

УДК 542.06+542.85+542.86+543.427

СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОБРАЗОВАНИЯ НАНОГИДРОКСИАПАТИТА В ПРИСУТСТВИИ КОЛЛАГЕНА

*А.В. Северин, Н.И. Силкин, Л.Ф. Галиуллина, О.Н. Мазалева,
В.Н. Рудин, М.Х. Салахов, Р.Н. Хайруллин, Ю.А. Челышев*

Аннотация

Методами оптической и электронной микроскопии выявлены морфологические особенности образования нанодисперсного гидроксиапатита (ГАП) в присутствии коллагена в различной концентрации. Показана возможность морфологического модифицирования наноГАП с образованием кристаллов, близких по своим геометрическим характеристикам к нативным кристаллам ГАП. Выявлены особенности агрегирования ГАП и образования им совместно с коллагеном различных иерархических текстур. Варьируя концентрацией коллагена, можно управлять физико-химическими и механическими свойствами подобных текстур, что делает их перспективным материалом медицинского назначения. Структурные исследования, проведенные с помощью методов РФА и ЯМР-спектроскопии показали, что хотя фазовый состав полученных образцов остался неизменным, между коллагеном и гидроксиапатитом образуется химическая связь с образованием органоминерального комплекса.

Ключевые слова: иерархические структуры, морфологическое модифицирование, наногидроксиапатит, органо-минеральные комплексы, ЯМР-спектроскопия.

Введение

Взаимодействие гидроксиапатита (ГАП) и коллагена лежит в основе фундаментального процесса остеогенеза. Молекулярным механизмам образования ГАП, особенно в наноформе, в присутствии коллагена уделяется повышенное внимание [1–4]. Раздельное и совместное применение наноГАП и коллагена в медицинской и биохимической практике завоевывает все большую популярность, поскольку в наносостоянии оба эти компонента обладают повышенной растворимостью, а значит, способны к более динамичной фармакокинетике в организме. С другой стороны, выявление особенностей образования наногидроксиапатита в присутствии коллагена поможет понять молекулярные механизмы эктопической кальцификации мягких тканей. Большое значение эти данные имеют для выяснения причин динамики процесса кальцификации внутренней оболочки (интимы) артерий при атеросклерозе. В качестве начальной формы этого опасного осложнения у больных атеросклерозом рассматривается диффузный характер отложения минералов в сформированной атеросклеротической бляшке. Диффузная минерализация ткани предшествует последующему и, по-видимому, уже необратимому процессу точечных отложений. Диффузный характер кальцификации может наблюдаться не только в пределах атеросклеротической бляшки, но и в соседних отделах интимы, она плохо выявляется

всеми существующими методами визуализации биологических тканей и ее природа не установлена. Предположение о роли нанокристаллов ГАП и особом характере их взаимодействия с коллагеном в развитии этой формы патологической кальцификации стенки сосуда представляется весьма вероятным.

Целью настоящей работы было выявление особенностей роста и агрегации кристаллов наногидроксиапатита в присутствии коллагена. В задачи исследования входили структурный анализ получаемых образцов, а также исследование свойств иерархических текстур на их основе в зависимости от способа получения. На базе синтезированных экспериментальных образцов предполагается создать ряд композиционных материалов с повышенной скоростью резорбции для решения различных медицинских задач.

1. Экспериментальная часть

Синтез как чистого ГАП (далее будем его называть ГАП-0), так и в присутствии коллагена проводили на основании методики, описанной в работе [5]. Синтез ГАП-1 проводили путем кратковременной подачи рассчитанного по стехиометрии объема раствора H_3PO_4 ($C_{H_3PO_4} = 1.077$ моль/л) в лабораторный реактор, заполненный раствором $Ca(OH)_2$ (700 мл, 0.02 моль/л), при интенсивном перемешивании и термостатировании (298 К).

Синтез ГАП-2 проводили путем постепенного добавления стехиометрического количества ($Ca/P = 1.67$) раствора фосфорной кислоты ($C_{H_3PO_4} = 7.93$ моль/л) в водную суспензию СаО при постоянном интенсивном перемешивании.

В работе использовали коллаген марки Granulat (Германия).

Различные количества коллагена вводили в раствор $Ca(OH)_2$ или водную суспензию СаО до добавления фосфорной кислоты при температуре 303 К и перемешивали до полной гомогенизации смеси. Концентрации коллагены были выбраны такие же, как в предшествующих экспериментах по изучению его влияния на ранние стадии формирования частиц гидроксиапатита [6].

Каждый эксперимент проводился в трех повторностях.

Контроль за процессом синтеза осуществляли с помощью рН-метра MV-88 (Германия, точность 0.01 рН). В ходе синтеза и по его окончании отбирали пробы суспензии для структурного анализа. Часть полученных препаратов высушивали при комнатной температуре для сканирующей электронной микроскопии. Фазовый состав всех полученных препаратов определяли с помощью РФА (ДРОН-2, $CuK\alpha$ -излучение).

Морфологию кристаллов и их агрегатов изучали с помощью метода оптической (Leica DMLS, Германия, разрешение 0.5 мкм) и трансмиссионной электронной микроскопии (просвечивающий электронный микроскоп JEM-100B, Япония, разрешение 0.3 нм). Свойства образующихся текстур диагностировали с помощью метода сканирующей электронной микроскопии (сканирующий электронный микроскоп CamScan, Япония, разрешение 5 нм). Размеры кристаллов, их агрегатов, а также элементов текстуры измеряли с помощью компьютерной программы ImagePro_Plus, Version 4.5.

