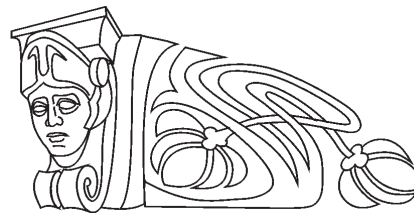




УДК 537.622.4:57.085:591.4:599.323.4:576.6:576.33:577.29:615

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ВО ВНУТРЕННИХ ОРГАНАХ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ОДНОКРАТНОМ ВВЕДЕНИИ НАНОЧАСТИЦ Fe



Н. А. Наволокин, О. В. Матвеева, Г. Н. Маслякова,
А. Б. Бучарская, Л. В. Сулейманова, С. М. Кун,
Б. А. Медведев*, А. А. Игнатъев*, Т. В. Бочкарёва*

Саратовский государственный медицинский университет им. В. И. Разумовского

E-mail: navolokin1@rambler.ru

*Саратовский государственный университет

E-mail: bmedvedev@yandex.ru

В эксперименте изучали цитотоксическое действие наночастиц железа размером 70 нм при однократном внутримышечном и пероральном введении на белых беспородных мышах и крысах. Оценивали морфологические изменения во внутренних органах, головном мозге и месте инъекции. Проведенные исследования показали, что при внутримышечном введении изменения более выражены, чем при пероральном, и проявляются признаками повреждения клеток, в то время как при пероральном введении отмечаются изменения кровенаполнения сосудов.

Ключевые слова: наночастицы, железо, токсичность, нанотоксичность.

Morphological Changes in the Internal Organs of Laboratory Animals under a Single Administration of Fe Nanoparticles

N. A. Navolokin, O. V. Matveeva, G. N. Maslyakova,
A. B. Bucharskaya, L. V. Suleymanova, X. M. Kong,
B. A. Medvedev, A. A. Ignatiev, T. V. Bochkaryeva

The cytotoxic effect of iron nanoparticles of size of 70 nm was studied in an experiment with single intramuscular and oral administration in albino mice and rats. Morphological changes were assessed in the internal organs, brain and the injection site. Studies had shown that intramuscular changes are more pronounced than when nanoparticles were administered orally and were shown in signs of cell damage while after the oral administration the blood flow changes in vessels were noted.

Key words: nanoparticles, iron, toxicity, nanotoxicity.

Введение

В настоящее время исследования в области наномедицины являются одной из самых перспективных областей науки [1, 2]. Использование наночастиц открывает новые возможности в диагностике и лечении различных заболеваний [3–9].

В частности, нанотехнологии и наноструктуры могут позволить человеку качественно повысить визуализацию и раннюю диагностику опухолей и создать лекарственные формы для

адресной доставки в определенные органы, ткани, клетки и даже органеллы клетки, открывая новые методы терапии различных заболеваний, в том числе и новообразований [5, 6, 10].

Сегодня многие исследования в области наномедицины посвящены развитию принципиально новых лекарственных форм с использованием именно магнитных наночастиц в качестве носителей для точечной доставки в клетку.

На данный момент уже много типов нанокомпозитов, сделанных из частиц железа, используются в экспериментах [3, 6, 11]. Однако неизвестно, как ферромагнитные наночастицы будут влиять как на саму опухоль, так и на организм в целом, а также какие размеры и концентрации наночастиц являются оптимальными для использования.

Магнитные наночастицы в настоящее время находят свое применение для детектирования, сортировки, иммобилизации и модификации биологически активных соединений, клеток и клеточных органелл и в качестве контрастных материалов для магниторезонансной томографии (МРТ) [8, 12].

Для эффективного использования магнитных частиц в медицинских целях требуется определенный комплекс свойств: достаточная удельная намагниченность, низкая коэрцитивная сила, высокая дисперсность, коррозионная устойчивость, бактерицидность. Во избежание риска эмболизации мелких сосудов и капилляров Н. Nobuto с соавторами считают, что размеры частиц порошка в растворе, вводимом в кровяное русло, не должны превышать 1 мкм [2]. Большинству этих параметров удовлетворяют наночастицы на основе магнетита.

