

**Нанобиотехнологии
в изучении
молекулярных основ
патогенеза,
диагностики и терапии
заболеваний
центральной нервной
системы**

СТРУКТУРА УЧЕБНОГО СОДЕРЖАНИЯ

1. Введение
2. Нейроспецифические белки
3. Адресная доставка с помощью моноклональных антител к нейроспецифическим белкам
4. Наночастицы в диагностике и векторной терапии заболеваний ЦНС
 - 4.1. Липосомальные наноконтейнеры
 - 4.2. Полимерные наноконтейнеры
 - 4.3. Магнитные наночастицы
 - 4.4. Мицеллярные наноконтейнеры
 - 4.5. Порфириновые аддукты фуллерена C60
5. Заключение



ВВЕДЕНИЕ



Введение

Одним из наиболее продуктивных разделов нейробиологии на рубеже XX-XXI веков, несомненно, стала нейроиммунохимия.

Нейроиммунохимия – научная дисциплина, изучающая нейроспецифические антигены и антитела к ним.

Именно этому классу биологически активных молекул, характеризующихся высокой специфичностью для клеток нервной ткани, отводится значительная роль в биохимии и молекулярной биологии специфических интегративных процессов нервной системы (память, мышление, внимание, эмоции).

НЕЙРОСПЕЦИФИЧЕСКИЕ БЕЛКИ



Нейроспецифические белки

- Нейроспецифические белки – уникальные маркеры функции клеток нервной ткани
- Открытие нейроспецифических белков подтвердило концепцию, согласно которой специфические свойства любой ткани определяются паттерном экспрессируемых в ней кодирующих генов.
- Экспрессия генов этих белков значительно снижена или полностью заблокирована почти во всех клетках, за исключением нервной ткани.
- Из наиболее изученных на сегодняшний день нейроспецифических белков стоит отметить:
 - ✓ белки семейства S100,
 - ✓ триплет нейрофиламентов (NF-68, -160, -200),
 - ✓ нейроспецифическую енолазу (NSE),
 - ✓ глиофибриллярный кислый белок (GFAP),
 - ✓ основной белок миелина (MBP) и α_2 -гликопротеин мозга (α_2 GP)



Белки семейства S100

□ Доказано прямое участие S100 в регуляции обучения и запоминания:

- ✓ Антитела к S100 препятствуют развитию долговременной потенции гиппокампа, при которой происходит выброс свободного антигена S100 из глиальных клеток в интерстициальное пространство
- ✓ S100 участвует в облегчении проникновения Ca^{2+} внутрь клетки и в мобилизации цитоплазматического пула Ca^{2+} в нейронах и глиальных клетках
- ✓ Гиперэкспрессия антигена S100 приводила к достоверному снижению эффективности обучения трансгенных мышей с множественными копиями гена этого белка

□ Доказано участие S100 в модулировании сборки цитоскелета глиальных клеток:

- ✓ S100 связывается с мономерами неполимеризованного GFAP и тем самым ингибирует его полимеризацию

Триплет нейрофиламентов и GFAP

Нейроспецифические белки промежуточных филаментов, в частности триплет нейрофиламентов, специфичный для нейронов, и GFAP, специфичный для астроглии, широко применяются для иммунофенотипирования клеток нейроэпителиального происхождения в первичных и линеаризованных культурах из нервной ткани:

- ✓ **Триплет нейрофиламентов** незаменим для идентификации нейронов, в частности для доказательства дифференцировки стволовых и прогениторных клеток по нейрональному пути
- ✓ **GFAP** применяется для идентификации дефинитивных и реактивных астроцитов. С помощью иммунофлуоресцентной визуализации этого белка, в частности, можно легко дифференцировать незрелый астробласт от зрелого реактивного астроцита.



Клинико-лабораторное значение

Уникальная экспрессия нейроспецифических белков только в пределах нервной ткани имеет два важных последствия:

- ✓ Эти белки почти полностью отсутствуют в периферическом кровотоке и могут появляться там только при патологии центральной нервной системы (ЦНС) и гематоэнцефалического барьера (ГЭБ).
- ✓ Т.к. ГЭБ в норме полностью отграничивает мозг от клеток иммунной системы, у последних отсутствует иммунологическая толерантность к нейроспецифическим белкам. Вследствие этого элиминация нейроспецифических белков в кровоток потенциально может запускать иммунный ответ и продукцию нейротоксических аутоантител.



Клинико-лабораторное значение

✓ Нейроспецифические белки в системном кровотоке являются не просто высокоспецифическими диагностическими маркерами поражения нервной ткани, но и патогенетическим звеном в механизме аутосенсibilизации в процессе развития заболеваний ЦНС.



✓ Анализ уровня некоторых нейроспецифических белков (NSE, S100b, MBP, GFAP и др.) в сыворотке крови позволяет охарактеризовать как степень патологических изменений в ЦНС, так и прогнозировать исход различных критических состояний нейропсихического генеза.

- Например, иммуно-ферментный анализ GFAP позволяет оценить степень астроглиоза и воспалительных изменений в головном мозге.
- Кроме того, концентрация GFAP в сыворотке крови находится в прямой зависимости от объема реактивного астроглиоза, и, следовательно, прямо пропорциональна размеру очага дифференцированной опухоли мозга

**АДРЕСНАЯ ДОСТАВКА С
ПОМОЩЬЮ
МОНОКЛОНАЛЬНЫХ
АНТИТЕЛ К
НЕЙРОСПЕЦИФИЧЕСКИМ
БЕЛКАМ**



Моноклональные антитела к нейроспецифическим белкам

□ **Антитела** – созданный самой природой и пока незаменимый инструмент как для детекции антигена-мишени в сложном белковом растворе, так и для адресной (направленной) доставки чего-либо в клетку, презентирующую антиген-мишень.

