

Государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Сибирский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Васюков Георгий Юрьевич

Морфо-функциональное состояние органов и тканей крыс после внутривенного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

кандидат биологических наук,
доцент И.В. Мильто

Томск – 2015

Оглавление

Введение.....	5
Глава 1. Обзор литературы	
1.1 Определение, классификация, методы получения наноматериалов.....	12
1.2. Физико-химические свойства железосодержащих наноматериалов.....	13
1.3. Поверхностная модификация и стабилизация железосодержащих наночастиц для биомедицинского применения.....	15
1.4. Фармакокинетика углеродсодержащих и металлических наноматериалов.....	24
1.5. Фармакодинамика углеродсодержащих и металлических наноматериалов.....	29
1.6. Механизмы повреждающих эффектов углеродсодержащих и металлических наноматериалов.....	34
1.7. Перспективы применения магнитных наноматериалов.....	35
Заключение по обзору литературы.....	40
Глава 2. Материал и методы исследования.....	42
Глава 3. Результаты собственных исследований	
3.1. Стандартизация суспензий модифицированных наночастиц железа	
3.1.1. Стандартизация суспензии покрытых углеродом наночастиц железа.....	51
3.1.2. Стандартизация суспензии магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа.....	54
3.2. Прижизненное распределение в организме крыс модифицированных наночастиц железа после внутривенного введения их суспензий	
3.2.1. МРТ крыс после внутривенного введения суспензий покрытых углеродом наноразмерных частиц железа.....	54
3.2.2. МРТ крыс после внутривенного введения суспензий магнитомицелл на основе покрытых углеродом наноразмерных частиц железа	58
3.3. Структура печени, легких, селезенки, почек и сердца крыс после внутривенного введения суспензии модифицированных наночастиц железа	
3.3.1. Структура печени, легких, селезенки, почек и сердца крыс после внутривенного введения суспензии покрытых углеродом наночастиц железа.....	62

3.3.2. Структура печени, легких, селезенки, почек и сердца крыс после внутривенного введения суспензии магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа.....	95
3.4. Ультроструктурное исследование распределения наноматериала в печени и легких крыс после внутривенного введения суспензий модифицированных наночастиц железа	
3.4.1. Ультроструктурное исследование распределения наноматериала в печени и легких крыс после внутривенного введения суспензий покрытых углеродом наночастиц железа.....	126
3.4.2. Ультроструктурное исследование распределения наноматериала в печени и легких крыс после внутривенного введения суспензий магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа.....	136
3.5. Структура эритроцитов крыс после внутривенного введения суспензий модифицированных наночастиц железа	
3.5.1. Структура эритроцитов крыс после внутривенного введения суспензий покрытых углеродом наночастиц железа.....	144
3.5.2. Структура эритроцитов крыс после внутривенного введения суспензий магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа.....	147
3.6. Гистоэнзимологическое исследование печени, почек и сердца крыс после внутривенного введения суспензий модифицированных наночастиц железа	
3.6.1. Гистоэнзимологическое исследование печени, почек и сердца крыс после внутривенного введения суспензии покрытых углеродом наночастиц железа.....	150
3.6.2. Гистоэнзимологическое исследование печени, почек и сердца крыс после внутривенного введения суспензии магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа.....	158
3.7. Биохимическое исследование плазмы крови крыс после внутривенного введения суспензии модифицированных наночастиц железа	
3.7.1. Активность ферментов плазмы крови крыс после внутривенного введения суспензии покрытых углеродом наночастиц железа.....	166

3.7.2. Концентрация общего белка и метаболитов плазмы крови крыс после внутривенного введения суспензии покрытых углеродом наночастиц железа.....	173
3.7.3. Активность ферментов плазмы крови крыс после внутривенного введения суспензии магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа...	178
3.7.4. Концентрация общего белка и метаболитов плазмы крови крыс после внутривенного введения суспензии магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа.....	184
Глава 4. Обсуждение результатов собственных исследований.....	189
Заключение.....	239
Список использованных сокращений.....	242
Список литературы.....	243
Приложения.....	278

Введение

Актуальность темы исследования. Одним из приоритетных направлений развития медицины является разработка и внедрение новых методов диагностики и терапии заболеваний. Появление у вещества в наносостоянии новых физических, химических и биологических свойств позволяет создавать материалы с уникальными механическими, оптическими и электрическими характеристиками, что открывает перспективы для их использования в медицине и биологии [36, 179]. Наноматериалы, обладающие магнитными свойствами, например, железо и его оксиды являются перспективными платформами для разработки новых лекарственных и диагностических средств [1, 80, 267]. Постоянно разрабатываются новые технологии синтеза наноматериалов, которые позволяют создавать наноструктуры с заданным комплексом свойств для решения конкретных биомедицинских задач [36, 179].

Однако, широкому внедрению наноматериалов в медицинскую практику должно предшествовать детальное изучение их физико-химических свойств и биологических эффектов. Неспецифическое взаимодействие с клетками, склонность к кумуляции, низкая скорость элиминации и коллоидная устойчивость, накопление вне органов-мишеней, а также токсичность -являются главными недостатками немодифицированных магнитных наночастиц, в том числе и наночастиц железа [10, 13, 69, 107, 304, 335]. Решением этой проблемы могут послужить разные варианты модификации поверхности наночастиц. Все покрытия, наносимые на наноразмерные материалы можно разделить на органические (липиды, полисахариды, полиэтиленгликоль (ПЭГ), поливинилэтанол, гепарин, высшие карбоновые кислоты), неорганические (графен, благородные металлы) и

смешанные (аминосиланы) [27]. Применение покрытий позволяет повысить коллоидную устойчивость водных суспензии наночастиц, снизить токсичность, увеличить их биодоступность и биосовместимость.

Изучение взаимодействия магнитных наноразмерных частиц и наноконструкций на их основе с организмом является необходимым этапом разработки их биомедицинских приложений, а также обязательным условием создания терапевтических средств нового поколения [131, 143, 256].

Перспективным и требующим детального изучения наноматериалом являются покрытые углеродом наночастицы железа. Углеродное покрытие предотвращает окисление железа, что в свою очередь позволяет сохранять у них более выраженные магнитные свойства (магнитный момент и др.)

Вследствие того, что свободно-радикальные реакции являются одним из главных повреждающих факторов немодифицированных магнитных наноматериалов, покрытие железосодержащих наночастиц углеродом, позволяет в значительной степени снизить их токсические эффекты [64, 162, 354]. Более того, покрытая углеродом поверхность представляет из себя удобную платформу для прикрепления веществ различного химического строения, что является важным фактором в сфере целевой доставки лекарственных веществ. Следует отметить, что одной из проблем применения магнитных наночастиц в медицине и биологии является их низкая коллоидная устойчивость. В настоящее время широкое применение с целью повышения агрегативной и седиментационной устойчивости нашли мицеллярные структуры на основе амфифильных молекул [103, 148, 170, 171, 234]. В качестве гидрофильного компонента мицеллы с целью повышения биосовместимости, а также времени циркуляции в кровеносном русле, наиболее широко применяют ПЭГ и его производные [111].

Степень разработанности темы исследования. На данный момент имеется достаточно мало информации о способах стабилизации покрытых углеродом наночастиц железа, которые повышают их биосовместимость. Практически отсутствуют данные об особенностях влияния покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе на организменном уровне, их

фармакокинетики и фармакодинамики (неоднозначно определены органы-мишени и вызываемые в них морфо-функциональные изменения, а также ответные реакции организма). Большинство работ по изучению биологических эффектов модифицированных наночастиц железа и наноконструкций на их основе осуществляются в условиях *in vitro* (влияние на отдельные биомолекулы, ферменты или клеточных популяций).

Цель исследования: изучить структуру и функциональное состояние внутренних органов крыс после однократного и многократного внутривенного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа.

Задачи исследования:

1. Приготовить водно-солевую суспензию магнитомицелл на основе покрытых углеродом наноразмерных частиц железа для внутривенного введения и провести её стандартизацию.

2. Изучить морфологические изменения в печени, легких, почках, сердце и селезенке крыс после однократного (в дозах 6 и 60 мг(Fe)/кг_(массы тела)) и многократного (от 24 до 120 мг(Fe)/кг_(массы тела)) внутривенного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа.

3. Охарактеризовать в динамике функциональное состояние печени, почек и сердца крыс после однократного (в дозе 6 и 60 мг(Fe)/кг_(массы тела)), а также многократного (от 24 до 120 мг(Fe)/кг_(массы тела)) внутривенного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа.

4. Выявить влияние магнитомицелл на основе покрытых углеродом наноразмерных частиц железа после однократного (в дозе 6 и 60 мг(Fe)/кг_(массы тела)) и многократного (от 24 до 120 мг(Fe)/кг_(массы тела)) введения. на структуру эритроцитов крыс.

5. Сравнить биологические эффекты покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе после однократного (в дозе 6 и 60 мг(Fe)/кг_(массы тела)) и многократного (от 24 до 120 мг(Fe)/кг_(массы тела)) введения.

Научная новизна. Впервые исследовано комплексное влияние магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа на морфо-

функциональное состояние органов крыс после однократного и многократного внутривенного введения их суспензии в различных концентрациях в динамике. Выявлен ряд структурных и биохимических изменений печени, легких, почек, сердца и селезенки крыс, обусловленных внутривенным введением магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа. Продемонстрировано накопление магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа в клетках системы мононуклеарных фагоцитов (МНФ) печени, селезенки, легких и почек крыс. Впервые показано, что внутривенное введение магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа вызывает ряд дисциркуляторных расстройств в печени, легких, почках, сердце и селезенке, а также моноцеллюлярные (фокальные) некрозы в печени и почках крыс. Впервые проведен ультраструктурный анализ печени и легких крыс после одно- и многократного внутривенного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа в разных дозах. Продемонстрировано влияние магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа на структуру эритроцитов крыс после однократного и многократного внутривенного введения. Выявлено изменение активности органоспецифических ферментов и концентрации метаболитов плазмы крови крыс после одно- и многократного внутривенного введения суспензии магнитомицелл на основе покрытых углеродом. Впервые установлено изменение активности внутриклеточных ферментов гепатоцитов, кардиомиоцитов и нефроцитов после однократного и многократного внутривенного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа. Продемонстрировано отсутствие выраженных изменений в отдаленные сроки (60, 90 и 120 сутки) после однократной внутривенной инъекции магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа. Показана зависимость выраженности морфологических и биохимических изменений в организме крыс от дозы магнитомицелл на основе покрытых углеродом наноразмерных частиц железа.

Теоретическая и практическая значимость работы. В ходе проведенной работы получены новые данные фундаментального характера, раскрывающие

морфо-функциональные особенности взаимодействия магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа с тканями и органами крыс. Полученные результаты дополняют имеющиеся знания о биологических эффектах поверхностно модифицированных наноматериалов.

Отсутствие гибели животных и характер структурных и метаболических изменений в клетках и внутренних органах крыс, указывают на их обратимость. Продемонстрировано развитие комплекса компенсаторно-приспособительных реакций после внутривенного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа. Полученные данные указывают на принципиальную возможность использования магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа для решения биомедицинских задач в области адресной доставки, магнитной гипертермии и МРТ диагностики. Основываясь на полученных данных о фармакокинетике и фармакодинамике магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа, возможна разработка стратегии по их использованию в терапевтических и диагностических целях.

Методология и методы исследования. Дизайн эксперимента и набор используемых в работе методов позволяет получить достоверную информацию о влиянии магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа на структуру и функциональное состояние внутренних органов крыс. Достаточное количество животных дает возможность провести обобщение полученных экспериментальных данных, сформировать представления об основных типах патологических процессов, возникающих после введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа выявить органы-мишени, оценить компенсаторно-приспособительные реакции организма крыс. В работе использован комплекс современных и традиционных морфологических и биохимических методов, которые способствуют получению достоверной информации о биологических эффектах магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа на организм в эксперименте.

Положения выносимые на защиту:

1. Модификация покрытых углеродом наночастиц железа с помощью DSPE-PEG-2000 повышает коллоидную устойчивость их водной суспензии.
2. Однократное и многократное внутривенное введение магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа приводит к их захвату и накоплению мононуклеарными фагоцитами печени, легких, селезенки и почек крыс.
3. Однократное и многократное внутривенное введение магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа вызывает морфологические изменения в печени, легких, почках, селезенке и сердце крыс, а также сопровождается увеличением количества патологических форм эритроцитов.
4. Однократное и многократное внутривенное введение магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа приводит к изменению активности внутриклеточных ферментов печени, почек и сердца крыс, а также активности ряда органоспецифичных ферментов и концентрации метаболитов плазмы крови крыс.

Степень достоверности и апробация результатов. Высокая степень достоверности полученных результатов обеспечивается использованием комплекса современных и традиционных методик, достаточным объемом экспериментального материала (210 крыс) и адекватными подходами к статистической обработке количественных данных.

Основные результаты работы доложены и обсуждены на Втором конкурсе молодых ученых «Наука – практике 2012» (г. Кемерово, 2012); XI Конгрессе международной ассоциации морфологов (г. Самара, 2012); Всероссийской конференции с международным участием «Актуальные проблемы морфологии, адаптогенеза и репаративных гистогенезов», посвященной памяти член-корр. АМН СССР Ф.М. Лазаренко (г. Оренбург, 2013); XII Конгрессе международной ассоциации морфологов и VII Съезде всероссийского научного общества анатомов, гистологов и эмбриологов России (г. Тюмень, 2014).

Работа поддержана грантом на выполнение прикладных научно-исследовательских работ ГК № 454 от 26.10.2012.

По материалам диссертации опубликовано 14 работ, из них 4 полнотекстовых статьи в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

Диссертация изложена на 311 страницах машинописного текста, состоит из введения, основной части (глав «Обзор литературы», «Материал и методы», «Результаты собственных исследований» «Обсуждение результатов собственных исследований»), заключения, списка использованных сокращений, списка литературы и приложений. Библиографический указатель работы включает 371 источник, из которых 88 отечественных и 283 зарубежных. Работа иллюстрирована 73 рисунками и 25 таблицами.

Автор принимал непосредственное участие в планировании, выполнении и обработке результатов работы. Результаты получены и проанализированы автором лично.

Глава 1. Обзор литературы

1.1. Определение, классификация, методы получения наноматериалов

Впервые указал на возможность использования нанотехнологии в механике, химии и электронике Р. Фейнман в 1959 г. В научную литературу представление о наноматериалах было введено И.Д. Мороховым и Х. Гляйтером [44].

Материалы с размером структурных элементов от 1 до 100 нм называют наноструктурными или наноразмерными. Нижний предел указанного диапазона определяется минимальным размером кристалла, характеризующийся сохранением строгого набора элементов симметрии (0,5 нм для наночастиц железа; 0,6 нм для наночастиц никеля). Величина верхнего предела обусловлена возникновением у материала уникальных физических (прочности, твердости, коэрцитивной силы и др.) и биологических свойств [4, 5, 6]. Некоторые исследователи считают, что размер структурных элементов в наноматериалах может превышать 100 нм, однако объемная доля поверхностей раздела в них должна составлять более 50% [4, 179].

В настоящее время существует несколько принципов классификации наноматериалов:

По физико-химическим свойствам: наночастицы, фуллерены, нанотрубки, нанопористые материалы, нанополупроводники, нанополимеры, нанобиоматериалы.

По назначению:

- Функциональные – наноматериалы, свойства которых организуют таким образом, чтобы они могли удовлетворить конкретному назначению;

- Композиционные – наноматериалы, состоящие из двух и более компонентов, среди которых выделяются армирующие элементы, обеспечивающие необходимые механические характеристики материала, и матрицу, обеспечивающую совместную работу армирующих элементов;
- Конструкционные – наноматериалы, входящие в состав различных наноконструкций и обеспечивающие, главным образом, их механические характеристики [118].

Методы синтеза наночастиц подразделяют на химические, физические, механические. К чисто физическим методам получения наночастиц относят: конденсационные методы и методы нанодиспергирования компактного вещества [174, 214, 221, 223, 251]. К химическим методам относятся: термолиз металлосодержащих соединений, разложение металлосодержащих соединений под действием ультразвука, восстановление металлосодержащих соединений, золь-гель метод, синтез магнитных наночастиц на границах раздела газовой и жидкой фаз, а также в обратных мицеллах [61, 102, 138, 167, 237, 239, 274, 277, 319, 366, 368].

1.2. Физико-химические свойства железосодержащих наноматериалов

Уникальные физико-химические свойства наноматериалов связаны с проявлением у них квантовомеханических эффектов, которые обусловлены уменьшением размера материала и его переходом от массивного состояния к ультрадисперсному. Данные явления обуславливают существенное изменение и/или появление качественно новых механических, магнитных, тепло- и электропроводных, оптических, химических и биологических свойств [301]. Высокая доля поверхностно расположенных атомов, находящихся в иных условиях (координационное число, симметрия локального окружения и т.п.), чем атомы объемной фазы приводит к серьезному изменению или появлению новых физических свойств (высокая реакционная способность, выраженные сорбционная активность, склонность к агрегации и др.) [205, 286]. Поверхность материала в наносостоянии является местом сосредоточения кристаллических дефектов. Установлено, что процессы деформации и разрушения протекают в тонком

поверхностном слое с опережением по сравнению с внутренними объемами металлического материала, что во многом определяет механические свойства (прочность, пластичность) [3, 28, 82, 217]. Магнитные свойства наночастиц определяются многими факторами, среди которых следует выделить химический состав, тип кристаллической решетки и степень ее дефектности, размер и форму частиц, взаимодействие частиц с окружающей их матрицей и соседними частицами. Изменяются магнитные свойства весьма существенно, что наиболее отчетливо показывает различия между массивным материалом и наноматериалом [36, 49, 72, 179]. Наноструктурные сплавы ($\text{Fe}_{14}\text{Nd}_2\text{B}$, Fe_3O_4 , CoFe_2O_4 , SmCo_5 , FePt и др.) демонстрируют рекордные магнитные свойства и низкую магнитную проницаемость [68, 79, 238]. В частности, показано, что намагниченность насыщения и магнитная анизотропия наночастиц могут быть заметно больше, чем у массивного образца. Кроме того, у магнитных наноматериалов обнаружен ряд необычных свойств – высокие значения обменного взаимодействия, аномально большой магнитокалорический эффект и др. [93]. Оксидные частицы обладают более слабыми магнитными свойствами, чем наночастицы на основе металлов, однако, они более устойчивы к окислению.

В настоящее время наиболее широкое применение в биологии получили частицы наноразмерного оксида железа, что обусловлено их относительно низкой токсичностью и стабильностью магнитных характеристик [33, 49, 60, 79, 107, 238].

Обнаружены и изучаются особенности оптических свойств наноструктурных материалов. Наноразмерные материалы (Fe_3O_4 , CoFe_2O_4) обладают способностью к флуоресценции, что позволяет идентифицировать и детектировать их, а также использовать в качестве меток в диагностических целях или в эксперименте [47, 57, 172, 295].

Наноразмерные материалы вследствие высокой дисперсности имеют развитую удельную поверхность, а избыточная свободная энергия определяет их склонность к агрегации, которая приводит к ослаблению или утрате ряда физико-химических свойств. Важным следствием этого эффекта является необходимость предварительной стабилизации наноразмерных частиц в различных растворителях

перед применением, а также временные и материальные затраты на разрушение имеющихся агломератов (ультразвуковое, магнитное дезинтегрирование) [1].

С другой стороны, высокая сорбционная активность наночастиц представляет важное преимущество и положена в основу создания высокоэффективных систем очистки растворов высокомолекулярных соединений [57, 69]. Переход материала из массивного состояния в ультрадисперсное приводит к повышению его прочности и вместе с тем к появлению сверхпластичности. Использование этих свойств имеет первостепенное значение при разработке новых высокопрочных и износостойких материалов с высокой усталостной прочностью, которые незаменимы при создании протезов, имплантатов и искусственных органов [7, 49, 179].

1.3. Поверхностная модификация и стабилизация железосодержащих наночастиц для биомедицинского применения

Создание наносистем на основе одной или нескольких магнитных наночастиц функционализированных биосовместимыми агентами – одна из основных задач современной нанобиотехнологии. Поверхностная модификация может осуществляться по принципу капсулирования или/и образования самоорганизующегося монослоя вокруг частиц.

Модификация поверхности наноматериалов позволяет:

- повысить коллоидную устойчивость суспензий наночастиц;
- избежать опсонизации наночастиц и их фагоцитоз в организме;
- обеспечить усиление их захвата клетками-мишенями;
- направить частицы к внутриклеточным органеллам.

Для стабилизации суспензий наноматериалов используются мономерные (например, карбоксилаты, фосфаты, сульфаты) или полимерные стабилизаторы (полиакриловая кислота). Первоначальная коллоидная стабилизация наночастиц является основой для дальнейшей модификации, например кремнием или полисахаридами. Модификация поверхности наночастиц также приводит к увеличению седиментационной стабильности коллоидного раствора. Размер наночастиц, а также состояние их поверхности являются одними из главных факторов определяющими характер взаимодействия наноматериала и биомолекул,

которые являются компонентами биологических жидкостей и приводит к образованию поверхностного слоя, за счет конъюгации с белками и липидами. Способ модификации частиц и молекулярный состав поверхностного слоя влияют на клеточный захват и токсичность наноматериала [90, 306, 349, 361]. Усиление фагоцитоза наночастиц клетками-мишенями может быть достигнуто за счет связывания поверхности с векторами, обеспечивающими перенос частицы через плазмолемму. Железосодержащие наночастицы модифицированные неорганическими покрытиями имеют размеры меньше 100 нм, в то время как органическими больше 100 нм [127, 201, 222, 231, 299, 309, 355]. Заряд и гидрофильность/гидрофобность поверхности наночастиц оказывают существенное влияние на их фармакокинетику и фармакодинамику [248, 257]. Гидрофобные наночастицы склонны образовывать агрегаты в водной среде, что приводит к их захвату клетками системы МНФ. Напротив, магнитные наночастицы с гидрофильной поверхностью могут находиться в кровотоке более продолжительное время [212, 282, 313,]. Schweiger и соавт. изучили внутриклеточное распределение положительно и отрицательно заряженных наночастиц оксида железа размером 20 нм [284]. Они обнаружили, что отрицательно заряженные магнитные наночастицы оксида железа выявлялись в эндосомах и лизосомах, в то время как положительно заряженные частицы были обнаружены только внутри лизосом. Было показано, что катионные наночастицы проникают в клетку более эффективно благодаря взаимодействию с отрицательно заряженным гликокаликсом [131, 143, 256]. Другая важная характеристика поверхностно модифицированных железосодержащих наночастиц – стабильность покрытия. При использовании *in vivo* магнитных наночастиц важно предотвратить взаимодействие материала из которого изготовлены наночастицы с компонентами биологического окружения, так как основным токсическим эффектом железосодержащих частиц является освобождение ионов железа.

С другой стороны, инициация активных форм кислорода (АФК) с участием наночастиц может использоваться в комплексной терапии новообразований (прямая инъекция магнитных наночастиц в солидные опухоли). Так Уоо и сотр.

[155] создали модифицированные магнитные наночастицы: тексафирин гадолиния (III) на их поверхности был источником АФК, а магнитное ядро использовано для локальной гипертермии. Модификация поверхности наноразмерных частиц железа позволяет существенно разнообразить спектр переносимых ими терапевтических и диагностических средств (за счет ковалентных, ионных и др. типов связей), а также открывает дополнительные возможности для функционализации наночастиц. Поверхностная модификация служит важным инструментом в обеспечении пролонгированного действия некоторых препаратов и контролируемого высвобождения лекарственных веществ. С помощью поверхностной модификации удастся добиться лучшей переносимости многих лекарственных препаратов и уменьшения побочных эффектов [55].

1.3.1. Капсулирование наночастиц

Капсулирование наночастиц осуществляется путем нанесения одного или несколько веществ на их поверхность. Связь поверхностных модификаторов с наночастицей может осуществляться за счет ковалентных и нековалентных связей [141, 303, 332, 337].

Органические покрытия

Полимеры часто используются для пассивирования поверхности наночастиц во время, и после синтеза для предотвращения агрегации. Они могут быть химически или физически связаны с магнитными наночастицами [304, 314]. Кроме того, полимеры создают силы отталкивания (главным образом, стерического) для сбалансирования магнитных и Ван-дер-Ваальсовых сил притяжения, воздействующих на наночастицы. Для биомедицинского использования предпочтительны гидрофильные полимеры, содержащие карбоксильные, фосфатные, сульфатные и гидроксильные функциональные группы [94, 135, 291]. Стабилизация наночастиц магнетита ПЭГ-полиаспаратом для обеспечения multifunctionality магнитных наночастиц увеличивала биосовместимость и стабильность частиц, а также давало возможность для их объединения с терапевтическими агентами для гипертермии, МРТ и химиотерапии [110, 142]. Модифицированные ПЭГ наноразмерные частицы являются признанной

платформой для разработки систем целевой доставки [316]. Покрытия из этого полимера стабильны в широком диапазоне рН [254, 321, 323]. Модифицированные ПЭГ магнитные наночастицы способны продолжительно циркулировать в кровеносном русле (несколько часов). Важно отметить, что чем более плотное покрытие образует полимер на поверхности наночастицы, тем длительнее время их циркуляции и менее выражен захват МНФ, за счет угнетения опсонизации частиц белками [95, 125, 165, 276, 367, 371].

Связь ПЭГ с поверхностью магнитных наночастиц непрочная, поэтому многие исследователи сосредоточены на разработке методов ковалентного закрепления данного полимера. Предложен способ нанесения устойчивых биосовместимых покрытий из ПЭГ на карбонизированную поверхность магнитных частиц [185, 280]. В биомедицинской практике часто используются покрытия из полиэтиленамина и поливинилового спирта. Широкое применение нашли покрытия на основе природных молекул, так как они в наибольшей степени удовлетворяют требованию биосовместимости. Декстран, крахмал и хитозан - полисахариды, которые широко используются для покрытия железных наночастиц [241, 351]. В частности декстран или карбоксидекстран признанные компоненты клинически применяемых МРТ контрастов, таких как Resovist и Feridex. В то время как наночастицы, покрытые декстраном и крахмалом, имеют нейтральный или слабо отрицательный поверхностный заряд при физиологических значениях рН, покрытие хитозаном приводит к формированию более положительно заряженных частиц и усиливает клеточный захват. Для достижения прочного взаимодействия между поверхностью оксида железа и хитозаном, Вае и др. присоединили к хитозану дегидрооксифенилаланин и получили положительно заряженные наночастицы [48, 225]. Полисахаридное покрытие хорошая платформа для присоединения разнообразных функциональных групп [188, 329]. Покрытия из белков помимо свойств характерных для большинства из перечисленных выше покрытий могут обладать ферментативной активностью. Белки, например аполипопротеин, способствуют улучшению прохождению наночастиц через

биологические барьеры [144, 289]. Особенностью таких покрытий является необходимость поддержания структуры белков и пептидов в нативном состоянии.

В зависимости от требуемых целей можно модифицировать поверхность наночастиц таким образом, что они будут либо преимущественно подвергаться эндоцитозу, либо встраиваться в плазмолемму [29]. Важно отметить, что иммобилизация биополимеров на поверхности наночастицы приводит к стабилизации их молекул и защищает их от деградации под воздействием различных факторов. Показано, что дезоксирибонуклеиновая кислота, связанная с поверхностью наночастиц магнетита, кобальтового и литиевого ферритов, сохраняет свою стереометрию и устойчива к действию нуклеаз [32, 33]. При иммобилизации белков и ферментов на магнитных частицах их стабилизация достигается, главным образом, за счет стабилизации конформационной структуры и предотвращения ферментативной деградации [35]. Благодаря малым размерам, соединение с наночастицей не приводит к денатурации белковых молекул, что очень важно для сохранения функциональной активности и аффинности к мишени [36].

Неорганические покрытия

Z. Ван и соавт. синтезировали наночастицы железа, покрытые золотом, с размером частиц около 11 нм и толщиной покрытия около 2,5 нм, которые были стабильны в нейтральной и кислой водной среде [338]. После четырех месяцев хранения в лабораторных условиях их магнитная восприимчивость составила 96% от значения обычного железа – 210 л/г, что указывает на высокую стабильность подобных частиц. Магнитные наночастицы модифицированные золотом рассматриваются в качестве перспективных контрастных агентов для МРТ исследований [246]. Однако, толщины покрытия часто недостаточно для предотвращения агломерации за счет магнитных взаимодействий частиц [312].

Кремневое покрытие имеет несколько преимуществ, возникающих из-за их стабильности в жидкой среде, легкости поверхностной модификации и контроля взаимодействия между частицами, в зависимости от вариаций толщины оболочки. Кремниевое покрытие не только защищает магнитные ядра, но также

предотвращает прямой контакт магнитного материала с дополнительными агентами. Поверхность покрытых кремнием магнитных наночастиц является гидрофильной и готова к модификации другими функциональными группами [352].

В последнее время магнитные наночастицы, покрытые углеродом, привлекают все большее внимание, что связано с преимуществами углерода: большая химическая и термическая устойчивость в совокупности с высокой биосовместимостью [245]. Образованные слои графитизированного углерода, обеспечивают эффективный барьер против окисления и разрушения кислотами [120]. Lu и др. синтезировали высокостабильные наночастицы кобальта, покрытые углеродом, с размером около 11 нм [191]. Более того, модифицированные углеродом наночастицы, часто находятся в металлическом состоянии, следовательно имеют более высокий магнитный момент, чем соответствующие оксиды.

Покрытие наночастиц железа углеродом (10-12 нм) приводит к их пассивированию, что препятствует свободно-радикальным процессам и исключает реализацию повреждения молекул и клеток через оксидативный стресс [64]. Наночастицы железа, покрытые углеродом, можно использовать для адсорбции токсинов, антибиотиков, патогенов и доставки лекарственных препаратов. Несмотря на то, что магнитные наночастицы, покрытые углеродом, имеют много преимуществ, такие частицы часто получают в виде агломератов.

1.3.2. Самоорганизующиеся слои на поверхности наночастиц

Для создания водных дисперсий магнитных наночастиц широкое применение нашел принцип, основанный на самоорганизующихся слоях [103]. Амфифильные молекулы в определенных растворителях склонны образовывать мономолекулярные слои. Этот эффект используется для заключения наночастиц в полость везикулы, сформированной такими молекулами, позволяет предотвратить агрегацию наноразмерных частиц и стабилизировать суспензию.

Липосомы

Одним из вариантов использования принципа самоорганизующихся слоев является заключение наночастиц в фосфолипидный бислой (липосомы),

обеспечивающий повышение биосовместимости и эффективное взаимодействие наноматериала с клеточной мембраной [27]. Липосомы представляют собой структуры переменной формы, ограниченные билипидной мембраной, в полости которых находится гидрофильная среда [244]. Терапевтические вещества могут располагаться в ядре липосомы (водорастворимые вещества), либо в ее липидной оболочке (жирорастворимые вещества). Данный подход может быть осуществлен как с помощью пассивного, так и активного нацеливания.

Пассивное нацеливание зависит от формы и размеров липосом, которые определяют особенности взаимодействия их с теми или иными биологическими структурами. Активное нацеливание подразумевает присоединение к поверхности липосом молекул различной природы (аминокислоты, нуклеиновые кислоты, антитела и т.д.), выступающих в качестве вектора и позволяющие повысить степень накопления наночастиц в необходимой области тела [104]. Например, липосомы, содержащие последовательности аргинин-глицин-аспаргиновая кислота и заряженные отрицательно, способны преодолевать гемато-энцефалический барьер и проникать в головной мозг [294, 320]. Заключение в полость липосомы магнитных наночастиц (магнитолипосомы) позволяет концентрировать их в определенной области тела с помощью магнитного поля. Нанесение на поверхность липосом молекул полиэтиленоксида и ПЭГ стерически стабилизирует их, такая модификация повышает время циркуляции в кровеносном русле и снижает склонность к захвату и накоплению клетками системы МНФ. Данные свойства на практике реализуются через эффект повышенной проницаемости сосудов солидных опухолей, который был описан Н. Maeda [166, 235, 236].

Мицеллы

Альтернативным вариантом использования принципа самоорганизующихся слоев являются мицеллы. Они представляют собой коллоидные частицы, лишенные полости, имеющие гидрофобную внутреннюю часть и гидрофильную поверхность. Мицеллы образованы монослоем амфифильных молекул, которые ориентированы в зависимости от свойств дисперсной среды [359].

Yokooyama [369] классифицировал мицеллы по типу объединения с переносимым агентом и по функциям. Помещение транспортируемого вещества в мицеллу может осуществляться двумя путями: образованием химической связи с полимером, из которого образована мицелла или за счет физического улавливания переносимого агента, основанного на его растворимости в дисперсной среде. При этом автор отмечает, что для медико-биологического применения более предпочтительными являются последние, так как отсутствует необходимость в дополнительных функциональных группах у полимеров образующих мицеллу, которые в значительной степени могут влиять на цитотоксичность полученных наноструктур. Среди возможных функций мицелл автор выделяет целевую доставку с контролируемым высвобождением лекарственного агента, осуществление фармакологических эффектов сополимеров, которыми образованы мицеллы, а также растворение веществ нерастворимых в дисперсной среде.

Одним из главных достоинств мицелл является возможность получения наноконструкций очень малых размеров (до 10 нм). Контроль размера мицелл позволяет в значительной степени влиять на интенсивность захвата полученных наноконструкций МНФ, а также на механизмы элиминации наноматериала из организма. Более того, получение наноконструкций очень малых размеров открывает возможность стерилизации их суспензий путем фильтрации, что перспективно для применения в фармакологической промышленности [369, 370].

Также следует отметить высокую коллоидную стабильность мицелл, что важно для применения их *in vivo* [370, 194, 96, 161]. Внутривенное введение гидрофобных терапевтических агентов либо полностью нивелирует, либо в значительной степени снижает их фармакологическую активность. Гидрофобное ядро, а также гидрофильная поверхность мицелл делает их перспективными для переноса прежде всего гидрофобных терапевтических агентов, а также для их сепарации. В частности, они могут использоваться для парентерального введения таких препаратов, как амфотерицин В, пропофол и паклитаксел [220]. Следует отметить, что перечисленные физико-химические свойства в значительной степени могут снижать токсичность переносимых агентов. Особенно это важно в случае

многократного введения. Тем не менее необходимо учитывать фармакокинетику и фармакодинамику самих поверхностно активных веществ из которых образована мицелла, а также продуктов их деградации [369].

Для обеспечения продолжительной циркуляции мицелл в кровотоке применяется модификация (например, ПЭГ) их оболочки, делающая мицеллы термодинамически стабильными и биосовместимыми [111]. Подобно липосомам, мицеллы применяются для создания магнитоуправляемых систем адресной доставки лекарственных препаратов (магнитомицеллы) к клеткам-мишеням. Описаны бифункциональные магнитомицеллы на основе магнетита для одновременной доставки лекарственных препаратов и визуализации поврежденных тканей [260].

В работе [129] авторы использовали мицеллы на основе 1,2-дистеароил-глицеро-3-фосфоэтаноламин-N-[метокси(полиэтиленгликоль)-2000] аммониевой соли с молекулярной массой 2000 Да (DSPE-PEG-2000) для модификации наночастиц магнетита (магнитомицеллы). Была достигнута высокая стабильность суспензии наноразмерных частиц, их размер составлял в среднем 22,14 нм. Полученные результаты объясняются наличием молекул ПЭГ во внешнем слое мицеллы, которые благодаря своим физико-химическим свойствам повышали гидрофильность полученной наноконструкции. Магнитомицеллы такого размера являются перспективными для использования в качестве контрастных агентов для МРТ исследований. Отмечено, что полученные магнитомицеллы являются удобной платформой для присоединения различных агентов способствующих как пассивному, так и активному нацеливанию [365].

Авторы работы [130] использовали для модификации наночастиц магнетита DPSE-PEG с молекулярной массой 550, 750, 1000, 2000 и 5000 Да. Была продемонстрирована зависимость размера полученных магнитомицелл и времени релаксации в магнитном поле от молекулярной массы DSPE-PEG. С увеличением молекулярной массы происходило увеличение гидродинамического радиуса полученных наноконструкций, а время релаксации снижалось.

1.4. Фармакокинетика углеродсодержащих и металлических наноматериалов

Внутривенное введение наночастиц весьма эффективно, вследствие прямого попадания в кровоток, однако, может быть сопряжено с эмболией сосудов и повреждением эндотелия. Внутримышечное, подкожное и пероральное введения наноразмерных частиц сопровождается преодолением нескольких гистогематических барьеров и снижает биодоступность и эффективность препарата [149, 210, 295, 296].

Внутримышечное и подкожное введение обеспечивает эффективную и наиболее безопасную для организма элиминацию наноразмерных частиц, что обусловлено медленным проникновением наночастиц из места инъекции в кровоток и пролонгированной активацией МНФ [1]. При введении наночастиц в кровеносное русло необходимо учитывать соотношение их линейных размеров с размером межклеточных щелей эндотелиоцитов стенки капилляров. В случае превышения частицей размера межклеточных перфораций в капиллярах, распределение наноматериала будет ограничено исключительно объемом сердечно-сосудистой системы. Капилляры опухоли имеют широкие щели между эндотелиоцитами (от 200 нм до 1,2 мкм). Это обстоятельство создает предпосылки для селективного выхода наноразмерных частиц, лежащих в данном диапазоне, и накопления внутри опухоли [211].

Проникновение наночастиц в клетку может осуществляться как по механизму эндоцитоза, так и путем механического нарушения целостности плазматической мембраны. Эндоцитозу наночастиц способствуют: небольшие размеры, гидрофильность, положительный заряд поверхности и ее связь со специфическими биовекторами [140, 175, 193]. Следует отметить, что опухолевые клетки эффективней поглощают наночастицы в связи с высоким метаболизмом и скоростью роста [99].

1.4.1. Распределение углеродсодержащих и металлических наночастиц в организме экспериментальных животных

Внутрисосудистое введения

По мнению ряда авторов наночастицы вводимые в кровеносное русло должны обладать рядом особенностей, таких как небольшие размеры, высокая коллоидная устойчивость и гидрофильность. Nobuto [163] выдвинул мнение, что размер внутривенно вводимых наночастиц не должен превышать 100 нм. Особенности распределения наночастиц магнетита при внутривенном введении подробно рассмотрены в работе Мильто и соавт. Показано, что в первые часы после внутривенного введения наночастиц магнетита происходит их активный захват МНФ внутренних органов. Обнаружено накопление наноразмерных частиц в макрофагах печени, легких, селезенки, почек. Ряд авторов указывают на накопление наночастиц магнетита в семенниках. В печени крыс после внутривенного введения наноматериала, наночастицы магнетита выявлены в клетках Купфера. Одним из возможных механизмов элиминации наноразмерных частиц магнетита в печени является миграция, макрофагов накопивших наноматериал в просвет желчных капилляров/протоков и далее в желудочно-кишечный тракт. В легких экспериментальных животных наноразмерные частицы магнетита были обнаружены в альвеолярных и интерстициальных макрофагах. Макрофаги, нагруженные наночастицами магнетита, определяли в просвете альвеол, бронхиол и бронхов. Наночастицы магнетита из легких крыс вероятно выводятся путем миграции макрофагов в просвет бронхиального дерева. Также было отмечено наличие наноматериала в почках крыс после внутривенного введения суспензии магнетита. Авторы выявляли интерстициальные макрофаги коркового и мозгового вещества, в цитоплазме которых присутствовали наночастицы магнетита. Дистрофические и некротические изменения эпителиоцитов проксимальных и дистальных извитых канальцев почек указывают на возможный механизм элиминации наноразмерных частиц магнетита путем фильтрации. Наноматериал также был обнаружен в селезенке крыс, как в белой, так и в красной пульпе.

Следует отметить, что высокие дозы (50 и 100 мг/кг_(массы тела)) наноразмерных частиц магнетита не приводили к их проникновению в головной мозг, что указывает на непроницаемость для них гемато-энцефалического барьера [43].

Ингаляционный путь введения

При ингаляционном введении накопление и распределение наночастиц в респираторном тракте определяется размером и геометрией наноматериала, формой бронхиальных путей и альвеолярных структур, частотой дыхания и временем нахождения частиц в респираторной системе. Существует зависимость между размером наночастиц и областью респираторной системы, в которой они задерживаются. С уменьшением диаметра наноразмерных частиц, они занимают более дистальные области бронхиального дерева [92].

В респираторной системе наночастицы в первую очередь взаимодействуют со слоем слизи и сурфактанта. При контакте со слизистой оболочкой бронхов происходит сорбция на ее поверхности и удаление части наночастиц, что предотвращает их проникновение во внутреннюю среду организма [269]. За счет мукоцилиарного транспорта, наноразмерные частицы удаляются из воздухоносных путей в течение нескольких дней. Захват наночастиц альвеолярными макрофагами может привести как к удалению наноматериала из респираторной системы, так и к проникновению его в межальвеолярные перегородки [92, 226, 232]. Небольшой размер наночастиц (<10 нм) позволяет им избегать фагоцитоза альвеолярными макрофагами, взаимодействовать с эпителиальными клетками и проникать в интерстициальное пространство. Железосодержащие наночастицы размером около 1 нм эффективно проникают через слизистую оболочку (> 90%) за 4 часа. Вследствие трансцитоза через эпителиальные клетки слизистой оболочки дыхательной системы наночастицы проникают в кровь и лимфу, после чего они выявляются в печени, почках, головном и костном мозге. [269]. Наночастицы фтора через 2 часа после их ингаляции обнаруживаются в кровеносной системе, внутренних органах и костях [264].

Наноразмерные частицы способны проникать в мозг при ингаляционном введении с помощью трансинаптического транспорта. При вдыхании наночастиц золота размером 1-5 нм они по волокнам обонятельных нервов через два часа проникают в головной мозг. Доказано перемещение наночастиц по обонятельным,

тройничным, трахео-бронхиальным нервам и их прохождению через нервно-мышечные синапсы, благодаря ретроградному транспорту в аксонах [156].

Макрофаги, поглотившие наноматериал, выводят его из легких путем миграции в просвет альвеол и воздухоносных путей [211, 335]. В зависимости от состава наноразмерных частиц они могут метаболизироваться, либо выводиться из органа в неизменном виде, либо оставаться в легких годами [113, 169, 358]. Например, в среднем персистенция металлических наночастиц в легких у крыс продолжается от 3 месяцев, а у человека от 2 лет [269]. Геометрия наночастиц определяет выраженность их токсических эффектов, так веретенообразная и дендритическая формы более токсичны, чем частицы сферической формы [360]. Продолжительное ингаляционное введение наночастиц диоксида титана приводило к снижению продолжительности жизни, уменьшению массы тела, развитию воспалительных реакций в легких и других органах и облитерации бронхов у крыс [106, 269, 334, 362]. Однако однократное ингаляционное введение наночастиц TiO_2 подобные эффекты не вызывало [168].

Энтеральный путь введения

Один из основных путей проникновения наноразмерных материалов в организм – пероральный. В желудочно-кишечный тракт наночастицы могут попадать с пищей, с косметическими средствами, путем проглатывания легочной мокроты, при приеме лекарственных средств на основе наноразмерных частиц. Физико-химические характеристики наночастиц и природа их поверхности влияют на степень их реабсорбции и токсичности. Гидрофобные наноразмерные частицы с нейтральным зарядом всасываются лучше, чем гидрофильные [198]. Наночастицы небольших (до 80 нм) размеров всасываются лучше и, следовательно, обладают более высокой гепато- и нефротоксичностью [269, 360, 362]. Частицы не подверженные реабсорбции поглощаются М-клетками, либо покидают желудочно-кишечный тракт естественным путем. Работы Kreyling с радиоактивными частицами иридия не показали проникновения наночастиц из гастроинтестинального тракта лабораторных животных в кровотоки и внутренние органы.

Также ^{192}Ir не выявлялся в моче, а через 2-3 дня появление наночастиц было отмечено в фекалиях [350].

1.4.2. Элиминация углеродсодержащих и металлических наночастиц из организма экспериментальных животных

В литературе рассматриваются различные механизмы выведения железосодержащих наночастиц, например, их метаболизирование в лизосомах. Снижение содержания частиц в некоторых органах, таких как печень, почки и легкие, может быть связано как с выведением наноматериала из организма крыс, так и с метаболизированием.

Наноразмерные частицы и их агрегаты, попавшие в легкие, пищеварительный тракт или кожу захватываются фагоцитирующими клетками [101, 335, 357]. Наноматериалы, проникшие в кровеносное русло, удаляются МНФ, накапливаются в печени и селезенке [25]. Вследствие развитой поверхности и, следовательно, высокой сорбционной способности длительная циркуляция отдельных наноразмерных частиц маловероятна. Свободные наночастицы и их агрегаты в организме опсонизируются высокомолекулярными соединениями такими как белки, углеводы и нуклеиновые кислоты, которые облегчают фагоцитоз наноматериала клетками системы МНФ [108]. Гидрофобные наночастицы покрывают гидрофильными полимерами для обеспечения стерического барьера, что снижает адсорбцию опсонов (иммуноглобулинов, компонентов комплемента) и, следовательно, захват фагоцитами [151, 271]. Время циркуляции наноразмерных частиц можно увеличить, используя декстран, хитозан, ПЭГ (чем выше молекулярная масса, тем дольше время циркуляции) [252].

Метаболизм ксенобиотиков в организме осуществляется ферментными механизмами. Однако, химическое превращение ряда неорганических веществ, например, наночастиц металлов и их оксидов невозможно, но допустимо присоединение к их поверхности различных функциональных групп, которые модифицируют их и делают возможным их метаболизирование [331]. Наиболее вероятным механизмом метаболизирования железосодержащих наноразмерных

частиц является их растворение в кислой среде лизосом после их интернализации по механизму эндоцитоза [288, 344].

Для большинства ксенобиотиков характерна экскреция через почки. Этот процесс происходит вследствие фильтрации, размер fenestr glomerularного фильтра не препятствует выходу низкомолекулярных соединений, в то же время он удерживает крупные молекулы, такие как белки, в кровотоке. Свободно через почечный фильтр проходят небольшие молекулы с молекулярной массой до 7 кДа, фильтрация молекул с большей молекулярной массой затруднительна или невозможна [157, 357]. Кумуляция частиц внутри фильтрационного аппарата может блокировать почечные fenestrы и приводить к острой почечной недостаточности.

Экскреция ксенобиотиков из организма происходит также посредством жёлчи, продуцируемой гепатоцитами и секретируемой в жёлчные капилляры, с последующим выходом в гастро-интестинальный тракт [149]. Высокомолекулярные соединения поступают в жёлчь везикулярным транспортом, наночастицы, вероятно, способны экскретироваться подобным образом. В работах [17, 308] показано, что при повреждениях печени увеличивается выход пероксидазы в жёлчь. Повышение активности гепатоспецифичных ферментов (аланинаминотрансферазы (АЛТ), γ -глутамилтранспептидазы (γ -ГТ), щелочной фосфатаазы (ЩФ)) в плазме крови крыс после внутривенного введения стабилизированного раствора наноразмерных частиц магнетита и покрытых углеродом частиц железа свидетельствует об активном участии печени в фармакокинетики этих наночастиц [41, 216, 227]. Среди механизмов элиминации наночастиц печенью значительную роль играет транспорт наноматериалов из сосудистого русла в жёлчь по механизму трансцитоза гепатоцитами, а также путем миграции звездчатых макрофагов в просвет жёлчных капилляров [211, 308].

1.5. Фармакодинамика углеродсодержащих и металлических наноматериалов

Биологические эффекты наноразмерных материалов обусловлены их химическим составом, размером, формой и природой поверхности. Реакционная

способность наноразмерных материалов по отношению к биологическим системам зависит от площади их удельной поверхности. Следовательно, наночастицы меньшего размера должны обладать гораздо более выраженными цитотоксическими эффектами, чем крупные [144, 145, 146].

1.5.1. Углеродсодержащие наноматериалы

В настоящее время активно изучаются особенности взаимодействия углеродных материалов (углеродных нанотрубок, фуллеренов, покрытых углеродом металлических наночастиц) с биологическими системами [115, 153, 164]. Токсические эффекты углеродных материалов обусловлены свойствами графитизированного углерода, их склонностью к агрегации и выраженными адсорбционными свойствами. Дополнительная модификация углеродных покрытий белками или другими полимерами, дает им возможность проникать через плазматическую мембрану и аккумулироваться в клеточных компартментах, не оказывая цитотоксического воздействия [348].

В ряде работ [133, 134, 283] было показано, что углеродные нанотрубки проявляют биологические эффекты сходные с асбестом. В опытах на грызунах при ингаляционном введении продемонстрирована возможность нанотрубок вызывать воспалительные процессы и оксидативный стресс в легких. Авторами работ [121, 133, 293] показано развитие фиброза и гранулем в легких. Также в литературе имеются данные указывающие на отдаленные эффекты вызванные аспирацией углеродных нанотрубок. Шведова и соавт. продемонстрировано прогрессирование интерстициального фиброза и утолщение межальвеолярных перегородок до 60 суток после ингаляционного введения углеродных нанотрубок [356]. Было отмечено, что при интраперитонеальном введении углеродных нанотрубок возникают воспалительные реакции, которые приводили к фиброзным изменениям брюшины и кишечной непроходимости [203]. Более того, однократное внутривенное введение нанотрубок крысам приводило к повреждению эндотелия сосудов и стимуляции агрегации тромбоцитов, а многократное внутривенное введение к форсированию развития атеросклеротических бляшек у ApoE-трансгенных мышей [122, 258]. Продемонстрированы цитотоксические эффекты

углеродсодержащих наноматериалов, которые осуществлялись после их интернализации и сопровождались повреждением органелл, а также без интернализации путем повреждения плазмолеммы и активации макрофагов [253, 255]. При этом Ding и соавт. исключают возможность осуществления цитотоксических процессов механизмами оксидативного стресса или апоптоза [253]. По-видимому, токсические эффекты углеродных нанотрубок обусловлены их формой и длиной, а также наличием примесей металлов, которые добавляются при их производстве [119, 203]. Фуллерены, поверхностно модифицированные гидроксильными группами и ПЭГ, подавляют образование АФК [98]. Однослойные углеродные нанотрубки и фуллерены не стимулируют синтез NO клетками [158]. С другой стороны ряд исследователей продемонстрировал, что фуллерены, а также их производные оказывают прооксидантный и токсический эффекты. Авторы работы [331] изучали воздействие C_{60} на различные типы клеток. Фуллерены проявили выраженную цитотоксичность при концентрации выше 50 ppb и LC_{60} – при концентрации 2-50 ppb. Взаимодействие клеток с фуллеренами приводило к разрушению клеточной мембраны и образованию пероксидрадикала.

1.5.2. Металлические наноматериалы

В литературе имеется большое количество работ посвященных исследованию токсичности металлсодержащих наночастиц. Подавляющее число из них посвящено изучению биологических эффектов наночастиц золота, серебра, диоксида титана и железосодержащих наноразмерных частиц.

Grassian и соавт. показали, что ингаляция наночастиц диоксида титана вызывала воспалительные процессы в легких мышей и приводило к увеличению общего количества альвеолярных макрофагов в бронхоальвеолярном лаваже. Однако, активность лактатдегидрогеназы, провоспалительных цитокинов, а также содержание белка не изменялись [204]. Chen и соавт. изучали структуру печени, легких, почек, селезенки и сердца после однократного интраперитонеального введения наноразмерных частиц диоксида титана. Гистологическое исследование печени выявило дистрофические и некротические изменения гепатоцитов, дископлексаию печеночных пластинок. В почках обнаружено расширение

капсулы Шумлянскогo–Боумена, а в легких дисциркуляторные нарушения, утолщения межальвеолярных перегородок и интерстициальная пневмония. В плазме крови мышей выявлено незначительное повышение АЛТ и АСТ [200].

В работе [330] после ингаляционного введения наночастиц диоксида титана было выявлено повышение количества нейтрофилов и моноцитов в крови, а также макрофагов и нейтрофилов в бронхоальвеолярном лаваже мышей. Внутривенное введение наноразмерных частиц диоксида титана приводило к общему отеку миокарда и легких экспериментальных животных. Более того, авторами было показано, что внутривенное введение наночастиц приводит к усилению агрегации тромбоцитов. В тоже время внутривенное введение наноразмерных частиц диоксида титана крысам не вызывало подобных изменений, однако наноматериал выявлялся в печени, селезенке, легких и почках экспериментальных животных [342]. Авторы работы [261] продемонстрировали агглютинацию эритроцитов, а также дозозависимый гемолиз после взаимодействиями с наноразмерными частицами диоксида титана. Имеются данные, что наночастицы диоксида титана вызывают цитотоксическое действие на клетки гонад мышей. Наночастицы захватывались клетками Лейдига и вызывали их дистрофические и некротические изменения [333]. Yanagisawa и соавт. показали возможность наночастиц диоксида титана оказывать повреждающее действие на кожу по типу атопических дерматитов [343]. В литературе встречаются противоречивые данные по поводу токсичности наночастиц серебра. В работе [159] показано отсутствие каких-либо структурных изменений органов при многократном ингаляционном введении наноразмерных частиц серебра. В тоже время авторы работы [318] показали, что органами мишенями для наночастиц серебра являются печень и легкие. Многократное ингаляционное введение таких наночастиц приводило к гиперплазии эпителия слизистой оболочки желчных протоков и гранулематозным изменениям легких, а также к росту маркеров воспаления в бронхоальвеолярном лаваже. Zhu и соавт. [273] выявили способность наночастиц магнетита проникать в кровеносное русло в течение 10 минут после инспираторного введения и накапливались в печени, селезенке, почках, а также семенниках. Мильто и соавт.

продемонстрировали, что внутривенное введение наноразмерных частиц магнетита вызывает комплекс изменений в печени, легких, селезенке, почках, сердце и мозге крыс. Было показано, что выраженность наблюдаемых изменений зависела от дозы наноматериала. Так, многократное внутривенное введение наночастиц магнетита приводило к увеличению количества наноматериала накопленного в органах мишенях. В печени экспериментальных животных были продемонстрированы дистрофические и некротические изменения гепатоцитов, а также комплекс гемодинамических нарушений. В легких крыс авторы работы отмечали наличие гранул, а также дисциркуляторные изменения (полнокровие артерий, вен и сосудов микроциркуляторного русла, а также общий отек интерстиция). В почках экспериментальных животных было обнаружено полнокровие капилляров почечного тельца, а также расширение капсулы Шумлянско-Боумана. Обращает на себя внимание наличие структурных изменений в сердце и мозге крыс при их отсутствии в интерстиции органов [43].

Напawa и соавт. изучили цитотоксические эффекты оксидных наночастиц различного размера (диаметр 500-3000 нм) по отношению к фибробластам [137]. Клетки подвергались инкубации с наноразмерными частицами в течение 24 часов. Оксидные наночастицы Fe_2O_3 , Fe_3O_4 , TiO_2 , Al_2O_3 , Co_2O_3 , NiO , SnO и SnO_2 не проявили цитотоксических эффектов, однако токсичными оказались наночастицы CoO , Co_3O_4 , Cr_2O_3 , Cu_2O , CuO , ZnO и Ni_2O_3 . С увеличением концентрации наноразмерных частиц жизнеспособность клеток уменьшалась.

Ran и соавт. исследовали токсические эффекты наноразмерных частиц золота на клетки HeLa, L929, J774A1 и Sk-Mel-28 [310]. Уровень цитотоксичности наночастиц определяли по величине IC_{50} (половинная максимальная ингибирующая концентрация) клеток на логарифмической и стационарной стадиях роста. Исследователи выяснили, что при воздействии наночастиц золота на клетки во время логарифмической стадии роста токсические эффекты были в 1,5-3 раза более выражены, чем во время стационарной стадии. Даже высокие концентрации золотых наночастиц диаметром 15 нм не оказывали токсического влияния, а частицы размером 1,2 нм вызывают гибель клеток в течение 12 часов.

Присутствие на поверхности наночастиц различных молекул, которые адсорбируются в процессе их синтеза или эксплуатации тоже влияет на цитотоксические свойства. Металлы с переходной валентностью и различные органические молекулы на поверхности наноразмерных частиц могут привести к появлению АФК и следственно влиять на жизнеспособность клеток [345, 346, 347].

1.6. Механизмы повреждающих эффектов углеродсодержащих и металлических наноматериалов

На сегодняшний день полностью не сформировано единых представлений о механизмах повреждающего действия клеток и тканей наноразмерными частицами [69, 107, 195, 304].

Негативные эффекты могут быть специфичными для определенного вида наноматериала (т.е. определяться особенностями его элементного состава, типом кристаллической решетки, прочими уникальными свойствами) или неспецифичными, характерными для всех материалов, относящихся к данному классу. Неспецифичные эффекты определяются, главным образом, высокой удельной поверхностью и избыточной поверхностной энергией наноматериалов, что определяет их высокую агрегационную и каталитическую активности [10, 13, 335]. Наблюдаемые эффекты, вызванные применением наноразмерных материалов, можно классифицировать на прямые [147, 199, 202, 216, 227] и непрямые (опосредованные) [35, 116, 208, 249, 262, 272]. Прямое действие обусловлено непосредственным действием наноматериала на клетку: накопление в цитоплазме, механическое разрушение мембраны клетки или отдельных органелл, сорбция на мембране, денатурирующее действие на белки и т.д. [216, 311, 316]. Непрямое действие всегда опосредуется различными факторами (изменение параметров гомеостаза, активация эндогенных факторов повреждения, модификация биополимеров с изменением свойств последних и др.), возникающими в ответ на введение наноматериала в организм животного [62, 262]. Механизмы повреждающего действия [10, 13, 57, 62, 101, 107, 139, 249, 263, 287, 295]:

- 1) Инициация свободно-радикальных процессов (высокая степень дисперсности и, как следствие, развитая удельная поверхность наноматериалов приводит к тому, что большое количество атомов находятся на поверхности частиц и взаимодействуют с окружающей фазой, принимая или отдавая электроны, вследствие чего образуются ионы и радикалы);
- 2) Переход ионов из раствора, окружающего наночастицы (сорбция) или обратный процесс (десорбция);
- 3) Сорбция на поверхности наночастиц различных веществ из окружающего раствора и изменение физико-химических свойств наноматериалов (в первую очередь происходит потеря стабильности наноматериалов);
- 4) Изменение свойств биомолекул (утрата их биологической активности, приобретение антигенных свойств);
- 5) Ишемия, вызванная эмболией микрососудов агрегатами наночастиц вследствие утраты их стабильности;
- 6) Активация плазменных белковых систем (свертывающей, калликреин-кининовой, системы комплемента и др.);
- 7) Механическое повреждение мембран, а также снижение ее эффективной площади вследствие сорбции наночастиц.

1.7. Перспективы применения магнитных наноматериалов

Новыми, активно развивающимися и приоритетными направлениями исследований, возникшими на стыке нанотехнологии, медицины и биологии, являются наномедицина и нанобиотехнология. Наномедицина - это совокупность методов применения нанотехнологий для решения задач биомедицинского направления [11, 70, 108, 109, 181, 210, 229, 233, 250, 279, 340, 341].

Терапевтические наномедицинские подходы включают использование различных типов наночастиц для обеспечения адресной доставки в поврежденные ткани лекарственных препаратов или генетического материала. Современные наноматериалы могут обеспечивать доставку препаратов в определенный тип

клеток, в отдельные клетки, в конкретный внутриклеточный компартмент (ядро, митохондрии и др.) [142, 219, 224, 243, 298, 302, 324].

Нанодиагностика существенно повышает чувствительность и специфичность методов распознавания биохимических и молекулярных маркеров заболеваний. Так, использование наночастиц позволяет осуществлять прижизненную визуализацию отдельных патологически измененных клеток и даже молекул, являющихся маркерами распространенных заболеваний [144, 297].

Адресная доставка

Адресная доставка терапевтических средств позволит значительно уменьшить побочные эффекты лекарств, концентрировать наночастицы, объединенные с лекарственным средством, в определённой области тела при помощи магнитного поля и/или биоинженерных векторов, а также визуализировать их с помощью МРТ [50, 180].

Наночастицы могут быть направлены и удержаны в определенном месте с помощью внешнего магнитного поля, нагреты в переменном магнитном поле для десорбции терапевтического агента или для осуществления гипертермии тканей, визуализированы с помощью МРТ [117]. Для магнитного целевого воздействия лекарственный препарат или терапевтический радионуклид соединяется с магнитным носителем, который вводится в организм, и затем концентрируется в участке целевого воздействия с помощью магнитного поля [1, 80, 267]. В качестве магнитного носителя часто используют суперпарамагнитные частицы (Fe, Fe₃O₄). Однако при использовании суперпарамагнетиков усложняется задача переноса и удержания наночастиц в заданной области из-за снижения мощности магнитного воздействия по мере удаления от цели [117]. Следовательно, основной проблемой магнитного нацеливания является мощность внешнего поля, которая необходима для контроля распределения наночастиц и десорбции терапевтического агента. Сочетание постоянных магнитов (Nd-Fe-B) с суперпарамагнитными частицами позволяет достичь проникновения магнитного поля на глубину до 15 см. Однако, следует учитывать и геометрию внешнего поля, так как магнитные носители распределяются по всему поперечному сечению от внешнего источника до

предельной эффективной глубины. Решением данной проблемы может быть имплантация магнитов вблизи от целевого региона с помощью малоинвазивных методик. Недостатком является небольшой размер наночастиц, который с одной стороны необходим для медико-биологического использования и проявления суперпарамагнетизма, а с другой снижает мощность магнитного воздействия [52]. Целевое воздействие, скорее всего, будет более эффективным в тех областях, где кровь перемещается с более низкой скоростью и источник магнитного поля находится вблизи от целевого региона [123].

Для целевой доставки можно использовать искусственные биогенные наноматериалы, такие как наночастицы и наноэмульсии липидного происхождения, липосомы, некоторые циклические пептиды, полисахариды, наночастицы из нуклеиновых кислот [50, 190, 197, 218].

Полимерные наночастицы сконструированные по типу наносфер (цельная сфера) и нанокапсул (оболочка с полостью внутри) являются перспективными материалами для целевой доставки. Существуют методы адресного нацеливания при помощи наночастиц на основе нуклеиновых кислот [141, 165, 220, 225, 271, 279].

Магнитная гипертермия

Под воздействием внешнего переменного магнитного поля определенной частоты магнитные наночастицы поглощают электромагнитную энергию и передают ее в виде тепла окружающей среде [89, 136, 183, 209]. Магнитные наночастицы могут быть использованы как агенты гипертермии, или, средство повышения эффективности лучевой, лазерной и химиотерапии, где умеренная степень нагревания ткани приводит к более эффективной деструкции злокачественных образований (опухолевые клетки гибнут при 42-43°C). Для магнитной гипертермии необходимо разработать суспензии биосовместимых парамагнитных или суперпарамагнитных наночастиц с температурой Кюри 42–45°C, обладающих высокой скоростью поглощения электромагнитной энергии [182, 199, 266].

Магнитные наночастицы, используемые в терапевтических целях, могут состоять из ферромагнитных, ферримагнитных или суперпарамагнитных материалов. Наиболее широкое применение в медицине находят наночастицы на основе оксидов железа со структурой шпинели (магнетит, маггемит) [1, 9, 53, 54, 80, 199, 213, 325].

Jordan и др. [281, 339] применили наночастицы оксида железа, покрытые аminosиланом, в клинических испытаниях для лечения гипертермией мультиформной глиобластомы и рака предстательной железы. Они обнаружили улучшенное распределение магнитных наночастиц в тканях поле введения нейтральной или слабо отрицательной наружной оболочки [259]. Creixell и др. [160] применили данную стратегию и соединили магнитные наночастицы покрытые аminosиланом с карбоксиметил-декстраном в качестве основы для дальнейшего присоединения эпидермального фактора роста (EGF). Последующая гипертермия привела к снижению жизнеспособности клеток экспрессирующих EGF рецепторы, что привело к возможности лечения маленьких опухолей и метастазов.

Lartigue и др. [363] приготовили наночастицы магнетита путем термальной декомпозиции в диапазоне размеров 4-35 нм и покрыли их полисахаридами в качестве распознавательного вектора для некоторых лектинов. Полисахариды были функционализированы группами бис-(триметилсилил) фосфоната для прикрепления к поверхности оксида железа.

Антимикробное и противовирусное использование

Низкая эффективность и высокая токсичность некоторых современных антибактериальных или противовирусных терапевтических средств является серьезным недостатком.

Повышение качества противовирусных препаратов может быть осуществлено путем разработки принципиально новых препаратов или повышением эффективности существующих. Так, ведутся разработки наночастиц с адсорбированными на их поверхности антисмысловыми последовательностями, которые препятствуют процессам репликации вируса [247]. Помещение

противовирусных средств (азидомицин, саквиновир) в нанокапсулу повышает их терапевтическую эффективность и биодоступность [173, 270, 328].

Магнитная сепарация

Магнитная сепарация это процесс разделения веществ на основе различия их магнитной восприимчивости с помощью специализированного оборудования. Эффективному разделению способствуют высокий градиент магнитного поля и магнитный момент частицы.

Магнитно-резонансная томография

Магнитные наночастицы благодаря своим уникальным физико-химическим свойствам, способности накапливаться в определенных тканях и повышать скорость протонной релаксации тканей являются перспективными контрастными агентами для магнитнорезонансной томографии (МРТ) диагностики [48, 230, 265, 268, 327]. В качестве контрастных МРТ агентов широкое распространение получили магнитные наночастицы оксида железа. Наночастицы оксида железа используются в качестве контрастных средств более 50 лет, однако успехи в области синтеза и поверхностной модификации наночастиц открыли новые возможности медико-биологического применения. Это дает возможность создавать тканеспецифичные и опухолеспецифичные контрасты, осуществлять мониторинг тока крови, состояния тканей, клеток и биомолекул. По сравнению с парамагнитными, суперпарамагнитные наночастицы имеют более высокую молярную релаксацию, что делает их более эффективными при низких концентрациях [325].

Биосенсоры

Присоединение макромолекул с помощью тиольных производных расширило возможности использования наночастиц золота в качестве меток биоспецифических маркеров. При таком подходе взаимодействие маркера и биомолекулы основано на адсорбционных, Ван-Дер-Ваальсовых и гидрофобных взаимодействиях. При взаимодействии модифицированных наночастиц золота с целевыми молекулами происходит изменение оптических свойств системы (чувствительность 3 нг/мл) [23]. Широкое распространение также получили

наночастицы серебра, кобальта, платины [20]. Функционализация квантовых точек [285], нанотрубок и наночастиц [100] дает возможность их использования в качестве электрохимических меток. Таким образом, используя наноматериалы в качестве биосенсоров, можно вывести медицинскую диагностику на качественно новый уровень.

Заключение по обзору литературы

Нанотехнология в последнее десятилетие является одной из самых динамично развивающихся научных дисциплин. Значительный объем исследований в области использования наноматериалов посвящен изучению их влияния на биологические системы. Использование нанотехнологий для решения медико-биологических проблем открывает перспективы для разработки новых методов диагностики, терапии, а также создания изделий медицинского назначения с применением биосовместимых материалов и имплантатов. Большое количество работ посвящено использованию магнитных наночастиц, как носителей для целевой доставки терапевтических агентов, с помощью внешнего постоянного магнитного поля.

Однако, использование железосодержащих наноматериалов на практике в настоящий момент затруднено, что обусловлено недостаточной изученностью биологических последствий их применения для организма. Существует ряд проблем в области синтеза магнитных наночастиц с заданным набором свойств: размером, структурой, составом. Ряд авторов указывают на низкую стабильность суспензий железосодержащих наноматериалов при взаимодействии с биологическими системами.

Большой объем исследований посвящен изучению биологических эффектов наноматериалов *in vitro*, на уровне отдельных биомолекул и клеточных культур. В литературе встречаются единичные сведения о влиянии различных железосодержащих наноматериалов на организменном уровне. Основным недостатком немодифицированных железосодержащих наночастиц является их неспецифическое взаимодействие с клетками выражающееся в их накоплении вне органов-мишеней. Кроме того, имеются довольно большое количество данных

указывающих на токсичность железосодержащих наноматериалов. Одним из возможных способов устранения перечисленных выше недостатков железосодержащих наночастиц является их поверхностная модификация, которая дает возможность повысить коллоидную устойчивость наносистем, увеличить биосовместимость и биодоступность, снизить токсичность и т.д.

Для практического применения магнитных наночастиц в биологии и медицине необходим разносторонний подход к изучению их свойств, как с материаловедческой, так и с биомедицинской сторон. Необходимо выяснить механизмы взаимодействия модифицированных железосодержащих наноматериалов с клетками, а также пути их преобразования и способы элиминации из организма. Нивелирование повреждающих эффектов и определение механизмов формирования отдалённых последствий применения магнитных наноматериалов на сегодняшний день является открытой проблемой. Следует отметить, что на данный момент существует довольно мало работ посвященных всестороннему изучению поверхностно-модифицированных наночастиц на организм экспериментального животного, что открывает перспективы для проведения дальнейших исследований в данной области и позволяет рассчитывать на получение многообещающих результатов.

Глава 2. Материал и методы исследования

Исследование проводилось на 210 беспородных половозрелых крысах-самцах, массой 180 ± 30 г, из которых были сформированы 7 групп: 1-я группа (40 крысы) – интактные животные; 2-я группа (40 крыс) – однократное внутривенное введение стабилизированной суспензии покрытых углеродом наночастиц железа в дозе $6 \text{ мг(Fe)/кг}_{\text{(массы тела)}}$; 3-я группа (40 крыс) – однократное внутривенное введение стабилизированной суспензии магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа в дозе $6 \text{ мг(Fe)/кг}_{\text{(массы тела)}}$; 4-я группа (25 крыс) – однократное внутривенное введение стабилизированной суспензии модифицированных углеродом наночастиц в дозе $60 \text{ мг(Fe)/кг}_{\text{(массы тела)}}$; 5-я группа (25 крыс) – однократное внутривенное введение стабилизированной суспензии магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа в дозе $60 \text{ мг(Fe)/кг}_{\text{(массы тела)}}$; 6-я – группа (20 крыс) многократное внутривенное введение стабилизированной суспензии покрытых углеродом наночастиц железа каждые 2 суток, с дозой однократной инъекции $6 \text{ мг(Fe)/кг}_{\text{(массы тела)}}$; 7-я группа (20 крыс) многократное внутривенное введение стабилизированной суспензии магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа каждые 2 суток с дозой однократного введения $6 \text{ мг(Fe)/кг}_{\text{(массы тела)}}$ (Таблица 1). Объем наносуспензии для однократного внутривенного введения составлял 2 мл.