К настоящему времени предложен ряд магнитоуправляемых систем на основе магнетита



[9], который не проявляет токсических свойств. Было достоверно установлено, что мелкодисперсный магнетит исчезает из кровяного русла через 1–6 ч после внутривенного или внутриартериального введения и перераспределяется по другим органам и тканям. Отмечено, что частицы магнетита через 10–12 дней после введения полностью выводятся из организма.

V. F. Chekhun с соавторами [3] в эксперименте *in vivo* на мышах установил, что наночастицы Fe при концентрациях 1.45 мкг Fe/мл и 7.25 мкг Fe/мл снижают потребление митохондриями кислорода в фосфорилированном состоянии в перевиваемой опухоли карциномы Эрлиха, что может негативно повлиять на жизнеспособность опухолевых клеток. Полученные результаты указывают на перспективу использования Fe наночастиц для увеличения эффекта цитотоксичности противоопухолевых препаратов. Тем не менее, в будущих исследованиях должны изучаться возможные токсичные эффекты магнитоуправляемых наночастиц на организм.

Следует отметить, что большинство исследований в области магнитной доставки наночастиц и их применения для МРТ и компьютерной томографии проводятся за рубежом. На территории Российской Федерации только несколько научных коллективов ведут разработки в этом направлении [11, 14–17]. Кроме того, мы не обнаружили в литературе данных относительно структурных и функциональных изменений, возникающих в тканях и органах лабораторных животных при однократном внутримышечном и однократном пероральном введении магнитоуправляемых наночастиц.

Целью настоящего исследования является изучение морфологических изменений в органах лабораторных животных при однократном внутримышечном и пероральном введении наночастиц Fe.

1. Материалы и методы

В работе использовались наночастицы Fe размером 70 ± 10 нм, 42 самца белых беспородных мышей и 18 самцов белых беспородных крыс. Экспериментальные материалы изучались с использованием органомерических и морфологических методов.

Дизайн эксперимента: данный эксперимент состоял из двух серий в зависимости от метода введения.

В первой серии каждая из 18 мышей получила по одной внутримышечной инъекции наночастиц Fe в каждое бедро. В зависимости от

вводимой дозировки животные были разделены на 3 группы: первая – 7.4 мг/кг, вторая – 11 мг/кг, третья – 14.8 мг/кг.

Во второй серии было выделено 2 группы животных – 6 самцов мышей и 6 крыс, получавших перорально однократно раствор наночастиц Fe в концентрации 5 мг/кг.

Две контрольные группы составили по 6 самцов белых беспородных мышей и 6 крыс: в первой группе животные получали однократно инъекцию физиологического раствора в каждое бедро, а во второй – однократно 1 мл физиологического раствора перорально.

Все животные выводились из эксперимента путем декапитации через 2 часа.

2. Результаты и их обсуждение

Органомерия. Для увеличения объективности нами был введен коэффициент органомерии для органов: селезенки, почек и печени, который высчитывался путем отношения массы животного на массу органа. При статистической обработке с учетом неоднородности выборки использована медиана (Me).

Так как в первой серии животные выводились из эксперимента через 2 ч (слишком короткое время для развития изменений размеров органов), органомерия внутренних органов не проводилась.

Во второй серии эксперимента были получены следующие данные: у крыс отмечалось увеличение размеров селезенки, почек и печени по сравнению с контролем; у мышей отмечалось уменьшение размеров селезенки, увеличение печени и почек. Максимально изменения размеров были выражены при однократном пероральном введении наночастиц железа (таблица).