ЯМР-спектроскопию полученных образцов проводили с помощью спектрометра компании Bruker Avance 500 при частоте вращения образца $f = 12$ кГц.

Табл. 1

Параметры синтезов

Образец	Объем системы, мл	Метод введения коллагена	Концентрация коллагена, г/л	pH начала синтеза	pH окончания синтеза
ГАП-1	700	–	–	11.85	7.44
ГАП-К-1	700	с раствором Са	0.246	12.9	7.11
ГАП-К-2	700	с раствором Са	0.945	12.3	7.27
ГАП-2	300	–	–	12.81	7.17
ГАП-К-3	300	с раствором Са	0.84	12.9	6.86

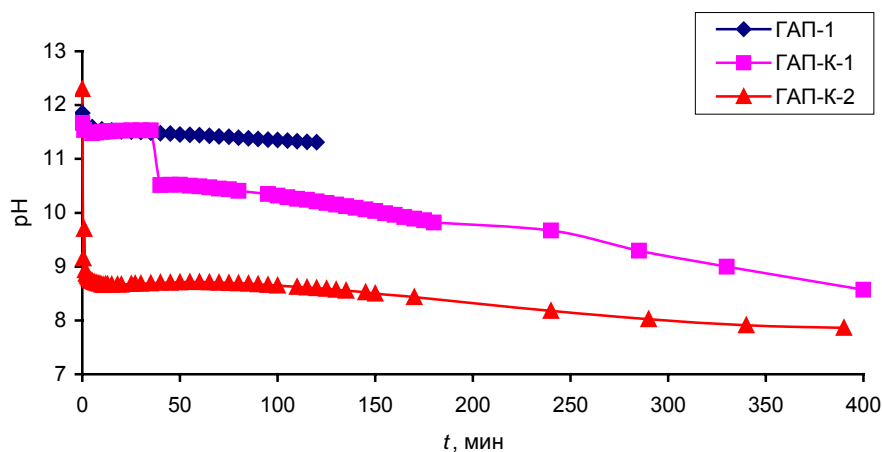


Рис. 1. Кинетика изменения pH системы в процессе синтеза гидроксиапатита без коллагена (ГАП-1) и гидроксиапатита в присутствии коллагена (ГАП-К-1 и ГАП-К-2)

2. Основные результаты

Кинетика синтеза препаратов представлена на рис. 1.

Данные рис. 1 представляют изменение кинетики формирования частиц ГАП на начальном этапе их зарождения в присутствии коллагена. В дальнейшем кинетика продолжается до достижения pH, указанных в табл. 1 (время – примерно 8 ч). Для эксперимента № 2 (ГАП-2 и ГАП-К-3) анализ хода кинетических кривых изменений pH таких существенных отличий не выявил (данные не приведены). Из данных рис. 1. видно, что в присутствии коллагена стадия первоначального зарождения частиц фосфата кальция и превращения их в ГАП идет быстрее, а рост и агрегация медленнее, чем в случае чистого ГАП-0. Визуальное наблюдение за поведением синтезированной суспензии ГАП показало, что при синтезе по методу ГАП-1 в присутствии коллагена существенно увеличивается скорость расслоения суспензии, в результате чего образуется более плотный слой осадка с высотой слоя, в 2 раза меньшей, чем в случае оседания ГАП-0. В то же время введение коллагена в синтез ГАП-2, наоборот, существенно замедляет скорость расслоения суспензии, в результате чего образуется более рыхлый слой осадка.

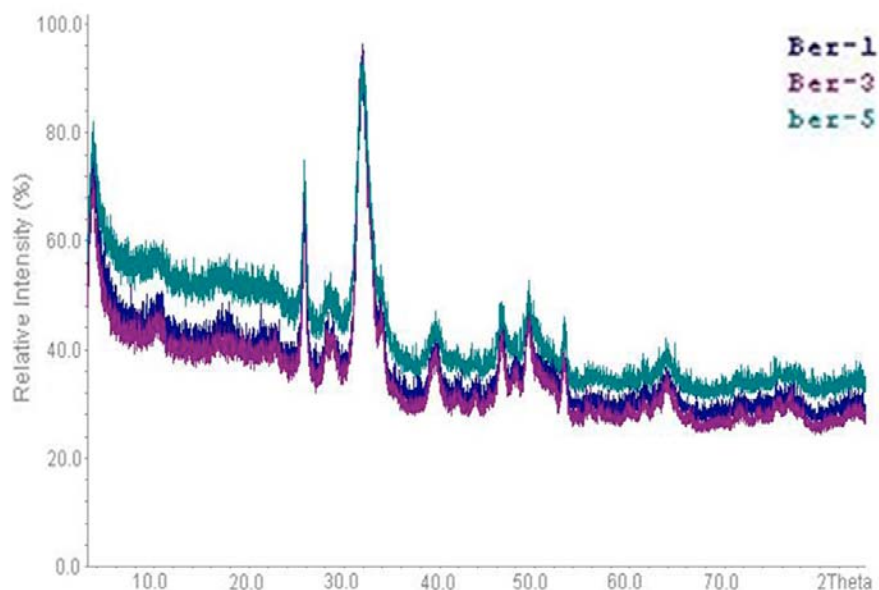


Рис. 2. РФА-спектры (ДРОН-2) образцов гидроксиапатита: ГАП-1 – (Ber-1); ГАП-К-1 – (Ber3); ГАП-К-3 – (Ber-5)

Результаты РФА представлены на рис. 2.

