

РЕАКЦИЯ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ КРОЛИКОВ НА ВНУТРИВЕННОЕ ВВЕДЕНИЕ НАНОАЛМАЗОВ

Жуков Е.Л.¹, Медведева Н.Н.¹

¹ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, Красноярск, Россия (660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1), e-mail: evgen_patolog@mail.ru

При введении органозоля модифицированных наноалмазов в краевую ушную вену кроликов не наблюдается изменений в строении внутренних органов на системном, органном и тканевом уровнях. Гистоархитектоника сердца, легких, печени и почек сохранена и не имеет каких-либо отличий от аналогичных органов животных контрольной группы. Конгломераты наноалмазов визуализируются в сосудах микроциркуляторного русла легких, печени и почек. В сосудистом русле сердца конгломераты наноалмазов не определяются. Такое распределение наноалмазов в организме экспериментальных животных может свидетельствовать о том, что наноалмазы при контакте с кровью экспериментальных животных теряют свою коллоидную устойчивость и подвергаются фагоцитозу резидентными макрофагами в почках и печени. Также можно предположить, что альвеолярные макрофаги легких играют определенную роль в распределении наноалмазов в организме экспериментальных животных.

Ключевые слова: наноалмаз, органозоль наноалмазов, внутривенное введение наноалмазов, сердце, легкие, печень, почка.

REACTION OF SAME INTERNAL ORGANS OF RABBITS BY INTRAVENOUS INJECTION OF NANODIAMONDS

Zhukov E.L.¹, Medvedeva N.N.¹

¹Krasnoyarsk State Medical university of the prof. V. F. Voyno-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russia (660022, Krasnoyarsk, street Partizan Zheleznyak, 1), e-mail: evgen_patolog@mail.ru

Injection of organosol modified nanodiamond into border vein of rabbit ear did not lead to any changes in the structure of the internal organs on the system, organ and tissue levels. Histo-architectonics heart, lungs, liver and kidneys retained and has no differences from those of the control group. Conglomerates of nanodiamonds are visualized in the microvasculature of the lungs, liver and kidneys, but not defined at the vascular channel of heart. This distribution of nanodiamonds in the body of experimental animals may indicate that nanodiamonds in contact with the blood lose their colloidal stability and undergo phagocytosis by macrophages resident in the kidneys and liver. Also can suggest that the lung alveolar macrophages also play a role in the distribution of nanodiamonds in the body of experimental animals.

Keywords: nanodiamond, organosol of nanodiamonds, intravenous injection of nanodiamonds, heart, pulmon, liver, kidney.

Несмотря на высокий уровень финансирования фармацевтической отрасли для поиска и получения новых фармакологических веществ, количество разрабатываемых новых лекарственных препаратов, тем не менее, постоянно уменьшается [4]. При этом реальное количество новых веществ, полученных с помощью различных методов биологического или химического синтеза и претендующих на роль потенциальных лекарственных средств, значительно снизилось и составляет менее одного препарата в год на одну фармакологическую компанию.

В связи с этим, можно отметить стремление современных ученых разрабатывать новые медицинские технологии лечения и профилактики различных патологических состояний на основе нанотехнологий и наночастиц [1]. Так, при изучении моделей рака

печени и молочной железы *in vivo* у лабораторных мышей многопрофильная группа ученых, инженеров и клиницистов установила, что обычно летальная доза химиотерапевтического препарата, связанная с наноалмазами, значительно уменьшает размер опухоли у животных. При этом уровень выживаемости повышается, а побочных токсических эффектов на ткани и органы не наблюдается [10].

Одним из приоритетных научных направлений нашего научно-образовательного центра «Морфология и физиология здорового человека» является «Разработка нанотехнологии биомедицинского назначения для создания новых медицинских технологий лечения социально значимых заболеваний». В качестве базового наноматериала мы выбрали наноалмазы детонационного синтеза.

Мы считаем наноалмазы высокоэффективным наноматериалом в силу их физико-химических свойств – размеры алмазных ядер 4–6 нм, удельная площадь поверхности до 420 м²/г, высокая сорбционная способность [8]. После дополнительной очистки по запатентованной технологии учеными Института биофизики СО РАН (г. Красноярск) наноалмазы приобретают уникальное свойство – высокую коллоидную устойчивость, что, на наш взгляд, делает их оптимальным материалом для разработки нанотехнологии биомедицинского значения [6, 7].