Таблица 1. Дизайн эксперимента по изучению влияния магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа на морфофункциональное состояние внутренних органов крыс

№ гр.	Название экспериментальной группы	Количество животных, шт								
		1 сут.	7 сут.	14 сут.	21 сут.	40 сут.	60 сут.	90 сут.	120 сут.	итого
1	Интактная	5	5	5	5	5	5	5	5	40
2	Однократное введение покрытых углеродом наночастиц железа, 6 мг(Fe)/кг(массы тела)	5	5	5	5	5	5	5	5	40
3	Однократное введение магнитомицелл, 6 мг(Fe)/кг(массы тела)	5	5	5	5	5	5	5	5	40
4	Однократное введение покрытых углеродом наночастиц железа, 60 мг(Fe)/кг(массы тела)	5	5	5	5	5	-	-	-	25
5	Однократное введение магнитомицелл, 60 мг(Fe)/кг(массы тела)	5	5	5	5	5	-	-	-	25
6	Многократное введение покрытых углеродом наночастиц железа, 6 мг(Fe)/кг(массы тела)	-	5	5	5	5	-	-	-	20
7	Многократное введение магнитомицелл, 6 мг(Fe)/кг(массы тела)	-	5	5	5	5	-	-	-	20
	Итого	25	35	35	35	35	15	15	15	210

Содержание животных и работа с ними проводились согласно требований «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ № 755 от 12.08.1987г) и Федерального Закона РФ «О защите животных от жестокого обращения» от 01.01.1997 г. Внутривенное введение суспензий

проводили в одну из хвостовых вен, с предварительным обездвиживанием животного в фиксаторе Когана [66].

Выведение животных из эксперимента проводили методом асфиксии углекислым газом [1] через 1, 7, 14, 21, 40, 60, 90 и 120 суток в 1-й, 2-й и 3-й группах и через 1, 7, 14, 21, 40 суток в 4-й, 5-й, 6-й и 7-й группах после инъекции. Взятие материала у животных всех семи групп производили в одни и те же сроки. За 24 часа до выведения крыс из эксперимента производили пищевую депривацию при сохранении свободного доступа животных к воде.

Для исследования брали печень, почки, лёгкие, сердце (левый желудочек), селезенку и кровь крыс.

Покрытые углеродом наноразмерные частицы железа получены газофазным методом в Лаборатории прикладного магнетизма Института физики металлов УО РАН (г. Екатеринбург), имеют сферическую форму и средний размер частиц 10 нм (Рисунок 1). Углеродная оболочка толщиной не более 2 нм, окружает частицу и состоит из нескольких графеновых слоев, расстояние между которыми составляет 0,34 нм. Между наночастицами имеется аморфный углерод, на который приходится не более 3%. Площадь удельной поверхности наноразмерных частиц железа, покрытых углеродом составляет 55 ± 3 м²/г.

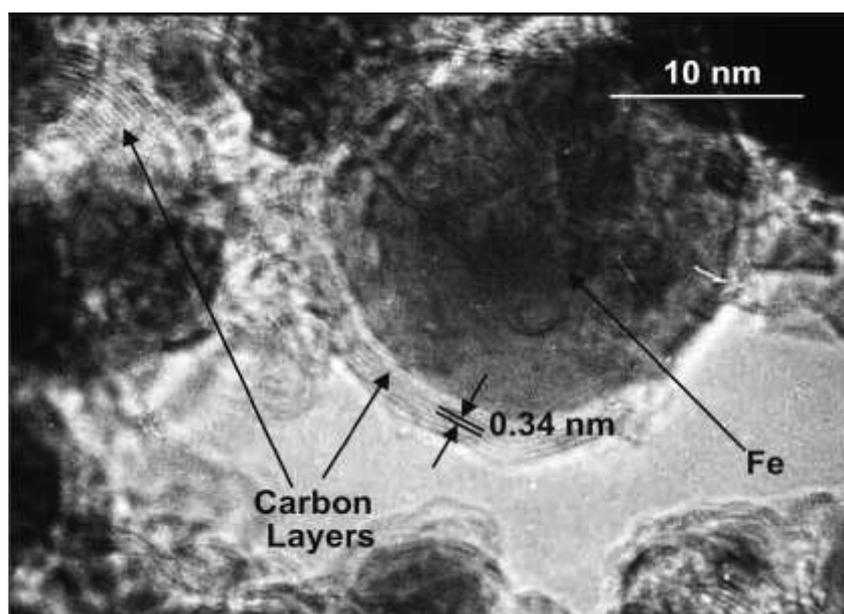


Рисунок 1. Покрытые углеродом наночастицы железа (по данным Лаборатории прикладного магнетизма ИФМ УО РАН).

Методы исследования:

1. Приготовление суспензий покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе для внутривенного введения. Получение суспензий покрытых углеродом наночастиц железа. Навеску покрытых углеродом наночастиц железа (0,8 г и 3 г) растворяли в физиологическом растворе (Вирион, Россия), после чего полученные суспензии подвергали сонификации (20кГц) в течение 20 мин на ультразвуковом дезинтеграторе Bandelin Sonopuls HD2070 (Bandelin, Германия).

Для приготовления суспензий магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа в суспензии наночастиц добавляли 1,2-дистеароил-глицеро-3-фосфоэтаноламин-N-[метокси(полиэтиленгликоль)-2000] аммониевую соль DSPE-PEG-2000 (Avanti Polar Lipids, Inc., США) и снова подвергали дезинтеграции в течение 15 мин. Весовое соотношение покрытые углеродом наночастицы железа/DSPE-PEG-2000 равнялось 0,5.

2. Концентрацию железа в суспензиях определяли методом атомно-эмиссионной спектроскопии на спектрометре iCAP 6300 Duo (Thermo Scientific, США).

3. Распределение частиц по размерам определяли с помощью лазерного анализатора размерности Zetasizer nano zs (Malvern Instruments, Великобритания).

4. Томографическое исследование внутренних органов крыс проводили на МРТ-сканере Toshiba Titane (Toshiba America Medical Systems, Inc., США) с индукцией поля 1,5Т.

МРТ крысам проводили на 1, 40, 90 и 120 сутки после введения суспензии покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе. МРТ проводилась в продольных (фронтальных) и поперечных (аксиальных) плоскостях в T1(спин-решетчатом) и T2(спин-спиновом) - взвешенном режиме, с охватом всего тела животного.

Животные наркотизировались с помощью диэтилового эфира и помещались в камеру томографа. По данным T2-взвешенных изображений полученных на фронтальных срезах выбирались области, соответствующие: печени, легким и почкам крыс.

Для всех этих регионов рассчитывались интенсивность T2-взвешенного изображения в аппаратных единицах, используемых для МР-томографов Toshiba Medical.

5. Гистологические и гистохимические методы исследования исследуемых органов. Печень, легкие, почки, сердце и селезенку фиксировали в забуференном 10% формалине pH 7,4 (Биовитрум, Россия) в течение 24 ч при 4°C, обезвоживали в изопропанол (Биовитрум, Россия) в течение 30 ч и заливали в парафиновую смесь HistoMix (Биовитрум, Россия). Из парафиновых блоков на полуавтоматическом микротоме (МЗП 01 – Техном, Россия) изготавливали срезы толщиной 5 мкм и монтировали их на предметные стекла [71, 39].

6. С целью обнаружения ионов в тканях Fe(III) использовали метод Перлса: депарафинизированные срезы выдерживали в течение 15 минут в смеси равных объемов 5% водного раствора ферроцианида калия (Реахим, Россия) и 5% раствора соляной кислоты (Реахим, Россия), после чего докрашивали гематоксилином (Биовитрум, Россия) и эозином (Биовитрум, Россия) [58]. Микропрепараты изучали на световом микроскопе Axioscope 40 (Zeiss, Германия), цифровые изображения получали с использованием камеры Canon G5 (Canon, Япония), обработка цифровых изображений проводилась с помощью программного пакета Axiovision 4,8 (Zeiss, Германия).

7. Морфометрическое исследование печени, легких и почек крыс. На гистохимических препаратах печени, легких и почек крыс подсчитывали количество Перлс-позитивных клеток в мм² среза органа. Перлс-положительные клетки разделяли на 3 класса: 1 класс – клетки, цитоплазма которых перегружена Перлс-позитивными гранулами (более 30 шт.); 2 класс – клетки, с умеренно нагруженной цитоплазмой, 3 класс – клетки, содержащие единичные Перлс-позитивные гранулы (не более 5 шт) [2, 19].

8. Гистоэнзимологическое исследование активности сукцинатдегидрогеназы (СДГ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), 3-гидроксибутиратдегидрогеназы (3-ГБДГ) и щелочной фосфатазы (ЩФ) гепатоцитов, эпителиоцитов проксимальных извитых канальцев почек и

кардиомиоцитов. Материал для гистоэнзимологического исследования замораживали в охлажденном жидким азотом петролейном эфире и хранили в морозильной камере Sanio Ultra low MDF-192 (Sanyo Electric Co., Ltd., Япония) при -75°C . Из замороженных органов в микротоме-криостате МК-25 (Технолог, СССР) готовили срезы толщиной 10 мкм. На срезах перечисленных выше органов, проводили гистохимические реакции по выявлению активности СДГ, ЛДГ, 3-ГБДГ и ЩФ. Активность перечисленных выше ферментов выявляли в соответствии с рекомендациями З. Лойда и соавт. [34, 192].

Количественную оценку активности ферментов производили на микроскопе ЛЮМАМ-ИЗ (ЛОМО, СССР) в проходящем свете, длина волны 546 нм, зонд площадью $0,5 \text{ мкм}^2$. Оптическую плотность измеряли не менее чем в 50 клетках препарата: в печени - гепатоциты, в сердце – кардиомиоциты, в почке - эпителиоциты проксимальных извитых канальцев.

9. Ультроструктурное исследование печени, легких и почек, крыс с помощью трансмиссионной электронной микроскопии. Фрагменты органов фиксировали в 4% параформальдегиде на буфере Хэнкса pH 7,4 (Вектор, Россия) в течение 24 ч при 4°C , затем 2 ч в 1% OsO_4 на том же буфере при 4°C . Материал обезвоживали в этиловом спирте, после чего заливали в смесь эпоксидных смол Epon 812, Araldit и DDSA (SERVA Electrophoresis, Германия) в соотношении 2 : 1 : 4,5, соответственно. Помещали образцы в термостат (56°C) до полной полимеризации смеси, после чего изготавливали блоки. Полутонкие ($\approx 1 \text{ мкм}$) и ультратонкие ($\approx 80 \text{ нм}$) срезы получали с помощью ультратома Leica EM UC 7 (Leica, Австрия). Ультратонкие срезы помещали на медные сетки, контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца (Сигма-Алдрич Рус, Россия), после чего просматривали и фотографировали при различных увеличениях [83].

10. Взятие крови осуществляли в вакуумные пластиковые контейнеры (Venasafe, Италия), содержащие ЭДТА. Центрифугирование проводилось в течение 10 мин при 1000g, (радиус ротора-17,5 см) после чего плазму крови собирали в микропробирки (Eppendorf, США) и хранили при температуре -10°C [26].

11. В плазме крови определяли активность ряда органоспецифических ферментов (Ед/л) и концентрацию метаболитов (ммоль/л, мкмоль/л) на автоматическом биохимическом анализаторе СА-180 (Furuno Electric CO, Япония).

12. Изучение ультраструктуры поверхности эритроцитов с помощью растровой электронной микроскопии. Венозную кровь крысы забирали в пипетку Сали через 1, 7, 14, 21 и 40 суток после однократного введения суспензии. Затем 20 мкл цельной крови помещали в микропробирку (Eppendorf, США) с 0,5 мл 2,5%-го раствора глутарового альдегида на фосфатном буфере рН 7,2-7,4. Далее проводили дополнительную фиксацию эритроцитов в 1%-м растворе четырехоксида осмия с последующим двукратным отмыванием фосфатным буфером рН 7,2-7,4 (Биомедикал Системс, Россия). Затем осуществляли обезвоживание эритроцитарной массы в водных растворах этилового спирта восходящей концентрации 30%, 50%, 70%, 90%, 100% (по 15 мин в каждом) и дважды в 100% ацетоне. После чего проводили нанесение эритроцитарной массы на алюминиевые подложки. Исследования проводили с помощью растрового электронного микроскопа Hitachi S 3400 N (Hitachi, Япония) в условиях высокого вакуума [81].

13. Статистическая обработка результатов.

Для обработки количественных данных использовалась программа «SPSS 14.0». Результаты исследования представлены в виде средней и стандартного отклонения ($\bar{X} \pm s$). Выборки на соответствие нормальному закону распределения проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Для выяснения достоверности различий средних значений морфометрических, гистоэнзимологических и биохимических показателей, между экспериментальными группами, использовали t-тест для независимых выборок (тест Стьюдента) и тест Фридмана для зависимых выборок.

Глава 3. Результаты собственных исследований

3.1. Стандартизация суспензий модифицированных наночастиц железа

3.1.1. Стандартизация суспензии покрытых углеродом наночастиц железа

Концентрация железа в полученных суспензиях покрытых углеродом наночастиц железа составила 0,54 мг(Fe)/мл при навеске наночастиц 0,8 г и 5,4 мг(Fe)/мл при навеске 3 г. Суспензии покрытых углеродом наночастиц железа имели водородный показатель равный 7,4.

В обеих суспензиях на кривых характеризующих распределение структурных элементов (покрытые углеродом наночастицы железа и их агрегаты) по размерам наблюдали 2 пика. В суспензии с концентрацией железа 0,54 мг(Fe)/мл размер структурных элементов варьировал от 18 нм до 110 нм (Рисунок 2), преобладающее количество агрегатов имело размер 22 нм.

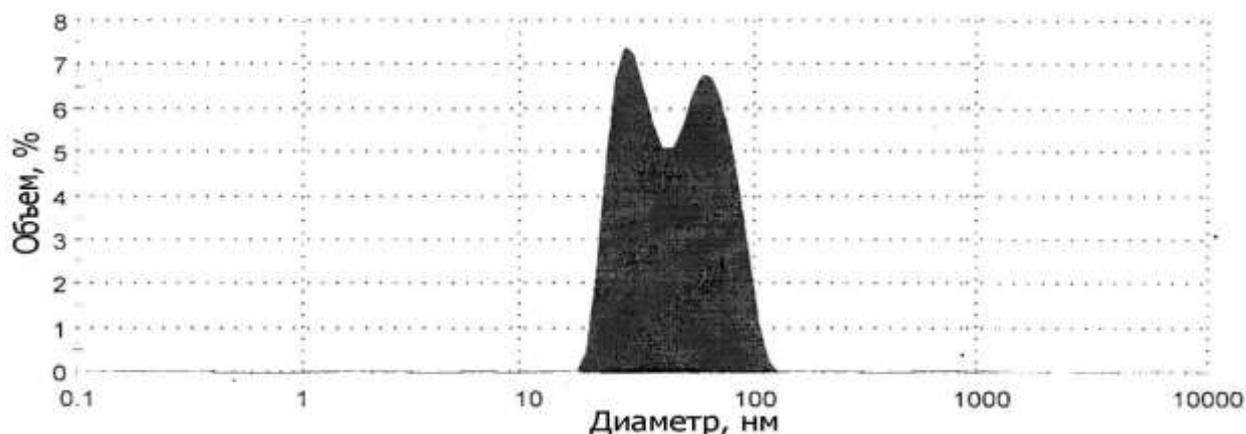


Рисунок 2. Распределение частиц по размерам в суспензии покрытых углеродом наночастиц железа, 0,54 мг(Fe)/мл (Nanosizer nano ZS).

Суспензия с концентрацией железа 5,4 мг(Fe)/мл содержала частицы/агломераты покрытых углеродом наноразмерных частиц железа, размером от 15 нм до 110 нм (Рисунок 3), а преобладающее количество агломератов имело размер 87 нм.

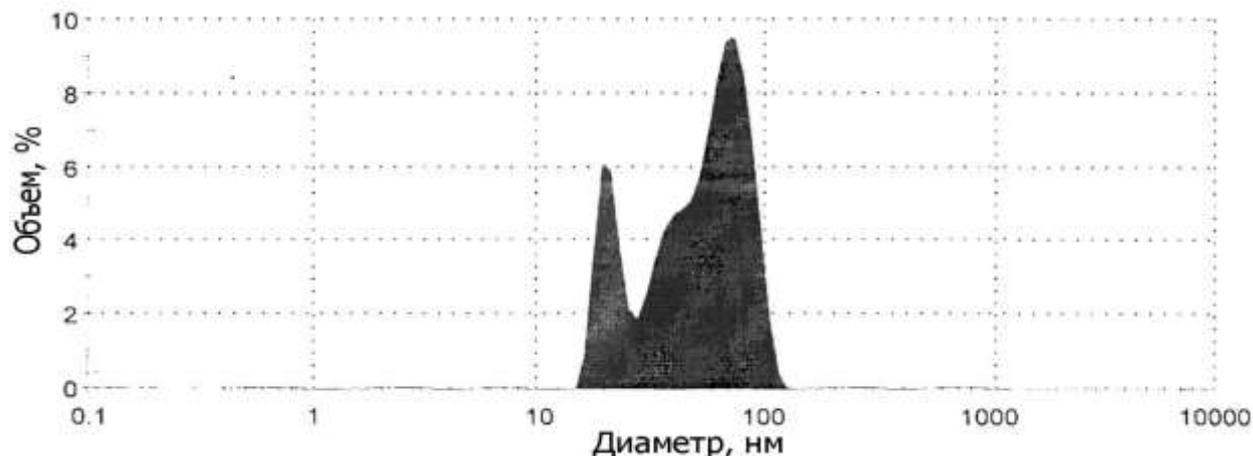


Рисунок 3. Распределение частиц по размерам в суспензии покрытых углеродом наночастиц железа, 5,4 мг(Fe)/мл (Nanosizer nano ZS).

Дзета-потенциал суспензии покрытых углеродом наноразмерных частиц железа (0,54 мг(Fe)/мл) положителен и изменялся от 0 мВ до 42 мВ. Преобладающее количество частиц имеет ζ - потенциал 27,3 мВ (Рисунок 4). Эта суспензия визуально оставалась стабильной в течение 2-3 часов при 25 °С.

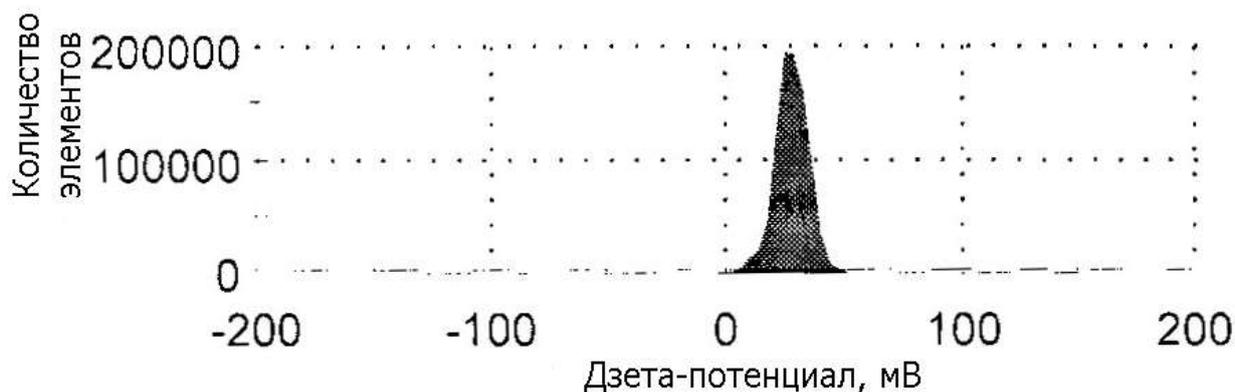


Рисунок 4. Распределение ζ -потенциала частиц суспензии покрытых углеродом наноразмерных частиц железа 0,54 мг(Fe)/мл (Nanosizer nano ZS).

Дзета-потенциал суспензии покрытых углеродом наноразмерных частиц железа (5,4 мг(Fe)/мл) положителен и изменялся от 0 мВ до 33 мВ. Преобладающее количество частиц имеет ζ - потенциал 21,3 мВ (Рисунок 5), суспензия визуально оставалась стабильной в течение 1-2 часов при 25 °С.

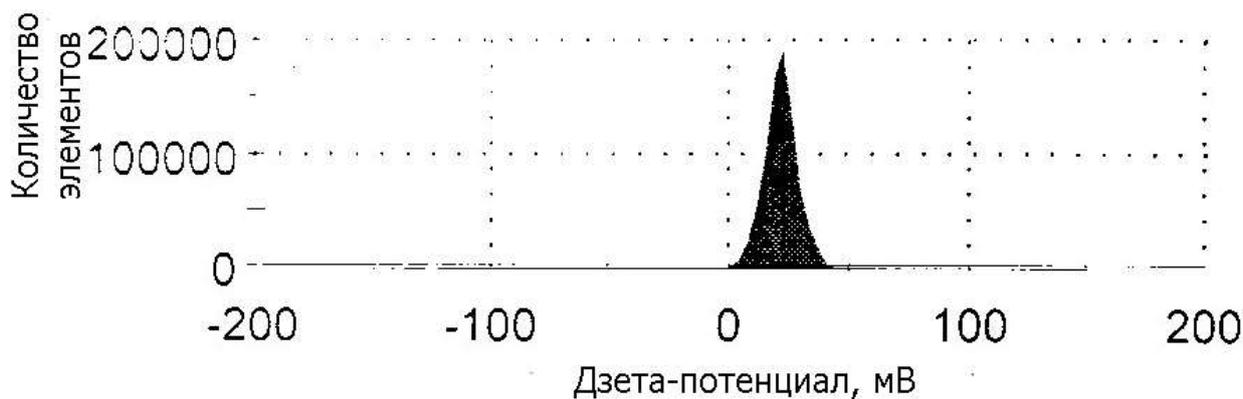


Рисунок 5. Распределение ζ -потенциала частиц суспензии покрытых углеродом наноразмерных частиц железа 5,4 мг(Fe)/мл (Nanosizer nano ZS).

3.1.2. Стандартизация суспензии магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа

Концентрация железа в суспензиях магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа составила 0,54 мг(Fe)/мл и 5,4 мг(Fe)/мл. Водородный показатель суспензий магнитомицелл на основе покрытых углеродом наноразмерных частиц железа составил 7,4.

В суспензии магнитомицелл (0,54 мг(Fe)/мл) размер частиц/агломератов частиц варьировал от 21 нм до 111 нм (Рисунок 6). Преобладающее количество структурных элементов имело размер 85 нм.

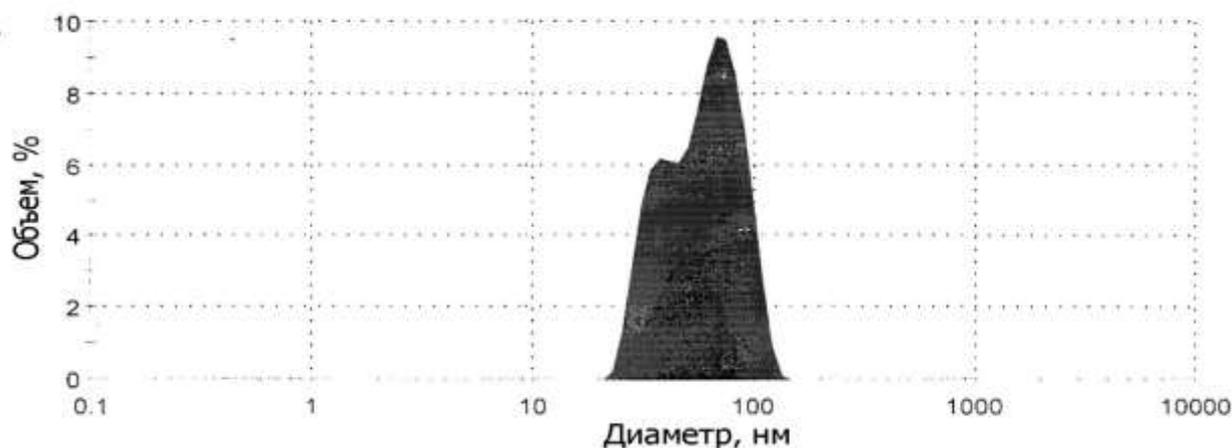


Рисунок 6. Распределение по размерам магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа в суспензии 0,54 мг(Fe)/мл (Nanosizer nano ZS).

Суспензия магнитомицелл (5,4 мг(Fe)/мл) содержала частицы/агломераты частиц размером от 20 нм до 110 нм (Рисунок 7), а преобладающее количество агломератов имело размер 86 нм.

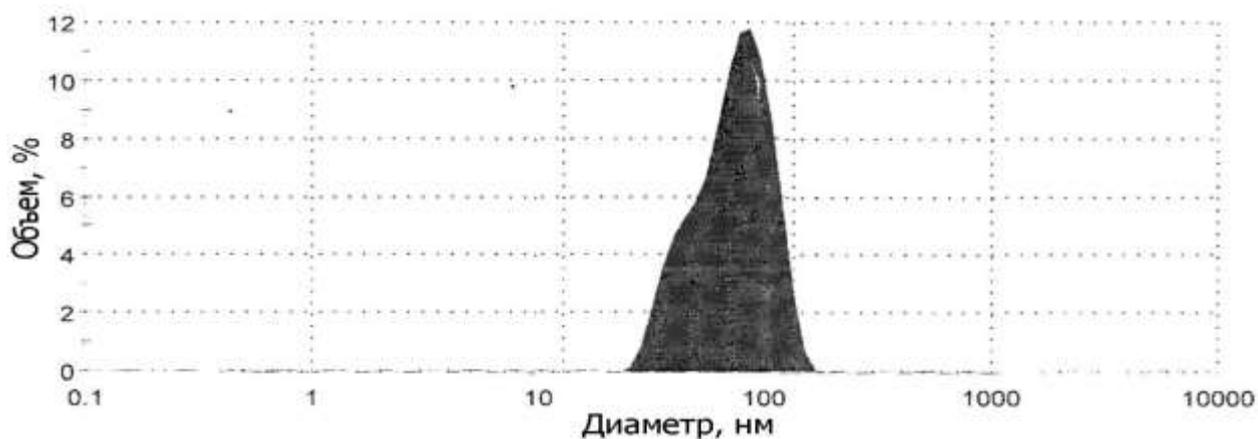


Рисунок 7. Распределение по размерам магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа в суспензии 5,4 мг(Fe)/мл (Nanosizer nano ZS).

Дзета-потенциал суспензий магнитомицелл на основе покрытых углеродом наноразмерных частиц железа (0,54 мг(Fe)/мл) положителен и изменяется в интервале от 43 мВ до 64 мВ. Преобладающее количество частиц имеет ζ -потенциал 53,8 мВ (Рисунок 8). Суспензия визуально оставалась стабильной в течение 5-7 дней при 25 °С.

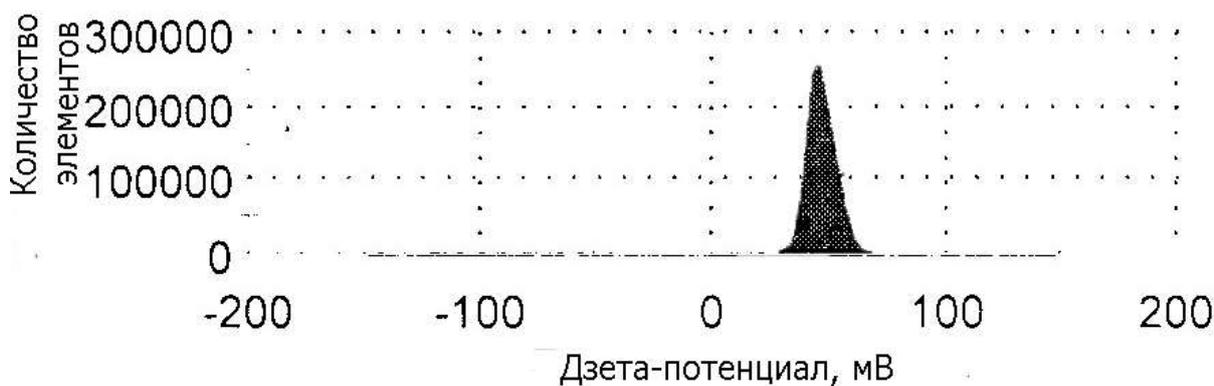


Рисунок 8. Распределение ζ -потенциала частиц суспензии магнитомицелл на основе покрытых углеродом наноразмерных частиц железа 0,54 мг(Fe)/мл (Nanosizer nano ZS).

Дзета-потенциал суспензии магнитомицелл на основе покрытых углеродом наноразмерных частиц железа (5,4 мг(Fe)/мл) положителен и изменяется в интервале от 10 мВ до 45 мВ. Преобладающее количество частиц имеет ζ -потенциал 28,2 мВ (Рисунок 9). Данная суспензия визуально оставалась стабильной в течение 4-5 дней при 25 °С.

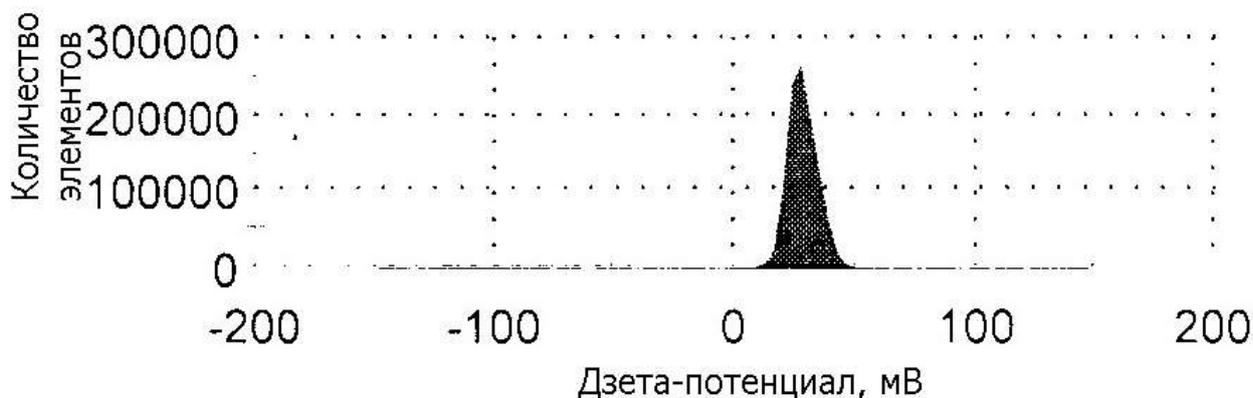


Рисунок 9. Распределение ζ -потенциала частиц суспензии магнитомицелл на основе покрытых углеродом наноразмерных частиц железа 5,4 мг(Fe)/мл (Nanosizer nano ZS).

3.2. Прижизненное распределение модифицированных наночастиц железа после внутривенного введения их суспензий в организме крыс

3.2.1. МРТ крыс после внутривенного введения суспензий покрытых углеродом наноразмерных частиц железа

МРТ животных 1-й группы показала, что внутренние органы крыс в течение всего эксперимента имели нормальное расположение и строение (Рисунок 10). Интенсивность МР сигнала в области печени, почек и легких не меняется на протяжении 120 суток (Таблица 2).

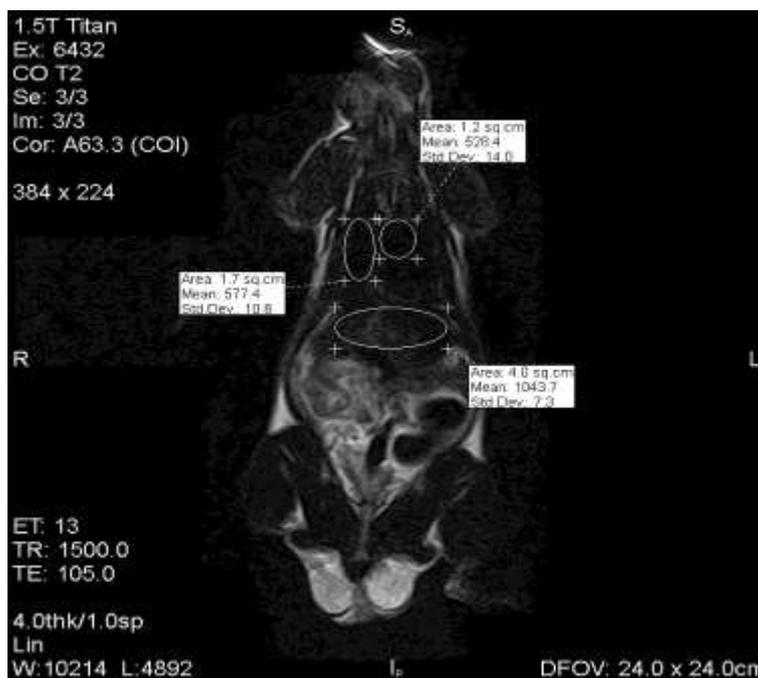


Рисунок 10. МР-томограмма крысы интактной группы (1-я группа) на 1 сутки. На томограмме выделены области, соответствующие легким, сердцу и печени.

На томограммах крыс с однократным введением покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг_(Fe)/кг_(массы тела) (2-я группа) выявляются незначительные помехи и искажения изображения (Рисунок 11). Следует отметить, что топография органов и их строение соответствуют таковым у интактных крыс. По сравнению с крысами 1-й группы интенсивность МР сигнала на 1 сутки в области печени животных 2-й группы снизилась в 2,19, почек - в 1,81, легких - в 1,25 раза относительно интенсивности у животных 1-й группы. К 40 суткам

результаты МРТ исследования соответствовали таковым интактным крысам (Таблица 2).

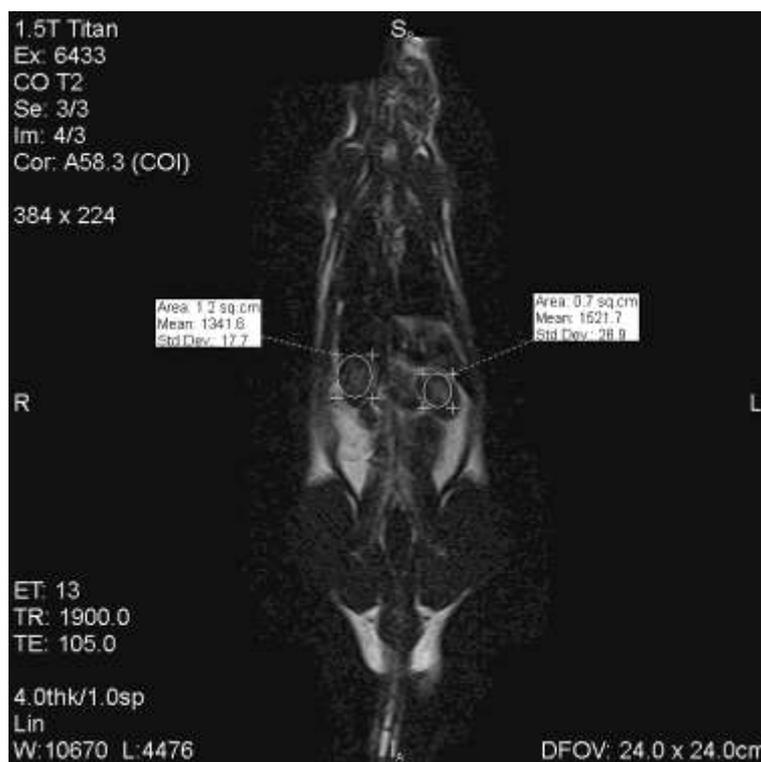


Рисунок 11. МР-томограмма крысы через 1 сутки после введения покрытых углеродом наночастиц железа (2-я группа). На томограмме выделены области, соответствующие почкам.

На томограммах крыс после однократного введения покрытых углеродом наноразмерных частиц железа, покрытых углеродом в дозе $60 \text{ мг}_{(\text{Fe})}/\text{кг}_{(\text{массы тела})}$ (4-я группа) выявляется значительное ухудшение качества изображения, что затрудняло выявление границ органов (Рисунок 12). Интенсивность МР сигнала уменьшилась в области печени, легких и почек в 2,38, 1,35 и 1,71 раза, соответственно, по сравнению с аналогичными органами крыс интактной группы (Таблица 2).

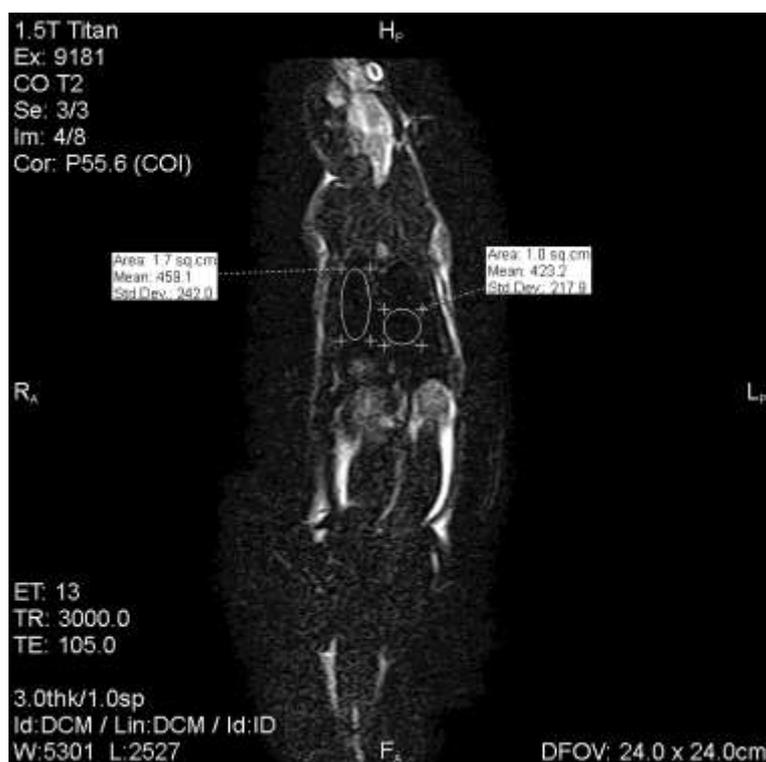


Рисунок 12. МР-томограмма крысы через 1 сутки после введения покрытых углеродом наночастиц железа (4-я группа). На томограмме выделены области, соответствующие легким и сердцу.

МРТ крыс после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (6-я группа) на 7 и 40 сутки демонстрировали снижение качества изображения. Границы органов выявляются, их топография и строение без изменений. Интенсивность сигнала на 7 сутки снизилась в области печени в 2,25, почек - в 1,79 раза и легких - в 1,23, а на 40 сутки - в 2,3, 1,89 и 1,29 раза, соответственно, по сравнению с животными 1-й группы (Таблица 2).

Таблица 2. Интенсивность T2-MPT сигнала печени, легких и почек крыс после однократного и многократного введения суспензии покрытых углеродом наночастиц железа в динамике, $X \pm s$.

Орган	Интенсивность T2-MPT изображения, аппаратные ед.			
Интактная группа				
Сутки	1	40	90	120
Печень	1043±17,21	1038±11,8	1051±14,76	1035±22,9
Легкие	577±9,1	591±5,8	584±9,7	569±9,97
Почки	2429±25,7	2473±13,9	2450±34,44	2419±17,76
Животные после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг(массы тела), 2-я группа				
Сутки	1	40	90	120
Печень	475±27,8#	1019±11,12*&	1041±25,4*	1033±17,13*
Легкие	453,8±11,3#	599±14,77*&	598±12,1*	567±9,88*
Почки	1341±19,99#	2460±22,3*&	2397±16,9*	2457±24,98*
Животные после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 60 мг(Fe)/кг(массы тела), 4-я группа				
Сутки	1	40	-	-
Печень	437±18,9#	890±17,53#*&	-	-
Легкие	427±8,11#	555±10,34#*&	-	-
Почки	1413±21,6#	2453±29,5*&	-	-
Животные после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг(массы тела), 6-я группа				
Сутки	7	40	-	-
Печень	463±22,1#	451±19,11#	-	-
Легкие	467±11,89#	458±15,57#	-	-
Почки	1350±20,68#	1303±18,43#	-	-

Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

3.2.2. МРТ крыс после внутривенного введения суспензий магнитомицелл на основе покрытых углеродом наноразмерных частиц железа

На томограммах крыс после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наноразмерных частиц железа в дозе 6 мг/кг (3-я группа) органы имеют нормальное строение и топографию (Рисунок 13). Интенсивность МР сигнала снижена в области печени в 1,84 раза, легких в 1,17 раза и почек в 2,18 раза по сравнению с таковым крыс 1-й группы. К 40 суткам эксперимента различий между этими группами не наблюдалось (Таблица 3).

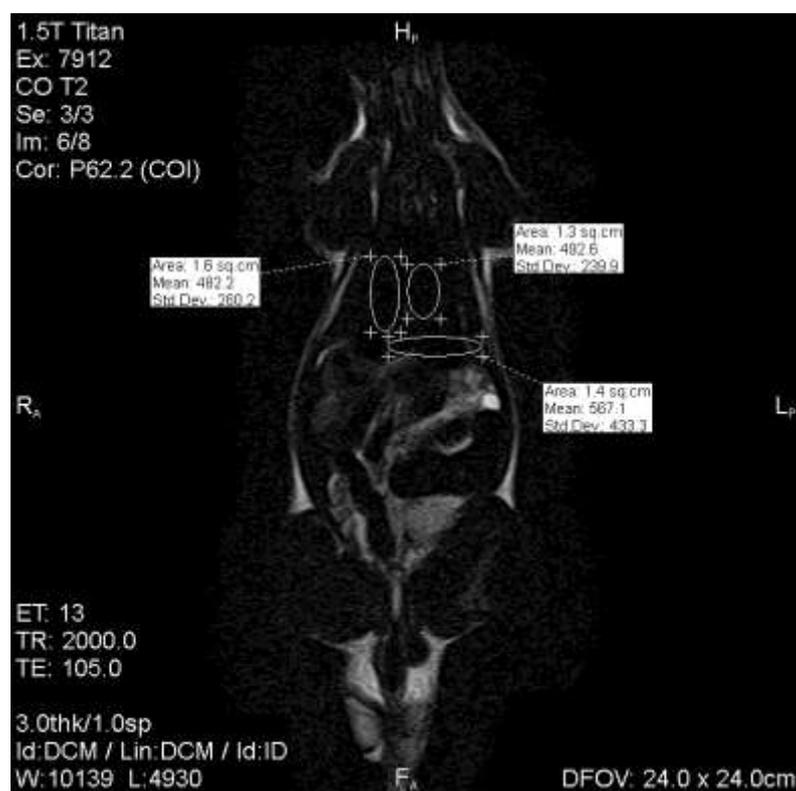


Рисунок 13. МР томограмма крысы через 1 сутки после введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (3-я группа). На томограмме выделены области, соответствующие легким, сердцу и печени крыс.

МРТ крыс после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наноразмерных частиц железа в дозе 60 мг/кг (5-я группа) показало значительное ухудшение качества томограмм (Рисунок 14). Интенсивность МР сигнала на 1 сутки была уменьшена в области печени в 2,29 раза, почек в 2,38 раза и легких в 1,3 раза по сравнению животными интактной группы. На 40 суток после

однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 60 мг/кг МР сигнал в области печени был снижен в 1,1 раза, легких – в 1,03 раза и почек – в 1,27 раза относительно аналогичных органов крыс 1-й группы (Таблица 3).

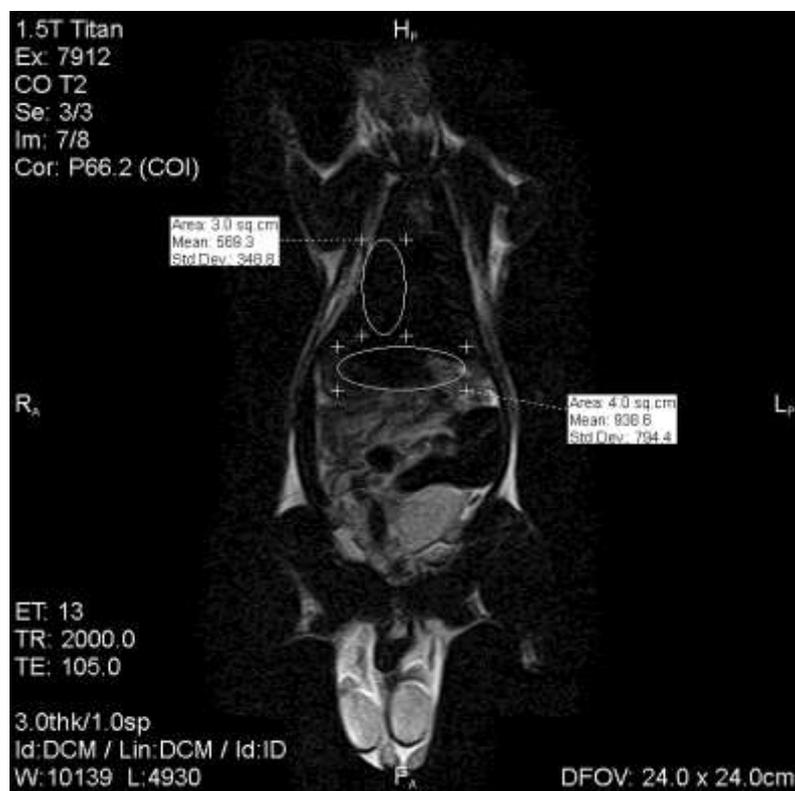


Рисунок 14. МР томограмма крысы через 40 суток после введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 60мг(Fe)/кг_(массы тела). На томограмме выделены области, соответствующие легкому, сердцу и печени крыс.

На томограммах крыс после многократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (7-я группа) на 7 сутки качество изображения снижено, в области эпигастрия заметно существенное искажение МР сигнала (Рисунок 15). Интенсивность МР сигнала на 7 сутки уменьшилась по сравнению с группой интактных животных в области печени в 1,9 раза, легких – 1,13 и почек - 1,89 раза. К 40 суткам интенсивность МР снизилась в области печени в 2,23, легких – 1,18, почек – 2,32 раза по сравнению с животными интактной группы (Таблица 3).

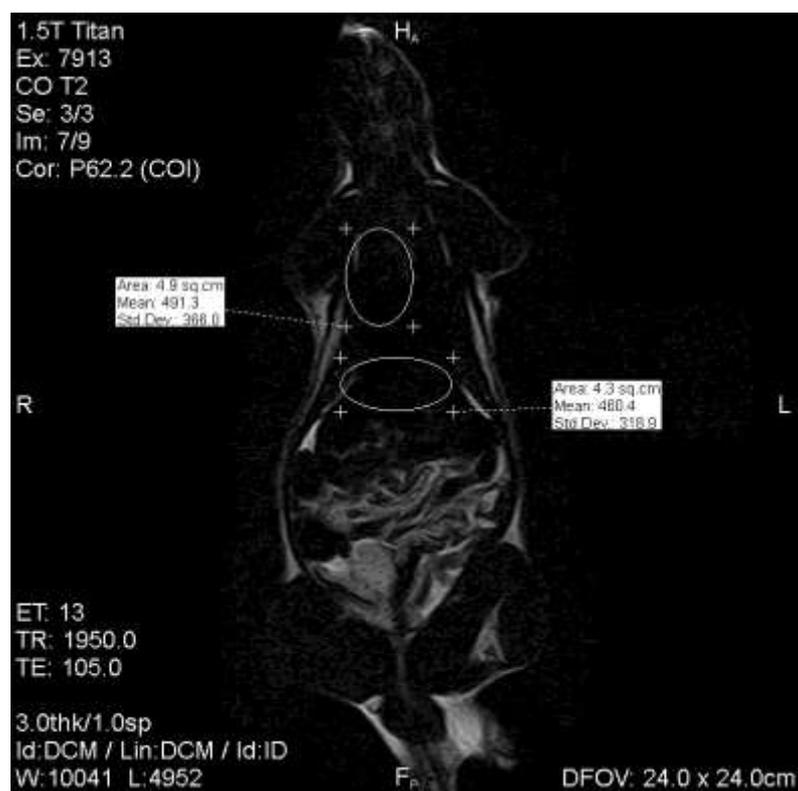


Рисунок 15. МР томограмма крысы через 40 суток после многократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (7-я группа). На томограмме выделены области, соответствующие легкому, сердцу и печени крыс.

Таблица 3. Интенсивность T2-МРТ сигнала печени, легких и почек крыс после однократного и многократного введения суспензии магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа в динамике, $\bar{X} \pm s$

Орган	Интенсивность T2-МРТ изображения, аппаратные ед.			
Интактная группа				
Сутки	1	40	90	120
Печень	1043±17,21	1038±11,8	1051±14,76	1035±22,9
Легкие	577±9,1	591±5,8	584±9,7	569±9,97
Почки	2429±25,7	2473±13,9	2450±34,44	2419±17,76
Животные после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг(массы тела), 2-я группа				
Сутки	1	40	90	120
Печень	564±17,1#&	970±13,34#*&	1057±13,1*&	1036±8,91*
Легкие	490±5,67#	585±7,4*&	561±12,8*	573±9,76*
Почки	1113±18,19#&	2191±9,87#*&	2400±8,8*&	2399±10,53*

Животные после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 60 мг(Fe)/кг _(массы тела) , 4-я группа				
Сутки	1	40	-	-
Печень	455±16,73#	943±19,24#*&	-	-
Легкие	442±10,15#	569±9,59*&	-	-
Почки	1020±19,8#\\$	1943±26,1#*&\\$	-	-
Животные после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг _(массы тела) , 6-я группа				
Сутки	7	40	-	-
Печень	547±16,77#\\$	464±20,38#*&	-	-
Легкие	511±17,89#	497±11,74#	-	-
Почки	1279±17,1#	1063±24,5#*&\\$	-	-

Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

3.3. Структура печени, легких, селезенки, почек и сердца крыс после внутривенного введения суспензии модифицированных наночастиц железа

Макроскопически у животных интактной группы (1-я группа) во все сроки исследования сердце, легкие, печень, селезенка и почки имели обычный вид. На светооптическом уровне нами также не отмечено каких-либо изменений. Реакция Перлса в печени, легких, почках и сердце была отрицательной. На препаратах селезенки крыс 1-й группы была выявлена положительная реакция Перлса. Перлс-положительные клетки располагались повсеместно в красной пульпе (в селезеночных тяжах и перифолликулярно) и соответствовали клеткам 2-го и 3-го классов.

3.3.1. Структура печени, легких, селезенки, почек и сердца крыс после однократного и многократного внутривенного введения покрытых углеродом наноразмерных частиц железа

В печени крыс 2-й группы на 1 сутки эксперимента наблюдали умеренное полнокровие междольковых вен и артерий. Синусоиды в центральных отделах печеночных долек расширены и запустевают. Центральные вены находились в состоянии гиперемии (Рисунок 16). Цитоплазма гепатоцитов периферических отделов долек была более оксифильна, чем у клеток центральных и промежуточных отделов. В области триад и перисинусоидально присутствовали Перлс-положительные клетки 1-го, 2-го и 3-го классов в количестве 5,6, 11,3 и 4,4 кл./мм², соответственно (Таблица 4).

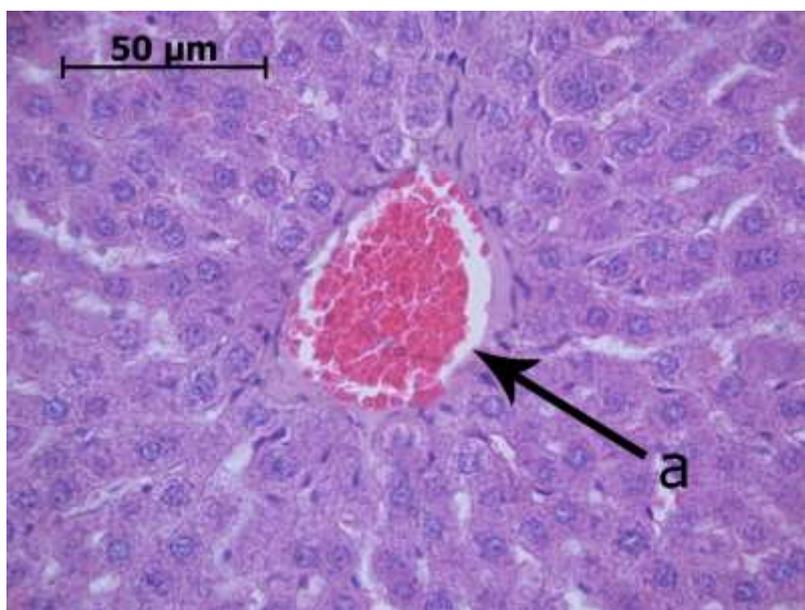


Рисунок 16. Печень крысы через 1 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (2-я группа). Полнокровие центральной вены (а). Окр.: реакция Перлса с докраской гематоксилином и эозином. Ув. 400.

На 7 сутки в печени крыс 2-й группы обнаружили усугубление нарушений дисциркуляторного характера по сравнению с предыдущим сроком. Полнокровие междольковых артерий и вен было более выражено. Наблюдали расширение и запустевание синусоидных капилляров в центральных и промежуточных отделах печеночных долек. Центральные вены были резко расширены и полнокровны.

Гепатоциты в периферических отделах долек находились в состоянии зернистой дистрофии. Во всех отделах печеночных долек выявляли небольшие группы гепатоцитов (10-15 клеток) в состоянии баллонной дистрофии (Рисунок 17). В области триад, а также периферическом и промежуточном отделах печеночных пластинок наблюдали Перлс-позитивные клетки всех трех классов. По сравнению с 1 сутками эксперимента количество клеток 1-го и 2-го класса снизилось и достигло значений 3,7 кл./мм² и 7,3 кл./мм², соответственно. Количество Перлс-положительных клеток 3-го класса не изменилось. Как и в предыдущий срок исследования доминировали клетки 2-го класса (Таблица 4).

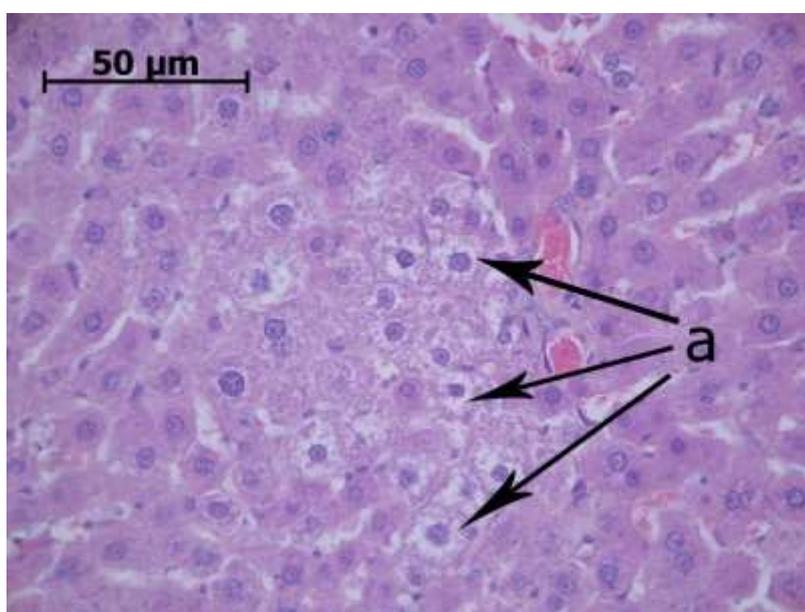


Рисунок 17. Печень крысы на 7 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (2-я группа). Гепатоциты в состоянии баллонной (гидропической) дистрофии (а). Окр.: реакция Перлса с докраской гематоксилином и эозином. Ув. 400.

В печени крыс 2-й группы на 14 сутки эксперимента фиксировали снижение выраженности полнокровия артерий и вен портальных трактов по сравнению с 7 сутками эксперимента. Синусоиды периферических отделов печеночных долек были расширены и запустевали. Относительно предыдущего срока исследования расширение и полнокровие центральных вен носило умеренный характер. Отмечали снижение числа гепатоцитов периферических и промежуточных отделов печеночных долек в состоянии зернистой дистрофии. Гепатоциты периферических

отделов долек нередко имели гиперхромные ядра. Выявляли Перлс-положительные клетки 1-го, 2-го и 3-го классов во всех отделах долек и в междольковой соединительной ткани, их количество снизилось по сравнению с 7 сутками эксперимента достигая значений 1,1, 5,2 и 3,5 кл./мм², соответственно (Таблица 4).

В печени крыс 2-й группы на 21 сутки выявляли снижение обнаруженных в предыдущий срок дисциркуляторных расстройств. Отмечали слабовыраженное полнокровие междольковых артерий и вен. Синусоиды периферических отделов печеночных долек умеренно расширены и заустевали. Часть центральных вен заустевала, а часть находилась в состоянии умеренной гиперемии (Рисунок 18). Во всех отделах печеночных долек встречались гепатоциты с признаками нарушения тинкториальных свойств, которые проявлялись более выраженной оксифилией цитоплазмы. В периферических отделах печеночных долек присутствовали только Перлс-позитивные клетки 2-го и 3-го классов, количество которых по сравнению с 14 сутками эксперимента снижалось. В данный срок доминировали клетки 2-го класса (4,8 кл./мм²) (Таблица 4, приложение 1.1).

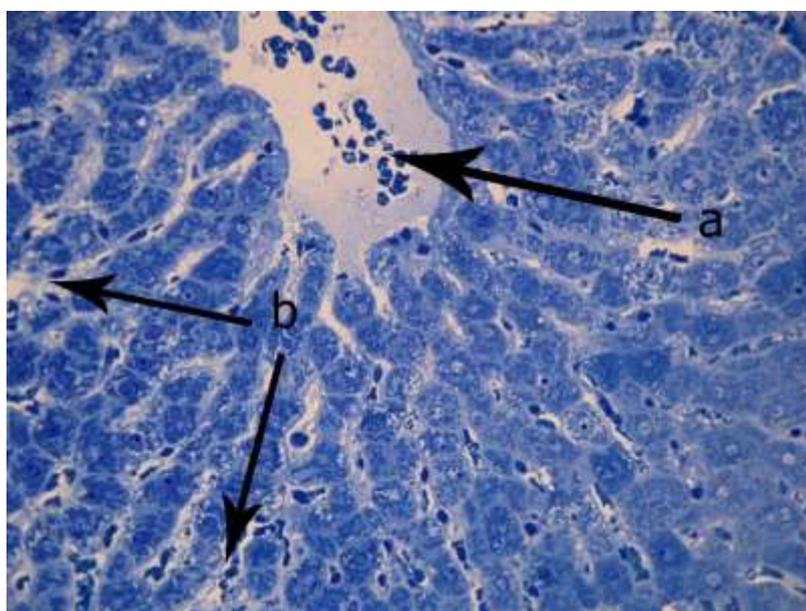


Рисунок 18. Печень крысы на 21 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (2-я группа). Расширение и заустевание центральной вены (а). Расширение и полнокровие синусоидных капилляров (b). Полутонкий срез. Окр.: окраска азур II. Ув. 400.

С 40 суток и до конца эксперимента все обнаруженные нами на более ранних сроках эксперимента изменения в печени крыс нивелировались. Перлс-положительные клетки не выявлялись.

В печени крыс 4-й группы на 1 сутки эксперимента междольковые артерии и вены полнокровны. Синусоидные капилляры во всех отделах долек спавшиеся, центральные вены расширены и полнокровны. В центральных промежуточных и периферических отделах долек гепатоциты находились в состоянии зернистой дистрофии, встречался моноцеллюлярный некроз. Перлс-положительные клетки визуализировались в области портальных трактов и перисинусоидально в периферических отделах печеночных долек и были представлены всеми тремя классами (Рисунок 19). Количество клеток 1-го класса составляло 19,6 кл./мм², 2-го – 7,5 кл./мм² и 3-го – 3,6 кл./мм² (Таблица 4).

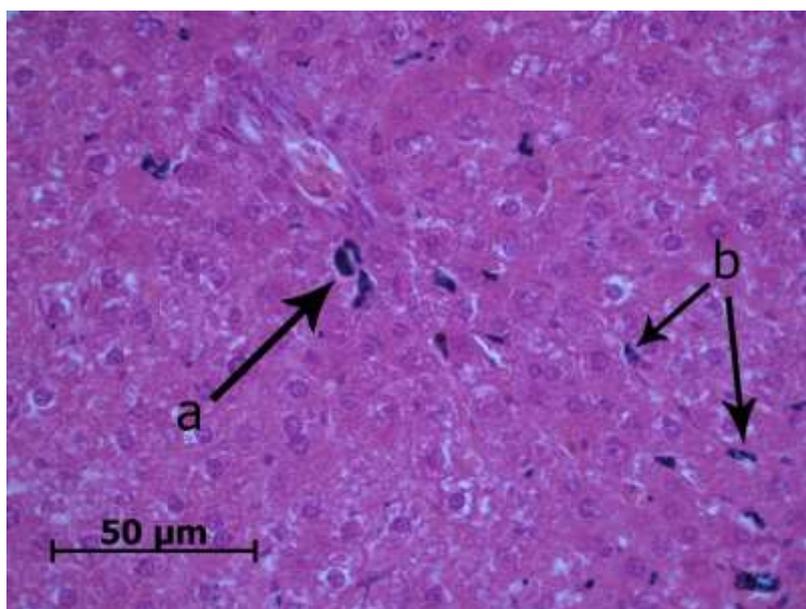


Рисунок 19. Печень крысы через 1 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (4-я группа). Гепатоциты всех отделов дольки в состоянии зернистой дистрофии. Моноцеллюлярный некроз гепатоцитов. Перлс позитивные клетки 1-го (a) и 2-го класса (b) в периферических отделах печеночных долек. Окр.: реакция Перлса с докраской гематоксилином и эозином. Ув. 400.

На 7 сутки в печени крыс 4-й группы наблюдали более выраженные, чем в предыдущий срок, признаки дисциркуляторных расстройств: полнокровие артерий и вен портальных трактов, расширение синусоидов, расширение и полнокровие

центральных вен. Гепатоциты всех отделов печеночных долек находились в состоянии зернистой дистрофии, в перипортальных отделах долек встречались группы гепатоцитов в состоянии баллонной (гидропической) дистрофии и некроза. Перлс-позитивные клетки определялись во всех отделах печеночных долек и были представлены клетками трех классов с преобладанием клеток, перегруженных Перлс-позитивными гранулами. Отмечали снижение количества клеток 1-го класса относительно предыдущего срока исследования, в то время как количество клеток 2-го и 3-го классов возросло и достигло значений 9,8 и 5,4 кл./мм², соответственно. Как и на 1 сутки доминировали Перлс-положительные клетки 1-го класса (14,3 кл./мм²) (Таблица 4).

В печени крыс 4-й группы, выведенных из эксперимента на 14 сутки, признаки дисциркуляторных расстройств достигали максимума: выраженная гиперемия артерий и вен портальных трактов, расширение, полнокровие, а также запустевание центральных вен. Синусоиды всех отделов печеночных долек были расширены и запустевали (Рисунок 20), печеночные пластинки дискompлексированы. Во всех отделах долек встречались гепатоциты в состоянии зернистой и баллонной дистрофии, а в области портальных трактов - в состоянии некроза. Перлс-положительные клетки представлены тремя классами и встречаются во всех отделах печеночных долек. Обращало на себя внимание снижение количества клеток 1-го и 3-го класса (8,1 и 4,2 кл./мм², соответственно) относительно предыдущего срока исследования, при неизменном количестве клеток 2-го класса (9,4 кл./мм²) (Таблица 4).

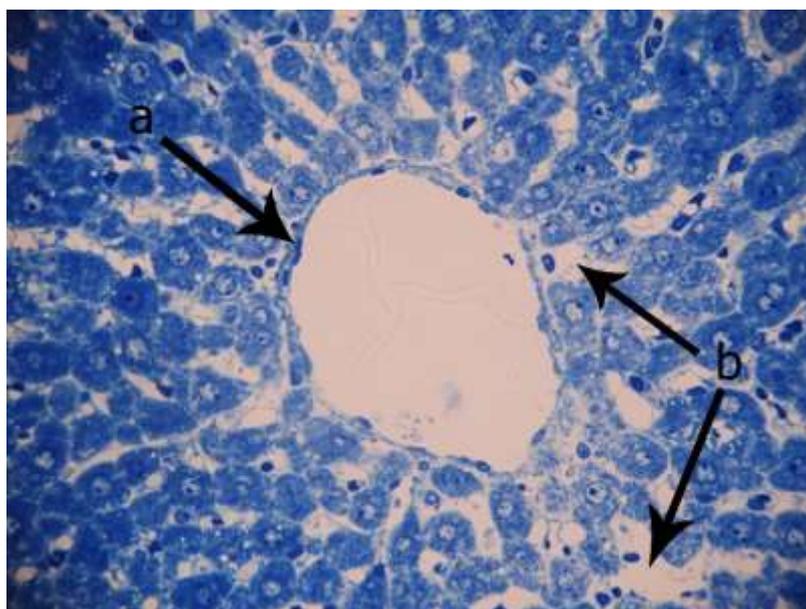


Рисунок 20. Печень крысы на 14 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (4-я группа). Центральная вена расширена и запустевает (a). Расширение и запустевание синусоидных капилляров (b). Полутонкий срез. Окр.: окраска азур II. Ув. 400.

На 21 сутки в печени крыс 4-й группы наблюдали менее выраженную по сравнению с 14 сутками гиперемию междольковых артерий и вен. Синусоидные капилляры всех отделов печеночных долек были расширены и полнокровны, центральные артерии также были полнокровны (Рисунок 21). Во всех отделах долек встречаются гепатоциты в состоянии зернистой дистрофии. Перлс-позитивные клетки, представлены клетками всех трех классов с преобладанием 2-го ($8,4 \text{ кл./мм}^2$), которые расположены во всех отделах печеночных долек и междольковой соединительной ткани, доминированием последней. Наблюдали снижение количества клеток 1-го и 2-го классов относительно 14 суток до значений $5,5$ и $3,7 \text{ кл./мм}^2$, соответственно (Таблица 4).

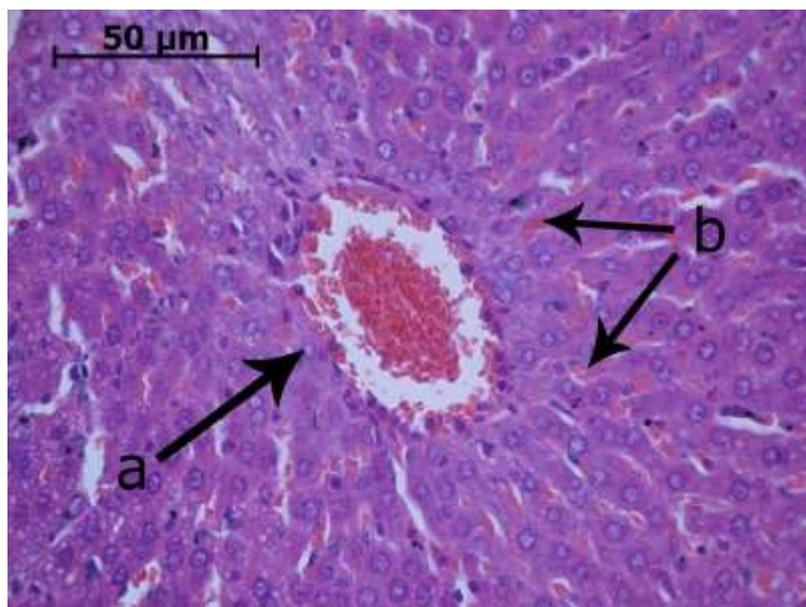


Рисунок 21. Печень крысы на 21 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (4-я группа). Полнокровие центральной вены (а) и синусоидных капилляров (b). Окр.: реакция Перлса с докраской гематоксилином и эозином. Ув. 400.

В печени крыс 4-й группы на 40 сутки эксперимента наблюдали признаки умеренных дисциркуляторных расстройств: расширение и запустевание синусоидов в периферических отделах печеночных долек, а также полнокровие центральных вен. Перлс-положительные клетки всех трех классов встречали в области портальных трактов, перисинусоидально в периферических отделах печеночных долек, причем доминировали клетки 2-го класса (4,5 кл./мм²). Фиксировали снижение количества клеток 1-го и 2-го класса относительно 21 суток, а количество клеток 3-го класса не изменялось (Таблица 4, приложение 1.2).

В печени крыс 6-й группы через 7 суток выявляли выраженную гиперемию артерий и вен портальных трактов. Синусоидные капилляры всех отделов печеночных долек были расширены и запустевали, центральные вены также расширены, полнокровны или запустевают. Гепатоциты во всех отделах печеночных долек находились в состоянии зернистой дистрофии. В периферических и промежуточных отделах печеночных пластинок обнаруживали гепатоциты в состоянии баллонной дистрофии. В периферических отделах долек наблюдали моноцелюлярный некроз гепатоцитов, здесь же определялись Перлс-

позитивные клетки, расположенные главным образом перисинусоидально и представленные клетками всех 3-х классов, с доминированием клеток 2-го класса (13,9 кл./мм²) (Таблица 4).

На 14 сутки наблюдали прогрессирование полнокровия артерий и вен портальных трактов по сравнению с предыдущим сроком. Синусоидные капилляры во всех отделах печеночных долек были расширены и запустевали. По сравнению с предыдущим сроком выявляли более резкое полнокровие центральных вен. Гепатоциты во всех отделах долек находились в состоянии зернистой и баллонной дистрофии. Моноцелюлярный некроз гепатоцитов встречался повсеместно, но преобладал в периферических отделах долек. Перлс-позитивные клетки 1-го и 2-го классов находились в области портальных трактов, в то время как клетки 3-го класса располагались преимущественно в центральных отделах печеночных долек (Рисунок 22). Обращает на себя внимание увеличение количества клеток 1-го класса до 10,1 кл./мм² и снижение количества клеток 3-го класса до 4,3 кл./мм², при неизменном количестве клеток 2-го класса - 14,3 кл./мм² (Таблица 4).

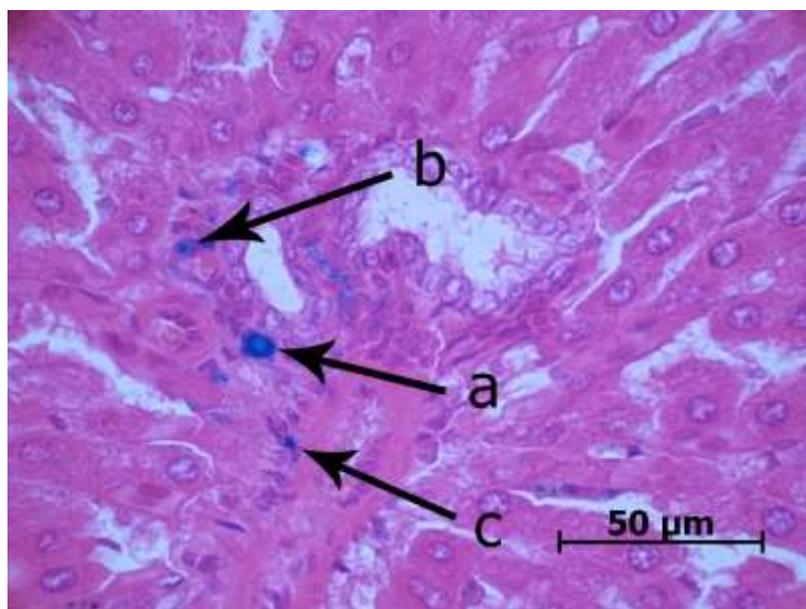


Рисунок 22. Печень крысы через 14 суток после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (6-я группа). Перлс позитивные клетки 1-го (а), 2-го (b) и 3-го (с) классов в междольковой соединительной ткани области триад. Окр.: реакция Перлса с докраской гематоксилином и эозином. Ув. 630.

