© Коллектив авторов, 2017
УДК 577.126:615.272.6+543.645.4

Богданенко Е.В.[1], Жданов Р.И.[2,3]

Перенос in vivo гена β-галактозидазы с помощью амфифильных и комбинированных липосом

[1] ФГБНУ НИИ общей патологии и патофизиологии, 125315, г. Москва, Россия, ул. Балтийская, д. 8
[2] Институт фундаментальной медицины и биологии и Общеуниверситетская кафедра физического воспитания и спорта, Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, г. Казань, Россия, ул. Кремлевская, д. 18
[3] Институт перспективных исследований, Московский педагогический государственный университет, 119571, г. Москва, Россия, пр. Вернадского, д. 88

Цель исследования. Получение безопасного и эффективного вектора в целях генной терапии остается актуальной и нерешенной задачей, несмотря на усилия многих лабораторий в мире. Синтез веществ, имеющих сродство к ДНК и стабилизирующих ее спираль, а также обладающих группировками, опознаваемыми клетками нужных органов, является одним из перспективных направлений в таких исследованиях. Целью данной работы было изучение эффективности переноса в различные органы мышей репортерного гена бактериальной β-галактозидазы липосомами, содержащими синтетические холестериновые производные олигоэтиленпропиленимина (дихоленим и трихоленим), а также лактозилированный диглицерид (лактозолипид, LacS). **Методика.** Предварительно электронномикроскопически была подтверждена способность холенимов образовывать комплексы с ДНК оптимальных для трансфекции размеров (100—200 нм). Проверка холенимов на токсичность *in vivo* и введение липосом (фосфатидилхолин (ФХ)/дихоленим, ФХ/трихоленим и ФХ/лактозолипид/дихоленим в комплексе с плазмидой pCMV-SPORT-β-gal) в воротную вену печени проводились на самцах мышей линии ICR массой 30—40 г. Контролем служили интактные животные. **Результаты.** Способность холенимов образовывать комплексы с ДНК была подтверждена электронными микрофотографиями. Размеры комплексов (100—200 нм) оказались оптимальными для трансфекции *in vivo*, а холенимы — нетоксичными. Через 2 сут. после введения комплексов гистохимически на криосрезах внутренних органов животных с X-Gal (субстрат) обнаружена отчетливо выраженная трансфекция органов, в том числе печени — главного объекта генной терапии. **Заключение**. Лактозилированный липид LacS и производные олигоэтиленпропиленимина холенимы являются безопасными, не менее и эффективными для достижения экспрессии функционального гена *in vivo*, чем коммерческие препараты, и перспективными для эффективной адресной доставки генов.

Ключевые слова: мыши, производные олигоэтиленпропиленимина; лактозилированные липосомы; генный перенос; адресная доставка; воротная вена; гистохимическая реакция; холеним

Для цитирования: Богданенко Е.В., Жданов Р.И. Перенос *in vivo* гена β-галактозидазы с помощью амфифильных и комбинированных липосом. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2017; 61(3): 4—9.*
DOI: 10.25557/0031-2991.2017.03.4-9

Для корреспонденции: *Жданов Ренад Ибрагимович*, доктор хим. наук, проф., e-mail: zrenad@gmail.com

Финансирование. Работа выполнена в рамках госзадания Минобрнауки РФ К(П)ФУ, в сфере научной деятельности 2015—2017 гг., бюджет № 19.9777.2017/БЧ г.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Авторы благодарны академику *В.В. Власову* (Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск) за предоставление веществ холеним и профессору *Ю.Л. Себякину* (МИТХТ, Москва) за предоставление гликолипида, *А.Г. Погорелову* за электронные микрофотографии липолексов.