□ Моноклональные антитела (МА) к нейроспецифическим белкам – один из основных биотехнологических инструментов в нейробиологии. С учетом высокоселективной экспрессии нейроспецифических антигенов, МА к ним являются весьма перспективными векторными молекулами для транспорта диагностических и лекарственных препаратов через ГЭБ.

□ Концепция направленного транспорта в мозг с помощью антител тесно связана с преодолением ГЭБ.

- ✓ МА, пригодные для этой цели, должны специфически распознавать антиген-мишень и не терять иммунохимическую активность *in vivo*.
- ✓ Для создания направленности МА антиген-мишень должен присутствовать в патологическом очаге в мозге в концентрации, намного превышающей его уровень в нормальных тканях, и при этом быть доступным для антител, циркулирующих в кровотоке.

Адресная доставка с помощью МА к GFAP

□ Экспериментально было показано селективное накопление моноклональных антител к GFAP в мозге крыс с поврежденным ГЭБ в результате окклюзии средней мозговой артерии. Эти данные показали возможность применения данных антител для направленного транспорта лекарственных препаратов в патологические очаги, в частности, при экспериментальной глиоме С6 (**Чехонин В.П. и соавт., 2004**).

□ Факторами, которые могут обеспечить адресную доставку с помощью моноклональных антител к GFAP являются:

- ✓ избыточная экспрессия антигена-мишени астроцитами в перитуморальной зоне
- ✓ критическое повышение проницаемости ГЭБ в неопластических микрососудах

□ В экспериментах *in vivo* было показано более чем 20-ти кратное накопление моноклональных антител к GFAP в опухоли, по сравнению с интактной тканью

Адресная доставка с помощью МА к экстраклеточному фрагменту Сх43

□ **Коннексин 43 (Сх43)** – основной структурный компонент щелевых контактов между астроцитами, участвующими в функциях ГЭБ.

□ Экспериментальные данные показали активирующее влияние Сх43 на процессы инвазии мультиформной глиобластомы человека и ее аналога у крыс – экспериментальной глиомы С6 (*Oliveira R., 2005*).

□ В экспериментах *in vivo* удалось детектировать моноклональные антитела к экстраклеточному домену Е2 Сх43 в опухоли С6 спустя 48ч после внутривенного введения. Антитела накапливались в коннексин-положительных клетках астроглиального вала (*Баклаушев В.П., 2009*).

□ Как показали исследования, далеко не все клетки, захватывающие Mab к Сх43 из кровотока являются GFAP-позитивными. Этот феномен может говорить о преимущественном накоплении моноклональных антител к экстраклеточному фрагменту Сх43 в дедифференцированных астроцитах перитуморальной зоны – астробластах (*Баклаушев В.П., 2010*).

Перспективы адресной доставки

□ Адресная доставка в перитуморальную область с помощью МА к GFAP и Cx43 имеет несколько очевидных перспектив:

- ✓ Крайне важно, например, при хирургической резекции опухоли правильно определить ее границы с учетом всех имеющихся участков перивазальной и периневральной инвазии. Поскольку реактивные астроциты сопровождают все такие участки, их визуализация позволит четко отграничить область инвазии глиомы от нормальной ткани.
- ✓ В последних исследованиях показано, что именно в перитуморальной области идет наиболее активная инвазия глиомы. В этой области локализуются так называемые стволовые опухолевые клетки, поддерживающие пул активно мигрирующих радио- и химиорезистентных клеток глиомы.

□ Таким образом, с помощью МА к GFAP и Cx43 можно пытаться доставить в эти клетки перитуморальной зоны мощные цитостатики или терапевтические гены.

НАНОЧАСТИЦЫ В ДИАГНОСТИКЕ И ВЕКТОРНОЙ ТЕРАПИИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЦНС



Наночастицы в диагностике и векторной терапии заболеваний ЦНС

□ Разработка новых нейropsychофармакологических препаратов существенно ограничена двумя фундаментальными проблемами:

✓ преодоление ГЭБ

✓ проблема селективности действующего агента по отношению к клеткам-мишеням в ЦНС

□ Нанотехнологические подходы позволяют создавать многофункциональные высокоселективные наносистемы, способные доставлять транспортируемый агент сначала в церебральные микрососуды, а затем в интерстициальную жидкость и непосредственно к клеткам-мишеням в головном мозге.

□ Такие препараты и системы способны действовать на субклеточном уровне, близком к молекулярному, но при этом они сохраняют преимущества макросистем (в частности, высокий уровень загрузки транспортной конструкции активными агентами)

Общая характеристика наносистем

□ Чаще всего наносистемы представляют собой биологически активные вещества, связанные с полимерными наночастицами или заключенные в наноконтейнеры, образованные полимерами или низкомолекулярными соединениями.

□ Наносистемы позволяют:

- ✓ повысить растворимость и стабильность активных агентов

- ✓ обеспечить адресную доставку активных агентов к органам и клеткам-мишеням

□ Таким образом, сформировались такие области медицины как наномедицина, нанофармакология и нанофармация.

