Направленный транспорт лекарственных средств и лечебные физические факторы

В.С. УЛАЩИК

ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», ул. Академическая, 28, Минск, Беларусь, 220072

The targeted transport of the medicinal substances and the therapeutic physical factors

V.S. ULASHCHIK

Institute of Physiology, Belarus National Academy of Sciences, ul. Akademicheskaya, 28, Minsk, Republic of Belarus, 220072

В обзоре приведено описание существующих систем направленного транспорта лекарственных средств в органы-мишени. Представлены данные об использовании белковых векторов, наночастиц, искусственных и естественных контейнеров в адресной доставке лекарственных препаратов. Рассмотрены возможности применения физических факторов в направленном транспорте лекарств.

Ключевые слова: лекарственные препараты, направленный транспорт, наночастицы, физические факторы.

The present review describes the existing systems for the directed transport of the medicines to the target organs. The article presents the data on the use of the protein vectors, nanoparticles, artificial and natural containers for the targeted delivery of the pharmaceutical products. The potential applications of the physical factors for the directed transport of medicinal substances are considered.

Key words: medicinal substances, targeted transport, nanoparticles, physical factors.

Одной из актуальных проблем современной медицины и фармакологии является низкая селективность лекарственных средств. Вводимые в организм традиционными способами лекарства распределяются в нем относительно равномерно, проникая в различные органы и ткани [1, 2]. Согласно имеющимся сведениям [3], лишь 1% введенной дозы попадает в клетки-мишени. В силу этого лекарственное вещество достигает своих биологических мишеней в концентрации, значительно меньшей по сравнению с необходимой терапевтической, что вынуждает использовать дозы, которые превышают теоретически необходимые. Остальное количество препарата, поступившего в нецелевые органы и ткани, нередко вызывает побочные реакции.

Более перспективным подходом к решению этой проблемы является создание систем направленного транспорта лекарств [4—7]. Реализация целенаправленного концентрирования лекарственных препаратов преимущественно в зоне патологического очага позволяет резко снизить нежелательные реакции организма на медикаментозное воздействие, уменьшить терапевтическую дозировку лекарства и кратность его введения.

© В.С. Улащик, 2014

Лекарства, снабженные системой доставки, имеют ряд преимуществ по сравнению со свободными препаратами: повышается растворимость гидрофобных лекарств; улучшается их проникновение в клетки; улучшается фармакокинетика; у лекарств появляется способность преодолевать мембранные и гематоэнцефалический барьеры; пролонгируется действие лекарственных средств; обеспечивается необходимая биосовместимость и защита от преждевременной деградации; осуществляются направленный транспорт и контролируемое высвобождение лекарств и др. [7, 8].

Обзору современных транспортных систем лекарственных средств и роли в них лечебных физических факторов посвящена настоящая статья.

Способы и системы направленного транспорта лекарственных веществ

Сегодня можно говорить о нескольких направлениях, обеспечивающих различной степени избирательность доставки лекарств к целевой области. Наиболее простым и доступным является регионар-

Сведения об авторе:

Улащик Владимир Сергеевич — д.м.н., проф., г.н.с. Института физиологии НАН Беларуси; тел.: 375(17)332-1600; e-mail: biblio@fizio.bas-net.by

ное (местное) введение фармакологических препаратов. К этому направлению могут быть отнесены следующие методы (способы):

— внутрисуставное введение лекарственных веществ при заболеваниях опорно-двигательного аппарата;

— введение противоопухолевых препаратов в сосуд, питающий опухоль;

— внутрикоронарное введение тромболитических ферментов при терапии вызванного тромбозом инфаркта миокарда;

— введение цитостатиков в ложе опухоли во время операции при внутримозговых опухолях;

— ингаляции лекарств при бронхолегочных заболеваниях;

— спинномозговые блокады при патологии позвоночника с болевым синдромом;

— введение в полость гнойника растворов противомикробных средств, ферментов и других препаратов;

— применение лекарств в глаз (в конъюнктивальный мешок) в офтальмологии;

— нанесение на кожу лекарственных препаратов в виде мазей, пластырей, примочек при кожных заболеваниях;

— субдуральное и субарахноидальное введение лекарств при заболеваниях центральной нервной системы и др. [1, 2, 5].

Как показывают многочисленные клинические наблюдения, применение местного введения лекарственных средств эффективнее их системного использования. Однако данный подход не всегда оказывается достаточно эффективным и применим далеко не при всех заболеваниях.

Расширению возможностей этого направления и повышению эффективности его методов способствует применение некоторых физиотерапевтических факторов. Здесь прежде всего следует назвать внутритканевой электрофорез. Суть метода состоит в том, что лекарственное вещество вводится в организм одним из общепринятых способов, а затем проводится поперечное воздействие постоянным непрерывным током на ту область тела, где необходимо максимально локализовать действие препарата [9, 10]. Электрофорез по глазнично-затылочной и назальной методикам способствует направленному введению лекарств в мозг [10, 11]. В ряде наших исследований показано, что предварительное воздействие некоторыми физическими факторами (ультразвук, магнитное поле, микроволны, лазерное излучение, тепловые воздействия) способствует усиленному поступлению лекарств в ткани зоны применения физиотерапевтической процедуры [12]. Повышение локальной концентрации лекарственных веществ отмечается также при проведении ультрафонофореза, магнитофонофореза и лазерофореза [10, 11].