На 21 и 40 сутки эксперимента признаки дисциркуляторных расстройств у крыс 6-й группы достигали наибольшей выраженности и были представлены резким полнокровием междольковых артерий и вен. Синусоиды всех отделов печеночных долек были расширены и запустевали, определялась выраженная гиперемия центральных артерий. Во всех отделах печеночных долек встречались гепатоциты в состоянии зернистой и баллонной дистрофии, а также в состоянии некроза. Перлс-позитивные клетки обнаруживались повсеместно, но преобладали в междольковой соединительной ткани области триад и были представлены клетками всех 3-х классов с доминированием клеток 2-го класса. По сравнению с 14 сутками эксперимента на 40 сутки отмечали увеличение количества клеток 1-го 2-го и 3-го классов до 13,2, 15,1 и 5,4 кл./мм², соответственно (Таблица 4, приложение 1.3).

Итак, в печени крыс после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг_(массы тела) отмечали комплекс дисциркуляторных расстройств представленный полнокровием междольковых артерий и вен, расширением и запустеванием синусоидных капилляров центральных и промежуточных отделов долек, а также полнокровием центральных вен. Максимальной степени развития описанные гемодинамические нарушения достигали на 7 сутки эксперимента. Изменения структуры гепатоцитов также достигали наибольшей выраженности на 7 сутки и были представлены зернистой дистрофией гепатоцитов периферических отделов долек, а также их гидропической дистрофией. При повышении дозы однократного введения до 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) максимум выраженности морфологических изменений наблюдали на 14 сутки эксперимента. Помимо перечисленных выше гемодинамических изменений, у крыс 4-й группы отмечали резкое расширение и запустевание некоторых центральных вен, а синусоидные капилляры во всех отделах долек были расширены и запустевали. Структурные изменения гепатоцитов также усугубились. Повсеместно выявляли гепатоциты в состоянии зернистой и гидропической дистрофии, а в периферических отделах долек обнаруживали себя клетки в состоянии некроза. Многократное внутривенное введение исследуемых

наноконструкций (6-я группа) приводило к аналогичным изменениям, однако максимум их выраженности фиксировали на 21 и 40 сутки исследования. При дозе покрытых углеродом наночастиц железа 6 мг(Fe)/кг_(массы тела) отмечали нормализацию морфологии печени на 40 сутки исследования, в то время как при дозе однократного введения 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) и при многократном введении изучаемого наноматериала восстановления структуры органа в течении эксперимента не отмечали.

Таблица 4. Динамика количества Перлс-положительных клеток в 1 мм² среза печени крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа (X±s).

Класс Перлс-положительных клеток	Количество Перлс-положительных клеток на 1 мм ² препарата							
	1 сутки	7 сутки	14 сутки	21 сутки	40 сутки	60 сутки	90 сутки	120 сутки
Животные после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг _(массы тела) , 2-я группа								
1 класс	5,6±0,33	3,7±0,51*&	1,1±0,24*&	0*&	0*	0*	0*	0*
2 класс	11,3±0,41	7,3±0,39*&	5,2±0,51*&	4,8±0,26*	0*&	0*	0*	0*
3 класс	4,4±0,12	4,5±0,43	3,5±0,21*	2,9±0,26*	0*&	0*	0*	0*
Общее кол-во	21,3±0,52	15,5±0,97*&	9,8±0,55*&	7,7±0,18*&	0*&	0*	0*	0*
Животные после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 60 мг(Fe)/кг _(массы тела) , 4-я группа								
1 класс	19,6±0,17	14,3±0,44*&	8,1±0,41*&	5,5±0,36*&	2,7±0,31*&	-	-	-
2 класс	7,5±0,39	9,8±0,47*&	9,4±0,22*	8,4±0,18&	4,5±0,21*&	-	-	-
3 класс	3,6±0,44	5,4±0,56&	4,2±0,33&	3,7±0,27	3,8±0,17	-	-	-
Общее кол-во	30,7±0,64	29,5±1,05	21,7±0,51*&	17,6±0,44*&	11±0,47*&	-	-	-
Животные после многократного введения суспензии покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг _(массы тела) , 6-я группа								
1 класс	-	7,5±0,32	10,1±0,23*&	12,8±0,17*&	13,2±0,11*	-	-	-
2 класс	-	13,9±0,24	14,3±0,33	14,6±0,41	15,1±0,22*	-	-	-
3 класс	-	5,7±0,11	4,3±0,1*&	5,5±0,21&	5,4±0,29	-	-	-
Общее кол-во	-	27,1±0,49	28,7±0,41*	32,9±0,45*&	33,7±0,38*	-	-	-

Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы (p<0,05).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе (p<0,05).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе (p<0,05).

В легких крыс через 1 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (2-я группа), отмечался умеренный периваскулярный и интерстициальный отек, а также расширение межальвеолярных перегородок. Слабо выраженное полнокровие сосудов микроциркуляторного русла, артерии и вены заустевали, некоторые артериолы были спазмированы (Рисунок 23). Перибронхиальная соединительная ткань умеренно инфильтрирована Перлс-отрицательными мононуклеарными клетками. Перлс-позитивные клетки 2-го (преобладающего) и 3-го класса наблюдали периваскулярно, перибронхиально и в межальвеолярных перегородках. Клетки 1-го класса встречались в просвете альвеол, интрабронхиолярно и интрабронхиально. Количество клеток 1-го, 2-го и 3-го классов достигало значений 4,5, 6,2 и 3,3 кл./мм², соответственно (Таблица 4).

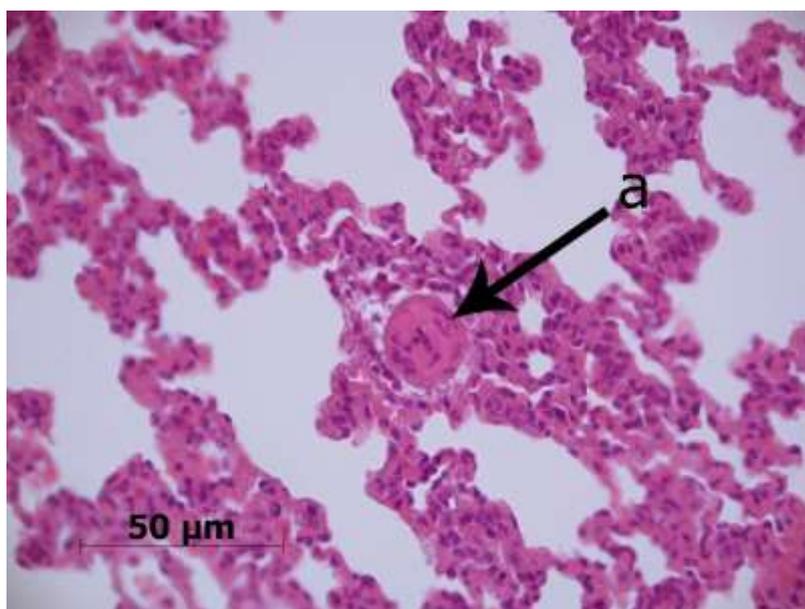


Рисунок 23. Легкое крысы через 1 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (2-я группа). Утолщение межальвеолярных перегородок. Артериолоспазм (а). Окр.: реакция Перлса с докраской гематоксилином и эозином. Ув. 400.

На 7 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг/кг (2-я группа) наблюдали признаки, свидетельствующие об усугублении дисциркуляторных расстройств: прогрессирование полнокровия сосудов микроциркуляторного русла и отека межальвеолярных перегородок.

Большинство вен также было полнокровно, артерии гиперемированы, некоторые запусевали, повсеместно определялся периваскулярный отек. Вокруг крупных и средних бронхов идентифицировались небольшие гранулемы из Перлс-негативных клеток. Перибронхиально и периваскулярно, а также в просвете бронхов, бронхиол и альвеол были видны Перлс-позитивные клетки всех трех классов (доминировали клетки 2-го класса). Отмечали снижение количества клеток 1-го класса (3,5 кл./мм²) при неизменном количестве клеток 2-го (4,6 кл./мм²) и 3-го (4,8 кл./мм²) классов по сравнению с 1 сутками (Таблица 5).

В легких крыс на 14 сутки после введения покрытых углеродом наночастиц железа (2-я группа) выявляли умеренное расширение межальвеолярных перегородок, артериальное и венозное полнокровие. Обращало на себя внимание снижение выраженности гемодинамических нарушений по сравнению с 7 сутками. В соединительной ткани окружающей бронхи присутствовал инфильтрат, представленный мононуклеарными Перлс-отрицательными клетками. По сравнению с предыдущим сроком какой-либо динамики относительно размеров и количества инфильтратов не фиксировали. Перлс-положительные клетки 1-го, 2-го и 3-го классов располагались периваскулярно, перибронхиально и внутриальвеолярно. В просвете бронхов, бронхиол и альвеол локализовались преимущественно клетки 1-го и 2-го классов (Рисунок 24). Количество клеток 1-го, 2-го и 3-го классов относительно предыдущего срока исследования снижалось и достигало значений 3,3, 3,2 и 4,4 кл./мм², соответственно (Таблица 5).

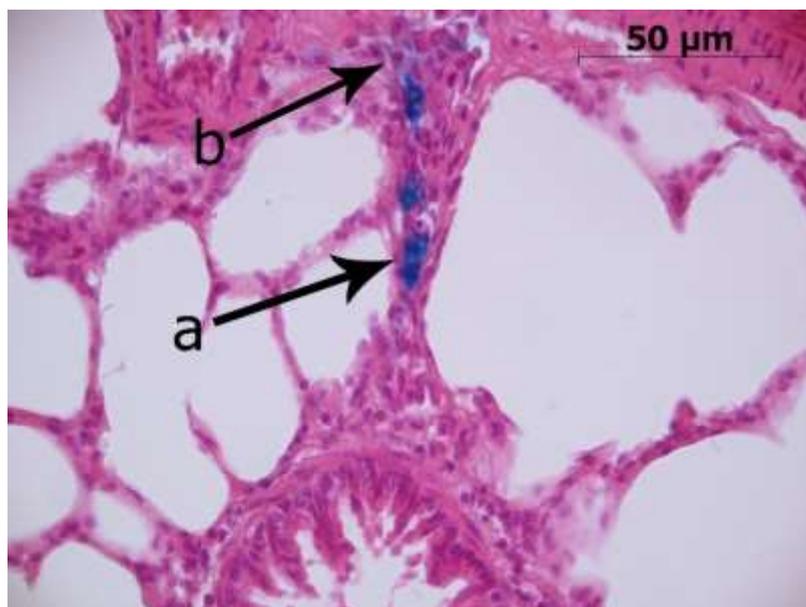


Рисунок 24. Легкое крысы на 14 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (2-я группа). Перикапиллярно расположенные Перлс-положительные клетки 1-го (a) и 3-го (b) классов в межальвеолярной перегородке. Окр.: реакция Перлса с докраской гематоксилином и эозином. Ув. 400.

На 21 и 40 сутки в легких крыс 2-й группы наблюдали аналогичные изменения без какой-либо динамики. Перибронхиально сохранялись Перлс-отрицательные мононуклеарные инфильтраты. Перлс-позитивные клетки 1-го, 2-го и 3-го классов встречались перибронхиально и в просвете альвеол. По аналогии с 14 сутками доминировали клетки 2-го класса. К 40 суткам исследования какой-либо динамики количества клеток 2-го и 3-го класса относительно 14 суток эксперимента не отмечали, а количество Перлс-положительных клеток 1-го класса снижалось и достигало 1,7 кл./мм² (Таблица 5).

На 60 сутки структура легких крыс 2-й группы в целом соответствовала таковой интактных животных, лишь перибронхиально выявлялись Перлс-положительные клетки 1-го и 2-го класса без динамики по сравнению с предыдущим сроком. Как и на 40 сутки, на данном этапе эксперимента преобладали Перлс-позитивные клетки 2-го класса. Структура легких на 90 и 120 сутки полностью нормализовалась и соответствовала таковой у крыс интактной группы. Перлс-положительные клетки не определялись (Таблица 5, приложение 2.1).

В легких крыс после однократного введения покрытых углеродом наноразмерных частиц железа в дозе 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) (4-я группа) на 1 сутки наблюдали гемодинамические нарушения (полнокровие сосудов микроциркуляторного русла и общий отек), проявляющиеся утолщением межальвеолярных перегородок. Некоторые артерии и артериолы были спазмированы, вокруг них наблюдался периваскулярный отек (Рисунок 25). Вены были расширены, полнокровны, имели перивенулярный отек. Перибронхиально, вокруг средних и крупных бронхов, наблюдали инфильтраты, состоящие преимущественно из Перлс-отрицательных мононуклеарных клеток. Перлс-положительные клетки всех трех классов находились в межальвеолярных перегородках и периваскулярно. Клетки 1-го и 2-го класса располагались внутриальвеолярно, интрабронхиолярно и интрабронхиально с доминированием клеток 1-го класса (11,4 кл./мм²) (Таблица 5).

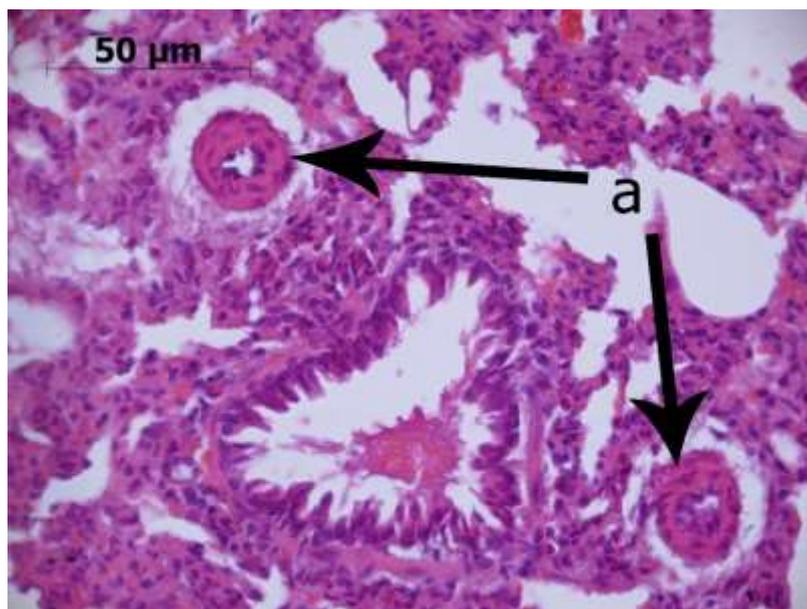


Рисунок 25. Легкое крысы через 1 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (4-я группа). Расширение межальвеолярных перегородок, полнокровие сосудов микроциркуляторного русла. Спазм артерий с выраженным периартериальным отеком (а). Окр.: реакция Перлса с докраской гематоксилином и эозином. Ув. 400.

На 7 сутки в легких крыс 4-й группы признаки гемодинамических расстройств, принимают более выраженный характер: резкое венозное полнокровие, периартериальный и перивенулярный отек. Межальвеолярные

перегородки расширены вследствие интерстициального отека и гиперемии сосудов микроциркуляторного русла. Перибронхиально наблюдали инфильтраты, в межальвеолярных перегородках, перибронхиально, а также периваскулярно выявлялись Перлс-позитивные клетки всех трех классов. В просвете альвеол, бронхиол и бронхов наблюдали преимущественно клетки 1-го и 2-го классов с преобладанием последнего. По сравнению с 1 сутками эксперимента наблюдали снижение количества Перлс-положительных клеток 1-го класса (8,2 кл./мм²), в то время как количество клеток 2-го (9,5 кл./мм²) и 3-го (5,1 кл./мм²) классов оставалось неизменным (Таблица 5).

К 14 суткам гемодинамические изменения в легких крыс 4-й группы достигли максимального развития. Межальвеолярные перегородки, в которых наблюдали выраженное полнокровие сосудов микроциркуляторного русла и интерстициальный отек, были расширены. Артерии и вены резко гиперемированы, повсеместно заметен периваскулярный отек. Перибронхиально – выраженные мононуклеарные Перлс-отрицательные инфильтраты. Перлс-позитивные клетки всех трех классов находились в межальвеолярных перегородках, перибронхиально, периваскулярно, также в просвете бронхов, бронхиол и альвеол. Обращает на себя внимание снижение количества клеток 1-го и 2-го классов до 6,6 кл./мм² и 7,8 кл./мм², соответственно. Количество Перлс-положительных клеток 3-го класса относительно предыдущего срока исследования осталось неизменным (Таблица 5).

На 21 сутки в легких крыс 4-й группы также, как и в предыдущий срок исследования, наблюдали выраженные признаки дисциркуляторных расстройств: полнокровие микроциркуляторного русла, венозную и артериальную гиперемию, периваскулярный отек. Строма органа инфильтрирована преимущественно Перлс-негативными мононуклеарными клетками. Размер и количество инфильтратов по сравнению с 14 сутками не изменялись. Перлс-положительные клетки 1-го и 2-го (преобладали) классов встречались в просвете альвеол, бронхиол и бронхов, а также перибронхиально, в то время как клетки 3-го класса преимущественно лежали периваскулярно и в межальвеолярных перегородках. По сравнению с 14 сутками эксперимента отмечали снижение количества клеток 1-го, 2-го и 3-го

классов, которое достигало значений 5,2, 6,4 и 4,1 кл./мм², соответственно (Таблица 5).

В легких крыс 4-й группы на 40 сутки наблюдали полнокровие сосудов микроциркуляторного русла и общий отек, что проявлялось умеренным утолщением межальвеолярных перегородок. Артерии и вены полнокровны, некоторые заустевали. Строма органа инфильтрирована мононуклеарными клетками, которые располагались, главным образом, перибронхиально и перибронхиолярно без какой-либо динамики относительно предыдущего срока. Перлс-позитивные клетки 1-го, 2-го и 3-го классов выявлялись перибронхиально, а также внутриальвеолярно, интрабронхиолярно и интрабронхиально, их количество относительно предыдущего срока исследования оставалось неизменным (Таблица 5, приложение 2.2).

На 7 сутки в легких крыс 6-й группы наблюдали микроциркуляторное и артериальное полнокровие, перивенулярный отек, заустевающих вен. Периваскулярно вокруг вен выявляли отек. Межальвеолярные перегородки были умеренно расширены, отечны. Перибронхильно и перибронхиолярно определяется инфильтрат, состоящий из Перлс-отрицательных мононуклеарных клеток. Перлс-положительные клетки встречались перибронхиально, в межальвеолярных перегородках, в просвете альвеол, бронхиол и бронхов и были представлены клетками всех трех классов. Клетки 1-го и 2-го классов преимущественно лежали в просветах альвеол, бронхиол и бронхов. В данный срок доминировали Перлс-позитивные клетки 2-го класса (7,7 кл./мм²) (Таблица 5).

В легких крыс на 14 сутки после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа отмечается прогрессирование гемодинамических нарушений. Межальвеолярные перегородки расширены за счет полнокровия сосудов микроциркуляторного русла, интерстициального отека, а также инфильтрации мононуклеарными клетками. Перибронхиально располагался выраженный инфильтрат, представленный Перлс-отрицательными мононуклеарными клетками. Размер и количество инфильтратов не обнаруживали динамики по сравнению с предыдущим сроком эксперимента. Количество Перлс-

позитивных клеток возрастает по сравнению с предыдущим сроком (7,2 кл./мм² – 1-й, 8,4 кл./мм²- 2-й и 6,1 кл./мм²- 3-й класс). При этом клетки 1-го и 2-го классов располагались в просвете бронхов, бронхиол и альвеол, а также перибронхиально. В межальвеолярных перегородках доминировали, главным образом, клетки 2-го и 3-го классов и периваскулярно 3-го класса. Среди отдельных классов Перлс-положительных клеток преобладали клетки 2-го класса (Таблица 5).

На 21 и 40 сутки легкие крыс 6-й группы характеризуются более выраженным по сравнению с предыдущим сроком полнокровием артерий, вен и сосудов микроциркуляторного русла. Некоторые артерии были спазмированы. Периваскулярно вокруг артерий и вен присутствовал отек. Межальвеолярные перегородки были отечны и расширены. Перибронхиально по-прежнему наблюдали выраженную инфильтрацию мононуклеарными клетками. Периваскулярно, в межальвеолярных перегородках, перибронхиально, а также в просвете бронхов и альвеол обнаруживались Перлс-положительные клетки всех трех классов (Рисунок 26). На 40 сутки по сравнению с 14-ми количество клеток 1-го, 2-го и 3-го классов возросло до 10,4 кл./мм², 10,1 кл./мм² и 9,4 кл./мм², соответственно (Таблица 5, приложение 2.3).

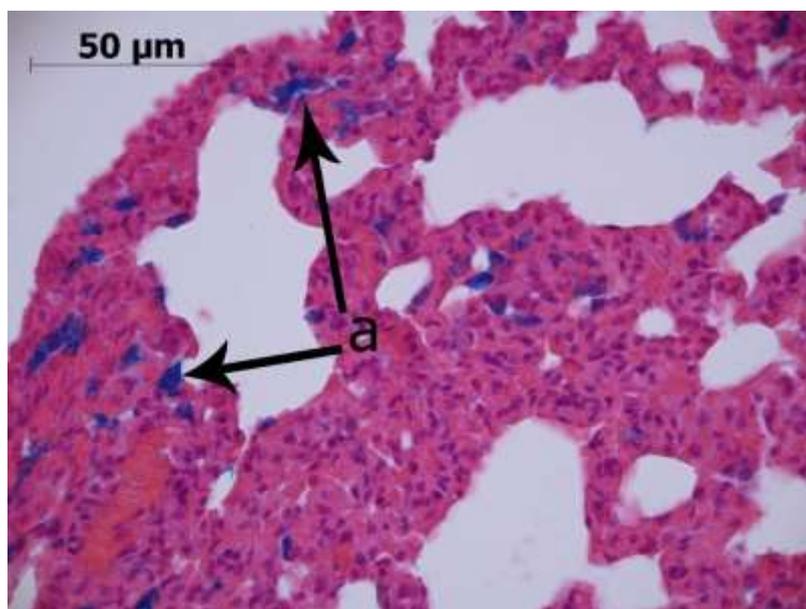


Рисунок 26. Легкое крысы на 40 сутки после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (6-я группа). Полнокровие сосудов микроциркуляторного русла. Расширение межальвеолярных перегородок. Перлс-положительные клетки 1-го (а) и 2-го классов. Окр.: реакция Перлса с докраской гематоксилином и эозином. Ув. 400.

Таким образом, в легких крыс при внутривенном введении покрытых углеродом наночастиц железа в дозе $6 \text{ мг(Fe)/кг}_{(\text{массы тела})}$ (2-я группа) отмечали в основном гемодинамические нарушения (гиперемию и спазм артерий, полнокровие вен, некоторые запусевали, гиперемия сосудов микроциркуляторного русла, общий и периваскулярный отек). Также фиксировали расширение межальвеолярных перегородок и перибронхиальные инфильтраты. Наибольшей выраженности обнаруженные структурные изменения достигали на 7 сутки. У животных 4-й группы выявляли аналогичные изменения однако более выраженные, с максимумом развития на 14 сутки исследования. Нормализация структуры органа у крыс 2-й группы фиксировали на 60 сутки эксперимента, у крыс 4-й – не отмечали вовсе. При многократном введении изучаемого наноматериала не выявляли.

Таблица 5. Динамика количества Перлс-положительных клеток в 1 мм² среза легких крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа (X±s).

Класс Перлс- позитивных клеток	Количество Перлс-позитивных клеток на 1 мм ² препарата							
	1 сутки	7 сутки	14 сутки	21 сутки	40 сутки	60 сутки	90 сутки	120 сутки
Животные после однократного покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг _(массы тела) , 2-я группа								
1 класс	4,5±0,23\$	3,5±0,16*&	3,3±0,19*	3,7±0,2	1,7±0,15*&	1,6±0,28*	0*&	0*
2 класс	6,2±0,16\$	4,6±0,28*&	3,2±0,11*&	3,7±0,26*	2,5±0,3*&	2,8±0,33*	0*&	0*
3 класс	3,3±0,27	4,8±0,32*&	4,4±0,26*	2,5±0,31	1,8±0,27*	0*&	0*	0*
Общее кол-во	14±0,31\$	12,9±0,45	10,9±0,28*&	10,9±0,37*	6±0,32*&	4,4±0,42*	0*&	0*
Животные после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 60 мг(Fe)/кг _(массы тела) , 4-я группа								
1 класс	11,4±0,21	8,2±0,26*&	6,6±0,11*&	5,2±0,21*&	5,7±0,27*	-	-	-
2 класс	9,1±0,29	9,5±0,41	7,8±0,23*&	6,4±0,19*&	6,5±0,31*	-	-	-
3 класс	5,3±0,19	5,1±0,37	4,6±0,17	4,1±0,15*	3,8±0,34*	-	-	-
Общее кол-во	25,8±0,45	22,8±0,61*&	19±0,43*&	15,7±0,45*&	16±0,51*	-	-	-
Животные после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг _(массы тела) , 6-я группа								
1 класс	-	5,5±0,41	7,2±0,29*&	10,7±0,19*&	10,4±0,42*	-	-	-
2 класс	-	7,7±0,37	8,4±0,32	8,7±0,14	10,1±0,37*&	-	-	-
3 класс	-	4,8±0,43	6,1±0,27*&	9,5±0,14*&	9,4±0,35*	-	-	-
Общее кол-во	-	18±0,73	21,7±0,48*&	28,9±0,33*&	29,9±0,73*	-	-	-

Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы (p<0,05).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе (p<0,05).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе (p<0,05).

В почках крыс на 1 сутки после однократной инъекции покрытых углеродом наночастиц железа (2-я группа) наблюдали умеренное полнокровие капилляров клубочков почечных телец, слабовыраженную гиперемию капилляров, артерий и вен коркового и мозгового вещества, умеренный отек интерстиция, незначительное расширение капсулы Шумлянско-Боумена (Рисунок 27). Эпителиоциты части проксимальных извитых канальцев находились в состоянии зернистой дистрофии. В некоторых проксимальных извитых канальцах встречались группы клеток в состоянии некроза. Единичные эпителиоциты проксимальных извитых канальцев содержали гранулы в количестве 5-15 штук дающие позитивную реакцию Перлса. Перлс-положительные клетки 1-го, 2-го и 3-го класса присутствовали в интерстициальной соединительной ткани мозгового и коркового вещества, а их количество достигало значений 2,1, 3,6 и 14,8 кл./мм², соответственно. Преобладали клетки 3-го класса, большинство из которых располагалось в корковом веществе (Таблица 6).

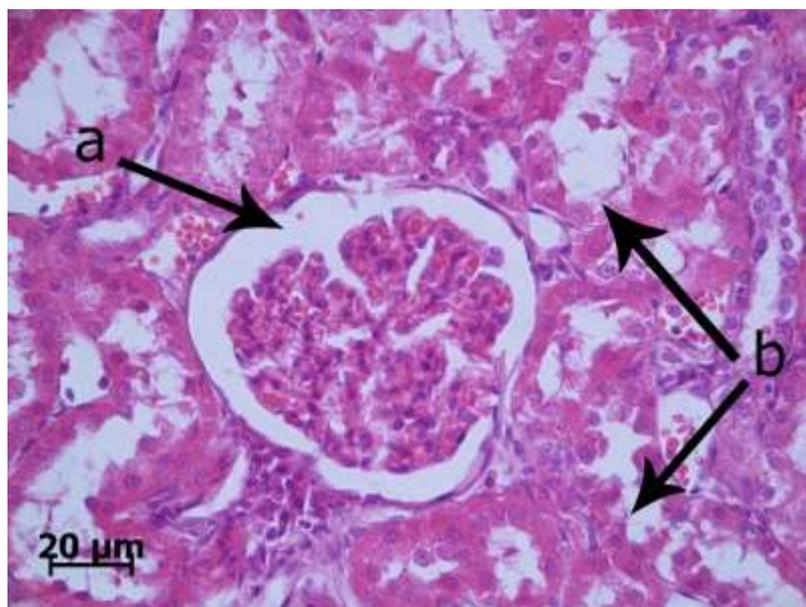


Рисунок 27. Почка крысы через 1 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (2-я группа). Полнокровие капилляров клубочка. Расширение капсулы Шумлянско-Боумена (а). Дистрофические изменения нефроцитов проксимальных извитых канальцев (b). Окр.: реакция Перлса с докраской гематоксилином и эозином. Ув. 400.

На 7 сутки в почках крыс 2-й группы гемодинамические нарушения прогрессируют по сравнению с предыдущим сроком: отмечается выраженная

гиперемия артерий и вен коркового и мозгового вещества, капилляры клубочков полнокровны, капсула Шумлянско-Боумена значительно расширена. Эпителиоциты проксимальных извитых канальцев находились в состоянии зернистой дистрофии, при этом не фиксировали какой-либо динамики количества таких клеток относительно предыдущего срока. Перлс положительные клетки в межканальцевой соединительной ткани коркового и мозгового вещества, с преимущественной локализацией в строме коркового вещества представлены клетками всех 3-х классов. Относительно 1 суток эксперимента отмечали снижение количества клеток 2-го и 3-го классов до 3,4 кл./мм² и 10,7 кл./мм², соответственно, в то время как количество клеток 1-го класса возросло до 1,2 кл./мм² (Таблица 6).

В почках крыс через 14 суток после введения покрытых углеродом наночастиц железа (2-я группа) наблюдали незначительную гиперемию капилляров клубочков почечных телец и капилляров мозгового вещества на фоне умеренной гиперемии артерий и вен коркового вещества, что в целом указывало на снижение выраженности признаков дисциркуляторных расстройств по сравнению с 7 сутками исследования. Встречались единичные эпителиоциты проксимальных и дистальных извитых канальцев в состоянии зернистой дистрофии, а также цилиндры в просвете преимущественно дистальных. В просвете дистальных извитых канальцев нередко видны цилиндры. Как и в предыдущий срок эксперимента Перлс-позитивные клетки всех 3-х классов встречались в интерстициальной соединительной ткани коркового и мозгового вещества, причем в корковом веществе доминировали клетки 3-го класса. Обращает на себя внимание снижение относительно 7 суток количества клеток 3-го класса до 6,6 кл./мм² (Таблица 6).

На 21 сутки в почках крыс 2-й группы наблюдали незначительное полнокровие клубочка капилляров почечного тельца. Структура органа без особенностей. В строме коркового и мозгового вещества определялось небольшое количество Перлс-положительных клеток 2-го и 3-го класса с преобладанием последнего (Таблица 6).

На 40 сутки структура почек крыс 2-й группы полностью нормализовалась. В интерстициальной соединительной ткани мозгового вещества встречались Перлс-позитивные клетки 2-го и 3-го классов (Таблица 6, приложение 3.1).

В оставшиеся сроки эксперимента (60, 90 и 120 сутки) структура органа у крыс 2-й группы соответствовала таковой у интактных животных.

В почках крыс через 1 сутки после введения покрытых углеродом наночастиц железа (4-я группа) наблюдали полнокровие капилляров клубочков почечных телец, капилляров коркового и мозгового вещества, гиперемию артерий и вен коркового вещества, выраженное расширение капсулы Шумлянско-Боумена (Рисунок 28). Небольшое количество эпителиоцитов проксимальных и дистальных извитых канальцев находилось в состоянии дистрофии и некроза. В небольшом количестве нефроцитов проксимальных извитых канальцев отмечали наличие Перлс-позитивных гранул в количестве 15-20 шт. Перлс-положительные клетки всех 3-х классов (с преобладанием 3-го, 14,7 кл./мм²) находились в межтубулярной соединительной ткани коркового и мозгового вещества (Таблица 6).

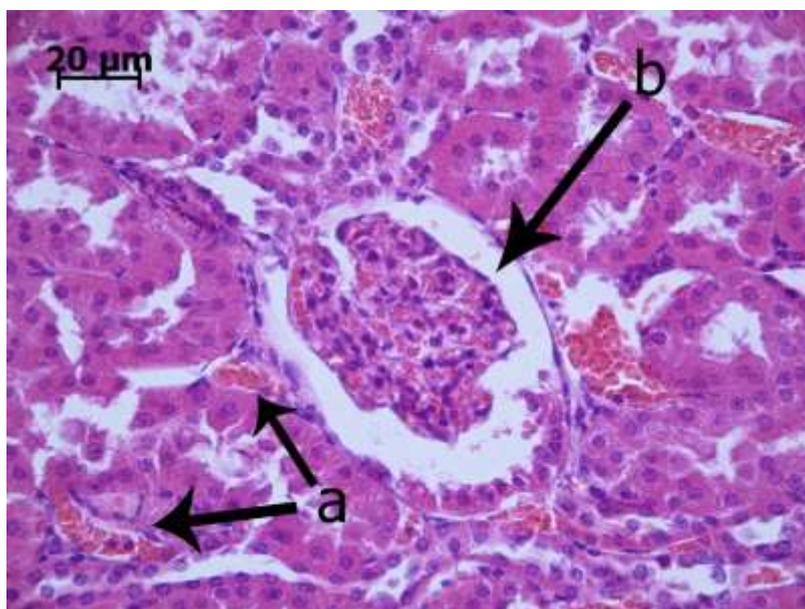


Рисунок 28. Почка крысы через 1 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (4-я группа). Полнокровие капилляров коркового вещества (а). Расширение капсулы Шумлянско-Боумена (b). Окр.: реакция Перлса с докраской гематоксилином и эозином. Ув. 400.

На 7 сутки в почках крыс после однократного введения покрытых углеродом наноразмерных частиц железа (4-я группа) по сравнению с предыдущим сроком более выражено полнокровие капилляров клубочков почечных телец, а также капилляров коркового и мозгового вещества, гиперемия артерий и вен мозгового вещества, просветы капсул Шумлянско-Боумена значительно расширены. По аналогии с предыдущим сроком встречались нефроциты в состоянии зернистой дистрофии и некроза. В просвете дистальных извитых канальцев фиксировали единичные цилиндры. В межтубулярной соединительной ткани коркового и мозгового вещества выявлялись Перлс-положительные клетки всех трех классов, с доминированием 3-го класса. По сравнению с 1 сутками эксперимента определяли снижение количества клеток 3-го класса до 11,5 кл./мм², в то время как количество клеток 1-го и 2-го классов не изменялось (Таблица 6).

На 14 сутки после инъекции в почках крыс 4-й группы дисциркуляторные расстройства прогрессируют. Наблюдали резкую гиперемию капилляров клубочков почечных телец и коркового вещества. Артерии и вены коркового и мозгового вещества были полнокровны. Обращает на себя внимание выраженное расширение собирательных трубочек. Какой-либо динамики относительно состояния эпителиоцитов проксимальных и дистальных извитых канальцев не выявляли. Перлс-положительные клетки 1-го, 2-го и 3-го класса присутствовали в строме коркового и мозгового веществ, с преобладанием клеток 3-го класса в корковом веществе. Отмечали снижение количества клеток 2-го класса до 5,4 кл./мм², количество клеток 1-го и 3-го классов по сравнению с 7 сутками эксперимента не изменилось (Таблица 6).

В почках крыс 4-й группы на 21 сутки наблюдали умеренное полнокровие капилляров клубочков и коркового вещества, гиперемию артерий и вен коркового вещества, что указывало на снижение выраженности признаков гемодинамических нарушений относительно 14 суток исследования. Просвет капсулы Шумлянско-Боумена расширен незначительно. В интерстиции коркового и мозгового вещества присутствовало небольшое количество Перлс-позитивных клеток всех 3-х классов, с доминированием клеток 3-го класса в корковом веществе. По сравнению с

предыдущим сроком эксперимента выявили снижение количества Перлс-положительных клеток 1-го, 2-го и 3-го классов до 0,8, 4,3 и 5,6 кл./мм², соответственно (Таблица 6).

На 40 сутки в почках крыс 4-й группы изменения в структуре органа не обнаруживают динамики по сравнению с предыдущим сроком. Перлс-положительные клетки представлены всеми 3-я классами, среди которых преобладали клетки 3-го класса с преимущественным расположением в межтубулярной соединительной ткани коркового вещества. По сравнению с 21 сутками отмечали снижение количества клеток 2-го и 3-го классов до 3,1 и 3,3 кл./мм², соответственно (Таблица 6, приложение 3.2).

После многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (6-я группа) в почках крыс через 7 суток наблюдали полнокровие капилляров почечных телец и мозгового вещества, а также полнокровие артерий и вен коркового вещества. Выявлено умеренное расширение капсулы Шумлянско-Боумана. Эпителиоциты проксимальных и дистальных извитых канальцев находились в состоянии некроза и зернистой дистрофии. В эпителиоцитах проксимальных извитых канальцев присутствовали гранулы, дающие положительную реакцию Перлса, в количестве 5-15 штук. В межканальцевой соединительной ткани коркового и мозгового вещества присутствовали Перлс-позитивные клетки всех трех классов. На 7 сутки доминировали клетки 3-го класса (6,6 кл./мм²), которые располагались преимущественно в корковом веществе (Таблица 6).

В почках крыс 6-й группы на 14 сутки наблюдали прогрессию дисциркуляторных нарушений. Выявляли выраженное полнокровие капилляров почечных телец, а также капилляров коркового и мозгового вещества. Артерии и вены резко полнокровны, заметен умеренный отек интерстиция. Наблюдали выраженное расширение просвета капсулы Шумлянско-Боумана. В некоторых нефроцитах проксимальных извитых канальцев выявляются Перлс-положительные гранулы в количестве 5-15 штук. Эпителиоциты проксимальных и дистальных извитых канальцев находились в состоянии зернистой дистрофии, встречались единичные некротизированные нефроциты. Расположение Перлс-положительных

клеток соответствовало данному показателю на 7 сутки. Следует отметить увеличение количества клеток 2-го и 3-го классов до 6,3 кл./мм² и 7,5 кл./мм² по сравнению с 7 сутками, при неизменном количестве клеток 1-го класса (Таблица 6).

В остальные сроки эксперимента (21 и 40 сутки) структура почек по сравнению с 14 сутками без какой-либо динамики. Перлс-позитивные клетки были представлены клетками всех трех классов, с доминированием клеток 3-го класса в корковом веществе (Рисунок 29). На 21 и 40 сутки не выявили изменения количества клеток 1-го, 2-го и 3-го классов по сравнению с 14 сутками эксперимента (Таблица 6, приложение 3.3).

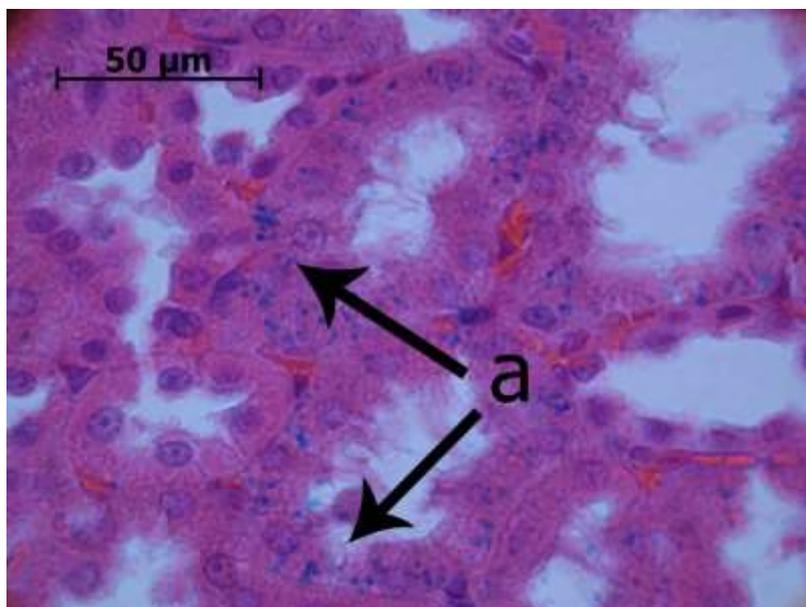


Рисунок 29. Почка крысы на 40 сутки после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (6-я группа). Полнокровные сосудов микроциркуляторного русла. Перлс-позитивные гранулы в цитоплазме нефроцитов проксимальных извитых канальцев (а). Окр.: реакция Перлса с докраской гематоксилином и эозином. Ув. 400.

Так, в почках экспериментальных животных после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг_(массы тела) на 7 сутки (максимум развития) структурные изменения органа были представлены нарушениями дисциркуляторного характера представлены полнокровием артерий, вен и сосудов микроциркуляторного русла а также дистрофическими и некротическими изменениями нефроцитов прежде всего проксимальных извитых

канальцев. Капсула Шумлянско-Боумена часто расширена, фиксировали гиперемии клубочка капилляров. При увеличении дозы однократного введения покрытых углеродом наночастиц до 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) наибольшей выраженности описанные изменения достигают на 14 сутки эксперимента и по сравнению с животными после однократными введениями были более выражены. Обращает на себя внимание резкое расширение капсулы Шумлянско-Боумена, более того, по сравнению с крысами 2-й группы отмечали расширение собирательных трубочек мозгового вещества. В 2-й группе с 40 суток исследования морфология почек не отличалась от таковой интактных животных, в то время как у животных 4-й и 6-й групп структура органа в течение всего срока эксперимента не обнаруживала признаков полной нормализации.

Таблица 6. Динамика количества Перлс-положительных клеток в 1 мм² среза почек крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа (X±s).

Класс Перлс- позитивных клеток	Количество Перлс-позитивных клеток на 1 мм ² препарата							
	1 сутки	7 сутки	14 сутки	21 сутки	40 сутки	60 сутки	90 сутки	120 сутки
Животные после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг _(массы тела) , 2-я группа								
1 класс	2,1±0,21	1,2±0,13*&	0*&	0*	0*	0*	0*	0*
2 класс	3,6±0,21	3,4±0,19	4,3±0,22	3,1±0,28&	0*	0*	0*	0*
3 класс	14,8±0,18	10,7±0,33*&	6,6±0,13*&	5,5±0,1*&	0*	0*	0*	0*
Общее кол-во	18,4±0,55	15,3±0,43*&	10,9±0,21*&	8,6±0,19*	0*	0*	0*	0*
Животные после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 60 мг(Fe)/кг _(массы тела) , 4-я группа								
1 класс	2,8±0,25	1,7±0,23*&	0,9±0,18*	0,8±0,26*	0*&	-	-	-
2 класс	4,3±0,13\$	4,9±0,11	5,4±0,23*	4,3±0,26&	3,1±0,31*&	-	-	-
3 класс	14,7±0,16	11,5±0,27*&	5,8±0,14*&	5,6±0,1*	3,3±0,18*&	-	-	-
Общее кол-во	19±0,29\$	18,1±0,38	12,1±0,35*&	10,7±0,33*&	6,4±0,28*&	-	-	-
Животные после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг _(массы тела) , 6-я группа								
1 класс	-	4,7±0,12	4,1±0,25	4,3±0,18	4,4±0,14	-	-	-
2 класс	-	4,4±0,21	6,3±0,3*&	6,1±0,22*	6,3±0,19*	-	-	-
3 класс	-	6,6±0,19	7,5±0,23	7,2±0,22	7,4±0,1*	-	-	-
Общее кол-во	-	15,7±0,34	17,9±0,47*&	17,6±0,38*	18,1±0,31*	-	-	-

Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы (p<0,05).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе (p<0,05).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе (p<0,05).

На 1 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (2-я группа), структура селезенки без особенностей. Перлс-положительные клетки располагаются повсеместно в красной и белой пульпе и представлены клетками всех трех классов. В красной пульпе они лежат в селезеночных тяжах и перифолликулярно относятся, главным образом, к клеткам 2-го и 3-го классов. Интрафолликулярно располагается небольшое количество клеток, преимущественно 1-го класса.

В селезенке крыс 2-й группы на 7 и 14 сутки наблюдали спазм центральных артерий. Внутри фолликулов располагалось небольшое количество Перлс-положительных клеток 1-го класса. Перифолликулярно в большом количестве лежали клетки 1-го и 2-го классов.

На 21 сутки структура органа без особенностей. Перифолликулярно располагались клетки, дающие положительную реакцию Перлса всех трех классов. Внутрифолликулярно Перлс-позитивных клеток обнаружено не было. В оставшиеся сроки эксперимента (40, 60, 90 и 120 сутки) структура селезенки была без особенностей и не отличалась от таковой у крыс интактной группы (Рисунок 30).

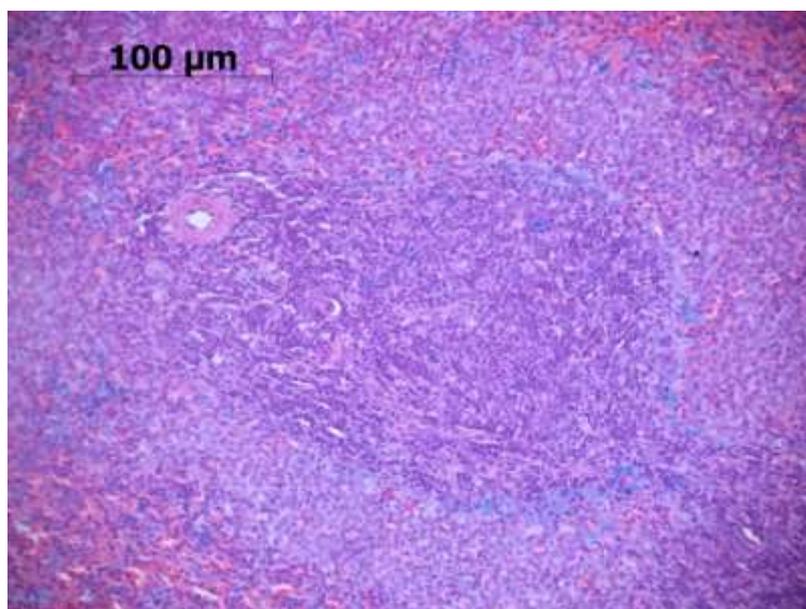


Рисунок 30. Селезенка крысы на 60 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (2-я группа). Перифолликулярное расположение Перлс-положительных клеток всех 3-х классов. Окр.: реакция Перлса с докраской гематоксилином и эозином. Ув. 400.

В селезенке крыс 4-й группы на 1 сутки наблюдали спазм центральных артерий (Рисунок 31). Структура органа без особенностей. В селезеночных тяжах и по периферии лимфатических фолликулов расположены Перлс-положительные клетки 1-го и 2-го классов. В фолликулах выявляли Перлс-положительные клетки 1-го класса. Количество Перлс-положительных клеток представляется повышенным по сравнению с селезенкой интактных крыс.

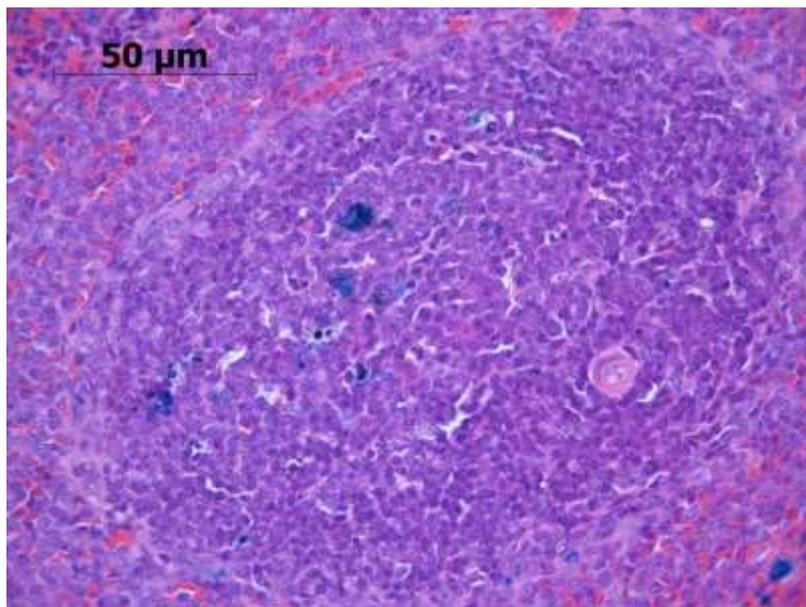


Рисунок 31. Селезенка крысы на 1 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (4-я группа). Спазм центральной артерии. Интра- и перифолликулярно располагаются Перлс-положительные клетки всех 3-х классов. Окр.: реакция Перлса с докраской гематоксилином и эозином. Ув. 400.

На 7 сутки в селезенке крыс 4-й группы центральные артерии спазмированы. В селезеночных тяжах, пери- и интрафолликулярно располагались Перлс-положительные клетки 1 класса. По сравнению с предыдущим сроком количество Перлс-положительных клеток представляется сниженным.

На 14 и 21 сутки гладкие миоциты средней стенки центральных артерий по-прежнему выглядят спазмированными. Структурных изменений паренхимы органа не выявлено. Перлс-положительные клетки 2-го класса располагались в красной и в белой пульпе.

На 40 сутки в селезенке крыс 4-й группы структурных изменений не выявлено. Перлс-положительные клетки в красной пульпе (перифолликулярно и в селезеночных тяжах) представлены клетками всех трех классов.

Через 7 суток в селезенке крыс после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа выявляли спазм центральных артерий. Перлс-положительные клетки 1-го класса находились перифолликулярно и в селезеночных тяжах. Перлс-положительные клетки 2-го класса находились внутри лимфатических фолликулов. По сравнению с крысами интактной группы количество Перлс-положительных клеток в селезенке животных 6-й группы визуально выше.

На 14, 21, 40 сутки наблюдали спазм гладких миоцитов центральных артерий, часть из которых находились в состоянии гиалиноза. Перлс-положительные клетки всех трех классов располагались повсеместно в белой и красной пульпе. С увеличением срока эксперимента количество Перлс-позитивных клеток, главным образом, в красной пульпе увеличивалось.

Итак, морфологические изменения селезенки экспериментальных животных после введения изучаемых наноконструкций (2-я, 4-я и 6-я группы) выявляли лишь незначительные гемодинамические изменения проявляющиеся в спазме центральной артерии. При дозе наноматериала 6 и 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) нормализация структуры органа отмечали на 21 и 40 сутки соответственно, однако при многократном введении покрытых углеродом наночастиц обнаруженные изменения присутствовали на протяжении всего срока эксперимента.

На 1 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг_(массы тела) (2-я группа) в сердце крыс выявляли комплекс гемодинамических нарушений, представленный полнокровием сосудов микроциркуляторного русла, гиперемией артерий и вен миокарда. Эндокард и эпикард без изменений. Кардиомиоциты не имеют признаков повреждения.

На 7 и 14 сутки в сердце крыс сохранялись признаки полнокровия сосудов микроциркуляторного русла и умеренный перичеллюлярный отек миокарда. Некоторые артерии миокарда были спазмированы.

Состояние сердца крыс 2-й группы на 21, 40, 60, 90 и 120 сутки соответствовало таковому у животных интактной группы.

В сердце крыс после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (4-я группа) через 1 сутки наблюдали артериальное и венозное полнокровие, а также гиперемию сосудов микроциркуляторного русла миокарда. Присутствовал умеренный общий отек миокарда, периваскулярный отек, умеренно выраженный спазм артерий. Структурных изменений кардиомиоцитов не выявлено.

На 7 сутки сохранялись перечисленные выше гемодинамические нарушения: полнокровие сосудов микроциркуляторного русла, гиперемия вен и артерий, общий отек миокарда (Рисунок 32).

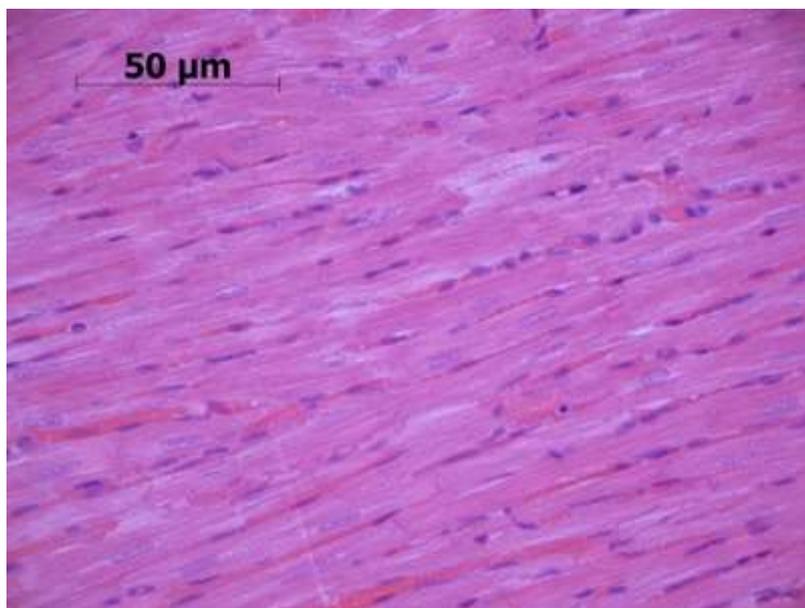


Рисунок 32. Миокард крысы через 1 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (4-я группа). Полнокровие сосудов микроциркуляторного русла. Окр.: реакция Перлса с докраской гематоксилином и эозином. Ув. 400.

На 14 сутки в сердце крыс сохраняется умеренный общий отек миокарда. Сосуды микроциркуляторного русла полнокровны.

В оставшиеся сроки эксперимента морфологических изменений сердца крыс 4-й группы не выявлено, структура органа соответствовала таковой у крыс интактной группы.

На 7 и 14 сутки в сердце крыс после многократного введения покрытых углеродом наноразмерных частиц железа (6-я группа) наблюдали дисциркуляторные расстройства представленные полнокровием артерий, вен и сосудов микроциркуляторного русла, а также общим отеком миокарда (Рисунок 33).

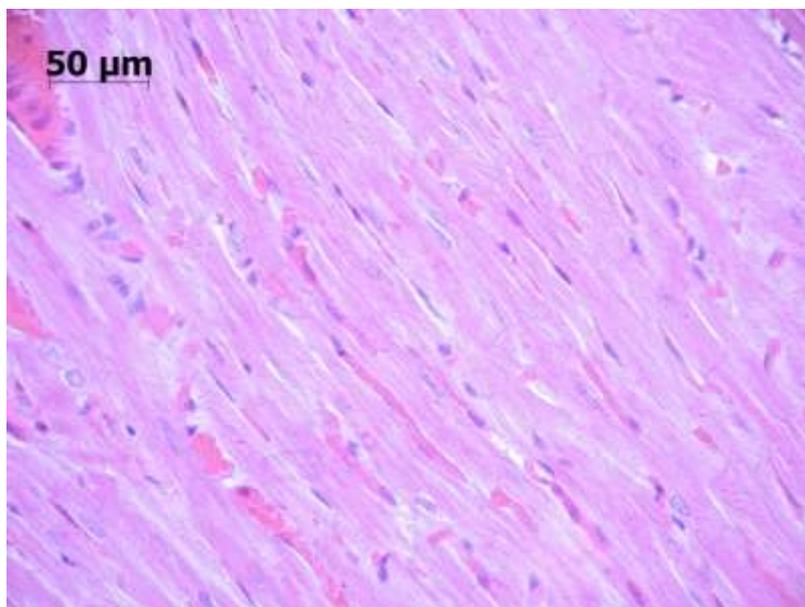


Рисунок 33. Миокард крысы на 7 сутки после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (6-я группа). Полнокровие сосудов микроциркуляторного русла, стаз, сладж эритроцитов. Окр.: реакция Перлса с докраской гематоксилином и эозином. Ув. 400.

В оставшиеся сроки эксперимента динамики структурных изменений органа не наблюдалось и состояние сердца крыс 6-й группы соответствовало морфологии органа на 7 сутки.

Таким образом, в сердце экспериментальных животных после однократного (в дозе 6 и 60 мг(Fe)/кг_(массы тела)) и многократного введения изучаемых наноконструкций выявили гемодинамические нарушения представленные полнокровием артерий, вен и сосудов микроциркуляторного русла, а также перичеллюлярный отек. Изменений структуры кардиомиоцитов не фиксировали. Максимального развития обнаруженные нарушения достигали во 2-й, 4-й и 6-й групп на 1-7 сутки исследования и после 14 (2-я группа) и 21 (4-я группа), структура органа полностью соответствовала таковой у животных интактной группы.

3.3.2. Структура печени, легких, селезенки, почек и сердца крыс после внутривенного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наноразмерных частиц железа

В печени крыс через 1 сутки после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (3-я группа) присутствовало слабовыраженное полнокровие междольковых артерий и вен (Рисунок 34). Синусоидные капилляры центральных отделов печеночных долек были расширены и запустевали. Наблюдали умеренное полнокровие центральных вен. В периферических отделах долек отмечали нарушение тинкториальных свойств гепатоцитов, которое проявлялось более интенсивной оксифилией цитоплазмы, чем у клеток центральных и промежуточных отделов. Перлс-позитивные клетки были представлены клетками 1-го, 2-го и 3-го классов, которые находились в междольковой соединительной ткани и перисинусоидально внутри долек. На 1 сутки в печени преобладали Перлс-позитивные клетки 2-го класса (8,7 кл./мм²) (Таблица 7).

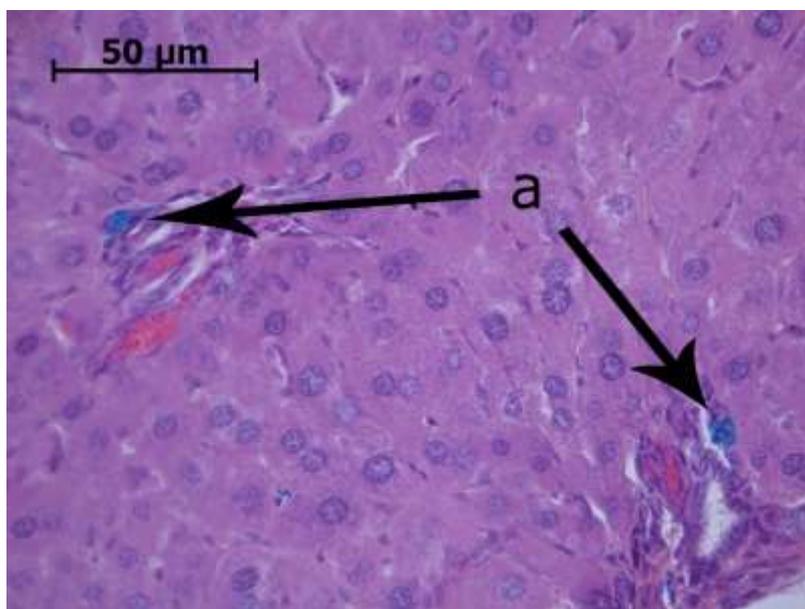


Рисунок 34. Печень крысы через 1 сутки после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (3-я группа). Перлс-позитивные клетки 2-го класса в междольковой соединительной ткани в области триад (а). Окр.: реакция Перлса с докраской гематоксилином и эозином. Ув. 400.

На 7 сутки эксперимента обнаружили усугубление наблюдаемых в предыдущий срок структурных изменений. В печени крыс 3-й группы присутствовало умеренное полнокровие междольковых артерий и вен. Синусоидные капилляры центральных и промежуточных отделов печеночных долек были расширены и запустевали, центральные вены обнаруживали признаки полнокровия. В периферических отделах печеночных долек встречались гепатоциты в состоянии зернистой дистрофии. Во всех отделах печеночных долек и в междольковой соединительной ткани в области триад встречаются Перлс-положительные клетки всех трех классов, с доминированием клеток 2 класса. Отмечали снижение количества клеток 1-го и 2-го классов до 2,1 кл./мм² и 7,2 кл./мм², соответственно по сравнению с 1 сутками эксперимента. Количество клеток 3-го класса не изменилось и осталось на уровне 3,2 кл./мм² (Таблица 7).

На 14 сутки в печени, как и в предыдущий срок, наблюдали умеренную гиперемию артерий и вен портальных трактов (Рисунок 35). Синусоиды периферических отделов печеночных долек расширены и запустевали. Встречалось небольшое количество центральных вен, которые были расширены и полнокровны. Во всех отделах печеночных долек выявляли скопления гепатоцитов (10-15 клеток) в состоянии зернистой дистрофии, количество которых по сравнению с 7 сутками снизилось. Перлс-позитивные клетки присутствовали в области портальных трактов, а также перисинусоидально в периферических и промежуточных отделах печеночных пластинок. Обращает на себя внимание снижение количества клеток только 2-го класса до 5,4 кл./мм², в то время как количество Перлс-позитивных клеток 1-го и 3-го классов осталось неизменным. На данном этапе эксперимента по-прежнему преобладали клетки 2-го класса (Таблица 7).

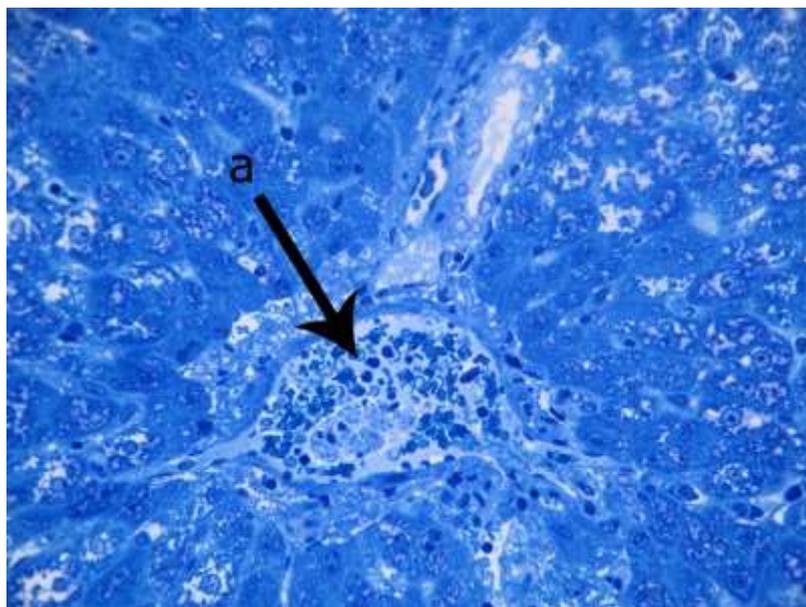


Рисунок 35. Печень крысы на 14 сутки после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (3-я группа). Полнокровие междольковой артерии (а). Гепатоциты в состоянии зернистой дистрофии. Полутонкий срез. Окр.: окраска азур II. Ув. 400.

В печени крыс 3-й группы на 21 сутки наблюдали умеренную гиперемию междольковых артерий и вен. Присутствовало умеренное запустевание и расширение синусоидных капилляров периферических отделов печеночных долек, что в целом указывало на снижение выраженности обнаруженных ранее гемодинамических нарушений. В периферических отделах долек встречались гепатоциты, цитоплазма которых была более эозинофильна по сравнению с гепатоцитами промежуточных и центральных отделов печеночных долек. В периферических отделах долек выявляли клетки, имеющие Перлс-положительные гранулы, которые относились к 1-му, 2-му и 3-му классам. Выявили снижение количества клеток 2-го класса до 2,9 кл./мм² по сравнению с 14 сутками эксперимента. Количество клеток 1-го и 3-го классов осталось неизменным. На 21 сутки в печени преобладали Перлс-положительные клетки 2-го и 3-го классов 2,9 кл./мм² и 2,7 кл./мм², соответственно (Таблица 7).

С 40 суток и до завершения исследования структура печени крыс 3-й группы не отличалась от таковой у интактных животных. В области портальных трактов, а также перисинусоидально в периферических отделах печеночных долек

встречались Перлс-позитивные клетки только 2-го класса, количество которых достигало 1,3 кл./мм² (Таблица 7, приложение 1.1).

В печени крыс 5-й группы на 1 сутки наблюдали расширение и полнокровие междольковых артерий и вен. Синусоидные капилляры центральных отделов печеночных долек были расширены и полнокровны. Кроме того, выявляли расширение и полнокровие центральных вен (Рисунок 36). Гепатоциты в периферических отделах долек обнаруживали признаки зернистой дистрофии. В междольковой соединительной ткани триад и перисинусоидально в промежуточной части печеночных долек встречались Перлс-положительные клетки всех трех классов, среди которых преобладали клетки 1-го класса (9,5 кл./мм²) (Таблица 7).

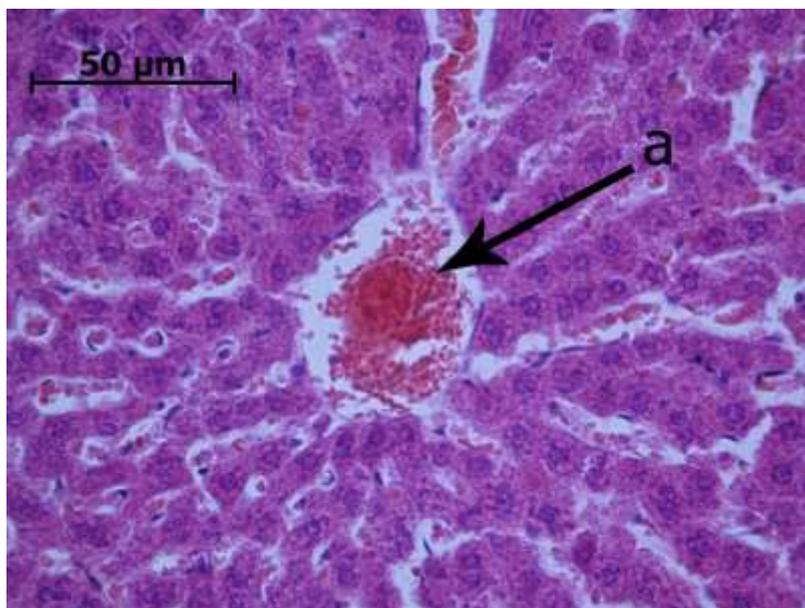


Рисунок 36. Печень крысы через 1 сутки после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (5-я группа). Полнокровие центральной вены (а). Окр.: реакция Перлса с докраской гематоксилином и эозином. Ув. 400.

На 7 сутки в печени крыс 5-й группы обнаружили максимально выраженные дисциркуляторные нарушения. Артерии и вены в области портальных трактов были резко полнокровны. Синусоидные капилляры, спавшиеся на всем протяжении, выявлялись только по характерному расположению ядер эндотелиоцитов и звездчатых макрофагов. Центральные вены расширены, часть из

них полнокровна, другая - запустевает. Во всех отделах печеночных долек встречаются гепатоциты в состоянии зернистой и баллонной дистрофии (Рисунок 37). Перлс-позитивные клетки всех трех классов встречались в промежуточных и периферических отделах печеночных долек, а также в области триад. Обращало на себя внимание снижение количества клеток 1-го класса до 6,4 кл./мм², и увеличение количества Перлс-положительных клеток 2-го и 3-го класса до 6,6 кл./мм² и 4,6 кл./мм², соответственно по сравнению с 1 сутками эксперимента (Таблица 7).

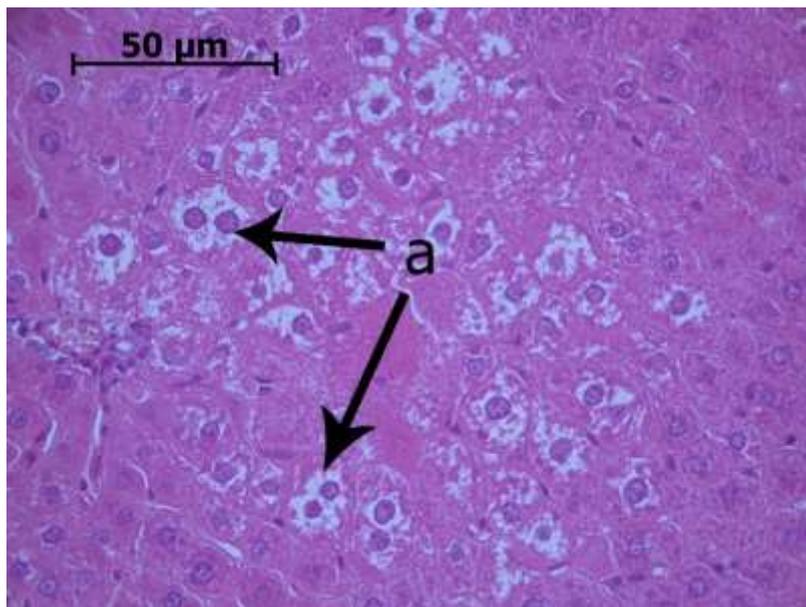


Рисунок 37. Печень крысы на 7 сутки после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (5-я группа). Гепатоциты периферического отдела дольки в состоянии зернистой и гидропической (баллонной) дистрофии (а). Окр.: реакция Перлса с докраской гематоксилином и эозином. Ув. 400.

В печени крыс 5-й группы на 14 сутки наблюдали снижение выраженности дисциркуляторных расстройств по сравнению с предыдущим сроком. Синусоидные капилляры промежуточных отделов долек спавшиеся, центральные вены - расширены и полнокровны. Гепатоциты периферических отделов печеночных долек находились в состоянии зернистой дистрофии. Выраженность дистрофических изменений по сравнению с предыдущим сроком снижалась. Перлс-позитивные клетки всех трех классов встречались перисинусоидально в промежуточных и периферических отделах печеночных долек, а также в междольковой соединительной ткани области триад. Относительно предыдущего

срока эксперимента отмечали снижение количества клеток 1-го и 2-го класса до 4,2 кл./мм² и 5,1 кл./мм², в то время как количество клеток 3-го класса не изменилось и осталось на уровне 4,5 кл./мм² (Таблица 7).

На 21 сутки эксперимента в печени крыс 5-й группы выявляли умеренное полнокровие центральных вен. Гепатоциты периферических отделов печеночных долек в состоянии зернистой дистрофии, как и на 14 сутки эксперимента. Здесь же присутствовали группы гепатоцитов с выраженной оксифильной цитоплазмой и перисинусоидально расположенные Перлс-положительные клетки 1-го, 2-го и 3-го классов (Рисунок 38). Выявили снижение клеток 1-го и 2-го класса до 3,4 кл./мм² и 4,1 кл./мм², соответственно по сравнению с 14 сутками исследования. На 21 сутки преобладали Перлс-позитивные клетки 2-го и 3-го классов (Таблица 7).