Поступила 18.12.2016

Bogdanenko E.V.[1], Zhdanov R.I.[2,3]

Delivery of β-galactosidase gene in vivo with amphyphylic and combined liposomes

[1] Institute of General Pathology and Pathophysiology, 8, Baltiiskaya St., Moscow 125315
[2] Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan (Volga region) Federal University, 18, Kremlin St., Kazan 420008
[3] Russian Institute of Advanced Study, Moscow Pedagogical State University, 88, Vernadsky Pr., Moscow, 119571

The purpose of the work. Receipt of safe and effective vector for the purpose of genetic therapy remains the topical and unsolved problem inspite of many laboratories efforts in the world. Synthesis of substances which have affinity to DNA and stabilize its helix and also have the moieties recognized with the cells of the desired organs is one of the perspective ways in these investigations. Study of the effectivity of β-galactosidase bacterial reporter gene transfer with liposomes containing syn-

thetic cholesteroyl derivatives of the oligoethylen/propylen/imine dicholenim and tricholenim and also lactosylated diglycerid (lactosolipid, LacS) to mouse organs was the purpose of this work. **Methods**. Previously ability of cholenims to form complexes with DNA of the optimal for transfection size (100—200 nm) was confirmed by electron microscopy technique. Testing the non-toxicity of cholenims *in vivo* and injections of phosphatidylcholine(Ph)/dicholenim, Ph/tricholenim and Ph/lactosolipid/dicholenim liposomes complexed with the pCMV-SPORT-β-gal plasmid to the liver portal vein were carried out on the mouse males of the ICR strain of 30—40 g of weight. The intact animals were as a control. **Results**. The ability of cholenims to form complexes with DNA was confirmed with electron micrographs. Complex sizes (100—200 nm) were optimal for *in vivo* transfection, and holenims were found non-toxic ones. The well-marked transfection of the animal's inner organs including liver which is the main target of the genetic therapy was detected in two days after injection of the complexes by histochemical reaction of the cryosections with X-Gal and the consequent light microscopy of the sections. **Conclusion**. It is concluded that the lactosylated lipid LacS and the oligoethylen/propylen/imine derivatives cholenims are not less safe and effective for achieving expression of the functional gene *in vivo* than the commercial ones and are promising for the effective targeted gene delivery.

Keywords: mice; derivatives of oligoethylen/propylene/imine; lactosylated liposomes; gene delivery; targeting; portal vein; histochemical reaction; cholenims.

For citation: E.V. Bogdanenko, R.I. Zhdanov. Delivery of β-galactosidase gene *in vivo* with amphyphylic and combined liposomes. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental`naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal). 2017; 61(3): 4—9. (in Russian).* **DOI:** 10.25557/0031-2991.2017.03.4-9

For correspondence: Renad I. Zdanov, Doctor of Chemical Sciences, Chief Scientist of Chair of Biochemistry and Biotechnology, Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan (Volga region) Federal University, 18, Kremlin St., Kazan 420008; Russian Federation; e-mail: zrenad@gmail.com

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The work was carried out within the framework of the state task of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation to Kazan Federal University in the field of scientific activity, 2015—2017, theme № 19.9777.2017/БЧ.

Acknowledgements. Author is greatful to Prof. Dr. N. Duzgunes for gift of plasmid pCMV-SPORT-β-gal, to Prof. Dr. V.V. Vlassov (Novosibirsk Institute of Bioorganic Chemistry, the author of CHOLENIM's synthesis), to Prof. Dr. G.A. Serebrennikova and Dr. Yu.L. Sebyakin (MITHT) for gift of glycolipid and Dr. A.G. Pogorelov for nanoparticle images.

Information about authors: Bogdanenko E.V., http://orcid.org/0000-0002-3351-3316

Received 18.12.2016

Введение

Проблема лечения наследственных и приобретенных заболеваний методами генной терапии по-прежнему остается нерешенной, во многом из-за отсутствия необходимых переносчиков генов (векторов). К векторам предъявляются требования образовывать небольшие по размерам комплексы с ДНК (<100 нм) и направленно переносить терапевтические гены в нужные органы [1]. Вирусные векторы более эффективны, чем невирусные, но они небезопасны — могут вызвать инсерционный мутагенез и даже смерть больного вследствие иммунной реакции на их введение [2]. Невирусные векторы пока малоэффективны и в лечении людей не применяются [3, 4]. Первоначальная цель генной терапии — коррекция наследственных дефектов — в последнее время отошла на второй план, и усилия исследователей сосредоточились на поиске векторов, способных доставлять ДНК терапевтических генов, малые интеференционные РНК и микроРНК к различным раковым опухолям [4, 5]. Однако доставка генов в недоступные опухоли и метастазы, а не просто в ложе удаленной опухоли, пока остается нерешенной проблемой, несмотря на создание различных вирусных и синтетических векторных систем.