Анализ РФА-спектров показал, что в системе присутствует только фаза ГАП. В случае введения в синтез ГАП коллагена наблюдается только некоторое уширение основных линий, что, по-видимому, связано с уменьшением размера частиц и степени их кристалличности.

Результаты исследования образцов полученных суспензий с помощью метода оптической микроскопии представлены на рис. 3. Из данных рис. 3 видно, что образец ГАП-К-1 формируют частицы более крупного размера, чем ГАП-К-3.

Результаты электронной трансмиссионной микроскопии представлены на рис. 4. Существенное изменение морфологии нанокристаллов ГАП наблюдается в случае образца ГАП-К-2.

Результаты сканирующей электронной микроскопии препаратов, высушенных на воздухе до постоянной массы, представлены на рис. 5. Образец ГАП-К-1, как видно из рисунка, обладает более рыхлой текстурой, состоящей из более крупных элементов, по сравнению с образцом ГАП-К-2.

Для решения вопроса о возможности образования химической связи между макромолекулами коллагена и наночастицами ГАП с образованием органоминерального комплекса были проведены серии 2D гетерокорреляционных ЯМР-экспериментов с вращением образца под магическим углом для препаратов чистого ГАП, чистого коллагена и ГАП с коллагеном, получены 2D ^1H - ^{13}C HSQC спектры ЯМР высокого разрешения растворов коллагена и ГАП с коллагеном (ГАП-К-1).

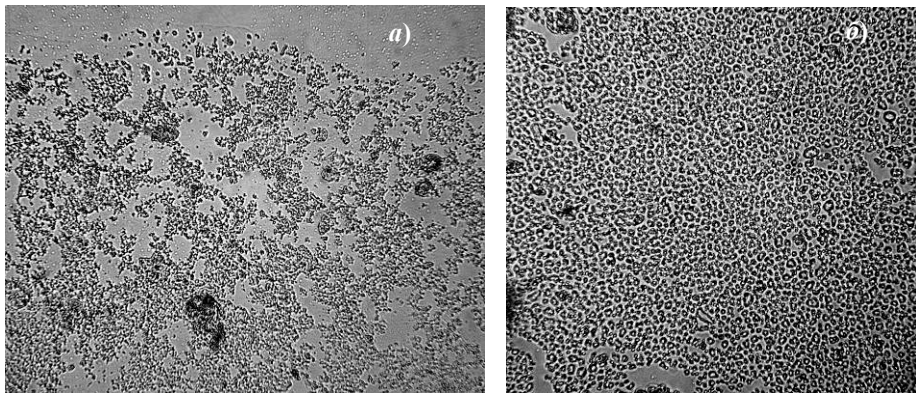


Рис. 3. Оптическая микроскопия образцов синтезированных суспензий: а) ГАП-K-3; б) ГАП-K-1. Увеличение $\times 200$

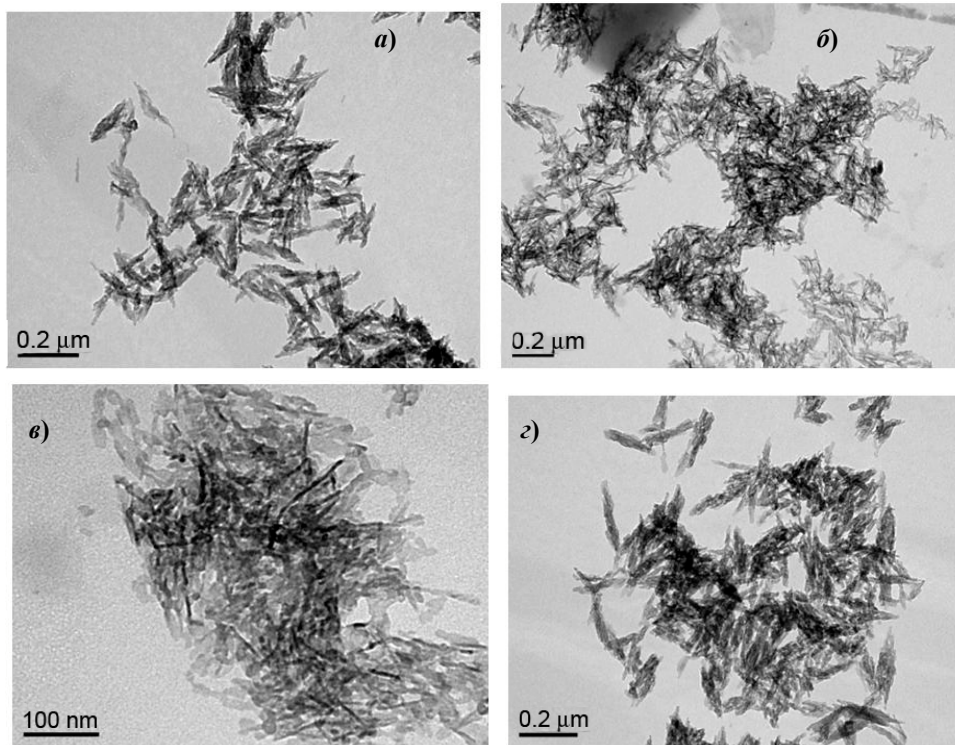


Рис. 4. Электронная трансмиссионная микроскопия образцов экспериментальных суспензий: а) ГАП-1; б) ГАП-K-1; в) ГАП-K-2; г) ГАП-K-3

2D ^1H - ^{31}P HETCOR спектр гидроксиапатита представлен на рис. 6.

Кроме того, были получены 2D ^1H - ^{13}C HSQC ЯМР-спектры раствора ГАП-0 и ГАП-K-1 (рис. 7).