Для применения наноалмазов в этом качестве необходимо изучить эффекты их действия на организм при различных путях введения. В экспериментах, проведенных ранее, при внутривенном двукратном введении 0,3мл 1% золя модифицированных наноалмазов в 5% растворе глюкозы лабораторным крысам в хвостовую вену, гибели животных не наблюдалось. При многократном введении зольей модифицированных наноалмазов собакам были отмечены незначительные преходящие изменения в ЭХО-структуре селезенки и деятельности сердца, регистрируемой на ЭКГ. Опыт был проведен на трех животных, у которых в дальнейшем не было выявлено патологических изменений на протяжении около полугода [9]. К сожалению, в этих экспериментах не было проведено морфологическое исследование внутренних органов экспериментальных животных.

Целью настоящего исследования - изучить влияние гидрозольей наноалмазов на строение внутренних органов экспериментальных животных при их внутривенном введении.

Материал и методы

Исходными наноалмазами были наночастицы, получаемые в НПО «Алтай» (г. Бийск), которые модифицировали по запатентованной методике [6, 7]. Раствор необходимой концентрации готовили путем добавления 5% раствора глюкозы к навеске порошка наноалмазов. Затем органозоль разливали в чистую стеклянную тару, герметично закупоривали резиновой пробкой с алюминиевой обкаткой и стерилизовали в автоклаве.

Для проведения эксперимента по внутривенному введению были использованы 10 кроликов породы «бабочка» (2800–3000г), самцы. Животных случайным образом разделили на 2 группы:

1) экспериментальная группа – 5 кроликов, которым однократно вводили 5 мл 1% раствора наноалмазов на 5 % растворе глюкозы;

2) контрольная группа – 5 кроликов, которым однократно вводили 5% раствор глюкозы.

Инъекции растворов проводили в краевую ушную вену.

Через 15 минут после введения наночастиц, кроликов выводили из эксперимента с соблюдением принципов эвтаназии согласно требованиям, изложенным в «Руководстве по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях», разработанным ФГБУ «Научный центр биомедицинских технологий» РАМН [3]. При вскрытии животных оценивали внешний вид внутренних органов, для гистологических исследований забирали фрагменты сердца, легких, печени и почек и фиксировали их в течение 24 часов в 10% формалине. Изготовление гистологических препаратов и их окраску (гематоксилин-эозином и по методу Ван Гизон) осуществляли по стандартным методикам. Все гистологические препараты подвергали обзорной микроскопии для оценки общей гистоархитектоники и возможного распределения наноалмазов во внутренних органах. Морфологическое исследование проводили с помощью микроскопа Olympus BX45 с насадкой для фото-видеодокументации Olympus DP25 и пакетом компьютерного программного обеспечения Cell[^]D.

Результаты исследования и их обсуждение

При вскрытии трупов животных экспериментальной и контрольной групп органы расположены анатомически правильно, при макроскопическом исследовании нарушений в строении не выявлено. Сердце обычной формы и размеров, кровоизлияний под эпикард и эндокард нет, полости сердца заполнены жидкой темной кровью, на разрезе миокард полнокровный, красно-коричневого цвета, блестящий. Легкие заполняют плевральные полости, на разрезе бледно-розового цвета, с участками неравномерного полнокровия. Печень обычного анатомического строения, на разрезе полнокровная, темно-коричневого цвета. Почки бобовидной формы, на разрезе серо-синюшного цвета, неравномерного кровенаполнения.

При обзорной микроскопии гистологических препаратов сердца кроликов экспериментальной и контрольной групп эндокард, миокард и перикард имели обычное гистологическое строение, без патологических изменений.

В легких кроликов экспериментальной группы в капиллярах были выявлены крупные светло-коричневые полупрозрачные гранулы, сливающиеся между собой. Данные частицы наблюдаются в большом количестве в мелких кровеносных сосудах (рис. 1). Разрушения стенок альвеол и мелких бронхов не выявлено. У животных контрольной группы гистоархитектоника органа сохранена, в просвете кровеносных сосудов наблюдаются только форменные элементы крови.

