

## **Д О В У З О В С К А Я   П О Д Г О Т О В К А**

УДК 612.062

**А.А. Власова, Т.М. Корягина**  
**ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ВВЕДЕНИЯ ЖЕЛЕЗО-**  
**МОЛИБДЕНОВЫХ НАНОЧАСТИЦ НА АПОПТОЗ МОНОНУКЛЕАРОВ**  
**КРОВИ**

МАОУ гимназия №9, Центр довузовской подготовки  
Уральский государственный медицинский университет,  
Екатеринбург, Российская Федерация

**A.A. Vlasova, T.M. Koriagina**  
**STUDY THE IMPACT OF THE INTRODUCTION OF IRON-**  
**MOLYBDENUM NANOPARTICLES ON APOPTOSIS OF BLOOD**  
**MONONUCLEAR CELLS**

Municipal educational institution Gymnasium № 9, faculty training Center  
Ural state medical university  
Ekaterinburg, Russian Federation

**Контактный e-mail:** [alexandra.vlasova.2017@yandex.ru](mailto:alexandra.vlasova.2017@yandex.ru)

**Аннотация.** В статье рассмотрено изучение влияния введения железо-молибденовых буюкибулов на апоптоз мононуклеаров крови подопытных животных (крыс). Установлено, что через семь суток происходит небольшое увеличение количественного показателя апоптоза.

**Annotation.** The article considers the study of the impact of the introduction of iron-molybdenum buckyballs apoptosis blood mononuclear cells in laboratory animals (rats). Established that after seven days a slight increase quantitative indicator of apoptosis.

**Ключевые слова:** адресная доставка лекарственных веществ, апоптоз, железо-молибденовые буюкибулы

**Keywords:** drug delivery, apoptosis, iron-molybdenum buckyballs

В наше время одной из наиболее распространенных проблем является рост заболеваемости среди населения. Рост показателей заболеваемости наблюдается практически по всем классам болезней. И один из таких классов - это онкологические заболевания. Онкология является одной из основных причин смертности во всем мире – в 2012 году произошло около 14 млн. новых случаев заболевания и 8,2 млн. случаев смерти, связанных с раком. За ближайшие 20 лет число случаев онкологических заболеваний возрастет примерно на 70% (по данным ВОЗ). В связи со столь печальной статистикой и тяжелой переносимостью противораковой терапии актуальна разработка

вариантов доставки лекарственных средств непосредственно к очагу заболевания, так называемая адресная доставка.

Доставка лекарственных средств, иначе - адресная доставка лекарственных веществ – направленный транспорт лекарственного вещества в заданную область организма, органа или клетки. Суть адресной доставки состоит в том, что само лекарственное вещество, а чаще средство его доставки (контейнер) модифицируются молекулами, узнающими рецепторы на клетках-мишенях [2].

В отличие от обычного введения лекарственного вещества и его распространения по всему организму, направленная доставка позволяет снизить дозу вводимого лекарства и минимизировать его воздействие на другие клетки (побочное действие). Один из методов адресной доставки – наночастицы различного состава.

Адресная доставка лекарственных веществ с помощью наноконтейнеров является интересным развивающимся направлением нанотехнологий. Соединения со структурой кеплератов (букиболов), объединяемые под названием полиоксиметаллы (ПОВ), являются перспективными для использования в качестве наноконтейнеров. ПОВ обладают следующими благоприятными свойствами: способностью обратимо поглощать различные органические соединения, образовывать комплексы, растворимостью в воде и способностью к движению под действием слабых электрических полей. Один из наиболее типичных букиболов – железо-молибденовый букибол  $\text{Mo}_7\text{Fe}_{30}$  [3].

Но при всех положительных характеристиках веществ, пригодных для транспорта лекарственных веществ, сами по себе они могут оказывать на организм пагубное влияние. Следовательно, стоит внимательно изучить их действие на подопытных животных и взвесить все за и против прежде, чем использовать для человека. Например, введение этих веществ может пагубно повлиять на кровь, как на среду, разносящую наноконтейнеры по организму, и вызвать апоптоз клеток крови.

**Цель исследования** – изучение влияния введения железо молибденовых наночастиц на апоптоз мононуклеаров крови млекопитающего.

#### **Материалы и методы исследования**

Экспериментальная часть проекта проходила на базе Института Иммунологии и Физиологии Уральского Отделения Российской Академии Наук в лаборатории биохимии и морфологии под руководством научного сотрудника института Мухлыниной Елены Артуровны, в период с июня по август 2015 года.

Для эксперимента было сформировано две группы крыс: интактные и крысы, которым был введен раствор железо-молибденовых наночастиц. Опыты проводились на крысах породы хаски. Средняя масса самцов - 340г, самок - 270г. В экспериментах было использовано 18 животных. В экспериментальной группе – 10 животных, интактных – 8.