Наночастицы для терапии заболеваний центральной нервной системы

Наносистемы	Загрузка лекарств	Применение
Полимерные наночастицы	Лекарства могут быть помещены в ядро или матрицу наночастиц в твердом состоянии или в растворе; также могут быть с поверхностью наночастиц	Лечение заболеваний Альцгеймера и Паркинсона, мышечная дистрофия
Липосомы	Водорастворимые лекарства заключаются внутрь, а липофильные – встраиваются в липидный бислой	Лечение заболеваний Альцгеймера и Паркинсона
Микроэмульсии	Могут использоваться лекарства с плохой растворимостью и биодоступностью	Лечение болезни Паркинсона, мышечной дистрофии, болезнью Хантингтона и Альцгеймера
Твердые липидные наночастицы	Лекарства адсорбируются или диспергируются в гидрофобном ядре	Лечение болезни Паркинсона и бокового амиотрофического склероза
Наногели	Лекарство связано с помощью ионных сил	Лечение заболевания Альцгеймера

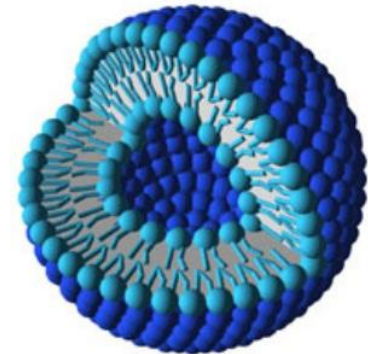


1. Липосомальные наноконтейнеры



Липосомальные наноконтейнеры

Липосомы (от нескольких нм до нескольких мкм) - это везикулярные структуры, состоящие из униламеллярных или мультиламеллярных липидных бислоев, окружающих внутренние водные компартменты.



□ Главными молекулярными компонентами липосом являются липиды, которые при эмульгировании в водной среде образуют систему жировых пузырьков, ограниченных внешней бислоем липидной мембраной и содержащих в своем внутреннем пространстве некоторый объем водной фазы, захваченной при механическом эмульгировании.

□ Липосомы являются наиболее разработанными контейнерами для доставки лекарственных препаратов и генетического материала через гематоэнцефалический барьер.

Преимущества липосом

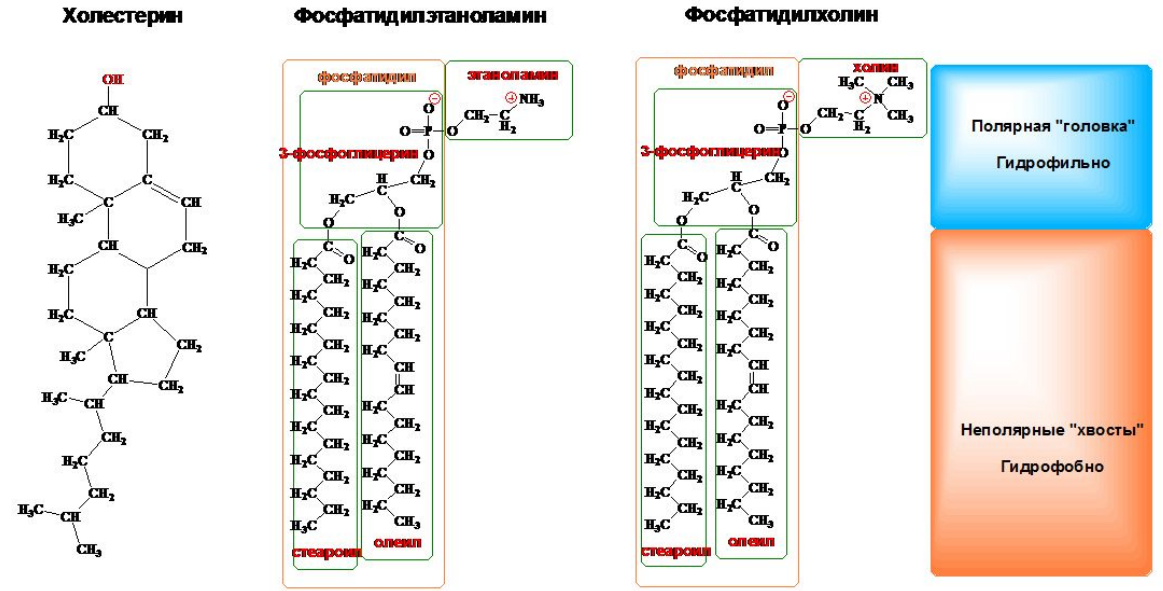
□ Главное достоинство липосом — это очень высокая емкость загрузки лекарственным средством как гидрофильной, так и гидрофобной природы.

- ✓ Загружаемые полярные или гидрофильные вещества будут находиться преимущественно во внутренней водной фазе липосом.
- ✓ Липофильные или амфифильные вещества внедряются в липидную мембрану.

□ Заключение в липосомы значительно продлевает среднее время пребывания лекарственного средства в кровотоке, уменьшает выраженность его побочных эффектов и повышает терапевтическую эффективность.

Строение липосом

Основным структурообразующим элементом липосомы является именно бислойная липидная мембрана, которая может быть построена из амфифильных липидов, имеющих в своих молекулах как гидрофобные, так и гидрофильные группировки.



Для построения искусственных липосом наиболее часто используются различные лецитины (фосфатидилхолины), фосфатидилсерины и фосфатидилэтаноламины. В состав липосом обычно вводят и холестерин, амфифильность которому придает гидроксильная группа, присоединенная к гидрофобной молекуле этого стероидного компонента практически всех естественных биологических мембран.



Липосомы – «невидимки»

□ Современные методы позволяют приготовить липосомы, модифицированные инертными гидрофильными полимерами, образующим экранирующую «щетину» из цепочек полимера длиной 10-20 нм.

□ Чаще всего в этом качестве используется полиэтиленгликоль (ПЭГ) с молекулярной массой около 2000 Да.