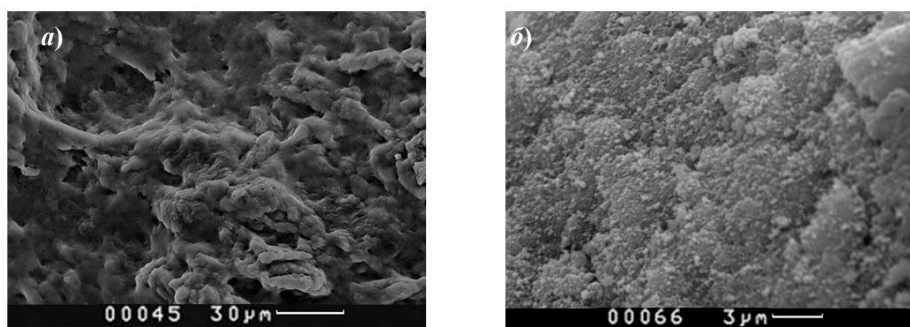


Рис. 5. Электронная сканирующая микроскопия образцов текстур препаратов: а) ГАП-К-1; б) ГАП-К-2

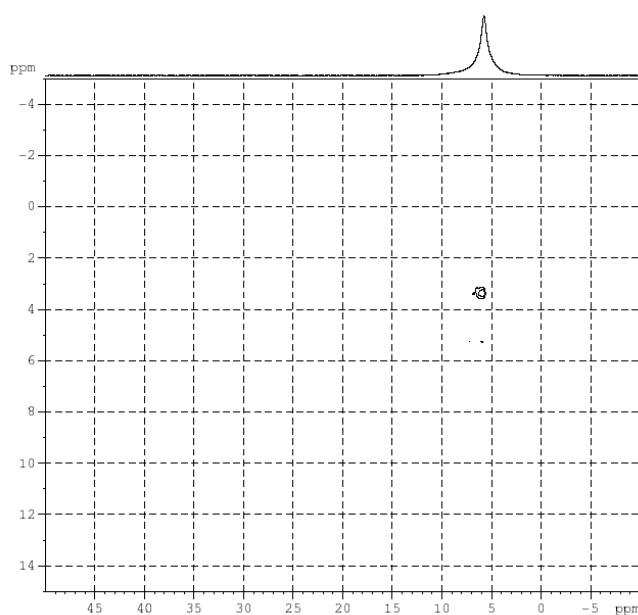


Рис. 6. 2D ^1H - ^{31}P HETCOR спектр гидроксиапатита

3. Обсуждение результатов

Наличие прочносвязанного органоминерального комплекса (за счет образования водородных связей посредством молекул воды между коллагеном и ГАП), подобно тому, который существует, по мнению многих авторов, в костной ткани или в атеросклеротических бляшках [7–10], было доказано методами ЯМР.

^1H - ^{31}P HETCOR спектр порошка гидроксиапатита (рис. 6) содержит единственный кросс-пик, относящийся к взаимодействию PO_4 - и OH -групп на пересечении сигналов с химическими сдвигами $\delta(^1\text{H})$ 3.4 м.д. / $\delta(^{31}\text{P})$ 5.8 м.д.

На основании 2D ^1H - ^{13}C HSQC и HMBSC ЯМР-экспериментов высокого разрешения было произведено соотнесение линий в спектрах растворов коллагена и ГАП – коллагена. 2D ^1H - ^{13}C HSQC спектры коллагена (рис. 7, а) и ГАП – коллагена (рис. 7, б) содержат кросс-пики, соответствующие сигналам