Показатели коэффициента органомерии у крыс и мышей во второй серии эксперимента

Группа	Коэффициент органомерии		
	Селезенка	Почка	Печень
Fe (группа крысы)	126,7 ± 1,2	192,8 ± 2,05	16,6 ± 3,9
Контроль крысы	270,5 ± 29,9	298,4 ± 34,7	35 ± 3,28
Fe (группа мыши)	140,1 ± 42,15	106,3 ± 10,45	13,8 ± 0,55
Контроль мыши	112,1 ± 21,2	122,5 ± 8,9	16,5 ± 0,86

Патоморфологические изменения в органах. При однократном пероральном введении наночастиц Fe в толстом и тонком кишечнике как у крыс, так и мышей крипты имели нормальное



строение, но в подслизистой тонкого кишечника обнаруживались лимфатические фолликулы без светлого герментативного центра, а также скопления лимфоидных инфильтратов в слизистой оболочке; поджелудочной железа имела нормальное гистологическое строение, как экзокринной, так и эндокринной части.

В печени при однократном внутримышечном введении по мере увеличения дозировки нарастала выраженность полнокровия сосудов и дистрофия гепатоцитов (рис. 1). При однократном пероральном введении определялась нормальная архитектура, отмечалось умеренное полнокровие сосудов и скопление гранул гемосидерина вокруг портальных трактов. Г. Ю. Васюков, а также И. В. Мильто с соавторами [11, 18] отмечают расширение желчных и синусоидных капилляров печени, полнокровие центральной вены и краевое стояние лейкоцитов при внутривенном введении наночастиц Fe_3O_4 .

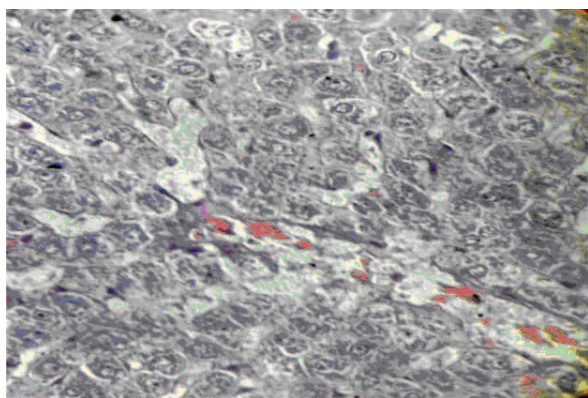


Рис. 1. Морфологическая структура печени после внутримышечного введения наночастиц железа. Окраска гематоксилин и эозином. Ув. 400

При однократном внутримышечном введении в почках наблюдалось умеренное полнокровие клубочков, набухание эпителия извитых канальцев (рис.2), при максимальной дозировке – выраженная дистрофия и единичные некрозы извитых канальцев. При однократном пероральном введении наночастиц клубочки и канальцы были не изменены, отмечалось умеренное полнокровие сосудов мозгового слоя. Другие авторы, изучавшие морфологию внутренних органов крыс при внутривенном введении Fe_3O_4 , отмечают также венозное полнокровие сосудов мозгового вещества [11, 18], но в нашем эксперименте не наблюдалось расширение капсулы Шумлянско–Боумана, что, возможно, обусловлено другим размером и методом введения наночастиц.

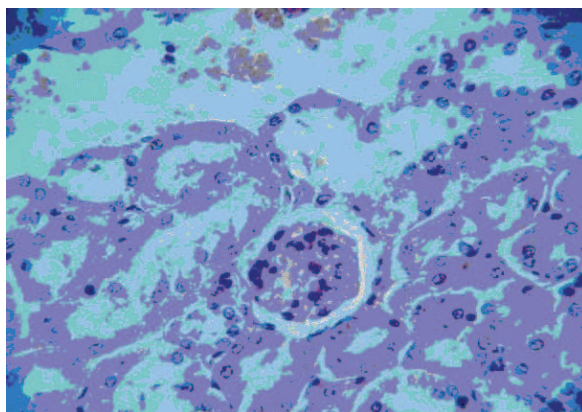


Рис. 2. Морфологическая структура почек после внутримышечного введения наночастиц железа. Окраска гематоксилин и эозином. Ув. 200

При однократном внутримышечном введении в легких при увеличении дозировки усиливался диапедез эритроцитов и утолщение стенки перибронхиальных альвеол, при дозировке 14.8 мг/кг отмечались кровоизлияния (рис. 3). При однократном пероральном введении в респираторном отделе легких отмечалось утолщение межальвеолярных перегородок за счет полнокровия и отека, гиперплазия лимфоидных элементов, периваскулярное отложение гемосидерина, что совпадает с результатами исследований [11, 18].

