

25. **Abramova E., Vyguinnyi S., Mamaeva S.** Increased frequency of acrocentric chromosome association during colcemid treatment. *Cancer Genet Cytogenet.*, 1993, 68, 1: 52—59.
26. **Howell W. M, Black D. A.** Controlled silver staining of nucleolus organizer regions with protective colloidal developer: a one-step method. *Experientia*, 1980, 36: 1014.
27. **ISCN (2009):** An International System for Human Cytogenetic Nomenclature, L.G. Shaffer, M.L. Slovak, L.J. Campbell (eds); S. Karger, Basel 2009.
28. **Турилова В.И., Пендина А.А, Смирнова Т.Д.** Метафазные хромосомы клеток линии множественной миеломы человека U-266: кариотип и морфофункциональная характеристика ядрышкообразующих районов. *Цитология*, 2003, 45, 6: 606—613.
29. **Ляпунова Н.А, Вейко Н.Н.** Рибосомные гены в геноме человека: идентификация четырех фракций, их организация в ядрышке и метафазных хромосомах. *Генетика*, 2010, 46, 9: 1205—1209.
30. **Грабовская И.Л., Мамаева С. Е., Мамаев Н.Н.** Изучение характера серебрения и ассоциативной способности акроцентрических хромосом нормальных и лейкозных клеток человека. *Цитология*, 1986, 28, 3: 350—359.

**ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ МЕТАЛЛОВ НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ И
МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА
И ЖИВОТНЫХ**

***И.А. Суетина¹, М.В. Мезенцева¹, Е.А. Гущина¹, Ф.А. Лисицин¹, Л.И. Руссу¹,
О.А. Лопатина¹, Е.Л. Фирсова¹, Д.Ф. Тайсон², М.Е. Джонсон², В. Хинг²,
С.А. Остроумов³***

¹ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф.Гамалеи» Минздрава России / Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского, Москва, cells@rambler.ru; ²Университет Массачусетса, Амхерст, штат Массачусетс, США; ³МГУ им.М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Москва

С целью изучения влияния наночастиц на морфофункциональные характеристики клеток проведено тестирование водных суспензий наночастиц CuO и Fe_2O_3 на диплоидные клеточные культуры фибробластов эмбриона кур, клеток тестикулов ягнят, фибробластов эмбриона человека (ФЭЧ-Т) и перевиваемые культуры клеток человека (A549) и животных (ВНК-21, Vero). Показано различное токсическое воздействие исследуемых препаратов на клетки. С помощью МТТ-теста выявлено снижение жизнеспособности клеток в процессе их инкубации с изучаемыми препаратами. Наибольшая цитотоксичность через 48 ч инкубации выявлена у наночастиц окисла меди, наименьшая – у наночастиц окисла железа. Наночастицы CuO в водной суспензии вызывали значительную гибель клеток в

концентрациях вплоть до 1 мкг/мл, тогда как образец Fe_2O_3 - в концентрациях 500-125 мкг/мл, что может свидетельствовать о зависимости степени воздействия тестируемых наночастиц на клетки от физико-химических свойств препаратов. С помощью трансмиссионной электронной микроскопии обнаружены изменения морфологии культивируемых фибробластов эмбриона человека при их инкубации в течение 48 ч с наночастицами Fe_2O_3 в концентрации 100 мкг/л.

Изучено влияние тестируемых препаратов в субтоксических концентрациях на параметры иммунитета. Отмечено, что наночастицы CuO подавляли в клетках ФЭЧ-Т экспрессию гена ИФН- $\lambda 3$ и способствовали активации транскрипции ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-18, ФНО- α . Наночастицы Fe_2O_3 активировали экспрессию генов ИФН- γ , ИЛ-2, а также ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-10 и ФНО- α . Т.о. показана потенциальная возможность использования препаратов на основе наночастиц окислов металлов для коррекции иммунопатологических состояний при ряде патологий.

Ключевые слова: наночастицы, окислы железа, меди, жизнеспособность клеток, электронная микроскопия, цитокины.