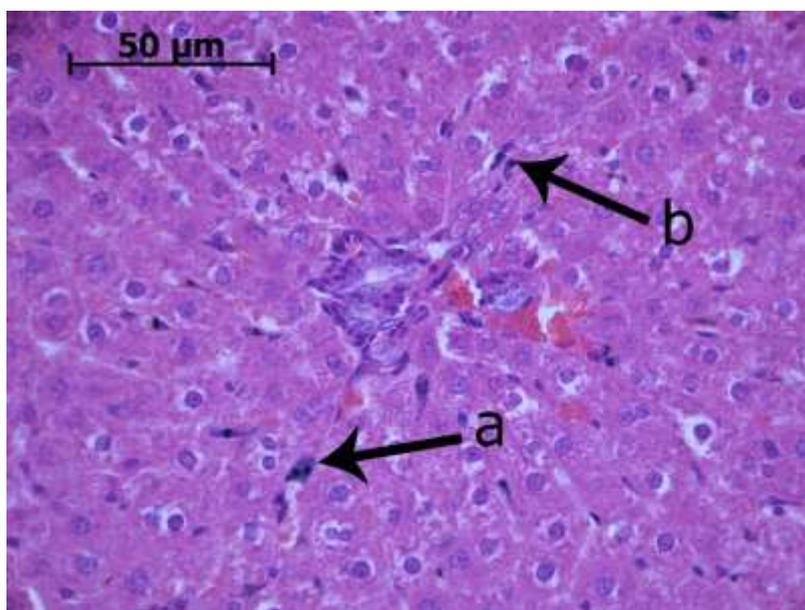


Рисунок 38. Печень крысы на 21 сутки после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (5-я группа). Зернистая дистрофия гепатоцитов периферических отделов печеночных долек. Полнокровие междольковых вен. Перлс-позитивные клетки 2-го (а) и 3-го (b) классов. Окр.: реакция Перлса с докраской гематоксилином и эозином. Ув. 400.

На 40 сутки печень крыс 5-й группы соответствовала строению таковой у интактных крыс. Перлс-положительные клетки всех трех классов встречались перисинусоидально в периферических отделах печеночных долек и в междольковой соединительной ткани в области порталных трактов. Как и в

предыдущий срок доминировали клетки 2-го и 3-го класса, количество которых достигало 3,5 кл./мм² и 3,6 кл./мм², соответственно. По сравнению с 21 сутками выявили снижение количества Перлс-положительных клеток 2-го класса (Таблица 7, приложение 1.2).

На 7 сутки в печени крыс 7-й группы выявляли полнокровие сосудов портальных трактов и центральных вен. Гепатоциты периферических отделов долек находились в состоянии зернистой дистрофии. В центральных и периферических отделах печеночных долек встречались Перлс-позитивные клетки всех 3-х классов. На 7 сутки в печени крыс преобладали клетки 2-го класса (9,5 кл./мм²) (Таблица 7).

В печени крыс 7-й группы на 14, 21 и 40 сутки не наблюдали динамики по сравнению с 7 сутками. Синусоидные капилляры были расширены и запустевали, центральные вены были расширены и полнокровны. Обращает на себя внимание постепенное увеличение количества Перлс-положительных клеток 1-го, 2-го и 3-го классов, количество которых к 40 суткам достигает 9,7, 10,5 и 5,8 кл./мм², соответственно. С 14 по 40 сутки доминировали клетки 2-го класса (Таблица 7, приложение 1.3).

Итак, однократное введение магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг_(массы тела) в печени крыс вызывало комплекс умеренных гемодинамических нарушений (полнокровие междольковых артерий и вен, расширение и запустевание синусоидов центральных и промежуточных отделов долек), а также зернистую дистрофию гепатоцитов. Пик выраженности описанных структурных изменений отмечали на 7 сутки исследования. Однако, при повышении дозы однократного введения до 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) (5-я группа), помимо тех изменений, что были выявлены у крыс 3-й группы, отмечали спавшиеся синусоидные капилляры, запустевание некоторых центральных вен, а также гепатоциты в состоянии гидропической дистрофии. Обращает на себя внимание, что наибольшей выраженности морфологические изменения как и в 3-й группе достигали на 7 сутки. Многократное введение магнитомицелл привело к схожим результатам с максимумом выраженности структурных изменений на 14 сутки

исследования. У крыс 3-й и 5-й групп структура печени нормализовалась на 40 сутки, в то время как при многократном такой картины не наблюдали.

Таблица 7. Динамика количества Перлс-положительных клеток в 1 мм² среза печени крыс после введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (X±s).

Класс Перлс- позитивных клеток	Количество Перлс-позитивных клеток на 1 мм ² препарата							
	1 сутки	7 сутки	14 сутки	21 сутки	40 сутки	60 сутки	90 сутки	120 сутки
Животные после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг _(массы тела) , 3-я группа								
1 класс	3,5±0,14\$	2,1±0,25*&\$	2,2±0,18*\$	1,6±0,39*\$	0*&	0*	0*	0*
2 класс	8,7±0,22\$	7,2±0,19*&	5,4±0,24*&	2,9±0,34*&\$	1,3±0,15*&\$	0*	0*	0
3 класс	3,6±0,11\$	3,2±0,1\$	3,1±0,14	2,7±0,1*	0*&	0*	0*	0*
Общее кол-во	15,8±0,33\$	12,5±0,35*&\$	10,7±0,36*&	7,2±0,41*&	1,3±0,1*&\$	0*&	0*	0*
Животные после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 60 мг(Fe)/кг _(массы тела) , 5-я группа								
1 класс	9,5±0,11\$	6,4±0,25*&\$	4,2±0,16*&\$	3,4±0,41*\$	2,2±0,19*&	-	-	-
2 класс	5,3±0,27\$	6,6±0,17*&\$	5,1±0,21&\$	4,1±0,25*&\$	3,5±0,23*\$	-	-	-
3 класс	3,1±0,34	4,6±0,33*&	4,5±0,2*&	4,3±0,19*	3,6±0,28	-	-	-
Общее кол-во	17,9±0,44\$	17,6±0,42\$	13,8±0,36*&\$	11,8±0,51*&\$	9,3±0,47*&\$	-	-	-
Животные после многократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг _(массы тела) , 7-я группа								
1 класс	-	4,2±0,28\$	6,3±0,26*&\$	8,1±0,27*\$	9,7±0,14*\$	-	-	-
2 класс	-	9,5±0,31\$	9,7±0,13\$	9,5±0,24\$	10,5±0,28\$	-	-	-
3 класс	-	4,6±0,35\$	4,4±0,2	4,3±0,16\$	5,8±0,12*\$	-	-	-
Общее кол-во	-	18,3±0,5\$	20,4±0,33*&\$	21,9±0,38*\$	26±0,29*\$	-	-	-

Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы (p<0,05).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе (p<0,05).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе (p<0,05).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе (p<0,05).

В легких крыс через 1 сутки после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (3-я группа) обнаружены нарушения дисциркуляторного характера (Рисунок 39). Наблюдали полнокровие сосудов микроциркуляторного русла и запустевание вен, а также периваскулярный отек. Межалвеолярные перегородки умеренно расширены и отечны. Вокруг средних и крупных бронхов, присутствовали инфильтраты, представленные Перлс-отрицательными мононуклеарными клетками. Перлс-положительные клетки, главным образом, 2-го (5,1 кл./мм²) и 3-го классов встречались периваскулярно, в межалвеолярных перегородках и перибронхиально. Клетки 1-го класса обнаруживались в просвете бронхов, бронхиол и альвеол (Таблица 8).

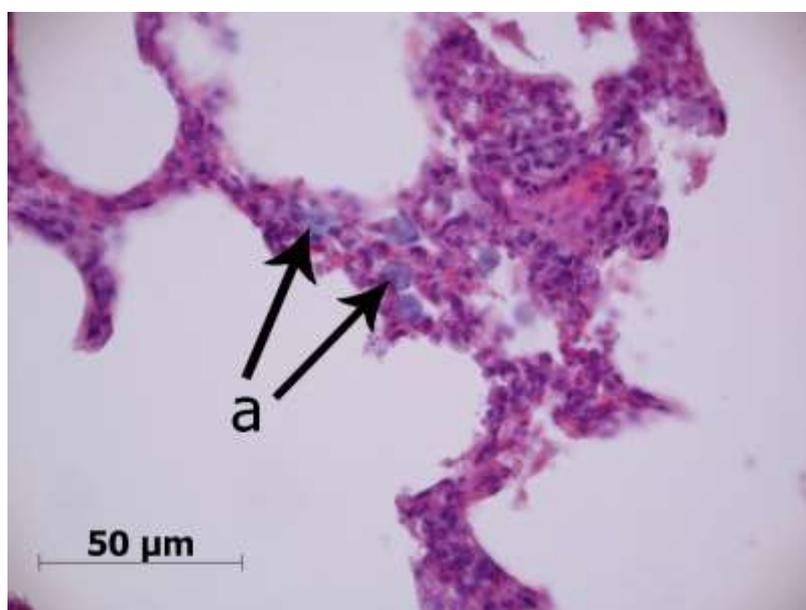


Рисунок 39. Легкое крысы через 1 сутки после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (3-я группа). Полнокровие сосудов микроциркуляторного русла. Перлс-положительные клетки 2-го класса межалвеолярных перегородках (а). Окр.: реакция Перлса с докраской гематоксилином и эозином. Ув. 400.

На 7 сутки в легких крыс 3-й группы выявляли усугубление гемодинамических нарушений, наблюдаемых в предыдущий срок. Обнаруживали умеренное артериальное полнокровие и гиперемию сосудов микроциркуляторного русла. Некоторые артерии спазмированы, либо заустевают, вокруг них выявляется отек. Межалвеолярные перегородки расширены. Какой-либо динамики состава, количества и размеров инфильтратов относительно 1 суток не

фиксируют. В просвете бронхов наблюдали Перлс-положительные клетки, главным образом, 1-го класса. Кроме того, Перлс-позитивные клетки находились периваскулярно, перибронхиально и в межальвеолярных перегородках и были представлены клетками 1-го, 2-го и 3-го классов с преобладанием клеток 2-го класса. По сравнению с 1 сутками отмечали снижение количества клеток 1-го и 2-го класса до 2,6 кл./мм² и 4,8 кл./мм², соответственно, в то время как количество клеток 3-го класса возросло до 2,3 кл./мм² (Таблица 8).

В легких крыс 3-й группы на 14 сутки наблюдали умеренное артериальное полнокровие и гиперемия сосудов микроциркуляторного русла. Некоторые артерии были спазмированы, вены заустевали, имел место умеренный периваскулярный отек. Совокупность наблюдаемых признаков гемодинамических изменений указывала на снижение их выраженности по сравнению с предыдущим сроком исследования. Межальвеолярные перегородки выглядели расширенными. Перибронхиально определяли инфильтраты из Перлс-отрицательных мононуклеарных клеток. Периваскулярно, в межальвеолярных перегородках, перибронхиально, а также в просвете бронхов и альвеол присутствовали Перлс-позитивные клетки всех трех классов. Перлс-положительные клетки 1-го и 2-го классов лежали, как правило, в просвете альвеол, бронхиол и бронхов. Относительно 7 суток выявили снижение количества клеток 2-го класса до 2,2 кл./мм², в то время как количество Перлс-положительных клеток 1-го и 3-го (преобладали) классов не изменилось (Таблица 8).

На 21 сутки после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (3-я группа) в легких крыс наблюдали гемодинамические нарушения, представленные умеренным артериальным и венозным полнокровием, а также периваскулярным отеком (Рисунок 40). Выраженность описанных дисциркуляторных расстройств по сравнению с 14 сутками представлялась сниженной. Перибронхиально располагались немногочисленные инфильтраты, представленные мононуклеарными Перлс-негативными клетками. Количество таких инфильтратов и их размеры визуально представлялись сниженными по сравнению с предыдущим сроком исследования.

Расположение Перлс-положительных клеток соответствовало таковому на 21 сутки. Обращало на себя внимание снижение количества клеток 3-го класса до 1,1 кл./мм², количество клеток 1-го и 2-го классов не изменилось. По сравнению с 14 сутками эксперимента преобладали Перлс-положительные клетки 1-го и 2-го класса, а их количество было примерно одинаковым – около 2,3 кл./мм² (Таблица 8).

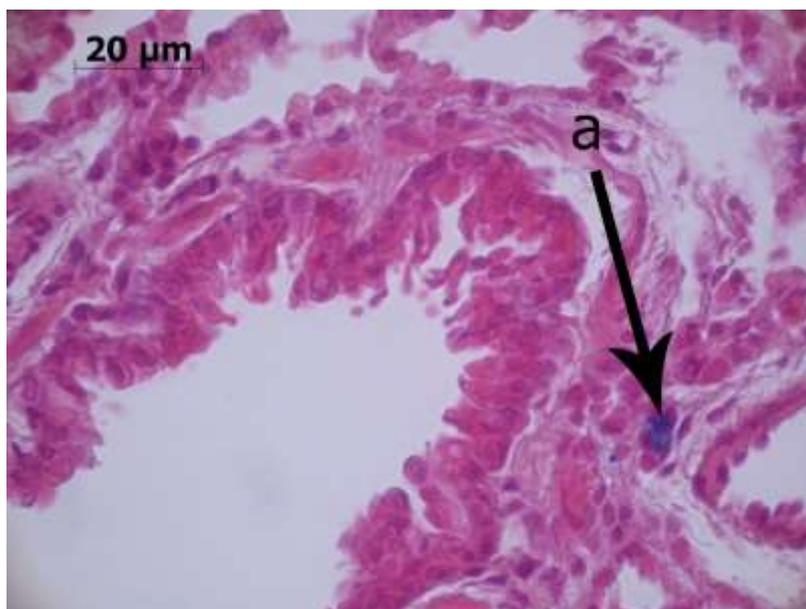


Рисунок 40. Легкое крысы на 21 сутки после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (3-я группа). Перибронхиальный отек. Перлс-позитивная клетка 1-го класса расположенная в собственной пластинке слизистой оболочки бронха (а). Окр.: реакция Перлса с докраской гематоксилином и эозином. Ув. 400.

На 40 сутки структура легких крыс 3-й группы в целом соответствовала таковой в предыдущий срок, однако, гемодинамические нарушения были менее выражены. Перлс позитивные клетки 1-го и 2-го классов встречались только перибронхиально. На данном сроке эксперимента отмечали снижение количества клеток 1-го и 2-го классов до 1,2 кл./мм² и 2,3 кл./мм², количество клеток 3-го класса не изменилось по сравнению с предыдущим сроком эксперимента (Таблица 8).

В легких крыс 3-й группы на 60 сутки наблюдали периваскулярный отек. Перлс-позитивные клетки выявлялись только перибронхиально и были

представлены клетками всех трех классов, а их количество относительно 40 суток не изменилось (Таблица 8).

На 90 и 120 сутки эксперимента структура легкого соответствовала состоянию органа у крыс интактной группы. Через 90 суток после инъекции в просвете бронхов и перибронхиально встречались Перлс-позитивные только клетки 2-го класса (1 кл./мм²), а на 120 сутки Перлс-положительные клетки и не обнаруживались (Таблица 8, приложение 2.1).

В легких крыс 5-й группы через 1 сутки выявляли дисциркуляторные расстройства, представленные артериальным полнокровием и гиперемией сосудов микроциркуляторного русла. Некоторые артерии спазмированы, вены запустевали, наблюдался периваскулярный отек. Межалвеолярные перегородки были расширены за счет полнокровия и общего отека. Перибронхиально, вокруг средних и крупных бронхов встречались инфильтраты, состоящие преимущественно из Перлс-отрицательных моноклеарных клеток. Периваскулярно и перибронхиально выявляли Перлс-позитивные клетки 1-го, 2-го и 3-го классов, тогда как в просвете альвеол, бронхиол, мелких и средних бронхов обнаруживались преимущественно клетки 1-го и 2-го классов, с доминированием последних (11,4 кл./мм²) (Таблица 8).

На 7 сутки в легких крыс 5-й группы дисциркуляторные расстройства, имеющие место в предыдущий срок, усугублялись. Выявляли выраженное артериальное полнокровие и гиперемию сосудов микроциркуляторного русла, запустевание некоторых артерий и вен, периваскулярный отек. Межалвеолярные перегородки расширены. Размеры перибронхиально расположенных Перлс-отрицательных моноклеарных инфильтратов превышали таковые в предыдущий срок эксперимента. Перлс-положительные клетки 1-го, 2-го и 3-го класса локализовались перибронхиально и периваскулярно. Кроме того, клетки 1-го класса располагались в просвете альвеол, бронхиол, мелких и средних бронхов. Преобладающей популяцией в этот срок были Перлс-позитивные клетки 2-го класса. Выявили снижение количества клеток 1-го и 2-го класса до 3,6 кл./мм² и 6,8

кл./мм², в то время как количество клеток 3-го класса возросло до 4,5 кл./мм² по сравнению с предыдущим сроком (Таблица 8).

В легких крыс 5-й группы на 14 сутки фиксировали снижение выраженности обнаруженных на 7 сутки гемодинамических нарушений. Присутствовало умеренное полнокровие артерий и сосудов микроциркуляторного русла, запустевание вен и периваскулярный отек (Рисунок 41). Межалвеолярные перегородки расширены за счет общего отека и полнокровия микроциркуляторного русла. Перибронхиально выявляли инфильтраты, образованные Перлс-негативными мононуклеарными клетками. Перлс-позитивные клетки располагались периваскулярно и перибронхиально и были представлены клетками 2-го и 3-го класса. В просвете альвеол, бронхиол и бронхов выявляли клетки 1-го и 2-го класса с доминированием клеток 2-го класса. Отмечали снижение количества клеток 2-го класса до 5,4 кл./мм², при неизменном по сравнению с 7 сутками количестве Перлс-положительных клеток 1-го и 3-го классов (Таблица 8).



Рисунок 41. Легкое крысы на 14 сутки после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (5-я группа). Периваскулярный и перибронхиальный отек (а). Перлс-положительные клетки 2-го класса (b). Окр.: реакция Перлса с докраской гематоксилином и эозином. Ув. 400.

На 21 и 40 сутки в легких крыс 5-й группы присутствовали выявленные в предыдущий срок изменения без какой-либо динамики. Перлс-позитивные клетки

определялись периваскулярно, перибронхиально, в межальвеолярных перегородках и в просвете бронхов. Распределение клеток отдельных классов соответствовало таковому на 14 сутки эксперимента. Относительно 14 на 40 сутки наблюдали снижение количества Перлс-положительных клеток 1-го и 3-го класса до 2,4 кл./мм² и 3,5 кл./мм², соответственно (Таблица 8, приложение 2.2).

На 7 сутки после многократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наноразмерных частиц железа (7-я группа) в легких крыс наблюдали комплекс дисциркуляторных нарушений: запустевание вен, полнокровие сосудов микроциркуляторного русла и артерий, периваскулярный, а местами и общий отек. Межалвеолярные перегородки расширены и отечны. Вокруг средних и крупных бронхов были обнаружены инфильтраты, образованные Перлс-отрицательными мононуклеарными клетками. Перлс-положительные клетки (2-й и 3-й класс) локализованы в межальвеолярных перегородках и перибронхиально. Внутриальвеолярно и внутрибронхиально встречались Перлс-позитивные клетки 1-го и 2-го классов. Доминировали в этот срок Перлс-положительные клетки 2-го класса (8,3 кл./мм²) (Таблица 8).

В легких крыс 7-й группы на 14 сутки, выявленные ранее гемодинамические изменения, прогрессировали. Наблюдалось выраженное артериальное и венозное полнокровие, а также гиперемия сосудов микроциркуляторного русла, периваскулярный отек. Межалвеолярные перегородки были расширены. Перибронхиально, в соединительной ткани располагался инфильтрат, представленный преимущественно Перлс-негативными мононуклеарными клетками (Рисунок 42). Перлс-позитивные клетки располагались перибронхиально, периваскулярно, в межальвеолярных перегородках, в просвете бронхов и были представлены клетками всех трех классов. Распределение отдельных классов Перлс-положительных клеток соответствовало таковому на 7 сутки. Обращало на себя внимание увеличение количества клеток 1-го и 2-го классов до 5,5 кл./мм² и 10,2 кл./мм², соответственно по сравнению с 7 сутками эксперимента (Таблица 8).

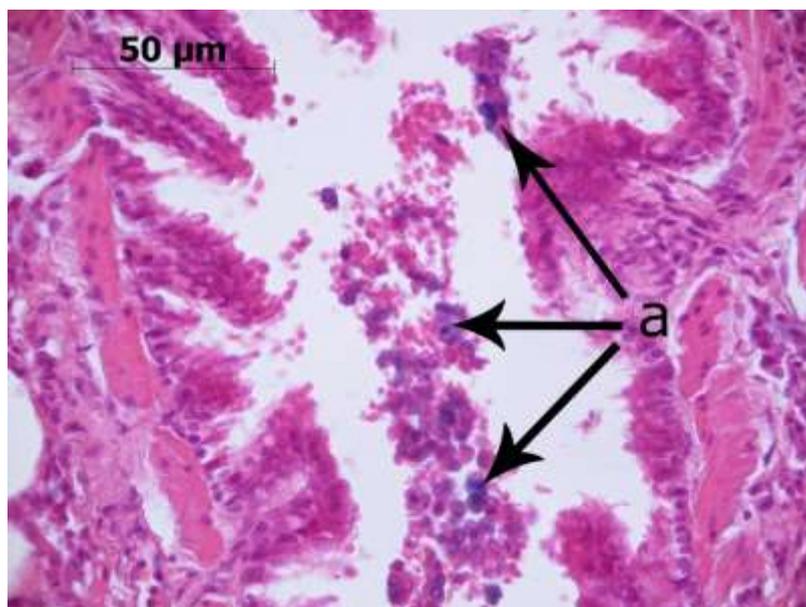


Рисунок 42. Легкое крысы на 14 сутки после многократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (7-я группа). Перлс положительные клетки 1-го и 2-го классов в просвете бронха (а). Окр.: реакция Перлса с докраской гематоксилином и эозином. Ув. 400.

На 21 и 40 сутки эксперимента изменения в легких крыс 7-й группы имели тот же характер, что и в предыдущий срок и не обнаруживали динамики. Перлс-положительные клетки имели аналогичную 14 суткам локализацию. Количество клеток 1-го, 2-го и 3-го классов возросло до 9,6, 12,4 и 6,3 кл./мм², соответственно по сравнению с 14 сутками исследования (Таблица 8, приложение 2.3).

Таким образом, в легких экспериментальных животных 3-й и 5-й групп максимум выраженности морфологических изменений фиксировали на 7 сутки исследования. Морфологические изменения были представлены в основном нарушениями дисциркуляторного характера (гиперемия и спазм артерий, полнокровие вен, гиперемия сосудов микроциркуляторного русла, общий и периваскулярный отек, расширение межальвеолярных перегородок), однако отмечали перибронхиально локализованные инфильтраты. Выраженность изменений при повышении дозы наноматериала возрастала. При внутривенном введении магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг_(массы тела) (3-я группа) структура органа не отличалась от таковой крыс

интактной группы с 90 суток исследования, а при дозе 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) и при многократном введении – нормализации не выявляли вовсе.

Таблица 8. Динамика количества Перлс-положительных клеток в 1 мм² среза легких крыс после введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (X±s).

Класс Перлс- позитивных клеток	Количество Перлс-позитивных клеток на 1 мм ² препарата							
	1 сутки	7 сутки	14 сутки	21 сутки	40 сутки	60 сутки	90 сутки	120 сутки
Животные после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг(массы тела), 3-я группа								
1 класс	3,3±0,11\$	2,6±0,24\$	2,1±0,12*\$	2,3±0,39*\$	1,2±0,23*&	1,4±0,21*	0*&	0*
2 класс	5,1±0,23\$	4,8±0,28	2,2±0,31*&\$	2,7±0,41*	2,3±0,18*	2,2±0,19*	1±0,16*&\$	0*&
3 класс	2,5±0,31	2,3±0,29\$	1,2±0,14*&\$	1,1±0,28*\$	1,1±0,15*	1,5±0,23*\$	0*	0*
Общее кол-во	10,9±0,41\$	9,7±0,53\$	5,5±0,37*&\$	6,1±0,64*\$	4,6±0,39*&\$	5,1±0,41*	1±0,16*&\$	0*&
Животные после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 60 мг(Fe)/кг(массы тела), 5-я группа								
1 класс	6,1±0,23\$	3,6±0,25*&\$	3,2±0,11*\$	3,3±0,21*\$	2,4±0,18*&\$	-	-	-
2 класс	11,4±0,27\$	6,8±0,31*&\$	5,4±0,4*&\$	4,7±0,39*\$	4,7±0,25*\$	-	-	-
3 класс	3,3±0,19\$	4,5±0,29*&	4,4±0,26*	3,4±0,28	3,5±0,11	-	-	-
Общее кол-во	20,8±0,36\$	14,9±0,52*&\$	13±0,43*&\$	11,4±0,44*&\$	10,6±0,3*\$	-	-	-
Животные после многократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг(массы тела), 7-я группа								
1 класс	-	4,1±0,17\$	5,5±0,15*&\$	6,7±0,22*&\$	9,6±0,26*&	-	-	-
2 класс	-	8,3±0,25	10,2±0,27*&\$	12,9±0,2*&\$	12,4±0,19*\$	-	-	-
3 класс	-	4,5±0,22	4,3±0,31\$	5,5±0,31\$	6,3±0,12*\$	-	-	-
Общее кол-во	-	16,9±0,34	20±0,42*&\$	25,1±0,49*&\$	28,3±0,38*&\$	-	-	-

Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы (p<0,05).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе (p<0,05).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе (p<0,05).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе (p<0,05).

В почках крыс через 1 сутки после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (3-я группа) наблюдали полнокровие капилляров клубочков почечных телец и вен коркового вещества, расширение капсулы Шумлянско-Боумена. В эпителиоцитах проксимальных извитых канальцев определялись Перлс-положительные гранулы в количестве 5-15 штук. Перлс-позитивные клетки всех трех классов встречались в интерстициальной соединительной ткани коркового вещества (Рисунок 43). Доминировали клетки 3-го класса (9,4 кл./мм²), которые преимущественно располагались в корковом веществе (Таблица 9).

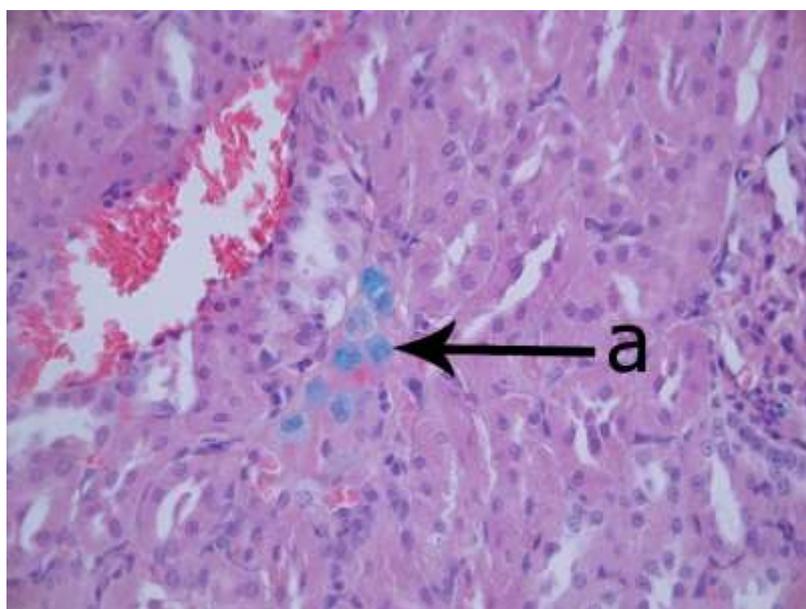


Рисунок 43. Почка крысы через 1 сутки после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (3-я группа). Перлс-положительные клетки 2-го класса в интерстиции коркового вещества (а). Окр.: реакция Перлса с докраской гематоксилином и эозином. Ув. 400.

На 7 сутки в почках крыс 3-й группы наблюдали прогрессирование гемодинамических нарушений по сравнению с предыдущим сроком. В корковом веществе выявлялись полнокровие артерий и умеренный общий отек интерстиция. Эпителиоциты проксимальных и дистальных извитых канальцев находились в состоянии зернистой дистрофии. В эпителиоцитах проксимальных извитых канальцах присутствовали Перлс-позитивные гранулы в количестве 3-5 штук на клетку. Перлс-положительные клетки всех трех классов располагались в

межканальцевой соединительной ткани коркового и мозгового вещества, с преобладанием клеток 3-го класса с преимущественной локализацией в корковом веществе. Обращало на себя внимание снижение количества клеток 2-го и 3-го класса по сравнению с предыдущим сроком эксперимента до 2,9 кл./мм² и 5,5 кл./мм², соответственно. Однако количество Перлс-позитивных клеток 1-го класса осталось неизменным (Таблица 9).

В почках крыс 3-й группы на 14 и 21 сутки выявляли умеренное полнокровие капилляров клубочка почечного тельца, а также капилляров коркового и мозгового вещества, что в целом указывало на снижение выраженности выявленных в предыдущий срок гемодинамических нарушений. Признаки общего отека интерстиция снижались к 21 суткам. На 14 сутки выявляли Перлс-положительные клетки 2-го и 3-го класса в интерстициальной соединительной ткани коркового и мозгового вещества, однако, большинство клеток было сосредоточено в соединительной ткани коркового вещества почек и определялись как клетки 3-го класса. Отмечали снижение количества клеток 3-го класса относительно 7 суток до 4,2 кл./мм² (Таблица 9).

На 40 сутки в почках крыс 3-й группы выявляли незначительно полнокровие капилляров почечного клубочка и умеренное расширение капсулы Шумлянско-Боумана (Рисунок 44). В интерстиции в небольшом количестве встречались клетки 2-го и 3-го класса, количество, которых снижалось по сравнению с предыдущим сроком. На 40 сутки преобладали клетки 2-го класса (2,4 кл./мм²), которые локализовались в междубулярной соединительной ткани коркового вещества (Таблица 9, приложение 3.1).

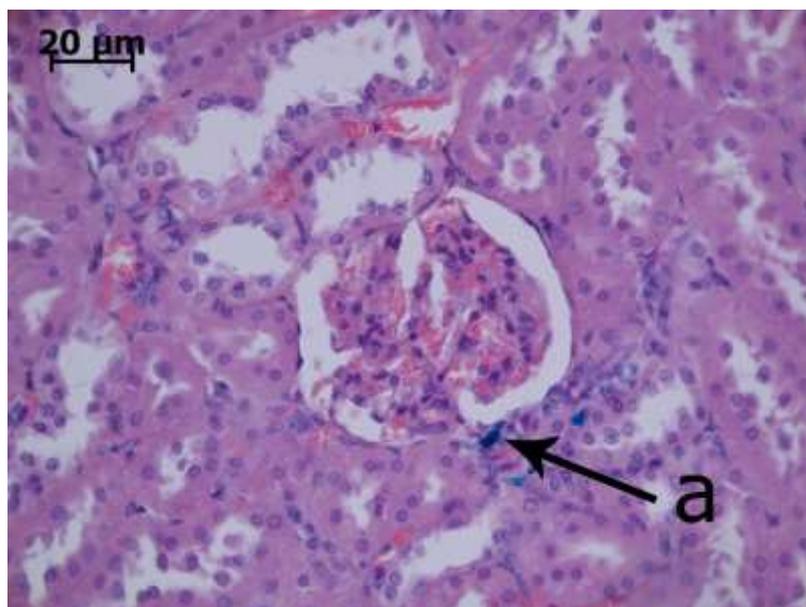


Рисунок 44. Почка крысы на 40 сутки после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (3-я группа). Умеренное расширение капсулы Шумлянско-Боумена. Перлс-положительные клетки 1-го (а) и 2-го классов в межканальцевой соединительной ткани коркового вещества. Окр.: реакция Перлса с докраской гематоксилином и эозином. Ув. 400.

С 60 суток и до конца эксперимента структура органа соответствовала почкам интактных крыс.

В почках крыс 5-й группы на 1 сутки наблюдали комплекс дисциркуляторных расстройств, полнокровие капилляров почечного тельца, гиперемии капилляров, артерий и вен коркового и мозгового вещества, а также общий отек интерстиция. Капсула Шумлянско-Боумена была умеренно расширена. В цитоплазме некоторых нефроцитов проксимальных извитых канальцев отмечали наличие Перлс-позитивных гранул в количестве до 20 шт. Перлс-положительные клетки, которые представлены клетками всех трех классов, выявлялись в межканальцевой соединительной ткани коркового и мозгового вещества, с преимущественной локализацией в корковом веществе почек. Среди клеток отдельных классов доминировали клетки 3-го класса (8,8 кл./мм²) (Таблица 9).

На 7 сутки в почках крыс гемодинамических нарушений усугублялись по сравнению с 1 сутками. В почках крыс 5-й группы имела место резкая гиперермия

артерий и вен коркового вещества, а также сосудов микроциркуляторного русла, выраженный отек интерстиция и расширение капсулы Шумлянско-Боумена (Рисунок 45). Просвет дистальных извитых канальцев был расширен, в некоторых присутствовали цилиндры. Часть эпителиоцитов проксимальных и дистальных извитых канальцев находились в состоянии зернистой дистрофии. В нефроцитах присутствовали гранулы (до 20 шт.), дающие положительную реакцию Перлса. Перлс-позитивные клетки всех трех классов выявляли в интерстициальной соединительной ткани коркового и мозгового вещества, среди которых преобладали клетки 3-го класса. Обращало на себя снижение количества клеток 3-го классов относительно 1 суток эксперимента до 6,5 кл./мм² (Таблица 9).

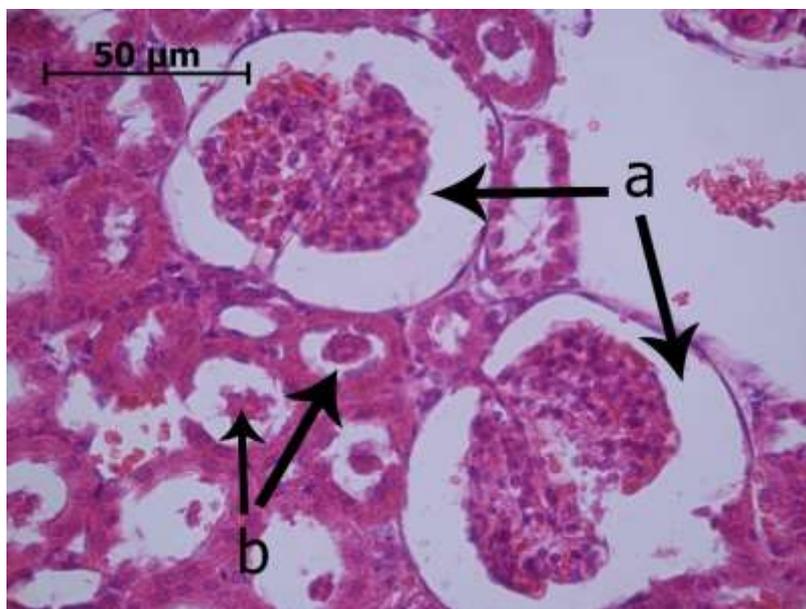


Рисунок 45. Почки крысы на 7 сутки после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (5-я группа). Резкое расширение капсулы Шумлянско-Боумена (а). Общий отек интерстиция. Дистрофические изменения нефроцитов дистальных извитых канальцев. Цилиндры в просвете дистальных извитых канальцев (b). Окр.: реакция Перлса с докраской гематоксилином и эозином. Ув. 400.

На 14 сутки в почках крыс 5-й группы наблюдали гиперемия капилляров клубочка почечного тельца, а также полнокровие артерий и вен коркового вещества. Выраженность расширения просвета капсулы Шумлянско-Боумена по сравнению с 7 сутками снизилась. Некоторые дистальные извитые канальцы, как и на 7 сутки, были расширены и содержали цилиндры в своем просвете (Рисунок 46).

В интерстициальной соединительной ткани коркового и мозгового вещества присутствовали Перлс-положительные клетки 1-го, 2-го и 3-го класса. Их распределение соответствовало таковому на 7 сутки эксперимента. Количество клеток 2-го класса не изменилось по сравнению с предыдущим сроком. Отмечали снижение количества Перлс-позитивных клеток 2-го класса до 4,4 кл./мм². На данном этапе эксперимента преобладали клетки 3-го класса (Таблица 9).

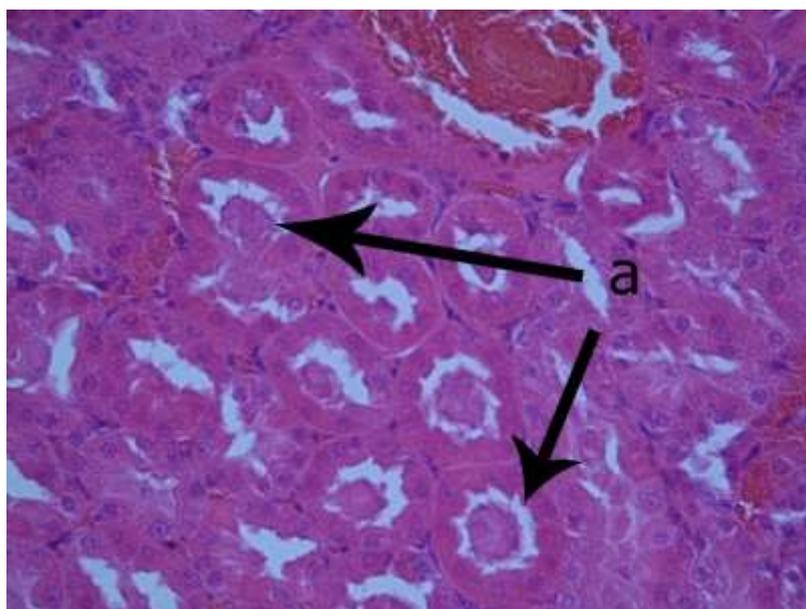


Рисунок 46. Почка крысы на 14 сутки после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (5-я группа). Полнокровие микроциркуляторного русла и венозная гиперемия. Цилиндры в просвете дистальных извитых канальцев (а). Окр.: реакция Перлса с докраской гематоксилином и эозином. Ув. 400.

На 21 и 40 сутки в почках крыс 5-й группы гемодинамические нарушения принимали более умеренный по сравнению с предыдущим сроком характер и были представлены полнокровием капилляров, артерий и вен коркового вещества. На 40 сутки эксперимента выявляли Перлс-положительные клетки 1-го, 2-го и 3-го классов (0,9 кл./мм², 2,2 кл./мм² и 3,7 кл./мм², соответственно), которые сравнительно равномерно были распределены в интерстиции коркового и мозгового вещества (Таблица 9, приложение 3.2).

В почках крыс после многократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (7-я группа) на 7 сутки и во все последующие сроки эксперимента наблюдали картину без какой-либо динамики.

Присутствовали умеренные дисциркуляторные расстройства представленные полнокровием капилляров почечных клубочков, артерий и вен коркового и мозгового вещества, периваскулярным отеком, выраженным расширением просвета капсулы Шумлянско-Боумана (Рисунок 47). В эпителиоцитах проксимальных извитых канальцев присутствуют гранулы в количестве 5-15 штук, дающие положительную реакцию Перлса. Перлс-положительные клетки встречались в интерстициальной соединительной ткани коркового и мозгового вещества и представлены клетками всех трех классов, с доминированием клеток 3-го класса. В течение 40 суток отмечали незначительное увеличение количества Перлс-положительных клеток 1-го и 3-го класса до 2,3 кл./мм² и 13,5 кл./мм², соответственно (Таблица 9, приложение 3.3).

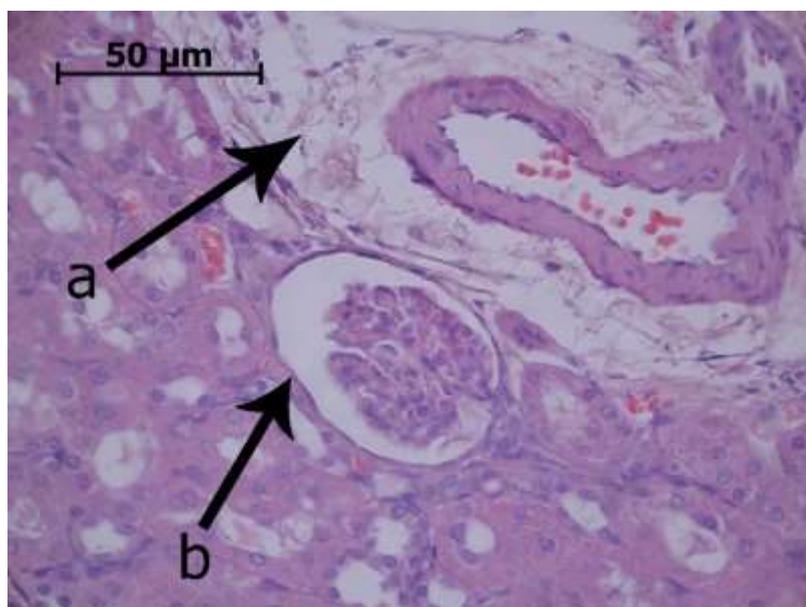


Рисунок 47. Почка крысы на 14 сутки после многократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (7-я группа). Периваскулярный отек (а). Расширение просвета капсулы Шумлянско-Боумана (b). Окр.: реакция Перлса с докраской гематоксилином и эозином. Ув. 400.

Так, в почках крыс после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг_(массы тела) структурные изменения почек экспериментальных животных были представлены гиперемией артерий и вен, а также слабовыраженным отеком интерстиция коркового и мозгового вещества. Нефроциты прежде всего проксимальных извитых канальцев

находились в состоянии дистрофии. Максимум выраженности описанных изменений у крыс 3-й и 5-й групп фиксировали на 7 сутки исследования. При повышении дозы магнитомицелл до 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) отмечали появление гиперемии артерий, вен и сосудов микроциркуляторного русла, также выявляли резкое расширение капсулы Шумлянско-Боумена. Нефроциты проксимальных извитых канальцев находились в состоянии дистрофии и некроза. Нормализацию структуры отмечали на 40-60 сутки в 3-й группе, а в 5-й и 7-й группах нормализации в течение эксперимента не наблюдали.

Таблица 9. Динамика количества Перлс-положительных клеток в 1 мм² среза почек крыс после введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (X±s)

Класс Перлс- позитивных клеток	Количество Перлс-позитивных клеток на 1 мм ² препарата							
	1 сутки	7 сутки	14 сутки	21 сутки	40 сутки	60 сутки	90 сутки	120 сутки
Животные после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг _(массы тела) , 3-я группа								
1 класс	1,3±0,22	2,1±0,32	1,2±0,11&\$	0*&	0*	0*	0*	0*
2 класс	4,1±0,17	2,9±0,37*&	2,4±0,13*\$	2,3±0,24*	2,4±0,18*\$	0*&	0*	0*
3 класс	9,4±0,18\$	5,5±0,29*&\$	4,1±0,2*&\$	4,2±0,19*\$	1,4±0,22*&\$	0*&	0*	0*
Общее кол-во	14,8±0,39\$	10,5±0,52*&\$	7,7±0,31*&\$	6,5±0,42*\$	3,8±0,22*&\$	0*&	0*	0*
Животные после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 60 мг(Fe)/кг _(массы тела) , 5-я группа								
1 класс	2,1±0,34	1,9±0,28	1,9±0,19	1,2±0,22	0,9±0,26*	-	-	-
2 класс	6,3±0,26	5,6±0,31	4,4±0,21*&	2,5±0,11*&	2,2±0,15*	-	-	-
3 класс	8,8±0,33	6,5±0,28*&	7,1±0,18*	4,9±0,34*&	3,7±0,28*&	-	-	-
Общее кол-во	17,2±0,47	14±0,39*&	13,4±0,38*	8,6±0,41*&	6,8±0,44*&	-	-	-
Животные после многократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг _(массы тела) , 7-я группа								
1 класс	-	1,5±0,1\$	2,2±0,13\$	2,5±0,19*\$	2,3±0,21\$	-	-	-
2 класс	-	4,3±0,21	4,6±0,27\$	4,4±0,19\$	4,3±0,26\$	-	-	-
3 класс	-	11,7±0,41\$	12,7±0,36\$	12,1±0,33\$	13,5±0,4*\$	-	-	-
Общее кол-во	-	17,5±0,43\$	19,5±0,44*&\$	19±0,38*\$	20,1±0,49*\$	-	-	-

Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы (p<0,05).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе (p<0,05).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе (p<0,05).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе (p<0,05).

В селезенке крыс после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наноразмерных частиц железа, (3-я группа) через 1 сутки не наблюдали структурных изменений по сравнению с интактными крысами. Перлс-положительные клетки 1-го, 2-го и 3-го класса присутствовали в красной пульпе перифолликулярно и в селезеночных тяжах. В белой пульпе - интрафолликулярно находились клетки 1-го и 2-го класса (Рисунок 48).

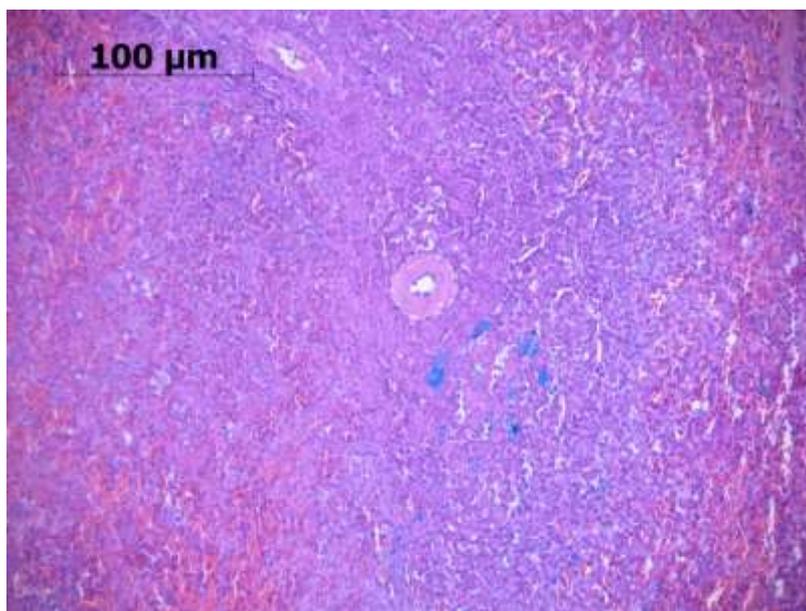


Рисунок 48. Селезенка крысы на 1 сутки после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (3-я группа). Перлс-положительные клетки всех 3-х классов, лежащие интрафолликулярно. Окр.: реакция Перлса с докраской гематоксилином и эозином. Ув. 100.

На 7 сутки эксперимента в селезенке крыс 3-й группы наблюдали спазм центральных артерий. Паренхима органа без особенностей. Перлс-положительные клетки 2-го и 3-го классов находились в красной пульпе перифолликулярно и в селезеночных тяжах. Клетки 1-го и 2-го класса присутствовали в белой пульпе внутри лимфатических фолликулов.

На 14 и 21 сутки селезенка крыс 3-й группы имела обычный вид. Перлс-положительные клетки всех трех классов присутствовали в красной пульпе. Интрафолликулярно определялось небольшое количество Перлс-положительных клеток 1-го и 2-го класса.

В селезенке крыс 5-й группы на 1 сутки Перлс-положительные клетки всех классов располагались, главным образом, в красной пульпе перифолликулярно. В лимфатических фолликулах белой пульпы определялись клетки 1-го и 2-го класса.

На 7 сутки в селезенке крыс 5-й группы паренхима органа без особенностей. Миоциты стенки центральных артерий спазмированы. В красной и белой пульпе располагались Перлс-позитивные клетки 1-го и 2-го класса (Рисунок 49).

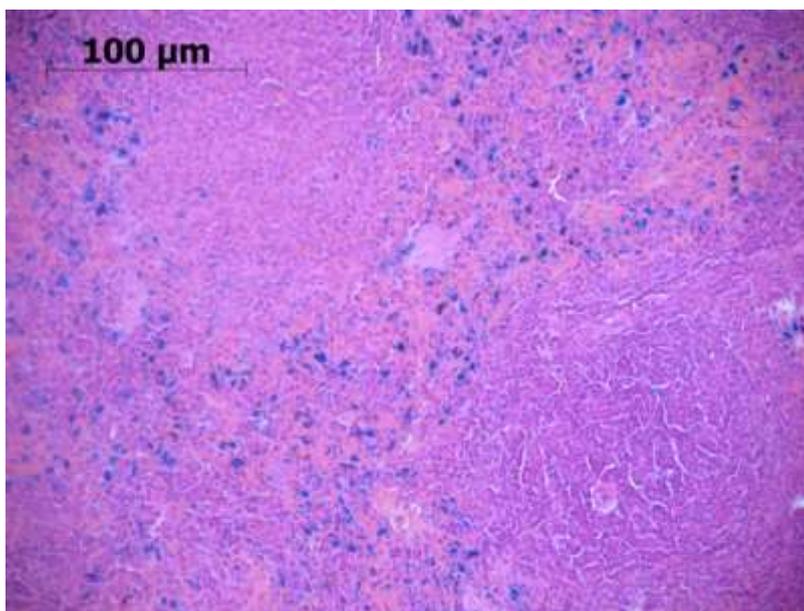


Рисунок 49. Селезенка крысы на 7 сутки после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (5-я группа). Перлс-положительные клетки всех 3-х классов. Окр.: реакция Перлса с докраской гематоксилином и эозином. Ув. 400.

В селезенке крыс 5-й группы на 14 сутки изменений паренхимы органа не обнаружено. Перлс-положительные клетки всех трех классов располагались преимущественно в красной пульпе. В белой пульпе внутри лимфатических фолликулов лежали Перлс-положительные клетки 1-го и 2-го классов.

На 21 сутки в селезенке у крыс 5-й группы по-прежнему присутствовал спазм центральных артерий. Перлс-позитивные клетки всех трех классов располагались в красной пульпе. В белой пульпе клетки 1-го класса присутствовали в небольшом количестве. К 40 суткам исследования отмечали восстановление морфологии органа.

В селезенке крыс после многократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (7-я группа) на 7 и 14 сутки отмечали незначительные гемодинамические нарушения (спазм центральных артерий), однако, на 21 и 40 сутки паренхима соответствовала норме. В красной пульпе располагались Перлс-положительные клетки всех трех классов, тогда как в белой пульпе определялись лишь клетки 1-го и 2-го классов.

Итак, структурные изменения были представлены только слабовыраженными гемодинамическими нарушениями (спазм центральной артерии), морфология паренхимы без изменений. При дозе магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа $6 \text{ мг(Fe)/кг}_{(\text{массы тела})}$ нормализацию структуры органа отмечали уже на 14 сутки эксперимента, при дозе $60 \text{ мг(Fe)/кг}_{(\text{массы тела})}$ – на 40, а при многократном введении – на 21 сутки эксперимента.

На 1 сутки в сердце крыс 3-й группы наблюдали полнокровие сосудов микроциркуляторного русла и общий отек миокарда. Изменений структуры кардиомиоцитов не выявлено. Эндокард и перикард соответствуют норме.

В сердце крыс на 7 сутки после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (3-я группа) наблюдали выраженное полнокровие микроциркуляторного русла. В миокарде присутствовал общий и периваскулярный отек (Рисунок 50).

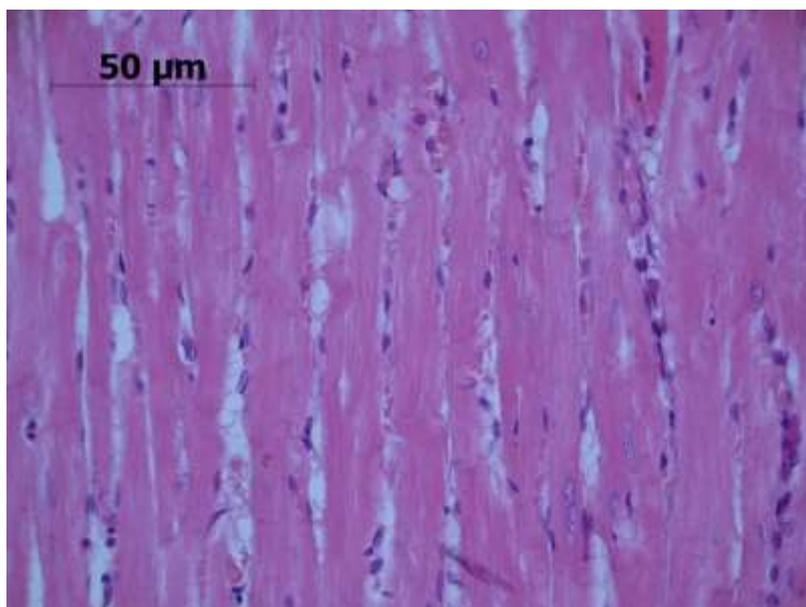


Рисунок 50. Миокард крысы на 7 сутки после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (3-я группа). Общий отек миокарда. Окр.: реакция Перлса с докраской гематоксилином и эозином. Ув. 400.

С 14 по 120 сутки строение сердца крыс 3-й группы соответствует таковому у интактных крыс.

На 1 и 7 сутки в сердце крыс 5-й группы наблюдали комплекс дисциркуляторных расстройств: полнокровие артерий и сосудов микроциркуляторного русла. Присутствовал периваскулярный и перицеллюлярный отек миокарда (Рисунок 51). Морфология кардиомиоцитов без особенностей.

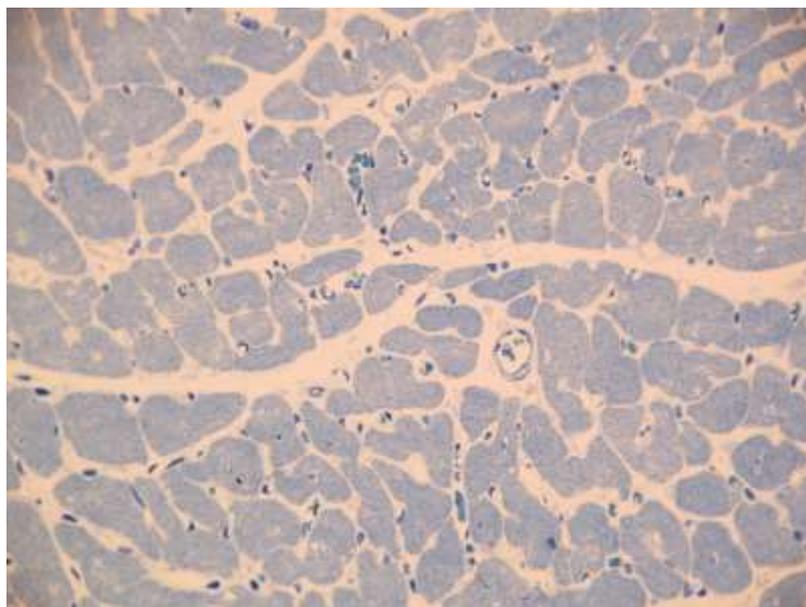


Рисунок 51. Миокард крысы через 1 сутки после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (5-я группа). Общий отек миокарда. Полутонкий срез. Окр.: аzur II. Ув. 400.

На 14 сутки выраженность описанных выше гемодинамических изменений в миокарде крыс 5-й группы снижается, сохраняется незначительный периваскулярный отек полнокровием капилляров. К 21 суткам происходит полная нормализация морфологии миокарда.

На 7 сутки в сердце крыс после многократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (7-я группа) наблюдали полнокровие артерий и вен, гиперемию сосудов микроциркуляторного русла и умеренный общий отек миокарда. Кардиомиоциты без признаков повреждения. В оставшиеся сроки эксперимента (14, 21, 40 сутки) комплекс описанных выше гемодинамических расстройств сохраняется без динамики.

Таким образом, у крыс 3-й группы выявленные изменения структуры сердца крыс сводились к незначительным нарушениям дисциркуляторного характера (полнокровие сосудов микроциркуляторного русла, перицеллюлярный отек), которые нивелировались к 14 суткам эксперимента. При повышении дозы внутривенного введения до 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) к описанным выше дисциркуляторным изменениям присоединяются полнокровие артерий и вен.

Нормализация структуры органа происходила на 21 сутки. При многократном введении исследуемых наноконструкций в течение всего срока эксперимента нормализации не фиксировали.

3.4. Ультраструктурное исследование распределения наноматериала в печени и легких крыс после внутривенного введения суспензий модифицированных наночастиц железа

В печени крыс интактной группы все клеточные популяции, характерные для этого органа (гепатоциты, звездчатые макрофаги, эндотелиоциты, лейкоциты) были идентифицированы, они имели типичную локализацию и обычный вид. Электронноплотного материала, соответствующего по морфологии покрытым углеродом наноразмерным частицам железа в просвете синусоидов и в цитоплазме перечисленных выше клеток мы не наблюдали.

В легких крыс 1-й группы определялись пневмоциты 1 и 2 классов, а также интерстициальные и альвеолярные макрофаги. Структура аэро-гематического барьера не нарушена. Ультраструктура изучаемых клеток без особенностей. Электронноплотных гранул в интерстициальном пространстве, просвете альвеол или в цитоплазме описанных выше клеток не выявили.

3.4.1. Ультраструктурное исследование распределения наноматериала в печени и легких крыс после введения суспензии покрытых углеродом наночастиц железа

Через 1 сутки после введения покрытых углеродом наночастиц железа (2-я группа) в печени крыс выявляются звездчатые макрофаги, в цитоплазме которых повсеместно располагались везикулы размером от 0,3 до 1 мкм, заполненные электронноплотным материалом. Содержимое везикул было представлено гранулами размером от 40 до 90 нм, которые диффузно располагались в полости органеллы. В клетках Купфера было обнаружено небольшое количество везикул, которые имели гораздо более крупные размеры (до 2 мкм) и располагались

субплазмолеммально. В них обнаруживались электронноплотные гранулы размером до 90 нм. Преимущественно такие гранулы располагались субмембранно, однако встречались и центрально расположенные агломераты материала высокой электронной плотности. Структура гепатоцитов соответствовала норме.

На 40 сутки в печени крыс 2-й группы выявляются звездчатые макрофаги, в цитоплазме которых наблюдали описанные ранее везикулы размером до 1 мкм, заполненные зернистым материалом (Рисунок 52). Следует отметить, что визуальное содержание таких везикул на одну клетку относительно 1 суток было снижено. Ультраструктура клеток без особенностей.

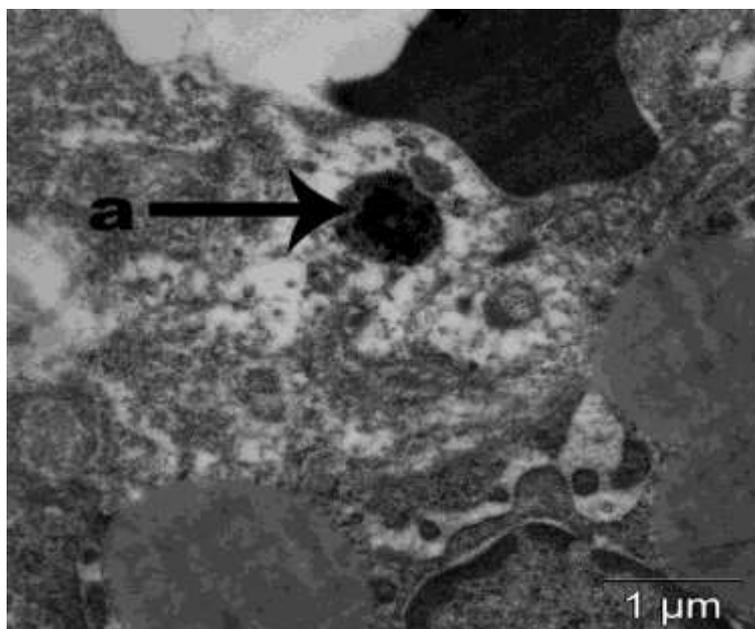


Рисунок 52. Печень крысы на 40 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (2-я группа). Фрагмент печеночной пластинки. Перисинусоидальная поверхность звездчатого макрофага с везикулой (а) заполненной электронноплотным материалом. Трансмиссионная электронная микроскопия.

В печени крыс 2-й группы на 120 сутки выявляли звездчатые макрофаги расположенные перисинусоидально и в просвете синусоидных капилляров. В цитоплазме этих клеток располагались единичные везикулы, содержащие электронноплотные гранулы размером около 60 нм. Размер везикул не превышал

0,5 мкм (Рисунок 53). Ультраструктура звездчатых макрофагов соответствовала таковой крыс интактной группы. Подобного материала в гепатоцитах не выявляли.

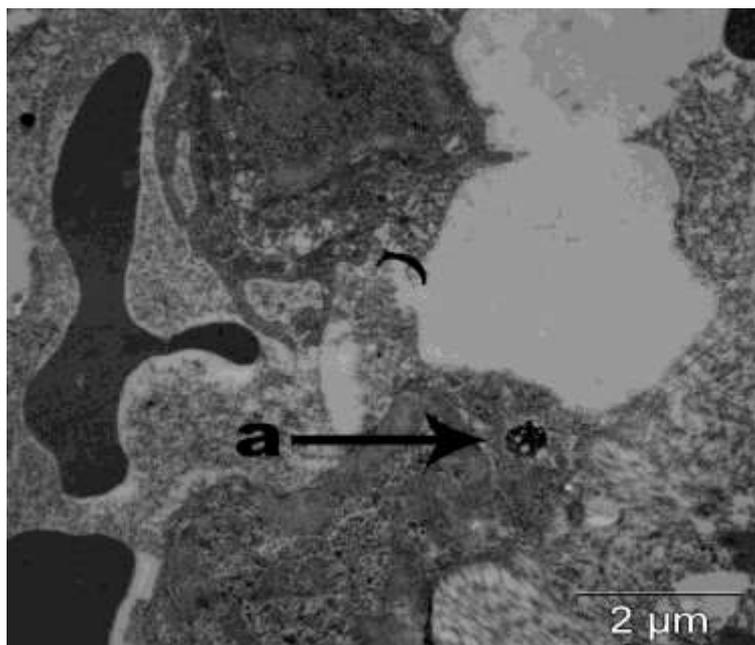


Рисунок 53. Печень крысы через 120 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (2-я группа). Фрагмент цитоплазмы звездчатого макрофага, содержащий везикулу (а), с электронноплотным материалом. Просвет синусоидного капилляра. Трансмиссионная электронная микроскопия.

На 1 сутки в печени крыс 4-й группы в цитоплазме звездчатых макрофагов идентифицировали везикулы размером 0,5-1 мкм, содержащие материал высокой электронной плотности в виде гранул размером 50-100 нм. Гранулы были диффузно распределены в полости везикулы и образовывали агломераты (Рисунок 54). Обращало на себя внимание наличие везикул с разным количеством и расположением электронноплотного материала. Непосредственно под плазмолеммой располагались в небольшом количестве везикулы, размер которых достигал 2 мкм.

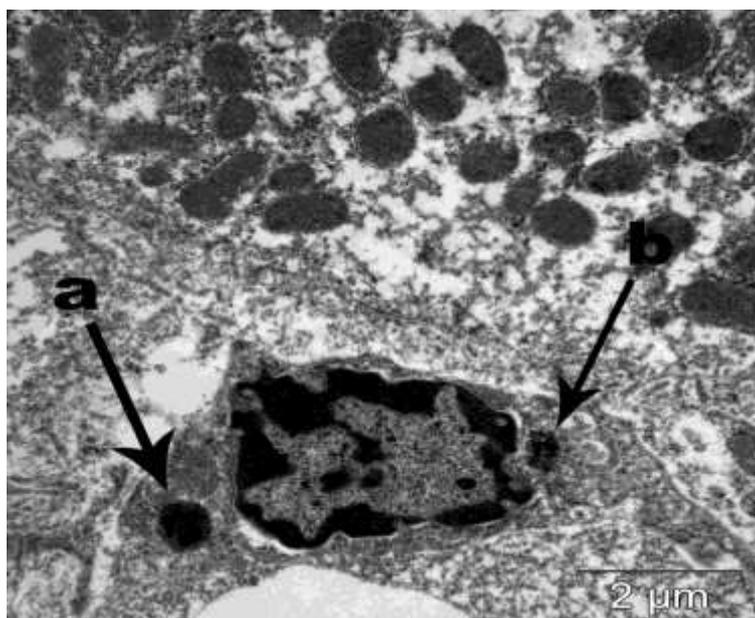


Рисунок 54. Печень крысы на 1 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (4-я группа). Фрагмент печеночной пластинки, содержащий звездчатый макрофаг с везикулами (a, b), заполненными электронноплотным материалом. Трансмиссионная электронная микроскопия.

Зернистый материал в таких везикулах располагался в виде агломератов на периферии и прилегал к их мембране, в центре находилось бесструктурное содержимое умеренной электронной плотности и одиночные электронноплотные гранулы размером 50-100 нм (Рисунок 55). В цитоплазме гепатоцитов присутствовали области цитоплазмы лишенные органелл. Везикул, подобных описанным у звездчатых макрофагов, в гепатоцитах нами не обнаружено. В митохондриях некоторых гепатоцитов плохо выявлялись кристы.

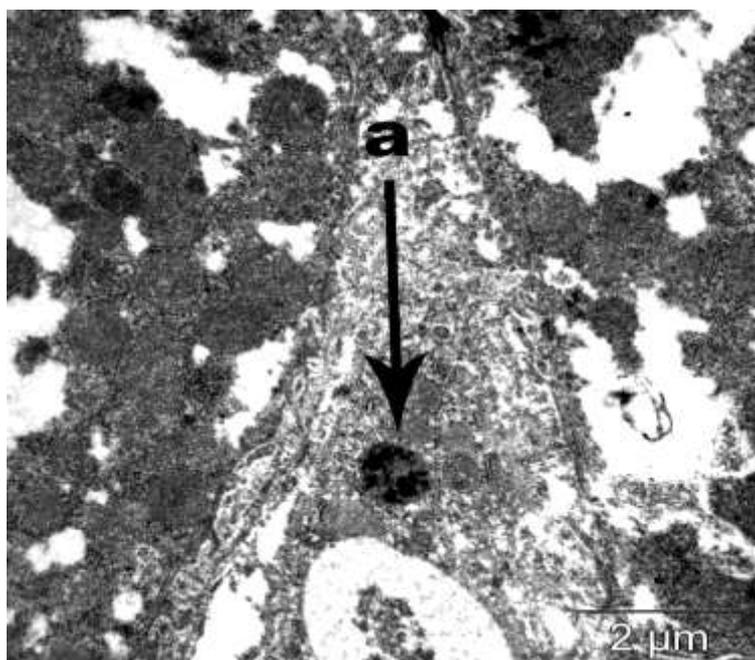


Рисунок 55. Печень крысы на 1 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (4-я группа). Фрагмент печеночной дольки с звездчатым макрофагом, содержащим везикулу (а) с умеренным количеством электронноплотного материала. Трансмиссионная электронная микроскопия.

В печени крыс 4-й группы на 40 сутки выявляли клетки Купфера с везикулами диаметром 0,5-1 мкм, умеренно заполненные гранулами высокой электронной плотности (50-100 нм). По сравнению с 1 сутками количество таких везикул, а также содержание в них зернистого материала было снижено. Ультраструктура звездчатых макрофагов и гепатоцитов в норме.

В печени крыс после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (6-я группа) через 7 суток повсеместно в цитоплазме звездчатых макрофагов наблюдали везикулы диаметром 0,5-1,5 мкм, заполненные материалом высокой электронной плотности. Данный материал представлен гранулами размером 50-90 нм, большинство из которых располагались под мембраной везикулы и образовывали агломераты. В центре везикул находилось небольшое количество гранул размером 60 нм. Под плазмолеммой звездчатых макрофагов наблюдали везикулы (до 2 мкм), которые были значительно крупнее таковых расположенных в глубоких слоях цитоплазмы (Рисунок 56).

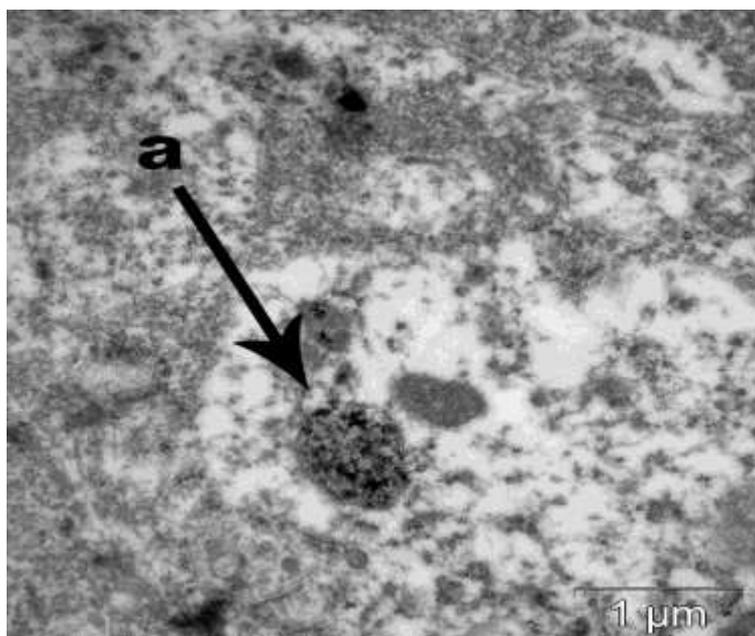


Рисунок 56. Печень крысы на 7 сутки после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (6-я группа). Фрагмент цитоплазмы клетки Купфера с везикулой (а), содержащей небольшое количество электронноплотного материала. Трансмиссионная электронная микроскопия.

На 40 сутки в печени крыс 6-й группы количество везикул и фагосом с электронноплотным материалом в цитоплазме звездчатых макрофагов возросло по сравнению с предыдущим сроком. Признаков повреждения гепатоцитов и клеток системы МНФ не обнаружили.

В легких крыс 2-й группы на 1 сутки после инъекции наблюдали интерстициальные и альвеолярные макрофаги, которые располагались в межальвеолярных перегородках и в просвете альвеол, соответственно. Обе популяции макрофагов содержали в своей цитоплазме зернистый материал в виде гранул высокой электронной плотности, окруженных мембраной. В глубоких слоях цитоплазмы располагались везикулы размером 0,2-1 мкм, которые содержали различное количество электронноплотного материала (Рисунок 57). Субплазмолеммально обращали на себя внимание фагосомы (1-2 мкм), в просвете которых обнаруживается зернистое содержимое в виде гранул. Гранулы формировали агломераты размером до 100 нм, которые располагались

преимущественно как на периферии органеллы, так и в центральной ее части. Структура обеих популяций макрофагов без особенностей.

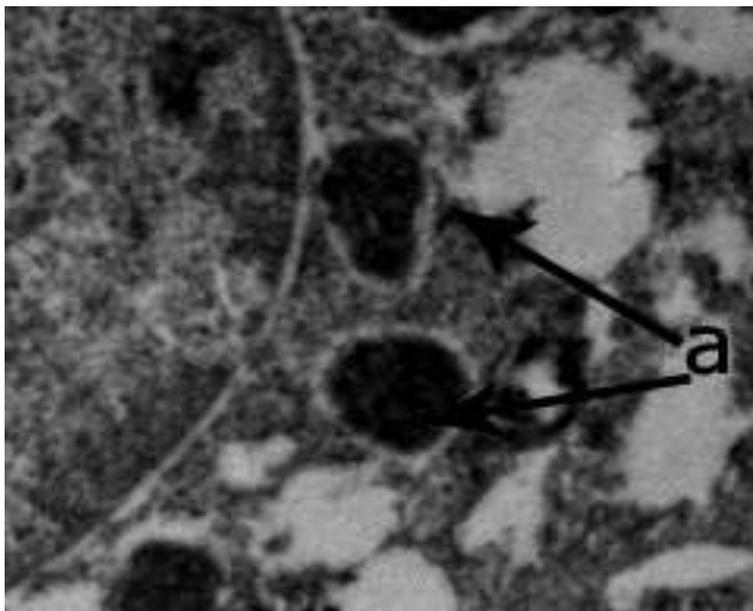


Рисунок 57. Легкое крысы на 1 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (2-я группа). Фрагмент цитоплазмы альвеолярного макрофага, содержащей везикулы (а) с электронноплотным материалом. Трансмиссионная электронная микроскопия.