Для направленного транспорта лекарств пытаются использовать конъюгацию с молекулами (векторами), обладающими тропностью к определенным тканям, клеткам или субклеточным структурам. Конъюгация лекарственного препарата с вектором, например белком, осуществляется с помощью химической сшивки, в простейшем случае за счет дисульфидной или тиоэфирной связи либо путем применения полиэтиленгликолевого или пептидного линкера [5]. Этот подход наиболее активно исследуют в онкологии. Так конъюгат α-фетопротеина, обладающего сродством к поверхности раковых клеток, с цитотоксическими антибиотиками (доксорубицин, карминомицин) позволил существенно увеличить их онкоцидную активность в эксперименте на мышах с перевивными опухолями [13]. Были также созданы и изучены конъюгаты α-фетопротеина с фталоцианинами, хлоринами, винкристином и винбластином, продемонстрировано значительное увеличение их цитотоксической активности в отношении различных линий опухолевых клеток [14]. Трансферрин в качестве вектора использован в отношении как противоопухолевых антибиотиков (доксорубицин, даунорубицин), так и белкового токсина — рицина [15]. Для доставки лекарств к опухолевым клеткам молочной железы, яичников и предстательной железы, имеющим на своей поверхности повышенное количество LHRH-рецепторов, предложено использовать пептидный гормон гонадолиберин [16]. Положительные результаты получены также при использовании конъюгатов эпидермального фактора роста и его рецепторсвязывающего фермента с противоопухолевыми препаратами [14, 17—19]. В качестве альтернативного подхода могут быть рассмотрены результаты разработки препаратов направленного действия в виде конъюгатов α-фетопротеина с антисмысловыми олигонуклеотидами (АСОН) к мРНК генов, играющих ключевую роль в регуляции клеточной пролиферации и апоптоза. Экспериментальные исследования по использованию АСОН для ингибирования трансляции мРНК генов, гиперэкспрессия которых приводит к опухолевой трансформации, продемонстрировали их высокую специфичность в отношении своих мишеней [20, 21].

В качестве векторов изучают применение моноклональных антител (МКА) к различным рецепторам на поверхности клеток, прежде всего раковых (трансферриновые рецепторы, рецепторы фактора роста эпителия, СД-рецепторы и др. [22, 23]. МКА чаще используются для векторизации не собственно лекарственных веществ, а различных наночастиц, транспортирующих лекарства.

Из многих способов направленного транспорта лекарственных средств наиболее реальным на данный момент представляется использование в качестве транспортного средства форменных элементов

крови. Методы, основанные на использовании клеток крови для модификации их свойств с целью создания внутриклеточного депо препарата и осуществления направленного транспорта, объединены под общим названием «экстракорпоральная фармакотерапия». Клетки крови, нагруженные лекарственным веществом, обозначают термином «фармакоциты». В качестве фармакоцитов используют эритроциты, лейкоциты и тромбоциты, обладающие различными транспортным потенциалом и тропностью. Эти системы доставки лекарств наиболее выгодны с точки зрения их биологической совместимости [24].

С позиции экстракорпоральной фармакотерапии предпочтение отдается использованию в адресном транспорте лекарств эритроцитов — наиболее многочисленных клеток крови с рядом значимых морфологических, физико-химических и физиологических характеристик. Можно указать на следующие их достоинства как переносчиков лекарственных средств: высокая степень биологической совместимости, особенно при использовании аутологичных клеток; длительность циркуляции в кровотоке, значительно превышающая аналогичные показатели для искусственных транспортеров; способность к биологической гибели и как следствие отсутствие токсичных для организма продуктов деградации; возможность переноса широкого спектра фармакологических препаратов; относительно инертная внутриклеточная среда, защищающая транспортируемое лекарство от инактивации эндогенными факторами; простота получения из крови в достаточном для транспорта терапевтической дозы лекарства количестве [25].

Терапевтический эффект лекарственного вещества, заключенного в эритроцит, реализуется благодаря захвату и лизированию последнего преимущественно макрофагами селезенки и печени, созданию в этих органах высоких локальных концентраций препарата [24]. Как правило, эритроциты с минимальным уровнем повреждений разрушаются селезенкой, а значительно поврежденные — печенью [26]. С помощью эритроцитов обеспечивается транспорт лекарственных веществ и в ткани легких [27].

Включение лекарственных препаратов в эритроциты осуществляется различными способами, среди которых самым распространенным является гипоосмотический метод. При его использовании эритроциты помещают в солевой раствор с пониженной ионной силой, в котором у них образуются поры, через которые подлежащие включению вещества проникают внутрь клетки [25, 26]. Для загрузки лекарственных препаратов в эритроциты могут использоваться физические факторы, а также химические агенты, являющиеся индукторами эндоцитоза [5].

Высвобождение фармакологических препаратов из эритроцитарных носителей также осуществляется различными путями: простая диффузия, активный транспорт и разрушение клеточных носителей [24, 26].

Для иллюстрации приведем несколько работ, в которых эритроциты использовались как система для направленного транспорта лекарственных средств. В одной из них сообщается о применении антигипоксантов и ингибиторов протеолиза в эритроцитарных контейнерах при комплексной терапии гепаторенального синдрома, способствовавшем в 1,5—2,0 раза более быстрому купированию проявлений гепато- и нефропатий по сравнению с традиционным лечением заболевания [28]. Для коррекции иммунитета предложено использовать связывание эритроцитами тимических пептидов и глюкокортикоидных гормонов [29]. В онкогематологии предложено применять эритроциты для переноса L-аспарагиназы, которая при введении в кровь вызывает гибель аспарагинзависимых лейкозных клеток [26]. Такие препараты как андромицин, блеомицин, метотрексат, введенные в строму эритроцитов, хорошо себя зарекомендовали при лечении опухолей печени [5]. Обосновано применение направленного транспорта канамицина в «тенях» эритроцита для лечения гнойно-воспалительных заболеваний желчных путей и показана его большая эффективность по сравнению с традиционным внутривенным введением препарата [30].

Другим направлением в экстракорпоральной фармакотерапии является использование аутолейкоцитов, получаемых методом цитофереза. Действие лейкоцитарных носителей осуществляется таким образом: после насыщения лекарственными веществами и возврата в кровеносное русло лейкоциты за счет хемотаксиса мигрируют преимущественно в очаг воспаления, где путем стимулированного экзоцитоза или после своего разрушения высвобождают лекарственный препарат [31]. В одной из работ показано, что применение направленного транспорта антибиотиков в аутологичных лейкоцитах при лечении больных острыми воспалительными заболеваниями почек позволяет значительно уменьшить частоту гнойно-септических осложнений, сократить длительность пребывания в стационаре [32]. Успешно использованы лейкоциты в качестве естественного носителя цефтазидима при лечении пациентов с тяжелыми формами пневмонии. Применение этого метода сопровождалось достоверным снижением сроков госпитализации, летальности, а также урежением развития пневмоний [33]. Делаются успешные попытки использовать для направленного транспорта антибиотиков аутогенной клеточной массы крови, получаемой в ходе плазмофереза [31, 34].

Проводится изучение использования тромбоцитов в качестве контейнеров-переносчиков лекарственных средств. В частности, этот подход с успехом применен при лечении пациентов с облитерирующим заболеванием нижних конечностей [5]. Этот выбор основывался на том, что кровяные пластинки обладают повышенной тропностью к эндотелию, поврежденному атеросклеротическим процессом.