Внедрение нанотехнологии во многие сферы деятельности человека, в том числе в медицинскую и биологическую практику, ставит человечество перед новыми проблемами. Выяснение характера воздействия наноматериалов и наночастиц на здоровье и среду обитания человека является непростой задачей. Токсичность наночастиц для живых систем зависит от многих факторов (1, 2). Среди различных способов оценки безопасности наночастиц существенную роль играют методы, основанные на использовании культур клеток. Накоплен материал по изучению влияния наночастиц металлов на культивированные клетки и их ДНК (3, 4, 5). Однако, вопрос о влиянии наночастиц металлов на культивируемые клетки изучен недостаточно, полученные данные неоднозначны. Есть сведения об отсутствии цитотоксичности наночастиц *in vitro*, а также об их взаимодействии с компонентами культуральной среды (6, 7, 8). Вопрос требует дальнейшего изучения. Представляет интерес накопление методического опыта тестирования наночастиц на различных видах клеток, что позволит установить порог допустимых доз вводимых наночастиц в условиях организма. Цель данной работы – получить информацию о влиянии водных суспензий наночастиц окислов металлов CuO и Fe_2O_3 на морфофункциональные характеристики культивируемых клеток человека и животных.

Материал и методы

Препараты наночастиц.

- CuO; (Los Alamos, NM, USA), < 50 нм;
- Fe₂O₃ (alpha); (Los Alamos, NM, USA), 20-50 нм, 50 м² г⁻¹ .

Наночастицы были автоклавированы при 1 атм., 120° С в течение 30 мин и из них были приготовлены водные суспензии на 3-х дистиллированной воде в исходной концентрации 1 мг/мл. Для экспериментов с клетками препараты наночастиц оксидов меди и железа использовали в концентрациях от 500 до 0.25 мкг/мл.

Культуры клеток и питательные среды.

Для экспериментов из Коллекции культур клеток Института вирусологии им. Д.И. Ивановского были выбраны диплоидные клеточные культуры фибробластов эмбриона кур (ФЭК), клетки тестикулов ягнят (ТЯ), фибробластов эмбриона человека (ФЭЧ-Т), перевиваемые клеточные культуры карциномы легкого человека (A549) и перевиваемые клеточные культуры животных: клетки почки сирийского хомячка (ВНК-21) и клетки почки зеленой мартышки (Vero).

Для культивирования клеток использовали стандартные питательные среды производства Московского института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова с 10% эмбриональной телячьей сывороткой (ЭТС) фирмы «ПанЭко». Клетки рассевали на 96-луночную панель фирмы «Costar» (США) в концентрации 200 тыс. кл./мл в каждую лунку в объеме 100 мкл культуральной среды с 10% ЭТС и инкубировали в СО₂-термостате при 37°С. Через 24 ч после посадки клеток перед внесением препаратов инкубационную среду меняли, добавляя в нее по 100 мкл среды с 1 % ЭТС в лунку.

Изучаемый препарат в исходной концентрации 1мг/мл раститровывали в разведениях от 1/2 до 1/4096, что соответствовало концентрациям от 500 до 0,25 мкг/мл, и инкубировали с клетками в течение 24 и 48 ч в СО₂-термостате при 37° С. Эксперименты выполняли с тремя повторами. Контролем служили интактные клетки, культивируемые параллельно с опытными.

Оценка жизнеспособности клеток с помощью МТТ-метода.

Для оценки цитотоксического действия наночастиц применяли МТТ– тестирование (9, 10). Жизнеспособность клеток оценивали по интенсивности окраски раствора синего формазана, измеряя его оптическую плотность при длине волны 545 нм на спектрофотометре Immunochem 2100 (США). Долю жизнеспособных клеток рассчитывали как отношение

оптической плотности раствора формазана в опытных и контрольных образцах в процентах (5). Статистическую обработку результатов проводили с использованием программного обеспечения Microsoft Excel, «Statistica 6,0». Достоверность различия средних величин устанавливали с помощью t-критерия Стьюдента при $P < 0,05$.

Трансмиссионная электронная микроскопия.