При подборе невирусных средств генного переноса должна быть учтена их способность в комплексе с ДНК легко проникать через мембрану клетки, защищать ДНК при транспорте ее в организме, а также от нуклеаз и нежелательного связывания с другими макромолекулами в цитоплазме клетки, когда может происходить утилизация ДНК до того, как станет возможной ее экспрессия.

При применении катионных (фосфо)липидных везикул или липосом для переноса генов ДНК спонтанно связывается с внешней поверхностью катионных липосом, нейтрализуя свой отрицательный заряд, а образующиеся при этом комплексы — липоплексы — взаимодействуют с клеточной мембраной. Таким способом — липофекцией — могут быть трансфицированы более 90% клеточных линий *in vitro* [1]. Однако большинство комплексов ДНК с катионными липидами при использовании *in vivo* оседает в легких,

не попадая в орган-мишень, которым чаще всего является печень. Это явление назвали «эффектом первого прохода» [6]. В настоящее время продолжается поиск веществ, не имеющих этого недостатка. Использованные нами для генного переноса вещества дихоленим и трихоленим содержат группировки, характерные для полиэтиленимина (ПЭИ), показавшего себя активным в генном переносе в ряде работ. Лактозилированный диглицерид, кроме того, содержит лактозную группировку, имеющую сродство к клеткам печени [7, 8]. Эти 3 препарата были исследованы нами как кандидаты в переносчики терапевтических генов посредством электронной микроскопии и введений полученных из них липосом в комплексе с плазмидой, несущей репортерный ген бактериальной β-галактозидазы, в воротную вену печени мышей. Интересно было сравнить результаты, полученные *in vivo* при переносе раздельно дихоленимом и трихоленимом и комбинированными липосомами, которые должны были «унаследовать» полезные свойства оказавшегося более активным при трансфекции *in vitro* дихоленима [7].

Методика

В экспериментах использовались холестериновые производные олигоэтиленпропиленимина — дихоленим и трихоленим, и лактозилированный диглицерид — дигексадецил-2-β-D-тиолактозил-сукцинат (LacS) [7, 8]. Холестерин (Fluka) применялся как липид-помощник для формирования липосом. Холенимы сначала соединяли с водно-глицериново-спиртовой смесью (в объемных отношениях 41:34:25) при ультразвуковой 10-минутной обработке (УЗДН-4 — макс. мощность 35 кГц, периоды 1 мин работы/30 с пауза). Липосомы из них были получены по методу упаривания из обращенной фазы [9]. Раствор липида и липида-помощника по каплям вливали в подогретую в круглодонной колбе на водяной бане до 50—60°С стерилизованную (автоклавированную) деионизованную воду (Milli-Q, Millipore, USA) при интенсивном помешивании на «Vortex» (средняя скорость добавления — 1 мл/мин). Процесс сопровождается вскипанием раствора. Операцию повторяли до исчезновения раздела фаз и получения жидкости, имеющей однородный опалесцирующий вид.

При получении сложной композиции ФХ/лактозолипид/дихоленим таким же образом в воду добавляли растворы гликолипида, ФХ и дихоленима в хлористом метилене. Процесс повторяли до прекращения испарения остатков растворителя и приобретения эмульсией соответствующего вида. Сначала все растворы, содержащие липосомы, упаривали с помощью вакуумного роторного испарителя примерно до объема 1 мл, а затем их объем доводили деионизованной водой до необходимой концентрации. Липосомы продували азотом в течение 10 мин. и хранили в герметично закрытой посуде при 4°С.

Для получения электронных микрофотографий липоплексов холеним/ДНК использовались плазмидная ДНК (плазмида pCMV-SPORT-β-gal, 7,2 kb) и электронный микроскоп JEM 100B при ускоряющем напряжении 80 кВ. С этой целью аликвоту липоплекса помещали на медную сетку, покрытую пленкой коллодия, и высушивали. Его избыток удаляли, а остаток контрастировали 4% водным раствором уранил нитрата. После удаления красителя пленку просушивали при комнатной температуре. Электронные микрофотографии получали на фотопластинках фирмы «Kodak».

