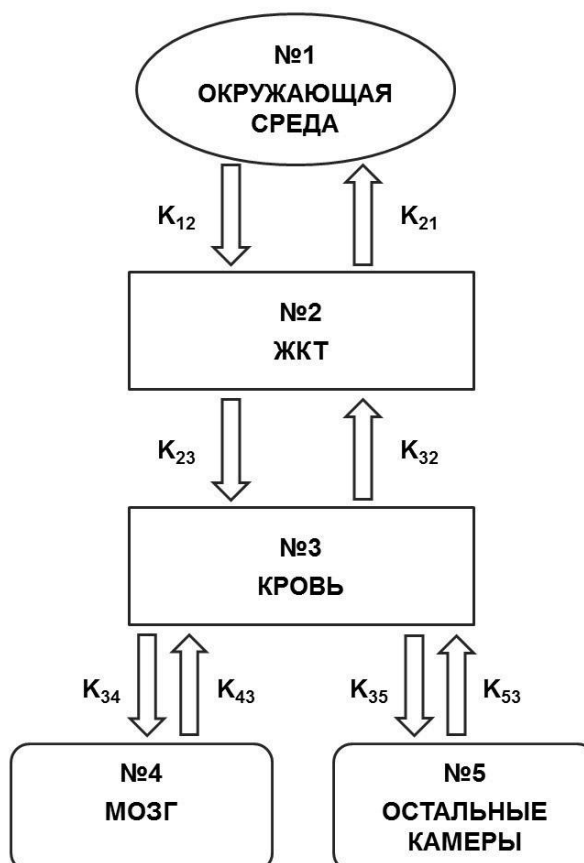


Рисунок 1 – Схема обмена веществом между органами-камерами. После введения фармацевтического препарата из камеры №1 (окружающая среда) в камеру №2 происходит

обмен препаратом между органами-камерами, с постоянными коэффициентами в предлагаемом приближении. Необходимо соблюдение условия не взаимодействия и не метаболизируемости единиц препарата.

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dM_2(t)}{dt} = -k_{23}M_2(t) - k_{21}M_2(t) + k_{32}M_3(t) + m \\ \frac{dM_4(t)}{dt} = -k_{43}M_4(t) + k_{34}M_3(t) \\ \frac{dM_5(t)}{dt} = -k_{53}M_5(t) + k_{35}M_3(t) \\ \frac{dM_3(t)}{dt} = -k_{34}M_3(t) - k_{35}M_3(t) - k_{32}M_3(t) + k_{23}M_2(t) + k_{43}M_4(t) + k_{53}M_5(t) \end{array} \right. \quad (2).$$

Предлагается приближенное аналитическое решение системы (2) методом Бернулли, которое выражается в общем виде в функциях (3), (4), (5), (6).

$$M_2 = A_1 + A_2 t \cdot \exp(-C_1 t) - A_3 \exp(-C_2 t) \quad (3),$$

$$M_4(t) = A_4 - (A_5 \cdot t + A_6) \cdot \exp(-C_1 t) - (A_7 \cdot t - A_8) \cdot \exp(-C_2 t) + A_9 \cdot \exp(-k_{43} t) \quad (4),$$

$$M_5(t) = A_{10} - (A_{11} \cdot t + A_{12}) \cdot \exp(-C_1 t) - (A_{13} \cdot t - A_{14}) \cdot \exp(-C_2 t) + A_{15} \cdot \exp(-k_{53} t) \quad (5),$$

$$M_3(t) = A_{16} - H_1(t) \cdot \exp(-C_1 t) + H_2(t) \cdot \exp(-C_2 t) - A_{17} \cdot \exp(-k_{43} t) - A_{18} \exp(-k_{53} t) \quad (6).$$

Полученные решения уравнений зависят от ряда постоянных коэффициентов и известных функций, которые были использованы в главе 4 для численной аппроксимации экспериментальных данных.

*Четвертая глава* посвящена исследованию транспорта НЧ серебра в организме мышей методом ИНАА, апробации РФА для детектирования следовых количеств НЧ серебра в биопробах и оценке влияния двухмесячного ежедневного введения НЧ мышам на пространственную память и обучаемость.

Наиболее ярким результатом четвертой главы является обнаружение эффекта накопления НЧ серебра размером  $34 \pm 2$  нм (рис.2) в головном мозге мышей после двухмесячного перорального ежедневного введения НЧ и последующего одного месяца приема дистиллированной воды. На рис. 3 изображены остаточные доли серебра в % после вымывания НЧ водой. Видно, что из крови и печени вывелось 80% и 75 %, соответственно, а из головного мозга – всего 5 % накопленного серебра. Такой результат связан с избытком клеток иммунной системы в крови и печени и их быстрой обновляемости и отсутствия таковых в головном мозге.