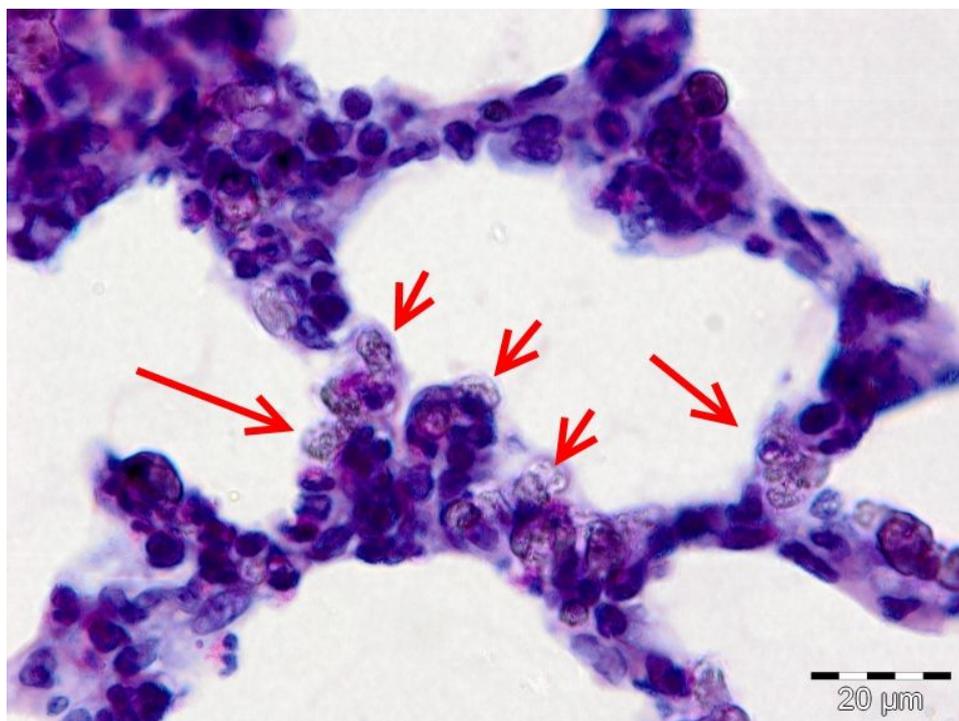


Рисунок 1. Наноалмазы в сосудах легких животных экспериментальной группы (показаны стрелочками). Окраска гематоксилин-эозин. Ув. x400.

В печени животных экспериментальной группы в синусоидных капиллярах долек также визуализируются мелкие светло-коричневые полупрозрачные гранулы, сливающиеся между собой (рис. 2), но гораздо в меньшем количестве, чем в легких – обнаруживается 1-2 конгломерата в поле зрения. У животных контрольной группы, также как и у животных экспериментальной группы, печень имеет дольково-балочное строение, но при этом в просвете синусоидных капилляров определяются только форменные элементы крови.

В почках животных экспериментальной группы в капиллярах клубочков также определяются мелкие полупрозрачные светло-коричневые гранулы (рис. 3).

В почках данные частицы встречаются значительно реже, чем в легких и в печени. Эпителий почечных канальцев без признаков некротических и дистрофических изменений. У животных контрольной группы гистологическая структура органа не нарушена, светло-коричневые частицы в почечных тельцах не обнаружены.