Плазмида pCMV-SPORT-β-gal (7,2 kb) получена от проф. Н. Дюзгюнеша (Dr. N. Duzgunes, San Francisco, USA) и наработана в необходимых количествах по соотвествующим методикам как описано ранее [10]. Для формирования комплексов аликвоту раствора плазмидной ДНК смешивали с липосомами, осторожно встряхивали смесь и инкубировали 30 мин при комнатной температуре. В эксперименте использовались мыши линии ICR 10—12-недельного возраста, массой 30—40 г, которые содержались при конвенциональных условиях по 5 животных в клетке.

Введение комплексов в воротную вену печени мышам проводилось по описанной ранее методике под общим наркозом (введение препарата «Авертин») [10]. Контролем служили интактные животные. Животных выводили из опыта через 2 сут. после введения комплексов дислокацией шейных позвонков, в соответствии с инструкцией American Physiological Society (1995 г.).

Для гистохимического исследования сразу после вскрытия органы мышей замораживали при −80°С. Криостатные срезы органов толщиной 25 мкм монтировали на предметном стекле. На них наносили 200 мкл фосфатно-солевого буфера (ФСБ) с pH 7,5, содержавшего X-Gal (6 мг/мл), $MgSO_4$ (1 мМ/л), 4 мМ $K_4[Fe(CN)_6]$ и 4 мМ $K_3[Fe(CN)_6]$. Срезы органов инкубировали с субстратом X-Gal [1]. Стекла во влажной камере помещали в термостат на 37°С и фиксировали время развития окрашивания (30—50 мин). После этого стекла со срезами погружали в 2,5% глутаровый альдегид на 2 ч при +4°С. Для визуализации клеточных структур (главным образом ядер) срезы докрашивали гематоксилином. Далее после обезвоживания и просветления в о-ксилоле срезы заключали в канадский бальзам. Микрофотографии получали с помощью Axioskop 20 Carl Zeiss.

Результаты и обсуждение

Перед использованием холенимов для генного переноса были охарактеризованы их физико-химические свойства, для чего применялась спектрофотометрия (УФ-плавление ДНК) и спектрофлуориметрия с пиреном как флуоресцентным зондом. Оказалось, что холенимы образуют компактные и стабильные комплексы с геномной ДНК. Стабилизирующий эффект у дихоленима был несколько выше, чем у трихоленима, что связано с величиной заряда молекул — +1 у дихоленима и 0 у трихоленима [7]. Образование комплексов при смешивании этих веществ с плазмидной ДНК должно было подтвердить контрастирование уранил-нитратом образующихся при этом частиц, так как это вещество связывается с ДНК и делает его видимым на электронных микрофотографиях. Действительно, как ди-, так и трихоленим по данным электронной микроскопии оказались способными образовывать комплексы с ДНК. Они имели форму, близкую к сферической, и средний диаметр 100—200 нм (рис. 1, А и Б соответственно), хотя некоторые частицы достигали размеров 300 нм. Этот результат подтвердил предположение, что при нейтральных pH положительно заряженные части молекул холенимов (аминогруппы) должны вступать в электростатическое взаимодействие с отрицательно заряженными фосфатными группами ДНК, то есть участвовать в комплексообразовании с ДНК и ее стабилизации. Оба холенима не проявляли сколько-нибудь существенной цитотоксичности *in vitro* [10]. Для оценки их токсичности *in vivo* липосомы ФХ/дихоленим и ФХ/трихоленим вводились мышам внутрибрюшинно в дозах 50, 100 и 150 мг. В первых двух случаях не наблюдалось каких-либо видимых повреждений внутренних органов и ухудшения состояния животных. Доза 150 мг вызывала появление кровоизлияний на поверхности печени, увеличение размеров почек и селезенки (не могла быть использована из-за слишком большого объема).