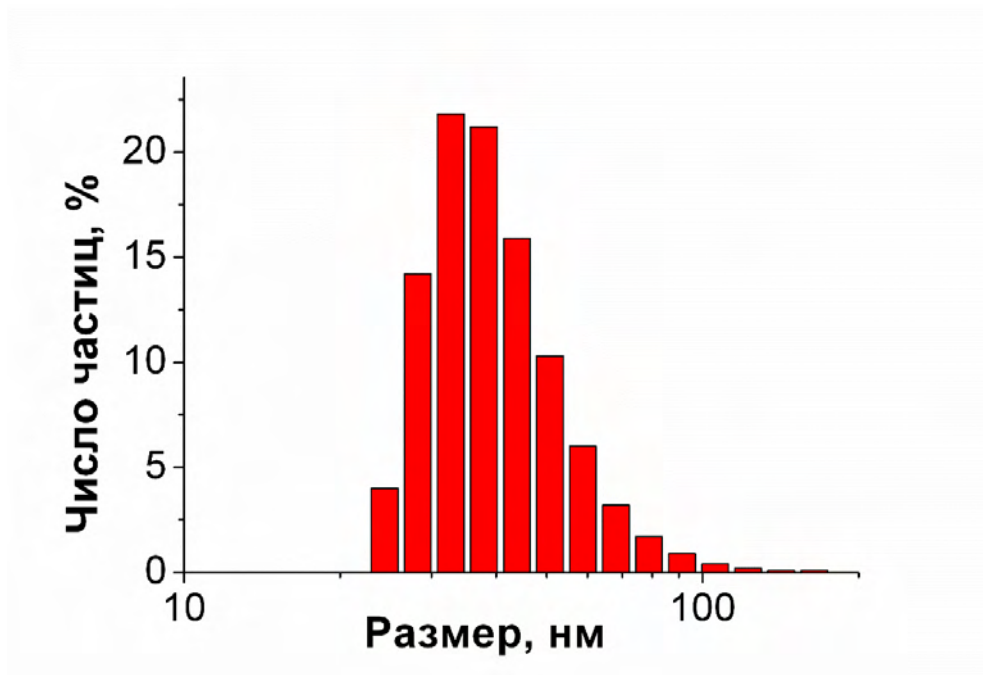


Рисунок 2 – Распределение размеров по числу частиц для коллоидного препарата «Арговит-С»-1, полученное методом ДРС.

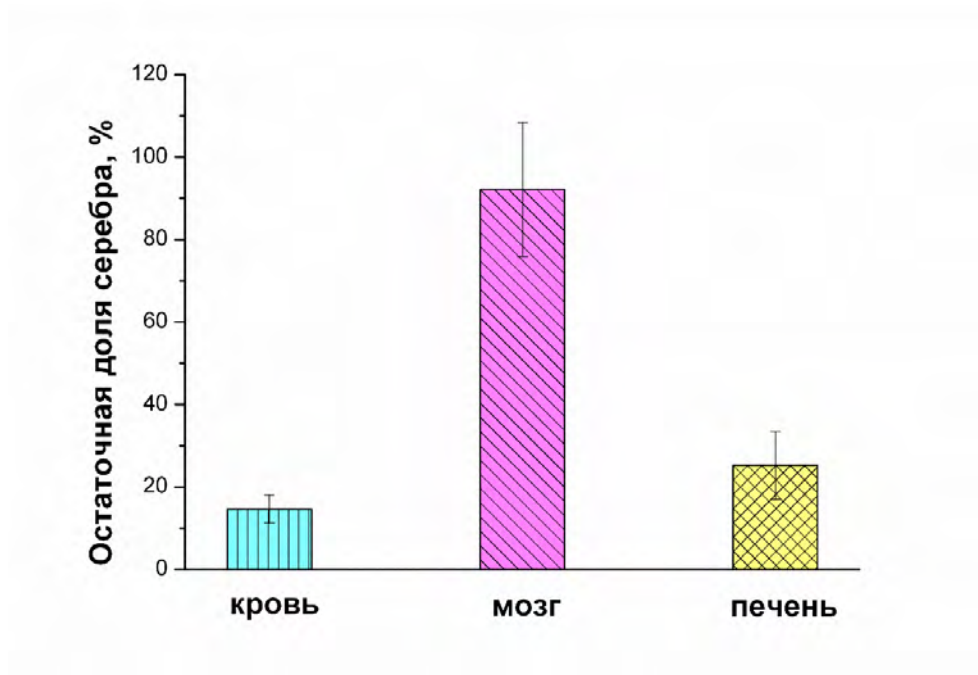


Рисунок 3 – Остаточные доли серебра в органах после введения НЧ серебра в течение двух месяцев и выведения в течение 1 месяца.