□ Такие ПЭГилированные липосомы становятся «невидимками» (stealth-liposomes) для ретикулоэндотелиальной системы млекопитающих:

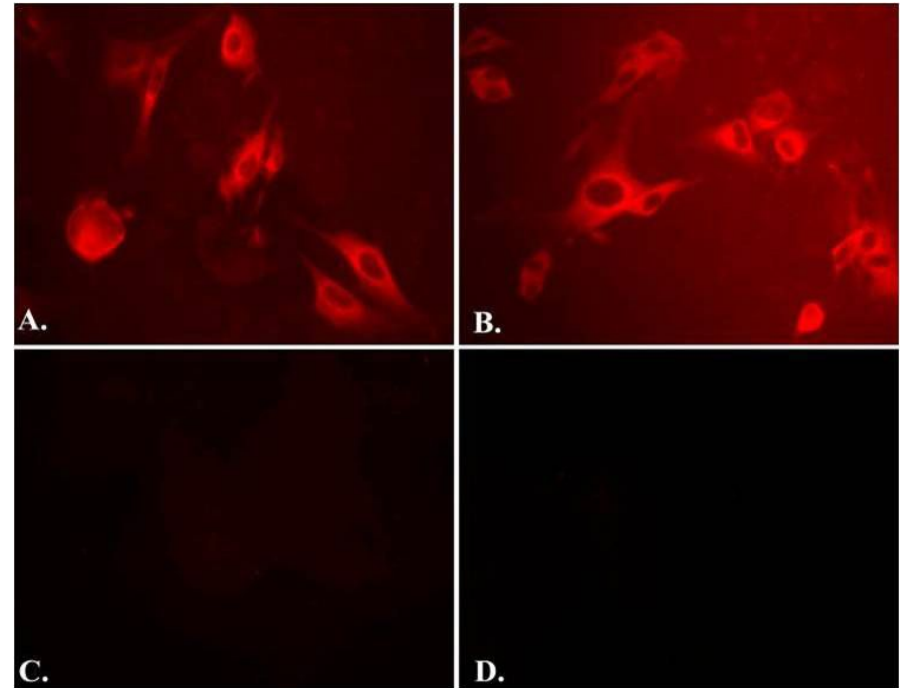
- ✓ они в гораздо меньшей степени, чем неПЭГилированные липосомы, подвергаются опсонизации;
- ✓ они хуже распознаются макрофагами печени и селезенки и поэтому дольше циркулируют в кровотоке (период полувыведения составляет 15 и более часов).

Векторные иммунолипосомы на основе моноклональных антител к МВР

Иммунолипосомы – липосомы, конъюгированные с антителами

Факт связывания ПЭГилированных иммунолипосом (с моноклональными антителами к МВР) с клетками определялся по появлению специфического красного свечения, обусловленного липидным флуоресцентным индикатором Dil, введенным в состав липосомных мембран.

При инкубации с живыми культурами шванновских клеток наблюдалось окрашивание клеточных структур, содержащих белок-мишень векторных моноклональных антител

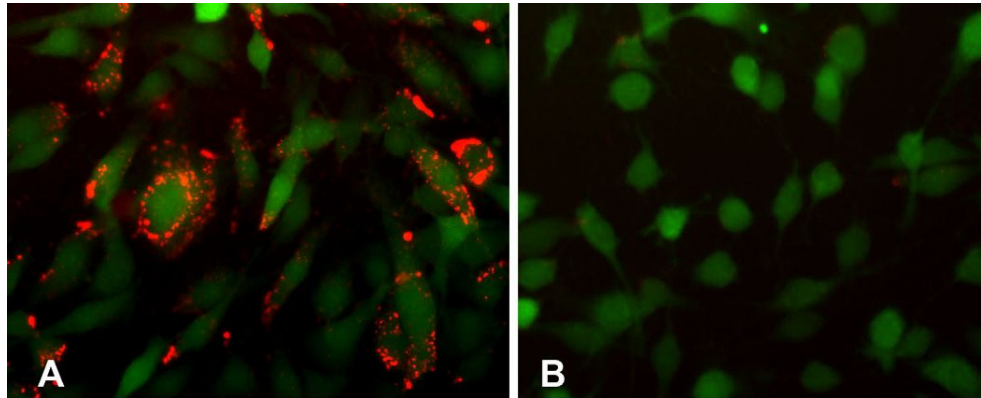


A, B — Dil-ПЭГилированные иммунолипосомы с антителами к МВР в течение трёх (A) и шести (B) часов.

C, D — Неспецифические иммунолипосомы
(*Chekhnin V.P., 2007*)

Бинарная иммунолипосомальная система

□ На препаратах глиомных клеток была испытана бинарная иммунолипосомальная система направленного транспорта, включающей биотинилированные антитела к экстраклеточному фрагменту E2 Cx43 и липосомы со стрептавидином, содержащие красную флуоресцентную метку Dil C₁₈ (*Баклаушев В.П., 2009*)



А: Эксперимент показал специфическую флуоресценцию Dil в препаратах глиомных клеток последовательно инкубированных с биотинилированными антителами к E2 Cx43 и липосомами со стрептавидином и флуоресцентной меткой.

В: Преинкубация клеток с избытком небитинилированных антител к Cx43 почти полностью блокировала появление флуоресценции после добавления биотинилированных антител и липосом со стрептавидином.

Бинарная иммунолипосомальная система

□ В экспериментах по направленному транспорту бинарная авидин-биотиновая система была выбрана из нескольких соображений.

✓ Во-первых, константа диссоциации комплекса стрептавидин-биотин (10^{-15} М) почти в два раза ниже, средней константы диссоциации комплекса антиген-антитело (не менее 10^{-9} М), вследствие чего применение первого комплекса должно повысить специфичность накопления транспортируемых липосомальных контейнеров.