А.А. Тепловым [35] предложено использовать для направленного транспорта биологически активных веществ и лекарственных препаратов стволовые клетки, получаемые из костного мозга, периферической и пуповинной крови или жировой ткани. Им показано, что частицы фторуглеродной эмульсии, содержащей биологически активные вещества (инсулин, фактор некроза опухоли, ронлейкин, антибиотики, ацикловир и др.) проникают внутрь стволовых клеток. Согласно исследованиям на мышах со спонтанным раком молочной железы, более 30% вводимых стволовых клеток накапливалось в опухолевой ткани. Опыты с авастином показали, что высвобождаемый из стволовых клеток препарат оказывает специфическое терапевтическое действие. Учитывая сложную биологию стволовых клеток, их использование для направленного транспорта лекарственных веществ требует дальнейшего изучения.

В качестве транспортного средства в медицине и ветеринарии, прежде всего в генной терапии, предлагается использовать вирусные частицы. Вирусные частицы — это белковые структуры, основанные на вирусных капсидах, размеры которых лежат в нанометровом диапазоне. Они могут представлять собой непосредственно вирусные частицы, содержащие молекулы нуклеиновой кислоты и являющиеся способными к инфицированию, либо вирусоподобные частицы, представляющие собой только белковый вирусный капсид, не несущие нуклеиновой кислоты и являющиеся не способными к инфицированию [36].

Применение наночастиц на основе вирусов (ВНЧ) имеет ряд существенных особенностей по сравнению с другими транспортными носителями:

1. Вирусные частицы каждого определенного вируса обладают регулярной структурой и характеризуются одинаковыми размерами, а свойства поверхности многих вирусов хорошо изучены или могут быть исследованы доступными средствами.

2. Поверхность вирусного капсида является поливалентной, т.е. содержит множество сайтов, доступных для модификации.

3. ВНЧ в высокой степени стабильны и устойчивы ко многим физическим и химическим воздействиям.

4. ВНЧ являются природными наноматериалами, что делает их биоразлагаемыми и биосовместимыми.

5. В случае ВНЧ легко вносить изменения в белки капсида путем модификации генетического материала.

6. Доступны методы получения значительных количеств ВНЧ в течение короткого времени с невысокими финансовыми затратами [36].

В настоящее время ВНЧ исследуются в качестве носителей для вакцинных препаратов и мультифункциональных систем для терапии, главным образом, онкологических заболеваний, позволяющих осуществлять направленную доставку лекарственных препаратов, средств визуализации и фотодинамической терапии, контрастирующих агентов для магнитно-резонансных исследований и др. [36—38].

Наряду с несомненными достоинствами вирусные векторы имеют ряд существенных недостатков. Так, ретровирусные системы способны активизировать онкогены и блокировать опухолевые супрессорные гены в инфицированных клетках [39], а аденовирусные системы — продуцировать токсичные вирусные белки и вызывать сильную иммунную реакцию [40].

Широкие возможности и большие перспективы сулит использование для адресной доставки лекарств различных искусственных наноструктур (липосомы, мицеллы, микросферы, дендримеры, фуллерены, полимерные наночастицы и др.).

Прежде всего следует упомянуть о липосомах как контейнерах для транспорта лекарственных средств, так как пока только липосомальные препараты дошли до клинических испытаний и ряд из них лицензирован [3, 7, 41—43]. Липосомы представляют собой концентрические пузырьки, стенки которых образованы двухслойной липидной мембраной, состоящей преимущественно из природных фосфолипидов. Они нетоксичны, биодеградируемы, обеспечивают защиту заключенных в них веществ и их постепенное высвобождение, при определенных условиях поглощаются клетками, их мембрана может сливаться с клеточной мембраной, что приводит к внутриклеточной доставке содержимого липосом [43]. Липосомы могут служить в качестве переносчиков как для гидрофильных, так и для гидрофобных веществ. Лекарственное вещество может находиться либо во внутреннем пространстве липосомы, если оно водорастворимо, либо в липидной оболочке, если оно жирорастворимо.

Липосомы сегодня используются в качестве носителей для противораковых, противотуберкулезных и противогрибковых препаратов, а также для доставки вакцин [44—46]. Липосомы, сформированные катионными липидами, применяются для доставки терапевтических средств на основе нуклеиновых кислот (антисмысловые олигонуклеотиды,

аптамеры, векторы для генной терапии и др.) [36, 47]. Липосомальные препараты эффективны как при пассивном нацеливании, так и, особенно, при активном нацеливании. Для активного нацеливания на поверхности везикул находится направленный вектор (антитело, лиганд рецептора и др.).

Недостатками липосом как носителей лекарств являются их низкая стабильность, низкая эффективность инкапсуляции лекарственного вещества и высокая себестоимость [36].

Среди альтернативных липосомам систем наибольший интерес, по-видимому, вызывают полимерные наночастицы. Они представляют собой твердые частицы размером от 1 до 1000 нм, состоящие из полимеров как природного (альбумин, хитозан, альгинат), так и синтетического (полилактиды, полиакрилаты и др.) происхождения. Транспортируемые лекарственные вещества могут быть инкапсулированы, адсорбированы или присоединены ковалентной связью [3, 4]. Помимо высокой стабильности и емкости к достоинствам полимерных наночастиц следует отнести их способность связывать как гидрофобные, так и гидрофильные вещества, а также пригодность их для введения в организм различными способами, в том числе пероральным и ингаляционным [4].

При введении в организм лекарства высвобождаются из полимерных наночастиц путем диффузии и/или десорбции. Выделению их также способствует набухание полимерной матрицы, ее эрозия и деградация. Поскольку скорость деградации полимеров, используемых для получения наночастиц, варьирует в довольно широких пределах (от часов до нескольких месяцев), то применение полимерных наночастиц в качестве транспортных систем позволяет контролировать выделение активного ингредиента.

Попадая в кровоток, полимерные наночастицы быстро адсорбируют белки плазмы (опсонизация). Опсонизированные наночастицы распознаются системой мононуклеарных фагоцитов, которые выполняют функцию очистки крови от посторонних частиц. Захват наночастиц макрофагами (печени, селезенки, костного мозга) происходит путем эндоцитоза, после чего они попадают в лизосомы, где происходит их разрушение и высвобождение лекарственных веществ.