Получена биокинетика накопления таких же НЧ для крови и головного мозга после введения НЧ в течение двух, четырех, шести и восьми месяцев. Экспериментальные данные аппроксимированы полученными решениями для математической модели.

Экспериментальные и теоретические зависимости представлены на рис. 4. Видна значительная нелинейность процессов накопления, а также их различный характер для мозга и крови.

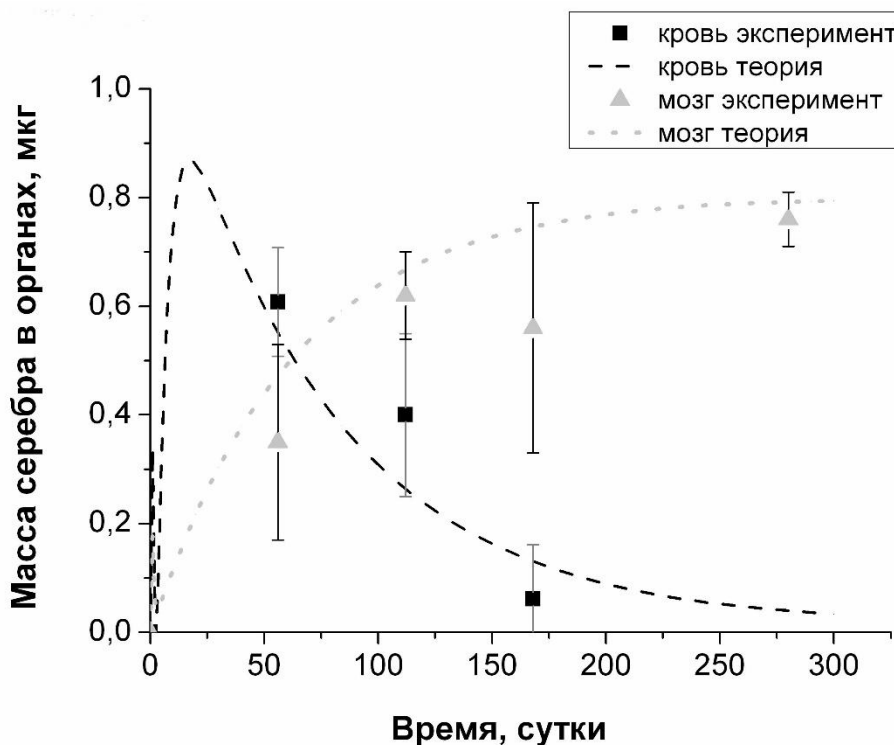


Рисунок 4 – Зависимости массового содержания серебра в крови и головном мозге: эксперимент и теория. Согласно теории, сначала для обеих функций наблюдается схожее поведение: локальные максимумы в первые часы и последующие минимумы. После этого характер функций меняется: для крови наблюдается следующий максимум и монотонное убывание, для мозга – возрастание и выход на постоянное значение.

Получены также данные по выведению НЧ в течение 1 месяца (после 2 месяцев приема), 2 месяцев (после 4 месяцев приема), 1, 2, 3 месяцев (после 6 месяцев приема препарата). Экспериментальные данные аппроксимированы затухающей экспонентой – наиболее простой и приемлемой моделью в данном случае. Вычислены показатели экспоненты, на их основе по формуле (7) получены периоды полувыведения и построены зависимости периодов полувыведения от времени накопления для крови и головного мозга (рис. 5).

$$T_{1/2} = \frac{\ln 2}{\eta} \quad (7),$$

Где  $T_{1/2}$  – период полувыведения,  $\eta$  – показатель затухающей экспоненты с размерностью 1/месяц.

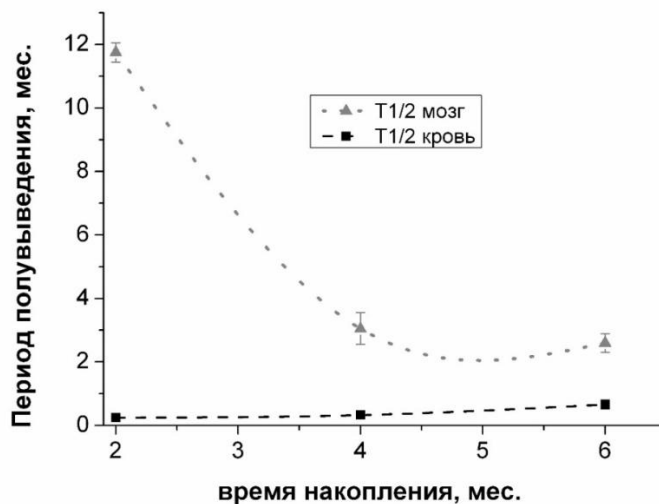


Рисунок 5 – Периоды полувыведения серебра из мозга и крови. Период полувыведения для крови достаточно мал и представляет собой линейную зависимость, которая несколько увеличивается со временем. Такое поведение может быть связано с замедлением процессов метаболизма у мышей с возрастом. Зависимость для мозга имеет характер убывающей и выходящей на постоянную величину функции. Снижение периода полувыведения со временем может быть связано с повреждением гематоэнцефалического барьера.