Изучение влияния препаратов наночастиц на морфологию культивируемых клеток ФЭЧ-Т после их инкубации с препаратами в течение 48 ч проводили с помощью трансмиссионной электронной микроскопии. Использовали общепринятую методику фиксирования материала в 2,5%-ном глютаральдегиде и 1%-ном водном растворе OsO_4 , обезвоживания, пропитки и заливки в эпоксидную смолу. Ультратонкие срезы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца. Полученные контрольные и опытные препараты изучали под электронным микроскопом JEOL 100XC с ускоряющим напряжением 80 кВ.

Изучение уровня транскрипции цитокинов.

Для исследования возможных механизмов воздействия препаратов наночастиц окислов железа и меди на показатели иммунитета было проведено исследование синтеза цитокинов на уровне их транскрипции *in vitro* в клеточной культуре ФЭЧ-Т через 48 ч после введения препаратов. Клетки помещали в 24-х луночные панели в посевной дозе 100 тыс.кл/мл, инкубировали 24 ч до образования монослоя, и затем после смены среды в лунки вносились препараты наночастиц CuO в концентрации 0.25 мкг/мл и 0.1 мкг/мл и Fe_2O_3 в концентрации 32.25 мкг/мл и 1 мкг/мл. Экспрессия генов интерлейкинов (ИЛ)-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-17, ИЛ-18, фактора некроза опухолей (ФНО)- α , интерферонов (ИФН)- α , ИФН- β , ИФН- γ , ИФН- λ 1, ИФН- λ 2, ИФН- λ 3 оценивалась по активности их мРНК. Определение активности мРНК цитокинов в клетках проводили с использованием методов обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР). В качестве положительного контроля использовали β -актин. Регистрацию результатов ПЦР осуществляли с помощью электрофореза в 2,5%-ном агарозном геле, окрашенном бромистым этидием. Для идентификации нуклеотидных последовательностей использовали маркер для электрофореза фирмы Promega (G 1758) (11-14).

Результаты и обсуждение

Проведенное нами ранее тестирование изучаемых наночастиц окислов металлов в виде суспензий на культуральной среде 199 на двух линиях клеток выявило, что оба препарата

вызывали цитотоксическое воздействие на пролиферацию клеток, приводили к уменьшению количества клеток, увеличению их объема и диаметра, причем наиболее токсичными были наночастицы оксида меди (15, 16).

В данной работе мы сравнили действие водных суспензий изучаемых наночастиц на различных клеточных культурах, как диплоидных, так и перевиваемых. В таблице 1 приведены экспериментальные данные цитотоксического действия препаратов наночастиц оксидов меди и железа на различные виды клеток. Приведенные данные позволяют сделать вывод, что в концентрации 1 мкг/мл наночастицы оксида меди более токсичны, чем наночастицы оксида железа в той же концентрации. Образец CuO в водной суспензии вызывал значительную гибель клеток в концентрациях вплоть до 1 мкг/мл, тогда как образец Fe₂O₃ – лишь до концентрации 125-500 мкг/мл. При этом наибольшее токсическое воздействие наночастицы оксида меди в концентрациях 1-8 мкг/мл оказывали на эмбриональные клетки и клетки тестикулов, что может свидетельствовать о потенциальной токсичности данных наночастиц для зародышей и половых клеток организма.

Эти результаты совпадают с аналогичными данными по тестированию нами препаратов данных наночастиц, приготовленных на культуральной среде 199 (14, 15), и согласуются с данными, полученными другими исследователями (3, 4, 5). Вместе с тем отметим, что в упомянутых работах тестирование проводили на других линиях клеток. В работе Брэйди-Столле с соавт. (3) изучали действие наночастиц на культивируемые сперматогонии мыши. В работе Бруннера с соавт. (4) исследовали действие наночастиц на культивируемые клетки мезотелиомы человека и фибробласты грызунов. В работе Вэй с соавт. (5) использовали клетки гепатомы человека (human hepatoma BEL-7402 cells).