Амфифильные липосомы, состоящие из фосфатидилхолина и дихоленима (1:1 по массе), а также фосфатидилхолина и трихоленима (1:1 по массе), использовали для переноса гена β-галактозидазы при соотношении липид/ДНК 1,6:1 (по массе). Доза плазмидной ДНК составляла 50 мкг на мышь, объем вводимого комплекса ДНК/липосомы — 100 мкл. Через 2 сут. после введения липоплексов в воротную вену печени подопытных животных умерщляли. Экспрессия модельного гена β-галактозидазы в их органах была обнаружена гистохимически при ее тестировании предварительно растворенным в диметилсульфоксиде субстратом X-Gal (6 мг на 200 мкл). После инкубации срезов органов с этим субстратом, который под действием β-галактозидазы разлагается с выделением ярко-синего красителя индиго, появилось синее окрашивание во всех исследуемых внутренних органах мышей — легких, печени, селезенке и почках. На гистологических препаратах экспрессия наблюдалась преимущественно в клетках эндотелия сосудов и ближайших к ним клетках, что свидетельствует о проницаемости эндотелия для комплексов. Наиболее выразительные микрофотографии для легких были получены после использования липосом ФХ/дихоленим. При использовании комплексов с липосомами ФХ/трихоленим значительная экспрессия модельного гена в печени выражалась в интенсивном окрашивании с помощью X-Gal пучков сосудов, максимальном среди всех препаратов (рис. 2). Интересно, что биораспределение комплексов [^{14}C]-ДНК/трихоленим (1:1 w/w) после их введения в воротную вену печени также обнаруживало их тропизм к этому органу, и максимум ^{14}C-ДНК был обнаружен в печени (25% от всей метки) [11]. Вследствие присутствия в молекуле трихоленима 3 холестериновых остатков возможно его сильное взаимодействие с мембранами эритроцитов с нарушением их структуры. Так как в печени осуществляется утилизация материала разрушенных эритроцитов, это может быть причиной повышенного включения метки и плазмиды в этот орган. Срезы легких, печени и селезенки контрольных животных давали незначительное равномерное окрашивание при их инкубации с X-Gal (рис. 3). Почки обнаруживали эндо-

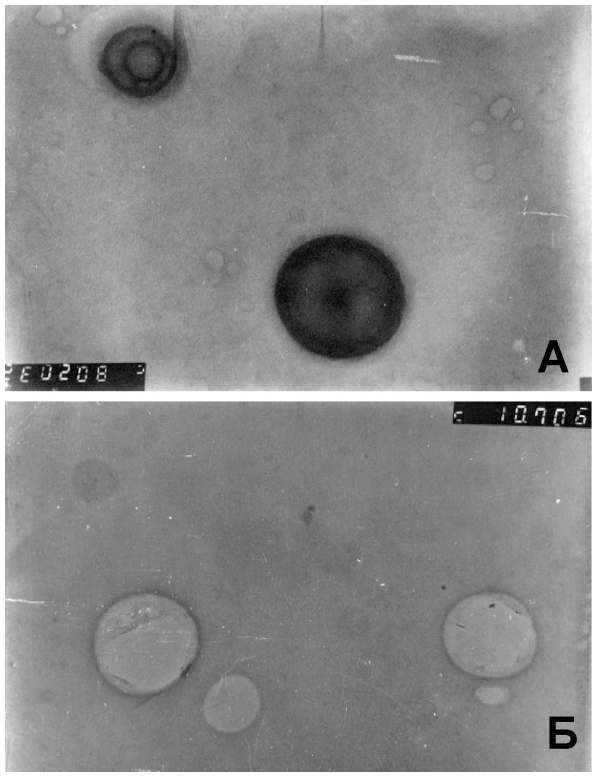

Рис. 1. Электронные микрофотографии комплексов ХОЛЕНИМов с плазмидой:
А — дихоленим/pCMV-SPORT-β-Gal; Б — трихоленим/pCMV-SPORT-β-Gal. Контрастирование 4% водным раствором уранил нитрата. Электронный микроскоп JEM 100B, ускоряющее напряжение 80 кВ.

генную активность β-галактозидазы, затруднявшую оценку эффективности экзогенного фермента, т.е. давали интенсивную окраску срезов как в опыте, так и в контроле, особенно при увеличении времени экспонирования с X-Gal.