Функция периода полувыведения для крови имеет вид относительно небольшой постоянной, которая несколько увеличивается со временем, что может свидетельствовать о замедлении процессов метаболизма с возрастом. Для головного мозга функция периода полувыведения имеет существенно иной вид. При относительно коротких временах приема препарата около двух месяцев, она имеет относительно большое значение, сравнимое с длительностью жизни мыши. Затем она убывает, что говорит об увеличении скорости выведения серебра из мозга со временем. Этот результат может свидетельствовать о функциональном поражении гематоэнцефалического барьера НЧ и нарушении его целостности. Кроме того, если обратиться к ри.4 можно предположить, что для головного мозга функции накопления НЧ не выходит на плато, а ведет себя подобно крови, т.е. имеет два максимума.

Апробация РФА с использованием синхротронного излучения для детектирования следовых количеств НЧ оказалась весьма успешной. Был сделан вывод, что использование относительных измерений для этой цели может применяться как экспресс-метод для элементного анализа биообразцов, содержащих малые количества НЧ.

После двухмесячного ежедневного введения НЧ серебра мышам не удалось обнаружить негативного влияния в пределах ошибки измерения на когнитивные функции: пространственную память и обучаемость. Однако этот результат не может

свидетельствовать об отсутствии влияния на эти функции при более длительных сроках приема и в части нормального функционирования других отделов мозга.

Пятая глава диссертации посвящена использованию МРИ для получения радиоактивных меток на НЧ селена и диоксида титана с целью исследования их транспорта в организме млекопитающих. С одной стороны, селен является биофильным элементом и входит в состав организма млекопитающих, поэтому отличить присущий организму селен от введенного возможно лишь радиоактивно пометив последний. В главе сравниваются кинетики выведения солей селена и НЧ селена при разовом введении крысам с дефицитом селена и нормально обеспеченным этим элементом. Скорость выведения НЧ и солей селена у селенодефицитных животных медленнее, чем у обеспеченных селеном в норме. Кроме того, степень усвоения селена у всех групп животных, получавших селен в виде соли и в виде НЧ в пределах ошибки не различима. При этом известно, что соли селена являются весьма токсичными по сравнению с НЧ. Таким образом, использование НЧ селена в качестве БАД для восполнения его недостатка может быть весьма перспективно.

Кроме того, в работе имеется методическая часть по разработке методики для изучения транспорта НЧ диоксида титана. Дело в том, что при облучении диоксида титана тепловыми нейтронами ядерного реактора генерируются изотопы с коротким периодом полураспада и поэтому в работе предложен подход, основанный на получении изотопных меток при бомбардировке НЧ диоксида титана быстрыми протонами, при этом происходит трансмутация  $Ti$  в  $^{48}V$  с периодом полураспада 16 суток. В работе показано, что доля  $^{48}V$  не превышает  $10^{-9}$  от атомов  $Ti$  в составе НЧ, при этом выход радионуклидов за пределы НЧ, связанный с большой энергией отдачи, оказывается весьма незначительным. Было также показано, что НЧ диоксида титана значительно агрегируют в водных растворах с рН близким к нейтральному и поэтому введение НЧ диоксида титана в составе питьевой воды оказывается затрудненным. Предложено использовать НЧ диоксида титана с модифицированной поверхностью и разработана методика получения радиоактивных меток на таких НЧ в жидкости путем облучения быстрыми протонами.

В *заключении* приведены основные выводы из диссертационной работы.

## **ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ**



1. Предложена «камерная» модель для описания биокинетики фармацевтического препарата при условии неметаболизируемости и невзаимодействия его единиц друг с другом, которая математически выражается в системе ЛНДУ-1. На основе метода Бернулли получены приближенные аналитические решения для данной модели в общем виде. Экспериментально установлено, что поведение НЧ серебра, использованных в работе, в жидких средах удовлетворяет лимитирующим условиям применимости данной модели для описания биокинетики НЧ серебра.

2. Предложено использовать нормировку неоднородного нейтронного потока в вертикальном канале ядерного реактора на измеренные активности биофильного элемента селена в составе биологических проб животных или растений одинакового возраста и выращенных с использованием единого пищевого рациона или почв (в случае растений), что позволяет существенно повысить точность относительных гамма-спектрометрических измерений массового содержания НЧ небioфильного искомого элемента. Идея заключается в том, что согласно литературным данным, концентрация селена в органах таких животных и частях растений постоянна. Поэтому селен может быть использован в качестве индивидуального монитора нейтронного потока. Получено строгое математическое доказательство правомерности данного подхода. Использование только эталонных образцов в данном случае не позволяет получить данные с высокой точностью в связи с тем, что эталонные образцы физически невозможно связать с каждым экспериментальным образцом.