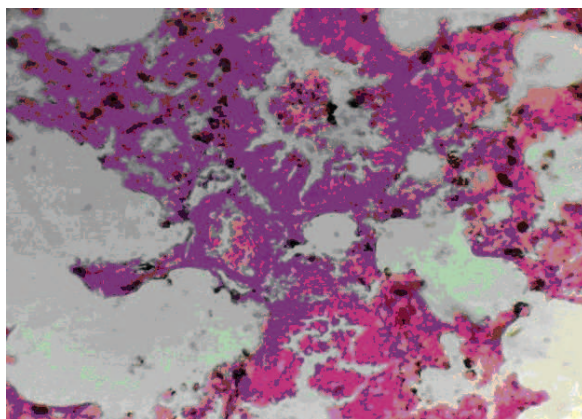


Рис. 3. Морфологическая структура легких после внутримышечного введения наночастиц железа. Окраска гематоксилин и эозином. Ув. 200

При однократном внутримышечном введении в сердце изменений не наблюдалось. При однократном пероральном введении в сердце кардиомиоциты соответствовали норме, но были выражены отек и умеренное полнокровие сосудов стромы.

При однократном внутримышечном введении в селезенку по мере увеличения дозировки обнаруживалось преобладание красной пульпы над

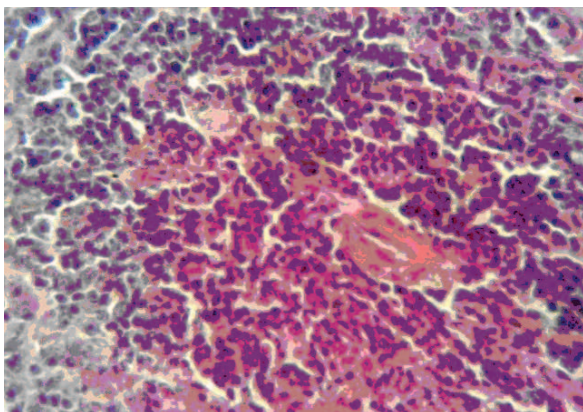


Рис. 4. Морфологическая структура селезенки после внутримышечного введения наночастиц железа. Окраска гематоксилин и эозином. Ув. 400

белой пульпой. В красной пульпе было выражено полнокровие (рис. 4). При однократном пероральном введении наблюдалось преобладание красной пульпы над белой, в лимфатических фолликулах определялись активные центры и большое скопление гранул гемосидерина. Фолликулы имели разные размеры, в единичных фолликулах обнаруживались светлые центры и нечеткая мантийная зона.

В веществе головного мозга изменений не было при обоих методах введения наночастиц железа.

В мышцах в месте инъекции обнаруживались скопления наночастиц, вокруг которых располагались формирующиеся клеточные инфильтраты, определялся отек мышечных волокон, мелкие кровоизлияния и полнокровие сосудов (рис. 5).

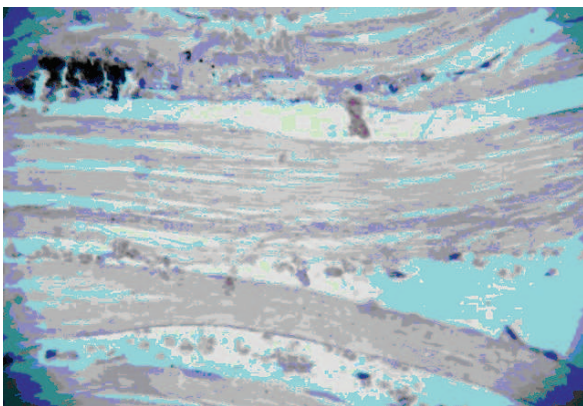


Рисунок. 5. Морфологическая структура мышцы в месте внутримышечного введения наночастиц железа. Окраска гематоксилин и эозином. Ув. 640

Заключение

При пероральном введении наночастиц у мышей и крыс было отмечено достоверное увеличение размеров почек и печени по сравнению с контролем.