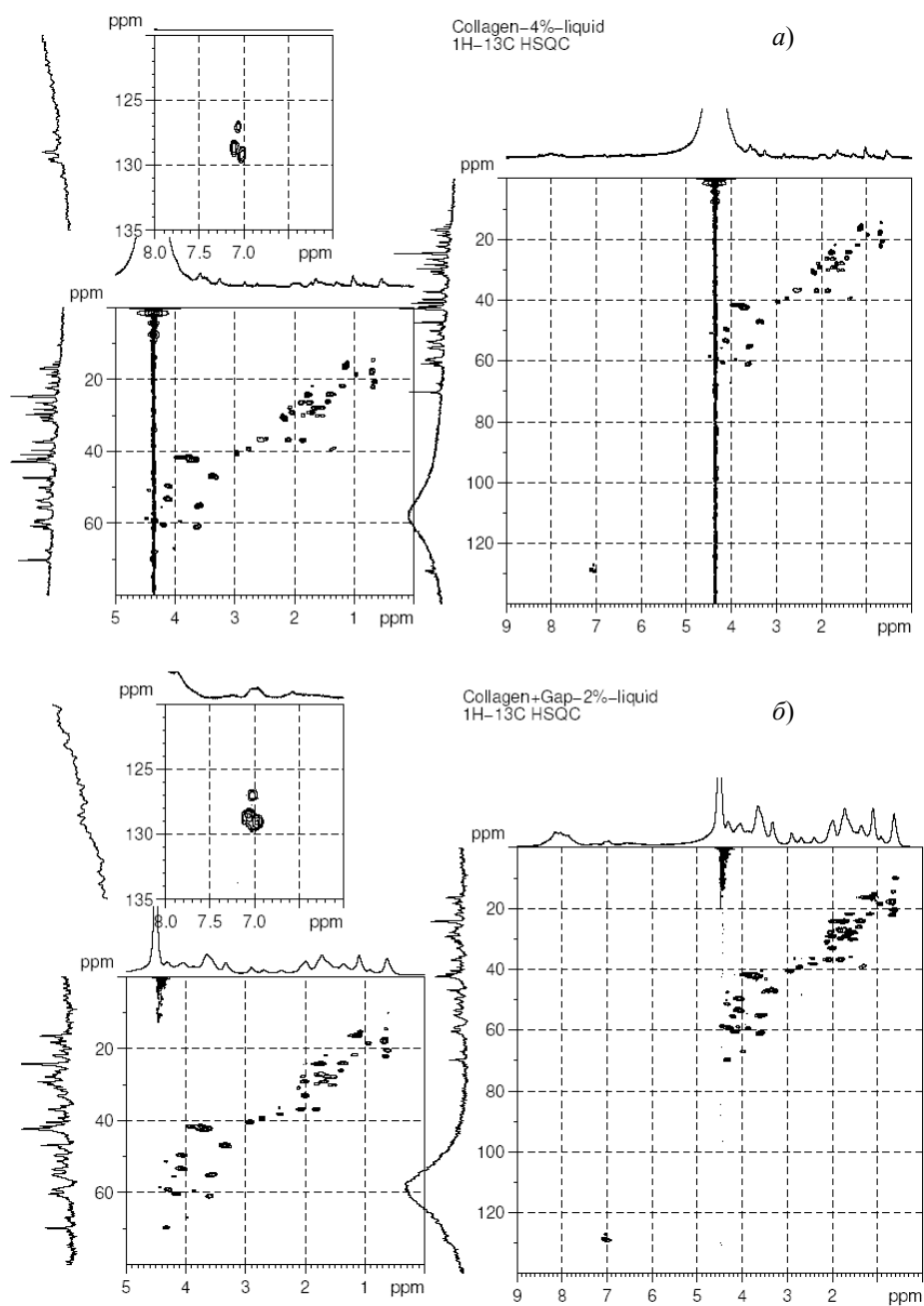


Рис. 7. 2D HSQC ЯМР-спектр раствора коллагена (*a*) и 2D HSQC ЯМР-спектр ГАП-К-1 (*б*)

следующих аминокислот коллагена: аланин (Ala), лейцин (Leu), лизин (Lys), аргинин (Arg), пролин (Pro), глутаминовая кислота (Glu), аспариновая кислота (Asp). Химические сдвиги сигналов, которые удалось разрешить в ЯМР 2D ¹H-¹³C HSQC спектрах коллагена (рис. 7, *a*) и ГАП-коллагена (рис. 7, *б*), приведены в табл. 2.

Табл. 2

Химические сдвиги основных сигналов в ЯМР-спектрах растворов коллагена и ГАП – коллагена

Коллаген					ГАП – коллаген						
	$\delta^1\text{H}$, м.д.	$\delta^{13}\text{C}$, м.д.		$\delta^1\text{H}$, м.д.	$\delta^1\text{H}$, м.д.		$\delta^{13}\text{C}$, м.д.	$\delta^{13}\text{C}$, м.д.		$\delta^1\text{H}$, м.д.	$\delta^{13}\text{C}$, м.д.
Ala β	1.2	21.7	Glu γ	2.11	36.7	Ala β	1.21	21.6	Glu γ	2.11	36.7
Leu δ	0.69	21.9	Asp β	2.77	39.3	Leu δ	0.7	21.9	Asp β	2.77	39.1
Lys γ	1.41	24.1	Leu α	3.65	61.0	Lys γ	1.41	24.0	Leu α	3.65	61.0
Arg γ	1.55	27.9	Gly α	3.72	42.3	Arg γ	1.54	27.8	Gly α	3.72	42.2
Lys δ	1.61	30.0	Pro δ	4.1	49.6	Lys δ	1.63	30.0	Pro δ	4.1	49.5
Leu β	1.39	39.5	Ala α	4.12	53.4	Leu β	1.38	39.4	Ala α	4.1	53.3
Pro γ	1.79	24.2	Glu α	4.34	59.4	Pro γ	1.79	24.0	Glu α	4.33	59.0
Arg β	1.86	29.9	Pro α			Arg β			Pro α		
			Hyp α	4.19	60.4				Hyp α	4.19	60.4
Glu β	2.05	29.1	Hyp γ	4.39	69.9	Glu β	2.05	29.0	Hyp γ	4.39	69.8
Pro β	2.18	30.6				Pro β	2.04	32.8			

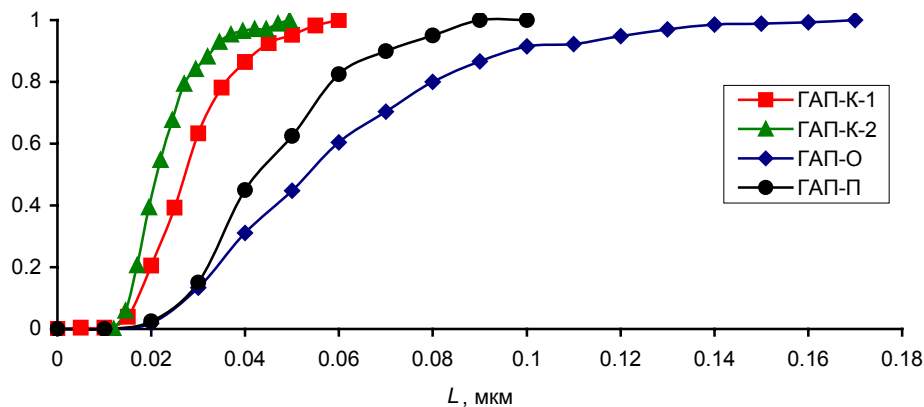


Рис. 8. Функции распределения кристаллов гидроксиапатита по длине L : ГАП-К-1 и ГАП-К-2 – гидроксиапатит с коллагеном в концентрации 0.246 и 0.945 г/л соответственно; ГАП-П – гидроксиапатит, обнаруженный в кровотоке [11]