Для «снижения» узнаваемости наночастиц макрофагами и удлинения времени их нахождения в кровотоке поверхность наночастиц подвергают стерической стабилизации, создающей так называемый стелс-эффект (от англ. stealth — невидимый). Чаще всего для этой цели используют поверхностно-активные вещества. Теоретические и технологические принципы, лежащие в основе создания наночастиц типа «стелс», изложены в обзоре S. Moghimi и соавт. [48].

Наиболее значительная часть работ, посвященных исследованиям полимерных наночастиц в качестве систем доставки лекарств, относится к химиотерапии злокачественных новообразований. Результаты этих исследований обобщены в ряде обзоров [4, 14, 41, 49]. Используются они и для транспорта противотуберкулезных препаратов (рифампицин, изониазид, пиразинамид, стрептомицин и др.), эффективность которых доказана *in vitro* и *in vivo* [44]. Направленный транспорт лекарств с использованием полимерных наночастиц апробируется и в других областях клинической медицины [3, 4, 50, 51].

Наряду с пассивной доставкой лекарств, которая происходит в результате естественного биораспределения носителя и зависит от его физико-химических свойств и состояния мишени, полимерные наночастицы могут применяться и для активного транспорта фармакологических препаратов. Активный транспорт достигается за счет специфического взаимодействия лиганда (вектора) на поверхности наночастиц с соответствующими рецепторами, находящимися на поверхности клетки-мишени. В качестве векторов для полимерных наночастиц используют аполипопротеины, трансферрин, фолаты, интегрины и др. [3, 36, 42].

Для целевой доставки лекарств, биологически активных соединений и контрастирующих веществ используют и другие типы наночастиц [36, 42, 46, 48, 50, 52]:

а) мицеллы, представляющие собой амфифильные коллоидные структуры, образующиеся в водных растворах спонтанно из мономеров и заданных молекул лекарственного вещества при определенных условиях; используются в качестве носителей некоторых лекарств и контрастирующих агентов для визуализации;

б) дендримеры, в особенности фуллереновые дендримеры, являющиеся полимерами, обладающими четко упорядоченной симметричной древообразной структурой, представляющей собой регулярные ветвления, исходящие из центрального ядра; предложено их использование в качестве носителей молекул ДНК, антивирусных соединений, вакцин и противоопухолевых препаратов;

в) аквасомы, которые представляют собой наночастицы, центральная часть которых представлена неорганическим керамическим ядром, покрытым снаружи оболочкой, состоящей из сахаров либо других полигидроксильных олигомеров, создающих квазиводную среду; их применяют для доставки веществ белковой природы и вакцин;

г) наночастицы на основе неорганических веществ и металлов, прежде всего оксидов железа, золота, серебра и др.; находят применение, в частности, наносферы, образованные металлом-диэлектриком (например, покрытые золотом кварцевые

наносферы); наносферы предложены в качестве носителей для инсулина при лечении диабета, противоопухолевых средств и др.

Для направленного транспорта лекарств апробируют также и такие типы наночастиц, как углеродные нанотрубки, ниосомы, твердые липидные наночастицы, магнитные наночастицы.

Отдельного упоминания заслуживают модульные нанотраспортеры (МНТ), предназначенные прежде всего для доставки лекарств непосредственно внутрь клетки. МНТ являются рекомбинантными полипептидами, функциональные модули которых обеспечивают: 1) избирательное узнавание клетки-мишени с последующим эндоцитозом за счет лигандного модуля; 2) выход из эндосом в цитоплазму за счет эндосомолитического модуля; 3) транспорт в ядро за счет модуля с последовательностью ядерной локализации; 4) эффективное присоединение доставляемого лекарства, обеспечиваемое модулем-носителем [53].

На культуре клетки меланомы показано, что фотосенсибилизатор, конъюгированный с МНТ, на два порядка эффективнее по сравнению со свободным фотосенсибилизатором [54]. На животных с различными типами привитой меланомы установлено, что МНТ высокоизбирательно накапливается в опухоли и обеспечивает до 93% задержки ее роста и достоверное увеличение продолжительности жизни животных, пролеченных фотосенсибилизатором, конъюгированным с МНТ, по сравнению с пролеченными свободным фотосенсибилизатором [53]. Высокая эффективность этого метода продемонстрирована также при лечении мышей с привитой эпидермоидной карциномой человека. Было выявлено 98% ингибирование роста опухоли при доставке хлорина e_6 с помощью МНТ. Все нелеченые животные умерли к 24-му дню после прививки опухоли, тогда как после лечения фотосенсибилизатором, доставленным МНТ, 75% мышей-опухоленосителей выжили (в контроле, где применялась обычная методика фотодинамической терапии, выжили лишь 20% животных) [55]. Перспективность использования МНТ в фармакотерапии не вызывает сомнения, но их внедрение в практическую медицину требует еще продолжения исследований на других патологических моделях с применением различных компонентов модулей.

Таким образом, сегодня по многим направлениям ведется активный поиск средств для направленной доставки лекарств различных фармакотерапевтических групп, прежде всего для химиотерапии опухолей и инфекционных заболеваний. Некоторые из предложенных транспортных систем уже доведены до клинического использования. Однако огромное разнообразие биологических мишеней и фармакологических задач неизбежно будет требовать совершенствования известных и разработки новых систем доставки лекарств. Для повышения эффективности транспортных систем и устранения их нежелательных эффектов могут использоваться различные химические и физические воздействия.

Использование физических факторов в направленном транспорте лекарств

Как уже упоминалось, лечебные физические факторы могут самостоятельно использоваться для целевой доставки лекарств в определенные органы и ткани, а также для модификации естественного распределения лекарств, вводимых в организм общепринятыми способами. Наряду с этим, как нам представляется, они должны найти применение и для совершенствования различных систем направленного транспорта лекарств. О нескольких направлениях такого использования физических факторов можно говорить уже сегодня.

Прежде всего, по-видимому, речь должна идти о магнитных наночастицах, в использовании которых важная роль принадлежит физическим факторам, прежде всего магнитному полю. Материалом для получения этих наночастиц служат оксиды железа (Fe_3O_4 или γ-Fe_2O_3). Магнитные наночастицы имеют размеры от 15 до 75 нм и при их стабилизации сохраняются в течение 2—5 лет [56]. Основными преимуществами магнитных наночастиц является то, что они могут быть: визуализированы (при магнитно-резонансной томографии); направлены и удержаны в определенном месте с помощью внешнего магнитного поля; нагреты для инициации высвобождения переносимых ими лекарственных веществ [57].