✓ Во-вторых, в случае применения бинарной системы, конъюгация стрептавидина с липосомой приводит к образованию существенно меньшего комплекса, чем при конъюгации с липосомой антител (молекулярная масса стрептавидина почти в три раза меньше молекулярной массы иммуноглобулинов G).

□ Система может применяться для направленного транспорта диагностических и терапевтических агентов к Cx43-положительным клеткам глиомы *in vivo*.

Адресная доставка иммунолипосом в системах *in vivo*

- В роли векторных молекул выступали уже описанные выше моноклональные антитела к GFAP и экстраклеточному фрагменту коннексина-43.
- Флуоресцентный анализ срезов мозга после внутривенного введения иммунолипосом крысам с экспериментальной глиомой выявил их накопление в области перитуморального астроглиального вала.
- Точно так же и на МРТ-снимках было обнаружено накопление T1-сигнала в перитуморальной области, в месте максимальной экспрессии антигенов-мишеней.
- Таким образом, удалось создать систему адресной доставки в перитуморальную зону, работающую в системе *in vivo*.

2. Полимерные наноконтейнеры



Полимерные наноконтейнеры

Полимерные наноконтейнеры – это дисперсия частиц биоразлагаемых и биосовместимых полимеров размером от 10 до 1000 нм.

Поллимерные наноконтейнеры обладают рядом преимуществ:

- Малый размер полимерных наночастиц позволяет им преодолевать различные биологические барьеры, в том числе и ГЭБ
- Полимерные наночастицы могут обеспечить высокую плотность терапевтических молекул, которые могут быть инкапсулированы, диспергированы или растворены в данных наночастицах.
- Широкие возможности выбора полимера и механизма высвобождения лекарственного средства из полимерных наночастиц делают их уникальными кандидатами для доставки лекарств.
- Наиболее часто используемыми нанополимерами являются биологически инертные полимеры полиэтиленгликоль, поли-L-глутаминовая кислота, поли(алкилцианоакрилат) и поли(бутил)цианоакрилат.

Полимерные наночастицы в терапии болезни Паркинсона

- Заболевание Паркинсона возникает из-за прогрессирующей дегенерации дофаминергических нейронов в черной субстанции.
- Считается, что заболевание Паркинсона включает в себя апоптоз нейронов, тогда как NGF (фактор роста нервов) предотвращает этот процесс, как было показано во многих исследованиях.
- Полимерные наночастицы полибутилцианоакрилата, покрытые оболочкой из полисорбата-80, способны адсорбировать на своей поверхности NGF и доставлять его в мозг, преодолевая ГЭБ.
- В исследованиях на мышах (*Kurakhmaeva K. A., 2009*) было показано, что внутривенное введение наночастиц с NGF позволило победить амнезию и улучшить память экспериментальных животных. Полученная наносистема продемонстрировала значительное угасание симптомов заболевания Паркинсона, таких как олигокинезия, мышечная ригидность и тремор.



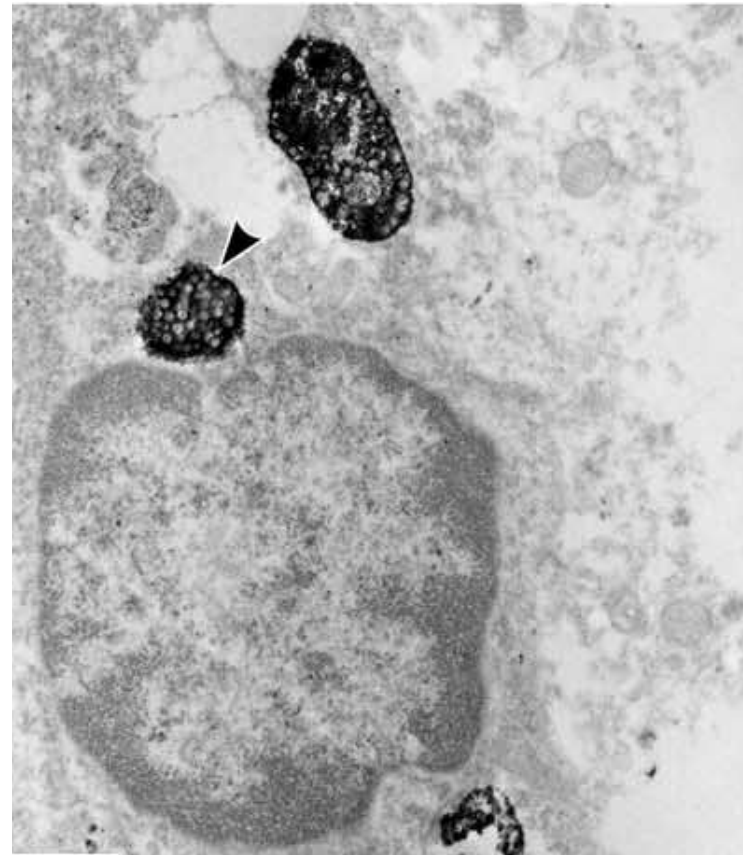
Диагностика болезни Альцгеймера

□ Основным признаком болезни Альцгеймера является образование нерастворимых отложений β -амилоидных пептидов, также называемых сенильными бляшками.

□ Тиофлавин-Т позволяет детектировать сенильные бляшки, однако, лишен способности преодолевать ГЭБ.

□ Латексные наночастицы, содержащие тиофлавин-Т, стереотаксически вводились мышам в гиппокамп. Микроскопическое исследование срезов мозга показало преимущественное накопление наночастиц в микроглии и нейронах.