Изменения во внутренних органах (легких, селезенке) при внутримышечном введении наночастиц Fe имели дозозависимый характер и проявлялись признаками нарушения кровообращения и дистрофии клеток. При увеличении дозы от 7.4 мг/кг до 14.8 мг/кг выраженность указанных изменений возрастала. При однократном пероральном введении изменения проявлялись в виде нарушения кровонаполнения и практически не отмечалось повреждения клеток. В веществе головного мозга и в сердце животных в обеих сериях эксперимента морфологических изменений не было выявлено.

Список литературы

1. *Losic D., Rosengarten G., Mitchell J. G., Voelcker N. H.* Pore architecture of diatom frustules : potential nanostructured membranes for molecular and particle separations // *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2006. Vol. 6. P. 982–989.
2. *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 // *J. Cancer.* 2004. Vol. 109. P. 627–635.
3. *Chekhun V. F., Todor I. N., Lukyanova N. Y., Shpyleva S. I., Naleskina L. A., Khaetsky I. K., Kulik G. I.* The use of nanoferrromagnetics to increase the cytotoxic effect of antitumor drugs // *Experimental Oncology.* 2009. Vol. 31, № 3. P. 163–167.
4. *Darton N. J., Hallmark B., Han X., Palit S., Slater N. K., Mackley M. R.* The in-flow capture of superparamagnetic nanoparticles for targeting therapeutics // *Nanomedicine : Nanotechnology, Biology and Medicine.* 2008. Vol. 4, № 1. P. 19–29.
5. *Fernandez-Pacheco R., Marquina C., Valdivia J. G., Ibarra M. R.* Magnetic nanoparticles for local drug delivery using magnetic implants // *J. Magn. Magn. Mater.* 2007. Vol. 311, № 1. P. 318–322.
6. *Greulich C., Kittler S., Eppler M., Muhr G., Köller M.* Studies on the biocompatibility and the interaction of silver nanoparticles with human mesenchymal stem cells (hMSCs) // *Langenbecks Arch. Surg.* 2009. Vol. 394, № 3. P. 495–502.
7. *Hergt R., Dutz S., Müller R., Zeisberger M.* Magnetic particle hyperthermia: nanoparticle magnetism and materials development for cancer therapy // *J. Phys. Condens. Matter.* 2006. № 18. P. 2919–2934.
8. *Lu J., Liong M., Zink J. I., Tamanoi F.* Mesoporous silica nanoparticles as a delivery system for hydrophobic anticancer drugs // *Small.* 2007. Vol. 3, № 8. P. 1341–1346.
9. *Kentsch J., Durr M., Schnelle T., Gradl G., Muller T., Jager M., Normann A., Stelzle M.* Microdevices for separation, accumulation and analysis of biological micro- and nanoparticles // *IEE Proc. Nanobiotechnol.* 2003. Vol. 150, № 3. P. 82–89.
10. *Arruebo M., Galan M., Navascues N., Téllez C., Marquina C., Ibarra M. R., Santamaria J.* Development of magnetic