Первым этапом работы с использованием метода электронной микроскопии негативного контрастирования были исследованы суспензии наночастиц Fe₂O₃ в концентрации 100 мкг/мл.

На рис. 1 А наночастицы Fe₂O₃ представлены несколькими видами частиц: в виде крупных треугольников, прямоугольников размером от 400-500 нм до 600 нм и в виде скоплений мелких частиц и зерен.

Таблица 1.

**Определение влияния препаратов наночастиц окислов металлов на
жизнеспособность клеток с помощью МТТ-метода**

Оптическая плотность при длине волны 545 нм												
Нано части цы мкг/мл	Диплоидные культуры						Перевиваемые культуры					
	ФЭК		Т.Я.		ФЭЧ-Т		Vero		ВНК-21		A549	
	CuO	Fe ₂ O ₃	CuO	Fe ₂ O ₃	CuO	Fe ₂ O ₃	CuO	Fe ₂ O ₃	CuO	Fe ₂ O ₃	CuO	Fe ₂ O ₃
500	0	0	0	0.227 ±0.09	0	0.127 ±0.02	0	0.162 ±0.02	0	0.618 ±0.1	0	0
250	0	0.155 ±0.04	0	0.231 ±0.02	0	0.186 ±0.02	0	0.221 ±0.03	0	1.019 ±0.2	0	0.23 ±0.01
125	0	0.187 ±0.01	0	0.278 ±0.01	0	0.215 ±0.03	0	0.266 ±0.06	0	1.087 ±0.2	0	0.242 ±0.09
62.5	0	0.211 ±0.05	0	0.302 ±0.06	0	0.242 ±0.01	0	0.331 ±0.06	0.243 ±0.09	1.15 ±0.09	0	0.314 ±0.04
31.25	0	0.213 ±0.06	0.108 ±0.02	0.313 ±0.03	0	0.210 ±0.05	0	0.366 ±0.05	0.481 ±0.02	1.19 ±0.07	0	0.329 ±0.04
15.625	0	0.252 ±0.06	0.144 ±0.04	0.320 ±0.03	0.1 ±0.0 1	0.273 ±0.05	0	0.332 ±0.06	0.783 ±0.01	1.263 ±0.15	0.184 ±0.01	0.348 ±0.03
7.8125	0	0.250 ±0.02	0.184 ±0.09	0.310 ±0.01	0.145 ±0.0 3	0.247 ±0.02	0.143 ±0.02	0.358 ±0.07	0.896 ±0.08	1.276 ±0.07	0.314 ±0.01	0.345 ±0.01
3.9063	0	0.258 ±0.03	0.213 ±0.06	0.314 ±0.01	0.169 ±0.0 1	0.235 ±0.03	0.174 ±0.02	0.350 ±0.03	0.992 ±0.2	1.226 ±0.07	0.344 ±0.02	0.351 ±0.04
1.9531	0.136 ±0.05	0.260 ±0.03	0.264 ±0.04	0.311 ±0.01	0.169 ±0.0 1	0.258 ±0.01	0.21 ±0.05	0.414 ±0.03	1.135 ±0.09	1.245 ±0.06	0.340 ±0.02	0.345 ±0.01
0.9766	0.194 ±0.06	0.264 ±0.02	0.269 ±0.03	0.295 ±0.03	0.17 ±0.0 1	0.245 ±0.03	0.276 ±0.02	0.350 ±0.06	1.177 ±0.2	1.262 ±0.03	0.342 ±0.02	0.340 ±0.07
0.4883	0.222 ±0.2	0.260 ±0.02	0.304 ±0.1	0.300 ±0.02	0.171 ±0.0 1	0.274 ±0.02	0.313 ±0.2	0.386 ±0.07	1.229 ±0.09	1.262 ±0.02	0.350 ±0.02	0.342 ±0.02
0.2441	0.242 ±0.2	0.260 ±0.02	0.300 ±0.02	0.303 ±0.05	0.228 ±0.0 6	0.3 ±0.05	0.320 ±0.02	0.351 ±0.05	1.243 ±0.2	1.3 ±0.07	0.346 ±0.02	0.343 ±0.01
Контр. клетки	0.248±0.07		0.258±0.09		0.249±0.05		0.375±0.06		1.089±0.13		0.333±0.06	