На 40 сутки в МНФ легких крыс 2-й группы также выявляли везикулы диаметром 0,5-1 мкм и 1-2 мкм, содержащие электронноплотный материал, но количество таких органелл, а также содержание в них гранул высокой электронной плотности было визуально меньше, чем в предыдущий срок (Рисунок 58). Следует отметить, что количество гранул в везикулах также представляется сниженным.

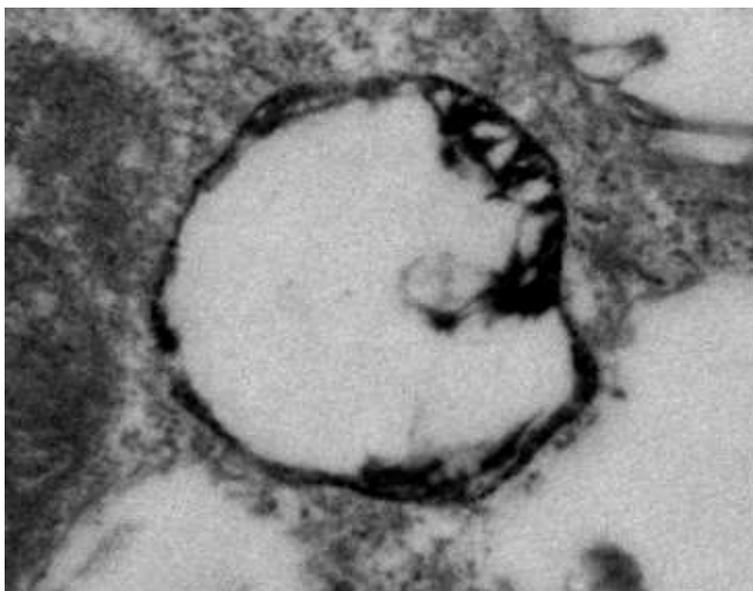


Рисунок 58. Легкое крысы на 40 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (2-я группа). Фрагмент цитоплазмы интерстициального макрофага, содержащей везикулу (а) с небольшим количеством зернистого электронноплотного материала, лежащего субмембранно. Трансмиссионная электронная микроскопия.

Через 1 сутки в легких крыс 4-й группы электронноплотные гранулы были обнаружены в интерстициальных и альвеолярных макрофагах. Зернистый материал в их цитоплазме находился в везикулах размером 0,5-1 мкм, а также в везикулах большего (до 2 мкм) размера и был представлен гранулами, которые образовывали агломераты до 100 нм. В небольших везикулах распределение материала высокой электронной плотности было диффузно, а в везикулах размером 1-2 мкм он занимал преимущественно периферическое расположение (Рисунок 59). Ультраструктурных повреждений клеток системы МНФ обнаружено не было.

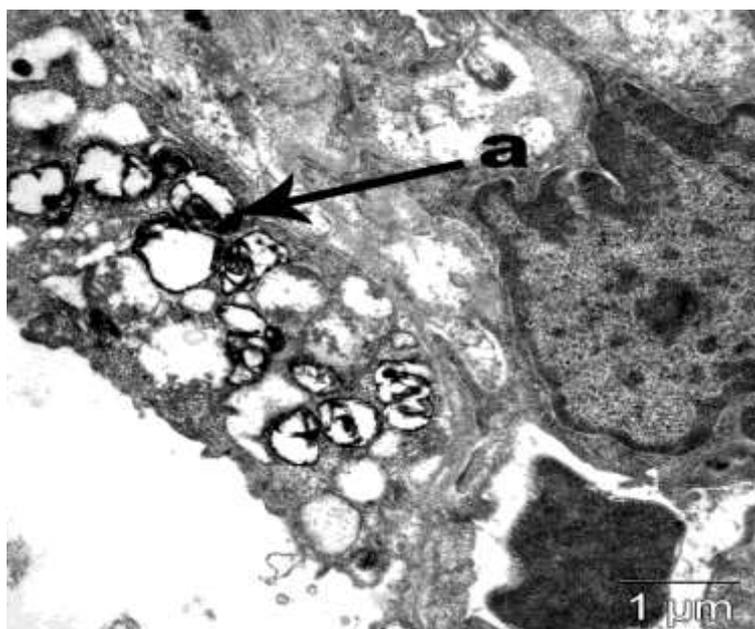


Рисунок 59. Легкое крысы на 1 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (4-я группа). Фрагмент межальвеолярной перегородки с альвеолярным макрофагом, содержащим везикулы (а) с электронноплотным материалом, расположенным субмембранно. Трансмиссионная электронная микроскопия.

В легких крыс 4-й группы на 40 сутки наблюдали альвеолярные и интерстициальные макрофаги, в цитоплазме которых определялись везикулы различного размера (до 2 мкм), содержащие электронноплотные гранулы (Рисунок 60). Обращало на себя внимание некоторое снижение количества описанных органелл, а также содержания в них гранул высокой электронной плотности. Признаков повреждения аэро-гематического барьера, а также клеток системы МНФ не выявляли.

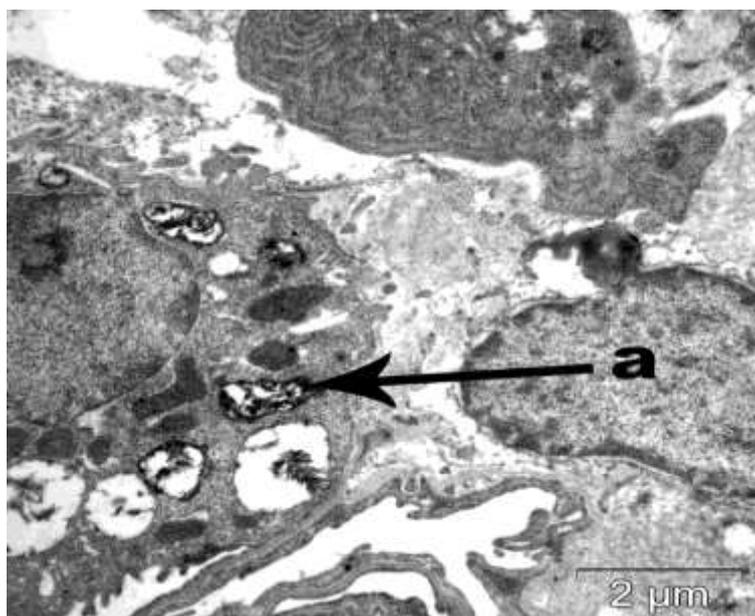


Рисунок 60. Легкое крысы через 40 суток после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (4-я группа). Фрагмент цитоплазмы альвеолярного макрофага, везикула (а), содержащая электронноплотный материал. Трансмиссионная электронная микроскопия.

На 7 сутки в легких крыс после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (6-я группа) везикулы, заполненные материалом высокой электронной плотности, располагались в альвеолярных или интерстициальных макрофагах. В небольших везикулах (0,5-1 мкм) гранулы лежали диффузно и образовывали агрегаты размером 60-90 нм (Рисунок 61). В везикулах, размер которых достигал 2 мкм электронноплотное содержимое располагалось, преимущественно, субмембранно и тоже было представлено агрегатами размером до 100 нм. Признаков повреждения аэро-гематического барьера и звездчатых макрофагов не выявляли.

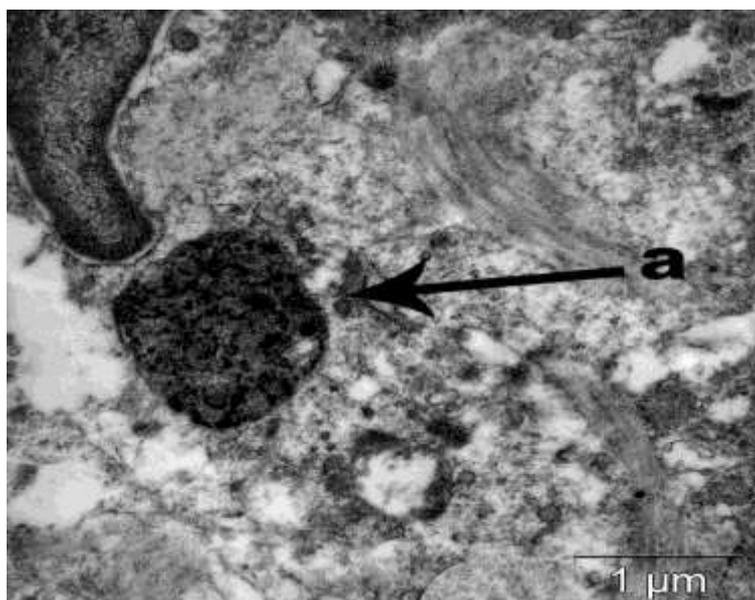


Рисунок 61. Легкое крысы на 7 сутки после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (6-я группа). Фрагмент цитоплазмы макрофага с везикулой (а), содержащей умеренное количество электронноплотного материала. Трансмиссионная электронная микроскопия.

На 40 сутки в легких крыс 6-й группы были обнаружены интерстициальные и альвеолярные макрофаги, которые содержали большее по сравнению с предыдущим сроком, количество везикул с материалом высокой электронной плотности. Они имели примерно одинаковую степень наполнения агломератами высокой электронной плотности, которые располагались в них диффузно. В фагосомах электронноплотные гранулы имели различное расположение, с тенденцией к субмембранному. Признаков повреждения клеток, как и в предыдущий срок не фиксировали.

3.4.2. Ультраструктурное исследование распределения наноматериала в печени и легких крыс после введения суспензии магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа

На 1 сутки после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (3-я группа), повсеместно в цитоплазме звездчатых макрофагов выявляли везикулы размером 0,5-1 мкм, диффузно заполненные электронноплотным материалом. Подобный материал был представлен гранулами,

которые образовывали агломераты размером до 90 нм. Также фиксировали везикулы (до 2 мкм), которые имели различное расположение и содержали в своей полости субмембранно расположенный материал высокой электронной плотности (Рисунок 62). Ультраструктурных изменений органелл клеток Купфера не выявлено.

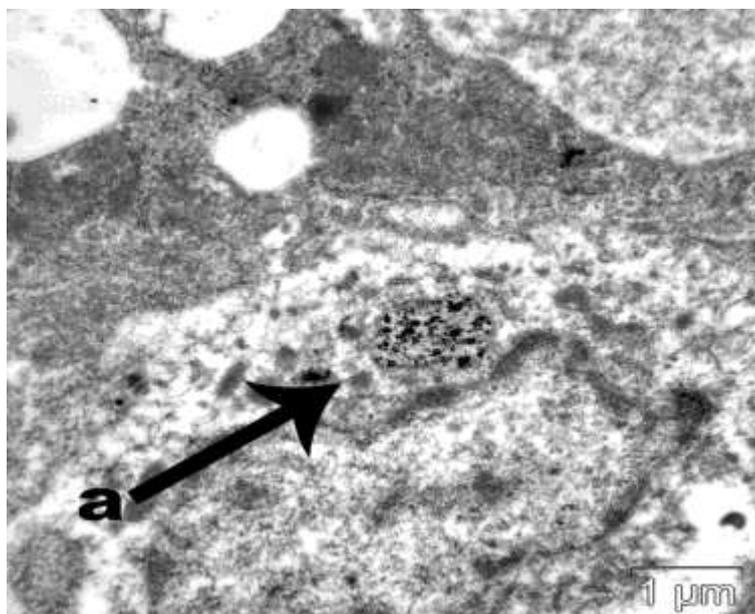


Рисунок 62. Печень крысы через 1 сутки после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (3-я группа). Фрагмент цитоплазмы клетки Купфера, с фагосомой и везикулой (а), содержащей небольшое количество электронноплотного материала. Трансмиссионная электронная микроскопия.

На 40 сутки в клетках Купфера крыс 3-й группы выявляли умеренное количество везикул размером 0,5-1 мкм, которые были заполнены диффузно материалом высокой электронной плотности в виде отдельных гранул диаметром 60 нм. Следует отметить некоторое снижение количества подобных везикул, а также содержание в них зернистого содержимого относительно 1 суток эксперимента. В гепатоцитах крыс этой группы везикул с электронноплотным материалом обнаружено не было. Признаков повреждения звездчатых макрофагов и гепатоцитов не фиксировали.

Через 120 суток в звездчатых макрофагах печени крыс 3-й группы выявляли единичные мелкие (около 0,5 мкм) везикулы, содержащие умеренное количество электронноплотного материала в виде гранул размером около 60 нм (Рисунок 63).

Признаков повреждения клеток системы МНФ не отмечали. В гепатоцитах подобного материала выявлено не было, их ультраструктура была без особенностей.

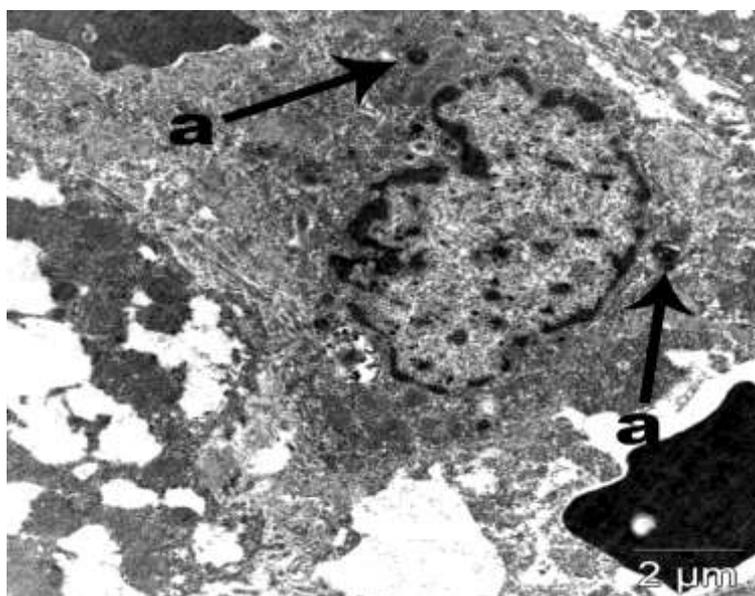


Рисунок 63. Печень крысы через 120 суток после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (3-я группа). Фрагмент цитоплазмы клетки Купфера с везикулами (а), содержащими электронноплотный материал. Трансмиссионная электронная микроскопия.

В печени крыс 5-й группы через 1 сутки были обнаружены звездчатые макрофаги, в цитоплазме которых располагались везикулы (0,5-2 мкм) с содержимым высокой электронной плотности в их полости. Данный материал был представлен гранулами, лежащими как субмембранно, так и по периферии органелл. Обращает на себя внимание, что ближе к центру органелл размер агломератов снижается (около 60 нм), в то время как на периферии скапливаются крупные агломераты до 90 нм. (Рисунок 64). Признаков повреждения клеток Купфера обнаружено не было. В гепатоцитах крыс 5-й группы подобного электронноплотного материала не выявляли.

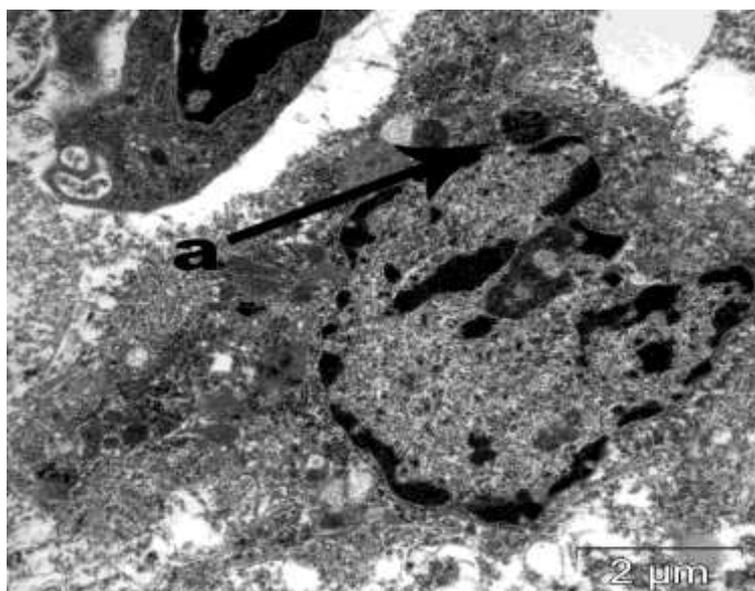


Рисунок 64. Печень крысы через 1 сутки после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (5-я группа). Фрагмент цитоплазмы клетки Купфера с везикулой (а), содержащей электронноплотный материал. Трансмиссионная электронная микроскопия.

На 40 сутки в звездчатых макрофагах крыс 5-й группы выявляли везикулы (0,5-1 мкм) содержащие умеренное количество зернистого материала. Следует отметить, что по сравнению с предыдущим сроком исследования количество таких везикул, а также содержание в них электронноплотного материала представлялось сниженным. Признаков повреждения клеток системы МНФ и гепатоцитов не фиксировали. Подобного материала в гепатоцитах также не отмечали.

Через 7 суток после многократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (7-я группа), в печени крыс описывали звездчатые макрофаги, которые содержали зернистый электронноплотный материал. Гранулы этого материала лежали в полости везикул (0,5-2 мкм) и были представлены агломератами до 90 нм. Обращает на себя внимание тенденция к уменьшению размеров агломератов при смещении к центру везикул и фагосом. В центральной части везикул и фагосом располагались одиночные гранулы диаметром до 60 нм. Структура органелл гепатоцитов и клеток Купфера без особенностей. В гепатоцитах подобного материала выявлено не было.

В печени крыс 7-й группы на 40 сутки клетки Купфера содержали везикулы, заполненные электронноплотными гранулами. Визуально количество таких везикул, а также плотность их заполнения материалом высокой электронной плотности по сравнению с предыдущим сроком исследования возросли. Под плазмолеммой звездчатых макрофагов, обращенной в просвет синусоидов, находились везикулы размером до 2 мкм, содержащие электронноплотные гранулы расположенные на периферии органеллы. Гранулы образовывали агломераты размером до 90 нм (Рисунок 65).

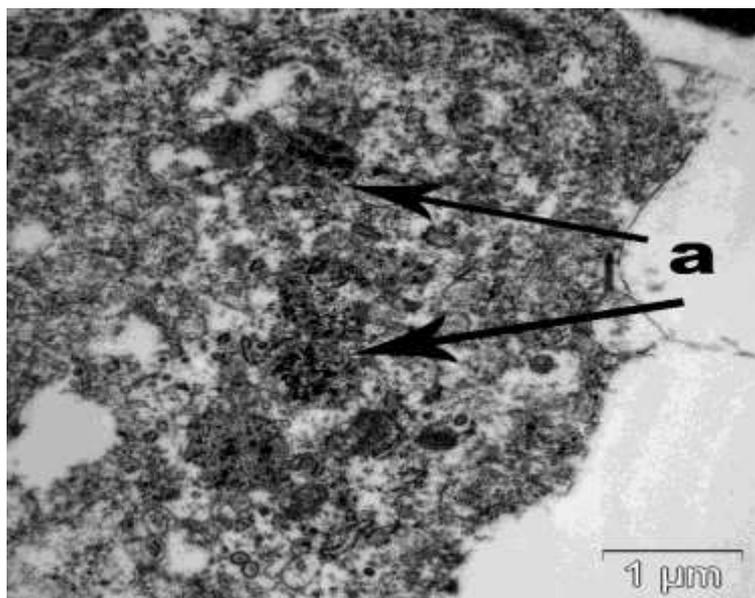


Рисунок 65. Печень крысы на 40 сутки после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (7-я группа). Фрагмент цитоплазмы клетки Купфера, с везикулами (а) содержащими умеренное количество электронноплотного материала. Трансмиссионная электронная микроскопия.

В легких крыс 3-й группы на 1 сутки содержимое высокой электронной плотности определяли в везикулах (0,5-2 мкм) клеток системы МНФ. Зернистый материал был представлен агломератами (60-70 нм), которые в небольших везикулах (0,5-1 мкм) располагались преимущественно диффузно, в то время как в крупных везикулах (до 2 мкм) материал высокой электронной плотности занимал субмембранное положение, однако в небольшом количестве присутствовал и в центральной части. Ультраструктурных признаков повреждения пневмоцитов и мононуклеарных макрофагов обнаружено не было (Рисунок 66).

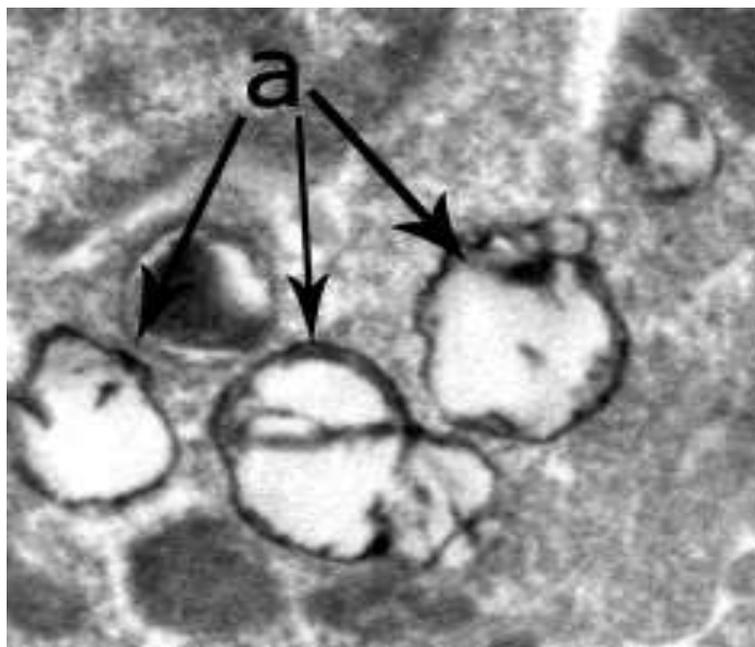


Рисунок 66. Легкое крысы на 1 сутки после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (3-я группа). Фрагмент цитоплазмы альвеолярного макрофага с везикулами (а), содержащими электронноплотный материал, расположенный субмембранно. Трансмиссионная электронная микроскопия.

На 40 сутки в легких крыс 3-й группы наблюдали интерстициальные и альвеолярные макрофаги, содержащие везикулы, в полости которых фиксировали зернистый материал высокой электронной плотности, представленный агрегатами диаметром 60-70 нм. Количество везикул, как и количество электронноплотного материала в них, представляется сниженным, по сравнению с предыдущим сроком исследования (Рисунок 67).

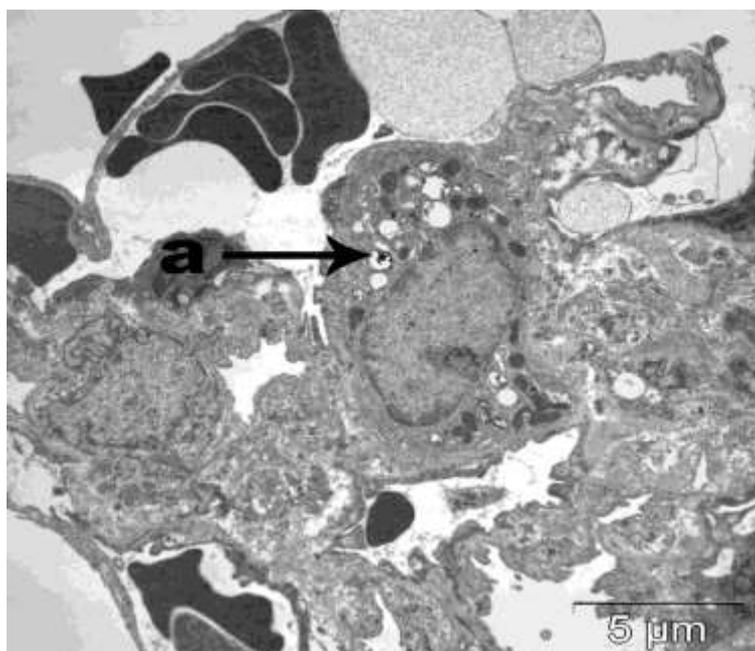


Рисунок 67. Легкое крысы на 40 сутки после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (3-я группа). Фрагмент межальвеолярной перегородки с интерстициальным макрофагом, содержащим везикулу (а) с зернистым материалом высокой электронной плотности. Трансмиссионная электронная микроскопия.

Через 1 сутки в легких крыс 5-й группы определяли МНФ, содержащие везикулы с зернистым материалом. Структуры размером 60-70 нм были диффузно рассредоточены в полости везикул. В крупных везикулах агрегаты электронноплотного материала занимали преимущественно периферическое расположение (Рисунок 68). Признаков повреждения пневмоцитов, МНФ или аэро-гематического барьера не обнаружили.

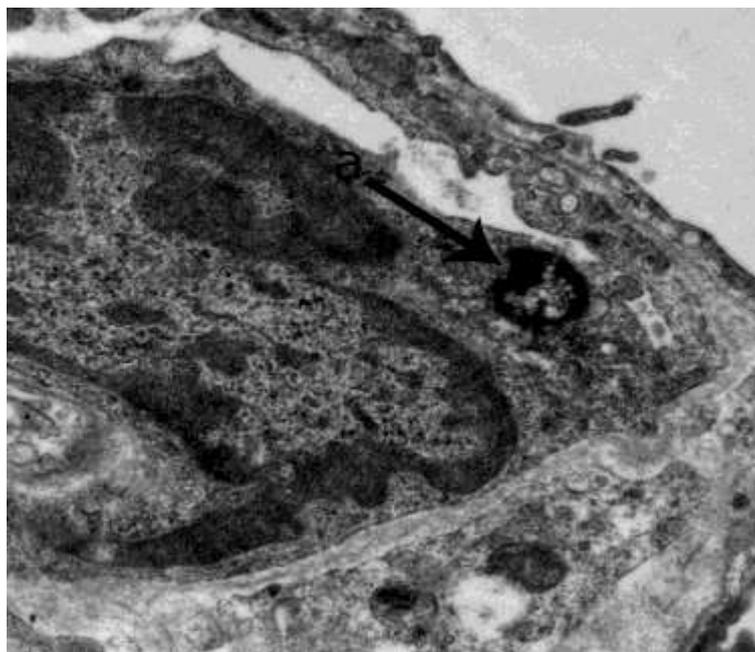


Рисунок 68. Легкое крысы через 1 сутки после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (5-я группа). Фрагмент цитоплазмы альвеолярного макрофага, с везикулой (а), содержащими электронноплотный материал. Трансмиссионная электронная микроскопия.

На 40 сутки в легких крыс 5-й группы выявляли интерстициальные и альвеолярные макрофаги, содержащие везикулы (0,5-2 мкм), умеренно наполненные электронноплотными гранулами. Количество везикул, а также количество зернистого материала в них представлялось сниженным по сравнению с предыдущим сроком. Подобного материала в пневмоцитах обнаружено не было. Аэро-гематический барьер без признаков повреждения.

В легких крыс 7-й группы через 7 суток в строме органа и в просвете альвеол выявляли МНФ, в цитоплазме которых находились везикулы, содержащие зернистый электронноплотный материал, который имел расположение характерное для макрофагов крыс 5-й группы. Признаков повреждения пневмоцитов и МНФ, а также аэро-гематического барьера не обнаружено.

На 40 сутки после многократного введения в легких крыс в интерстициальных и альвеолярных макрофагах выявляли везикулы, заполненные зернистым содержимым высокой электронной плотности. Степень заполнения везикул варьировала от умеренной до переполненной. Гранулы, которыми был

представлен данный материал, образовывали агломераты до 90 нм. Большинство везикул было полностью заполнены электронноплотным материалом. Количество везикул по сравнению с предыдущим сроком эксперимента представляется повышенным (Рисунок 69).

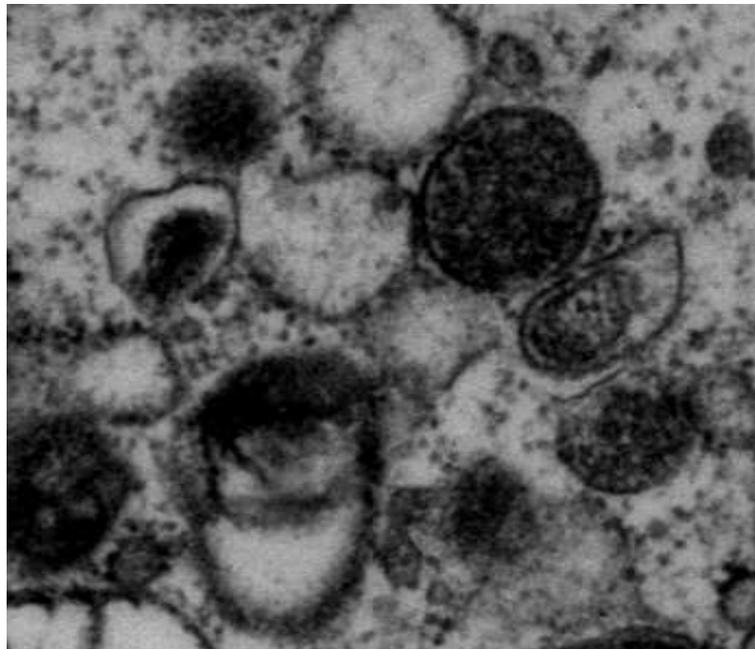


Рисунок 69. Легкое крысы на 40 сутки после многократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (7-я группа). Фрагмент цитоплазмы альвеолярного макрофага с везикулами, содержащими электронноплотный материал в различном количестве. Трансмиссионная электронная микроскопия.

3.5. Структура эритроцитов крыс после внутривенного введения суспензий модифицированных наночастиц железа

3.5.1. Структура эритроцитов крыс после внутривенного введения суспензии покрытых углеродом наночастиц железа

Через 1 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (2-я группа) количество патологических форм эритроцитов в 1,79 раза превышало количество таковых в крови интактных крыс. Количество патологических форм эритроцитов у крыс 4-й группы в аналогичный срок превышало таковое у крыс 1-й в 2,74 раза. Патологические формы эритроцитов у крыс 2-й и 4-й групп в основном были представлены эхиноцитами и акантоцитами,

однако, также встречались стоматоциты и дискоциты с неровными контурами и гребнями различной формы (Рисунок 70).

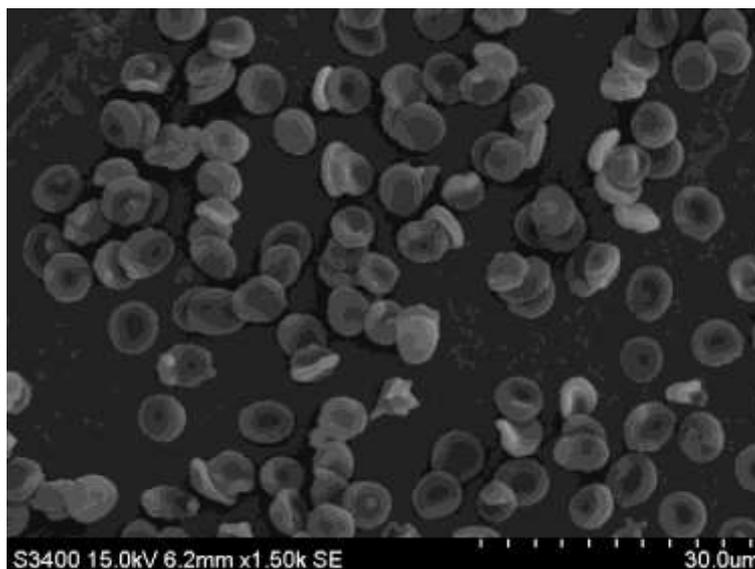


Рисунок 70. Эритроциты крысы через 1 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (2-я группа). Патологические (дискоциты с выростами, эхиноциты, стоматоциты, акантоциты) и нормальные формы эритроцитов. Растровая электронная микроскопия. Ув. 1500

В крови крыс 2-й группы на 7 сутки количество патологических форм эритроцитов превышало их содержание у интактных животных в 1,22 раза. У животных 4-й группы на 7 сутки аналогичные показатели были выше, чем у интактных животных в 1,91 раза. Многократное введение покрытых углеродом наноразмерных частиц железа (6-я группа) приводило к повышению количества патологических форм эритроцитов на 7 сутки в 1,71 раза. У крыс 2-й группы патологические формы эритроцитов были представлены в основном дискоцитами с неровными краями и гребнем. У животных 4-й и 6-й групп соотношение патологических форм совпадало и, в основном, было представлено эхиноцитами и акантоцитами (Рисунок 71).

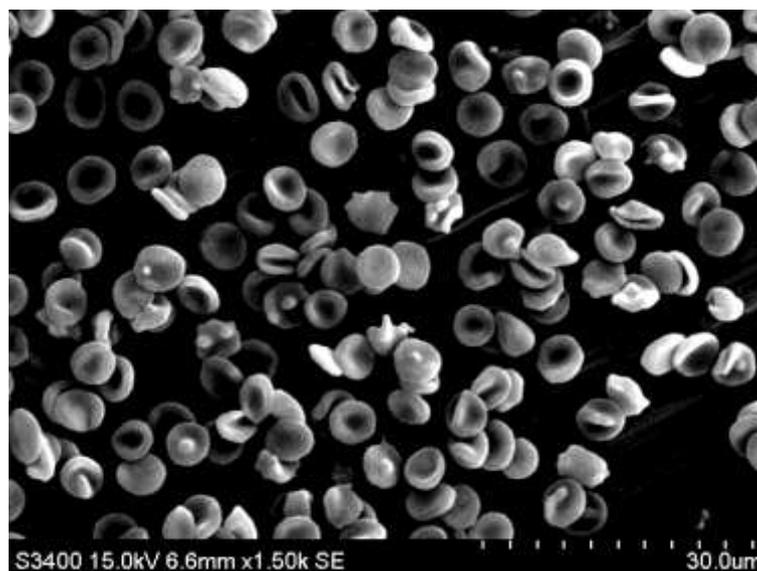


Рисунок 71. Эритроциты крысы через 7 суток после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (4-я группа). Патологические (дискоциты с выростами, эхиноциты, стоматоциты, акантоциты) и нормальные формы эритроцитов. Растровая электронная микроскопия. Ув. 1500

На 14 сутки эксперимента количество патологических форм эритроцитов крыс 2-й группы значительно превышало таковое у интактных животных (1-я группа) в 1,16 раз, у крыс 4-й группы – в 1,22 раза, у животных 6-й – в 1,74 раза. У животных крыс 2-й и 4-й групп патологические формы представлялись дискоцитами с неровным краем и гребнем. У крыс 6-й группы – эхиноцитами и акантоцитами.

На 21 сутки и до конца эксперимента количество патологических форм эритроцитов крыс 2-й и 4-й групп не отличалось от количества таковых в группе интактных животных. Количество морфологически измененных эритроцитов в крови крыс 6-й группы превышало таковое у интактных животных в 1,72 раза. Морфология патологических форм была аналогична той, что мы наблюдали на 14 сутки.

На 40 сутки в крови крыс после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (6-я группа) количество патологических форм эритроцитов превышало аналогичный показатель у животных интактной группы в 1,79 раза. Структура патологических форм была схожей с предыдущим сроком исследования.

Во 2-й и 4-й группах с увеличением срока эксперимента наблюдали снижение числа патологических форм эритроцитов. Нормализация картины крови происходила на 40 сутки в обеих группах. В 6-й группе изменений количества патологических форм эритроцитов в течение эксперимента не отмечали (Таблица 10, приложение 4.1).

Таблица 10. Динамика количества патологических форм эритроцитов крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа (%), $X \pm s$.

Сутки	Экспериментальные группы			
	1-я группа	2-я группа	4-я группа	6-я группа
1	7,9±0,16	14,2±0,44#	21,7±0,21#	-
7	8,4±0,21	10,3±0,29#*&	16,1±0,31#*&	14,4±0,24#
14	8,1±0,3	9,4±0,22#*	10,3±0,27#*&	14,1±0,28#
21	8,4±0,13	8,5±0,27*	8,2±0,17*&	14,5±0,31#
40	7,9±0,17	8,2±0,18*	7,8±0,14*	14,2±0,18#
60	7,8±0,23	7,9±0,11*	-	-
90	8,3±0,2	7,8±0,16*	-	-
120	8,1±0,19	8,1±0,19*	-	-

Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

3.5.2. Структура эритроцитов крыс после внутривенного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа

На 1 сутки в крови крыс после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (3-я группа) наблюдали повышение количества патологических форм эритроцитов в 1,44 раза относительно крови интактных крыс. В аналогичный срок количество измененных эритроцитов в 5-й группе превышало таковой показатель крыс 1-й группы в 1,96 раза. Патологические формы эритроцитов были представлены дискоцитами с неровными контурами и гребнями различной формы, эхиноцитами, акантоцитами, а также стоматоцитами (Рисунок 72).

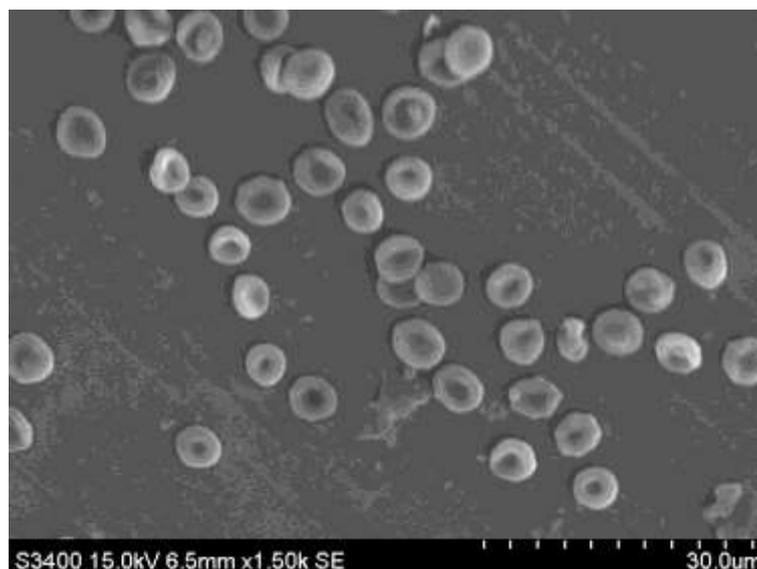


Рисунок 72. Эритроциты крысы на 1 сутки после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (3-я группа). Патологические и нормальные формы эритроцитов. Растровая электронная микроскопия. Ув. 1500

На 7 сутки количество эритроцитов с измененной структурой у крыс 3-й группы превышало таковой показатель у интактных животных в 1,26 раза. У крыс 5-й группы – в 1,64 раза, 7-й группы - в 1,62 раза. У животных 3-й группы патологические формы в основном были представлены дискоцитами с гребнем и неровным краем. Большинство патологических форм эритроцитов крыс 5-й и 7-й групп определялись как эхиноциты, акантоциты и стоматоциты.

В 3-й группе с 14 и по 120 сутки количество патологических форм эритроцитов не отличалось от такового у интактных животных. В 5-й группе на 14 сутки количество измененных эритроцитов превышало количество таковых форменных элементов в крови у интактных животных в 1,27 раза. У крыс после многократного введения магнитомицелл, на основе покрытых углеродом наночастиц железа на 14 сутки по сравнению с кровью животных интактной группы количество патологических форм эритроцитов превосходило в 1,81 раза. Соотношение видов патологических эритроцитов соответствовало предыдущему сроку (Рисунок 73).

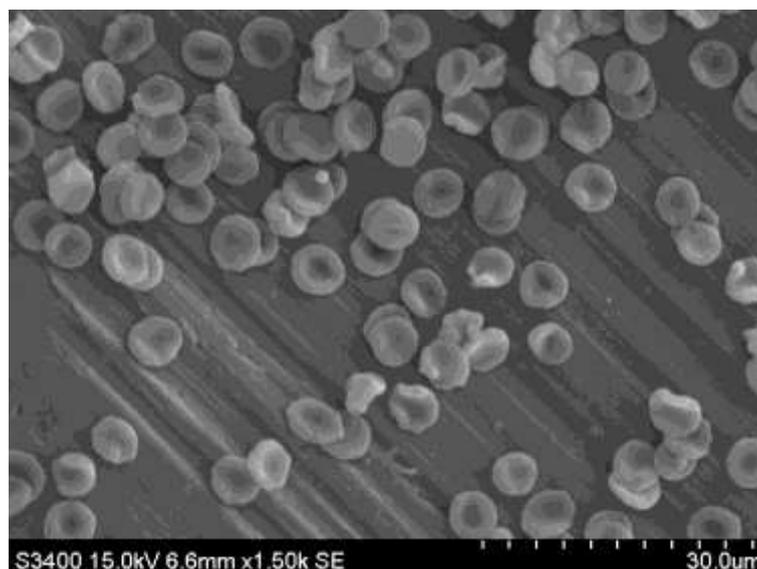


Рисунок 73. Эритроциты крысы на 14 сутки после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (5-я группа). Патологические и нормальные формы эритроцитов. Растровая электронная микроскопия. Ув. 1500

На 21 сутки количество патологических форм эритроцитов у крыс 5-й группы не отличалось данного параметра у крыс интактной группы, У животных 7-й группы количество патологических форм эритроцитов было в 1,79 раза увеличено, по сравнению с животными 1-й группы.

У крыс после многократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа на 40 сутки количество эритроцитов с нарушенной структурой было выше в 1,87 раза относительно животных 1-й группы. Большинство патологических форм эритроцитов представлялось эхиноцитами и акантоцитами.

С увеличением срока эксперимента у животных 3-й и 5-й групп количество патологических форм эритроцитов снижается и нормализуется на 14 сутки и на 40 сутки, соответственно. В 7-й группе происходит повышение количества патологических форм эритроцитов с 1 по 40 сутки относительно аналогичных показателей животных 1-й группы (Таблица 11, приложение 4.1).

Таблица 11. Динамика количества патологических форм эритроцитов крыс после введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа ($X \pm s$).

Сутки	Экспериментальные группы			
	1-я группа	3-я группа	5-я группа	7-я группа
1	7,9±0,16	11,3±0,19#&\$	15,3±0,28#&\$	-
7	8,4±0,21	10,4±0,17#*&	13,5±0,31#*&\$	13,3±0,31#
14	8,1±0,3	7,7±0,21*&\$	10,2±0,21#*&	14,5±0,34#*&
21	8,4±0,13	8,3±0,12*	9,1±0,19*&	15,1±0,27#*
40	7,9±0,17	8,1±0,16*	8,3±0,12*	15,2±0,25#&\$
60	7,8±0,23	8,6±0,18*	-	-
90	8,3±0,2	8,1±0,13*	-	-
120	8,1±0,19	7,9±0,22*	-	-

Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

3.6. Гистоэнзимологическое исследование печени, почек и сердца крыс после внутривенного введения суспензий модифицированных наночастиц железа

Во все сроки эксперимента динамики внутриклеточной активности СДГ, ЛДГ, ЩФ, и ГБДГ в гепатоцитах и нефроцитах проксимальных извитых канальцев, а также ЛДГ и СДГ в кардиомиоцитах крыс интактной группы не наблюдали.

3.6.1. Гистоэнзимологическое исследование печени, почек и сердца крыс после внутривенного введения суспензии покрытых углеродом наночастиц железа

В гепатоцитах крыс после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (2-я группа) активность СДГ уменьшилась на 1 сутки в 1,86 раза, на 7 сутки - в 1,79 раза и на 14 сутки - в 1,37 раза по сравнению с данным показателем у крыс 1-й группы. С 21 и по 120 сутки исследования активность СДГ

нормализовалась и не отличалась от таковой в гепатоцитах животных интактной группы.

Активность СДГ в гепатоцитах крыс 4-й группы на 1 сутки эксперимента снизилась - в 2,92 раза, на 7 сутки - в 2,26 раза и на 14 сутки - в 1,29 раза по сравнению с таковым у крыс интактной группы.

На 7 сутки эксперимента активность СДГ в гепатоцитах крыс после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа уменьшилась в 2,38 раза, на 14 - в 2,5 раза, на 21 - в 3,23 раза и на 40 - в 3,41 раза по сравнению с таковой у интактных животных (Таблица 12, приложение 5.1).

При измерении активности ЛДГ в гепатоцитах крыс 2-й группы выявили повышение ее активности на 1 сутки эксперимента в 1,8 раза, на 7 - в 1,57 раза и на 14 - в 1,47 раза относительно таковой у животных 1-й группы. Активность ЛДГ нормализовалась к 21 суткам и до конца исследования не отличалась от таковой животных интактной группы.

При однократном введении покрытых углеродом наночастиц железа (4-я группа) крысам выявили повышение активности ЛДГ в гепатоцитах на 1 сутки в 1,97 раза, на 7 сутки - в 1,78 раза, на 14 сутки - в 1,71 раза и на 21 сутки - в 1,27 раза по сравнению с таковой у интактных крыс.

После многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа на 7 сутки эксперимента активность ЛДГ в гепатоцитах крыс увеличилась в 1,78 раза, на 14 - в 1,78 раза, на 21 - в 1,79 раза и на 40 сутки - в 1,77 раза по сравнению с активностью этого фермента у животных интактной группы (Таблица 12, приложение 5.2).

Активность ЩФ в гепатоцитах крыс 2-й группы на 1 сутки эксперимента снизилась в 5 раз, на 7 сутки - в 2,71 раза и на 14 сутки - в 2,2 раза относительно данного показателя у крыс 1-й группы. Начиная с 21 суток и до конца эксперимента активность ЩФ крыс 2-й и интактной группы не различались.

В гепатоцитах крыс после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (4-я группа), активность ЩФ уменьшилась на 1 сутки

эксперимента в 10 раз и на 7 - в 6,33 раза относительно активности данного фермента интактных животных.

В гепатоцитах крыс с многократным введением покрытых углеродом наночастиц железа на 7 сутки исследования активность ЩФ уменьшилась в 4,75 раза, на 14 сутки - в 5,5 раза, на 21 сутки - в 4,2 раза и на 40 сутки - в 7,67 раза по сравнению с данным показателем у крыс 1-й группы (Таблица 12, приложение 5.3).

На 1 сутки эксперимента активность ГБДГ в гепатоцитах крыс 2-й группы снизилась в 2,56 раза, на 7 сутки - в 2,07 раза, на 14 сутки - в 1,72 раза, на 21 сутки - в 1,23 раза относительно таковой у животных 1-й группы. С 40 по 120 сутки эксперимента активность ГБДГ крыс 1-й и 2-й групп не различалась.

В гепатоцитах крыс группы после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (4-я группа) активность ГБДГ уменьшилась на 1 сутки в 4,55 раза, на 7 сутки - в 3,54 раза, на 14 сутки - в 2,51 раза, на 21 сутки - в 1,42 раза и на 40 сутки - в 1,23 раза по сравнению с аналогичным показателем у крыс 1-й группы.

На 7 сутки эксперимента активность ГБДГ в гепатоцитах крыс после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа уменьшилась в 3,54 раза, на 14 сутки - в 3,32 раза, на 21 сутки - в 2,89 раза и на 40 сутки - в 3,6 раза по сравнению с интактными животными (Таблица 12, приложение 5.4).

Таблица 12. Активность СДГ, ЛДГ, ЩФ, ГБДГ в гепатоцитах крыс экспериментальных групп с введением покрытых углеродом наночастиц железа (условные единицы оптической плотности), $X \pm s$.

Фермент	Сутки	Экспериментальные группы			
		1-я группа	2-я группа	4-я группа	6-я группа
СДГ	1	0,41±0,01	0,22±0,03#	0,14±0,04#	-
	7	0,43±0,03	0,24±0,05#	0,19±0,05#	0,18±0,04#
	14	0,4±0,02	0,29±0,05#	0,31±0,03##*	0,16±0,03#
	21	0,42±0,04	0,38±0,02*	0,35±0,04*	0,13±0,05#
	40	0,41±0,02	0,42±0,04*	0,36±0,05*	0,12±0,03#
	60	0,41±0,01	0,43±0,01*	-	-
	90	0,43±0,01	0,41±0,02*	-	-
	120	0,4±0,03	0,41±0,03*	-	-
ЛДГ	1	0,45±0,03	0,81±0,04#	0,89±0,02#	-
	7	0,47±0,04	0,74±0,03#	0,84±0,03#	0,84±0,03#
	14	0,46±0,03	0,68±0,04##*	0,79±0,04##*	0,82±0,03#
	21	0,48±0,02	0,55±0,04*	0,61±0,04##*	0,86±0,04#
	40	0,48±0,03	0,51±0,04*	0,57±0,03*	0,85±0,03#
	60	0,46±0,04	0,47±0,02*	-	-
	90	0,48±0,03	0,48±0,03*	-	-
	120	0,47±0,03	0,48±0,02*	-	-
ЩФ	1	0,2±0,02	0,04±0,01#	0,02±0,02#	-
	7	0,19±0,01	0,07±0,03#	0,03±0,01#	0,04±0,02#
	14	0,22±0,04	0,1±0,02#	0,13±0,03*	0,04±0,03#
	21	0,21±0,03	0,18±0,01*	0,15±0,02*	0,05±0,01#
	40	0,23±0,01	0,22±0,04*	0,18±0,04*	0,03±0,02#
	60	0,2±0,02	0,21±0,02*	-	-
	90	0,22±0,01	0,23±0,01*	-	-
	120	0,21±0,04	0,21±0,03*	-	-
ГБДГ	1	0,82±0,02	0,32±0,05#	0,18±0,04#	-
	7	0,85±0,02	0,41±0,04#	0,24±0,04#	0,24±0,04#
	14	0,83±0,04	0,48±0,07#	0,33±0,06##*	0,25±0,03#
	21	0,84±0,03	0,68±0,06##*	0,59±0,04##*	0,29±0,06#
	40	0,83±0,03	0,84±0,05*&	0,67±0,03##*	0,23±0,05#
	60	0,85±0,02	0,84±0,04*	-	-
	90	0,82±0,04	0,83±0,03*	-	-
	120	0,83±0,03	0,82±0,07*	-	-

Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

В нефроцитах крыс группы после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (2-я группа) активность СДГ увеличилась на 1 сутки в 1,54 раза, на 7 - в 1,48 раза и на 14 - в 1,47 раза относительно таковой у животных 1-й группы. К 21 суткам и до конца исследования активность СДГ нормализовалась и не отличалась от таковой в нефроцитах животных интактной группы.

На 1 сутки исследования активность СДГ в нефроцитах крыс 4-й группы повысилась в 1,66 раза, на 7 сутки - в 1,6 раза, на 14 сутки - в 1,6 раза, на 21 сутки - в 1,38 раза по сравнению с активностью у интактных крыс.

После многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа на 7 сутки эксперимента активность СДГ в нефроцитах крыс увеличилась в 1,63 раза, на 14 - в 1,63 раза, на 21 - в 1,64 раза, на 40 - в 1,71 раза относительно данного показателя у животных интактной группы (Таблица 13, приложение 6.1).

На 1 сутки эксперимента активность ЛДГ в нефроцитах крыс 2-й группы снизилась в 1,42 раза по сравнению с аналогичным показателем у животных 1-й группы. К 7 суткам и до конца исследования активность ЛДГ не отличалась от таковой у интактных крыс.

При однократном введении покрытых углеродом наночастиц железа (4-я группа) в нефроцитах крыс активность ЛДГ уменьшилась на 1 сутки в 1,54 раза и на 7 сутки - в 1,36 раза по сравнению с активностью у животных интактной группы. На 14 сутки активность ЛДГ крыс 4-й группы не отличалась от таковой интактных животных.

На 7 сутки эксперимента активность ЛДГ в нефроцитах крыс после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа уменьшилась в 1,47 раза, на 14 - в 1,75 раза, на 21 - в 1,77 раза и на 40 - в 1,86 раза относительно аналогичного показателя у животных 1-й группы (Таблица 13, приложение 6.2).

Активность ЩФ в нефроцитах крыс 2-й группы на 1 сутки эксперимента повысилась в 1,14 раза по сравнению с активностью у животных интактной группы. К 7 и по 120 сутки исследования активность ЩФ нормализовалась и не отличалась от таковой в нефроцитах животных интактной группы.

В нефроцитах крыс группы после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (4-я группа) активность ЩФ увеличилась на 1 сутки в 1,22 раза, на 7 - в 1,21 раза по отношению к аналогичному показателю у крыс 1-й группы.

На 14 сутки эксперимента активность ЩФ в нефроцитах крыс после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа увеличилась в 1,16 раза, на 21 сутки - в 1,18 раза и на 40 сутки - в 1,25 раза относительно интактных крыс (Таблица 13, приложение 6.3).

Активность ГБДГ в нефроцитах крыс 2-й группы на 1 сутки эксперимента снизилась в 1,61 раза, на 7 - в 1,56 раза, на 14 - в 1,47 раза по сравнению с активностью у интактных животных. На 21 и по 120 сутки активность ГБДГ животных 2-й группы не отличалась от таковой у крыс интактной группы.

В нефроцитах крыс группы с однократным введением покрытых углеродом наночастиц железа (4-я группа) активность ГБДГ уменьшилась на 1 сутки в 1,96 раза, на 7 сутки - в 1,87 раза и на 14 сутки - в 1,51 раза относительно активности у крыс 1-й группы.

На 7 сутки эксперимента активность ГБДГ в нефроцитах крыс после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа уменьшилась в 1,93 раза, на 14 - в 1,8 раза, на 21 - в 1,72 раза, на 40 - в 2,03 раза (Таблица 13, приложение 6.4).

Таблица 13. Активность СДГ, ЛДГ, ЩФ, ГБДГ в нефроцитах крыс экспериментальных групп с введением покрытых углеродом наночастиц железа (условные единицы оптической плотности), $X \pm s$

Фермент	Сутки	Экспериментальные группы			
		1-я группа	2-я группа	4-я группа	6-я группа
СДГ	1	0,41±0,03	0,63±0,05#	0,68±0,04#	-
	7	0,4±0,03	0,59±0,04#	0,64±0,06#	0,65±0,05#
	14	0,38±0,02	0,56±0,04#	0,61±0,07#	0,62±0,08#
	21	0,42±0,04	0,48±0,03*	0,58±0,05#	0,69±0,06#
	40	0,41±0,03	0,41±0,05*	0,49±0,04*	0,7±0,07#
	60	0,38±0,02	0,39±0,06*	-	-
	90	0,39±0,03	0,42±0,04*	-	-
	120	0,41±0,01	0,4±0,05	-	-
ЛДГ	1	0,54±0,01	0,38±0,03#	0,35±0,04#	-
	7	0,53±0,03	0,43±0,04	0,39±0,05#	0,36±0,04#
	14	0,56±0,04	0,5±0,04	0,48±0,03	0,32±0,03#
	21	0,53±0,03	0,51±0,05	0,52±0,04	0,3±0,02#
	40	0,54±0,04	0,53±0,04	0,69±0,06#*	0,29±0,04#
	60	0,54±0,02	0,52±0,09	-	-
	90	0,55±0,01	0,56±0,05*	-	-
	120	0,53±0,03	0,54±0,04*	-	-
ЩФ	1	0,71±0,02	0,81±0,03#	0,87±0,04#	-
	7	0,7±0,03	0,78±0,04	0,85±0,03#	0,8±0,03
	14	0,74±0,03	0,77±0,04	0,82±0,05	0,86±0,02#
	21	0,74±0,02	0,75±0,05	0,81±0,04	0,87±0,04#
	40	0,73±0,01	0,73±0,03	0,76±0,04	0,91±0,03#
	60	0,71±0,01	0,72±0,05	-	-
	90	0,72±0,03	0,74±0,04	-	-
	120	0,71±0,02	0,73±0,08	-	-
ГБДГ	1	0,55±0,03	0,34±0,03#	0,28±0,07#	-
	7	0,58±0,03	0,37±0,06#	0,31±0,05#	0,3±0,05#
	14	0,56±0,01	0,38±0,05#	0,37±0,06#	0,31±0,04#
	21	0,57±0,04	0,52±0,08*	0,49±0,05*	0,33±0,06#
	40	0,59±0,02	0,57±0,04*	0,53±0,04*	0,29±0,04#
	60	0,55±0,03	0,56±0,06*	-	-
	90	0,57±0,04	0,58±0,05*	-	-
	120	0,57±0,02	0,55±0,07*	-	-

Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

В кардиомиоцитах крыс группы после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (2-я группа) активность СДГ увеличилась на 1 сутки в 1,4 раза, на 7 сутки - в 1,32, на 14 сутки – 1,24 раза относительно данного показателя у интактных животных. На 21 сутки и до завершения исследования активность СДГ кардиомиоцитов крыс не отличалась от таковой животных интактной группы.

Активность СДГ в кардиомиоцитах крыс 4-й группы на 1 сутки эксперимента увеличилась в 1,5 раза, на 7 - в 1,37 раза и на 14 - в 1,27 раза по сравнению с активностью данного фермента у крыс 1-й группы.

На 7 сутки эксперимента активность СДГ в кардиомиоцитах крыс после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа увеличилась в 1,37 раза, на 14 - в 1,34 раза, на 21 - в 1,3 раза и на 40 - в 1,39 раза относительно активности у крыс интактной группы (Таблица 14, приложение 7.1).

После однократной инъекции покрытых углеродом наночастиц железа (2-я группа) активность ЛДГ в кардиомиоцитах крыс снизилась на 1 сутки в 1,77 раза, на 7 суток – 1,71, на 14 суток – 1,5, на 21 сутки активность этого фермента не отличалась от таковой у крыс интактной группы.

У животных 4-й группы выявили снижение активности ЛДГ в кардиомиоцитах в 2,28 раза на 1 сутки, на 7 и 14 суток - в 2,03 и 1,65 раза, соответственно.

После многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (6-я группа) выявили снижение активности ЛДГ в кардиомиоцитах крыс на 7 суток в – 2,03 раза, на 14 суток – 2,06 раза, на 21 сутки в 1,91 раза, на 40 суток – в 2,2 раза (Таблица 14, приложение 7.2).

Таблица 14. Активность СДГ, ЛДГ в кардиомиоцитах крыс экспериментальных групп с введением покрытых углеродом наночастиц железа (условные единицы оптической плотности), $X \pm s$.

Фермент	Сутки	Экспериментальные группы			
		1-я группа	2-я группа	4-я группа	6-я группа
СДГ	1	0,57±0,01	0,8±0,04#	0,86±0,06#	-
	7	0,59±0,02	0,78±0,03#	0,81±0,04#	0,81±0,03#
	14	0,61±0,03	0,76±0,02#	0,78±0,02#	0,82±0,04#
	21	0,62±0,02	0,62±0,01*	0,7±0,03*	0,81±0,03#
	40	0,58±0,02	0,62±0,04*	0,63±0,04*	0,81±0,02#
	60	0,61±0,03	0,59±0,04*	-	-
	90	0,6±0,04	0,61±0,02*	-	-
	120	0,59±0,01	0,58±0,04*	-	-
ЛДГ	1	0,64±0,03	0,36±0,05#	0,28±0,05#	-
	7	0,67±0,02	0,39±0,06#	0,33±0,06#	0,33±0,06#
	14	0,66±0,02	0,44±0,05#	0,4±0,05#	0,32±0,05#
	21	0,65±0,05	0,59±0,06*	0,57±0,06*	0,34±0,06#
	40	0,64±0,03	0,62±0,05*	0,59±0,05*	0,29±0,05#
	60	0,67±0,05	0,64±0,06*	-	-
	90	0,65±0,04	0,64±0,06*	-	-
	120	0,66±0,05	0,67±0,05*	-	-

Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

3.6.2. Гистоэнзимологическое исследование печени, почек и сердца крыс после внутривенного введения суспензии магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа

В гепатоцитах крыс после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (3-я группа) активность СДГ уменьшилась на 1 сутки в 1,24 раза. К 7 суткам и до завершения эксперимента активность СДГ нормализовалась и не отличалась от таковой в гепатоцитах животных интактной группы.

Активность СДГ в гепатоцитах крыс 5-й группы на 1 сутки эксперимента снизилась в 1,46 раза и на 7 сутки - в 1,34 раза относительно аналогичного

показателя у крыс интактной группы. На 14 сутки активность СДГ в гепатоцитах крыс 5-й группы нормализовалась.

На 7 сутки эксперимента активность СДГ в гепатоцитах крыс после многократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа уменьшилась в 1,43 раза, на 14 - в 1,43 раза, на 21 - в 1,56 раза и на 40 сутки в 1,71 раза по сравнению с таким показателем у крыс 1-й группы (Таблица 15, приложение 5.1).

На 1 сутки исследования активность ЛДГ в гепатоцитах крыс 3-й группы повысилась в 1,46 раза и на 7 - в 1,25 раза относительно аналогичного показателя у крыс интактной группы. Активность ЛДГ в гепатоцитах животных 1-й и 3-й групп на 14 и по 120 сутки эксперимента не различалась.

После однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (5-я группа), в гепатоцитах крыс активность ЛДГ повысилась на 1 сутки в 1,64 раза, на 7 сутки - в 1,48 раза, на 14 сутки - в 1,43 раза и на 21 сутки - в 1,27 по сравнению с активностью у животных 1-й группы.

На 7 сутки эксперимента активность ЛДГ в гепатоцитах крыс после многократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа увеличилась в 1,45 раза, на 14 сутки - в 1,43 раза, на 21 сутки - в 1,39 раза и на 40 сутки - в 1,42 раза относительно данного показателя у интактных крыс (Таблица 15, приложение 5.2).

Активность ЩФ в гепатоцитах крыс 3-й группы с 1 и до 120 суток эксперимента активность ЩФ гепатоцитов 3-й группы не отличалась от таковой крыс интактной группы.

В гепатоцитах крыс после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (5-я группа) активность ЩФ уменьшилась на 1 сутки в 2 раза относительно таковой у интактных крыс. С 7 по 40 сутки активность данного фермента не отличалась от таковой крыс 1-й группы.

После многократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа на 21 сутки эксперимента активность ЩФ в

гепатоцитах крыс с многократным уменьшилась в 1,46 раза и на 40 сутки - в 2 раза по сравнению с активностью у животных 1-й группы (Таблица 15, приложение 5.3).

Активность ГБДГ в гепатоцитах крыс 3-й группы на 1 сутки эксперимента снизилась в 1,58 раза, на 7 - в 1,44 раза, на 14 - в 1,26 раза и на 21 - в 1,18 относительно таковой у крыс 1-й группы. С 40 и по 120 сутки эксперимента активность ГБДГ крыс 3-й группы не отличалась от таковой интактных животных.

В гепатоцитах крыс группы после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (5-я группа) активность ГБДГ уменьшилась на 1 сутки в 1,78 раза, на 7 - в 1,73 раза, на 14 - в 1,43 раза и на 21 - в 1,25 раза по сравнению с данным показателем у интактных крыс. К 40 суткам исследования активность ГБДГ нормализовалась и не отличалась от таковой в гепатоцитах животных интактной группы.

При многократном введении магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа на 7 сутки эксперимента активность ГБДГ в гепатоцитах крыс с уменьшилась в 1,7 раза, на 14 сутки - в 1,73 раза, на 21 сутки - в 1,79 раза и на 40 сутки - в 1,89 раза относительно активности данного фермента у крыс 1-й группы (Таблица 15, приложение 5.4).

Таблица 15. Активность СДГ, ЛДГ, ЩФ, ГБДГ в гепатоцитах крыс экспериментальных групп с введением магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (условные единицы оптической плотности), $X \pm s$.

Фермент	Сутки	Экспериментальные группы			
		1-я группа	3-я группа	5-я группа	7-я группа
СДГ	1	0,41±0,01	0,33±0,02#	0,28±0,04#	-
	7	0,43±0,03	0,37±0,03\$	0,32±0,03#	0,3±0,02#
	14	0,4±0,02	0,39±0,01	0,35±0,02	0,28±0,05#
	21	0,42±0,04	0,39±0,04	0,39±0,05	0,27±0,04#
	40	0,41±0,02	0,42±0,02*	0,41±0,03*	0,24±0,03#
	60	0,41±0,01	0,41±0,01*	-	-
	90	0,43±0,01	0,43±0,03*	-	-
	120	0,4±0,03	0,42±0,02*	-	-
ЛДГ	1	0,45±0,03	0,66±0,04#	0,74±0,04#	-
	7	0,47±0,04	0,59±0,03#	0,7±0,04#	0,68±0,03#
	14	0,46±0,03	0,54±0,04\$	0,66±0,03#	0,66±0,05#
	21	0,48±0,02	0,53±0,04*	0,61±0,05#	0,67±0,04#
	40	0,48±0,03	0,47±0,03*	0,58±0,04*	0,68±0,04#
	60	0,46±0,04	0,45±0,04*	-	-
	90	0,48±0,03	0,46±0,03*	-	-
	120	0,47±0,03	0,48±0,03*	-	-
ЩФ	1	0,2±0,02	0,15±0,03\$	0,1±0,02#	-
	7	0,19±0,01	0,16±0,04	0,12±0,03\$	0,13±0,03
	14	0,22±0,04	0,19±0,01\$	0,14±0,02	0,11±0,05
	21	0,21±0,03	0,21±0,02	0,16±0,03	0,09±0,03#
	40	0,23±0,01	0,23±0,03	0,18±0,02	0,07±0,04#
	60	0,2±0,02	0,19±0,02	-	-
	90	0,22±0,01	0,23±0,01	-	-
	120	0,21±0,04	0,2±0,04	-	-
ГБДГ	1	0,82±0,02	0,52±0,08#	0,46±0,03#	-
	7	0,85±0,02	0,59±0,07#	0,49±0,06#	0,51±0,07#
	14	0,83±0,04	0,66±0,06#	0,58±0,05#	0,48±0,07#
	21	0,84±0,03	0,71±0,04#*	0,67±0,04#*	0,47±0,03#
	40	0,83±0,03	0,8±0,06*	0,78±0,04*	0,44±0,04#
	60	0,85±0,02	0,83±0,05*	-	-
	90	0,82±0,04	0,85±0,07*	-	-
	120	0,83±0,03	0,82±0,08*	-	-

Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

В нефроцитах крыс группы после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (3-я группа) активность СДГ увеличилась на 1 сутки в 1,92 раза, на 7 - в 1,82 раза и на 14 - в 1,86 раза относительно аналогичного показателя у крыс 1-й группы. К 21 суткам и до конца эксперимента активность СДГ нормализовалась и не отличалась от таковой в нефроцитах животных интактной группы.

Активность СДГ в нефроцитах крыс 5-й группы на 1 сутки эксперимента увеличилась в 2,07 раза, на 7 сутки - в 2 раза, на 14 сутки - в 2,02 раза и на 21 сутки - в 1,52 раза и на 40 сутки - в 1,34 раза по сравнению с активностью у интактных крыс.

На 7 сутки эксперимента активность СДГ в нефроцитах крыс после многократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа уменьшилась в 1,97 раза, на 14 - в 2,26 раза, на 21 - в 1,95 раза и на 40 сутки - в 2,12 раза относительно аналогичного показателя у крыс интактной группы (Таблица 16, приложение 6.1).

На 1 сутки эксперимента активность ЛДГ в нефроцитах крыс 3-й группы снизилась в 3,17 раза, на 7 - в 2,3 раза, на 14 - в 1,93 раза относительно активности у животных 1-й группы. На 21 и по 120 сутки активность ЛДГ животных группы 3-й группы не отличалась от таковой крыс 1-й группы.

После однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (5-я группа) активность ЛДГ уменьшилась на 1 сутки в 4,5 раза, на 7 сутки - в 3,31 раза и на 14 сутки - в 2,94 раза по сравнению с данным показателем у интактных крыс. На 21 сутки эксперимента активность ЛДГ нормализовалась.

При многократном введении магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа на 7 сутки эксперимента активность ЛДГ в нефроцитах крыс уменьшилась в 3,11 раза, на 14 сутки - в 2,94 раза, на 21 сутки - в 2,78 раза и на 40 сутки - в 3,37 раза относительно крыс 1-й группы (Таблица 16, приложение 6.2).

Активность ЩФ в нефроцитах крыс 3-й группы на 1 сутки эксперимента увеличилась в 1,38 раза на 7 сутки - в 1,37 раза и на 14 сутки - в 1,25 раза по сравнению с активностью у животных интактной группы. С 21 и по 120 сутки активность ЩФ нефроцитов крыс 3-й группы не отличалась от таковой нефроцитов интактных животных.

В нефроцитах крыс после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (5-я группа) активность ЩФ увеличилась на 1 сутки в 1,39 раза, на 7 - в 1,4 раза и на 14 - в 1,28 раза по отношению к аналогичному показателю у крыс 1-й группы.

После многократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа на 7 сутки исследования активность ЩФ в нефроцитах крыс увеличилась в 1,35 раза, на 14 сутки - в 1,29 раза, на 21 сутки - в 1,3 раза и на 40 сутки - в 1,36 раза относительно крыс 1-й группы (Таблица 16, приложение 6.3).

Активность ГБДГ в нефроцитах крыс 3-й группы в течение всего срока эксперимента не отличалась от таковой крыс интактной группы.

В нефроцитах крыс после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (5-я группа) активность ГБДГ уменьшилась на 1 сутки в 1,25 раза относительно данного показателя у животных интактной группы.

При многократном введении магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа на 7 сутки эксперимента активность ГБДГ в нефроцитах крыс уменьшилась в 1,26 раза, на 14 сутки - в 1,3 раза, на 21 сутки - в 1,36 раза и на 40 сутки - в 1,51 раза по сравнению с крысами 1-й группы (Таблица 16, приложение 6.4).

Таблица 16. Активность СДГ, ЛДГ, ЩФ, ГБДГ в нефроцитах крыс экспериментальных групп с введением магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (условные единицы оптической плотности), $X \pm s$.