Для транспорта лекарственных веществ магнитные наночастицы могут быть использованы самостоятельно или включены в состав других видов нанотранспортеров. Наиболее перспективным на данный момент считается использование с этой целью липосом, нагруженных магнитными наночастицами (магнитолипосомы) и лекарственными веществами. Магнитолипосомы обеспечивают стабильность магнитных наночастиц, возможность покрытия их поверхности специфическими лигандами (векторами) и защиту инкапсулированного в них лекарственного вещества [58]. В онкологии магнитные частицы могут быть дополнительно использованы для проведения магнитной гипертермии, что может быть положено в основу сочетанного метода противоопухолевой терапии [59]. С этой же целью могут быть использованы золотые наночастицы, для нагрева которых или высвобождения из них транспортируемых лекарственных веществ можно применить лазерное излучение инфракрасного диапазона [60].

Магнитные частицы, или магнитолипосомы, нагруженные лекарственным средством, избирательно накапливаются в опухоли или другой целевой зоне под действием внешнего магнитного поля,

сфокусированного на нужной области. Многие исследования подтвердили принципиальную возможность адресной доставки наночастиц с магнитными свойствами в определенные органы и ткани [61—63]. В частности, значительное накопление наночастиц в опухоли почки и внутренних органах кролика зафиксировано через 60 мин после внутриартериального введения раствора наночастиц и применения источника внешнего магнитного поля [64]. На экспериментальной модели остеосаркомы морских свинок продемонстрировано максимальное накопление наночастиц в ткани опухоли под действием магнитного поля через 60 мин после введения раствора магнитных наночастиц в яремную вену [65]. Ряд других исследований также свидетельствуют об эффективности управляемой доставки лекарств с помощью магнитных наночастиц и внешнего магнитного поля [66—68].

В последние годы для фотодинамической терапии начинают использовать фотосенсибилизаторы, доставляемые в опухоли или другие пролиферирующие ткани с помощью наночастиц [59]. Фотодинамический эффект при этом наблюдался при меньших интенсивностях лазерного излучения, чем при традиционных способах применения фотосенсибилизаторов [53—55]. В онкологии весьма перспективным может оказаться применение в качестве носителя фотосенсибилизатора фуллеренов, которые при фотооблучении генерируют синглетный кислород и проявляют противоопухолевое действие [8, 69]. Генератором синглетного кислорода являются и наночастицы пористого кремния [70].

Физические факторы могут использоваться и для улучшения инкапсулирования (связывания, адсорбции) лекарственных веществ системами направленного транспорта. Например, предварительное экспонирование эритроцитов и лейкоцитов в ультрафиолетовых лучах или магнитном поле усиливает иммуномодулирующую, гепатопротекторную и антиоксидантную активность полученных из них эритроцитарных и лейкоцитарных носителей с включенными антибиотиками (ампициллин, цефазолин) [71]. Для быстрейшего и большего включения в эритроциты фармакологических препаратов используется электропорация, осуществляемая путем помещения эритроцитов и лекарственного вещества в пульсирующее электрическое поле напряженностью до 20 кВ/см [5]. Превышение трансмембранного потенциала приводит к временному образованию пор в клеточной мембране, что существенно облегчает поступление лекарств в эритроцит [5]. Для повышения фиксации антибактериальных препаратов транспортными клеточными системами используют облучение их гелий-неоновым лазером длиной волны 633 нм [32].

В направленной доставке лекарственных веществ важным этапом является высвобождение их из транспортирующей системы. Для этого применяют различные способы, в том числе и воздействие лечебными физическими факторами. В работах J. West и соавт. [72, 73] описаны системы доставки лекарств на основе нанокапсул, покрытых диэлектрическим материалом (кремний, золото), высвобождение препарата из которых происходит после расплавления капсул под воздействием облучения. Показана возможность использования для лечения диабета нанокапсул с инсулином, чувствительных к инфракрасному облучению. Дозированное высвобождение инсулина происходит при нагревании кожи в месте введения наносфер [74]. Кварцевые капсулы с ферромагнитными частицами внутри, имеющие векторы к клеткам опухоли, концентрируются в них и активируются под воздействием импульсного магнитного поля при достижении опухолевых тканей [69, 75]. Активация таких нанотранспортных систем может происходить и при воздействии электрическими полями, рентгеновскими лучами или светом [75].

Для увеличения поступления наночастиц с лекарствами в ткани с низкой проницаемостью, а также для преодоления гистогематических барьеров также используют физические факторы — ультразвук, лазерное излучение, инфракрасные лучи [76]. Исследователи Калифорнийского университета в Сан-Диего (США) создали полимер, который разрушается под действием света (740 нм) и освобождает переносимые им лекарственные вещества.

Известны термочувствительные липосомы, состоящие из фосфолипидов с температурой фазового перехода выше, чем температура тела [77]. Например, препарат ThermoDax, применяемый в комплексе с нагревом токами высокой частоты, проходит клинические испытания при рецидивирующем раке молочной железы [78]. В РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАН разработана лиофилизированная термочувствительная липосомальная лекарственная форма доксорубицина с размером частиц 170±20 нм и эффективностью инкапсулирования препарата в везикулы 87—94% [41]. В доклинических испытаниях, проведенных на меланоме B_{16} и солидной карциноме Эрлиха, показано, что термолипосомальный доксорубицин в комбинации с локальной гипертермией (43 °С) обладает большей избирательностью действия по сравнению со свободным доксорубицином [41, 79]. Предложены также фоточувствительные липосомы, которые высвобождают содержащиеся в них лекарственные средства при воздействии ультрафиолетовыми лучами [80].

Будет уместным подчеркнуть, что в последние годы и в различных странах значительно повысился интерес к использованию лечебных физических факторов в нанотехнологиях, включая и направленный транспорт лекарственных веществ.