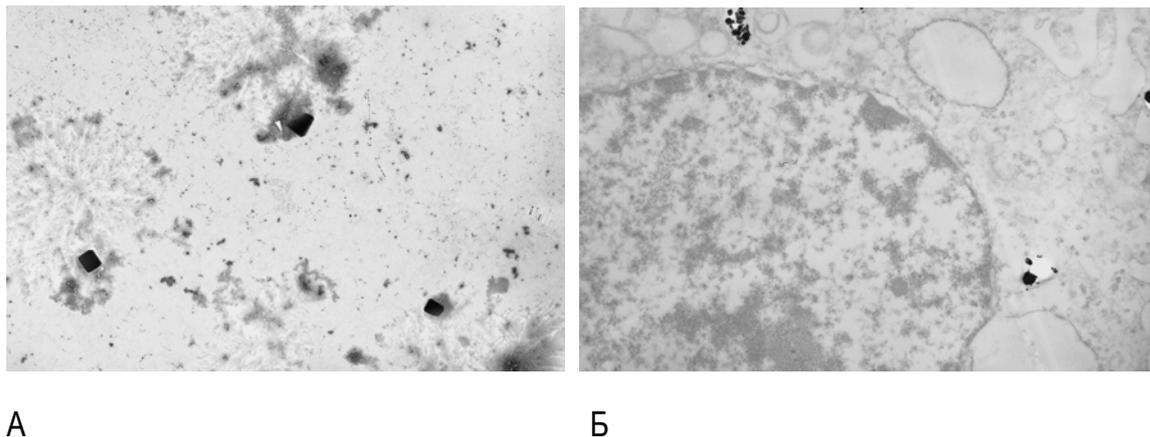


Рис. 1 – Электронные микрофотографии. Увеличение 50000х.

А – электронная микрофотография наночастиц Fe_2O_3 . Метод негативного контрастирования. Видны крупные частицы размером 400 нм, мелкие - 50-70 нм;

Б – ультратонкий срез клетки ФЭЧ-Т, сокультивированной с суспензией наночастиц Fe_2O_3 . Скопление наночастиц Fe_2O_3 в вакуолях клетки.

При исследовании клеток ФЭЧ-Т после культивирования с наночастицами Fe_2O_3 в концентрации 100 мкг/мл отдельные гранулы и скопление наночастиц размером 50-70 нм были обнаружены в различных частях цитоплазмы, в основном у поверхности плазматической мембраны клетки и во внутриклеточных вакуолях. Патологическое состояние плазматической мембраны характеризовалось процессом клазматоза. Ядра клеток были увеличены, но не содержали наночастиц. Наблюдалось расширение перинуклеарного пространства и многочисленные вакуоли в цитоплазме клеток (рис.1 Б). Аналогичные данные были получены Вэй с соавт. (5).

В исследованиях *in vitro* воздействия наночастиц металлов на особенности экспрессии генов цитокинов нами было показано, что в клетках ФЭЧ-Т под действием наночастиц CuO и Fe_2O_3 не происходило активации экспрессии генов ИФН- β , ИФН- $\lambda 1$, ИФН- $\lambda 2$, ИЛ-4, ИЛ-12, ИЛ-17 а также не изменялась активность присутствующей мРНК ИЛ-8 (табл. 2, рис. 2). Отмечено, что наночастицы CuO в концентрации 0,25 мкг/мл подавляли экспрессию гена ИФН- $\lambda 3$ (ИФН III-типа, сходный по антивирусным свойствам с ИФН- α) (17). При этом в данной концентрации этот препарат способствовал активации транскрипции ИЛ-18, продуцируемого в условиях организма моноцитами/макрофагами и участвующего в синтезе ИФН- α . При разведении препарата до 0,1 мкг/мл в клетках была отмечена активация экспрессии генов ИЛ-2, ИЛ-6, ИФН- α , в условиях организма являющихся показателями функциональной активности Th1 и Th17 (18).