Фермент	Сутки	Экспериментальные группы			
		1-я группа	3-я группа	5-я группа	7-я группа
СДГ	1	0,41±0,03	0,79±0,05#	0,85±0,06#	-
	7	0,4±0,03	0,73±0,04#	0,8±0,05#	0,79±0,04#
	14	0,38±0,02	0,71±0,06#	0,77±0,02#	0,86±0,03#
	21	0,42±0,04	0,51±0,04*	0,64±0,06#*	0,82±0,05#
	40	0,41±0,03	0,42±0,03*	0,55±0,04#*	0,87±0,04#
	60	0,38±0,02	0,42±0,05*	-	-
	90	0,39±0,03	0,41±0,06*	-	-
	120	0,41±0,01	0,43±0,03*	-	-
ЛДГ	1	0,54±0,01	0,17±0,08#	0,12±0,05#	-
	7	0,53±0,03	0,23±0,03#	0,16±0,06#	0,17±0,04#
	14	0,56±0,04	0,29±0,05#	0,19±0,03#	0,19±0,06#
	21	0,53±0,03	0,5±0,04*	0,47±0,04*	0,19±0,03#
	40	0,54±0,04	0,54±0,06*	0,61±0,05* &	0,16±0,02#
	60	0,54±0,02	0,53±0,07*	-	-
	90	0,55±0,01	0,56±0,05*	-	-
	120	0,53±0,03	0,54±0,04*	-	-
ЩФ	1	0,71±0,02	0,98±0,08#	0,99±0,05#	-
	7	0,7±0,03	0,96±0,07#	0,98±0,06#	0,95±0,04#
	14	0,74±0,03	0,93±0,09#	0,95±0,04#	0,96±0,07#
	21	0,74±0,02	0,77±0,08*	0,81±0,05*	0,96±0,05#
	40	0,73±0,01	0,74±0,07*	0,77±0,05*	0,99±0,03#
	60	0,71±0,01	0,72±0,07*	-	-
	90	0,72±0,03	0,73±0,06*	-	-
	120	0,71±0,02	0,74±0,09*	-	-
ГБДГ	1	0,55±0,03	0,48±0,05\$	0,44±0,03#	-
	7	0,58±0,03	0,51±0,04	0,47±0,04\$	0,46±0,04#
	14	0,56±0,01	0,53±0,06	0,49±0,03	0,43±0,03#
	21	0,57±0,04	0,54±0,07	0,5±0,04	0,42±0,03#
	40	0,59±0,02	0,57±0,05	0,54±0,04	0,39±0,05#
	60	0,55±0,03	0,56±0,08	-	-
	90	0,57±0,04	0,58±0,09	-	-
	120	0,57±0,02	0,56±0,07	-	-

Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

В кардиомиоцитах крыс после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (3-я группа) активность СДГ увеличилась на 1 сутки в 1,16 раза по сравнению с данным показателем у крыс интактной группы. На 7 сутки и до конца исследования активность СДГ в кардиомиоцитах крыс 3-й группы не отличалась от таковой интактных животных.

Активность СДГ в кардиомиоцитах крыс 5-й группы на 1 сутки эксперимента увеличилась в 1,21 раза относительно активности такого фермента у интактных крыс. Активность СДГ животных 5-й группы нормализовалась на 7 сутки. С 1 по 21 сутки активность СДГ кардиомиоцитов увеличилась в 1,63 раза.

На 7 сутки эксперимента активность СДГ в кардиомиоцитах крыс с многократным введением магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа увеличилась в 1,26 раза на 40 сутки по сравнению с аналогичным показателем у животных 1-й группы (Таблица 17, приложение 7.1).

После однократной инъекции покрытых углеродом наночастиц железа (2-я группа) активность ЛДГ в кардиомиоцитах крыс снизилась на 1 сутки в 1,23 раза, на 7 суток – 1,18, на 21 сутки активность этого фермента не отличалась от таковой у крыс интактной группы.

У животных 4-й группы выявили снижение активности ЛДГ в кардиомиоцитах в 1,42 раза на 1 сутки, на 7 и 14 - в 1,42 и 1,24 раза, соответственно. На 21 сутки активность ЛДГ не отличалась от таковой у интактных крыс.

После многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (6-я группа) выявили снижение активности ЛДГ в кардиомиоцитах крыс на 1 сутки в 1,45 раза, на 7 суток в – 1.6 раза, на 14 суток – 1,8 раза, на 21 сутки в 1,85 раза, на 40 суток – в 1,96 раза (Таблица 17, приложение 7.2).

Таблица 17. Активность СДГ, ЛДГ в кардиомиоцитах крыс экспериментальных групп с введением магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (условные единицы оптической плотности), $X \pm s$.

Фермент	Сутки	Экспериментальные группы			
		1-я группа	3-я группа	5-я группа	7-я группа
СДГ	1	0,57±0,01	0,66±0,03#&	0,69±0,05#&	-
	7	0,59±0,02	0,65±0,03	0,67±0,03\$	0,67±0,02\$
	14	0,61±0,03	0,65±0,03\$	0,67±0,03	0,7±0,03\$
	21	0,62±0,02	0,64±0,04	0,65±0,02	0,71±0,04
	40	0,58±0,02	0,59±0,04	0,64±0,04	0,73±0,03#
	60	0,61±0,03	0,6±0,03	-	-
	90	0,6±0,04	0,6±0,06	-	-
	120	0,59±0,01	0,62±0,04	-	-
ЛДГ	1	0,64±0,03	0,52±0,04#	0,45±0,04#	-
	7	0,67±0,02	0,57±0,03#	0,47±0,05#	0,46±0,05#
	14	0,66±0,02	0,58±0,04	0,53±0,04#	0,46±0,04#
	21	0,65±0,05	0,62±0,03	0,58±0,04*	0,45±0,03#
	40	0,64±0,03	0,62±0,04	0,59±0,05*	0,46±0,04#
	60	0,67±0,05	0,65±0,04*	-	-
	90	0,65±0,04	0,64±0,04	-	-
	120	0,66±0,05	0,64±0,05	-	-

Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

3.7. Биохимическое исследование плазмы крови крыс после внутривенного введения суспензии модифицированных наночастиц железа

3.7.1. Активность ферментов плазмы крови крыс после внутривенного введения суспензии покрытых углеродом наночастиц железа

Активность АЛТ в плазме крови крыс после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (2-я группа) на 1 сутки увеличилась в 2,02 раза, на 7 сутки - в 1,7 раза и на 14 сутки - в 1,6 раза по сравнению с активностью

такого фермента у животных интактной группы. С 21 и по 120 сутки плазменная активность АЛТ не отличалась от таковой у интактных крыс.

На 1-е сутки активность АЛТ в плазме крови крыс 4-й группы превышала таковую у интактных животных в 2,54 раза, на 7 сутки - в 2,12 раза, на 14 сутки - в 2,02 раза, на 21 сутки - в 1,86 раза и на 40 сутки - в 1,41 раза.

После многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (6-я группа), на 7 сутки активность АЛТ увеличилась в 1,92 раза, на 14 сутки - в 2,04 раза, на 21 сутки - в 2,27 раза и на 40 сутки - в 2,08 раза относительно таковой у крыс 1-й группы (Таблица 18, приложение 8.1).

На 1 сутки активность АСТ в плазме крови крыс 2-й группы увеличилась в 2,18 раза, на 7 сутки - в 2,18 раза и на 14 сутки - в 2 раза относительно активности АСТ у интактных животных. Активность АСТ не отличалась от таковой у животных 1-й группы с 21 по 120 сутки исследования.

При однократном введении покрытых углеродом наночастиц железа (4-я группа), на 1 сутки активность АСТ в плазме крови крыс повысилась в 2,57 раза, на 7 сутки - в 2,52 раза, на 14 сутки - в 2,36 раза и на 21 сутки - в 1,61 раза относительно ее активности у интактных животных.

В плазме крови крыс группы 6-й группы на 7 сутки плазменная активность АСТ увеличилась по сравнению с таковой у крыс 1-й группы в 2,47 раза, на 14 сутки - в 2,56 раза, на 21 сутки - в 2,34 раза и на 40 сутки - в 2,42 раза (Таблица 18, приложение 8.2).

Активность ЛДГ в плазме крови крыс после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (2-я группа) на 1 сутки увеличилась в 1,35 раза, на 7 сутки - в 1,31 раза и на 14 сутки - в 1,26 раза по сравнению с таковой у животных интактной группы. На 21 сутки и до конца эксперимента активность ЛДГ не отличалась от таковой у интактных крыс.

На 1 сутки активность ЛДГ в плазме крови крыс 4-й группы повысилась в 1,52 раза, на 7 сутки - в 1,46 раза, на 14 сутки - в 1,43 раза и на 21 сутки - в 1,22 раза относительно активности этого фермента у животных 1-й группы.

После многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (6-я группа), на 7 сутки активность ЛДГ увеличилась в 1,38 раза, на 14 и 21 сутки - в 1,42 раза и на 40 сутки - в 1,5 раза по сравнению с таковой у интактных крыс (Таблица 18, приложение 8.3).

В плазме крови крыс 2-й группы активность ЩФ на 1 сутки увеличилась в 2,28 раза, на 7 сутки - в 1,79 раза и на 14 сутки - в 1,77 раза относительно активности ЩФ у животных 1-й группы. С 21 по 120 сутки исследования активность ЩФ не отличалась от таковой у крыс интактной группы.

Активность ЩФ в плазме крови крыс 4-й группы на 1 сутки повысилась в 2,67 раза, на 7 сутки - в 2,26 раза, на 14 сутки - в 2,31 раза, на 21 сутки - в 1,57 раза и на 40 сутки - в 1,6 раза по сравнению с активностью фосфатазы у интактных животных.

На 7 сутки активность ЩФ в плазме крови крыс после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (6-я группа), увеличилась в 2,17 раза, на 14 сутки - в 2,41 раза, на 21 сутки - в 2,28 раза и на 40 сутки - в 2,88 раза относительно таковой у крыс интактных животных (Таблица 18, приложение 8.4).

Таблица 18. Активность АЛТ, АСТ, ЛДГ, ЩФ в плазме крови крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа (Ед/л), $X \pm s$.

Фермент	Сутки	Экспериментальные группы			
		1-я группа	2-я группа	4-я группа	6-я группа
АЛТ	1	29,91±4,34	60,61±3,98#	76,22±4,26#	-
	7	33,43±3,76	56,94±4,12#	71,13±4,38#	64,28±3,77#
	14	32,87±3,91	52,53±4,19#	66,67±4,05#	67,31±4,21#
	21	31,13±4,28	35,12±4	57,85±3,88#	70,74±4,14#
	40	34,19±4,14	32,81±3,87*	48,39±4,12#*	71,27±4,25#*
	60	31,72±4,2	29,39±4,06*	-	-
	90	30,85±3,99	32,70±4,31*	-	-
	120	28,89±4,22	30,34±4,27*	-	-
АСТ	1	27,12±4,33	59,37±3,99#	69,74±4,13#	-
	7	25,94±4,56	56,61±4,03#	65,55±3,94#	64,27±4,04#
	14	26,47±3,98	53,10±3,87#	62,64±4,22#	67,83±4,14#
	21	29,34±4,21	32,74±4,18*	47,31±4,28#	68,91±4,31#
	40	28,67±4,14	30,13±4,24*	38,72±4,17*	69,42±3,88#
	60	28,22±3,82	26,94±4,2*	-	-
	90	25,71±4,26	27,42±2,13*	-	-
	120	27,36±4,12	29,11±3,78*	-	-
ЛДГ	1	716,5±25,7	970,3±26,7#	1090,8±27,8#	-
	7	728,7±27,8	955,5±29,4#	1069,1±28,1#	1010,5±32,7#
	14	721,4±31,2	910,9±27,8#	1031,7±25,9#	1024,1±31,6#
	21	731,2±30,7	781,4±17,1	892,4±29,5#	1043,8±29,3#
	40	715,4±26,4	739,1±31,8*	805,6±30,7*	1078,4±27,9#
	60	735,8±27,4	725,9±25,8*	-	-
	90	728,1±31,5	719,4±30,0*	-	-
	120	722,3±32,9	734,3±31,8*	-	-
ЩФ	1	19,11±2,95	43,71±3,07#	51,18±2,97#	-
	7	21,34±3,32	38,28±2,89#	48,43±3,11#	46,52±3,28#
	14	20,22±3,27	35,88±3,29#	46,89±3,19#	48,87±3,12#
	21	22,37±2,73	23,74±3,32*	35,1±3,28#*	51,09±2,76#
	40	19,72±3,6	20,12±2,97*	31,73±3,05#*	56,97±2,88#
	60	19,55±3,31	21,5±3,05*	-	-
	90	21,98±3,14	20,76±3,18*	-	-
	120	22,16±2,92	19,88±3,23*	-	-

Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

Активность КФК в плазме крови крыс с однократным введением покрытых углеродом наночастиц железа (2-я группа) на 1 сутки увеличилась в 1,74 раза, на 7 сутки - в 1,54 раза и на 14 сутки - в 1,4 раза относительно активности киназы у крыс 1-й группы. На 21 сутки и до конца эксперимента активность КФК не отличалась от таковой у интактных крыс.

На 1 сутки активность КФК в плазме крови крыс 4-й группы повысилась по сравнению с таковой у интактных животных в 1,96 раза, на 7 сутки - в 1,79 раза и на 14 сутки - в 1,64 раза.

После многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (6-я группа) на 7 сутки активность КФК увеличилась в 1,73 раза, на 14 сутки - в 1,77 раза, на 21 сутки - в 1,94 раза, на 40 сутки - в 1,91 раза относительно таковой у интактных животных (Таблица 19, приложение 8.5).

На 1 сутки активность КФК-МВ в плазме крови крыс 2-й группы относительно активности этого фермента у интактных животных увеличилась в 2,03 раза, на 7 сутки - в 1,76 раза и на 14 сутки - в 1,7 раза. С 21 по 120 сутки активность сердечной изоформы КФК не отличалась от активности этого фермента у крыс интактной группы.

В плазме крови крыс после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (4-я группа), на 1 сутки активность КФК-МВ превышала в 2,52 раза, на 7 сутки - в 2,12 раза, на 14 сутки - в 1,96 раза, на 21 сутки - в 1,65 раза и на 40 сутки - в 1,37 раза, аналогичные показатели крыс 1-й группы относительно таковой у животных 1-й группы.

После многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (6-я группа) на 7 сутки активность КФК-МВ увеличилась в 2,04 раза, на 14 - в 2,22 раза, на 21 - в 2 раза, на 40 - в 2,16 раза относительно активности этого фермента у интактных крыс (Таблица 19, приложение 8.6).

Активность ГБДГ в плазме крови крыс после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа на 1 сутки увеличилась в 1,33 раза и на 7 сутки - в 1,21 раза. На 14 сутки и до завершения исследования активность ГБДГ не отличалась от таковой у крыс интактной группы.

На 1 сутки активность ГБДГ в плазме крови крыс 4-й группы по сравнению с таковой у животных 1-й группы повысилась в 1,54 раза, на 7 - в 1,45 раза, на 14 - в 1,32 раза и на 21 - в 1,29 раза.

После многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (6-я группа) на 7 сутки активность ГБДГ увеличилась в 1,37 раза, на 14 сутки - в 1,35 раза, на 21 сутки - в 1,45 раза и на 40 сутки - в 1,4 раза относительно активности этого фермента животных интактной группы (Таблица 19, приложение 8.7).

В плазме крови крыс с однократным введением покрытых углеродом наночастиц железа (2-я группа) активность γ -ГТ по сравнению с таковой у крыс 1-й группы на 1 сутки увеличилась в 2,92 раза, на 7 - в 2,7 раза и на 14 - в 2,13 раза. На 21 сутки и до конца эксперимента активность γ -ГТ крыс 2-й и 1-й групп не различалась.

Активность γ -ГТ в плазме крови крыс 4-й группы повысилась на 1 сутки в 3,6 раза, на 7 - в 3,13 раза, на 14 - в 3,05 раза, на 21 - в 2,21 раза, на 40 - в 1,62 раза относительно активности γ -ГТ у животных интактной группы.

На 7 сутки активность γ -ГТ в плазме крови крыс 6-й группы по сравнению с таковой у интактных крыс (1-я группа) увеличилась в 3,1 раза, на 14 - в 3,33 раза, на 21 - в 3,3 раза и на 40 сутки в 3,44 раза (Таблица 19, приложение 8.8).

Таблица 19. Активность КФК, КФК-МВ, ГБДГ, γ -ГТ в плазме крови крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа (Ед/л), $X \pm s$.

Фермент	Сутки	Экспериментальные группы			
		1-я группа	2-я группа	4-я группа	6-я группа
КФК	1	246,8 \pm 13,2	431,2 \pm 11,2#	484,9 \pm 13,4#	-
	7	256,2 \pm 10,1	395,6 \pm 12,8#	460,1 \pm 10,6#	443,7 \pm 12,4#
	14	260,3 \pm 12,5	366,4 \pm 10,7#	427,5 \pm 9,8*#	461,1 \pm 12,1#
	21	241,7 \pm 11,7	279,1 \pm 13,2*	291,4 \pm 13,1*	469,5 \pm 11,8#
	40	251,9 \pm 10,9	259,7 \pm 11,7*	260,8 \pm 11,6*	481,4 \pm 13,9#
	60	255,1 \pm 13,7	254,8 \pm 12,1*	-	-
	90	249,3 \pm 12,1	253,1 \pm 10,9*	-	-
	120	251,2 \pm 11,3	240,9 \pm 11,5*	-	-
КФК-МВ	1	78,38 \pm 8,74	159,7 \pm 9,21#	198,3 \pm 7,95#	-
	7	85,73 \pm 7,81	151,52 \pm 8,63#	181,86 \pm 8,41#*	175,32 \pm 9,23#
	14	80,66 \pm 8,9	137,49 \pm 7,55#*	158,74 \pm 8,74#*	179,87 \pm 8,23#
	21	90,51 \pm 8,34	107,91 \pm 8,12*	149,59 \pm 7,57#*	181,61 \pm 8,77#
	40	88,48 \pm 8,62	82,03 \pm 8,03*	121,71 \pm 9,08#*	191,17 \pm 7,89#
	60	79,57 \pm 8,17	88,72 \pm 7,78*	-	-
	90	83,73 \pm 7,94	80,58 \pm 9,18*	-	-
	120	87,52 \pm 8,28	79,09 \pm 8,45*	-	-
ГБДГ	1	396,3 \pm 15,2	527,3 \pm 12,7#	610,7 \pm 13,5#	-
	7	410,8 \pm 13,7	497,8 \pm 14,7#	598,4 \pm 14,2#	560,9 \pm 13,9#
	14	424,1 \pm 13,9	488,0 \pm 13,4	561,8 \pm 14,1#	576,5 \pm 14,8#
	21	399,7 \pm 14,4	457,5 \pm 14,2	515,1 \pm 13,8#	582,2 \pm 12,8#
	40	419,9 \pm 13,7	423,6 \pm 12,9*	488,3 \pm 13,9*	591 \pm 15,1#
	60	411,4 \pm 14,1	417,9 \pm 15,3*	-	-
	90	398,9 \pm 14,5	420,1 \pm 14,9*	-	-
	120	400,7 \pm 15,1	413,7 \pm 14,7*	-	-
γ -ГТ	1	1,61 \pm 0,25	4,71 \pm 0,21#	5,8 \pm 0,14#	-
	7	1,72 \pm 0,12	4,68 \pm 0,18#	5,4 \pm 0,2#	5,34 \pm 0,22#
	14	1,67 \pm 0,22	3,55 \pm 0,23#	5,1 \pm 0,12#	5,56 \pm 0,19#
	21	1,7 \pm 0,31	2,37 \pm 0,12* &	3,76 \pm 0,17#* &	5,61 \pm 0,23#
	40	1,65 \pm 0,17	1,74 \pm 0,16*	2,67 \pm 0,21#* &	5,69 \pm 0,16#
	60	1,69 \pm 0,13	1,63 \pm 0,2*	-	-
	90	1,7 \pm 0,19	1,71 \pm 0,29*	-	-
	120	1,63 \pm 0,25	1,68 \pm 0,19*	-	-

Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

3.7.2. Концентрация общего белка и метаболитов плазмы крови крыс после внутривенного введения суспензии покрытых углеродом наночастиц железа

Концентрация общего белка в плазме крови крыс после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (2-я группа) снизилась на 1 сутки в 1,6 раза и на 7 суток – в 1,56 раза по сравнению с таковой у крыс 1-й группы. Концентрация общего белка с 14 и по 120 сутки не отличалась от таковой у интактных животных.

У животных 4-й группы в плазме крови крыс на 1 сутки концентрация общего белка снизилась в 2 раза, на 7 - в 1,94 раза и на 14 - в 1,61 раза относительно аналогичных показателей у интактных животных.

После многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (6-я группа), концентрация общего белка в плазме крови крыс снизилась на 7 суток - в 1,87 раза, на 14 суток - в 1,72 раза, на 21 сутки - в 1,79 раза, на 40 суток - в 1,96 раза по сравнению с соответствующими показателями крыс 1-й группы (Таблица 20, приложение 9.1).

На 1 сутки концентрация глюкозы в плазме крови крыс группы 2-й группы снизилась на 1 сутки - в 1,28 раза по сравнению с таковой у животных 1-й группы. Концентрация глюкозы на 7 суток и до завершения исследования соответствовала таковой у интактных крыс.

В плазме крови крыс с однократным введением покрытых углеродом наночастиц железа (4-я группа) концентрация глюкозы на 1 сутки уменьшилась в 1,35 раза и на 7 суток - в 1,22 раза относительно аналогичных показателей у крыс 1-й группы.

На 7 суток концентрация глюкозы в плазме крови крыс 6-й группы снизилась в 1,32 раза, на 14 - в 1,32 раза, на 21 - в 1,35 раза и на 40 - в 1,43 раза по сравнению с концентрацией у интактных крыс (Таблица 20, приложение 9.2).

Концентрация мочевины в плазме крови крыс с однократным введением покрытых углеродом наночастиц железа (2-я группа) относительно этого показателя у крыс 1-й группы увеличилась на 1 сутки в 1,48 раза, на 7 – в 1,69 и 14

сутки - в 1,54 раза. Концентрация мочевины с 21 и по 120 сутки не отличалась от таковой у интактных животных.

У животных 4-й группы в плазме крови крыс на 1 сутки концентрация мочевины увеличилась в 1,64 раза, на 7 сутки - в 1,86 раза, на 14 сутки - в 1,84 раза, на 21 сутки - в 1,23 раза и на 40 сутки - в 1,32 раза по сравнению с аналогичным показателем у крыс интактной группы.

После многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (6-я группа) концентрация мочевины в плазме крови крыс увеличилась на 7 сутки в 1,84 раза, на 14 - в 1,92 раза, на 21 - в 1,58 раза и на 40 сутки - в 1,95 раза относительно данного показателя у животных 1-й группы (Таблица 20, приложение 9.3).

Таблица 20. Концентрация общего белка, глюкозы, мочевины в плазме крови крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа, $\bar{X} \pm s$.

Метаболит	Сутки	Экспериментальные группы			
		1-я группа	2-я группа	4-я группа	6-я группа
Общий белок, г/л	1	96,31±7,31	59,85±6,55#	48,04±7,84#	-
	7	99,74±2,23	63,62±7,93#	51,3±8,12#	53,22±7,21#
	14	91,48±6,87	78,48±8,87	56,63±8,45#	52,99±6,88#
	21	89,92±4,11	87,13±7,55	79,71±8,56	49,97±6,73#
	40	94,22±5,73	93,08±7,23*	84,19±7,33*	48,07±7,18#
	60	96,97±4,89	95,71±8,12*	-	-
	90	97,16±7,23	92,28±8,34*	-	-
	120	98,38±3,99	94,93±6,99*	-	-
Глюкоза, ммоль/л	1	6,31±0,21	4,91±0,13#	4,65±0,26#	-
	7	6,25±0,33	5,64±0,22	5,11±0,19#	4,72±0,16#
	14	6,2±0,14	6,11±0,24*	5,73±0,31	4,67±0,21#
	21	6,37±0,19	6,28±0,17*	5,94±0,14*	4,72±0,24#
	40	6,23±0,23	6,19±0,15*	5,89±0,17	4,35±0,12#*
	60	6,34±0,2	6,27±0,19*	-	-
	90	6,3±0,18	6,33±0,21*	-	-
	120	6,33±0,23	6,28±0,2*	-	-
Мочевина, ммоль/л	1	8,77±0,67	12,99±0,45#	14,43±0,67#	-
	7	7,53±0,78	12,73±0,64#	14,07±0,71#	13,9±0,77#
	14	7,37±0,66	11,39±0,76#	13,6±0,73#*	14,16±0,69#
	21	8,94±0,73	9,56±0,58*	11,02±0,65#*	14,21±0,67#
	40	7,42±0,51	7,99±0,12*&	9,83±0,62#*	14,47±0,72#
	60	8,89±0,59	8,17±0,71*	-	-
	90	8,15±0,62	8,62±0,66*	-	-
	120	8,06±0,72	7,71±0,7*	-	-

Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

На 1 сутки концентрация креатинина в плазме крови крыс с однократным введением покрытых углеродом наночастиц железа (2-я группа) относительно крыс 1-й группы увеличилась в 1,3 раза. Концентрация креатинина на 7 сутки у крыс этой и интактной группы не отличалась.

Концентрация креатинина в плазме крови крыс 4-й группы на 1 сутки увеличилась в 1,5 раза, на 7 - в 1,4 раза и на 14 - в 1,35 раза по сравнению с аналогичным показателем у животных интактной группы.

В плазме крови животных после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (6-я группа) содержание креатинина увеличилось на 7 сутки в 1,31 раза, на 14 и 21 сутки - в 1,44 и 1,52 раза, соответственно, а на 40 сутки - в 1,22 раза по сравнению с его содержанием у интактных крыс (Таблица 21, приложение 9.4).

Концентрация общего билирубина в плазме крови крыс после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (2-я группа) увеличилась на 1 сутки в 2,11 раза и на 7 в - 2,12 раза относительно аналогичного показателя у животных 1-й группы. Концентрация общего билирубина на 14 сутки не отличалась от таковой у интактных животных.

У животных 4-й группы в плазме крови крыс на 1 сутки концентрация общего билирубина увеличилась в 2,85 раза, на 7 - в 2,9 раза и на 14 - в 2,34 раза относительно таковой у крыс интактной группы.

После многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (6-я группа), концентрация общего билирубина в плазме крови крыс увеличилась на 7 сутки в 2,72 раза, на 14 сутки - в 2,51 раза, на 21 сутки - в 2,68 раза и на 40 сутки - в 3,22 раза относительно аналогичного показателя у крыс 1-й группы (Таблица 21, приложение 9.5).

Концентрация прямого билирубина с 1 по 120 сутки не отличалась от данного показателя у животных 1-й группы.

В плазме крови животных 4-й группы на 1 сутки концентрация конъюгированного билирубина снизилась в 14,9 раза, на 7 сутки - в 8,38 раза и на 14 сутки - в 2,78 раза относительно таковой у крыс интактной группы.

На 7 сутки после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (6-я группа) концентрация конъюгированного билирубина в плазме крови крыс по сравнению с концентрацией у крыс 1-й группы снизилась на 7 сутки в 3,14

раза, на 14 - в 3,56 раза, на 21 - в 4,11 раза и на 40 сутки - в 3,75 раза (Таблица 21, приложение 9.6).

Таблица 21. Концентрация общего креатинина, общего и прямого билирубина в плазме крови крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа, $X \pm s$.

Метаболит	Сутки	Экспериментальные группы			
		1-я группа	2-я группа	4-я группа	6-я группа
Креатинин, мкмоль/л	1	74,39±5,15	96,86±6,14#	111,42±6,11#	-
	7	75,11±8,83	91,51±5,89	103,73±6,76#	99,11±6,73#
	14	74,73±7,91	87,87±7,78	101,39±7,41#	108,17±7,32#
	21	75,03±6,35	76,21±4,57*	80,15±7,24*	114,78±6,41#
	40	74,97±5,04	74,94±7,83*	77,46±6,91*	119,31±6,27#*
	60	74,58±6,84	75,32±7,13*	-	-
	90	75,17±6,12	75,06±6,99*	-	-
	120	75,41±7,89	74,89±6,73*	-	-
Билирубин общий, мкмоль/л	1	8,63±1,61	18,22±1,94#	24,63±1,78#	-
	7	7,89±2,28	16,78±2,12#	22,87±1,99#	21,47±1,89#
	14	9,13±1,93	10,44±2,04	21,41±2,13#	22,89±1,97#
	21	8,25±1,52	9,83±1,78*	10,86±2,42*	22,15±2,13#
	40	7,98±1,41	8,11±1,84*	9,83±2,37*	25,77±2,19#
	60	8,51±1,39	8,42±1,92*	-	-
	90	8,99±2,32	9,03±2,27*	-	-
	120	8,25±1,47	7,94±2,11*	-	-
Билирубин конъюгированный, мкмоль/л	1	1,64±0,21	0,75±0,24#	0,11±0,08#	-
	7	1,76±0,13	0,81±0,2#	0,21±0,11#	0,56±0,24#
	14	1,89±0,19	0,93±0,23#	0,68±0,22#	0,53±0,18#
	21	1,81±0,11	1,69±0,25	1,19±0,22*	0,44±0,2#
	40	1,69±0,09	1,74±0,24*	1,22±0,15*	0,45±0,21#
	60	1,74±0,17	1,71±0,19*	-	-
	90	1,84±0,12	1,82±0,21*	-	-
	120	1,81±0,13	1,79±0,18*	-	-

Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

3.7.3. Активность ферментов плазмы крови крыс после внутривенного введения суспензии магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа

Активность АЛТ в плазме крови крыс после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (3-я группа) на 1 сутки относительно аналогичного показателя у крыс 1-й группы увеличилась в 1,46 раза. К 7 суткам и до конца эксперимента активность АЛТ в плазме крови не отличалась от таковой у интактных крыс.

На 1 сутки активность АЛТ в плазме крови крыс 5-й группы повысилась в 2 раза, на 7 - в 1,54 раза, на 14 - в 1,38 раза и на 21 - в 1,23 раза относительно активности АЛТ у крыс интактной группы (1-я группа).

После многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (7-я группа), на 14 сутки активность АЛТ увеличилась в 1,5 раза, на 21 сутки - в 1,7 раза и на 40 сутки в 1,64 раза по сравнению с таковой у интактных животных (Таблица 22, приложение 8.1).

На 1 сутки активность АСТ в плазме крови крыс 3-й группы увеличилась в 1,65 раза и на 7 - в 1,6 раза относительно активности этого фермента у интактных крыс. С 14 по 120 сутки активность АСТ не отличалась от таковой в плазме крови крыс 1-й группы.

Активность АСТ в плазме крови крыс 5-й группы на 1 сутки повысилась в 2 раза, на 7 сутки - в 1,87 раза и на 14 сутки - в 1,65 раза относительно таковой у интактных животных.

На 7 сутки после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (7-я группа), активность АСТ увеличилась в 1,83 раза, на 14 - в 1,85 раза, на 21 - в 1,8 раза и на 40 сутки - в 1,89 раза по сравнению с этим показателем у животных интактной группы (Таблица 22, приложение 8.2).

Активность ЛДГ в плазме крови крыс 3-й группы на 1 сутки увеличилась в 1,19 раза относительно активности у крыс 1-й группы. На 21 сутки и до завершения исследования активность этого фермента в плазме крови крыс 3-й группы не отличалась от таковой у интактных крыс.

На 1 сутки активность ЛДГ в плазме крови крыс 5-й группы повышалась в 1,22 раза, на 7 сутки - в 1,17 раза, на 14 сутки - в 1,15 раза относительно аналогичных показателей у интактных крыс.

После многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (7-я группа), на 7 сутки активность ЛДГ увеличилась в 1,17 раза, на 14 - в 1,2 раза, на 21 - в 1,2 раза и на 40 - в 1,25 раза по сравнению с таковой у крыс 1-й группы (Таблица 22, приложение 8.3).

С 1 суток и до конца эксперимента плазменная активность ЩФ у крыс 3-й группы не отличалась от аналогичных показателей животных 1-й группы.

В плазме крови крыс с однократным введением магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (5-я группа), активность ЩФ повышалась на 1 сутки - в 1,74 раза относительно таковой у животных 1-й группы.

На 14 сутки после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (7-я группа), активность ЩФ по сравнению с этим показателем у крыс интактной группы увеличилась в 1,68 раза, на 21 - в 1,55 раза и на 40 сутки - в 1,8 раза (Таблица 22, приложение 8.4).

Таблица 22. Активность АЛТ, АСТ, ЛДГ, ЩФ в плазме крови крыс после введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (Ед/л), $X \pm s$.

Фермент	Сутки	Экспериментальные группы			
		1-я группа	3-я группа	5-я группа	7-я группа
АЛТ	1	29,91±4,34	43,24±3,97#	59,72±3,76#	-
	7	33,43±3,76	40,11±4,11\$	51,54±4,17#	45,8±4,13\$
	14	32,87±3,91	37,83±4,21\$	45,44±4,04#*	49,23±4,22#
	21	31,13±4,28	34,09±3,87	38,19±4* \$	52,81±3,85#
	40	34,19±4,14	31,57±3,35	36,76±4,12*	55,96±2,13#
	60	31,72±4,2	29,88±4,07*	-	-
	90	30,85±3,99	31,71±3,82	-	-
	120	28,89±4,22	33,4±4,23	-	-
АСТ	1	27,12±4,33	44,69±3,89#	54,25±3,78#	-
	7	25,94±4,56	41,73±3,95#	48,46±4,14#	47,39±3,95#
	14	26,47±3,98	37,86±4,23\$	43,77±4,09#	49,1±4,2#
	21	29,34±4,21	31,52±4,16*	39,12±4,11*	52,87±4,15#
	40	28,67±4,14	29,43±4,04*	33,84±3,96*	54,13±4,17#
	60	28,22±3,82	28,9±4,19*	-	-
	90	25,71±4,26	26,78±4,23*	-	-
	120	27,36±4,12	27,81±4,15*	-	-
ЛДГ	1	716,5±25,7	849,9±26,8#	877,6±29,5#	-
	7	728,7±27,8	833,7±30,9\$	850,1±30,2#	852,5±26,4#
	14	721,4±31,2	788,2±27,1\$	828,1±26,1#	869,4±28,8#
	21	731,2±30,7	753,8±29,5	814,8±29,7	881,3±29,3#
	40	715,4±26,4	725,1±28,4*	780,5±27,2	894,9±30,2#
	60	735,8±27,4	729,4±25,9*	-	-
	90	728,1±31,5	731,8±26,7*	-	-
	120	722,3±32,9	726,2±30,2*	-	-
ЩФ	1	19,11±2,95	29,48±3,23\$	33,24±2,89#	-
	7	21,34±3,32	25,04±3,46\$	30,71±3,11\$	31,86±3,2\$
	14	20,22±3,27	23,17±2,72\$	29,96±3,25\$	34,1±3,14#
	21	22,37±2,73	20,75±3,23	28,63±3,31	34,74±3,19#
	40	19,72±3,6	22,99±3,19	24,11±2,99	35,61±3,24#
	60	19,55±3,31	21,17±2,98	-	-
	90	21,98±3,14	20,86±2,81	-	-
	120	22,16±2,92	21,9±3,26	-	-

Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

Активность КФК в плазме крови крыс после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (3-я группа) на 1 сутки увеличилась в 1,4 раза. С 7 и по 120 сутки активность КФК не отличалась от таковой у крыс интактной группы.

На 1 сутки активность КФК в плазме крови крыс 5-й группы повышалась в 1,56 раза и на 7 - в 1,4 раза по сравнению с активностью КФК у животных интактной группы. На 14 сутки активность КФК не отличалась от таковой у интактных крыс.

На 7 и 14 сутки после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (7-я группа), активность КФК увеличилась в 1,4 раза, на 21 - в 1,55 раза и на 40 - в 1,52 раза относительно таковой у крыс 1-й группы (Таблица 23, приложение 8.5).

На 1 сутки в плазме крови крыс после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (3-я группа) активность КФК-МВ увеличилась в 1,67 раза, на 7 и 14 сутки - в 1,3 раза по сравнению с активностью у интактных животных. С 21 по 120 сутки активность КФК-МВ не отличалась от таковой у крыс интактной группы.

Активность КФК-МВ в плазме крови крыс 5-й группы повышалась на 1 сутки - в 2,23 раза, на 7 сутки - в 1,69 раза, на 14 сутки - в 1,67 раза, на 21 сутки - в 1,44 раза и на 40 сутки - в 1,29 раза относительно данного показателя у крыс 1-й группы.

В плазме крови крыс 7-й группы на 7 сутки активность КФК-МВ увеличилась в 1,73 раза, на 14 сутки - в 1,94 раза, на 21 сутки - в 1,78 раза и на 40 сутки - в 1,93 раза по сравнению с таковой у интактных крыс (Таблица 23, приложение 8.6).

Активность ГБДГ в плазме крови крыс после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (3-я группа) на 1 сутки увеличилась в 1,23 раза относительно животных 1-й группы относительно

данного показателя у крыс 1-й группы. На 7 сутки и до конца исследования активность ГБДГ в плазме крови крыс 3-й группы не отличалась от таковой у интактных крыс.

На 1 сутки активность ГБДГ в плазме крови крыс 5-й группы повысилась в 1,44 раза, на 7 сутки - в 1,35 раза, на 14 сутки - в 1,3 раза и на 21 сутки - в 1,28 раза по сравнению с активностью ГБДГ у интактных животных.

После многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (7-я группа) на 7 сутки активность ГБДГ увеличилась в 1,26 раза, на 14 - в 1,24 раза, на 21 - в 1,33 раза и на 40 сутки - в 1,3 раза относительно таковой у крыс 1-й группы (Таблица 23, приложение 8.7).

В плазме крови крыс 3-й группы на 1 сутки активность γ -ГТ увеличилась в 2,31 раза и на 7 сутки - в 2,09 раза по сравнению с аналогичным показателем у животных интактной группы. К 14 и по 120 сутки активность γ -ГТ в плазме крови крыс 3-й группы соответствовала аналогичным показателям интактных крыс.

Активность γ -ГТ в плазме крови крыс 5-й группы повысилась на 1 сутки в 3,03 раза, на 7 сутки - в 2,36 раза, на 14 сутки - в 2,11 раза, на 21 сутки - в 1,92 раза и на 40 сутки - в 1,52 раза относительно таковой у крыс интактной группы.

На 7 сутки после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа (7-я группа), активность γ -ГТ увеличилась в 2,38 раза, на 14 сутки - в 2,56 раза, на 21 сутки - в 2,58 раза и на 40 сутки - в 2,77 раза по сравнению с активностью у животных 1-й группы (Таблица 23, приложение 8.8).

Таблица 23. Активность КФК, КФК-МВ, ГБДГ, γ -ГТ в плазме крови крыс после введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (Ед/л), $X \pm s$.

Фермент	Сутки	Экспериментальные группы			
		1-я группа	3-я группа	5-я группа	7-я группа
КФК	1	246,8 \pm 13,2	347,7 \pm 13,1#	385,4 \pm 12,3#	-
	7	256,2 \pm 10,1	315,4 \pm 10,9\$	360,7 \pm 11,7#	359,5 \pm 10,9#
	14	260,3 \pm 12,5	283,9 \pm 11,2\$	318,2 \pm 10\$	364,1 \pm 12,4#
	21	241,7 \pm 11,7	247,3 \pm 10,1*	287 \pm 13,5*	374,9 \pm 11,8#
	40	251,9 \pm 10,9	251,8 \pm 12,7*	256,9 \pm 13,1*	383,8 \pm 13,1#
	60	255,1 \pm 13,7	249,1 \pm 12,3*	-	-
	90	249,3 \pm 12,1	247,7 \pm 10,9*	-	-
	120	251,2 \pm 11,3	250,4 \pm 13,4*	-	-
КФК-МВ	1	78,38 \pm 8,74	131,29 \pm 7,98#	174,81 \pm 8,32#	-
	7	85,73 \pm 7,81	111,74 \pm 8,41#	144,57 \pm 8,76#*	148,71 \pm 7,34#
	14	80,66 \pm 8,9	104,91 \pm 8,25#*	134,73 \pm 8,12#*	156,84 \pm 8,83#
	21	90,51 \pm 8,34	91,04 \pm 7,99*	130,11 \pm 8,55#*	161,31 \pm 8,14#
	40	88,48 \pm 8,62	84,71 \pm 8,78*	113,86 \pm 7,89#*	170,7 \pm 7,99#*
	60	79,57 \pm 8,17	88,39 \pm 8,53*	-	-
	90	83,73 \pm 7,94	83,41 \pm 8,33*	-	-
	120	87,52 \pm 8,28	85 \pm 7,95*	-	-
ГБДГ	1	396,3 \pm 15,2	489,4 \pm 13,6#	571,2 \pm 12,7#	-
	7	410,8 \pm 13,7	457,5 \pm 15,1	555,9 \pm 15,2#	519,5 \pm 13,6#
	14	424,1 \pm 13,9	448,3 \pm 14,5	549,7 \pm 14,7#	528,1 \pm 13,2#
	21	399,7 \pm 14,4	432,8 \pm 14,1	510,1 \pm 13,2#	533,2 \pm 14,7#
	40	419,9 \pm 13,7	410,7 \pm 15,4*	476,4 \pm 14,1*	549,6 \pm 14,1#
	60	411,4 \pm 14,1	415,6 \pm 12,9	-	-
	90	398,9 \pm 14,5	408,5 \pm 13,3*	-	-
	120	400,7 \pm 15,1	400,6 \pm 14,8*	-	-
γ -ГТ	1	1,61 \pm 0,25	3,72 \pm 0,19#	4,89 \pm 0,15#	-
	7	1,72 \pm 0,12	3,59 \pm 0,22#	4,06 \pm 0,25#	4,1 \pm 0,23#
	14	1,67 \pm 0,22	3,04 \pm 0,29	3,53 \pm 0,23#*	4,27 \pm 0,18#
	21	1,7 \pm 0,31	2,45 \pm 0,14*	3,26 \pm 0,27#*	4,39 \pm 0,16#
	40	1,65 \pm 0,17	1,67 \pm 0,26*	2,51 \pm 0,19#*	4,58 \pm 0,27#
	60	1,69 \pm 0,13	1,7 \pm 0,3*	-	-
	90	1,7 \pm 0,19	1,66 \pm 0,11*	-	-
	120	1,63 \pm 0,25	1,7 \pm 0,19*	-	-

Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

3.7.4. Концентрация общего белка и метаболитов плазмы крови крыс после внутривенного введения суспензии магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа

Концентрация общего белка в плазме крови крыс с однократным введением магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (3-я группа) снизилась на 1 и 7 сутки в 1,27 раза по сравнению с данным показателем у крыс 1-й группы. Концентрация общего белка с 14 до 120 суток и до конца эксперимента не отличалась от таковой у интактных животных.

У животных 5-й группы в плазме крови крыс на 1 сутки концентрация общего белка снизилась в 1,39 раза, на 7 - в 1,31 раза по сравнению с концентрацией у животных интактной группы.

После многократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (7-я группа), концентрация общего белка в плазме крови крыс снизилась на 7 сутки - в 1,36 раза, на 14 сутки - в 1,26 раза, на 21 сутки - в 1,25 раза и на 40 суток - в 1,38 раза относительно таковой у крыс 1-й группы (Таблица 24, приложение 9.1).

Концентрация глюкозы в плазме крови крыс 3-й группы с 7 по 120 сутки не отличалась от таковой у интактных животных.

В плазме крови крыс с однократным введением магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (5-я группа) на 1 сутки концентрация глюкозы снизилась в 1,24 раза, на 7 сутки - в 1,19 раза по сравнению с концентрацией у крыс 1-й группы. Концентрация глюкозы на 14 сутки не отличалась от таковой у интактных животных.

На 14 сутки в плазме крови крыс 7-й группы концентрация глюкозы в снизилась в 1,24 раза, на 21 сутки - в 1,3 раза и на 40 суток - в 1,39 раза относительно данного показателя у крыс интактной группы (Таблица 24, приложение 9.2).

Концентрация мочевины в плазме крови крыс с однократным введением магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (3-я группа) увеличилась на 1 сутки в 1,33 раза, на 7 и 14 сутки - в 1,52 раза по сравнению с таковой у крыс интактной группы. Концентрация мочевины с 21 сутки и до конца эксперимента не отличалась от нее у интактных животных.

У животных 5-й группы в плазме крови крыс на 1 сутки концентрация мочевины увеличилась в 1,47 раза, на 7 - в 1,65 раза, на 14 - в 1,52 раза и на 21 - в 1,2 раза относительно аналогичных показателей интактных животных.

После многократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа (7-я группа), концентрация мочевины в плазме крови крыс по сравнению с аналогичным показателем у животных 1-й группы увеличивалась на 7 сутки в 1,59 раза, на 14 сутки - в 1,72 раза, на 21 сутки - в 1,45 раза и на 40 сутки - в 1,78 раза (Таблица 24, приложение 9.3).

Таблица 24. Концентрация общего белка, глюкозы, мочевины в плазме крови крыс после введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа $X \pm s$.

Метаболит	Сутки	Экспериментальные группы			
		1-я группа	3-я группа	5-я группа	7-я группа
Общий белок, г/л	1	96,31±7,31	75,84±5,14#	69,22±5,64#\$	-
	7	99,74±2,23	78,63±6,33#	75,91±6,32#\$	73,51±7,53#\$
	14	91,48±6,87	82,46±5,78	79,84±6,77\$	72,45±7,21#\$
	21	89,92±4,11	84,51±6,03	81,47±6,32	71,84±6,78#\$
	40	94,22±5,73	91,83±4,33*	86,73±5,89*	68,29±6,32#\$
	60	96,97±4,89	95,41±6,89*	-	-
	90	97,16±7,23	93,78±6,23*	-	-
	120	98,38±3,99	97,49±5,71*	-	-
Глюкоза, ммоль/л	1	6,31±0,21	5,87±0,23\$	5,08±0,22#	-
	7	6,25±0,33	6,08±0,12	5,27±0,14#	5,47±0,16
	14	6,2±0,14	6,19±0,31	5,92±0,17	5,02±0,21#
	21	6,37±0,19	6,21±0,14	6,04±0,2*	4,91±0,18#
	40	6,23±0,23	6,29±0,32	6,16±0,18*	4,47±0,14#*
	60	6,34±0,2	6,27±0,19	-	-
	90	6,3±0,18	6,33±0,26	-	-
	120	6,33±0,23	6,32±0,15	-	-
Мочевина, ммоль/л	1	8,77±0,67	11,69±0,32#\$	12,91±0,63#	-
	7	7,53±0,78	11,46±0,69#	12,43±0,71#	11,97±0,66#\$
	14	7,37±0,66	11,13±0,61#	11,22±0,53#*\$	12,65±0,57#
	21	8,94±0,73	9,07±0,72*&	10,72±0,61#*	12,99±0,61#
	40	7,42±0,51	8,93±0,48*	9,47±0,57*	13,21±0,58#
	60	8,89±0,59	7,85±0,78*	-	-
	90	8,15±0,62	8,02±0,68*	-	-
	120	8,06±0,72	8,57±0,61*	-	-

Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

Концентрация креатинина в плазме крови крыс 3-й, 5-й и 7-й групп после введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа в

течение эксперимента не отличалась от таковой крыс интактной группы (Таблица 25, приложение 9.4).

В течение эксперимента после введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа в плазме крови крыс 3-й, 5-й и 7-й групп не обнаружено отличий концентрации общего билирубина от таковой у крыс 1-й группы (Таблица 25, приложение 9.5).

Концентрация прямого билирубина в плазме крови крыс с однократным введением магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа не отличалась от уровня аналогичного показателя интактных крыс с 1 по 120 сутки.

Концентрация конъюгированного билирубина в плазме крови животных 5-й группы на 1 сутки снизилась в 3,9 раза и на 7 сутки - в 1,98 раза по сравнению с аналогичными показателями крыс 1-й группы.

На 14 сутки в плазме крови крыс 7-й группы концентрация конъюгированного билирубина снизилась в 2,12 раза, на 21 сутки - в 2,38 раза и на 40 сутки - в 2,77 раза относительно его концентрации у крыс 1-й группы (Таблица 25, приложение 9.6).

Таблица 25. Концентрация креатинина, общего и прямого билирубина в плазме крови крыс после введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа, $X \pm s$.

Метаболит	Сутки	Экспериментальные группы			
		1-я группа	3-я группа	5-я группа	7-я группа
Креатинин, мкмоль/л	1	74,39±5,15	87,32±6,13	89,78±7,23\$	-
	7	75,11±8,83	83,23±8,11	86,16±5,54\$	88,74±4,65
	14	74,73±7,91	78,32±7,62	84,28±4,76\$	89,28±6,34\$
	21	75,03±6,35	75,23±7,84	78,37±6,61	90,01±7,12\$
	40	74,97±5,04	74,88±6,24	76,62±5,99	90,78±4,54\$
	60	74,58±6,84	75,05±4,87	-	-
	90	75,17±6,12	74,97±6,83	-	-
	120	75,41±7,89	75,31±7,14	-	-
Билирубин общий, мкмоль/л	1	8,63±1,61	12,37±1,54	13,27±1,73\$	-
	7	7,89±2,28	11,04±1,91	11,79±1,86\$	12,93±2,09
	14	9,13±1,93	9,89±2,14	10,54±1,92\$	13,55±2,21
	21	8,25±1,52	9,35±2,32	9,71±2,04	13,96±1,84\$
	40	7,98±1,41	8,47±1,87	9,38±1,79	14,34±1,98\$
	60	8,51±1,39	8,13±1,57	-	-
	90	8,99±2,32	8,26±1,79	-	-
	120	8,25±1,47	7,75±1,93	-	-
Билирубин конъюгированный, мкмоль/л	1	1,64±0,21	1,03±0,15	0,42±0,22#	-
	7	1,76±0,13	1,17±0,25	0,89±0,17#	0,99±0,18
	14	1,89±0,19	1,29±0,14	1,15±0,19	0,89±0,21#
	21	1,81±0,11	1,57±0,24	1,34±0,21*	0,76±0,15#
	40	1,69±0,09	1,76±0,13	1,56±0,25*	0,61±0,22#
	60	1,74±0,17	1,83±0,16*	-	-
	90	1,84±0,12	1,82±0,19*	-	-
	120	1,81±0,13	1,79±0,2	-	-

Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

Глава 4. Обсуждение результатов

Современный уровень развития технологий синтеза наноструктур позволяет модифицировать наночастицы различной природы и задавать им необходимые физические, химические или биологические качества, что открывает новые возможности для их применения [36, 179]. Магнитные наночастицы применяются как в диагностике (контрастные вещества для МРТ), так и в терапии различных заболеваний (целевая доставка, управляемая гипертермия) человека и животных [86].

Исследования последних лет продемонстрировали целый ряд нежелательных биологических эффектов, которые вызывают немодифицированные наночастицы на основе железа. Например, водно-солевые суспензии магнетита при взаимодействии с компонентами биологических жидкостей утрачивают коллоидную устойчивость, что приводит к их агрегации в сосудистом русле и накоплению агломератов наноразмерных частиц вне органов мишеней, эмболии сосудов микроциркуляторного русла, инициации тромбообразования, эндотелиальной дисфункции и т.д. Также в литературе встречается большое количество данных, указывающих на высокую токсичность немодифицированных железосодержащих наночастиц [35, 147, 199, 202, 208, 216, 227, 249, 262, 272].

В работе были использованы наночастицы железа углеродная оболочка, которых обеспечивает эффективный барьер, предохраняющий наноматериал от окисления и разрушения кислотами. Согласно литературным данным покрытие магнитных наночастиц углеродом, приводит к повышению их терморезистентности [120]. Углеродное покрытие приводит к пассивированию поверхности наноразмерных частиц, что позволяет снизить или полностью

исключить возможность свободно-радикальных реакций, которые играют значительную роль в повреждающих механизмах железосодержащих наночастиц [64, 162, 178]. Применение наночастиц железа наиболее востребовано при создании магнитоуправляемых систем целевой доставки терапевтических молекул. Углеродная оболочка в этом случае является линкером для прикрепления лекарственных веществ различной природы.

Существенное значение для применения наноразмерных частиц в биологии и медицине имеет приготовление седиментационно устойчивых коллоидных растворов на основе биосовместимых стабилизаторов [13, 57].

Суспензия покрытых углеродом наночастиц железа в физиологическом растворе визуально и по данным динамического светорассеяния не уступала по стабильности суспензии этих частиц в распространенном многокомпонентном стабилизирующем растворе на основе цитрата натрия, хлорида натрия и динатриевой соли ГЭПЭС [1, 177].

Невысокие значения дзета-потенциала частиц/агломератов в физиологическом растворе указывают на их низкую седиментационную устойчивость и склонность структурных элементов раствора к агрегации. Это подтверждается результатами, полученными с помощью динамического светорассеяния, которые продемонстрировали присутствие крупных агломератов наночастиц. Визуально такие суспензии утрачивали свою стабильность (разделялись на фазы) в течение 1,5-2 ч. Данная совокупность фактов говорит о низкой коллоидной устойчивости суспензий покрытых углеродом наночастиц железа и указывает на необходимость их дополнительной поверхностной модификации с целью повышения их стабильности [45].

Для стабилизации суспензии покрытых углеродом наночастиц железа нами был применен принцип образования мицелл на основе амфифильных молекул. Наряду с липосомами мицеллы активно используются в биомедицинских исследованиях, они более просты в приготовлении. В работе [260] показано, что мицеллы (магнитомицеллы) могут быть использованы в качестве магнитоуправляемых систем адресной доставки терапевтических агентов к тканям-мишеням, которые

совмещают функции переноса лекарственных веществ и визуализации поврежденных тканей.

В нашей работе был использован 1,2-дистеароил-глицеро-3-фосфоэтаноламин-N-[метокси(полиэтиленгликоль)-2000] аммониевая соль (DSPE-PEG-2000) – амфифильная молекула сополимеров, которая содержит в своей структуре как гидрофильные, так и гидрофобные группы. DSPE-PEG-2000, одобрен «Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов» (Food and Drug administration, FDA) и широко применяется для приготовления липосом, наноразмерных частиц, объединенных с полимером и т.д. Данный амфифильный сополимер образует структуры с гидрофобным ядром (DSPE) и гидрофильной оболочкой (ПЭГ). Такая структура способна инкапсулировать гидрофобные наночастицы, помещая их в ядро DSPE, а оболочка из ПЭГ обеспечивает гидрофильность наноконструкции [365].

Лазерная дифракция позволяет измерить размер структурных элементов в дисперсной системе с учетом их гидродинамического радиуса. Исследование размера агломератов/наночастиц в суспензиях изучаемого наноматериала продемонстрировало, что размер преобладающего числа структур в суспензии немодифицированных покрытых углеродом наночастиц железа был меньше, чем в суспензии магнитомицелл. Полученный результат может быть обусловлен увеличением гидратной оболочки за счет гидрофильных молекул ПЭГ во внешнем слое наноконструкции. Тем не менее, суспензия магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа обладала более высокой стабильностью и сохраняла седиментационную устойчивость в течение 5 дней. Кроме того, более высокие значения дзета-потенциала подтверждают повышение агрегативной и седиментационной устойчивости суспензии [30, 63].

Для получения суспензии магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа нами был использован DSPE-PEG с молекулярной массой 2000 Да. Молекулярная масса этого полимера варьирует в широких пределах от 300 до 4000 Да. DSPE-PEG с молекулярной массой 2000 Да обладает высокой гидрофильностью в сочетании с низкой токсичностью и высоким уровнем

биосовместимости [260, 365]. Структура, сформированная совокупностью макромолекул ПЭГ, может иметь как разветвленный, так и линейный вид. В молекулах ПЭГ содержится большое количество атомов водорода, что позволяет им связываться с 2-3 молекулами воды и обуславливает высокую гидрофильность и гидродинамический радиус модифицированных частиц [129, 130].

МРТ исследование крыс проводилось с целью прижизненного выявления распределения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе. Данное исследование позволяет неинвазивно выявить органы-мишени, которые участвуют в накоплении наноразмерных частиц железа. Принцип МРТ основан на явлении ядерного магнитного резонанса, прежде всего на протонах молекул воды [48]. Магнитные наночастицы, обладающие необходимыми физико-химическими свойствами, нашли широкое применение в качестве контрастных агентов для МРТ. Железо в составе, исследуемых наночастиц и магнитомицелл на их основе приводит к сокращению T_2 времени релаксации, которое проявляется затемнением соответствующих областей тела [29, 186, 240]. Очевидно, что после введения наночастиц железа наиболее целесообразно проводить МРТ исследования на начальных этапах эксперимента с целью выявления органов, которые наиболее активно участвуют в фармакокинетике наноразмерных частиц железа для их дальнейшего изучения [15, 49, 77].

После введения исследуемых наноструктур выявляли подавление сигнала и ухудшение качества изображения в области грудной и брюшной полостей, что обусловлено активным участием легких, печени, селезенки и почек в фармакокинетике покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе.

Печень, легкие и селезенка характеризуются развитой системой МНФ, которые активно захватывают и накапливают наноразмерные частицы железа. Согласно литературным данным почки участвуют в выведении наночастиц из организма экспериментальных животных путем клубочковой фильтрации и/или канальцевой секреции, особенно в первые часы после введения, что объясняет снижение интенсивности сигнала в области их расположения [112].

Обращает на себя внимание более выраженное искажение изображения и подавление МР-сигнала в области легких, печени и селезенки крыс на 1 сутки после однократного введения немодифицированных покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 и 60 мг(Fe)/кг_(массы тела), чем после аналогичного введения магнитомицелл. Это можно объяснить выраженными гидрофильными свойствами молекул DSPE-PEG-2000, которые образуют мицеллу. Такие наноконструкции обладают высокой стабильностью и медленнее подвергаются опсонизации, что приводит к снижению интенсивности фагоцитоза агломератов покрытых углеродом наночастиц железа клетками системы МНФ и увеличению времени их циркуляции в кровеносном русле [129, 130, 260, 365]. Этим же обусловлено более выраженное подавление сигнала в области почек крыс после введения магнитомицелл по сравнению с животными с инъекцией немодифицированных покрытых углеродом наночастиц железа: высокая гидрофильность и стабильность магнитомицелл способствует выведению их путем клубочковой фильтрации и канальцевой секреции. Тем не менее следует учитывать, что почки не способны выводить структуры размером более 60 нм и массой более 70 кД [157, 357]. Повышение дозы однократного введения изучаемого наноматериала до 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) приводило к более выраженным изменениям сигнала, что объясняется увеличением интенсивности захвата и выведения введенного наноконструкций.

К 40 суткам после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа, а также магнитомицелл на их основе в дозах 6 мг(Fe)/кг_(массы тела) и 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) наблюдали нормализацию интенсивности сигнала и качества изображения в области расположения легких, почек, печени и селезенки животных, что объясняется постепенной элиминацией наноразмерных частиц железа из организма крыс, которая обеспечивается различными механизмами [101, 252, 335, 357].

При многократном введении покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе, интенсивность сигнала была снижена в области печени, легких и почек в течение всего срока исследования. Однако, выраженного

подавления сигнала не фиксировали, что, по-видимому, обусловлено определенным уровнем элиминации наноматериала, который препятствовал чрезмерному накоплению покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе в организме [101, 252].

Следует отметить, что для использования магнитных наночастиц в качестве МРТ контрастных агентов необходимо наличие у них определенных физико-химических свойств: небольшой диаметр, наличие устойчивого и биосовместимого покрытия, отсутствие склонности к фагоцитозу клетками, а также способность к накоплению в ткани- или органе-мишени [45, 177, 242, 326, 327,]. Сополимеры на основе ПЭГ часто используют в качестве гидрофильного модификатора для обеспечения термодинамической устойчивости, высокого уровня биосовместимости, а также увеличения времени циркуляции мицелл, липосом и наночастиц в кровеносном русле [111, 260, 365].

С целью детального изучения структурных изменений внутренних органов крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа, а также магнитомицелл на их основе нами был применен комплекс гистологических и гистохимических методов [13, 42, 43].

Окраска гематоксилином и эозином в совокупности с гистохимической реакцией Перлса позволяет не только выявить широкий спектр патологических процессов в изучаемых внутренних органах, но также установить присутствие покрытых углеродом наночастиц железа и выявить их локализацию в тканях и органах крыс, за счет образования берлинской лазури в местах их расположения [71].

Выявленные структурные изменения после однократного и многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа, а также магнитомицелл на их основе, при нормальной морфологии органов крыс интактной группы указывают на то, что они вызваны воздействием изучаемых наноструктур. Схожесть морфологических изменений указывает на то, что они обусловлены влиянием покрытых углеродом наноразмерных частиц железа, а их выраженность

обусловлена дополнительной модификацией (магнитомицеллы) и дозой введенного наноматериала.

В результате того, что уровень развития системы МНФ в органах неодинаков, степень участия в фармакокинетике покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе также различается [108].

Наблюдаемые морфологические изменения могут быть следствием как прямого воздействия наноматериала на клетки органов, так и опосредованного путем эмболии сосудов микроциркуляторного русла агломератами наноразмерных частиц, активации внутрисосудистых или внутриклеточных свободно-радикальных процессов, активации системы комплемента, факторов свертывания крови, инициации освобождения клетками провоспалительных медиаторов [35, 116, 147, 199, 202, 208, 216, 227, 249, 262, 272]. Активация вышеперечисленных механизмов может привести к ишемической, токсической или рецептор-опосредованной гибели клеток [108].

В составе металлического ядра наноразмерных частиц железа находятся α -Fe, γ -Fe, Fe₃C, Fe₃O₄ [126]. Метод Перлса позволяет визуализировать ионы Fe³⁺ на срезах внутренних органов за счет образования берлинской лазури.

Положительная реакция Перлса была обнаружена на препаратах печени, селезенки, легких и почек крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе, что указывает на присутствие в перечисленных органах наноразмерных частиц железа.

Перлс-позитивные гранулы были обнаружены в клетках, которые по своей структуре и расположению соответствовали клеткам системы МНФ. Кроме того, выявляли небольшое количество Перлс-положительных гранул в эпителиоцитах проксимальных извитых канальцев почек после однократного и многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе. В клетках функционально ведущей ткани остальных исследованных органов такие гранулы отсутствовали [13, 42, 43].

Следует отметить, что вовлеченность органа в фармакокинетику исследуемых наночастиц прямо зависит от степени развития в нем системы МНФ. Этим

объясняется большое количество Перлс-положительных клеток в печени, селезенке и легких крыс на фоне одно- и многократного введения суспензий покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе при отсутствии таковых в сердце [108, 112].

Перлс-позитивные клетки были разделены нами по количеству гранул в их цитоплазме на 3-класса. Этот подход позволяет оценить процесс накопления и элиминации железосодержащих частиц МНФ. Так, клетки, которые первыми вовлекаются в процесс захвата и кумуляции наноматериала содержат единичные гранулы (3-й класс), при дальнейшем его поглощении их количество увеличивается и они могут становиться клетками, содержащими умеренное количество наночастиц железа (2-й класс) или перегруженными ими (1-й класс) [13, 42, 43].

При однократном и многократном введении покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе в селезенке крыс не наблюдали существенных морфологических нарушений. Следует также отметить, что в селезенке крыс интактной группы во все сроки исследования выявляли Перлс-положительные макрофаги, присутствие которых объясняется ее участием в метаболизме эндогенного железа [43]. В селезенке идет процесс утилизации поврежденных эритроцитов, который обеспечивается макрофагами красной пульпы. Они накапливают в своей цитоплазме железо в форме гемосидерина, после чего переносят его в красный костный мозг для последующего синтеза гемоглобина в клетках эритроидного ростка [25, 37].

Наличие положительной реакции Перлса в селезенке интактных крыс и высокая плотность Перлс-позитивных клеток не позволила нам провести подсчет, а также проследить динамику изменения количества Перлс-положительных клеток в этом органе. Так как макрофаги содержащие в своей цитоплазме гемосидерин и макрофаги кумулирующие железосодержащие наноконструкции при проведении гистохимической реакции Перлса визуальное различить невозможно [75, 315]. В сердце крыс Перлс-положительных клеток не наблюдали, что также не давало возможности провести морфометрический анализ.

Наиболее активно в накоплении и элиминации наноструктур участвует печень, что обуславливает наиболее выраженные изменения ее структуры, выявленные в течение эксперимента [108, 308]. При однократном введении покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе в дозах 6 и 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) наблюдали комплекс дисциркуляторных расстройств в строме, а также дистрофические и некротические изменения гепатоцитов. Гемодинамические нарушения были представлены полнокровием междольковых артерий и вен, расширением и запустеванием синусоидных капилляров, а также гиперемией и расширением центральных вен, что указывает на серьезные нарушения кровообращения органа и могут быть причиной гипоксического повреждения клеток печени [208, 216, 227, 249, 262, 272].

Изменения гепатоцитов были представлены зернистой и гидропической (баллонной) дистрофией, а также моноцеллюлярным некрозом [35]. Следует отметить, что выраженность перечисленных изменений как в группах животных с однократным введением покрытых углеродом наночастиц железа, так и магнитомицелл на их основе зависела от дозы наночастиц железа. При повышении дозы наноматериала выявляли более выраженные изменения дисциркуляторного, дистрофического и некротического характера. Однако, структурные изменения печени, наблюдаемые в группах крыс с введением магнитомицелл в дозе 6 и 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) были менее выражены, чем у животных с однократным введением немодифицированных покрытых углеродом наночастиц железа при аналогичных дозировках.

Большая выраженность дистрофических и некротических изменений в гепатоцитах периферических отделов долек связано с тем, что клетки этого отдела дольки первыми взаимодействуют с наночастицами, которые циркулируют в крови. Данные структурные изменения можно объяснить как прямым, так и опосредованным воздействием покрытых углеродом наночастиц железа, а также магнитомицелл на их основе [35, 295, 341].

С увеличением срока эксперимента после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе наблюдается

нормализация структуры органа, что указывает на наличие механизмов элиминации наноструктур, способности органа к восстановлению, а также о развитии компенсаторно-приспособительных возможностях печени крыс [39].

В печени крыс после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе наблюдали комплекс гемодинамических нарушений идентичный тому, который выявляли при однократном введении наноматериала. Однако, в результате постоянного введения немодифицированных покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе, а также увеличения суммарной дозы нивелирования дисциркуляторных нарушений в органе с увеличением срока эксперимента не наблюдали. Как и при однократном введении изменения гепатоцитов крыс были представлены зернистой и гидropической (баллонной) дистрофией, а также моноцеллюлярным некрозом. Выявленные структурные нарушения наблюдались в течение всего срока эксперимента и были более выраженными, чем в соответствующих группах после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе.

Полученные результаты позволяют сделать вывод, что модификация покрытых углеродом наночастиц железа DSPE-PEG-2000 снижает их повреждающее воздействие на печень крыс. Наличие молекул ПЭГ во внешнем слое магнитомицелл позволяет повысить биосовместимость, а также снизить токсичность. Подобная поверхностная модификация повышает стабильность наноструктур, что снижает вероятность эмболии сосудов микроциркуляторного русла. Более того формирование мицеллы вокруг агломератов/наночастиц экранирует их поверхность и, тем самым, снижает интенсивность свободно-радикальных реакций, в которых участвуют железосодержащие наночастицы [111, 260, 365]. В ряде работ продемонстрировано участие наноразмерных частиц в образовании гидроксильных радикалов, которые обладают выраженными токсическими свойствами [35, 295, 341].

В печени крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе Перлс-позитивные гранулы выявляли в клетках, которые по морфологии соответствовали звездчатым макрофагам.

С увеличением срока эксперимента при однократном введении изучаемых наноконструкций общее количество Перлс-положительных клеток уменьшалось, что указывает на существование в печени механизмов элиминации наночастиц железа. Снижение количества Перлс-позитивных клеток можно объяснить не только миграцией звездчатых макрофагов или внутриклеточным метаболизмом наночастиц железа, но и гибелью клеток Купфера, которые поглотили изучаемые наноконструкции. Высвобожденный в этом случае наноматериал, вероятно, перераспределяется между другими фагоцитами [139, 189, 219, 371].

При многократном введении покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе снижения общего количества Перлс-положительных макрофагов на протяжении эксперимента не происходит по причине постоянного поступления наноматериала вследствие введения дополнительной дозы наночастиц железа. Общее количество Перлс-позитивных клеток Купфера в печени крыс после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе превышает таковое после однократного введения и объясняется более высокой суммарной дозой наночастиц железа.

У животных после однократного введения немодифицированных покрытых углеродом наночастиц железа в дозе $6 \text{ мг(Fe)/кг}_{(\text{массы тела})}$ и после многократного их введения во все сроки эксперимента среди Перлс-позитивных клеток преобладали клетки Купфера 2 класса, которые встречались повсеместно, но преимущественно располагались в междольковой соединительной ткани области триад. В печени крыс после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе $60 \text{ мг(Fe)/кг}_{(\text{массы тела})}$ на 1 и 7 сутки доминировали Перлс-положительные клетки 1 класса, с преимущественной локализацией в области порталных трактов.

При однократном введении магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа в дозе $6 \text{ мг(Fe)/кг}_{(\text{массы тела})}$ и многократном введении данных наноконструкций наблюдали картину схожую с той, что выявили у животных

после однократного и многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичных дозировках. При однократном введении магнитомицелл в дозе $60 \text{ мг(Fe)/кг}_{(\text{массы тела})}$ на 1 сутки преобладали клетки 1-го класса, тогда как на 21 и 40 сутки доминировали фагоциты 2-го и 3-го классов. Особенности локализации Перлс-позитивных клеток при этом сохранялись.

Полученные результаты указывают на то, что наиболее активно процессы поглощения и накопления наноматериала проходят на начальных этапах (1, 7 сутки) после инъекции. При повышении дозы покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе происходит стимулирование фагоцитоза, на что указывает доминирование Перлс-позитивных клеток 1-го класса на начальных этапах эксперимента.

Следует отметить, что магнитомицеллы менее склонны к накоплению в печени крыс, чем немодифицированные покрытые углеродом наночастицы железа, что объясняется наличием молекул ПЭГ в их структуре. Использование для модификации наноконструкций молекул ПЭГ повышает их гидрофильность и защищает их от опсонизации белками плазмы крови и захвата фагоцитами [129, 130, 260, 365,]. Скопление большинства Перлс-положительных клеток в области порталных трактов иллюстрирует их миграцию из синусоидных капилляров к междольковым желчным протокам, с последующей возможной эвакуацией в составе желчи в просвет ЖКТ [139, 189, 219, 371].

Преобладание клеток 2-го класса можно объяснить тем, что фагоциты, перегруженные наноматериалом (1-й класс), активно мигрируют в просвет желчных протоков, а в результате продолжающихся процессов кумуляции наноматериала происходит переход клеток 3-го класса во 2-й [25, 37, 124, 189]. В области порталных трактов в основном наблюдали клетки 1-го и 2-го классов, это указывает на то, что именно эти клетки наиболее задействованы в элиминации наноматериала. С другой стороны, наличие в этой области клеток 3-го класса указывает на то, что поглощение даже небольшого количества наноматериала стимулирует клетку к миграции.

В печени крыс после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе $6 \text{ мг(Fe)/кг}_{(\text{массы тела})}$ не выявляли Перлс-положительных клеток после 21 суток, а у животных с однократным введением магнитомицелл в той же дозировке после 40 суток исследования. Данный факт подтверждает то, что заключение покрытых углеродом наночастиц железа в мицеллу снижает их склонность к фагоцитозу и накоплению клетками системы МНФ [211].

В гепатоцитах крыс всех экспериментальных групп Перлс-позитивных гранул выявлено не было, что можно объяснить не участием этих клеток в поглощении покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе, либо недостаточной чувствительностью применяемого гистохимического метода [336].