- nanostructured silica-based materials as potential vector for drug-delivery application // Chem. Materials. 2006. Vol. 18, № 7. P. 1911–1919.
11. Васюков Г. Ю. Морфология жизненно важных органов крыс при внутривенном введении магнитолипосом // Вестн. рос. гос. мед. ун-та. 2011. Вып. 1. С. 220–221.
 12. Potter A. J., Gollahon K. A., Palanca B. J. A., Harbert M. J., Choi Y. M., Moskovitz A. N., Potter J. D., Rabinovitch P. S. Flow cytometric analysis of the cell cycle phase specificity of DNA damage induced by radiation, hydrogen peroxide and doxorubicin // Carcinogenesis. 2002. Vol. 23. P. 389–401.
 13. Neugebauer S., Muller U., Lochmuller T., Spatz J. P., Stelzle M., Schuhmann W. Characterization of nanopore electrode structures as basis for amplified electrochemical assays // Electroanalysis. 2006. Vol. 18. P. 1929–1936.
 14. Абакумов М. А., Сандилова Т. О., Гольдт А. Е., Юсубалиева Г. М. Магнитные биосовместимые наночастицы оксида железа для МРТ-диагностики // Вестн. рос. гос. мед. ун-та. 2011. Вып. 1. С. 227–228.
 15. Антипов С. А., Дамбаев Г. Ц., Ермаков А. Е., Федучак Т. А., Уймин М. А. Экспериментальное обоснование применения магнитоуправляемых липосомальных композитов в противоопухолевом лечении // Рос. биотерапевт. журн. 2009. Т. 8, № 1. С. 4.
 16. Быков И. В., Аюпджанов А. Г. Влияние наночастиц оксида железа на жизнеспособность клеток человека и животных // Вестн. рос. гос. мед. ун-та. 2011. Вып. 1. С. 228–229.
 17. Галанов А. И., Юрмазова Т. А., Савельев Г. Г. и др. Разработка магнитоуправляемой системы для доставки химиоопрепаратов на основе наноразмерных частиц железа // Сиб. онкол. журн. 2008. № 3. С. 50–57.
 18. Мильто И. В., Михайлов Г. А., Раткин А. В., Магаева А. А. Влияние наноразмерных частиц на морфологию внутренних органов мыши при внутривенном введении раствора нанопорошка Fe_3O_4 // Бюл. сиб. медицины. 2008. Вып. 1. С. 32–36.

УДК 577.31

ВЗАИМОКОМПЕНСАЦИЯ TGF-МОДЫ В ГЕМОДИНАМИКЕ ВАСКУЛЯРНОГО ДЕРЕВА НЕФРОНОВ

Д. Д. Постнов, О. В. Сосновцева*, Д. Э. Постнов

Саратовский государственный университет

E-mail: postnovdima@gmail.com

*Университет г. Копенгагена, Дания

E-mail: olgavita7@gmail.com



Путем вычисленного эксперимента были исследованы и сопоставлены с экспериментом колебательные режимы, вызванные взаимодействием нефронов в составе васкулярного дерева. На основе полученных данных вычислялся кровоток во всех ветвях, а также рассчитывались фурье-спектры мощности для характеристики его спектрального состава. Обнаружен механизм, основанный на взаимокompенсации частот модуляции потоков крови на каждом уровне ветвления сосудов, приводящий к автолокализации гемодинамического взаимодействия.

Ключевые слова: почка, нефрон, гемодинамическая связь, васкулярная связь, TGF колебания.

D. D. Postnov, O. V. Sosnovtseva, D. E. Postnov

TGF-Mode Elimination in Hemodynamics of Vascular Nephron Tree

By means of numerical experiment, we studied the oscillating patterns, generated by the interaction of nephrons in the vascular tree and compared them with experimental data. Based on these results we calculated the blood flow in all branches, as well as its Fourier power spectra, to characterize its spectral composition. We reveal the mechanism responsible for the effective localization of hemodynamic interaction based on elimination of modulation rhythms of blood flow at each branching level.

Key words: kidney, nephron, hemodynamic interaction, vascular interaction, TGF oscillations.

Введение

Как впервые было установлено в 1983 г., самоподдерживающиеся колебания давления в проксимальном канальце нефрона играют важную роль в поддержании физиологически адекватных параметров процесса формирования первичной мочи и соответственно в функционировании всей почки [1]. Доказано, что упомянутые колебания имеют различный характер в норме и при гипертензии [2,3]. Эффекты синхронизации колебаний давления фильтрата близкорасположенных нефронов неоднократно фиксировались экспериментально [4, 5], а также исследовались методами математического моделирования [6, 7, 8]. Недавние исследования пространственного распределения ритмов авторегуляции методом лазерной спекл-флоуметрии на основе лазерного сканирования поверхности почки выявили относительно небольшие и нестабильные области, характеризующиеся одинаковой частотой TGF ритма («tubulo-glomerular feedback») [9]. Однако TGF ритм не наблюдается в колебаниях кровотока