□ Таким образом, с помощью латексных наночастиц с тиофлавином-Т можно визуализировать внутриклеточное образование β -амилоидных пептидов и их отложение во внеклеточном пространстве.



3. Магнитные наночастицы

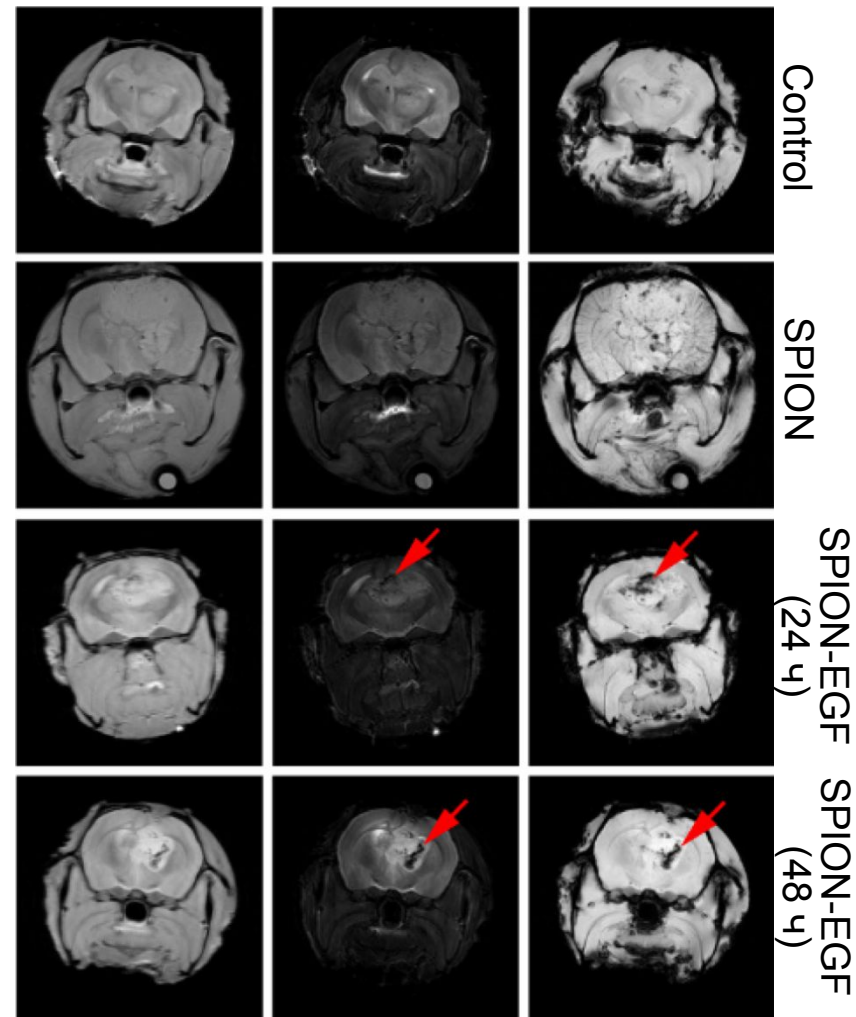


Магнитные наночастицы

- **Магнитные наночастицы (МНЧ)** – наночастицы, имеющие постоянный или наведенный магнитный момент.
- Особенно широкое применение получили магнитные наночастицы оксидов железа (магнетита Fe_3O_4 или маггемит Fe_2O_3), покрытые биосовместимой оболочкой из полисахаридов, белков, синтетических полимеров или мономеров.
- Суперпарамагнитные наночастицы оксида железа с диаметром менее 30 нм представляют собой важнейший новый класс МРТ-контрастных агентов для визуализации патологий головного мозга.
- При воздействии внешнего магнитного поля такие наночастицы более эффективно повышают контраст МРТ-снимков по сравнению с агентами на основе хелатов гадолиния, используемых в клинической практике.

Диагностика глиом головного мозга

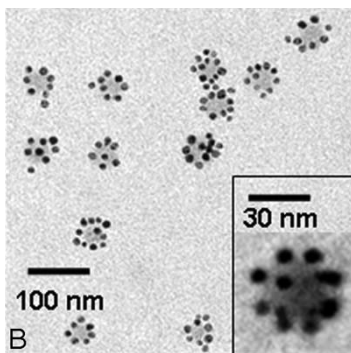
- Суперпарамагнитные наночастицы оксида железа (SPION) Fe_3O_4 , покрытые декстраном и конъюгированные с человеческим эпидермальным фактором роста (EGF) позволили эффективно визуализировать глиому С6 у крыс (*Shevtsov M.A., 2014*).
- Использование EGF позволило преодолеть ГЭБ и обеспечить адресную доставку нанодиагностикума непосредственно в патологический очаг за счет специфического взаимодействия с рецепторами опухолевых клеток.