Поскольку лактозолипиды достаточно эффективно и специфично связываются с галактозосвязывающим лектином из *Ricinus communis* (RCA_1), являющимся аналогом специфического лектина гепатоцитов печени человека и животных, липосомы с экспонированными на поверхности остатками *D*-галактозы можно применять для повышения уровня захвата клетками печени их комплексов с ДНК [8]. Использованный нами модифицированный лактозолипид LacS содержит лактозную группировку в качестве углеводного маркера, которая должна была распознаваться рецепторами гепатоцитов и усилить экспрессию переносимого гена в печени. Он был включен в состав комбинированных полибислойных липосом фосфатидилхолин/лактозолипид/дихоленим. Они были сформированы из ФХ (70 mol %), LacS (20 mol %) и дихоленима (10 mol %) и использовались в соотношении с плазмидой 1,6:1 по массе. Доза плазмидной ДНК составляла 50 мкг на мышь, объем вводимого комплекса ДНК/липосомы — 100 мкл.

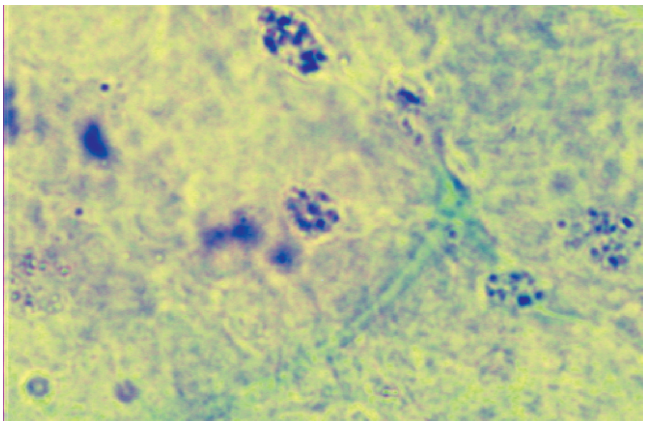

Рис. 2. Срез печени мыши после введения в воротную вену липоплекса из плазмиды и амфифильных липосом ФХ/трихоленим (1:1). Окрашивание X-Gal, докрашивание гематоксилином. Увеличение ×200. AXIOSKOP 20 Carl Zeiss.

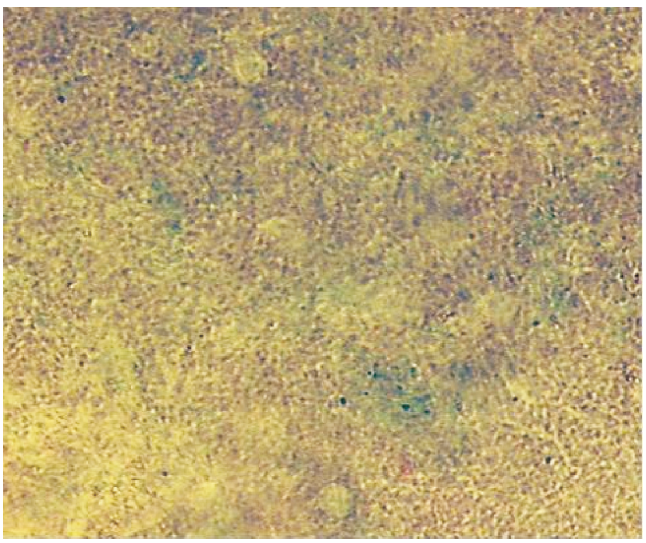

Рис. 3. Контрольный срез печени мыши. Окрашивание X-Gal, докрашивание гематоксилином. Увеличение ×200. AXIOSKOP 20 Carl Zeiss.

Значительным уровень экспрессии гена Lac Z был выявлен в селезенке и легких, что соответствовало данным по количественному определению активности фермента в разных органах спектрофотометрически [8]. Однако того уровня экспрессии в печени, которого мы ожидали, достигнуть не удалось, возможно, из-за недостаточной проницаемости тканей для таких комплексов (большой плотности паренхимы). При 30—50-мин инкубировании срезов экспрессия проявлялась слабо, а при длительной экспозиции наблюдалось образование индиго в виде очень мелких ярко-голубых гранул не только на опытных, но и на контрольных срезах. Возможно, так проявляет себя эндогенный фермент в цитоплазме клеток печени.