Таблица 2.

Изменение экспрессии генов цитокинов в клетках ФЭЧ-Т под действием наночастиц окислов металлов

Препараты	Наличие (+) или (-) отсутствие мРНК цитокинов						
	ИФН- γ	ИЛ-1 β	ИЛ-2	ИЛ-6	ИЛ-10	ИЛ-18	ФНО- α
CuO 0.25 мкг/мл	-	-	-	-	-	+	-
CuO 0.1 мкг/мл	-	-	+	+	-	-	+
Fe ₂ O ₃ 30 мкг/мл	-	-	-	+	-	-	-
Fe ₂ O ₃ 1 мкг/мл	+	+	+	+	+	-	+
К.кл.	-	-	-	-	-	-	-

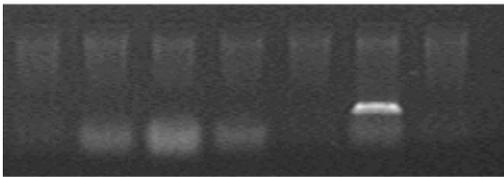
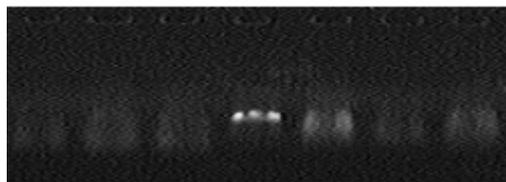
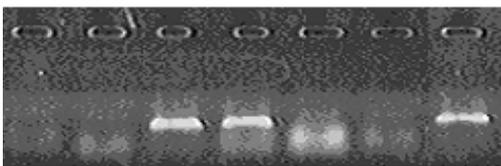
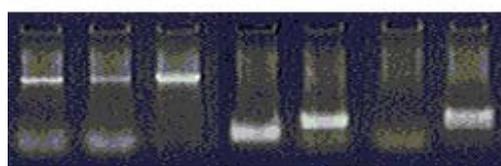
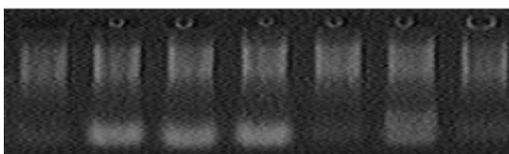
CuO 0.25 мкг/мл γ 1 β 2 6 10 18 TNF α **Fe₂O₃ 30 мкг/мл** γ 1 β 2 6 10 18 TNF α **CuO 0.1 мкг/мл** γ 1 β 2 6 10 18 TNF α **Fe₂O₃ 1 мкг/мл** γ 1 β 2 6 10 18 TNF α **Контроль** γ 1 β 2 6 10 18 TNF α 

Рис. 2. Экспрессия генов цитокинов в клетках ФЭЧ-Т под действием наночастиц окислов металлов. Фотография-гель документирования.

Показано, что наночастицы Fe_2O_3 в концентрации 1 мкг/мл активировали в клетках ИФН- α и ИЛ-2, обуславливающих у человека и животных клеточный иммунитет, а также ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-10 и ФНО- α . Следует отметить, что ИЛ-10 является противовоспалительным цитокином, участвующим в выработке антител и продуцируемых Трег лимфоцитами. Эти клетки в организме экспрессируют FOXP3 - транскрипционный фактор, регулирующий транскрипцию генов, ответственных за дифференцировку Т-клеток и экспрессию цитокинов и других факторов, участвующих в супрессии иммунного ответа. Для регуляции иммунного ответа Трег клетки выделяют цитокины ИФН- α , ИЛ-10, TGF- β , ИЛ-35.

Известно, что Т-хелперы (Th0) могут дифференцироваться в направлении Th17 под воздействием ИЛ-1 β , ИЛ-6, TGF β , ИЛ-23. Эти цитокины активируют экспрессию транскрипционного фактора ROR- α , выполняющего ключевую роль в реализации программы дифференцировки Th17. Эти клетки характеризуются экспрессией генов ИЛ-6, ФНО- α , ИЛ-17, ИЛ-22 и принимают участие в защите от внеклеточных патогенов и в регуляции противоопухолевого иммунитета. Доказано, что Th17 ассоциированы с различными аутоиммунными процессами и с аллергическими реакциями (19, 20, 21, 22).