В легких крыс после однократного и многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе наблюдали дисциркуляторные изменения, которые были представлены гиперемией и спазмом артерий, полнокровием вен, гиперемией сосудов микроциркуляторного русла, общим и периваскулярным отеком, следствием чего было расширение межальвеолярных перегородок. Наличие инфильтратов, которые в большинстве случаев располагались перибронхиально, указывает на возможность покрытых углеродом наночастиц железа инициировать воспалительные реакции [275, 350]. Несомненно, перечисленные изменения в таком жизненно важном органе как легкое, способны влиять на эффективность газообмена и вызвать системные нарушения гипоксического характера [22, 114]. Выраженность изменений легких, как и в печени крыс, зависела от дозы наноматериала и дополнительной модификации (магнитомицеллы).

Так в группах с однократным введением покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл в дозе $60 \text{ мг(Fe)/кг}_{(\text{массы тела})}$ выявляли более выраженные морфологические изменения, чем в группах с дозой $6 \text{ мг(Fe)/кг}_{(\text{массы тела})}$.

Обращает на себя внимание, что нормализация структуры легких у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе $6 \text{ мг(Fe)/кг}_{(\text{массы тела})}$ происходит в более ранние сроки, чем при введении магнитомицелл в той же дозировке. По-видимому это обусловлено меньшей склонностью магнитомицелл к

фагоцитозу МНФ и более длительному пребыванию в организме [233, 366]. После введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе в дозе 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) в течение 40 суток нормализации морфологии легких не наблюдали.

Выявленные в легких крыс изменения после многократного введения покрытых углеродом наночастиц и магнитомицелл на их основе носят аналогичный характер, что и после однократной инъекции немодифицированных и модифицированных покрытых углеродом наночастиц железа. Следует отметить более выраженную перибронхиальную инфильтрацию стромы органа, которая прогрессировала с увеличением срока эксперимента у крыс после многократного введения изучаемых наноконструкций. Нормализации структуры легких к концу эксперимента в этих группах не наблюдали. Полученные результаты объясняются постоянным введением дополнительной дозы наноматериала, в результате чего он перманентно оказывает повреждающее действие на легкие крыс.

После однократного введения как немодифицированных, так и модифицированных DSPE-PEG-2000 покрытых углеродом наночастиц железа наблюдали тенденцию к нормализации структуры легких крыс, что можно объяснить элиминацией большей части накопленного наноматериала и развитием комплекса компенсаторно-приспособительных реакций [101, 335, 357].

Выявленные изменения в легких могут быть вызваны как прямым, так и опосредованным воздействием наночастиц на альвеолоциты и эндотелий легкого крыс. Опосредованное, может быть обусловлено факторами, выделяемыми активированными макрофагами и клетками соединительной ткани, активацией перекисного окисления липидов или плазменных систем [92, 132, 139, 275, 308, 350]. Модификация покрытых углеродом наночастиц железа DSPE-PEG-2000 снижает их токсическое влияние на легкие, однако пролонгирует его [116, 249, 307].

В легких крыс после введения покрытых углеродом наночастиц желез и магнитомицелл на их основе выявляли Перлс-положительные клетки по структуре

и расположению соответствующие альвеолярным и интерстициальным макрофагам.

При однократном введении наноматериала с увеличением срока эксперимента фиксировали снижение общего количества макрофагов, содержащих Перлс-позитивные гранулы. Данный факт демонстрирует наличие механизмов элиминации покрытых углеродом наночастиц железа из легких, это может достигаться за счет миграции этих клеток за пределы органа, либо внутрилизосомальным разрушением наночастиц железа [331, 344].

Следует отметить, что клетки 1-го и 2-го классов преимущественно располагались в просвете альвеол, бронхиол и бронхов, клетки 2-го класса также встречались перибронхиолярно и перибронхиально, фагоциты 3-го класса фиксировались периваскулярно и в межальвеолярных перегородках. Выявленная закономерность объясняет возможный механизм элиминации наноматериала из легких. Накопив максимальное количество наночастиц (клетки 1-го класса) макрофаги мигрируют в просвет бронхиального дерева и эвакуируются с помощью мукоциллиарного транспорта.

При однократном введении покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг_(массы тела) и их многократном введении во все сроки исследования в легких крыс преобладали макрофаги 2-го класса. На 1 сутки после однократного введения покрытых углеродом наноразмерных частиц железа в дозе 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) доминировали Перлс-положительные клетки 1-го класса. В остальные сроки преобладали макрофаги 2-го класса. Данный факт указывает на то, что процессы поглощения наноматериала наиболее активно протекают в первые сутки после инъекции.

При однократном введении магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа в дозах 6 и 60 мг(Fe)/кг_(массы тела), а также при многократном их введении во все сроки эксперимента преобладали Перлс-положительные макрофаги 2-го класса. Преобладание клеток 2-го класса можно объяснить тем, что фагоциты 1-го класса наиболее склонны к эвакуации из легких, а клетки 3-го класса накапливают наноматериал, переходят в клетки 2-го класса.

Перлс-позитивные макрофаги не выявляются с 60 суток в легких крыс после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг_(массы тела) и с 90 суток у животных после введения магнитомицелл на основе этих наночастиц. С другой стороны, клетки 3-го класса в легких крыс после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг_(массы тела) не встречаются после 40 суток, а у крыс с введением магнитомицелл в той же дозировке после 60 суток, что указывает на завершение основных этапов поглощения наноматериала, меньшую склонность магнитомицелл к накоплению в клетках системы МНФ.

Следует отметить, что при многократном введении покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе, с увеличением срока эксперимента общее количество Перлс-положительных клеток нарастало, что связано с постоянным увеличением суммарной дозы введенного наноматериала и достаточно медленной кинетикой элиминации модифицированных наночастиц железа [114, 154, 292, 358].

Морфологические изменения почек крыс после однократного и многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе представлены нарушениями дисциркуляторного характера в строении органа, а также дистрофическими и некротическими изменениями нефроцитов проксимальных и дистальных извитых канальцев. Выраженность наблюдаемых изменений зависела от дозы наноматериала и его строения (модификации).

Так при введении исследуемых наноконструкций в дозе 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) выраженность дисциркуляторных расстройств превосходила таковую у животных с дозой 6 мг(Fe)/кг_(массы тела). В тоже время при введении магнитомицелл в аналогичных дозах, количество нефроцитов с признаками дистрофии и некроза было ниже, чем в группах, с введением немодифицированных покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичных дозировках.

Наличие Перлс-положительной реакции в нефроцитах проксимальных извитых канальцах и макрофагах межканальцевой соединительной ткани, морфологических (функциональных и органических) изменений в почках указывает на их активное

участие в фармакокинетике покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе [13, 42, 43].

Следует отметить, что содержание Перлс-положительных клеток в строме почек по сравнению с печенью и легкими крыс было существенно ниже, что указывает на слабое развитие системы МНФ в этом органе. Почки – жизненно важный орган, повреждение и нарушение функции которого может привести к нарушению водно-электролитного обмена, а также накоплению токсических продуктов метаболизма в организме [157, 357].

При многократном введении покрытых углеродом наночастиц и магнитомицелл на их основе наблюдали схожие дисциркуляторные нарушения, а также дистрофические и некротические изменения нефроцитов. Нормализации структуры органа в течение 40 суток не наблюдали, что связано с постоянным увеличением суммарной дозы наноматериала (введение каждые 2 суток). По аналогии с однократным введением магнитомицелл, их многократное введение снижает выраженность наблюдаемых структурных изменений по сравнению с введением покрытых углеродом наночастиц железа.

В почках крыс после однократного и многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе выявляли Перлс-положительные гранулы в клетках по морфологии и расположению соответствующих интерстициальным макрофагам. Перлс-позитивные клетки располагались в межканальцевой соединительной ткани коркового и мозгового вещества почек. Снижение общего количества Перлс-позитивных клеток при однократном введении наноматериала с увеличением срока эксперимента указывает на существование механизмов его элиминации в почках, например, фильтрацией или канальцевой экскрецией [207].

Наличие в эпителиоцитах проксимальных извитых канальцев нефрона Перлс-положительных гранул как при однократном, так и при многократном введении покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе свидетельствует о возможном выведении наноматериала путем канальцевой секреции [157].

По-видимому, нефроциты наиболее активно участвуют в выведении магнитомицелл в первые часы после введения, что подтверждается ранним появлением в них Перлс-позитивных гранул. При инъекции магнитомицелл Перлс-позитивные нефроциты фиксировались на более поздних сроках, чем после введения немодифицированных покрытых углеродом наночастиц железа, что говорит о том, что модификация наночастиц DSPE-PEG-2000 потенцирует их выведение из организма путем канальцевой экскреции [207].

Большое значение для фармакодинамики и фармакокинетики наноматериала играет молекулярная масса, а также структура DSPE-PEG. Молекулярная масса сополимера, который мы использовали для образования мицелл составляла 2000 Да. DSPE-PEG с такой молекулярной массой наиболее часто применяется в биомедицине, так как обладает выраженными положительными свойствами, описанными ранее [157, 357].

Дистрофические и некротические изменения нефроцитов проксимальных и дистальных извитых канальцев, могут свидетельствовать об их активном участии в выведении наночастиц из почек крыс путем секреции в просвет канальца. Следует также отметить, что при однократном введении покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе в дозах 6 и 60 мг(Fe)/кг_(массы тела), а также после многократного их введения в почках крыс доминировали клетки 3-го класса.

Полученные результаты свидетельствуют о достаточно медленной кинетике выведения наноматериала из почек крыс с участием системы МНФ. Большинство Перлс-позитивных клеток наблюдали в корковом веществе почки, это дает основание предполагать, что основные процессы связанные с выведением наноматериала происходят именно в этой области паренхимы [157, 357].

В почках крыс после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг_(массы тела) Перлс-положительной реакции не выявляли после 21 суток, а в группе с однократным введением магнитомицелл на их основе в аналогичной дозировке - после 40 суток. Полученные результаты можно объяснить

тем, что в соответствующие сроки основное количество наноматериала уже выведено, о чем свидетельствует схожая картина в других исследованных органах.

Более длительное присутствие Перлс-положительных макрофагов в почках крыс после введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа можно объяснить высокой гидрофильностью магнитомицелл, позволяющей им дольше циркулировать в кровеносном русле. Несмотря на многократное введение покрытых углеродом наноразмерных частиц железа и магнитомицелл на их основе в почках крыс выявляли незначительное количество Перлс-позитивных клеток по сравнению с печенью и легкими крыс, что, по-видимому, связано со слабым развитием системы МНФ и участием почек в выведении наноматериала иными механизмами (фильтрация и канальцевая секреция) [157].

Селезенка крыс имеет развитую систему МНФ, которая позволяет ей участвовать в поглощении и выведении покрытых углеродом наноразмерных частиц железа и магнитомицелл на их основе. Данный факт подтверждается высоким содержанием Перлс-положительных клеток в органе. Следует отметить, что селезенка активно участвует в метаболизме эндогенного железа, что оказывает влияние на выраженность в ней реакции Перлса и объясняет наличие в органе Перлс-положительных клеток интактных крыс. Захватывая и кумулируя крупные агрегаты покрытых углеродом наноразмерных частиц железа, макрофаги селезенки обеспечивают системный защитный эффект, предотвращая повреждения циркулирующими наночастицами других органов [315].

В селезенке животных с однократным введением покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе наблюдали слабовыраженные нарушения дисциркуляторного характера без признаков повреждения паренхимы, которые нормализовались к 40 суткам при дозе наноматериала $60 \text{ мг(Fe)/кг}_{(\text{массы тела})}$, а также на 14 сутки при дозе $6 \text{ мг(Fe)/кг}_{(\text{массы тела})}$.

Выраженных структурных изменений в селезенке при многократном введении покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе не наблюдали в течение всего эксперимента [43]. По аналогии с селезенкой крыс после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа и

магнитомицелл на их основе, в группах с многократным введением выявляли слабовыраженные гемодинамические изменения. Однако, несмотря на дополнительное введение наноматериала отмечали нормализацию данного органа, что указывает на развитие адаптативно-приспособительных механизмов в данном органе.

В сердце крыс после однократной и многократной инъекции покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе наблюдали незначительные морфологические изменения, что наряду с отрицательной реакцией Перлса указывает на низкую степень его участия в фармакокинетике наноматериала [43].

При многократном введении покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе в сердце наблюдали изменения аналогичные тем, который фиксировались после однократного введения. Однако, в результате регулярного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе и возрастанию суммарной дозы железа в группах с многократным введением морфологические изменения в сердце крыс этих групп сохранялись на протяжении всего срока исследования.

Очевидно, сроки полного выведения покрытых углеродом наночастиц и магнитомицелл на их основе зависят от дозы введенного наноматериала. Однако, полученные данные свидетельствуют о том, что исследуемые наночастицы склонны к накоплению в органах с развитой системой МНФ, а их наличие даже в отдаленные сроки эксперимента свидетельствует о достаточно медленной их элиминации [17, 25, 41, 101, 108, 149, 151, 157, 211, 216, 227, 252, 271, 308, 331, 335, 344, 357].

Следует отметить, что погружение покрытых углеродом наночастиц железа в магнитомицеллу снижает их склонность к фагоцитозу и накоплению в МНФ, тем самым, продлевая время их выведения из организма. Интенсивность и механизмы элиминации магнитомицелл зависят от размера частиц, их строения и молекулярной массы DSPE-PEG-2000, а также от степени разветвленности молекул ПЭГ в их структуре. С увеличением длины цепи и степени разветвленности

полимера увеличивается стабильность суспензии и период полувыведения наночастиц [116, 249, 307].

Аналогичность морфологических изменений в изученных органах свидетельствует о том, что они вызваны покрытыми углеродом наноразмерными частицами железа. Таким образом, однократное и многократное введение покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе приводит к сходным морфологическим изменениям в исследуемых органах. Характер обнаруженных изменений, а также развитие адаптационно-приспособительных реакций указывает на потенциальную возможность использования модифицированных наночастиц железа в биологии и медицине и, тем самым открывает широкие перспективы для создания новых терапевтических и диагностических средств. Поверхностная модификация снижает отрицательные биологические эффекты присущие немодифицированным наночастицам, за счет экранирования каталитически активной поверхности и повышения седиментационной устойчивости наносуспензии [78, 238, 278, 317, 322].

В печени и легких крыс были обнаружены клетки по морфологии соответствующие МНФ, которые содержали зернистый электронноплотный материал. Присутствие подобного гранулярного материала высокой электронной плотности в везикулах, по ультраструктурным признакам соответствующим органеллам внутриклеточного переваривания, при отсутствии подобного материала в клетках крыс интактной группы указывает на то, что данный электронноплотный материал - агломераты наночастиц железа, покрытых углеродом. Обращает на себя внимание, что МНФ содержали везикулы двух типов: крупные, с субплазмолеммальной локализацией и преимущественным расположением наноматериала по периферии органеллы, а также мелкие, лежащие в более глубоких отделах цитоплазмы, электронноплотный материал в которых диффузно занимал весь объем везикулы. Следует отметить, что даже в одни и те же сроки выявляли клетки содержащие различное количество наноматериала, а также разное соотношение количества везикул того или иного вида. Отмечали тенденцию к увеличению количества лизосом в более поздние сроки исследования,

при снижении такового фагосом. Снижение содержания покрытых углеродом наночастиц железа в МНФ указывает на существование механизмов элиминации и/или метаболизирования захваченного наноматериала [303, 364].

Ультраструктурное исследование печени крыс после однократного (6 и 60 мг(Fe)/кг_(массы тела)) и многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе продемонстрировало отсутствие наночастиц в просвете синусоидов, что характеризует быстрый захват наноматериала клетками Купфера и снижение содержания наночастиц в кровеносном русле.

Выявленные нами электронноплотные гранулы в клетках Купфера окружены биологической мембраной, что говорит о проникновении наночастиц в клетку механизмом фагоцитоза с формированием фагосом. По-видимому наиболее склонны к фагоцитозу самые крупные агрегаты наночастиц, которые образуются в результате потери коллоидной устойчивости последних. Также эндоцитозу способствуют определенные виды поверхностной модификации в результате которой на наночастицы наносятся специализированные линкеры, способствующие фагоцитозу наноматериала теми, или иными клетками [25, 58].

Варьирование количества наноматериала в везикулах и количества наноматериала в звездчатых макрофагах хорошо согласуется с гистохимическими данными - выраженностью реакции Перлса в клетках Купфера. Данный факт подтверждает справедливость разделения Перлс-положительных клеток на 3 класса. Следует отметить, что количество электронноплотных гранул в цитоплазме зависело от дозы введенного наноматериала [13, 42, 43].

Через 1 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг_(массы тела) в клетках Купфера выявляли умеренное количество фагосом. Электронноплотный материал в фагосомах располагался преимущественно субплазмолеммально, что указывает на рецептор-опосредованное поглощение покрытых углеродом наночастиц железа. В цитоплазме клеток Купфера также выделяли везикулы с умеренным количеством материала высокой электронной плотности, который располагался в их полости диффузно. Также фиксировали единичные везикулы целиком заполненные

наноматериалом. Данный факт указывает на интенсивное поглощение наноматериала из системной циркуляции в первые часы после его введения. В цитоплазме клеток Купфера электронноплотного материала без биологической мембраны не обнаружено [84].

Увеличение дозы введенного наноматериала до $60 \text{ мг(Fe)/кг}_{(\text{массы тела})}$ приводило к визуальному увеличению количества фагосом и везикул, содержащих материал высокой электронной плотности в клетках Купфера, что указывает на увеличение фагоцитарной активности этих клеток с ростом дозы наноматериала. Это согласуется с гистохимическими данными - при увеличении дозы наноматериала увеличивалось число Перлс-положительных клеток 1-го класса. Электронноплотного материала в просвете синусоидов не выявляли, ультраструктурных признаков повреждения описанных клеток печени не было. По-видимому повышение содержания покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе повышает вероятность потери агрегационной и седиментационной устойчивости дисперсии, что приводит к образованию большого количества крупных агломератов и способствует более активному фагоцитозу [1, 13, 57, 177].

При однократном введении магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 и $60 \text{ мг(Fe)/кг}_{(\text{массы тела})}$ на 1 сутки в печени крыс наблюдали картину аналогичную описанной выше при однократном введении покрытых углеродом наночастиц железа в соответствующих дозировках. В клетках Купфера выявляли фагосомы и везикулы с электронноплотным материалом в их просвете. Однако, визуально число фагосом и везикул было меньше, чем в группах после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в тех же концентрациях.

Более того, в печени крыс с однократным введением магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа в дозах 6 и $60 \text{ мг(Fe)/кг}_{(\text{массы тела})}$ фагосомы и везикулы визуально содержали меньшее количество наноматериала по сравнению группами после введения немодифицированных покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичных дозировках. Такие поверхностные

модификаторы как полиэтиленоксид и ПЭГ придают гидрофильные свойства и отрицательный заряд наночастицам, что в свою очередь снижает интенсивность опсонизации наноматериала белками и их фагоцитоз. DSPE-PEG-2000 является сополимером амфифильных молекул. При формировании магнитомицелл гидрофобные наночастицы помещаются в ядро из DSPE, в то время как цепи ПЭГ обеспечивают гидрофильность полученной наноструктуры [116, 249, 307].

Таким образом, магнитомицеллы дольше находятся в кровеносном русле, а количество электронноплотного материала в клетках Купфера на 1 сутки после однократного введения магнитомицелл меньше, чем в печени крыс после однократной инъекции покрытых углеродом наночастиц железа. Признаков ультраструктурного повреждения клеток Купфера и гепатоцитов обнаружено не было [84].

К 40 суткам в печени крыс после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозах 6 и 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) не наблюдали присутствия наноматериала в просвете синусоидных капилляров и его адсорбции на форменных элементах крови. В клетках Купфера выявляли везикулы, содержащие электронноплотный материал, число таких везикул и количество наноматериала представлялось меньшим, чем на 1 сутки. Визуально количество наноматериала в печени крыс после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) группы было больше, чем у животных с дозой 6 мг(Fe)/кг_(массы тела), что объясняется более продолжительным периодом выведения наноматериала.

Более того, отсутствие фагосом, содержащих покрытые углеродом наночастицы, указывает на то, что процессы поглощения наноматериала из циркуляции уже завершены [84].

Ультраструктура гепатоцитов крыс соответствует норме, что говорит об отсутствии выраженного повреждающего действия наночастиц на эти клетки. Следует отметить, что при однократном введении покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг_(массы тела) на 120 сутки отмечали наличие наноматериала в полости везикул звездчатых макрофагов, это указывает на низкую скорость его

выведения/преобразования и склонность к накоплению в печени крыс. Гистохимическое исследование не показало наличие Перлс-положительных клеток на данном этапе исследования, что объясняется низким содержанием наноматериала и клетках Купфера [13, 42, 43].

При однократном введении магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа на 40 сутки выявляли фагосомы и везикулы, в полости которых содержался электронноплотный материал. Визуально число таких везикул при дозе магнитомицелл 6 и 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) было больше, чем в соответствующих группах после введения покрытых углеродом наночастиц железа. Данный факт объясняется меньшей склонностью магнитомицелл к фагоцитозу и накоплению в макрофагах, в результате чего к 40 суткам в организме крыс после однократного введения магнитомицелл в дозах 6 и 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) содержится большее количество наноматериала, чем у крыс после инъекции покрытых углеродом наночастиц железа [116, 249, 307]. На 120 сутки эксперимента в звездчатых макрофагах также выявляли наноматериал в полости везикул, однако их число превышало таковое у крыс после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг_(массы тела).

На 7 сутки после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе структурных изменений клеток Купфера и гепатоцитов обнаружено не было. В цитоплазме клеток Купфера выявляли фагосомы, содержащие электронноплотные гранулы, содержащие, главным образом, большое количество наноматериала. Количество фагосом в клетках Купфера визуально выше, чем после однократного введения магнитомицелл, что указывает на более интенсивные процессы их поглощения связанные с повышением дозы. Количество клеток Купфера, содержащих, переполненные электронноплотным материалом фагосомы, у крыс с многократным введением покрытых углеродом наночастиц железа визуально превышало таковое у животных после многократных инъекций магнитомицелл.

К 40 суткам в клетках Купфера крыс после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе наблюдали

визуальное повышение количества фагосом и везикул, содержащих электронноплотный материал. Различий в количестве фагосом и везикул, а также содержание наноматериала в их полости у звездчатых макрофагов крыс после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл визуально не наблюдали. Данный факт можно объяснить высокой суммарной дозой наноматериала, а также ограниченной способностью клеток Купфера к фагоцитозу.

Отсутствие подобного электронноплотного материала в гепатоцитах может быть объяснено выраженным защитным эффектом, который обеспечивается МНФ. Более того МНФ по-видимому обладают рецепторами к исследуемому наноматериалу, что обуславливает его эффективный фагоцитоз. Клетки, на плазмолемме которых специализированные рецепторы отсутствуют не способны, фагоцитировать наночастицы. Также следует учитывать, что крупные агрегаты наночастиц не способны проникать через щели в синусоидных капилляров печени, остаются в кровеносном русле и поглощаются МНФ [303, 364].

В легких крыс после однократного и многократно введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе ультраструктурных признаков повреждения пневмоцитов, клеток системы МНФ, а также аэро-гематического барьера не выявили. Были обнаружены клетки по морфологии и локализации соответствующие интерстициальным и альвеолярным макрофагам, содержащие фагосомы и везикулы с электронноплотным материалом. В цитоплазме пневмоцитов I и II типов присутствия наноматериала обнаружено не было. В сосудах микроциркуляторного русла, а также в просвете альвеол, бронхиол и бронхов свободного наноматериала не обнаружили, что может указывать на достаточно быстрые процессы захвата покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл, их низкое содержание в крови, а также невозможность их проникновения через аэро-гематический барьер, минуя МНФ [84].

Отсутствие наноматериала в клетках паренхимы легких по-видимому можно объяснить протективным эффектом МНФ и неспособностью пневмоцитов и клеток бронхиального эпителия к фагоцитозу наноматериала. Тем не менее в работе [305]

накопление наночастиц магнетита было продемонстрировано в эндотелиоцитах и клетках респираторного эпителия.

На 1 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе $6 \text{ мг(Fe)/кг}_{(\text{массы тела})}$, выявляли МНФ с умеренным количеством фагосом, заполненных зернистым электронноплотным материалом. Количество фагосом, а также содержание наноматериала в них варьировало, что хорошо согласуется с данными, полученными с помощью гистохимической реакции Перлса, и иллюстрирует клетки, находящиеся на разных стадиях накопления наноматериала [13, 42, 43].

При дозе наночастиц $60 \text{ мг(Fe)/кг}_{(\text{массы тела})}$ наблюдали схожую картину, однако, количество фагосом и везикул в альвеолярных и интерстициальных макрофагах представлялось значительно выше, чем таковое при дозе $6 \text{ мг(Fe)/кг}_{(\text{массы тела})}$. Количество клеток содержащих электронноплотный материал также превышало таковое в легких крыс после однократного введения немодифицированных покрытых углеродом наночастиц железа в дозе $6 \text{ мг(Fe)/кг}_{(\text{массы тела})}$. Большинство везикул обнаруженных в цитоплазме МНФ легких через 1 сутки после инъекции покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 и $60 \text{ мг(Fe)/кг}_{(\text{массы тела})}$ были максимально заполнены электронноплотным материалом. Полученные результаты подтверждают, что также как и в печени, процессы поглощения наноматериала особенно интенсивно протекают в первые часы после его введения. Наноматериал в фагосомах имел преимущественно субплазмолеммальное расположение, что указывает на рецептор-опосредованный фагоцитоз.

При многократном введении покрытых углеродом наночастиц железа в легких крыс также наблюдали наличие МНФ, содержащих электронноплотный материал. На 7 сутки количество фагосом и везикул, содержащих наночастицы, визуально превышало таковое после однократного введения, что иллюстрирует зависимость количества фаголизосом и везикул от суммарной дозы введенного наноматериала. С увеличением срока эксперимента снижения количества наноматериала в клетках не происходило, что объясняется постоянным введением наночастиц в организм крыс, а также низкой скоростью выведения наноматериала из легких животных.

Однократное и многократное введение магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа приводило к картине, которую мы наблюдали при введении немодифицированных покрытых углеродом наночастиц железа. На начальных этапах эксперимента электронноплотный материал располагался в фагосомах и везикулах МНФ, однако, визуально их количество, а также содержание наноматериала в них было меньше, чем в легких животных после однократного и многократного введения немодифицированных покрытых углеродом наночастиц железа.

На 40 сутки исследования фиксировали обратную картину. Данное наблюдение объясняется наличием в составе магнитомицелл DSPE-PEG-2000, который позволяет им дольше находиться в кровеносном русле и избегать захвата клетками системы МНФ. Модификация покрытых углеродом наночастиц железа приводит к тому, что в отдаленные сроки в организме содержится большее количество наноматериала, чем при использовании немодифицированных наночастиц железа [111, 260, 365].

Наблюдаемая динамика содержания электронноплотного материала в везикулах, количества, а также соотношение типов везикул, может свидетельствовать не только об активных процессах элиминации наноматериала различными механизмами, но и об вероятных процессах метаболизирования покрытых углеродом наночастиц железа. К примеру в работе [184] продемонстрировано метаболизирование наноразмерного магнетита в лизосомах клеток Купфера. В условиях низкого рН наномагнетит способен переходить в ионную форму после чего включается в процессы метаболизма железа.

Изменение структуры эритроцита может негативно сказаться на выполнении широкого диапазона их функций. Помимо транспорта газов функции эритроциты участвуют в процессах тромбообразования, иммунных реакциях, транспортировке биологически активных веществ, таких как гормоны и медиаторы, переносе липидов, аминокислот, белков, лекарственных веществ, регуляции кислотно-основного состояния и водно-электролитного обмена.

В работе [261] показаны гемолиз, паталогическая седиментация и гемаглютинация эритроцитов при взаимодействии с наночастицами диоксида титана. Продемонстрировано снижение количества эритроцитов после внутрижелудочного введения суспензий лепидокрокита и маггемита в концентрации 100 мг/мл. Также авторы выявили изменение упругости и проницаемости плазмолеммы эритроцитов [56]. В тоже время в работе [74] продемонстрировано увеличение количества эритроцитов, а также увеличение объема и содержания гемоглобина в них после внутримышечного введения наночастиц меди и железа. Авторы работы [97] продемонстрировали, что наночастицы серебра размером 3 нм в концентрации 10 мг/мл вызывают 6% гемолиз.

Через 1 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 и 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) наблюдали повышение количества паталогических форм эритроцитов в крови крыс по сравнению с животными интактной группы. Нормализация количества паталогических форм эритроцитов у крыс этих групп наступала на 21 сутки. Однако, на 1, 7 и 14 сутки эксперимента количество паталогических форм эритроцитов у животных с однократным введением покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) превышало таковое у крыс после введения этих наночастиц в дозе 6 мг(Fe)/кг_(массы тела). Повышение дозы введенного наноматериала происходило за счет увеличения его концентрации в суспензии, что приводило к снижению коллоидной устойчивости последней и образованию крупных агломератов наночастиц, которые возможно обладают более выраженными повреждающими свойствами. Имеются данные, что подобный эффект не зависит от дозы наноматериала, а обусловлен особенностями кристаллической решетки наночастиц [187].

Однократное введение магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа приводило к схожим результатам. Следует отметить, что количество паталогических форм эритроцитов у животных с инъекцией покрытых углеродом наночастиц железа превышало таковое у животных после введения магнитомицелл в аналогичных дозировках. Нельзя исключать и потенциальное

действие исследуемых наноконструкций на систему кроветворения. Помимо печени и селезенки наибольшее количество наночастиц различной природы накапливаются в красном костном мозге [18, 308]. Хлусов и соавт. продемонстрировали возможность влияния магнитных наночастиц магнетита, смеси гематита с магнетитом и кобальтового феррита на кроветворные стволовые клетки *in vitro* [85]. В работе [24] показано влияние перорального введения наночастиц золота на состояние красного костного мозга и крови крыс. Авторы продемонстрировали увеличение в красном костном мозге количества базофильных и полихроматофильных нормоцитов, что указывает на стимулирование эритроидного ростка. Также было показано снижение количества эритроцитов в периферической крови и снижение их объема. Активация стволовых клеток красного костного мозга может быть следствием как снижения количества эритроцитов в периферической крови, так и влиянием наноразмерных частиц на стволовые кроветворные клетки. В тоже время показано отсутствие мутагенного влияния наночастиц золота на клетки гранулоцитарного и моноцитарного ростков. По-видимому повышение патологических форм эритроцитов в периферической крови крыс обусловлено именно прямым или опосредованным влиянием покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе.

Многokратное введение покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе также как и однократное введение изучаемых наноконструкций привело к повышению количества патологических форм эритроцитов. Обращает внимание, что при многократном введении магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа количество деформированных эритроцитов было ниже по сравнению с кровью животных после многократного введения покрытых углеродом. Нормализация количества патологических форм эритроцитов не наступало в течение 40 суток, что связано с постоянным повышением суммарной дозы наноматериала. При поверхностной модификации наночастиц полимером необходимо учитывать его массу, степень разветвленности и заряд, который он придает наночастицам. Так покрытые хитозаном наночастицы обладают положительным зарядом, что приводит к сорбции на поверхности

эритроцитов как самих наночастиц, так и биологических молекул (альбумин, фибриноген) [128]. Хитозан с высокой молекулярной массой вызывает коагуляцию эритроцитов и тромбоцитов, тромбоцитарную адгезию и агрегацию [12, 105, 300]. Менее выраженные структурные изменения эритроцитов после однократного и многократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа по-видимому обусловлены модификацией последних молекулами DSPE-PEG-2000. Степень воздействия на морфологию эритроцитов в значительной степени зависит от молекулярной массы и степени разветвленности цепочек ПЭГ во внешнем слое магнитомицелл. Высокая степень разветвленности значительно снижает иммуногенность наночастиц, и степень повреждения эритроцитов в кровеносном русле [51].

Гистологическое и гистохимическое исследование в совокупности с МРТ и трансмиссионной электронной микроскопией выявили присутствие покрытых углеродом наноразмерных частиц железа и магнитомицелл на их основе в печени, легких, почках и селезенке после однократного и многократного введения. Для выявления функциональных изменений внутренних органов, обусловленных воздействием изучаемых наноконструкций был проведен комплекс гистоэнзимологических (определение внутриклеточной активности СДГ, ЛДГ, ЩФ и ГБДГ) и биохимических (определение в плазме крови активности АСТ, АЛТ, ЛДГ, ЩФ, КФК, КФК-МВ, γ -ГТ, ГБДГ и концентрации общего белка, глюкозы, мочевины, креатинина, общего и конъюгированного билирубина в плазме крови) исследований [26, 27].

Количественная оценка внутриклеточной активности ферментов дает достоверную информацию необходимую для характеристики метаболизма клеток. Исследование ферментов ключевых метаболических путей, а также метаболитов дает возможность судить о функциональном состоянии тех, или иных клеток и тканей [87].

Сукцинатдегидрогеназа (СДГ) является ферментом цикла трикарбоновых кислот, отражающий интенсивность аэробного окисления в клетке. Передача водорода при это происходит без использования НАД и, вследствие чего, является

более конкурентоспособным по отношению к терминальным участкам дыхательной цепи. Таким образом, активность СДГ, позволяет производить оценку функционального состояния митохондрий [46].

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) – ключевой фермент молочно-кислого брожения, который катализирует превращение пирувата в лактат путем его восстановления. Количественная оценка активности ЛДГ характеризует состояние анаэробных процессов в клетке [59].

3-гидроксибутиратдегидрогеназа (ГБДГ) является ферментом, который локализуется в митохондриях и отражает интенсивность β -окисления жирных кислот, а также некоторых 3-гидроксимонокарбоновых кислот. ГБДГ является изоформой ЛДГ (ЛДГ-1) и катализирует реакцию дегидрирования лактата. Таким образом по активности данного фермента также можно характеризовать интенсивность анаэробных процессов. Наиболее высокая активность ГБДГ в печени, сердце, почках и других органах, где происходит активное окисление жирных кислот [46, 59].

Щелочная фосфатаза (ЩФ) катализирует расщепление эфиров ортофосфорной кислоты в щелочной среде. Располагается на плазмолемме клеток, которые участвуют в процессах активного транспорта (энтероциты, нефроциты проксимальных извитых канальцев) [27, 38, 211].

По данным литературы, а также результатам полученным с помощью МРТ, гистохимического и ультраструктурного исследований указывают на активное участие печени в фармакокинетике изучаемых наноконструкций. В гепатоцитах крыс после однократного и многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе выявили снижение активности СДГ, ГБДГ и ЩФ.

Снижение активности СДГ и ГБДГ указывает на смещение энергетического метаболизма в сторону анаэробных процессов, что также подтверждается увеличением активности ЛДГ [17, 308]. В печени крыс после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе в дозе 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) выявили более существенное изменение активности

ферментов, чем у крыс после инъекции наночастиц в дозе $6 \text{ мг(Fe)/кг}_{(\text{массы тела})}$. Данный факт объясняется более высокой дозой наноматериала и, соответственно, его более выраженным влиянием на состояние гепатоцитов крыс. Более того, нормализация активности ферментов у животных после введения изучаемых наноконструкций в дозе $6 \text{ мг(Fe)/кг}_{(\text{массы тела})}$ происходила в более ранние сроки эксперимента. Повышение концентрации наноматериала в суспензии приводило к снижению его седиментационной и агрегационной устойчивости, что подтверждается более низкими значениями ζ -потенциала. Снижение коллоидной устойчивости способствует образованию более крупных агломератов наноконструкций в результате чего это повышает интенсивность их захвата МНФ главным образом печени и селезенки. По-видимому повышение дозы наноматериала увеличивает вероятность эмболии сосудов микроциркуляторного русла и в условиях гипоксии, что отражается в более выраженных изменениях активности внутриклеточных ферментов. Также необходимо учитывать и другие механизмы повреждающего действия наноматериала [16].

Таким образом, нормализация активности СДГ у животных после введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе $6 \text{ мг(Fe)/кг}_{(\text{массы тела})}$ происходила к 40 суткам, в то время как после однократной инъекции в дозе $60 \text{ мг(Fe)/кг}_{(\text{массы тела})}$ не наблюдалась в течение эксперимента. Активность ГБДГ гепатоцитов крыс после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе $6 \text{ мг(Fe)/кг}_{(\text{массы тела})}$ на 40 сутки не отличалась от активности данного фермента у крыс интактной группы исследования, а в дозе $60 \text{ мг(Fe)/кг}_{(\text{массы тела})}$ активность данного фермента в течение всего срока эксперимента не достигала нормальных значений. Активность ЩФ гепатоцитов крыс с дозой введенных наночастиц $6 \text{ мг(Fe)/кг}_{(\text{массы тела})}$ не отличалась от таковой животных интактной группы на 40 сутки, в то время как при дозе $60 \text{ мг(Fe)/кг}_{(\text{массы тела})}$ активность была снижена на протяжении всего эксперимента.

ЩФ – трансмембранный белок, локализующийся, в большей степени, на билиарной поверхности плазмолеммы гепатоцитов. Снижение активности ЩФ может быть обусловлено повреждением гепатоцитов в результате реализации

комплекса повреждающих эффектов изучаемых наноконструкций. В результате нарушения структуры печеночных клеток происходит снижение их функциональной активности, в том числе интенсивности трансмембранного транспорта, что иллюстрируется снижением активности ЩФ [27, 38, 211].

При введении магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичных дозировках, также наблюдали снижение активности СДГ, ЩФ и ГБДГ с 1 суток эксперимента. Однако, изменения активности ферментов были менее выражены, чем у животных после однократного введения немодифицированных покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичных дозировках. По причине большей гидрофильности, меньшей склонности к опсонизации биологическими молекулами и, как следствие, более высокой коллоидной устойчивости магнитомицелл явления эмболии сосудов микроциркуляторно русла крупными агрегатами наноматериала, эндотелиальной дисфункции и тромбообразования либо полностью нивелируются, либо в значительной степени снижаются. Более того, необходимо учитывать экранирующий эффект магнитомицелл, снижающий интенсивность протекания свободно-радикальных реакций, который вносят значительный вклад в токсичность наночастиц [87, 116, 249, 307].

Нормализация активности СДГ происходила к 40 суткам у крыс после однократной инъекции магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа в дозах 6 и 60 мг(Fe)/кг_(массы тела), а активности ГБДГ и ЩФ наступала на 40 сутки при дозе 6 мг(Fe)/кг_(массы тела), в то время как при дозе 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) она не приходила в норму.

При многократном введении немодифицированных покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе также выявляли снижение активности перечисленных выше ферментов с 7 по 40 сутки исследования. Активность изученных ферментов в гепатоцитах крыс не достигала показателей животных интактной группы, что объясняется высокой суммарной дозой введенного наноматериала. Как и в случае однократного введения изменение активности СДГ, ГБДГ и ЩФ в гепатоцитах крыс после многократного введения

магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа было менее выражено в соответствующие сроки, чем у животных с многократным введением покрытых углеродом наночастиц [43].

Повышение внутриклеточной активности ЛДГ в гепатоцитах экспериментальных животных подтверждает смещение энергетического метаболизма в сторону анаэробных процессов. На 1 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 и 60 мг(Fe)/кг_(массы тела), наблюдали повышение активности ЛДГ в гепатоцитах крыс. Активности фермента при дозе наноматериала 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) была выше, чем при дозе 6 мг(Fe)/кг_(массы тела). Более того, при дозе 6 мг(Fe)/кг_(массы тела) возвращение активности ЛДГ к референтным значениям происходило на 40 сутки исследования, а в группе с дозой наноматериала 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) нормализации активности не наблюдали в течение 40 суток, что подтверждает суждение о том, что с повышением дозы наноматериала повышается выраженность наблюдаемых изменений [16].

Введение магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа продемонстрировало схожую динамику изменения активности этого фермента. Однако, повышение активности ЛДГ в группах животных после введения магнитомицелл носило менее выраженный характер, чем у крыс после однократного введения немодифицированных покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичных дозировках. Восстановление активности ЛДГ после введения магнитомицелл в дозе 6 и 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) происходило к 40 суткам эксперимента.

Многократное введение покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе приводило к повышению активности ЛДГ с 7 по 40 сутки исследования. Нормализации активности фермента не происходило в обеих группах в течение эксперимента, что связано с более высокой дозой наноматериала, чем после однократного введения. В тоже время, в гепатоцитах экспериментальных животных после многократного введения немодифицированных покрытых углеродом наночастиц железа наблюдали более

выраженное повышение активности ЛДГ, чем у крыс после многократного введения магнитомицелл на основе этих наночастиц [43].

Отрицательная реакция Перлса продемонстрировала достаточно низкую степень участия сердца в фармакокинетике изучаемых наноконструкций. Выявленные морфологические изменения, были представлены нарушениями исключительно дисциркуляторного характера. По-видимому гемодинамические изменения были обусловлены эмболией сосудов микроциркуляторного русла крупными агрегатами наноматериала, а также тромбообразованием, что создает предпосылки к ишемическому поражению данного органа [13, 42, 43].

Через 1 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозе $6 \text{ мг(Fe)/кг}_{\text{(массы тела)}}$ в кардиомиоцитах крыс выявляли повышение активности СДГ на 1 сутки с ее восстановлением к 14 суткам. У крыс после инъекции покрытых углеродом наночастиц железа в дозе $60 \text{ мг(Fe)/кг}_{\text{(массы тела)}}$ также отмечали повышение активности этого фермента в кардиомиоцитах с 1 по 40 сутки исследования. Следует отметить более выраженные изменения активности СДГ у крыс с дозой $60 \text{ мг(Fe)/кг}_{\text{(массы тела)}}$, чем у животных с дозой $6 \text{ мг(Fe)/кг}_{\text{(массы тела)}}$. При аналогичном введении магнитомицелл фиксировали схожую динамику активности данного фермента, однако изменения носили менее выраженный характер. Однократное введение магнитомицелл в дозе $60 \text{ мг(Fe)/кг}_{\text{(массы тела)}}$ приводило к более выраженному повышению активности СДГ в сердечных миоцитах, чем при дозе $6 \text{ мг(Fe)/кг}_{\text{(массы тела)}}$, а нормализация параметра наступала к 40 суткам [16].

Нормализация активности фермента в клетках, вероятно, связана с элиминацией основного количества наноматериала из организма. Следует отметить, что данные изменения происходят даже при низкой дозе покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе ($6 \text{ мг(Fe)/кг}_{\text{(массы тела)}}$), что указывает на высокую чувствительность кардиомиоцитов к ишемии и объясняет механизм адаптивных процессов.

Многократное введение покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе также приводило к повышению активности СДГ с 1

по 40 сутки исследования. Выраженность наблюдаемых изменений активности фермента в кардиомиоцитах после многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа была больше, чем у крыс после инъекции магнитомицелл.

Нормализации активности СДГ при многократном введении исследуемых наноконструкций не происходит, что указывает на недостаточные компенсаторно-приспособительные возможности кардиомиоцитов в условиях постоянного поступления наноматериала [43].

Однократное введение магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа, приводило к снижению активности ЛДГ в кардиомиоцитах крыс. Выявленные изменения в кардиомиоцитах были менее выражены, чем после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичных дозах. Нормализация активности этого фермента в кардиомиоцитах крыс после инъекции магнитомицелл в дозе 6 мг(Fe)/кг_(массы тела) происходила на 7 сутки, а в дозе 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) - на 14 сутки исследования [16].

При многократном введении покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе наблюдали снижение активности ЛДГ с 1 по 40 сутки эксперимента. В случае с многократным введением магнитомицелл выраженность наблюдаемых изменений была меньше, чем после инъекции немодифицированных покрытых углеродом наночастиц железа.

Повышение активности СДГ, при снижении активности ЛДГ указывает на смещение энергетического метаболизма кардиомиоцитов в сторону аэробного окисления и, следовательно, более эффективного использования субстратов окисления. Подобные явления могут быть объяснены ишемией кардиомиоцитов, которая развивается в результате эмболии сосудов микроциркуляторного русла агрегатами железосодержащих частиц, эндотелиальной дисфункцией и тромбозом. В сложившихся условиях кардиомиоциты более активно используют кислород, чем и объясняется повышение активности сукцинатдегидрогеназы. Длительное функционирование кардиомиоцитов в условиях недостаточного количества кислорода практически невозможно, так как ряд энергетических субстратов окисляется в клетках миокарда только аэробно, например, жирные

кислоты. В гепатоцитах существуют метаболические механизмы, такие как пентозофосфатный путь и гликолиз, которые дают возможность синтезировать аденозинтрифосфорную кислоту (АТФ) в анаэробных условиях, чем и объясняются изменения активности данных ферментов в гепатоцитах крыс [26, 27].

По данным литературы почки активно участвуют в элиминации наноматериала из организма путем фильтрации и канальцевой секреции. Согласно результатам полученным с помощью гистохимического исследования нефроциты проксимальных извитых канальцев задействованы в эвакуации изучаемых наноконструкций и осуществляют данную задачу путем транцитоза наноматериала в просвет канальца. Канальцевая секреция – активный процесс, требующий для его реализации АТФ. Повышение расхода АТФ приводит к активации цикла трикарбоновых кислот в клетке и интенсификации аэробного окисления, которое проявляется повышением активности сукцинатдегидрогеназы. Кроме того, усиление фильтрации и канальцевой секреции должно привести к повышению активности канальцевой реабсорбции, что должно сопровождаться повышением активности ЩФ. Выявленные гистоэнзимологические изменения подтверждают активное участие почек крыс в процессах выведения наноразмерных частиц из организма крыс [73, 150].

В эпителиоцитах проксимальных извитых канальцев почек крыс после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа выявили повышение активности СДГ и ЩФ на 1 сутки эксперимента. При дозе 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) наблюдаемые изменения были более выражены, чем после введения наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг_(массы тела). Нормализация активности СДГ и ЩФ в эпителиоцитах проксимальных извитых канальцев крыс при дозе 6 мг(Fe)/кг_(массы тела) наступала на 40 сутки, а при дозе - 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) не наступала в течение эксперимента. Однократное введение магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа привело к схожим результатам, однако, выявленные изменения активности СДГ были более выражены, чем у животных с введением немодифицированных покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичных дозах [16].

Высокая гидрофильность магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц стимулирует их выведение из организма почками. Кроме того, для эффективной элиминации наноматериала путем клубочковой фильтрации, помимо высокой гидрофильности, наночастицы должны обладать диаметром не превышающим 60 нм, что соответствует размеру щелей между отростками подоцитов. Согласно данным полученным с помощью динамического светорассеяния размер большинства агломератов/наночастиц железа покрытых углеродом и магнитомицелл на их основе в суспензиях с концентрацией 5,4 мг(Fe)/мл составляет 87 нм и 86 нм, соответственно. Это дает повод предположить, что наиболее активно почки элиминируют исследуемый наноматериал путем канальцевой секреции. Тем не менее особенностью динамического светорассеяния является измерение диаметра частиц, учитывая их гидродинамический радиус, что может означать, что реальные размеры изучаемых наноконструкций меньше [157, 357].

Многokратное введение покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе также привело к повышению активности СДГ и ЩФ. Однако, их выраженность носила более выраженный характер, а нормализации активности данных ферментов в силу постоянного введения дополнительной дозы наноматериала не наблюдали [43].

Через 1 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа наблюдали снижение активности ЛДГ и ГБДГ в нефроцитах проксимальных извитых канальцев крыс. Выраженность наблюдаемых изменений при дозе 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) была выше, чем у животных с дозой 6 мг(Fe)/кг_(массы тела). Нормализация активности ЛДГ происходила на 40 сутки эксперимента при однократном введении покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 мг(Fe)/кг_(массы тела) и не наступала в течение 40 суток у животных с инъекцией в дозе 60 мг(Fe)/кг_(массы тела). Активность ГБДГ в нефроцитах крыс после однократного введения в дозе 6 и 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) на 21 сутки не отличалась от таковой животных интактной группы. Снижение активности ЛДГ и ГБДГ обусловлено возрастанием интенсивности энергоемких процессов требующих большого

количества АТФ в эпителиоцитах проксимальных извитых канальцев, которые путем канальцевой секреции элиминируют изучаемый наноматериал. Данный факт подтверждается повышением активности СДГ. Подавление процессов анаэробного окисления в эпителиоцитах проксимальных извитых канальцев происходит по причине меньшей эффективности по сравнению с аэробными в условиях достаточного количества кислорода [16].

Однократное введение магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа приводило к аналогичным результатам. Выраженность наблюдаемых изменений активности ЛДГ и ГБДГ нефроцитов проксимальных извитых канальцев у крыс после однократной инъекции магнитомицелл была ниже, чем у животных после однократного введения немодифицированных покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичных дозах.

При многократном введении покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе происходило снижение активности ЛДГ и ГБДГ с 7 суток исследования. Наблюдаемые изменения активности ферментов в нефроцитах почек крыс после многократной инъекции немодифицированных покрытых углеродом наночастиц железа были более выраженными и продолжительными, чем у животных после введения магнитомицелл. Нормализации активности этих ферментов в течение всего срока исследования в группах с многократным введением не наблюдали, что обусловлено высокой суммарной дозой введенного наноматериала [43].

Изменение активности ферментов, также может быть обусловлено прямым влиянием наноматериала на структуру белка и изменением его конформации. В литературе существуют данные, которые указывают на прямое или опосредованное влияние наноматериала на активность различных ферментов. Обобщая полученную информацию, можно сделать вывод, что влияние покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе вызывает активацию энергетического метаболизма, который характерен для того или иного типа клеток или наиболее оптимален в данный момент. В кардиомиоцитах и нефроцитах

происходит усиление аэробного пути энергетического метаболизма, в то время как в гепатоцитах – анаэробного [8, 31, 39, 47, 73, 76, 87, 147, 199, 206, 216, 227, 316].

Определение активности органоспецифичных ферментов в плазме крови крыс позволяет оценить функциональное состояние внутренних органов и обнаружить признаки повреждения клеток паренхимы на этапе предшествующему их морфологическому проявлению [26, 27].

ЩФ присутствует практически во всех тканях и клетках организма, однако наибольшее ее содержание наблюдается в эпителиоцитах желчных протоков, энтероцитов кишечника и клетках костной ткани. Механическое повреждение перечисленных выше клеток и тканей приводит к повышению активности данного фермента в плазме крови [27, 38].

Через 1 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе в дозе 6 мг(Fe)/кг_(массы тела) наблюдали повышение активности ЩФ в плазме крови крыс. При повышении дозы до 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) фиксировали более выраженный рост активности фермента в плазме крови. Активность ЩФ у крыс после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа была выше, чем у животных после однократной инъекции магнитомицелл в аналогичных дозах [41].

Результаты гистохимического исследования позволили предположить, что элиминация изучаемых наноконструкций из печени осуществляется путем миграции МНФ накопивших определенное количество наноматериала в просвет желчных протоков с последующим выведением в ЖКТ. По-видимому подобные изменения плазменной активности ЩФ являются следствием повреждения эпителия слизистой оболочки желчевыводящих путей и кишечника. Более существенное изменение активности ЩФ при повышении дозы однократного введения наноматериала до 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) можно объяснить большей выраженностью его накопления в печени и, соответственно, повышением интенсивности его выведения описанным механизмом [139, 189, 219, 371].

Многokратное введение покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе приводило к тем же результатам, что и после

однократного введения. Многократное введение магнитомицелл приводило к менее выраженному повышению активности ЩФ. Нормализации активности фермента в течение эксперимента не наблюдали, что связано с высокой суммарной дозой наноматериала [43].

Благодаря физико-химическим свойствам, которыми обладают молекулы DSPE-PEG-2000, магнитомицеллы менее склонны к захвату МНФ, в том числе и звездчатыми макрофагами печени. Меньшая степень участия печени в фармакокинетике магнитомицелл, по сравнению с немодифицированными покрытыми углеродом наночастицами железа обуславливает меньшую выраженность повреждения эпителиоцитов желчных протоков и ЖКТ. В результате этого активность ЩФ изменялась в меньшей степени. Нормализация активности ЩФ связана с выведением наноматериала из организма и восстановлением структуры эпителия желчевыводящих путей [116, 249, 307].

Аспаратаминотрансфераза в наибольшем количестве присутствует в кардиомиоцитах и имеет цитоплазматическую и митохондриальную формы. Данный фермент катализирует перенос аминогруппы от L-аспартата на α -кетоглутарат, в результате чего образуется оксалоацетат и L-глутамат. Аланинаминотрансфераза обеспечивает перенос аминогруппы от L-аланина на α -кетоглутарат, что приводит к образованию пирувата и L-глутамата. Наибольшая активность АЛТ наблюдается в гепатоцитах и кардиомиоцитах. Низкая активность этих ферментов в плазме крови при достаточно высоком уровне в кардиомиоцитах и гепатоцитах, делает эти ферменты органоспецифичными. Более того, в кардиомиоцитах активность АСТ выше, чем АЛТ. В гепатоцитах же наблюдается обратная ситуация [21, 26, 38, 41, 67, 73].

Через 1 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе в дозе 6 мг(Fe)/кг_(массы тела) наблюдали повышение активности АСТ и АЛТ. Увеличение дозы однократного введения до 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) приводило к более выраженным изменениям активности этих ферментов. У животных с введением магнитомицелл изменения активности

ферментов были менее выражены, чем у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичных дозах [41].

После многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе в плазме крови наблюдали схожую картину. Нормализации активности изучаемых ферментов в этих группах не наступало в силу более высокой суммарной дозы наночастиц.

Повышение активности АСТ и АЛТ в плазме крови крыс после однократного и многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе может быть обусловлено повреждением гепатоцитов и/или кардиомиоцитов. Активность этих ферментов у крыс после однократной инъекции покрытых углеродом наночастиц железа в дозе $6 \text{ мг(Fe)/кг}_{\text{(массы тела)}}$ нормализуется после 40 суток, а при введении магнитомицелл в той же дозировке после 21 суток. В тоже время активность АЛТ и АСТ крыс после однократного введения покрытых углеродом наночастиц в дозе $60 \text{ мг(Fe)/кг}_{\text{(массы тела)}}$ в течение всего эксперимента не нормализуется.

Нарушение целостности плазмолеммы клеток печени в первую очередь вызывает выход в плазму крови цитоплазматических ферментов, после чего происходит поступление митохондриальных энзимов, которые повышают активность в плазме крови более существенно [21, 26]. Менее выраженные изменения активности данных ферментов хорошо согласуются с результатами, полученными с помощью гистологического исследования печени и сердца крыс, где наблюдалось снижение выраженности морфологических изменений по сравнению с органами крыс после инъекций немодифицированных покрытых углеродом наночастиц железа.

γ -глутамилтранспептидаза содержится в мембране гепатоцитов, нейронов и нефроцитов. Данный фермент обеспечивает перенос γ -глутамильного остатка пептидов на другой пептид, аминокислоту или воду [67, 75].

Через 1 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозах 6 и $60 \text{ мг(Fe)/кг}_{\text{(массы тела)}}$ наблюдали повышение активности γ -ГТ. Выраженность изменений у животных с более высокой дозой введенных

наночастиц была выше. Инъекция магнитомицелл на основе наночастиц железа также привело к повышению активности γ -ГТ, однако, в меньшей степени, чем у животных после введения покрытых углеродом наночастиц железа в соответствующих дозах [41].

При многократном введении покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе наблюдали аналогичные изменения, как при однократном введении, без нормализации активности этого фермента в течение эксперимента. Повышение активности γ -ГТ обусловлено, по-видимому, повреждением гепатоцитов и нефроцитов крыс. Следует учитывать, что модификация покрытых углеродом наночастиц железа молекулами DSPE-PEG-2000 повышает их гидрофильные свойства и коллоидную устойчивость. Это в значительной степени влияет на фармакокинетику изучаемых наноконструкций и потенцирует их элиминацию почками путем клубочковой фильтрации и канальцевой секреции, что может привести к увеличению выраженности дистрофических и некротических изменений эпителиоцитов извитых канальцев, следовательно повлиять на активность γ -ГТ. Однако, такой ситуации при гистологическом исследовании почек крыс не наблюдали [116, 249, 307].

ЛДГ – фермент, который в наибольшей степени содержится в клетках печени, почек, сердца, скелетных мышц, поджелудочной железы [26, 27].

ГБДГ является изоферментом лактатдегидрогеназы (ЛДГ-1). ГБДГ катализирует реакцию превращения α -кетобутирата в α -гидроксibuтират, а также восстановление других α -оксикарбоновых кислот. Наибольшая его активность наблюдается в кардиомиоцитах [21, 65, 67].

После однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозах 6 и 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) было выявлено повышение активности ЛДГ и ГБДГ на 1 сутки эксперимента. Повышение дозы наноматериала до 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) приводило к более выраженному повышению активности этих ферментов. У животных после однократного введения магнитомицелл выраженность наблюдаемых явлений была ниже, чем у крыс после инъекции немодифицированных покрытых углеродом наночастиц железа [41].

После многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе также выявляли повышение активности ЛДГ и ГБДГ, однако из-за более высокой суммарной дозы наноматериала нормализации активности этих ферментов в течение эксперимента не наступало.

Повышение активности ЛДГ может быть вызвано повреждением гепатоцитов, кардиомиоцитов и нефроцитов. Повышение активности ГБДГ объясняется повреждением клеток миокарда крыс. Гистологическое исследование не выявило выраженных структурных изменений миокарда крыс после введения исследуемых наноконструкций, однако повышение активности ГБДГ в плазме крови крыс выступает в качестве предиктора этих изменений. Слабое участие сердца крыс в фармакокинетике наноматериала не исключает возможность повреждения миокарда в результате опосредованного влияния наночастиц. Например, эмболия сосудов микроциркуляторного русла крупными агрегатами наночастиц приводит к гипоксии и ишемическому поражению кардиомиоцитов. Снижение альтерирующего влияния покрытых углеродом наночастиц железа за счет помещения последних в мицеллу из DSPE-PEG-2000 объясняет менее выраженные изменения активности данных ферментов [26, 27, 116, 249, 307].

Креатинфосфокиназа (КФК) в наибольшем количестве содержится в клетках миокарда, головного мозга, а также в скелетных и гладких мышцах. КФК катализирует реакцию фосфорилирования креатина, который является энергетическим субстратом в миоцитах. Креатинфосфокиназа-МВ (КФК-МВ) является сердечной изоформой КФК, выявление активности которой позволяет оценить функциональное состояние миокарда крыс. Активность КФК-МВ может составлять до 50% активности всей КФК [26, 27, 65].

Однократное введение покрытых углеродом наночастиц железа в дозе 6 и 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) вызывает повышение активности КФК и КФК-МВ. Активность фермента у животных с введением покрытых углеродом наночастиц железа с дозой 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) приводило к более выраженному повышению активности фермента. У крыс с введением магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа также выявляли повышение активности этих ферментов,

однако, в меньшей степени, чем после инъекции немодифицированных покрытых углеродом наночастиц железа [41].

Многokратное введение покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе также приводит к повышению активности ферментов, но без ее нормализации в течение эксперимента.

Повышение активности КФК и КФК-МВ может быть обусловлено повреждением клеток, прежде всего кардиомиоцитов. Идентичная динамика изменения активности КФК и КФК-МВ говорит о том, что изменение активности КФК обусловлено ростом активности КФК-МВ [27, 65].

Изменение концентрации общего белка в плазме крови определяется тремя факторами: скоростью синтеза, скоростью их разрушения и удаления, а также объемом распределения. Изменения содержания общего белка связаны, в первую очередь, с колебаниями концентрации альбумина и иммуноглобулинов, превалирующих по количеству среди других белков плазмы. Центральную роль в синтезе плазменных белков играет печень [26, 27, 65].

Через 1 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозах 6 и 60 мг(Fe)/кг_(массы тела), в плазме крови крыс наблюдали снижение концентрации общего белка. Увеличение дозы до 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) приводило к более выраженному снижению общего белка в плазме крови. Однократное введение магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа, также приводило к снижению концентрации общего белка, однако, в меньшей степени, чем после инъекции покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичных дозах [41].

После многократного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе наблюдали снижение концентрации общего белка в плазме крови на протяжении всего срока исследования. Следует отметить, что многократное введение магнитомицелл вызывало снижение обсуждаемого показателя в меньшей степени, чем многократное введение покрытых углеродом наночастиц железа. Нормализации содержания белка в этих группах не наступало по причине постоянного введения дозы наноматериала [43].

Снижение концентрации общего белка может быть обусловлено снижением функциональной активности гепатоцитов в результате токсического воздействия изучаемого наноматериала. Полученные результаты хорошо согласуются с данными гистологического исследования: группы гепатоцитов находились в состоянии зернистой или гидропической дистрофии, а также некроза. Концентрация общего белка в плазме также может снижаться при увеличении проницаемости сосудов кровеносного русла, которое приводит к выходу белков в интерстициальное пространство [13, 42].

Глюкоза является основным энергетическим субстратом для нейронов и эритроцитов, активно участвует в промежуточном обмене гликогена, жирных кислот, глюкуроновой кислоты, аминокислот и гликопротеинов. Концентрация глюкозы в крови зависит от интенсивности процессов гликолиза и окисления трикарбоновых кислот в цикле Кребса, гликогенеза и гликогенолиза в клетках скелетных мышц и печени, глюконеогенеза в почках и печени, поступления глюкозы из ЖКТ [27, 65].

Однократное введение покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе приводило к снижению концентрации глюкозы в плазме крови крыс. Повышение дозы наноматериала до 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) приводило к более выраженным изменениям концентрации глюкозы в плазме крови крыс. У животных с однократным введением покрытых углеродом наночастиц железа наблюдали более значительное снижение концентрации глюкозы, чем у животных с введением магнитомицелл в аналогичных дозах.

Многokратное введение покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе приводило к схожим результатам, как при однократном введении, однако, нормализации параметра в течение всего срока исследования не наступало.

Билирубин является конечным продуктом катаболизма гема, который образуется в клетках системы МНФ. В плазме крови билирубин образует комплекс с альбумином (неконъюгированный, непрямой). Данный комплекс проникает в гепатоциты за счет белков переносчиков - лигандина и Z-белка. В

эндоплазматическом ретикулуме УДФ-глюкурозилтрансфераза преобразует билирубин в конъюгированный билирубин (прямой). После образования прямого билирубина происходит его экскреция в желчевыводящие пути. Гемолиз эритроцитов или повреждение клеток печени может вызвать повышение концентрации билирубина в плазме крови [14, 25, 26, 38, 67].

После однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе на 1 сутки наблюдали повышение концентрации общего и снижение конъюгированного билирубина в плазме крови животных. Введение суспензии с более высокой концентрацией наноматериала ($60 \text{ мг(Fe)/кг}_{\text{(массы тела)}}$) приводило к более выраженному повышению концентрации общего и снижению концентрации конъюгированного билирубина. Следует отметить, что после однократного введения магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа происходили менее выраженные изменения концентрации общего и конъюгированного билирубина в плазме крови животных, чем у крыс после введения покрытых углеродом в аналогичных дозах [41].

При многократном введении покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе, также как и в случае с однократным введением, выявляли повышение концентрации общего и снижение конъюгированного билирубина в плазме крови. Однако, концентрация общего билирубина у крыс после многократного введения магнитомицелл была меньше, чем у животных с многократным введением немодифицированных покрытых углеродом наночастиц железа, в то время как концентрация конъюгированного билирубина в плазме была больше у животных с введением магнитомицелл. Данное явление может быть вызвано повреждением гепатоцитов, активацией метаболизма клеток системы МНФ и нарушением систем транспорта билирубина в гепатоциты. Образование комплекса билирубин-альбумин может быть нарушено по принципу конкурентного механизма, что в свою очередь снижает скорость образования прямого билирубина и элиминации его из организма животных. Вероятно, покрытые углеродом наночастицы железа способны взаимодействовать с альбуминами плазмы крови крыс и изменять их физико-химические свойства, что

приводит к повышению концентрации непрямого билирубина. В результате повреждающего эффекта наночастиц железа в отношении гепатоцитов снижается способность последних к синтезу прямого билирубина, что также повышает количество непрямого билирубина в плазме крови [38, 41, 67].

Мочевина является конечным продуктом азотистого обмена, который обеспечивает выведение основного количества экскретируемого азота. Потребление пищи богатой белками и деструктивных процессов протеолитического характера приводит к повышению содержания мочевины в плазме крови. Синтез мочевины происходит, главным образом, в гепатоцитах [26, 67, 75].

Через 1 сутки после однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозах 6 и 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) наблюдали увеличение концентрации мочевины в плазме крови крыс. Введение этих наночастиц в дозе 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) приводило к более выраженному росту концентрации мочевины в плазме, чем в дозе 6 мг(Fe)/кг_(массы тела). Введение магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа приводило к менее выраженным изменениям концентрации мочевины в крови крыс, чем у животных после однократной инъекции покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичных дозах [41].

Многократное введение покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе вызвало повышение концентрации мочевины в плазме крови крыс.

Следует отметить, что также как и в случае с однократным введением, многократные инъекции магнитомицелл приводили к менее выраженным изменениям концентрации мочевины в плазме крови животных. Наблюдаемые изменения концентрации мочевины в плазме крови крыс могут говорить о снижении экскреторной функции почек вследствие повреждающего воздействия исследуемого наноматериала. Более того, данное явление может быть объяснено повреждающим воздействием наночастиц на другие органы, которое сопровождается интенсивным распадом белков [26, 27].

Креатинин в наибольшей степени содержится в миоцитах и образуется путем дефосфорилирования креатинфосфата. Креатинин является энергетическим субстратом, который используется мышечными клетками в условиях недостаточного количества АТФ. Выведение креатинина происходит в основном через почки и, следовательно, его количество в плазме крови позволяет оценить функциональную активность данных органов [21, 27, 75].

После однократного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе наблюдали повышение концентрации креатинина в плазме крови животных. Через 1 сутки после введения покрытых углеродом наночастиц железа в дозах 6 и 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) выявили повышение концентрации креатинина в крови крыс. У животных с дозой 60 мг(Fe)/кг_(массы тела) изменения концентрации креатинина были более выражены.

Однократное введение магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа приводило к схожим результатам у животных с инъекцией этих наноразмерных частиц в аналогичных дозировках. Повышение концентрации креатинина в крови крыс с однократным введением покрытых углеродом наночастиц железа были более выражены, чем у животных после инъекции магнитомицелл.

Многократное введение покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе также приводило к повышению содержания креатинина в плазме крови крыс. Нормализации концентрации метаболита в течение эксперимента не происходило, что связано с постоянным введением наноматериала. Многократные инъекции магнитомицелл вызывали менее выраженное повышение концентрации креатинина, чем введение покрытых углеродом наночастиц железа. Повышение концентрации креатинина в плазме крови животных объясняется снижением выведения его через почки вследствие их повреждения [43].

Данные биохимического исследования плазмы крови крыс хорошо согласуются с результатами гистологического и гистохимического исследований. Менее выраженные структурные изменения печени, почек и сердца крыс после введения

магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа, соответствовали биохимическим показателям их плазмы, которые отличались от референтных значений в меньшей степени, чем у животных после введения немодифицированных покрытых углеродом наночастиц железа [41, 42].

Заключение

Суспензия магнитомицелл обладает более высокой стабильностью по сравнению с суспензией немодифицированных покрытых углеродом наночастиц железа.

Заключение наночастиц в мицеллу приводит к усилению их элиминации путем клубочковой фильтрации и канальцевой секреции в почках, а также к снижению интенсивности их захвата клетками системы МНФ печени, легких, селезенки за счет повышения гидрофильности и снижения средних размеров агрегатов наночастиц.

Введение суспензии магнитомицелл на основе покрытых углеродом наночастиц железа вызывает менее выраженные структурные и функциональные нарушения внутренних органов экспериментальных животных.

Процессы элиминации наноматериала наиболее интенсивно протекают в первую неделю после введения, что обуславливает наибольшие структурные (дистрофия и некроз гепатоцитов и нефроцитов проксимальных извитых канальцев) и функциональные (внутриклеточная активность ферментов, а также активность органоспецифичных ферментов и концентрации метаболитов плазмы крови) изменения в ранние сроки (1, 7 сутки). Нормализация морфологии внутренних органов, внутриклеточного метаболизма гепатоцитов, кардиомиоцитов и нефроцитов, а также биохимических показателей плазмы крови крыс, объясняется выведением основного количества наноматериала и полным развитием компенсаторно-адаптивных реакций, а также восстановлением структуры поврежденных тканей и органов. Полученные результаты исследования активности ферментов и концентрации метаболитов в плазме крови крыс хорошо соответствуют результатам морфологического исследования органов после однократного и многократного введения.

Наблюдаемые биологические эффекты носят дозозависимый характер. Увеличение дозы однократного введения или многократное введение наноматериала приводило к более выраженным морфо-функциональным изменениям изучаемых органов, а нормализация исследуемых параметров происходила в более поздние сроки, либо ее не наблюдали вовсе.

Выводы:

1. Заключение покрытых углеродом наночастиц железа в мицеллу из DSPE-PEG-2000 повышает агрегативную и седиментационную устойчивость их водно-солевой суспензии.

2. Однократное внутривенное введение магнитомицелл сопровождается гемодинамическими расстройствами в строме изученных органов, а также дистрофическими и некротическими изменениями клеток паренхимы печени и почек крыс, выраженность и продолжительность которых зависела от дозы введенного наноматериала.

3. Однократная инъекция магнитомицелл сопровождается зависимыми от дозы нарушениями энергетического и пластического метаболизма гепатоцитов, нефроцитов проксимальных извитых канальцев и кардиомиоцитов, а также повышением активности органоспецифичных ферментов и концентрации метаболитов плазмы крови крыс.

4. Увеличение дозы однократного внутривенного введения до $60 \text{ мг(Fe)/кг}_{\text{(массы тела)}}$, а также многократное внутривенное введение (от 24 до $120 \text{ мг(Fe)/кг}_{\text{(массы тела)}}$) магнитомицелл вызывает более выраженные и продолжительные изменения структурно-функционального состояния печени, легких, почек, сердца и селезенки крыс по сравнению с их однократной инъекцией в дозе $6 \text{ мг(Fe)/кг}_{\text{(массы тела)}}$.

5. Внутривенное введение магнитомицелл сопровождается увеличением количества и разнообразия патологических форм эритроцитов в крови крыс; выраженность и продолжительность этого эффекта увеличивались при повышении дозы однократного введения до $60 \text{ мг(Fe)/кг}_{\text{(массы тела)}}$, а также при многократном введении наноматериала (от 24 до $120 \text{ мг(Fe)/кг}_{\text{(массы тела)}}$).

6. Морфо-функциональные изменения внутренних органов, а также накопление наночастиц в макрофагах печени, легких, селезенки и почек крыс менее выражены после введения магнитомицелл по сравнению с покрытыми углеродом наночастицами железа.