Спектр ^1H – ^{13}C HSQC смеси коллагена и гидроксиапатита (рис. 7, б) содержит практически те же кросс-пики, что и спектр раствора чистого коллагена (рис. 7, а). Исключение составляет кросс-пик, который в чистом коллагене имеет координаты, соответствующие химическим сдвигам $\delta(^{13}\text{C})$ 30.6 м.д. и $\delta(^1\text{H})$ 2.18 м.д., этот же сигнал в спектре раствора ГАП – коллагена имеет координаты $\delta(^{13}\text{C})$ 32.8 м.д. и $\delta(^1\text{H})$ 2.04 м.д. Этот сигнал относится к β -СН-группе пролина, который, по-видимому, и участвует в процессе образования комплекса с гидроксиапатитом.

Данные трансмиссионной электронной микроскопии позволили построить функции распределения кристаллов ГАП, полученных экспериментально (рис. 8, 9).

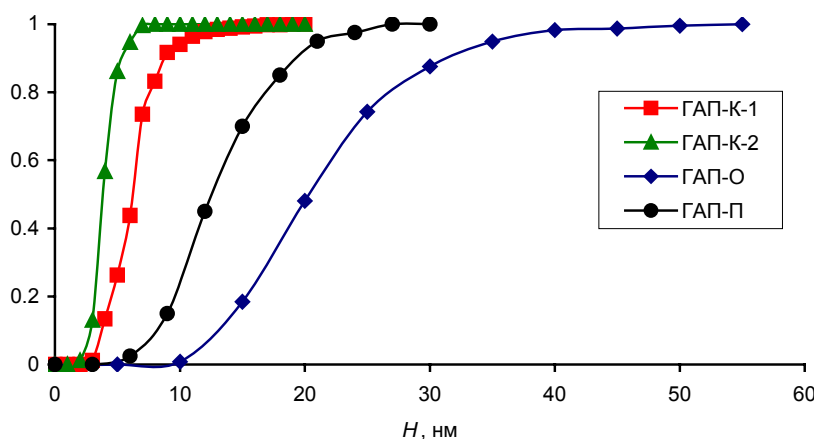


Рис. 9. Функции распределения кристаллов гидроксиапатита по ширине H : ГАП-К-1 и ГАП-К-2 – гидроксиапатит с коллагеном в концентрации 0.246 и 0.945 г/л соответственно; ГАП-П – гидроксиапатит, обнаруженный в кровотоке [11]

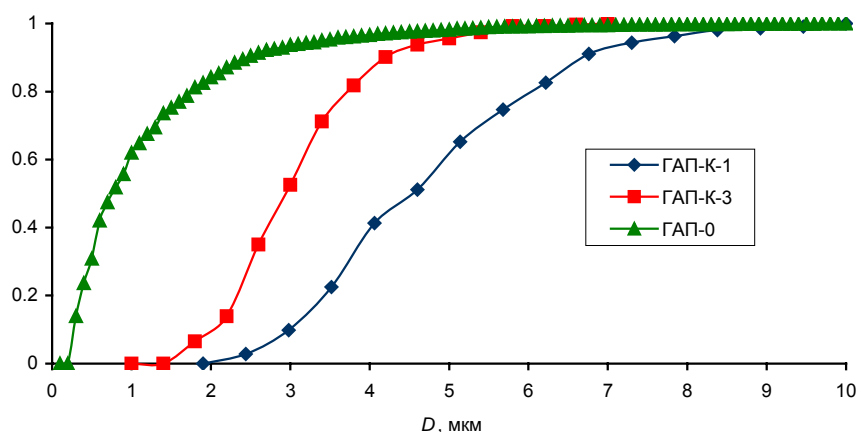


Рис. 10. Функции распределения по размерам агрегатов частиц ГАП в суспензии

Данные оптической микроскопии позволили построить функцию распределения по размерам агрегатов частиц, находящихся в суспензии (рис. 10). Образец ГАП-К-2 не отличается от образца ГАП-К-1 по структуре (РФА) и размерами образующихся агрегатов, поэтому сравнение идет только по одному из них (ГАП-К-1).

Из рис. 8 и 9 видно, что введение коллагена на стадии нуклеации ГАП приводит к существенному уменьшению длины и ширины образующихся впоследствии нанокристаллов ГАП. В случае синтеза ГАП через СаО в присутствии коллагена с концентрацией менее 1 г/л длина и ширина кристаллов ГАП практически не изменяются. Вместе с тем присутствие коллагена приводит к существенному замедлению процесса кристаллизации.