3. Экспериментально установлено, что при пероральном однократном введении в организм мышей НЧ серебра, последние, после 24 часов содержания животных, распределяются по органам неравномерно. Наибольшее количество НЧ серебра обнаружено в печени, наименьшее – в головном мозге и крови. Также установлено, что при пероральном длительном от одного до двух месяцев периодах введения НЧ серебра с различным типом стабилизации в организм лабораторных мышей, серебро перераспределяется между органами, демонстрируя тропизм к печени и головному мозгу, что было показано для обоих типов НЧ. При таких относительно длительных сроках приема, наименьшие концентрации серебра наблюдались в крови. После двухмесячного введения НЧ серебра в организм мышей и одномесячного вымывания его дистиллированной водой, из крови и печени выводится 80% и 75% серебра, соответственно. Из головного мозга же выводится всего 5 % накопленного серебра за указанный период времени. Таким образом, обнаружен кумулятивный эффект НЧ серебра в головном мозге млекопитающих (мышей).

4. На основе экспериментальных данных по длительному до 8 месяцев введению НЧ серебра в организм мышей и численной аппроксимации этих данных аналитическими функциями – полученными решениями для «камерной» модели, показана нелинейность процессов транспорта в организме млекопитающего в течение всего рассматриваемого

периода накопления, а также различный характер биокинетики НЧ серебра в головном мозге и крови. На основе экспериментальных данных по выведению НЧ серебра из организма мышей и их аппроксимации известными функциями, получены зависимости периодов полувыведения серебра из головного мозга и крови в зависимости от времени введения. Оказалось, что период полувыведения для крови относительно постоянен и лишь незначительно возрастает со временем, что связано с обогащенностью крови клетками иммунной системы. Незначительное возрастание периода полувыведения со временем может быть связано со старением организма и замедлением метаболизма. Период полувыведения НЧ серебра из головного мозга мышей имеет существенно другой характер при сравнении с кровью: при относительно коротких временах введения НЧ около 2-х месяцев период полувыведения достаточно длителен и сопоставим с продолжительностью жизни мыши. С увеличением времени накопления НЧ серебра, период полувыведения существенно убывает, что может быть связано с функциональным повреждением гематоэнцефалического барьера.

5. Применение РФА с использованием синхротронного излучения весьма эффективно для проведения элементного анализа биологических проб, содержащих следовые количества НЧ. Предложено и обосновано использование метода относительных измерений на основе сравнения спектров экспериментальных образцов со спектрами стандартных образцов в случае определения массового количества НЧ серебра в биопробах.

6. Исследование влияния длительного приема НЧ серебра мышами на пространственную память и обучаемость в водном лабиринте Морриса не выявили негативных эффектов в пределах погрешности измерений, что свидетельствует об отсутствии влияния НЧ серебра на гиппокамп и лимбические структуры мозга. Однако данные результат не могут являться основанием для утверждения о безопасности приема НЧ серебра и его накопления в головном мозге для других отделов и их функций. Кроме того, данный результат не может свидетельствовать о том, что прием большей дозы препарата или того же количества, но на более длительных сроках не приведет к ухудшению исследованных когнитивных функций.

7. В экспериментальном исследовании на основе разработанного метода радиоактивных индикаторов по детектированию НЧ селена в организме млекопитающих показано, что степень усвоения наноселена крысами сопоставима со степенью усвоения солей селена. Соли селена, в частности, селенит натрия являются крайне токсичным и нежелательным для использования. С другой стороны, селен в наноформе является гораздо менее токсичным по сравнению с солями селена. Следовательно, использование наноселена в качестве БАД для восполнения недостатка этого жизненно важного микроэлемента является весьма перспективным и конкурентоспособным.

8. Разработана методика создания радиоактивной метки на основе  $^{48}\text{V}$  на НЧ диоксида титана путем облучения порошков или жидких суспензий диоксида титана быстрыми протонами. Показано, что для задач нанобезопасности необходимо проводить эксперименты с устойчивыми в водных растворах НЧ диоксида титана с модифицированной поверхностью в связи со значительной агрегацией НЧ диоксида титана при нейтральном или близких к нейтральным показателям кислотности растворов. Для этой цели разработана методика облучения модифицированных НЧ на циклотроне и предложена методика облучения НЧ в виде сухого порошка с последующей химической модификацией поверхности ПВП в растворе.

## ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### Статьи:

1. **А.А. Анциферова**, Ю.П. Бузулуков, В.А. Демин, В.Ф. Демин, Д.А. Рогаткин, Е.Н. Петрицкая, Л.Ф. Абаева, П.К. Кашкаров, «Метод радиоактивных индикаторов и нейтронно-активационного анализа для исследований биокинетики наночастиц в живом организме» // Российские Нанотехнологии, 2015, Т.10, №1-2, стр. 84-91 .
2. В.А. Демин, И.В. Гмошинский, В.Ф. Демин, **А.А. Анциферова**, Ю.П. Бузулуков, С.А. Хотимченко, В.А. Тутьельян. Моделирование межорганного распределения и бионакопления искусственных наночастиц (на примере наночастиц серебра) // Российские нанотехнологии, 2015, Том. 10 № 3-4, стр. 103-110.
3. **A Antsiferova**, Yu Buzulukov, V Demin, P Kashkarov, M Kovalchuk, E Petritskaya, “Extremely low level of Ag nanoparticle excretion from mice brain in in vivo experiments” // IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering, 2015, 98, <http://iopscience.iop.org/article/10.1088/1757-899X/98/1/012003/meta>
4. Yu Buzulukov, **A Antsiferova**, V A Demin, VF Demin. “The method of radioactive tracer for measuring the amount of inorganic nanoparticles in biological samples” // IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering, 2015, 98, <http://iopscience.iop.org/article/10.1088/1757-899X/98/1/012039/meta>
5. **А.А. Анциферова**, В.А. Демин, Ю.П. Бузулуков, В.Ф. Демин. «Ядерно-физические методы детектирования наночастиц серебра в органах и биологических жидкостях лабораторных животных» // Ядерная физика и инжиниринг, 2015, Т. 6, № 1-2, с. 99-102.
6. В.Ф. Демин, **А.А. Анциферова**, Ю.П. Бузулуков, В.А. Демин, В.Ю. Соловьев. Ядерно-физический метод детектирования химических элементов в биологических и других образцах на основе активации заряженными частицами // Медицинская радиология и радиационная безопасность, 2015, Т. 60, №2, стр. 60-65.
7. А.А. Хадарцев, Т.И. Субботина, Е.И. Савин, Т.В. Честнова, П.А. Хренов, Ю.П. Бузулуков, **А.А. Анциферова**. Экспериментальное исследование антибактериальной активности наночастиц серебра на модели перитонита и менингоэнцефалита in vivo// Вестник новых медицинских технологий. 2014. Т. 8., № 1.

### РИД

1. **А.А. Анциферова**, Ю.П. Бузулуков, В.А. Демин, В.Ф. Демин. Ноу-хау “Повышение производительности метода радиоактивных маркеров при исследованиях биокинетики наночастиц в организме”, 2013.
2. **А.А. Анциферова**, Ю.П. Бузулуков, В.Ф. Демин, В.А. Демин, П.К. Кашкаров. Ноу-хау «Метод оценки количества остаточной крови в биологических образцах органов млекопитающих», 2015.