Размер большинства полученных комплексов холенимов с плазмидной ДНК (100—200 нм) является оптимальным для генного переноса *in vivo* [6]. Как большой размер некоторых частиц (около 300 нм), так и фактическая независимость их размеров от молекулярной массы ДНК достаточно необычны. Возможно, что наблюдаемые структуры являются результатом агрегации маленьких мицеллярных частиц при приготовлении препаратов для электронной микроскопии. Похожую картину описывают Chisholm et al. для полипропиленовых дендримеров [12]. Поскольку по строению молекулы холенимов сходны с молекулами этих веществ, хорошо зарекомендовавшими себя в качестве переносчиков генов в исследованиях различных лабораторий, то вполне вероятно, что как ди-, так и трихоленим были бы более эффективными при их использовании в других соотношениях с ДНК или при другом способе введения. Так, после введения мышам в хвостовую вену комплексов с полипропиленовыми дендримерами для экспериментальной генной терапии у них наблюдалась регрессия ксенографтов опухолей эпидермоидной карциномы A431, рака шейки матки, C33a и колоректальной аденокарциномы LS174T; выживало до 100% подопытных животных [13]. При этом полипропиленовые дендримеры были способны образовывать стабильные комплексы с ДНК и доставлять репортерный ген в печень, а не в легкие при внутривенном введении комплексов [14], как и холенимы, что также подтверждает наше предположение о большей эффективности холенимов при их использовании в других соотношениях с ДНК или другом способе введения.

Холенимы образовывали компактные полиплексы с ДНК (100—200 нм), так же, как сходные с ними по строению полипропиленимины, модифицированные разветвленными олигоэтилениминами, которые оказались не менее и даже более трансфекционнно-активными, чем

стандартные полиэтиленимины (как линейные, так и разветвленные), не давали «эффекта первого прохода» и не вызывали агрегации эритроцитов [15]. Эти свойства необходимы для успешной трансфекции *in vivo*.

Что касается использования векторов с углеводными остатками, то получены данные, что полиамидоаминовые дендримеры, конъюгированные с полиэтиленгликолем (ПЭГ), лактозой и циклодекстрином, имели высокую трансфекционную активность на клетках HepG2, экспрессирующих асиалогликопротеиновый рецептор. Однако те дендримеры, где было более низкое содержание ПЭГ, имели и более низкую трансфекционную активность в присутствие 20% сыворотки [3]. Таким образом, невысокая эффективность трансфекции нашими комплексами с липосомами фосфатидилхолин/лактозолипид/дихоленим может объясняться их связыванием с белками плазмы крови мышей *in vivo*. Кроме того, некоторые эксперименты со специально помеченными комплексами из плазмидной ДНК и лактозированного ПЭИ показывают, что уже через 8 ч после введения *in vivo* они диссоциировали в легких на свои составляющие. Вопреки общепринятому представлению, плазмида в основном локализовывалась в лизосомах, а лак-ПЭИ — в ядре, т.е. плазмида не была способной преодолевать ядерную мембрану [16]. Возможно, именно этим объясняется, почему почти за 20 лет работы множества лабораторий так и не был создан высокоэффективный невирусный вектор. Этот неожиданный результат показывает необходимость создания плазмиды, способной самостоятельно преодолевать ядерный барьер для дальнейшего продвижения в экспериментах *in vivo*.

Тем не менее, предложенные нами липосомы ФХ/дихоленим, ФХ/трихоленим и ФХ/лактозолипид/дихоленим определяли иную тропность липоплексов к тканям, чем катионные липосомы из коммерческих препаратов (например, Липофектина), дающие «эффект первого прохода». В исследованиях *in vitro* эффективность трансфекции с помощью холенимов и лактозолипида также была на уровне коммерческих препаратов, а иногда выше [11]. Поэтому эти вещества представляются нам перспективными в создании невирусных векторов для направленного транспорта генов в ткани организма.

References

1. Felgner J.H., Kumar R., Sridhar C.N., Wheeler C.J., Tasi Y.J., Border R. et al. Enhanced gene delivery and mechanism studies with a novel series of cationic lipid formulations. *Journal of Biological Chemistry*. 1994; 269(4): 2550-61.