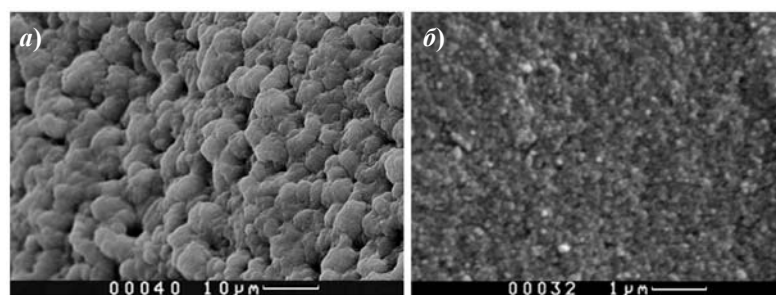


Рис. 11. Элементы пористой (агрегаты ГАП) (а) и тонкой (б) структуры, образующих иерархическую текстуру образцов ГАП-К-1

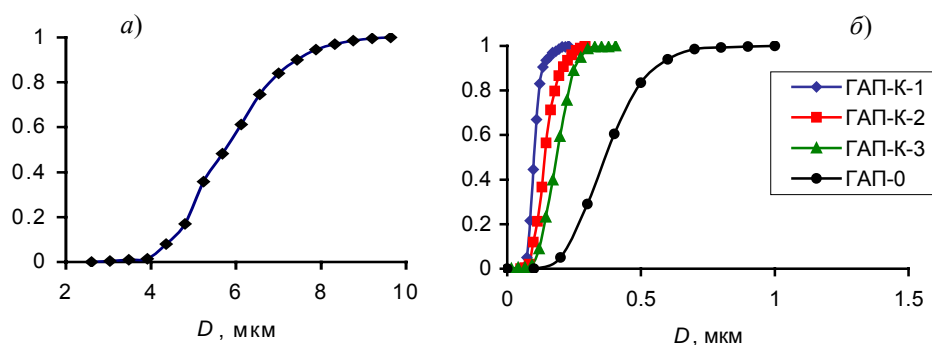


Рис. 12. Функции распределения по размеру элементов пористой (ГАП-К-1, а) и тонкой структуры различных образцов ГАП (б)

Результаты нашей работы свидетельствуют о том, что коллаген существенно влияет на процесс агрегации нанокристаллов в суспензиях. В случае ГАП-К-3 коллаген уменьшает степень агрегации нанокристаллов, препятствуя их срастанию. Образующиеся при этом крупные рыхлые флоккулы способны собираться в трехмерную сетку, тем самым препятствуя расслоению суспензии. В системе ГАП-К-1 и ГАП-К-2, наоборот, макромолекулы коллагена становятся центрами образования крупных и плотных агрегатов с формой, близкой к сферической. В результате скорость расслоения такой суспензии увеличивается с образованием более плотного слоя твердого вещества (что и наблюдается в эксперименте). Данные оптической микроскопии (см. рис. 3) и их анализ (см. рис. 10) подтверждают это предположение.

При высушивании на воздухе подобное взаимодействие коллагена и ГАП проявляется при образовании сложных иерархических текстур. Например, в случае ГАП-К-1 и ГАП-К-2 образовавшиеся крупные флоккулы кристаллов становятся основными элементами пористой твердой текстуры (рис. 11, а).

Функция распределения этих элементов по размеру приведена на рис. 12, а. Данная функция распределения близка по своим параметрам к функции распределения по размерам агрегатов в суспензии (см. рис. 10), что говорит о том, что эти агрегаты и образуют подобные текстуры. В случае ГАП-2 и ГАП-К-3 формируются текстуры с близкими по размерам основными элементами. Основное их различие заключается в увеличении механической прочности последних.

При большем увеличении в сканирующем электронном микроскопе возможно разрешение тонкой текстуры полученных образцов. Для примера приведена тонкая структура образца ГАП-К-1 (рис. 11, б), которую образуют агрегаты индивидуальных кристаллов предыдущего поколения, имеющие размеры, представленные функциями распределения на рис. 12, б.

Заключение

Таким образом, можно предположить, что при образовании ГАП при гомогенном синтезе из раствора $\text{Ca}(\text{OH})_2$ первичные кластеры фосфата кальция сорбируются макромолекулами введенного коллагена, частично образуя органо-минеральные комплексы. Такие комплексы тормозят рост наночастиц ГАП в ширину и длину, придавая им морфологию, близкую к нативным нанокристаллам ГАП, составляющим костную ткань или обнаруженным в кровотоке человека. В итоге образуются кристаллы более мелких размеров (чем нативные), объединенные с коллагеном в более крупные и плотные агрегаты.

При гетерогенном синтезе коллаген, скорее всего, сорбируется на частицах твердой фазы CaO , переходя впоследствии на частицы ГАП. При концентрациях менее 1 г/л коллаген не влияет на размер нанокристаллов ГАП, но препятствует их агрегации. В то же время известно, что коллаген в больших концентрациях способен тормозить кристаллизацию частиц ГАП, «замораживая» процесс их формирования на ранних стадиях [6].

И в том и в другом случае ГАП с коллагеном образует единый органо-минеральный комплекс, при этом основная координация, по нашему мнению, происходит между нанокристаллом и аминокислотным остатком пролина в молекуле коллагена.

Полученные в экспериментах препараты образуют многоуровневые иерархические текстуры с широким спектром физико-химических свойств, в которых коллаген может выступать в качестве как каркаса, так и ядра структурных элементов такой текстуры (см. рис. 11, а).

Результаты экспериментов позволяют приблизиться к пониманию механизмов взаимодействия ГАП и коллагена в живых системах и найти подходы к сдерживанию процесса минерализации атеросклеротических бляшек, а также могут служить основой для создания нового поколения эффективных препаратов ГАП и коллагена для их применения в медицине.

Summary

A.V. Severin, N.I. Silkin, L.F. Galiullina, O.N. Mazaleva, V.N. Rudin, M.Kh. Salakhov, R.N. Khairullin, Yu.A. Chelyshev. Structural Features of the Formation of Nanohydroxyapatite in the Presence of Collagen.