## Тезисы докладов

1. **A.A. Antsiferova**, Yu.P. Buzulukov, V.A. Demin, V.F. Demin, I.V. Gmshinski. “Method of Neutron Activation to Measure Amount of Inorganic Nanoparticles in Biological Samples”. In proceedings of 8<sup>th</sup> International Conference on Instrumental Methods of Analysis: Modern Trends And Applications. Thessaloniki, Greece, September 15-19, 2013.
2. **A.A. Antsiferova**, Yu.P. Buzulukov, V.A. Demin, E.A. Melnik. “Radioactive Indicators Method to Measure Amount of Inorganic Nanoparticles in Biological Samples”. In proceedings of 8<sup>th</sup> International Conference on Instrumental Methods of Analysis: Modern Trends and Applications. Thessaloniki, Greece, September 15-19, 2013.
3. Ю.П. Бузулуков, **А.А. Анциферова**, И.В. Гмошинский, В.А. Дёмин, В.Ф. Дёмин. “Разработка и применение ядерно-физических методов исследования биокинетики неорганических наноматериалов”. Сборник тезисов IV конференции Нанотехнологического общества России, Москва, Россия, 12 Декабря, 2013.
4. **A.A. Antsiferova**, Yu.P. Buzulukov, V.A. Demin, V.F. Demin. “The Development and Application of Nuclear-physical Methods for Study of Inorganic Nanomaterials’ Biokinetics”. In proceedings of Iran NanoSafety Congress, Tehran-Iran, February 19-20, 2014.
5. **А.А. Анциферова**, В.А. Демин, Д.А. Рогаткин, Е.Н. Петрицкая, Е.Ф. Абаева, Ю.П. Бузулуков. “Проникновение наночастиц серебра через гематоэнцефалический барьер млекопитающих”. Сборник тезисов VI Троицкой конференция «Медицинская физика и инновации в медицине», Троицк-Россия, 02-06 июня, 2014.
6. **A.A. Antsiferova**, Yu.P. Buzulukov, V.A. Demin, V.F. Demin, I.V. Gmshinsky, S.A. Hotimchenko. “Nuclear-Physical Methods for Detecting Pollutants and Microelements in Food”. In proceedings of International Symposium on Food Safety and Quality: Applications of Nuclear and Related Techniques, IAEA, Vienna, Austria. November 10-13, 2014.
7. **А.А. Анциферова**, Ю.П. Бузулуков, И.В. Гмошинский, В.А. Демин, В.Ф. Демин, П.К. Кашкаров, “Исследование биокинетики неорганических наноматериалов методом радиоактивных индикаторов”. Сборник тезисов научной конференции "Нанотоксикология: достижения, проблемы и перспективы", Волгоград, Россия, Сентябрь 23-24, 2014.
8. **А.А. Анциферова**, Ю.П. Бузулуков, В.А. Демин, В.Ф. Демин. “Ядерно-физические методы детектирования наночастиц серебра в органах и биологических жидкостях лабораторных животных”. Сборник тезисов 12-ой Курчатовской молодежной научной школы, Москва, Октябрь 28-31, 2014.
9. **А.А. Анциферова**, Ю.П. Бузулуков, В.А. Демин, В.Ф. Демин, Д.А. Рогаткин, Е.Н. Петрицкая, Л.Ф. Абаева, П.К. Кашкаров. Ядерно-физические методы детектирования наноматериалов в биологических и других средах. Сборник тезисов научной

конференции "Нанотоксикология: достижения, проблемы и перспективы", Волгоград, Россия, 23-24 сентября, 2014 г.

10. **А.А. Анциферова**, Ю.П. Бузулуков, В.А. Демин, В.Ф. Демин, «Разработка метода протонной активации некоторых металлсодержащих наночастиц». Сборник тезисов 57-ой научной конференци МФТИ, Москва, Россия, 24-29 ноября, 2014.
11. **Anna A. Antsiferova**, Vyacheslav A. Demin, Yurii P. Buzulukov, Vladimir F. Demin, Pavel K. Kashkarov. Tracing and Quantitative Measurements of Inorganic Nanoparticles Amounts in Biological Tissues by Nuclear Physical Methods. In proceedings of Sustainable Nanotechnology Conference, Venice, Italy, 9-11 March, 2015.
12. Vyacheslav A. Demin, Ivan V. Gmshinsky, Vladimir F. Demin, **Anna A. Antsiferova**, Pavel K. Kashkarov. Silver Nanoparticles Biokinetics Study by Mathematical Modeling of their Transport in Living Organism. In proceedings of Sustainable Nanotechnology Conference, Venice, Italy, 9-11 March, 2015.
13. **Anna A. Antsiferova**, Pavel K. Kashkarov, Vladimir F. Demin, Vyacheslav A. Demin, Yurii P. Buzulukov. Radioactive Labeling by Irradiation with Fast Protons for Study of TiO<sub>2</sub> NPs Biokinetics. In proceedings of Sustainable Nanotechnology Conference, Venice, Italy, 9-11 March, 2015.
14. **А.А. Анциферова**. Перспективы и актуальные проблемы использования наночастиц серебра. Сборник тезисов XXII международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых по фундаментальным наукам «Ломоносов-2015», Москва, Россия, 13-17 апреля, 2015.
15. **А.А. Antsiferova**, V.A. Demin, P.K. Kashkarov, M.V. Kovalchuk, E.N. Petritskaya. "Discovery of extremely low level of silver nanoparticle excretion from mice brain". En los procedimientos of V Seminario Internacional Sobre Nanociencias y Nanotecnologias, Habana, Cuba 14-18 Semptiembre, 2015.
16. **А.А. Анциферова**, В.А. Демин. Безопасны ли нанотехнологии? Сборник тезисов 13-ой Курчатовской молодежной научной школы, Москва, Россия 27-30 октября, 2015 г.
17. Ю.П. Бузулуков, **А.А. Анциферова**, В.А. Демин, В.Ф. Демин, П.К. Кашкаров Исследование биораспределения наночастиц серебра при пероральном поступлении в организм животного в подостром и хроническом эксперименте. Сборник трудов VII ежегодной конференции Нанотехнологического общества России, Москва, Россия, 2 марта, 2016 г.
18. **А.А. Анциферова** Аккумуляция наночастиц серебра в головном мозге млекопитающих. Сборник тезисов XXIII международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых по фундаментальным наукам «Ломоносов-2016», Москва, Россия, 11-15 апреля, 2016 г.
19. И.А. Бухтеева, **А.А. Анциферова** Биологическая активность наночастиц TiO<sub>2</sub> и свойства поверхности. Сборник тезисов XXIII международной конференции студентов,

аспирантов и молодых ученых по фундаментальным наукам «Ломоносов-2016», Москва, Россия, 11-15 апреля, 2016 г.