Заключение

Интенсивные исследования, проведенные в последнее десятилетие, позволили разработать многочисленные подходы к адресной доставке лекарственных веществ — от местного введения препаратов до их химической модификации и заключения в капсулы и оболочки. Среди них наибольшую известность получили транспортные системы, основанные на использовании наночастиц естественного и искусственного происхождения (липосомы, полимерные наночастицы, вирусные частицы, модульные нанотраспортеры и др.). Многие из них имеют хорошие клинические перспективы, прежде всего, снабженные специфическими векторами. Ряд транспортных систем чувствителен к действию физических факторов (магнитные поля, свет, ультразвук и др.), что открывает перспективы для использования последних на различных этапах направленного транспорта фармакологических препаратов. Необходимы дальнейшие целенаправленные исследования с участием различных специалистов, в том числе и физиотерапевтов, для создания новых и совершенствования разработанных транспортных систем лекарств, что откроет новые горизонты фармакотерапии не только онкологических, но и других распространенных заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Харкевич Д.А.* Фармакология. М.; 2013. 760 с.
2. *Кукес В.Г.*, ред. Клиническая фармакология. М.; 2006. 938 с.
3. *Каплун А.П., Безруков Д.А., Швец В.И.* Рациональный дизайн нано- и микроразмерных лекарственных форм биологически активных субстанций. Биотехнология. 2010; 6: 9—10.
4. *Гельперина С.Э., Швец В.И.* Системы доставки лекарственных веществ на основе полимерных наночастиц. Биотехнология. 2009; 3: 8—23.
5. *Ивонин А.Г., Пименов Е.В., Оборин В.А., Девришов Д.А., Копылов С.Н.* Направленный транспорт лекарственных препаратов: современное состояние и перспективы. Известия Коми НЦ УрО РАН. 2012; 9: 46—55.
6. *Аляутдин Р.Н.* Транспорт лекарственных веществ через гематоэнцефалический барьер: линия Мажино или волшебный сезам. Молекулярная медицина. 2012; 3: 3—12.
7. *Федотов Ю.А., Калмыков Ю.М., Шоболов Д.Л., Соснов А.В., Иванов Р.В., Балакин К.В.* Разработка систем доставки лекарственных средств с применением микро- и наночастиц. Качественная клиническая практика. 2008; 2: 4—12.
8. *Медведева Н.В., Ипатова О.М., Иванов Ю.Д., Дрожжин А.И., Арчаков А.И.* Нанобиотехнология и наномедицина. Биомедицинская химия. 2006; 52 (6): 529—46.
9. *Алексеенко А.В.* Внутритканевой электрофорез. Черновцы; 1991.
10. *Улащик В.С.* Электрофорез лекарственных веществ. Минск: Беларуская навука; 2010. 404 с.
11. Улащик В.С., Пономаренко Г.Н. Лекарственный электрофорез. СПб.; 2010. 288 с.
12. *Улащик В.С.* Физиофармакотерапия как направление в лечении, профилактике и реабилитации. Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. 2013; 3: 3—10.
13. *Lutsenko S.V., Feldman N.B., Finakova G.V., Gukasova N.V., Petukhov S.P., Posypanova G.A., Skryabin K.G., Severin S.E.* Antitumor activity of alpha fetoprotein and epidermal growth factor conjugates in vitro and in vivo. Tumour Biol. 2000; 21 (6): 367—74.
14. *Северин Е.С., Родина А.В.* Проблемы и перспективы современной противоопухолевой терапии. Успехи биологической химии. 2006; 46: 43—64.
15. *Qian Z.M., Li H., Sun H., Ho K.* Targeted drug delivery via the transferrin receptor-mediated endocytosis pathway. Pharmacol. Rev. 2002; 54 (4): 561—87.
16. *Dharap S.S., Wang Y., Chandna P., Khandare J.J., Qiu B., Gunaseelan S., Sinko P.J., Stein S., Farmanfarmaian A., Minko T.* Tumor-specific targeting of an anticancer drug delivery system by LHRH peptide. Proc. Natl. Acad. Sci USA. 2005; 102 (36): 12962—7.
17. *Нищветов М.Б., Москалева Е.Ю., Посыпанова Г.А., Макарова О.В., Степанов В.А., Рогов К.А., Коромыслова И.А., Караулов А.В., Северин С.Б., Северин Е.В.* Изучение экспрессии рецептора альфа-фетопротеина в опухолевых и нормальных тканях человека с помощью иммуногистохимического метода. Иммунология. 2005; 2: 122—5.
18. *Савицкий А.А., Гукасова Н.В., Туманов С.Г., Фельдман И,Б., Лукьянец Е.А., Миронов А.Ф., Якубовская Р.И., Луценко С.В., Северин С.Е.* Цитотоксическое действие конъюгатов альфа-фетопротеина и эпидермального фактора роста с фотогемом, хлоринами и фталоцианинами. Биохимия. 2000; 65 (6): 859—64.
19. *Луценко С.В., Киселев С.М., Гукасова Н.В., Посыпанова Г.А., Фельдман Н.Б., Северин С.Е.* Эпидермальный фактор роста и его рецепторсвязывающий фрагмент как векторы для направленной доставки доксорубицина в опухолевые клетки. В кн.: Биомедицинские технологии. М.; 2000; вып. 13: 23—6.
20. *Coppelli F.M., Grandis J.R.* Oligonucleotides as anticancer agents: from the benchside to the clinic and beyond. Curr. Pharm. Des. 2005; 11 (22): 2825—40.
21. *Gleave M.E., Monia B.P.* Antisense therapy for cancer. Nat. Rev. Cancer. 2005; 5 (6): 468—79.
22. *Sharkey R.M., Goldenberg D.M.* Targeted therapy of cancer: new prospects for antibodies and immunoconjugates. CA Cancer J. Clin. 2006; 56 (4): 226—43.
23. *Моисеенко В.И.* Моноклональные антитела в лечении злокачественных опухолей. Практическая онкология. 2003; 4 (3): 148—56.
24. *Провоторов В.М., Иванов Г.А.* Роль и место эритроцитов в системе направленного транспорта различных фармакологических средств. Клиническая медицина. 2009; 9: 4—8.
25. *Самохин Г.П., Домогатский С.П.* Направленный транспорт лекарств с помощью эритроцитов. Журнал Всесоюзного химического общества им. Д.И. Менделеева. 1987; 32 (5): 527—33.
26. *Генинг Т.П., Белозерова Л.А.* Эритроцитарные носители в направленном транспорте лекарств в гепатологии. Ульяновск: УлГУ; 2006. 79 с.