В наших экспериментах показано, что наночастицы Fe_2O_3 активировали транскрипцию генов ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α , участвующих в синтезе ИЛ-17. При этом мРНК ИЛ-17 не экспрессировалась в клетках. Возможно, этот процесс происходил позднее срока наблюдения. Исходя из данных, полученных *in vitro*, можно предположить, что в субтоксических концентрациях наночастицы Fe_2O_3 в условиях организма будут способны активировать Th1, Th17 и Трег лимфоциты, тогда как наночастицы CuO в субтоксических концентрациях, вероятно, можно будет использовать для регуляции функции макрофагального звена иммунитета. Наши исследования являются первыми шагами, показывающими перспективность использования препаратов на основе наночастиц окислов железа и меди для коррекции различных иммунопатологических состояний.

Список литературы

1. De Stefano D., Carnuccio R., Maiuri M.C. Nanomaterials toxicity and cell death modalities. Journal of drug delivery, 2012:167896. doi:10.1155/2012/167896.
2. Ostroumov S.A., Kotelevtsev S.V., Glaser V.M., Gorshkova O.M., Johnson M.E., Ermakov V.V., Jovanovic L., Kamnev A.N., Krupina M.V., Lopatina O.A., Matorin D.N., Orlov S.N., Podchernyaeva R. Ya., Poklonov V.A., Sadchikov A.P., E.A. Solomonova E.A., Suetina I. A., Tyson J. F., Sadchikov A.P., Sheleykovsky V.L., Shestakova T.V., Smurov A.V., Xing B. New experimental data on chemical-biotic interactions with participation of nanoparticles and metals.

Биогеохимия и биохимия микроэлементов в условиях техногенеза биосферы. М.: ГЕОХИ. 2013: 450-453.

3. **Braydich-Stolle L., Hussain S., Schlager J. J. and Hofmann M. C.** *In Vitro* cytotoxicity of nanoparticles in mammalian germline stem cells. *Toxicological Sciences*, 2005, 88, (2): 412-419.

4. **Brunner T. J., Wick P., Manser P., Spohn P., Grass R. N., Limbach L. K., Bruinink A., and Stark W. J.** *In Vitro* cytotoxicity of oxide nanoparticles: comparison to asbestos, silica, and the effect of particle solubility. *Environ. Sci. Technol.* 2006, 40, (14): 4374–4381.

5. **Wei K., Xu X., Pu X., Hou Z., Zhang Q.** Cytotoxic effects and the mechanism of three types of magnetic nanoparticles on human hepatoma BEL-7402 cells. *Nanoscale Res. Lett.* 2011, doi:10.1186/1556-276X-6-480.

6. **Connor E. E., Mwamuka J., Gole A., Murphy C. J., Wyatt M. D.** Gold nanoparticles are taken up by human cells but do not cause acute cytotoxicity. *Small*, 2005, 1, (3): 325–327.

7. **Monopoli M.P., Aberg C., Salvati A., Dawson K.A.** Biomolecular coronas provide the biological identity of nanosized materials. *Nat. Nanotechnol.* 2012, 7: 779–786.

8. **Casals E., Pfaller T., Duschl A., Oostingh G.J., Puentes V.** Hardening of the nanoparticle-protein corona in metal (Au, Ag) and oxide (Fe₃O₄, CoO, and CeO₂) nanoparticles. *Small*, 2011, 7, (24): 3479–3486.

9. **Харбиев Р.У.** Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Медицина. 2005, 832 с.

10. **Подчерняева Р.Я., Суетина И.А., Лопатина О.А., Остроумов С. А.** Оценка токсичности наночастиц окислов меди и железа на культуре клеток: анализ гистограмм, получаемых автоматическим счетчиком клеток SCEPTER. «Наноматериалы и нанотехнологии в живых системах. Безопасность и наномедицина» М.: РОСНАНО. 2011: 91-92.