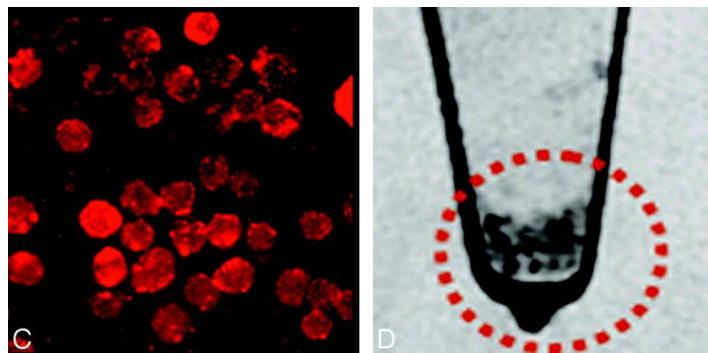
Двойная визуализация очагов заболевания

- Одной из новейших инновационных технологий в диагностике является создание наночастиц, которые сочетают в себе свойства оптических нанозондов и возможностей традиционной диагностики, например, МРТ.
- Так, были разработаны (*Lee J-H., 2006*) наночастицы с кремниевым ядром, содержащим флуоресцентную метку и окруженным магнитными наночастицами
- Для обеспечения адресной доставки наночастиц, их конъюгировали с антителами HmenB1, специфически взаимодействующими с полисиаловыми кислотами, которые экспрессируют клетки нейробластомы
- Таким образом, разработан контрастный агент для специфического высокоэффективного выявления клеток нейробластомы с помощью одновременной оптической и МРТ-визуализации

Двойной контрастный агент



Визуализация (оптическая/МРТ) клеток нейробластомы



4. Мицеллярные наноконтейнеры



Мицеллярные наноконтейнеры

Мицеллярные наноконтейнеры (от 10 до 100 нм) – частицы, образованные молекулами, состоящими из гидрофобной и гидрофильных частей, которые в водных растворах самопроизвольно образуют агрегаты (мицеллы), которые имеют гидрофобные и центральные участки и гидрофильные внешние оболочки.

Мицеллярные наноконтейнеры в настоящее время достаточно широко применяются для разработки адресных препаратов, способных преодолевать гистогематические барьеры.

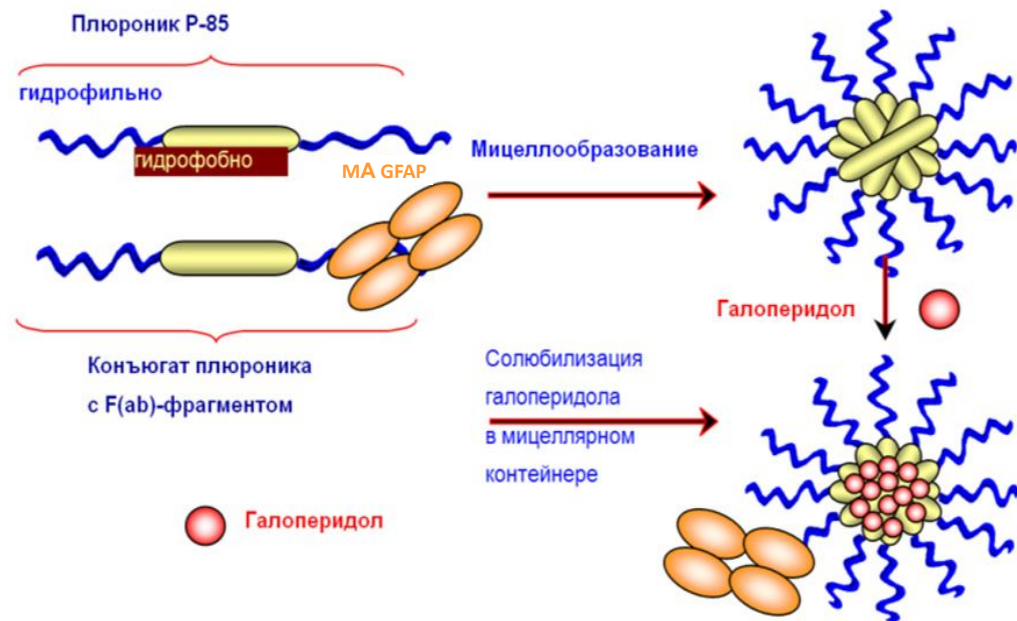
Некоторые из них, в частности, цитостатические препараты в составе мицеллярных контейнерных лекарственных форм на основе плуроников успешно прошли клинические испытания и применяются в комбинированной противоопухолевой терапии.

Мицеллярные наноконтейнеры для доставки галоперидола

□ **Плюроник P-85** – линейный блок-сополимер, состоящий из средней гидрофобной части (полипропиленгликоль) и концевых гидрофильных фрагментов (полиэтиленгликоль).

□ Для придания наноконтейнерам биологической специфичности в мицеллообразующий полимер добавлялось определенное количество плюроника, конъюгированного с векторными МА к GFAP.

□ Полная наноконтейнерная система образуется после солюбилизации препарата галоперидола в растворе таких мицелл.



При использовании такой системы доставки галоперидола наблюдался эффект практически 100-кратного увеличения токсичности по сравнению с аналогичными значениями для простой солюбилизации этого нейролептика в мицеллах плюроника.