27. *Минаева О.В.* Оптимизация метода направленного транспорта эритромицина и цефтриаксона при тяжелой внегоспитальной пневмонии: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Саранск; 2008. 16 с.
28. *Левин И.Г., Фадеев Б.М., Комалов Е.Х.* Эритроцитарные носители антигипоксантов и ингибиторов протеолиза в комплексной терапии гепаторенального синдрома: Тезисы докладов и сообщений VI Всероссийского съезда анестезиологов и реаниматологов. М.; 1998: 18.
29. *Дмитриева Л.А., Кирдей Е.Г.* Характер и условия сорбции эритроцитами биологически активных веществ. Сибирский медицинский журнал. 1995; 2: 23—5.
30. *Жумадилов Ж.Ш., Макаренкова Р.В.* Особенности включения некоторых антибиотиков в эритроцитарные тени — систему целенаправленной доставки химиотерапевтических препаратов. Антибиотики и химиотерапия. 1990; 35 (1): 54—6.
31. *Сагитова Д.С.* Направленный транспорт лекарственно модифицированных элементов крови в профилактике и лечении гнойных осложнений острого панкреатита: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. СПб; 2008: 22 с.
32. *Абу Идда А.Ш., Горелов С.И., Каган О.Ф.* Лечение больных с гнойно-воспалительными заболеваниями почек путем применения направленного транспорта антибактериальных препаратов в аутологичных лейкоцитах. Медицинский научный и учебно-методический журнал. 2006; 31: 116—24.
33. *Ершов А.Л., Карпушина И.А.* Опыт применения модифицированной методики направленного транспорта антибиотиков при тяжелом течении внебольничной пневмонии. Эфферентная терапия. 2006; 12 (3): 39—44.
34. *Лохвицкий С.В., Гуляев А.Е., Зубцов Н.В., Климахин Ю.Д., Швецов Д.А.* Клиническая фармакокинетика антибиотиков при введении их в клеточной массе во время плазмафереза. Здравоохранение Казахстана. 1992; 8: 22—4.
35. *Темнов А.А.* Способ направленного транспорта биологически активных веществ и применение стволовых клеток для их направленного транспорта. Патент на изобретение RU №2426785. Заявлено 22.12.2009. Опубликовано 08.20.2011.
36. *Мартынова Е.У., Козлов Е.Н., Муха Д.В.* Наночастицы: перспективы использования в медицине и ветеринарии. Успехи современной биологии. 2012; 132 (5): 435—47.
37. *Manchester M., Singh P.* Virus-based nanoparticles (VNPs): platform technologies for diagnostic imaging. Adv. Drug Deliv. Rev. 2006; 58 (14): 1505—22.
38. *Singh P., Gonzalez M.J., Manchester M.* Viruses and their uses in nanotechnology. Drug Dev. Res. 2006; 67 (1): 23—41.
39. *Walther W., Stein U.* Viral vectors for gene transfer: a review of their use in the treatment of human diseases. Drugs. 2000; 60 (2): 249—71.
40. *Mancheño-Corvo P., Martín-Duque P.* Viral gene therapy. Clin. Transl. Oncol. 2006; 8 (12): 858—67.
41. *Барышников А.Ю.* Наноструктурированные липосомальные системы как средство доставки противоопухолевых препаратов. Вестник РАМН. 2012; 3: 23—31.
42. *Швец В.И., Каплун А.П., Краснопольский Ю.М., Чехонин В.П.* От липосом семидесятых к нанобиотехнологии XXI века. Российские нанотехнологии. 2008; 3 (1): 52—67.
43. *Каплун А.П., Ле Банг Шон, Краснопольский Ю.М., Швец В.И.* Липосомы и другие наночастицы как средство доставки лекарственных веществ. Вопросы медицинской химии. 1999; 45 (1): 3—12.
44. Санжаков М.*А., Прозоровский В.Н., Ипатова О.М., Тихонова Е.Г., Медведева Н.В., Торховская Т.И.* Система транспорта на основе фосфолипидных наночастиц для рифампицина. Биомедицинская химия. 2013; 59 (3): 585—90.
45. *Lembo D., Cavalli R.* Nanoparticulate delivery systems for antiviral drugs. Antivir. Chem. Chemother. 2010; 21 (2): 53—70.
46. *Mallipeddi R., Rohan L.C.* Progress in antiretroviral drug delivery using nanotechnology. Int. J. Nanomedicine. 2010; 5: 533—47.
47. *Whitehead K.A., Langer R., Anderson D.G.* Knocking down barriers: advances in siRNA delivery. Nat. Rev. Drug Discov. 2009; 8 (2): 129—38.
48. *Moghimi S.M., Hunter A.C., Murray J.C.* Long-circulating and target-specific nanoparticles: theory to practice. Pharmacol. Rev. 2001; 53 (2): 283—18.
49. *Vijayaraghavalu S., Raghavan D., Labhasetwar V.* Nanoparticles for delivery of chemotherapeutic agents to tumors. Curr. Opin. Investig. Drugs. 2007; 8 (6): 477—84.
50. *Санжаков М.А., Ипатова О.М., Торховская Т.И., Прозоровский В.Н., Тихонова Е.Г., Дружиловская О.С., Медведева Н.В.* Наночастицы как системы транспорта для противотуберкулезных средств. Вестник РАМН. 2013; 8: 37—44.
51. *Чекман И.С., Маланчук В.А., Гордейчук М.А.* Нанотехнологии и наноматериалы: применение в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии. Український медичний часопис. 2009; 6: 95—7.
52. *Hirsch L.R., Jackson J.B., Lee A., Halas N.J., West J.L.* A whole blood immunoassay using gold nanoshells. Anal. Chem. 2003; 75 (10): 2377—81.
53. *Сластникова Т.А., Розенкранц А.А., Лупанова Т.Н., Гулак П.В., Гнучев Н.В., Соболев А.С.* Исследование эффективности модульного нанотранспортера для адресной доставки фотосенсибилизаторов в ядра клеток меланомы in vivo. Доклады Академии наук. 2012; 46 (3): 342—4.
54. *Rosenkranz A.A., Lunin V.G., Gulak .PV., Sergienko O.V., Shumiantseva M.A., Voronina O.L., Gilyazova D.G., John A.P., Kofner A.A., Mironov A.F., Jans D.A., Sobolev A.S.* Recombinant modular transporters for cell-specific nuclear delivery of locally acting drugs enhance photosensitizer activity. FASEB J. 2003; 17 (9): 1121—3.
55. *Соболев А.С.* Модульные нанотраспортеры — многоотраслевая платформа для доставки противораковых лекарств. Вестник Российской академии наук. 2013; 83 (8): 685—97.
56. *Lübbe A.S., Alexiou C., Bergemann C.* Clinical applications of magnetic drug targeting. J. Surg. Res. 2001; 95 (2): 200—6.
57. *Никифоров В.Н., Брусенцов Н.А.* Магнитная гипертермия в онкологии. Медицинская физика. 2007; 2: 51—8.
58. *Petersson K., Ilver D., Johansson C., Krozer A.* Brownian motion of aggregating nanoparticles studied by photon correlation spectroscopy and measurements of dynamic magnetic properties. Anal. Chim. Acta. 2006; 573—574: 138—46.
59. *Улащик В.С.* Элементы молекулярной физиотерапии. Минск: Беларуская навука; 2014. 257 с.
60. *Hirsch L.R., Stafford R.J., Bankson J.A., Sershen S.R., Rivera B., Price R.E., Hazle J.D., Halas N.J., West J.L.* Nanoshell-mediated near-infrared thermal therapy of tumors under magnetic resonance guidance. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2003; 100 (23): 13549—54.
61. *Pankhurst Q.A., Connolly J., Jones S.K., Dobson J.* Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. J. Phys. D: Appl. Phys. 2003; 36 (13): R167—81.
62. *Ito A., Shinkai M., Honda H., Kobayashi T.* Medical application of functionalized magnetic nanoparticles. J. Biosci. Bioeng. 2005; 100 (1): 1—11.
63. *Добрецов К.Г., Афонькин В.Ю., Кириченко А.К., Ладыгина В.П., Столяр С.В., Баюков О.А., Сипкин А.В.* Способ введения магнитных наночастиц в ткани с помощью градиента магнитного поля в эксперименте. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2009; 147 (6): 693—5.
64. *Jurgons R., Seliger C., Hilpert A., Trahms L., Odenbach S., Alexiou1 C.* Drug loaded magnetic nanoparticles for cancer therapy. J. Phys.: Condens. Matter. 2006; 18: 2893—902.