2. Marshall E. Biomedicine: gene therapy on trial. *Science*. 2000; .288: 951-57.

3. Hayashi Y., Higashi T., Motoyama K., Mori Y., Jono H., Ando Y., Arima H. Design and evaluation of polyamidoamine dendrimer conjugate with PEG, α-cyclodextrin and lactose as a novel hepatocyte-selective gene carrier in vitro and in vivo. *J. Drug Target*. 2013; 21(5): 487-96.

4. Yang Y.P., Chien Y., Chiou G.Y., Wang M., Tsai C., Lu K. et al. Inhibition of cancer stem cell-like properties and reduced chemoradioresistance of glioblastoma using microRNA145 with cationic polyurethane-short branch PEI. *Biomaterials*. 2012; 33(5):1462-76.

5. Abbasi S., Paul A., Prakash S. Investigation of siRNA-Loaded Polyethylenimine-Coated Human Serum Albumin Nanoparticle Complexes for the Treatment of Breast Cancer. *Cell. Biochem. Biophys*. 2011; 61(2): 277-87.

6. Lasic D.D. Liposomes in Gene Delivery. New York: CRC Press; Boca Raton; 1997. 295 P.

7. Zhdanov R.I., Bogdanenko E.V., Podobed O.V., Petrov A.I., Konevets D.N., Vlasov V.V. Lipoplexes based on cholesterol derivatives of oligo(ethylene propylene imines) in gene transfer in vitro and in vivo. *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 2005; 401(1-6):131-5. (in Russian)

8. Bogdanenko E.V., Zhdanov R.I., Zarubina T.V., Sebyakin Yu.L., Vlasov V.V. A glycolipid containing a lactose residue: a novel agent for targeted DNA delivery for the purpose of genetic therapy. *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 2005; 401(1-6): 145-49. (in Russian)

9. Duzgunes N., Wilschut J., Hong K., Fraley R., Perry C., Friend D.S. et al. Physicochemical characterization of large unilamellar phospholipid vesicles prepared by reverse-phase evaporation. *Biochim. Biophys. Acta*. 1983; 732(1): 289-99.

10. Zhdanov R., Bogdanenko E., Moskovtsev A., Podobed O., Duzgunes N. Liposome-mediated gene delivery: dependence on lipid structure, glycolipid mediated targeting, and immunological properties. In: N. Duzgunesh, ed. Methods in Enzymology Liposomes, Part C: Gene transfer and therapy. Academic; 2003; 373: 433-65

11. Bogdanenko E.V., Ibragimova M.Ya., Zinnatullina E.T., Shakirova R.I., Khramova A.Y. R.I. Zhdanov. Gene transfer to mice organs using non-viral systems for targeted delivery with different hydrophobicity and with lactose addressing group. *Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzhenenriya*. 2012; 7; 3: 1-6 (in Russian).

12. Chisholm E.J., Vassaux G., Martin-Duque P., Chevre R, Lambert O, Pitard B. et al. Cancer-specific transgene expression mediated by systemic injection of nanoparticles. *Cancer Res*. 2009; 69(6): 2655-62.

13. Dufes C., Keith W.N., Bilsland A. Proutski I., Uchegbu I.F., Schatzlein A.G. Synthetic anticancer gene medicine exploits intrinsic antitumor activity of cationic vector to cure established tumors. *Cancer Res*. 2005; 65(18): 8079-84.

14. Schatzlein A.G., Zinselmeyer B.H., Elouzi A., Dufes C., Chim Y.T., Roberts C.J. et al. Preferential liver gene expression with polypropylenimine dendrimers. *J. Control Release*. 2005; 101(1-3): 247-58.

15. Russ V., Gunther M., Halama A., Ogris M., Wagner E. Oligoethylenimine-grafted polypropylenimine dendrimers as degradable and biocompatible synthetic vectors for gene delivery. *J. Control Release*. 2008; 132(2): 131-40.

16. Grosse S., Thevenot G., Aron Y., Duverger E., Abdelkarim M., Roche A.C. et al. In vivo gene delivery in the mouse lung with lactosylated polyethylenimine, questioning the relevance of in vitro experiments. *J.Control Release*. 2008; 132(2): 105-12.

Сведения об авторах:

Богданенко Елена Валентиновна, доктор биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. молекулярных основ болезней зависимости, e-mail: lenabogdval@mail.ru