11. **Chomezynski P., Sacchi N.** Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem.* 1987, 162: 156-159.

12. **Gelder C.M., Thomas P.S., Yates D.H., Adcock I.M., Morrison J.F.J., Barnes P.** Cytokine expression in normal, atopic and asthmatic subject using the combination of sputum induction and the polymerase chain reaction. *Thorax*, 1995, 50:1033-1037.

13. **Lin Y., Zhang M., Barnes P.F.** Chemokine production by human alveolar epithelial cell line in response by *Mycobacterium tuberculosis*. *Infection and Immunity*. 1998, 66 (3): 1121-1126.

14. **Mezentseva M.V., Suetina I.A., Russu L.I., Firsova E.L., Gushhina E.A.** Effect of Single-walled Carbon Nanotubes on Biological Properties of the cell Cultures of Human Embryonic Fibroblasts. 3rd International Scientific and Practical Conference “Science and Society” ISPC, 2013, 3: 175-184.

15. **Подчерняева Р.Я., Суетина И.А., Лопатина О.А., Остроумов С.А.** Микроэлементы в форме наночастиц и патология клеток человека: воздействие препаратов наночастиц окислов меди и железа на пролиферацию клеток. *Фундаментальные и инновационные аспекты биогеохимии. Материалы VII Международной биогеохимической школы.* М.: ГЕОХИ. 2011: 260-263.

16. **Суетина И.А., Подчерняева Р.Я., Гущина Е.А., Лопатина О.А., Поклонов В.А., Остроумов С.А.** Использование клеточных технологий для оценки токсичности наночастиц окислов металлов. *Фармацевтические и медицинские биотехнологии, Материалы международной научно практической конференции М.: Экспо-биохим-технологии, РХГУ им. Д.И.Менделеева.* 2012:134-135.

17. **Vilcek J.** Novel interferons. *Nat. Immunol.*, 2003, 4, (1): 8–9.

18. **Bettelli E, Korn T, Kuchroo VK.** Th17: the third member of the effector T cell trilogy. *Curr. Opin. Immunol.* 2007, 19 (6): 652–657.

19. **Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR, Turner H, Murphy TL, Murphy KM, Weaver CT.** Interleukin 17-producing CD4+ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nat. Immunol.* 2005, 6(11): 1123–1132.
20. **Reiner SL.** Development in motion: helper T cells at work. *Cell*, 2007, 129(1): 33–36.
21. **Stockinger B., Veldhoen M.** Differentiation and function of Th17 T cells. *Curr. Opin. Immunol.*, 2007, 19 (3): 281-286.
22. **Weaver CT, Harrington LE, Mangan PR, Gavrieli M, Murphy KM.** Th17: an effector CD4 T cell lineage with regulatory T cell ties. *Immunity*, 2006, 24 (6): 677–688.

Представленная ниже статья В.П. Пащенко является историческим экскурсом к исследованиям 80-х – начала 90-х годов 20-го века, посвященным использованию тканевых и клеточных культур человека с целью уточнения диагнозов и прогнозирования исходов некоторых заболеваний. Полагаем, что статья будет интересна для исследователей в области клеточной биологии и медицины, а также студентов и аспирантов биологических факультетов и медицинских вузов.

Члены ред. коллегии сб. «Клеточные культуры».

ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ТКАНЕВЫХ И КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

В.П. Пащенко

Северный государственный медицинский университет, Архангельск

paschenkow@mail.ru

В статье представлены результаты исследования морфофункциональных характеристик тканевых культур фрагментов слизистых бронхов, полученных при бронхоскопии больных хроническими заболеваниями бронхов и легких, а также культур тканей фрагментов почек урологических больных. Оценивалась площадь зоны роста тканей, число выросших клеток, митотическая активность, патологические митозы и число аномальных клеток. Полученные данные позволили уточнить диагнозы и прогнозы исхода хронических заболеваний бронхов и легких и оценить репаративный потенциал клеток тканей почек, что имело значение при выборе тактики лечения больных.