5. Порфириновые аддукты фуллерена C60



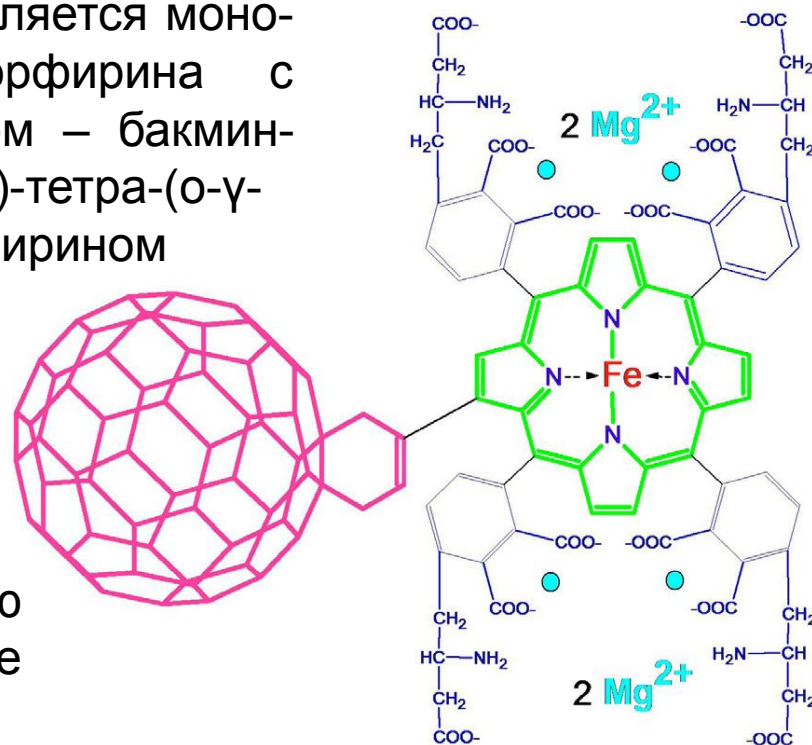
Порфириновые аддукты фуллера C60

□ Создан новый класс медицинских углеродных катионообменных наночастиц (нанокатионитов), представленных порфириновыми аддуктами фуллера C60

□ Один из представителей этого класса - новый лекарственный препарат РМС16 - является моноаддуктом железосодержащего порфирина с классическим бакминстерфуллереном – бакминстерфуллерен(C60)-2-(бутадиен-1-ил)-тетра-(о-γ-аминобутирил-о-фталил)-ферропорфирином

□ Препарат представляет собой

- ✓ низкотоксичные;
- ✓ амфифильные;
- ✓ способные к образованию кластеров мембранотропные наночастицы размером 1,8 нм.



Спин-селективная биохимия

- Исследования углеродных нанокатионитов являются логическим продолжением нового научного направления, названного «спин-селективная биохимия», основы которого были заложены в Институте химической физики им. Н.Н. Семёнова академиком РАН А.Л. Бучаченко в результате обнаружения магнитных изотопных эффектов в биологических системах.
- В частности, было впервые показано, что магнитный изотоп магния ^{25}Mg , в отличие от наиболее распространенного немагнитного изотопа ^{24}Mg , является специфическим гиперактиватором большинства Mg^{2+} -зависимых реакций синтеза АТФ в клетке. Примечательно, что гиперактивация энергетического метаболизма ионами $^{25}\text{Mg}^{2+}$ требует незначительного количества этих ионов и имеет место даже при отсутствии кислорода (глубокая тканевая гипоксия и ишемия).

Тканевая гипоксия

- Тканевая гипоксия и последующая за ней ишемия являются центральными патогенетическими механизмами в развитии двух наиболее значимых в медико-социальном отношении заболеваний: инфаркта миокарда и ишемического инсульта.
- Таким образом, актуальность создания адресного индуктора синтеза АТФ в условиях гипоксии — огромна.
- Причины тканевой гипоксии весьма разнообразны: это и врожденные нарушения метаболизма (синдром Ледерера-Вальдека), и отравления (СО, нитрофенолы), и избыточные физические нагрузки, и ингаляторное кислородное голодание, и побочные эффекты лекарств — ингибиторов окислительного фосфорилирования.



Пути устранения тканевой гипоксии

- В частности, цитотоксичность доксорубицина связана преимущественно с подавлением окислительного фосфорилирования АДФ в митохондриях клеток. Это значит, что запасной путь регенерации АТФ, а именно фосфорилирование АДФ, катализируемое ферментами семейства киназ, может быть выбран для фармакологического воздействия с целью уменьшения или даже исключения побочного эффекта доксорубицина во время (или до) длительной цитостатической терапии.
- И субстратный, и окислительный пути фосфорилирования являются Mg^{2+} -зависимыми процессами и поэтому могут быть ускорены вплоть до 2,5 раз ультрамикроколичествами $^{25}Mg^{2+}$.
- Простое «эндоосмотическое давление» вызывает замещение одного изотопа Mg другим (^{25}Mg , также как ^{24}Mg , и ^{26}Mg стабильные изотопы) в активном сайте креатинкиназы, наиболее эффективном участнике резервного синтеза АТФ, что приводит к значительной интенсификации образования АТФ в очаге гипоксии.

Использование PMS16 для доставки ^{25}Mg

□ Наночастица PMS16 удовлетворяет двум важным фармакологическим требованиям:

- ✓ ее структура позволяет осуществлять так называемое «умное высвобождение» магния *in vivo*, то есть высвобождение магния в ответ на тканевой ацидоз, вызванный гипоксией.
- ✓ порфириновый домен PMS16 определяет тканевую и субклеточную селективность в результате взаимодействия с порфириновыми рецепторами, локализованными на мембранах митохондрий кардиомиоцитов, лимфобластов и нейронов.

□ Благодаря способности обеспечивать адресную доставку катионов парамагнитного изотопа ^{25}Mg к местам локализации тканеспецифических митохондриальных порфирин-связывающих белков, PMS16 является первым и пока единственным фармакологическим агентом, позволяющим избирательно использовать магнитный изотопный эффект ^{25}Mg для гиперактивации синтеза нуклеозидтрифосфатов (АТФ, ГТФ) в страдающих от гипоксии миокардиоцитах, нейронах, лимфоцитах и лимфобластах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ



Заключение

- Внедрение нанотехнологий произвело революцию в молекулярной нейробиологии, которая привела к быстрому прогрессу в области высокоспецифичной доставки в мозг лекарственных препаратов, а также визуализации и диагностики мозга.
- Направленная доставка препаратов, вероятно, является основным исследовательским направлением в наномедицине ЦНС. Наличие более специфичных и эффективных мишеней должно способствовать развитию более безопасных и эффективных ЦНС-направленных нанолекарств.