65. *Nobuto H., Sugita T., Kubo T., Shimose S., Yasunaga Y., Murakami T., Ochi M.* Evaluation of systemic chemotherapy with magnetic liposomal doxorubicin and a dipole external electromagnet. Int. J. Cancer. 2004; 109 (4): 627—35.

66. *Добрецов К.Г., Афонькин В.Ю., Столяр С.В., Ладыгина В.П., Сипкин А.В., Лопатин А.С.* Опыт применения магнитных наночастиц в медицине и перспективы их использования в оториноларингологии. Вестник оториноларингологии. 2009; 2: 69—71.

67. *Улащик В.С.* Панорама направлений использования магнитных полей в онкологии. Здравоохранение. 2013; 10: 9—17.

68. *Михайлов Г.А., Васильева О.С.* Технология будущего: использование магнитных наночастиц в онкологии. Бюллетень СО РАМН. 2008; 3: 18—22.

69. *Сейфулла Р.Д.* Фармакодинамика и фармакокинетика нанонейрофармакологических препаратов. Фармакокинетика и фармакодинамика. 2012; 1: 33—42.

70. *Kovalev D., Gross E., Kunzner N., Koch F., Timoshenko V.Y., Fujii M.* Resonant electronic energy transfer from excitons confined in silicon nanocrystals to oxygen molecules. Phys. Rev. Letters. 2002; 89 (13): 137401—4.

71. *Лазарев А.И., Сипливый Г.В., Кукурека А.В., Сипливая Л.Е.* Влияние ультрафиолетового облучения и магнитного поля на иммунометаболические эффекты антибиотиков, иммобилизованных в клеточные носители. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2008; 145 (6): 663—7.

72. *West J.L., Halas N.J.* Applications of nanotechnology to biotechnology commentary. Curr. Opin. Biotechnol. 2000; 11 (2): 215—7.

73. *West J.L., Halas N.J.* Engineered nanomaterials for biophotonics applications: improving sensing, imaging and therapeutics. Annu. Rev. Biomed. Eng. 2003; 5: 285—92.

74. *Hirsch L.R., Gobin A.M., Lowery A.R., Tam F., Drezek R.A., Halas N.J., West J.L.* Metal nanoshells. Ann. Biomed. Eng. 2006; 34 (1): 15—22.

75. *Roy I., Ohulchanskyy T.Y., Pudavar H.E., Bergey E.J., Oseroff A.R., Morgan J., Dougherty T.J., Prasad P.N.* Ceramic-based nanoparticles entrapping water-insoluble photosensitizing anticancer drugs: a novel drug-carrier system for photodynamic therapy. J. Am. Chem. Soc. 2003; 125 (26): 7860—5.

76. Омельченко А.И. Биофункциональные наночастицы в лазерной медицине. Вестник Югорского государственного университета. 2011; 2: 40—50.

77. *Ponce A.M., Wright A., Dewhirst M.W., Needham D.* Targeted bioavailability of drugs through triggered release of liposomes. Future Lipidol. 2006; 1: 25—34.

78. *Hauck M.L., LaRue S.M., Petros W.P., Poulson J.M., Yu D., Spasojevic I., Pruitt A.F., Klein A., Case B., Thrall D.E., Needham D., Dewhirst M.W.* Phase I trial of doxorubicin-containing low temperature sensitive liposomes in spontaneous canine tumors. Clin. Cancer Res. 2006; 12 (13): 4004—10.

79. *Тазина Е.В., Мещерикова В.В., Игнатьева Е.В., Полозкова А.П., Орлова О.П., Вайнсон А.А., Оборотова Н.А., Барышников А.Ю.* Биофармацевтическое исследование термочувствительной липосомальной лекарственной формы доксорубицина. Российский биотерапевтический журнал. 2009; 8 (1): 40—7.

80. *Bisby R.H., Mead C., Morgan C.G.* Active uptake of drugs into photosensitive liposomes and rapid release on UV photolysis. Photochem. Photobiol. 2000; 72 (1): 57—61.

Поступила 19.05.2014