Morphological features of the formation of nanodisperse hydroxyapatite (HA) in the presence of different concentrations of collagen have been revealed by means of optical and electron microscopy. The possibility of nanoHA morphological modification with the formation of crystals whose geometric characteristics are close to those of native HA crystals has been shown. It has been examined how HA aggregates and forms together with collagen different hierarchical textures. By varying the collagen concentration, it is possible to control physical-chemical and mechanical properties of such textures. This makes them promising

materials for medical applications. Structural studies performed by X-ray phase analysis and NMR spectroscopy have shown that though the phase composition of the obtained samples does not change, a chemical bond is formed between collagen and hydroxyapatite with further formation of an organo-mineral complex.

Key words: hierarchic structures, morphological modification, nanohydroxyapatite, organo-mineral complexes, NMR spectroscopy.

Литература

1. *Chang M.C., Tanaka J.* XPS study for the microstructure development of hydroxyapatite–collagen nanocomposites cross-linked using glutaraldehyde // *Biomaterials*. – 2002. – V. 23, No 18. – P. 3879–3885.
2. *Kikuchi M., Itoh S., Ichinose S., Shinomiya K., Tanaka J.* Self-organization mechanism in a bone-like hydroxyapatite/collagen nanocomposite synthesized in vitro and its biological reaction in vivo // *Biomaterials*. – 2001. – V. 22, No 13. – P. 1705–1711.
3. *Zhang L.-J., Feng X.-S., Liu H.-G., Qian D.-J., Zhang L., Yu X.-L., Cui F.-Z.* Hydroxyapatite/collagen composite materials formation in simulated body fluid environment // *Mater. Lett.* – 2004. – V. 58, No 5. – P. 719–722.
4. *Kikuchi M., Ikoma T., Itoh S., Matsumoto H.N., Koyama Y., Takakuda K., Shinomiya K., Tanaka J.* Biomimetic synthesis of bone-like nanocomposites using the self-organization mechanism of hydroxyapatite and collagen // *Compos. Sci. Technol.* – 2004. – V. 64, No 6. – P. 819–825.
5. *Комаров В.Ф., Божевольнов В.Е., Мелихов И.В., Северин А.В.* Двумерно-кристаллический гидроксипатит // *Докл. РАН*. – 2000. – Т. 373, № 3. – С. 355–358.
6. *Комаров В.Ф., Северин А.В.* Особенности кристаллизации наногидроксипатита // *Тез. Междунар. науч. конф. «Кинетика и механизм кристаллизации»*. – Иваново, 2000. – С. 156.
7. *Абдульянов В.А., Галиуллина Л.Ф., Галявич А.С., Изотов В.Г., Мамин Г.В., Орлинский С.Б., Родионов А.А., Салахов М.Х., Силкин Н.И., Ситдикова Л.М., Хайруллин Р.Н., Чельшев Ю.А.* Стационарный и импульсный высокочастотный ЭПР кальцифицированной атеросклеротической бляшки // *Письма в ЖЭТФ*. – 2008. – Т. 88, Вып. 1. – С. 75–79.
8. *Galiullina L.F., Galyavich A.S., Khayrullin R.N., Salakhov M.Kh., Silkin N.I., Severin A.V.* NMR investigation of atherosclerotic plaque // *XII Int. Youth Scientific School “Actual Problems of Magnetic Resonance and its Application”*. – Kazan, 2009. – P. 154–157.
9. *Kaflak A., Kolodziejcki W.* Kinetics of $^1\text{H} \rightarrow ^{31}\text{P}$ NMR cross-polarization in bone apatite and its mineral standards // *Magn. Reson. Chem.* – 2008. – V. 46, No 4. – P. 335–341.
10. *Cazalbou S., Combes C., Eichert D., Rey C., Glimcher M.J.* Poorly crystalline apatites: evolution and maturation in vitro and in vivo // *J. Bone Miner. Metab.* – 2004. – V. 22, No 4. – P. 310–317.
11. *Ларионов П.М., Литасова Е.Е., Титов А.Т., Щукин В.С., Малов А.Н., Ларионова Н.М., Назаров В.М., Бушманова Г.М., Микова Н.А., Кливер Е.Э., Третьякова Е.А.* Минерализация клапанов сердца и ее специфические осложнения // *Патология кровообращения и кардиохирургия*. – 1999. – № 1. – С. 28–31.

Поступила в редакцию
12.01.12

Северин Александр Валерьевич – кандидат химических наук, доцент кафедры радиохимии химического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова.

E-mail: severin@radio.chem.msu.ru

Силкин Николай Иванович – доктор физико-математических наук, профессор кафедры квантовой электроники и спектроскопии Казанского (Приволжского) федерального университета.

Галиуллина Лейсан Фаритовна – инженер кафедры квантовой электроники и спектроскопии Казанского (Приволжского) федерального университета.

E-mail: gleisf@mail.ru

Мазалева Ольга Николаевна – студент Химического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова.

Рудин Всеволод Николаевич – кандидат химических наук, старший научный сотрудник кафедры радиохимии Химического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова.

E-mail: helbyv@mail.ru

Салахов Мякзюм Халимуллович – доктор физико-математических наук, профессор, заведующий кафедрой оптики и нанофотоники Казанского (Приволжского) федерального университета.

E-mail: myakzyum.salakhov@ksu.ru

Хайруллин Рустем Наильевич – доктор медицинских наук, кардиохирург, главный врач МКДЦ, г. Казань.

Чельшев Юрий Александрович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии Казанского государственного медицинского университета.

E-mail: chelyshev-kzn@yandex.ru