Подготавливался раствор наночастиц концентрацией 1 мг на 1 мл. Далее он вводился инсулиновым шприцом в мышцу бедра предварительно усыпленным эфиром животным экспериментальной группы из расчета 0,15 мг на 100 г массы животного [3].

Забор крови производится из хвостовой вены у обеих групп животных (у экспериментальной через 2 часа, сутки и семь суток после введения раствора наночастиц). Из образцов цельной крови посредством градиентного центрифугирования были выделены мононуклеары, которые отмывались и окрашивались флуоресцентными красителями: аннексином V и 7 актиноаминомицином-D.

Затем образцы анализировались при помощи проточного цитометра. Во время апоптоза клетки высвобождают фосфатидилсерин на клеточную поверхность. Аннексин V хорошо связывается с фосфатидилсерином и гораздо хуже с другими фосфолипидами мембраны. Такой профиль связывания позволяет использовать аннексин V в качестве агента для определения клеток, подвергнувшихся апоптозу. Но фосфатидилсерин мигрирует на поверхность мембраны и при некрозе.

Поэтому аннексин V используется в комплексе с 7-ADD, который связывается с неповрежденной ДНК, но способный проникать в клетку только при нарушении цитоплазматической мембраны [1].

#### **Результаты исследования и их обсуждение**

Первоначальные результаты анализа показывают процентное содержание клеток каждой субпопуляции (живые клетки, на ранних стадиях апоптоза, на поздних стадиях апоптоза, подвергшиеся некрозу). Для достоверного установления различий между образцами интактных животных и образцами экспериментальной группы через два часа, сутки и семь суток полученные результаты подвергались статистической обработке с помощью U-критерия Манна-Уитни. Вычислялась величина U, и если полученное значение U меньше  $U_{кр}$  (для данных выборок  $U_{кр}$  (с погрешностью 0.05) = 23) или равно ему, то признается наличие существенного различия между уровнем признака в рассматриваемых выборках. Результаты обработки сведены в таблицу (табл. 1).

Таблица 1

Результаты статистической обработки

| Сравнение интактных и 2 часа | Значение U |
|------------------------------|------------|
| Живые                        | 42,00000   |
| Ранний апоптоз               | 40,00000   |
| Поздний апоптоз              | 36.50000   |
| Некроз                       | 37.50000   |
| Интактные и 1 сутки          | Значение U |
| Живые                        | 38.50000   |
| Ранний апоптоз               | 37.00000   |
| Поздний апоптоз              | 33.00000   |
| Некроз                       | 41.50000   |

| Интактные и 7 суток | Значение U |
|---------------------|------------|
| Живые               | 35,00000   |
| Ранний апоптоз      | 32,50000   |
| Поздний апоптоз     | 17,50000   |
| Некроз              | 11,50000   |

Через 2 часа и через сутки после введения крысам раствора железо-молибденовых наночастиц апоптоз мононуклеаров крови не увеличивается.

Спустя семь суток после введения раствора наночастиц количественные показатели апоптоза мононуклеаров крови повысились.

**Выводы:**

1. В ходе эксперимента было научно подтверждено предположение о влиянии  $Mo^{72}Fe^{30}$  на апоптоз мононуклеаров крови.

2. Эти наночастицы подходят по многим свойствам, и незначительное повышение апоптоза мононуклеаров может быть не критично для дальнейшего их использования.

3. Нужно исследовать влияние  $Mo^{72}Fe^{30}$  на апоптоз мононуклеаров крови и при многократном введении, ведь серьезное повышение уровня апоптоза агранулоцитов может пагубно сказаться на иммунной системе. Следовательно, полученные экспериментальные данные имеют перспективу дальнейшего изучения влияния этих наночастиц на организм.

**Литература:**

1. Войткова В.В.; «Изучение апоптоза методом проточной цитофлуориметрии»; Журнал бюллетень восточно-сибирского научного центра СО РАМН, Выпуск № 6-1 / 2010-С. 220-225

2. Ивонин А. Г. Направленный транспорт лекарственных препаратов: современное состояние вопроса и перспективы / Ивонин А. Г., Пименов Е. В., Оборин В. А / Известия Коми научного центра УРО РАН. Выпуск № 1 (9). – 2012- С. 46-55

3. Остроушко А. Исследование острого и подострого действия железо-молибденовых нанокластерных полиоксометаллатов / Остроушко А. А. А., Тонкушина М. О., Мартынова Н. А. / Российские нанотехнологии. – Сентябрь-октябрь 2013. - Том 8, № 9-10 – С. 87-91.

УДК 615.011.4

**Е.Э.Вьюкова, Л.Т.Панченко**

**ТАНИНЫ И ЗДОРОВЬЕ**

МАОУ «Лицей №9», Центр довузовской подготовки  
Уральский государственный медицинский университет,  
Каменск-Уральский, Российская Федерация

**С.Е.Vyukova, L.T. Panchenko**