20. Л.Н. Григорьева, **А.А. Анциферова**, Л.Н. Ивлиева Исследование влияния наноразмерного серебра на когнитивные функции млекопитающих. Сборник тезисов XXIII международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых по фундаментальным наукам «Ломоносов-2016», Москва, Россия, 11-15 апреля, 2016 г.
21. **A. Antsiferova**, V. Demin, P. Kashkarov, M. Kovalchuk. Prolonged Administration Biokinetics of Ag Nanoparticles in Mammal Organisms. In proceedings of 4<sup>th</sup> International Conference on Radiation and Applications in Various Fields of Research RAD-2016, Serbia, Nis, May 23-27, 2016.
22. V. Demin, **A. Antsiferova**, V. Demin, Yu. Buzulukov, P. Kashkarov. Selenium Biokinetics Study Both by Terms of Nuclear-Physical Methods and Numerical Modelling. In proceedings of 4<sup>th</sup> International Conference on Radiation and Applications in Various Fields of Research RAD-2016, Serbia, Nis, May 23-27, 2016.
23. И.А. Бухтеева, **А.А. Анциферова**. Оптимизация выбора параметров наночастиц TiO<sub>2</sub> для изучения их биокинетики. Сборник тезисов 4-ой международной научно-практической конференции «Наноматериалы и живые системы» NLS-2016. Москва, Россия, 2-3 июня 2016 г.
24. А.Л. Ивлиева, Е.Н. Петрицкая, В.А. Демин, **А.А. Анциферова**, Л.Н. Григорьева Предварительная оценка влияния наночастиц Ag на когнитивные функции млекопитающих. Сборник тезисов 4-ой международной научно-практической конференции «Наноматериалы и живые системы» NLS-2016. Москва, Россия, 2-3 июня 2016 г.

## ЦИТИРУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Tran, Q.H. Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology, applications and perspectives [Электронный ресурс] / Q.H. Tran, V.Q. Nguyen, A.-T. Le // Adv. Nat. Sci.: Nanosci. Nanotechnol. – 2013. – N. 4. – Режим доступа: <http://iopscience.iop.org/article/10.1088/2043-6262/4/3/033001/pdf>.
2. Iversena, T.-G. Endocytosis and intracellular transport of nanoparticles: Present knowledge and need for future studies / T.-G. Iversena, T. Skotlanda, K. Sandvig // Nano Today. – 2011. – V. 6. – P. 176.
3. Ekins, R.P. Current concepts and future developments. Alternative immunoassays / R.P. Ekins; edited by W.P. Collins– New York: J. Willey and Sons. Ltd, 1988. – 1358 p.
4. Marks V. Uses of immunoassays. Alternative immunoassays / V. Marks; edited by W.P. Collins– New York: J. Willey and Sons. Ltd, 1988. – 1358 p.
5. Elechiguerra, J.L. Interaction of silver nanoparticles with HIV-1 / J.L. Elechiguerra, J. Burt, J.R. Morones, A. Camacho-Bragado, X. Gao, H.H. Lara, M.J. Yacaman // J. Nanobiotechnol. – 2005. - V 3. – P. 6.
6. Дыкман, Л.А. Золотые наночастицы в биологии и медицине: достижения последних лет и перспективы / Л.А. Дыкман, Н.Г. Хлебцов // АСТА NATURAE/ – 2011. – Т. 3, – С. 36.
7. Бессуднова, Е.В. Синтез и исследование наноразмерных частиц диоксида титана для применения в катализе и нанобиотехнологиях: дисс. к.х.н.: 02.00.04 / Бессуднова Елена Владимировна – Новосибирск, 2014 – 145 с.
8. Тутельян, В.А., Селен в организме человека / В.А. Тутельян, В.А. Княжев, С.А. Хотимченко, Н.А. Голубкина, Н.Е. Кушлинский, Я.А. Соколов – Москва.: Издательство РАМН, 2002. – 219 с.
9. Zhukova, L. V. TiO<sub>2</sub> nanoparticles suppress Escherichia coli cell division in the absence of UV irradiation in acidic conditions / L.V. Zhukova, J. Kiwib, V.V. Nikandrov // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. – 2012. – V. 97. – P. 240.
10. Ковальчук, М.В. Идеология нанотехнологий / Ковальчук М.В. – Москва: ИКЦ «Академкнига», 2010. – 222 стр.