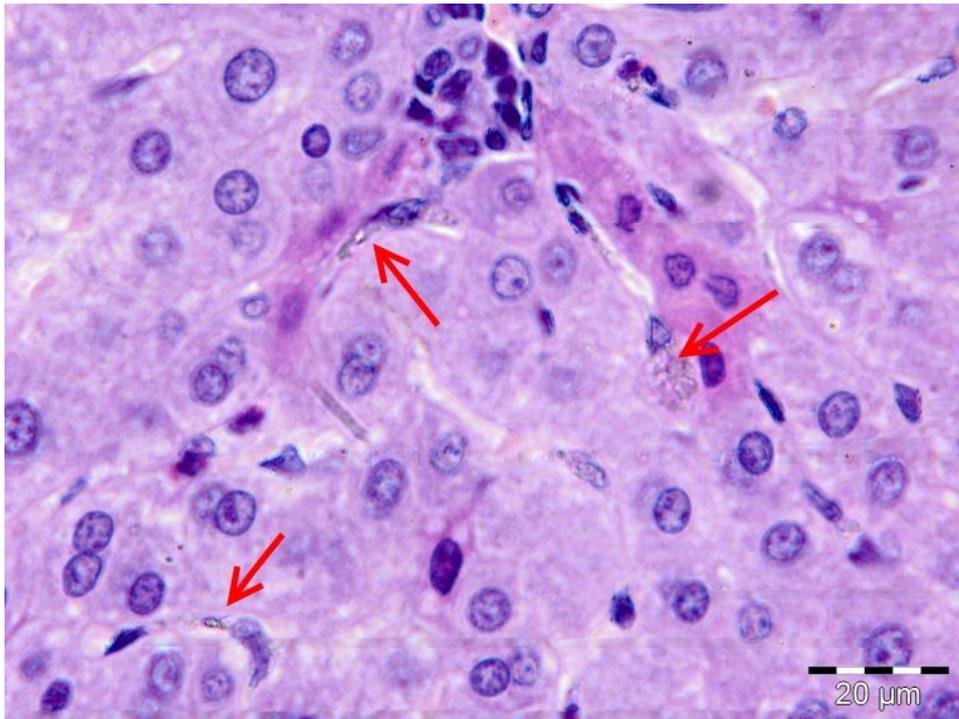


Рисунок 2. Наноалмазы в сосудах печени животных экспериментальной группы (показаны стрелочками). Окраска гематоксилин-эозин. Ув. x400.

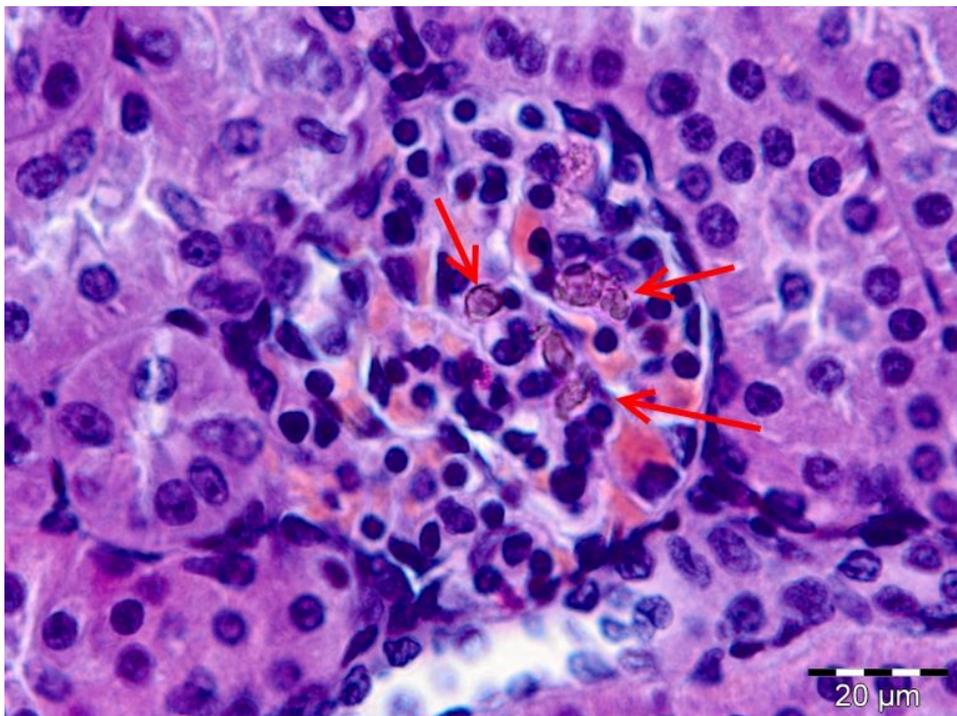


Рисунок 3. Наноалмазы в капиллярах почечного тельца животных экспериментальной группы (показаны стрелочками). Окраска гематоксилин-эозин. Ув. x400.

Учитывая отсутствие полупрозрачных светло-коричневых частиц в просвете капилляров органов животных контрольной группы, можно сделать предположение, что наблюдаемые гранулы в капиллярной сети органов животных экспериментальной группы являются конгломератами наноалмазов.

Заключение

Изучение структуры сердца, легких, печени и почек на органном и тканевом уровнях свидетельствует о том, что однократное внутривенное введение 5 мл 1% раствора наноалмазов в 5% растворе глюкозы не вызывает нарушений в структуре этих органов.

Через 15 минут после однократного внутривенного введения зольей наноалмазов, конгломераты наночастиц в наибольшем количестве визуализировались в капиллярах легких, несколько реже – в капиллярах печеночных долек, наименьшее количество наночастиц – в капиллярах почечных телец. В сосудистом русле миокарда конгломераты наночастиц не визуализировались.

Такое распределение наноалмазов может свидетельствовать о том, что наноалмазы, попав в кровеносное русло, контактируют своей поверхностью с плазмой крови, растворенными в ней веществами, вследствие чего они теряют свою коллоидную устойчивость, адгезируя между собой, формируют крупные, видимые при световой микроскопии, конгломераты, которые в той или иной степени задерживаются капиллярной сетью легких. Кроме того, учитывая данные о том, что наноалмазы в организме экспериментальных животных могут фагоцитироваться макрофагами, можно предположить, что отсутствие конгломератов наноалмазов в сосудах сердца и наличие их в синусоидных капиллярах печени и сосудистом клубочке почечных телец обусловлено присутствием клеток макрофагальной природы – клеток Купфера в печеночных дольках и мезангиоцитов почечных телец. Также можно предположить, что альвеолярные макрофаги легких также играют определенную роль в распределении наноалмазов в организме экспериментальных животных.

Для дальнейшей разработки концепции применения модифицированных наноалмазов детонационного синтеза в качестве основы препаратов биомедицинского назначения, необходимо проведение ряда экспериментов, направленных на уточнение механизмов взаимодействия наноалмазов с клетками иммунной системы и дальнейшей элиминации наночастиц из организма. Результаты таких исследований в сочетании с ранее полученными нами данными [2,5], могут стать основой для понимания взаимодействия модифицированных наноалмазов с организмом млекопитающих, создания медицинских препаратов и средств адресной доставки лекарственных веществ на основе модифицированных наноалмазов.

Авторы выражают искреннюю признательность и благодарность за помощь в проведении исследования и предоставление стерильных гидрозолей наноалмазов детонационного синтеза заведующему лабораторией нанобиотехнологии и биолюминесценции ИБФ КНЦ СО РАН (г.Красноярск), д.б.н. Бондарю Владимиру Станиславовичу, старшему научному сотруднику лаборатории нанобиотехнологии и биолюминесценции ИБФ КНЦ СО РАН (г.Красноярск) Пузырю Алексею Петровичу.

Список литературы

1. Абаева Л.Ф., Шумский В.И., Петрицкая Е.Н. Наночастицы и нанотехнологии в медицине сегодня и завтра // Альманах клинической медицины. – 2010. – № 22. – С. 10-16.
2. Жуков Е.Л., Инжеваткин Е.В., Медведева Н.Н. Реакция брюшины мышей при интраперитонеальном введении детонационных наноалмазов // Современные проблемы науки и образования. - 2015. - №5.- С.56-62.
3. Каркищенко Н.Н. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях. – М.: Медицина, 2010. – 344с.
4. Костина Г. От хита до блокбастера // Эксперт. – 2005. – №9. – С.60-64.
5. Медведева Н.Н., Жуков Е.Л., Инжеваткин Е.В. и др. Изучение противоопухолевых свойств модифицированных наноалмазов детонационного синтеза и сорбированного на них доксорубина на примере асцитной карциномы Эрлиха // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2015. – №15. – С.360-363.
6. Пузырь А.П., Бондарь В.С. Способ обработки наноалмазов//Патент России №2258671 С2. 2005. Бюл. № 23.
7. Пузырь А.П., Бондарь В.С. Способ получения наноалмазов взрывного синтеза с повышенной коллоидной устойчивостью // Патент России №2252192 С2. 2005. Бюл. № 14.
8. Пузырь А.П., Бондарь В.С., Селимханова З.Ю. и др. Динамика некоторых физиологических показателей лабораторных мышей при длительном пероральном введении гидрозолей наноалмазов // Сибирское медицинское обозрение. – 2004. – № 4(33). – С.19-23.
9. Пузырь А.П., Бортников Е.В., Скобелев Н.Н. и др. О возможности внутривенного введения стерильных золей модифицированных наноалмазов // Сибирское медицинское обозрение. – 2005. – № 1. – С.20-24.
10. Chow, E. K. Nanodiamond Therapeutic Delivery Agents Mediate Enhanced Chemoresistant Tumor Treatment / E. K. Chow, X.-Q. Zhang, M. Chen et al. // Sci. Transl. Med. – 2011. – № 3. – P.73.

Рецензенты:

Али-Риза А.Э., д.м.н., профессор кафедры патологической анатомии им. проф. П.Г. Подзолкова с курсом ПО ГБОУ ВПО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России, г.Красноярск;

Чикун В.И., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой судебной медицины ИПО ГБОУ ВПО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России, г.Красноярск.