Список сокращений

γ-ГТ – γ-глутамилтрансфераза

АЛТ – аланинаминотрансфераза

АСТ – аспартатаминотрансфераза

АТФ – аденозинтрифосфорная кислота

АФК – активные формы кислорода

ГБДГ – гидроксibuтиратдегидрогеназа

КФК – креатинфосфокиназа

КФК-МВ – креатинфосфокиназа МВ

ЛДГ – лактатдегидрогеназа

МНФ – мононуклеарные фагоциты

МРТ – магнитно-резонансная томография

СДГ – сукцинатдегидрогеназа

ЩФ – щелочная фосфатаза

ПЭГ - полиэтиленгликоль

Список литературы:

1. ζ -потенциал–критерий устойчивости суспензии ферромагнетиков для магнитных лекарственных форм / Е.Я. Левитин, И.А. Ведерникова, А.В. Цихановская [и др.] // Химия и химические технологии. – 1998. - №5. – С. 27-30.
2. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия / Г.Г. Автандилов. – М.: Медицина, 1990. - 384 с.
3. Алехин В.П. Физика прочности и пластичности поверхностных слоев материалов / В.П. Алехин. - М: Наука. - 1983. - 260 с.
4. Андриевский Р.А. Наноматериалы: концепция и современные проблемы / Р.А. Андриевский // Рос. хим. ж. – 2002. - Т.46. - №5. - С. 50-56.
5. Андриевский Р.А. Наноструктурные материалы – состояние разработок и применение / Р.А. Андриевский // Перспективные материалы. - 2001. - №6. - С. 5–11;
6. Андриевский Р.А. Наноструктурные материалы : уч. пособие / Р.А. Андриевский, А.В. Рагуля. - Издательский центр «Академия». - 2005. – 117 с.
7. Арруэбо М. Магнитные наночастицы / М. Арруэбо // Новые химические технологии. - 2006. - Т. 4. - №2. – С. 67-72.
8. Березкин И.В. Основы физической химии ферментативного катализа / И.В. Березкин, К. Мартинек. – М.: Высшая школа. - 1977. – 280 с.
9. Брусенцова Т.Н. Синтез и исследование наночастиц ферритов для магнитной гипертермии / Т.Н. Брусенцова, В.Д. Кузнецов, В.Н. Никифоров // Медицинская Физика. – 2005. – Т.3. - №27. - С. 58–68.
10. Бруснецов Н.А. Физические и химические критерии ферромагнетиков для биомедицинских целей / Н.А. Бруснецов // Хим. Фарм. журнал. – 1996. - №10. - С. 48-53.
11. Валиев Р.З. Наноструктурные материалы, полученные интенсивной пластической деформацией / Р.З. Валиев, И.В. Александров. – М.: Логос. - 2000. – 272 с.
12. Взаимодействие белков плазмы крови с наночастицами магнетита / А.В. Бычкова, О.Н. Сорокина, А.Л. Коварский [и др.] // Коллоидный журнал. - 2010. -

Т.72, №5. С. 694-700.

13. Влияние наноразмерных частиц на морфологию внутренних органов мыши при внутривенном введении раствора нанопорошка Fe_3O_4 / И.В. Мильто, Г.А. Михайлов, А.В. Ратькин, А.А. Магаева [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2008. - №1. – С. 32-36.
14. Гепатоцит: функционально-метаболические свойства / П.В. Гулак, А.М. Дудченко, В.В. Зайцев [и др.] - М.: Наука. - 1985. – 272 с.
15. Гистология: пер. с англ. / под ред. В.Л. Быкова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009 – 576 с.
16. Гистоэнзимологическое исследование клеток паренхимы печени и почек крыс после внутривенного введения наноразмерного магнетита / И.В. Мильто, И.В. Суходоло, Т.К. Климентьева, Н.М. Михайловна // Бюллетень сибирской медицины. – 2011. – Т.10, №3. – С. 48-53.
17. Глущенко Н.Н. Биологическая активность ультрадисперсного порошка железа / Н.Н. Глущенко, О.А. Богословская, И.П. Ольховская // 10-я Международная Плесская конференция по магнитным жидкостям. – Плес. - 2002. – С. 308-312.
18. Глущенко Н.Н. Биологическая активность ультрадисперсного порошка железа / Н.Н. Глущенко // 10-я Международная Плесская конференция по магнитным жидкостям. – Плес. - 2002. – С. 308-312.
19. Гуцол А.А. Практическая морфометрия органов и тканей / А.А. Гуцол, Б.Ю. Кондратьев. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
20. Ершов Б.Г. Наночастицы металлов в водных растворах: электронные, оптические и каталитические свойства / Б.Г. Ершов // Рос. хим. ж. - 2001. - Т. 46. - №3. - С. 20-30.
21. Зайцев С.Ю. Биохимия животных / С.Ю. Зайцев, Ю.В. Конопатов. – М.: Лань, 2005. – 384 с.
22. Зербино Д.Д. Диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови / Д.Д. Зербино, Л.Л. Лукасевич. – М.: Медицина. - 1989. – 290 с.

23. Золотые наночастицы: синтез, свойства, биомедицинское применение / Л.А. Дыкман, В.А. Богатырев, С.Ю. Щеглов, Н.Г. Хлебцов. - М.: Наука, 2008. – 319 с.
24. Изменение морфологических показателей костного мозга и периферической крови при длительном воздействии золотых наночастиц / С.С. Фирсова, А.Б. Бучарская, Г.Н. Маслякова [и др.] // Известия Саратовского университета. – 2011. – Т.11, №2. – С.54-57.
25. Карр Я. Макрофаги: обзор ультраструктуры и функции, пер. с англ. / Я. Карр. – М.: Медицина, 1978. - 189 с.
26. Клиническая биохимия / под ред. В.А. Ткачука. – М.: ГЭОТАР Медиа, 2004. – 512 с.
27. Клиническая лабораторная аналитика. Основы клинического лабораторного анализа / под ред. В.В. Меньшикова. - М.: Агат-Мед, 2002. - 860 с.
28. Колмаков А.Г. Анализ связи структурных изменений и механических свойств металлических материалов при модификации поверхности с использованием мультифрактальных представлений : дисс. ... док. техн. Наук / А.Г. Колмаков. - М: ИМЕТ им. А.А. Байкова РАН, 2005. – 376 с.
29. Контрастные средства / П.В. Сергеев, Юдин А.Л., Ю.А. Поляев, Н.Л. Шимановский. – М: «Известия», 2007. – 496 с.
30. Крушенко Г.Г. Проблемы определения размеров наночастиц / Г.Г. Крушенко, С.Н. Решетникова // Вестник СибГАУ. - 2011. - №2. - С. 167-170.
31. Кудрявцев Б.Н. Цитофотометрическое исследование содержания гликогена в гепатоцитах различной ploидности у взрослых крыс / Б.Н. Кудрявцев // Цитология. – 1979. – Т.21. – С. 218-221.
32. Лабораторные животные: содержание, разведение, использование в эксперименте: 3-е изд. / И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария, Б.В. Западнюк. – Киев: «Вища школа», 1983, 378 с.
33. Левитин Б.Е. Физико-химические основы получения, свойства и применение ферритов / Б.Е. Левитин, Ю.Д. Третьяков. - М.: Metallургия, 1979. - 472 с.
34. Ллойда З. Гистохимия ферментов: пер. с англ. / З. Ллойда, Р. Госсрау, Т. Шиблер. - М.: Мир. - 1982. – 272 с.

35. Логинов А.С. Внутриклеточная активация кислорода и молекулярные механизмы автоокислительного повреждения печени / А.С. Логинов, Б.Н. Матюшин // Вестник РАМН. – 1994. – Т.5. – С. 3-17.
36. Магнитные наночастицы: методы получения, строение и свойства / С.П. Губин, Ю.А. Кокшаров, Г.Б. Хомутов, Г.Ю. Юрков // Успехи химии. - 2005. - №74. - С. 539-574.
37. Маянский А.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге / А.Н. Маянский, Д.Н. Маянский. – Новосибирск: Наука, 1983. – 254 с.
38. Медицинские лабораторные технологии и диагностика: медицинские лабораторные технологии / под ред. А.И. Карпищенко. - С.-Пб.: Интермедика, 2002. - 408 с.
39. Меркулов Г.А. Патогистологическая техника / Г.А. Меркулов. – М.: Колос. - 1972. – 293 с.
40. Мецлер Д. Биохимия: в 3-х т., пер. с англ / Д. Мецлер. - М.: Мир, 1980. – Т.2. – 609 с.
41. Мильто И.В. Биохимические показатели плазмы крови крыс при внутривенном введении нанопорошка магнетита / И.В. Мильто, Е.Ф. Калугина, А.А. Магаева // Гигиена и санитария. – 2008. – Т.6. – С. 42-44.
42. Мильто И.В. Структура печени, легкого и почек крыс при внутривенном введении магнитолипосом / И.В. Мильто, А.Н. Дзюман // Морфология. – 2009. - №3. – С. 63-66.
43. Мильто И.В. Структура печени, легкого, почек, сердца и селезенки крыс после многократного внутривенного введения суспензии наноразмерных частиц магнетита / И.В. Мильто, И.В. Суходоло // Вестник РАМН. – 2012. №3. – С. 75-79.
44. Мир материалов и технологий. Наноматериалы. Нанотехнологии. Наносистемная техника / под ред. Мальцева П.П. - М.: Техносфера, 2006. - 176 с.
45. Многофункциональные биосовместимые покрытия на магнитных наночастицах / А.В. Бычкова, О.Н. Сорокина, М.А. Розенфельд, А.Л. Коварский // Успехи химии. – 2012. – Т.81. – С. 1026-1050.

46. Молекулярная биология клетки. Том 1 : пер. с англ. / Б. Албертс, Д. Брей, Дж. Льюис. - М.: Мир, 1993. – 517 с.
47. Морфология развивающегося сердца (структура, ультраструктура, метаболизм) / В.А. Козлов, И.В. Твердохлеб, И.С. Шпонька, В.Д. Мишалов // Днепропетровск, 1995.- 220 с.
48. Мэнсфилд П. Быстрая магнитно-резонансная томография / П. Мэнсфилд // Успехи физических наук. – 2005. – Т.175. - №10. – С. 1044—1052.
49. Найден Е.П. Магнитные свойства наноразмерных порошков гексаферритов / Е.П. Найден, В.А. Журавлев, М.В. Политов // Журнал структурной химии. – 2004. - Т.45. - С. 106-111.
50. Направленная доставка лекарственных препаратов: итоги последних лет и перспективы / М.М. Галагудза, Д.В. Королев, Д.Л. Сонин [и др.] // Экология человека. – 2009. – Т.2. – С. 86-92.
51. Никитин И.Г. Пегилированные лекарственные препараты: современное состояние проблемы и перспективы / И.Г. Никитин, И.Е. Байкова, Л.М. Гогова // Клиническая фармакология. – 2005. – Т.4. – С. 18-24.
52. Никифоров В.Н. Биомедицинские применения магнитных наночастиц / В.Н. Никифоров // Наука и технологии в промышленности. – 2011. - №1. – С. 90-99.
53. Никифоров В.Н. Магнитная гипертермия / Никифоров В.Н. // Известия ВУЗов. Сер.Физика. – 2007. – Т.50. - №9. - С. 60–72.
54. Никифоров В.Н. Магнитная гипертермия в онкологии / В.Н. Никифоров, Н.А. Брусенцов // Медицинская физика. - 2007. - №2. - С. 51–59.
55. Новые материалы / под ред. Ю.С. Карабасова. – М.: МИСИС, 2002 – 736 с.
56. Оценка влияния наночастиц маггемита ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) и лепидокрокита ($\gamma\text{-FeOOH}$) на клетки крови крыс после однократного интрагастрального введения / В.В. Симонов, И.Л. Канев, М.З. Федорова [и др.] // Научные ведомости. – 2010. – Т.80, №9. – С. 94-98.
57. Першина А.Г. Использование магнитных наночастиц в биомедицине / А.Г. Першина, А.Э. Сазонов, И.В. Мильто // Бюллетень сибирской медицины. – 2008. - №2. – С. 70-78.

58. Пирс Э. Гистохимия / Э. Пирс. – М.: Издательство иностранной литературы. - 1962. – 962 с.
59. Плакунов В.К. Основы энзимологии: учебник / В.К. Плакунов. - М.: Логос, 2001. – 128 с.
60. Поверхностный магнетизм нанокристаллического монооксида меди / Т.И. Арбузова, С.В. Наумов, В.Л. Арбузов [и др.] // Физика твердого тела. – 2003. – Т.45. - №2. – С. 290-295.
61. Помогайло А.Д. Наночастицы металлов в полимерах / А.Д. Помогайло, А.С. Розенберг, И.Е. Уфлянд. – М.: Химия, 2000. – 672 с.
62. Попов Е.М. Проблемы белка: химическое строения белка / Е.М. Попов - М.: Наука, 1995. – 245 с.
63. Порошки вольфрама, полученные различными способами / Н.В. Пименова // Технология металлов. - 2011. - №2. - С. 25-27.
64. Противоопухолевые эффекты *in vitro* и *in vivo* липидных композитов цисплатина и наночастиц ферромагнетика в углеродной оболочке / С.А. Антипов, Т.А. Федущак, О.В. Кокорев [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2010. - №1. – С. 9-17.
65. Райдер К. Изоферменты : пер. с англ. / К. Райдер, К. Тейлор. – М.: Мир, 1983. - 106 с.
66. Регламентация экспериментов на животных – этика, законодательства, альтернативы / под ред. Н. А. Горбуновой. – М.: , 1998. – 341 с.
67. Рогожин В.В. Биохимия животных / В.В. Рогожин. – М.: Гиорд, 2009. – 552 с.
68. Рууге Э.К. Направленный транспорт лекарств с помощью магнитного поля / Э.К. Рууге, А.Н. Русецкий // Журнал всесоюзного химического общества им. Д.И. Менделеева. – 1987. - №5. - С. 89-96.
69. Сазонов А.Э. Развитие медицинских биотехнологий в городе Томске / А.Э. Сазонов, Л.М. Огородова // Инновации. – 2006. - №8. - С. 66-69.
70. Сарвилина И.В. Междисциплинарные исследования в медицине / И.В. Сарвилина, В.Н. Каркищенко, Ю.В. Горшкова. - М.: Техносфера, 2007. - 368с.

71. Саркисов В.М. Гистологическая техника : руководство / В.М. Саркисов. – М.: Просвещение. - 2002. – 369 с.
72. Свойства ультрадисперсных Fe-W композиций, полученных методом химического диспергирования / Д.В. Кузнецов, В.В. Левина, Э.Л. Дзидзигури, Е.Н. Сидорова // Материаловедение. – 2001. - №9. – С. 4-52.
73. Северин Е.С. Проблемы и перспективы современной противоопухолевой терапии / Е.С. Северин, А.В. Родина // Успехи биологической химии. - 2006. - Т.46. – С. 43-64.
74. Сизова Е.А. Некоторые биохимические и морфологические показатели крови при введении в организм наночастиц меди / Е.А. Сизова, Е.А. Русакова, Ю.А. Сизов // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2011. – Т.4, №32. – С. 308-309.
75. Скулачев В.П. Биоэнергетика. Мембранные преобразователи энергии : учеб. пособ. / В.П. Скулачев. – М.: Высшая школа. - 1989. – 271 с.
76. Скулачев В.П. Энергетика биологических мембран / В.П. Скулачев. - М.: Наука, 1989. - 564 с.
77. Структура и магнитные свойства наноразмерных порошков простых ферритов, полученных методом механохимического синтеза / Е.П. Найден, В.А. Журавлев, В.И. Итин [и др.] // Известия ВУЗов. Физика . – 2006. - №9. - С. 40-44.
78. Суходоло И.В. Паракринно-эндокринный регион гастринпродуцирующих клеток желудка при нарушении циркуляции секретов пищеварительных желез. - дис. док. мед. наук / И.В. Суходоло. - Томск, 1990. - 319 с.
79. Танкович Н.И. Теоретические и практические аспекты создания магнитовосприимчивых препаратов для направленного транспорта лекарств / Н.И. Танкович // Журнал всесоюзного химического общества им. Д.И. Менделеева. – 1987. - №5. - С. 76-88.
80. Температурные зависимости намагниченности препаратов для магнитной гипертермии / В.Д. Кузнецов, М.И. Данилкин, В.Н. Никифоров [и др.] // Известия ВУЗов, серия Физика. – 2005. – Т.48. - №2. - С. 47–52.

81. Теория и практика микроскопии эритроцита / В.В. Новицкий, Н.В. Рязанцева, Е.А. Степовая, Н.М. Шевцова и др. - Томск: Печатная мануфактура. – 2008. – С. 80-120.
82. Терентьев В.Ф. Усталость металлических материалов / В.Ф. Терентьев. - М: Наука, 2003. - 248 с.
83. Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих / Б. Уикли. - М.: «Мир», 1975. - 325 с.
84. Ультроструктура внутренних органов крыс после внутривенного введения модифицированных наночастиц магнетита и железа / И.В. Мильто, И.В. Суходоло, Г.Ю. Васюков // Морфология. – 2011. – Т.144, №5. – 96 с.
85. Хлусов И.А. Влияние магниточувствительных наноразмерных частиц на пул стволовых кроветворных клеток *in vitro* / И.А. Хлусов, В.С. Седой, Е.П. Найден // Наносистемы, наноматериалы, нанотехнологии. – 2008. – Т.6, №4. – С. 1247-1259.
86. Шляхто Е.В. Нанотехнологии в биологии и медицине / Е.В. Шляхто // Инновации. – 2008. - №8. – С. 54-59.
87. Щербак И.Г. Биологическая химия / И.Г. Щербак. - С-Пб.: Издательство СПбГМУ, 2005. – 479 с.
88. Элиот В. Биохимия и молекулярная биология: пер. с англ. / В. Элиот, Д. Элиот - М.: Мир, 1999. – 431 с.
89. “Smart” mediators for self-controlled inductive heating / А.А. Kuznetsov, О.А. Shlyakhtin, N.A. Brusentsov, О.А. Kuznetsov // Eur. Cells Mater. – 2002. – V.3, №2. - P. 75–77.
90. A physiological barrier distal to the anatomic bloodbrain barrier in a model of transvascular delivery / L.L. Muldoon, M.A. Pagel, R.A. Kroll [et al.] // Am. Jour. of Neuroradiology. - 1999. – V. 20. – P. 217-222.
91. A pilot study on the percutaneous absorption of microfine titanium dioxide from sunscreens / M.H. Tan, C.A. Commens, L. Burnett, P.J. Snitch // Australas. J. Dermatol. – 1996. – V.37, №4. – P.185-187.

92. Acute pulmonary effects of ultrafine particles in rats and mice / G. Oberdorster, J.N. Finkelstein, C. Johnston [et al.] // *Res. Rep. Health. Eff.* – 2000. – V.5, №74. – P. 75-86.
93. Advances in nanomagnetism via X-ray techniques / G. Srajer, L. Lewis, S. Bader [et al.] // *JMMM.* – 2006. – V.307, №1. - P. 1–31.
94. Alkyl Phosphonate/Phosphate Coating on Magnetite Nanoparticles: A Comparison with Fatty Acids / Y. Sahoo, H. Pizem, T. Fried [et al.] // *Langmuir.* – 2001. – V.17, №25. – P. 7907-7911.
95. Amphipathic polyethyleneglycols effectively prolong the circulation time of liposomes / A.L. Klibanov, K. Maruyama, V.P. Torchilin, L. Huang // *FEBS Lett.* – 1990. – V.268, №1. – P. 235-237.
96. Anticancer agents coupled to N-(2 hydroxypropyl)methacrylamide copolymers I. Evaluation of daunomycin and puromycin conjugates in vitro / R. Duncan, P. Kopeckova-Rejmanova, J. Kopecek // *Br. J. Cancer.* – 1987. – V.55. – P. 165-174.
97. Antifungal activity and mode of action of silver nano-particles on *Candida albicans* / K.J. Kim, W.S. Sung, B.K. Suh [et. al.] // *Biometals.* - 2009. - V.22. - P. 235–242.
98. Antioxidant effects of water-soluble fullerene derivatives against ultraviolet ray or peroxy lipid through their action of scavenging the reactive oxygen species in human skin keratinocytes / L. Xiao, H. Takada, K. Maeda [et al.] // *Biomed. Pharmacother.* – 2005. – V.59, №7. – P. 351-358.
99. Antitumor effect of magnetite nanoparticles in cat mammary adenocarcinoma / M. Sincal, D. Ganga, M. Ganga [et al.] // *J. Magn. Mater.* – 2005. – V.293, №1. P. 438-441.
100. Application of nanomaterials in electrogenerated chemiluminescence biosensors / H. Qi, Y. Peng, Q. Gao, Ch. Zhang // *Sensors.* - 2009. - V.9. - P.674-695.
101. Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine / Q. A. Pankhurst, J. Connolly, S. K. Jones, J. Dobson // *J. Phys. D: Appl. Phys.* - 2003. - V.36, №13. - P. 167-181.
102. Babu K. Grafting of Poly(methyl methacrylate) Brushes from Magnetite Nanoparticles Using a Phosphonic Acid Based Initiator by Ambient Temperature Atom

- Transfer Radical Polymerization (ATATRP) / K. Babu, R. Dhamodharan // *Nanoscale Res. Lett.* – 2008. – V.3, №3. – P. 109-117
103. Bacri J.C. Ionic ferrofluids: A crossing of chemistry and physics / J.C. Bacri, R. Perzynski, D. Salin // *J. Magn. Magn. Mater.* – 1990. – V.85, №1. – P. 27-32
104. Barenholz Y. Liposomy. *Sorosovskii obrazovatel'nyi jurnal.* 1998;10: 2-9.
105. Benesch J. Blood protein adsorption onto chitosan / J. Benesch, P. Tengvall // *Biomaterials.* – 2002. – V.23. – P. 2561-2568.
106. Bermudez E. Long-term pulmonary responses of three laboratory rodent species to subchronic inhalation of pigmentary titanium dioxide particles / E. Bermudez, J.B. Mangum, B. Asgharian // *Toxicol. Sci.* — 2002. — 70. — P. 86–97.
107. Berry C. Functionalisation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine / C. Berry, A. Curtis // *J. Phys. D: Appl. Phys.* – 2003. - V.36, №13. – P. 30-38.
108. Biodegradation of magnetite dextran nanoparticles is in the rat: a histological and biophysical study / E. Okon, D. Pouliquen, P. Okon [et al.] // *Laboratory investigation.* - 1994. - V.71, №6. - P. 895-903.
109. Bionanotechnology based on silica nanoparticles / W. Tan, K Wang, X He [et al.] // *Medicinal Research Reviews.* – 2004. - V. 24, № 5. - P. 621-638.
110. Block copolymer cross-linked nanoassemblies improve particle stability and biocompatibility of superparamagnetic iron oxide nanoparticles / M. Dan, D.F. Scott, P.A. Hardy [et al.] // *Pharm Res.* – 2013. – V.30, №2. – P. 552–561.
111. Block copolymer micelles: preparation, characterization and application in drug delivery / G. Gaucher, M. Dufresne, V.P. Sant [et al.] // *J Control Release.* – 2005. – V.109, №1. – P. 169-188.
112. Bonnemain B. Superparamagnetic agents in magnetic resonance imaging: physiochemical characteristics and clinical applications—a review / B. Bonnemain // *J. Drug Target.* - 1998. - V. 6. - P.167–174.
113. Borm P.J. Toxicological hazards of inhaled nanoparticles – potential implications for drug delivery / P.J. Borm, W. Kreyling // *J. Nanoscien. Nanotechnol.* – 2004. – V.4, №5. - P. 521-531.

114. Brown J.S., Zeman K.L., Bennett W.D. Ultrafine particle deposition and clearance in the healthy and obstructed lung / J.S. Brown, K.L. Zeman, W.D. Bennett // *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* – 2002. – V. 166. – P. 1240-1247.
115. C60 and Water-Soluble Fullerene Derivatives as Antioxidants Against Radical-Initiated Lipid Peroxidation / I.C. Wang, L.A. Tai, D.D. Lee [et al.] // *J. Med. Chem.* – 1999. – V.42, №22. – P. 4614-4620.
116. Calcium and ROS-mediated activation of transcription factors and TNF-alpha cytokine gene expression in macrophages exposed to ultrafine particles / D.M. Brown, K. Donaldson, P.J. Born [et al.] // *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* – 2004. – V. 286. – P. 344-353.
117. Can we accurately quantify nanoparticle associated proteins when constructing high-affinity MRI molecular imaging probes / G. Rimkus, S. Bremer-Streck, C. Gruttner [et al.] // *Contrast Media Mol Imaging.* – 2011. – V.6, №6. – P. 119–25.
118. Carbon Nanofibers for Composite Applications / E. Hammel, X. Tang, M. Trampert [et al.] // *Carbon.* – 2004. – V.42, №5. – P. 1153-1158.
119. Carbon nanotubes introduced into the abdominal cavity of mice show asbestos-like pathogenicity in a pilot study / C.A. Poland, R. Duffin, I. Kinloch [et al.] // *Nat. Nanotechnol.* — 2008. — V.3, №7. — P.423—428.
120. Carbon-Encapsulated Radioactive ^{99m}Tc Nanoparticles / H.B.S. Chan, B.L. Ellis, H.L. Sharma [et al.] // *Adv. Mater.* - 2004. – V.16, №2. –P. 144-149.
121. Carbonnanotubes: review of their properties in relation to pulmonary toxicology and workplace safety / K. Donaldson, R. Aitken, L. Tran [et al.] // *Toxicological. Science.* — 2006. — V.92, №1. — P.5—22.
122. Cardiovascular effects of pulmonary exposure to single-wall carbon nanotubes / Z. Li., T. Hulderman, R. Salmen [et al.] // *Environ Health Perspect.* — 2007. — V.115, №3. — P.377—382.
123. Cell uptake and in vitro toxicity of magnetic nanoparticles suitable for drug delivery / U.O. Hafeli, J.S. Riffle, L. Harris-Shekhawat [et al.] // *Mol Pharm.* – 2009. – V.6, №5. – P. 1417–1428.

124. Cellular uptake of functionalized carbon nanotubes is independent of functional group and cell type / K. Kostarelos, L. Lacerda, G. Pastorin [et al.] // *Nature: nanotechnology*. – 2007. – V. 2. – P. 108-113.
125. Characterization and in vitro cellular uptake of PEG coated iron oxide nanoparticles as MRI contrast agent / Y.J. Chen, J. Tao, F. Xiong [et al.] // *Die Pharm. - Int. J. Pharm. Sci.* – 2010. – V.36, №7. – P. 481-486.
126. Characterization of carbon-encapsulated nickel and iron nanoparticles by means of X-ray absorption and photoelectron spectroscopy / V.R Galakhov [et al.] // *J. Phys. Chem.* – 2010. – V.114. – P. 22413-22416.
127. Chertok B. Polyethyleneimine-modified iron oxide nanoparticles for brain tumor drug delivery using magnetic targeting and intra-carotid administration / B. Chertok, A.E. David, V.C. Yang // *Biomaterials*. – 2010. – V.31, №34. - P. 6317-6324.
128. Chitosan Oligosaccharide-Stabilized Ferrimagnetic Iron Oxide Nanocubes for Magnetically Modulated Cancer Hyperthermia / K.H. Bae, M. Park, M.J. Do [et al.] // *ACS Nano*. – 2012. – V.6, №6. – P. 5266–5273.
129. Coating evaluation and purification of monodisperse, water-soluble, magnetic nanoparticles using sucrose density gradient ultracentrifugation / A.M. Prantner, J. Chen, C.B. Murray, N. Scholler // *Chem. Mater.* - 2012. – V.24. – P. 4008-2010.
130. Coating thickness of magnetic iron oxide nanoparticles affects R_2 relaxivity / E.W. Leslie, N. Nitin, O. Zurkiya, // *Journal of magnetic resonance imaging*. – 2007. – V.26. – P. 1634-1641.
131. Colloidal magnetic resonance contrast agents: effect of particle surface on biodistribution / M.I. Papisov, A. Bogdanov, B. Schaffer [et al.] // *J. Magn. Magn. Mater.* – 1993. – V.122, №1. – P. 383-386.
132. Colvin V. Potential Risks of Nanomaterials and How to Safely Handle Materials of Uncertain Toxicity / V. Colvin // *Technology Review*. – 2003. – V. 4. – P. 119-128.
133. Comparative pulmonary toxicity assessment of singlewall carbon nanotubes in rats / D.B. Warheit, B.R. Laurence, K.L. Reed [et al.] // *Toxicol. Sci.* — 2004. — V.77, №1. — P.117—125.
134. Comparative study on the acute pulmonary toxicity induced by 3 and 20 nm TiO₂

- primary particles in mice / J. Li, Q. Li, J. Xu, J. Li // *Environ. Toxicology and Pharmacology*. —2007. —V.24. —P. 239–244.
135. Cornell R.M. *The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurrences, and Uses* / R.M. Cornell, U. Schertmann. - New York : Wiley-VCH. – 2003. – P.659
136. Correlating magneto-structural properties to hyperthermia performance of highly monodisperse iron oxide nanoparticles prepared by a seeded-growth route / M. Levy, A Qarta, A. Espinosa [et al.] // *Chem. Mater.* – 2011. – V.23, №18, - P. 4170–4180.
137. Cytotoxicities of oxides, phosphates and sulphides of metals / T. Hanawa, M. Kaqa, Y. Itoh [et al.] // *Biomaterial.* -1992. – V.13, №1. – P. 20-24.
138. de Heer W.A. Spin relaxation in small free iron clusters / W.A.de Heer, P. Milani, A. Chatelain // *Phys. Rev. Lett.* – 1990. – V.65. – P. 488.
139. Decker K. Biologically active products of stimulated liver macrophages (Kupffer cells) / K. Decker // *Eur. J. Biochem.* – 1990. – V.192, №2. – P. 245-261.
140. Decuzzi P. Design maps for nanoparticles targeting the diseased microvasculature / P. Decuzzi, M. Ferrari // *Biomaterials.* – 2007. – V.28, №3. – P. 377-384.
141. Deng Y. A Novel Approach for Preparation of Thermoresponsive Polymer Magnetic Microspheres with Core–Shell Structure / Y. Deng, W. Yang, C. Wang, S. Fu // *Adv. Mater.* – 2003. – V.15, №20. – P. 1729-1732.
142. Development of a target-directed magnetic resonance-contrast agent using monoclonal antibody-conjugated magnetic particles / M. Suzuki, H. Honda, T. Kobayashi [et al.] // *Brain Tumor Pathology.* - 1996. - V.13. - P. 127-132.
143. Development of functionalized superparamagnetic iron oxide nanoparticles for interaction with human cancer cells / A. Petri-Fink, M. Chastellain, L. Juillerat-Jeanneret [et al.] // *Biomaterials.* – 2005. – V.26, №15. – P. 2685-2694.
144. Dextran and albumin derivatised iron oxide nanoparticles: influence on fibroblasts in vitro / C.C. Berry, S. Wells, S. Charles, A.S.G. Curtis // *Biomaterials.* – 2003. – V.24, №25. – P. 4551-4557.
145. Differential cytotoxicity exhibited by silica nanowires and nanoparticles / A. Adili, C. Saskia, F. Miles [et al.] // *Nanotoxicol.* – 2008. – V.2, №1. – P. 1-8.

146. Differential pulmonary inflammation and in vitro cytotoxicity of sizefractionated fly ash particles from pulverized coal combustion / M.I. Gilmour, S. O'Connor, C.A. Dick [et al.] // *J. Air. Waste. Manag. Assoc.* – 2004. – V. 54. – P. 286-295.
147. Direct binding procedure of proteins and enzymes to fine magnetic particles / M. Koneracka, P. Kopcansky, M. Timko, C.N. Ramchand [et al.] // *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic.* – 2002. - V.18, №1. - P. 13-18.
148. Direct measurement of colloidal forces / F.L. Calderon, T. Stora, O.M. Monval [et al.] // *Phys. Rev. Lett.* – 1994. – V.72. – P. 2959.
149. Distribution and elimination of polymethyl methacrylate nanoparticles after peroral administration to rats / M. Nefzger, J. Kreuter, R. Liehl [et al.] // *Journal pharmaceutical science.* - 1984. – V.6, №9. – P. 1309-1311.
150. Dixon M Biochemical research on chemical warfare agents / M. Dixon, D.M. Needham // *Nature.* - 1946. - V. 158. – P. 432–438.
151. Dobrovolskaia M.A. Immunological properties of engineered nanomaterials / M.A. Dobrovolskaia, S.E. McNeil // *Nature Nanotechnol.* – 2007. – V.2. – P. 469-478.
152. Dobson J. Magnetic nanoparticles for drug delivery / J. Dobson // *Drug Dev. Res.* – 2006. – V.67, №1. P 55-60.
153. Donaldson K. An introduction to the short-term toxicology of respirable industrial fibres / K. Donaldson, C. L. Tran // *Mutat. Res.* – 2004. – V.553, №1. – P. 5-9.
154. Dong Q. Degradation of surfactant protein D by alveolar macrophages / Q. Dong, J.R. Wright // *Am. J. Physiol.* – 1998. – V. 274. - №1. – P. 97-105.
155. Double-effector nanoparticles: A synergistic approach to apoptotic hyperthermia / D. Yoo, H. Jeong, C. Preihs [et al.] // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2012. – V.51, №50. – P. 12482–12485.
156. Dunkerque City air pollution particulate matter—induced cytotoxicity, oxidative stress and inflammation in human epithelial lung cells (L132) in culture / G. Garcon, Z. Dagher, F. Zerimech [et al.] // *Toxicol. in vitro.* — 2006. —V.20, №4. — P. 519–528.
157. Effect of nanoparticles on digitoxin uptake and pharmacologic activity in rat glomerular mesangial cell cultures / M. Guzman, M. R. Aberturas, M. Rodriguez-Puyol, J. Molpeceres // *Drug delivery.* - 2000. – V.7, №4. – P. 215-222.

158. Effects of fullerenes and single-wall carbon nanotubes on murine and human macrophages / S. Fiorito, A. Serafino, F. Andreola, P. Bernier // *Carbon* – 2006. – V.44, №6. - P. 1100-1105.
159. Effects of repeated silver nanoparticles exposure on the histological structure and mucins of nasal respiratory mucosa in rats / J.S. Hyun, B.S. Lee, H.Y. Ryu [et al.] // *Toxicol. Lett.* — 2008. — V.182, №1. — P.24—28.
160. EGFR-targeted magnetic nanoparticle heaters kill cancer cells without a perceptible temperature rise / M. Creixell, A.C. Bohorquez, M. Torres-Lugo, C. Rinaldi // *ACS Nano.* – 2011. – V.5, №9. - 7124–7129.
161. Endo N. A novel covalent modification of antibodies at their amino groups with retention of antigen-binding activity / N. Endo, N. Umemoto, T. Hara // *J. Immunol Methods.* – 1987. – V.104. – P. 253-308.
162. Enhanced generation of free-radicals from phagocytes induced by mineral dusts / V. Vallyathan, J.F. Mega, X. Shi, N.S. Dalal [et al.] // *American Journal Of Respiratory Cell And Molecular Biology.* – 1992. – V. 6. – P. 404-413.
163. Evaluation of Systemic chemotherapy with magnetic liposomal doxorubicin and a dipole external electromagnet / H. Nobuto, T. Sugita, T. Kubo [et al.] // *J. Cancer.* - 2004. - V.109. - P. 627–635.
164. Exposure to Carbon Nanotube Material: Aerosol Release During the Handling of Unrefined Single-Walled Carbon Nanotube Material / A.D. Maynard, P.A. Baron, M. Foley [et al.] // *Toxicol. Environ. Health.* – 2004. – V.67, №1. - P. 87-107
165. Factors Affecting the Clearance and Biodistribution of Polymeric Nanoparticles / F. Alexis, E. Pridgen, L.K. Molnar, O.C. Farokhzad // *Mol. Pharm.* – 2008. - V.5, №4. – P. 505-515
166. Fang J. Factors and mechanism of «epr» effect and the enhanced antitumor effects of macromolecular drugs including smancs / J. Fang, T. Sawa, H. Maeda // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2003. – V.519. – P.29–49.
167. Faraday M. The Bakerian Lecture: Experimental Relations of Gold (and Other Metals) to Light / M. Faraday // *Philos. Trans. R. Soc. London.* – 1857. – V.147. – P. 145-181.

168. Ferin J. Biological effects and toxicity assessment of titanium dioxides: anatase and rutile / J. Ferin, G. Oberdorster // *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* —1985. —V.46, №2. — P. 69–72
169. Ferin J. Pulmonary retention of ultrafine and fine particles in rats / J. Ferin, G. Oberdorster, D.P. Penney // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* – 1992. – V. 6. – P. 535-542.
170. Ferrosmelectics: A new magnetic and mesomorphic phase / P. Fabre, C. Casagrande, M. Veyssie [et al.] // *Phys. Rev. Lett.* – 1990. – V.64. – P. 539.
171. Flattening of ferro-vesicle undulations under a magnetic field / J.C. Bacri, V. Cabuil, A. Cebers [et al.] // *Europhys. Lett.* – 1996. – V.33, №3. – P. 235
172. Fluorescence-Modified Superparamagnetic Nanoparticles: Intracellular Uptake and Use in Cellular Imaging / F. Bertorelle, C Wilhelm, J Roger [et al.] // *Langmuir* - 2006. - V.22, №12. - P. 5385-5391.
173. Formulation and cytotoxicity of combined cyclodextrin poly(alkylcyanoacrylate) nanoparticles on Caco-2 cells monolayers intended for oral administration of saquinavir / H. Boudad, K. Mader, C. Kroll [et al.] // *STP Pharm. Sci.* – 2001. – V.11, №5. – P. 369–375.
174. Frandsen C. Reversible aggregation and magnetic coupling of α -Fe₂O₃ nanoparticles / C. Frandsen, S. Morup // *J. Phys.: Condens. Matter.* – 2006. – V.18, №31. - P. 7079–7084.
175. Gao H. Mechanics of receptor-mediated endocytosis / H. Gao, W. Shi, L.B. Freund // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2005. – V.102, №27. – P. 9469-9479.
176. Gelperina S. The Potential Advantages of Nanoparticle Drug Delivery Systems in Chemotherapy of Tuberculosis / S. Gelperina, K. Kisich, M.D. Iseman, L. Heifets // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2005. – V.172, №12. – P. 1487–1490.
177. Generation of superparamagnetic liposomes revealed as highly efficient MRI contrast agents for in vivo imaging / M.S. Martina, J.P. Fortin, C. Menager [et al.] // *J. Am. Chem. Soc.* - 2005. - V. 127. - P. 10676–10685.
178. Geng J. Direct conversion of iron stearate into magnetic Fe and Fe₃C nanocrystals encapsulated in polyhedral graphite cages / J. Geng, D. A. Jefferson, B. F. G. Johnson // *Chem. Commun.* – 2004. – №21. – P. 2442-2443.

179. Gleiter H. Nanocrystalline Materials / H. Gleiter // *Adv. Struct. and Func. Mat.* - 1991. – P.1-37.
180. Glial brain tumor targeting of magnetite nanoparticles in rats / O. Mykhaylyk, A. Cherchenko, A. Iikin [et al.] // *Journal of Magnetism and Magnetic Materials.* - 2001. - V. 225. - P. 241–247.
181. Gonzales M. Phase transfer of highly monodisperse iron oxide nanocrystals with pluronic F127 for biomedical applications / M. Gonzales, K. M. Krishnan // *J. Magn. Magn. Mat.* – 2007. – V.311, №1. – P. 59–62.
182. Gonzales M. Synthesis of magnetoliposomes with monodisperse iron oxide nanocrystal cores for hyperthermia / M. Gonzales, K. M. Krishnan // *J. Magn. Magn. Mat.* – 2005. - V.293, №1. - P. 265–270.
183. Gonzales-Weimuller M. Size-dependant heating rates of iron oxide nanoparticles for magnetic fluid hyperthermia / M. Gonzales-Weimuller, M. Zeisberger, K. M. Krishnan // *J. Magn. Magn. Mat.* – 2009. – V.321, №13. - P. 1947–1950.
184. Gupta A.K. Recent advances on surface engineering of magnetic iron oxide nanoparticles and their biomedical applications / A.K. Gupta, R.R. Naregalkar V.D. Vaidya, M. Gupta // *Nanomed.* – 2007. – V.2., №1. – P. 23–39.
185. Gupta A.K. Surface-modified superparamagnetic nanoparticles for drug delivery: preparation, characterization, and cytotoxicity studies / A.K. Gupta, S. Wells // *IEEE Trans. Nanobiosci.* – 2004. – V.3, №1. – P. 66-73.
186. Heating potential of iron oxides for therapeutic purposes in interventional radiology / I. Hilger, K. Fruhaul, W. Andra [et al.] // *Acad. Radiol.* – 2002. - V. 9. - P. 198–202.
187. Hemolysis caused by titanium dioxide particles / Y. Aisaka, R. Kawaguchi, S. Watanabe [et. al.] // *Inhal. Toxicol.* - 2008. - V.20, №9. - P. 891-893.
188. Hermanson G.T. Bioconjugate Techniques / G.T. Hermanson. – 3-rd edition. - CA: Academic Press. - 2013. – P. 1146.
189. Heterogeneity of rat liver and 259acrophages in gadolinium chloride induced elimination and repopulation / M.J. Hardonk, F.W. Dijkhuis, C.E. Hulstaert, J. Koudstaai // *J. Leukoc. Biol.* – 1992. – V. 52. – P. 296-302.

190. High-efficiency intracellular magnetic labeling with novel superparamagnetic-Tat peptide conjugates / L. Josephson, C-H. Tung, A. Moore, R. Weissleder // *Bioconj. Chem.* – 1999. – V.10, №2, - P. 186–191.
191. Highly stable carbon-protected cobalt nanoparticles and graphite shells / A.H. Lu, W.C. Li, N. Matoussevitch [et al.] // *Chem. Commun.* – 2005. – №1. - P. 98-100.
192. Histophotometric estimation of volume density of collagen as an indication on fibrosis in rat liver / J. James, K.S. Bosch, F.M. Zuyderhoudt [et al.] // *Histochemistry*, 1986. – V. 85. – P. 129-133.
193. Hoek E.M. Extended DLVO interactions between spherical particles and rough surfaces / E.M. Hoek, G.K. Agarwal // *J. Colloid Interface Sci.* – 2006. – V.298, №1. – P.50-58.
194. Hoes C.T. Optimization of macromolecular prodrugs of the antitumor antibiotic Adriamycin / C.T Hoes, W. Potman, J. Feijen // *J. Control Release.* – 1985. – V.2. – P. 205-213.
195. Hoet P. H. Health impact of nanomaterials / P. H. Hoet, A. Nemmar, B. Nemery // *Nat. Biotechnol.* – 2004. – V.22. – P. 19.
196. Huang Z. Bioresponsive liposomes and their use for macromolecular delivery / Z. Huang, F.C. Szoka. - New York: Informa Healthcare USA. - 2007. - P. 165–196.
197. Human serum albumin nanoparticles for efficient delivery of Cu, Zn superoxide dismutase gene / Y. Mo, M.E. Barnett, D. Takemoto [et al.] // *Mol. Vis.* – 2007. – V.13. P. 746-757.
198. Hussain N. Florence AT. Recent advances in the understanding of uptake of microparticulates across the gastrointestinal lymphatics / N. Hussain, V. Jaitley // *Adv. Drug. Deliv. Rev.* – 2001. – V.50. – P. 107-142.
199. Immobilization of proteins and enzymes to fine magnetic particles / M. Koneracka, P. Kopcansky, M Antalík [et al.] // *Journal of Magnetism and Magnetic Materials.* – 1999. - V.201, №1. - P. 427-430.
200. In vivo acutotoxicity of titanium dioxide nanoparticles to mice after intraperitoneal injection / J. Chen, X. Dong, J. Zhao, G. Tang // *J. Appl. Toxicol.* — 2009. — V.29, №4. — P.330—337.

201. Increased Cellular Uptake of Biocompatible Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles into Malignant Cells by an External Magnetic Field / S. Prijic [et al.] // *J. Membr. Biol.* – 2010. – V.236, №1. P. 167-179.
202. Induction of apoptosis by particulate matter: role of TNF α and MAPK / B.Y. Chin, M.E. Choi, M.D. Berdick [et al.] // *Am. J. Physiol.* – 1998. – V.275. – P. 942-949.
203. Induction of mesothelioma in p53 \pm mouse by intraperitoneal application of multi-wall carbon nanotube / A. Takagi, A. Hirose, T. Nishimura [et al.] // *J. Toxicol. Sci.* — 2008. — V.33, №1. — P.105—116.
204. Inhalation exposure study of ti-tanium dioxidenanoparticles with a primary particle size of 2 to 5 nm / V.H. Grassian, P.T. O'shaughnessy, A. Adamcakova-Dodd // *Environ Health Perspect.* — 2007. — V.115, №3. — P.397—402.
205. Interactions between Ultrafine Particles and Transition Metals in Vivo and in Vitro / M. R. Wilson, J.H. Lightbody, K. Donaldson [et al.] // *Appl. Pharmacol.* – 2002. – V.184, №3. – P. 175-179.
206. Intracellular Enzymatic Formation of Nanofibers Results in Hydrogelation and Regulated Cell Death / Z. M. Yang, K.M. Xu, Z.F. Guo [et al.] // *Advanced Materials.* – 2007. – V. 17. – P. 3152-3156.
207. Intraperitoneal injection of magnetic Fe₃O₄-nanoparticle induces hepatic and renal tissue injury via oxidative stress in mice / P. Ma, Q. Luo, J. Chen [et. al.] // *International Journal of Nanomedicine.* – 2012. – 7. – P. 4809-4818.
208. Investigations on the inflammatory and genotoxic lung effects of two types of titanium dioxide: untreated and surface treated / B. Rehn, F. Seiler, S. Rehn [et al.] // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2003. – V.189, №2. – P. 84-95.
209. Iron oxide nanocrystals for magnetic hyperthermia applications / L.M. Armijo, Y.I. Brandt, D. Mathew [et al.] // *Nanomaterials.* – 2012. – V.2. – P. 134–146.
210. Iron Oxide Nanoparticles for Sustained Delivery of Anticancer Agents / T.K. Jain, M.A. Morales, S.K. Sahoo [et al.] // *Am. Chem. Soc.* - 2003. - V.125, №51. – P.15754-15755.

211. Jani P.U. Titanium dioxide (rutile) particles uptake from the rat GI tract and translocation to systemic organs after oral administration / P.U. Jani, D.E. McCarthy, A.T. Florence // *Int. J. Pharm.* - 1994. – V.105. – P. 157–168.
212. Jun Y.W. Chemical Design of Nanoparticle Probes for High-Performance Magnetic Resonance Imaging / Y.W. Jun, J.H. Lee, J. Cheon // *Angew. Chem., Int. Ed.* – 2008. – V.47, №28. – P. 5122-5135.
213. Khandhar A.P. Monodispersed magnetite nanoparticles optimized for magnetic fluid hyperthermia: Implications in biological systems / A.P. Khandhar, R.M. Ferguson, K.M. Krishnan // *J. Appl. Phys.* – 2011. – V.109. – P. 7B310–7B3103.
214. Khedr M.H. Magnetic nanocomposites: preparation and characterization of Co-ferrite nanoparticles / M.H. Khedr, A.A. Omar, S.A. Abdel-Moarty // *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects.* – 2006. – V.281, №1. - P. 8–14.
215. Kim G.M. pH-Induced micelle formation of poly(histidine-cophenylalanine)-block-poly(ethylene glycol) in aqueous media / G.M. Kim, Y.H. Bae, W.H. Jo // *Macromol Biosci.* – 2005. – V.5. - P.1118-24.
216. Kouassi G.K. Activity of glucose oxidase functionalized onto magnetic nanoparticles / G.K. Kouassi, J. Irudayaraj, G. McCarty // *BioMagnetic Research and Technology.* - 2005. - V.3, №1. P. 3-10.
217. Kramer I.R. Surface layer effects on the mechanical behavior of metals / I.R. Kramer // *Advances Mech. and Phys. Surface.* - 1986. - V.3. - P. 109-260.
218. Kreuter J. Influence of the surface properties on nanoparticlemediated transport of drugs to the brain / J. Kreuter // *J. Nanosci. Nanotechnol.* – 2004. – V. 4. – P. 484-488.
219. Kupffer cells and not liver sinusoidal endothelial cells prevent lentiviral transduction of hepatocytes / van Til N.P. [*et al.*] // *Mol. Ther.* – 2005. – V. 11. P. 26-34.
220. Kwon G.S. Polymeric micelles for delivery of poorly water—soluble compounds / G.S. Kwon // *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* – 2003. – V.20, №5. – P. 357—403.
221. Laser ablation synthesis of monodispersed magnetic alloy nanoparticles / T. Seto, K. Koga, H. Akinaga [*et al.*] // *Journal of Nanoparticle Research* – 2006. – V.8, №3. - P. 371–378.

222. Laser-Assisted Synthesis of Superparamagnetic Fe@Au Core–Shell Nanoparticles / J. Zhang, M. Post, T. Veres [et al.] // *J. Phys. Chem. B.* – 2006. – V.110, №14. – P. 7122-7128.
223. Laser-driven synthesis and magnetic properties of iron nanoparticles / Y. He, Y. Sahoo, S. Wang [et al.] // *Journal of Nanoparticle Research.* – 2006. – V.8, №3. - P. 335–342.
224. Lattuada M. Functionalization of Monodisperse Magnetic Nanoparticles / M. Lattuada, T.A. Hatton // *Langmuir.* – 2007. – V.23, №4. – P. 2158-2168.
225. Lee E.S Super pH-Sensitive multifunctional polymeric micelle / E.S. Lee, K. Na, Y.H. Bae // *Nano Lett.* – 2005. – V.5. - P.325-329.
226. Lee K.P. Pulmonary response of rats exposed to titanium dioxide (TiO₂) by inhalation for two years / K.P. Lee, H.J. Trochimowicz, C.F. Reinhardt // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 1985. – V.79. – P. 179-192.
227. Liao M.H. Immobilization of yeast alcohol dehydrogenase on magnetic nanoparticles for improving its stability / M.H. Liao, D.H. Chen // *Biotechnology Letters.* – 2001. - V.23. - P. 1723–1727.
228. Liposome-entrapped ampicillin in the treatment of experimental murine listeriosis and salmonellosis / E. Fattal, J. Rojas, M. Youssef [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 1991. – V.35, №4. – P. 770–772.
229. Liu W.T. Nanoparticles and their biological environmental applications / W.T. Liu // *Journal of bioscience and bioengineering.* - 2006. - V. 102. – P. 213-219.
- Обсуждение
230. Long circulating iron oxides for MR imaging / R. Weissleder, A. Bogdanov, E.A. Neuwelt, M. Papisov [et al.] // *Adv. Drug Delivery Rev.* -1995. - V.16. - P. 321–334.
231. Longmire M. Clearance properties of nano-sized particles and molecules as imaging agents: considerations and caveats / M. Longmire, P.L. Choyke, H. Kobayashi // *Nanomedicine.* – 2008. – V.3, №5. – P. 703-717.
232. Long-term clearance kinetics of inhaled ultrafine insoluble iridium particles from the rat lung, including transient translocation into secondary organs / M. Semmler, J. Seitz, F. Erbe [et al.] // *Inhal. Toxicol.* – 2004. – V.16. - P. 453-459.

233. Lubbe A.S. Clinical applications of magnetic drug targeting / A.S. Lubbe, C. Alexiou, C. Bergemann // *J. Surg. Res.* – 2001. - V.95. - P. 200–206.
234. Lyotropic ferronematics: Magnetic orientational transition in the discotic phase / V. Berejnov, J.C. Barci, V. Cabuil [et al.] // *J. Colloid Interface Sci.* – 1998. – V.41, №5. – P. 507.
235. Macromolecular therapeutics: advantages and prospects with special emphasis on solid tumour targeting / K. Greish, J. Fang, T. Inutsuka [et al.] // *Clin. Pharmacokinet.* – 2003. – V.42. – P.1089–1105.
236. Maeda H. The enhanced permeability and retention (epr) effect in tumor vasculature: the key role of tumor-selective macromolecular drug targeting / H. Maeda // *Adv. Enzyme Regul.* – 2001. – V.41. – P.189–207.
237. Magnetic behavior of free-iron and iron oxide clusters / D.M. Cox, D.J. Trevor, R.L. Whetten [et al.] // *Phys. Rev.* – 1985. – V.32. – P. 7290.
238. Magnetic Nanoparticles: Synthesis, Protection, Functionalization, and Application / A. H. Lu, E.L. Salabas, F. Schuth // *Angew. Chem. Int. Ed.* - 2007. - V.46. - P. 1222 – 1244.
239. Magnetic properties of cobalt-cluster dispersions generated in an electrochemical cell / J.A. Becker, R.S. Afer, J.R. Festag [et al.] // *Surf. Rev. Lett.* – 1996. – V.3, №1. – P.1121
240. Magnetic relaxation switches capable of sensing molecular interactions / J.M. Perez, L. Josephson, T. O’Loughlin [et al.] // *Nat. Biotechnol.* - 2002. - V. 20. - P. 816-820.
241. Magnetic resonance of a dextran-coated magnetic fluid intravenously administered in mice / L.M. Lacava, Z.G. Lacava, M.F. Da Silva [et al.] // *J. Biophys.* - 2001. - V. 80. - P. 2483–2486.
242. Magnetic resonance properties of $\text{La}_{0.8}\text{Sr}_{0.2}\text{MnO}_3$ small particles / Yu. A. Koksharov, V. N. Nikiforov, V. D. Kuznetsov, G. B. Khomutov // *Microelectronic Engineering.* – 2005. –V.81, №2. - P. 169–570.

243. Magnetic resonance tracking of transplanted bone marrow and embryonic stem cells labeled by iron oxide nanoparticles in rat brain and spinal cord / P. Jendelova, V. Herynek, L. Urdzikova [et al.] // *J. Neurosci. Res.* – 2004. – V. 76. – P. 232-243.
244. Magnetic Targeting of Magnetoliposomes to Solid Tumors with MR Imaging Monitoring in Mice: Feasibility / J.P. Fortin-Ripoche, M.S. Martina, F. Gazeau [et al.] // *Radiology.* - 2006 - V. 2. - P. 415-424.
245. Magnetic thin films of cobalt nanocrystals encapsulated in graphite-like carbon / T. Hayashi, S. Hirono, M. Tomita, S. Umemura // *Nature.* – 1996. – V.381. – P. 772-774.
246. Magnetic, optical and relaxometric properties of organically coated gold–magnetite (Au–Fe₃O₄) hybrid nanoparticles for potential use in biomedical applications / E. Umut, F. Pineider, P. Arosio [et al.] // *J. Magn. Mater.* – 2012. – V.324, №15. P. 2373-2379
247. Markosian M. Oligonucleotides and polyribonucleotides: a review of antiviral activity / M. Markosian, R.M. Hyde // *Antivir. Chem. Chemother.* – 2005. – V.16. – P. 91–102.
248. McNeil S.E. Nanoparticle therapeutics: a personal perspective / S.E. McNeil // *WIREs Nanomed. Nanobiotechnol.* – 2009. – V.1, №3. – P. 264-271.
249. Mechanisms of GM-CSF increase by diesel exhaust particles in human airway epithelial cells / S. Boland, V. Bonvallet, T. Fournier [et al.] // *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* – 2000. – V.278. – P. 25-32.
250. Meyer M. Nanotechnology: generalizations in an interdisciplinary field of science and technology / M. Meyer, O. Kuusi // *International journal for philosophy of chemistry.* - 2002. – V.10. – P.153-168.
251. Microstructures and coercivities of SmCo_x and Sm(Co,Cu)₅ films prepared by magnetron sputtering / J. Zhang, Y.K. Takahashi, R. Gopalan, K. Hono // *JMMM.* – 2007. – V.310. – P. 1–7.
252. Moghimi S.M. Poloxamers and poloxamines in nanoparticle engineering and experimental medicine / S.M. Moghimi, A.C. Hunter // *Trends Biotechnol.* – 2000. – V.18, №10. – P. 412-420.

253. Molecular characterization of the cytotoxic mechanism of multiwall carbon nanotubes and nanofibers on human skin fibroblast / L.H. Ding, J. Stilwell, H.J. Zhang [et al.] // *Nano Lett.* — 2005. — V.5, №12. — P.2448—2464.
254. Multifunctional Uniform Nanoparticles Composed of a Magnetite Nanocrystal Core and a Mesoporous Silica Shell for Magnetic Resonance and Fluorescence Imaging and for Drug Delivery / J. Kim, H.S. Kim, N. Lee [et al.] // *Angew. Chem. Int. Ed.* -2008. — V.47, №44. — P. 8438-8441
255. Multiwalled carbon nanotubes injure the plasma membrane of macrophages / S. Hirano, S. Kanno, A. Furuyama // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* — 2008. — V.232, №2. — P.244—251.
256. Nanoparticle interaction with plasma proteins as it relates to particle biodistribution, biocompatibility and therapeutic efficacy / P. Aggarwal, J.B. Hall, C.B. McLeland [et al.] // *Adv. Drug Deliv. Rev.* — 2009. — V.61, №6. — P. 428-437.
257. Nanoparticle surface charges alter blood-brain barrier integrity and permeability / P.R. Lockman, J.M. Koziara, R.J. Mumper, D.D. Allen // *J. Drug. Target.* — 2004. — V. 12. — P. 635-641.
258. Nanoparticle-induced platelet aggregation and vascular thrombosis / A. Radomski, P. Jurasz, D. Alonso-Escolano [et al.] // *Br. J. Pharmacol.* — 2005. — V.146, №6. — P.882—893.
259. Nanoscale particles having an iron oxide-containing core enveloped by at least two shells / C. Lesniak, T. Schiestel, H. Schmidt, A. Jordan // USA Patent US 2003/0180370 A1, 2003.
260. Nanosystems for simultaneous imaging and drug delivery to T cells / T.M. Fahmy, P.M. Fong, J. Park [et al.] // *AAPS J.* — 2007. — V.9, №4. — P. E171-E180.
261. Nanotoxicity of TiO₂ nanoparticles to erythrocyte in vitro / S.Q. Li, R.R. Zhu, H. Zhu // *Food Chem. Toxicol.* - 2008. - V.46, №12. - P. 3626-3631.
262. Near-infrared fluorescence microscopy of single-walled carbon nanotubes in phagocytic cells / P. Cherukuri, S.M. Bachilo, S.H. Litovsky, R.B. Weisman // *Journal of the American Chemical Society.* — 2004. — V.126. — P. 15638-15639.
263. Nel A. Toxic Potential of Materials at the Nanolevel / A. Nel // *Science.* — 2006. —

V.311. - P. 622-627.

264. Nemmar A. Ultrafine particles affect experimental thrombosis in an in vivo hamster model / A. Nemmar, M.F. Hoylaerts, P.H. Hoet // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* —2002. — V.166. — P. 998–1004.

265. Nesper R. Synthesis and Characterization of Carbon-Based Nanoparticles and Highly Magnetic Nanoparticles with Carbon Coatings / R. Nesper, A. Ivantchenko, F. Krumeich // *Adv. Funct. Mater.* – 2006. – V.16, №12. – P. 296-305.

266. New environmental nontoxic agents for preparation of core-shell magnetic nanoparticles / A.E. Chekanova, T.A. Sorkina, A.L. Dubov [et al.] // *Mendelev Communcation.* – 2009. – V.19, №2. – P. 72-74.

267. Nikiforov V.N. Biomedical applications of the magnetic nanoparticles / V.N. Nikiforov, E.Yu. Filinova // *Wiley.* - 2009. – P. 393-454.

268. Nonpolymeric coatings of iron oxide colloids for biological use as magnetic resonance imaging contrast agents / D. Portet, B. Denizot, E. Rump [et al.] // *J. Coll. Inter. Sci.* - 2001. - V. 238. - P. 37–42.

269. Oberdorster G. Nanotoxicology: An Emerging Discipline Evolving from Studies of Ultrafine Particles / G. Oberdorster, E. Oberdorster, J. Oberdorster // *Environmental Health Perspectives.* — 2005. — V.7, №13. — P. 823–839.

270. Oral bioavailability of a poorly water soluble HIV-1 protease inhibitor incorporated into pH-sensitive particles: effect of the particle size and nutritional state / F. De Jaeghere, E. Allemann, F. Kubel [et al.] // *J. Control. Release.* – 2000. - V. 68, №2. – P. 291–298.

271. Owens D.E. Opsonization, biodistribution, and pharmacokinetics of polymeric nanoparticles / D.E. Owens, N.A. Peppas // *Int. J. Pharm.* – 2006. – V.307, №1. – P. 93-102.

272. Oxidant-induced DNA damage by quartz in alveolar epithelial cells / R.P. Schins, A.M. Knaapen, G.D. Cakmak [et al.] // *Mutat. Res.* – 2002. – V.517, №1. – P. 77-86.

273. Particokinetics and extrapulmonary translocation of intratracheally instilled ferric oxide nanoparticles in rats and the potential health risk assessment / M.T. Zhu, W.Y. Feng, Y. Wang [et al.] // *Toxicol. Sci.* — 2009. — V.107, №2. — P.342—351.

274. Pascal C. Electrochemical Synthesis for the Control of γ -Fe₂O₃ Nanoparticle Size. Morphology, Microstructure, and Magnetic Behavior / C. Pascal, J.L. Pascal, F. Favier // Chem. Mater. – 1999. – V.11, №1. – P. 141-147.
275. Passage of intratracheally instilled ultrafine particles from the lung into the systemic circulation in hamster / A. Nemmar, H. Vanbilloen, M.F. Hoylaerts [et al.] // American journal respiratory society. – 2001. – V. 164. – P. 1665–1668.
276. PEG Branched Polymer for Functionalization of Nanomaterials with Ultralong Blood Circulation / G. Prencipe, S.M. Tabakman, K. Welsher [et al.] // Am. Chem. Soc. – 2009. – V.131, №13. – P. 4783-4787.
277. Phase-Selective Deposition and Microstructure Control in Iron Oxide Films Obtained by Single-Source CVD / S. Mathur, M. Veith, V. Sivakov [et al.] // Chem. Vap. Deposition. – 2002. – V.8., №6. – P. 277-283.
278. Physiological aspects in magnetic drug-targeting / A.S. Lubbe, C. Bergermann, J. Brock, D.G. McClure [et al.] // Journal of Magnetism and Magnetic Materials. - 1999. - V. 194. - P. 149–155.
279. Pinteala M. Binding fullereneol C₆₀(OH)₂₄ to dsDNA / M. Pinteala, A. Dascalu // Inter. J. of Nanomedicine. - 2009. - V.4. - P.193-199.
280. Porous Hollow Fe₃O₄ Nanoparticles for Targeted Delivery and Controlled Release of Cisplatin / K. Cheng, S. Peng, C. Xu, S. Sun // J. Am. Chem. Soc. – 2007. – V.131, №30. – P. 10637-10644
281. Post-mortem studies in glioblastoma patients treated with thermotherapy using magnetic nanoparticles / F.K.H. van Landeghem, K. Maier-Hauff, A. Jordan [et al.] // Biomaterials. – 2009. – V.30, №1. – P. 52–57.
282. Prijic S. Magnetic nanoparticles as targeted delivery systems in oncology / S. Prijic, G. Sersa // Radiol. Oncol. – 2011. – V.45, №1. – P. 1-16.
283. Pulmonary Toxicity of Single-Wall Carbon Nanotubes in Mice 7 and 90 Days After Intratracheal Instillation / C. W. Lam, J. T. James, R. McCluckey, R. L. Hunter // Toxicol. Sci. – 2004. – V.77, №1. - P. 126-134.

284. Quantification of the internalization patterns of superparamagnetic iron oxide nanoparticles with opposite charge / C. Schweiger, R. Hartmann, F. Zhang [et al.] // *J Nanobiotechnol.* – 2012. – V.10, №28. – P. 1–11.
285. Quantum dots – characterization, preparation and usage in biological systems / J. Drbohlavova, V. Adam, R. Kizek, J. Hubalek // *In. J. Miol. Sci.* - 2009. - V.10, №2 - P. 656-673.
286. Quenching of Magnetic Moments by Ligand-Metal Interactions in Nanosized Magnetic Metal Clusters / D.A. van Leeuwen, J.M. van Ruitenbeek, L.J. de Jongh [et al.] // *Phys. Rev. Lett.* – 1994. – V.73, №10. P. 1432–1436.
287. Quinones and Aromatic Chemical Compounds in Particulate Matter Induce Mitochondrial Dysfunction: Implications for Ultrafine Particle Toxicity / T. Xia, P. Korge, J.N. Weiss [et al.] // *Environ. Health. Perspect.* – 2004. – V.112, №14. – P. 1347-1358.
288. Rapid endo-lysosomal escape of poly(DL-lactide-co-glycolide) nanoparticles: implications for drug and gene delivery / J. Panyam, W.Z. Zhou, S. Prabha [et al.] // *FASEB J.* – 2002. – V.16, №10. – P. 1217-1226.
289. Receptor-mediated targeting of magnetic nanoparticles using insulin as a surface ligand to prevent endocytosis / A.K. Gupta, C. Berry, M. Gupta, A. Curtis // *IEEE Trans. Nanobiosci.* – 2003. – V.2, №4. – P. 255-261.
290. Regional variation in percutaneous penetration in man / H.I. Maibach, R.J. Feldman, T.H. Milby, W.F. Serat // *Arch. Environ. Health.* – 1971. – V.23. – P. 208–211.
291. Resolving the Structure of Ligands Bound to the Surface of Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles by High-Resolution Magic-Angle Spinning NMR Spectroscopy / L. Polito, M. Colombo, D. Monti [et al.] // *J. Am. Chem. Soc.* – 2008. – V.130, №38. – P. 12712-12724
292. Respiratory effects are associated with the number of ultrafine particles / A. Peters, H.E. Wichmann, T. Tuch [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* – 1997. – V. 155. – P. 1376-1383.

293. Reviewing the environmental and human health knowledge base of carbon nanotubes / A. Helland, P. Wick, A. Koehler [et al.] // *Environ Health Perspect.* — 2007. — V.115, №8. — P.1125—1131.
294. RGD-anchored magnetic liposomes for monocytes/neutrophils-mediated brain targeting / S. Jain, V. Mishra, P. Singh [et al.] // *Int. J. Pharm.* — 2003. — V.261, №1-2. — P.43-55.
295. Rosi N.L. Nanostructures in biodiagnostics / N.L. Rosi, C.A. Mirkin // *Chemistry review.* — 2005. — V.105, №4. — P. 1547-1562.
296. Ryman-Rasmussen J. P. Penetration of Intact Skin by Quantum Dots with Diverse Physicochemical Properties / J. P. Ryman-Rasmussen, J. E. Riviere // *Toxicol. Sci.* — 2006. — V.91, № 1. — P. 159-165.
297. Sahoo S.K. The present and future of nanotechnology in human health care / S.K. Sahoo, S. Parveen, J.J. Panda // *Nanomedicine: Nanotechnology in human health care.* —2007. — V.3. - P. 20—31.
298. Salata O.V. Applications of nanoparticles in biology and medicine / O.V. Salata // *J. of Nanobiotechnology.* — 2004. — V. 2. — P. 120-127.
299. Saltzman W.M. Drug Delivery: Engineering Principles for Drug Therapy / W.M. Saltzman. - Oxford University Press. - New York. — 2001. — P. 384.
300. Sarbani D.R. Potential aspects of chitosan as pharmaceutical excipient / D.R. Sarbani // *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research.* — 2011. — V.68., №5. — P. 619-622.
301. Schmid G. Nanoparticles: From Theory to Application / G. Schmid // New York, Wiley Interscience — 2004. - P. 443.
302. Scientific and clinical applications of magnetic carriers / U. Hafeli, W. Schutt, J. Teller, M. Zborowski. — Springer US. — 1997. - P.628.
303. Scott J. H. J. Morphology, structure, and growth of nanoparticles produced in a carbon arc / J. H. J. Scott, S. A. Majetich // *Phys. Rev. B.* — 1995. — V.52. — P. 12564.
304. Shen L. Bilayer Surfactant Stabilized Magnetic Fluids: Synthesis and Interactions at Interfaces / L. Shen, P. E. Laibinis, T. A. Hatton // *Langmuir.* — 1999. — V.15, №2. — P. 447-453.
305. Shubayev V.I. Magnetic nanoparticles for theragnostics / V.I. Shubayev, T.R.

- Pisanic, S. Jin // *Adv. drug delivery.* – 2009. – V.61. – P. 467-477.
306. Significance of cell ‘observer’ and protein source in nanobiosciences / S. Laurent, C. Burtea, C. Thirifays [et al.] // *J. Colloid Interface Sci.* – 2013. – V.392. – P. 431–45.
307. Silica binding and toxicity in alveolar macrophages / R.F. Hamilton, S.A. Thakur, A. Holian // *Free Radic. Biol. Med.* – 2008. – V. 44. – P. 1246-1258.
308. Silica nanoparticles as hepatotoxicants / H. Nishimori, M. Kondoh, K. Isoda [et al.] // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics.* – 2009. – V.72. – P. 496-501.
309. Size-dependency of nanoparticle-mediated gene transfection: studies with fractionated nanoparticles / S. Prabha, W.Z. Zhou, J. Panyam, V. Labhasetwar // *Int. J. Pharm.* – 2002. – V.244, №1. – P. 105-115.
310. Size-Dependent Cytotoxicity of Gold Nanoparticles / Y. Pan, S. Neuss, A. Leifert [et al.] // *Small.* – 2007. – V.4, №11. – P. 1941-1949.
311. Soluble metals as well as the insoluble particle fraction are involved in cellular DNA damage induced by particulate matter / A.M. Knaapen, T. Shi, P.J Born, R.P. Schins // *Molecular And Cellular Biochemistry.* – 2002. – V.234. – P. 317-326.
312. Sonochemical synthesis, structure and magnetic properties of air-stable Fe₃O₄/Au nanoparticles / W. Wu, Q. He, H. Chen [et al.] // *Nanotechnology.* – 2007. – V.18, №14. – P. 145609.
313. Sosnovik D.E. Magnetic nanoparticles for MR imaging: agents, techniques and cardiovascular applications / D.E. Sosnovik, M. Nahrendorf, R. Weissleder // *Basic Res. Cardiol.* -2008. – V.103, №2. – P. 122-130.
314. Sousa M.H. New Electric Double-Layered Magnetic Fluids Based on Copper, Nickel, and Zinc Ferrite Nanostructures / M.H. Sousa, F.A. Tourinho [et al.] // *Phys. Chem. B.* – 2001. – V.105, №6. – P. 1168-1175.
315. Spleen capture of nanoparticles: influence of animal species and surface characteristics / M. Demoy, J. Andreux, C Weingarten [et al.] // *Pharm. Res.* – 1999. – V. 16. – P. 37-41.

316. Stabilization of chymotrypsin by covalent immobilization on amine-functionalized superparamagnetic nanogel / J. Hong, P. Gong, D. Xu [et al.] // *J. of Biotechnology*. - 2007. - V.128. - P. 597–605.
317. Structural and magnetic properties of nanoscale iron oxide particles synthesized in the presence of dextran or polyvinyl alcohol / H. Pardoe, W. Chua-anusorn, T.G.St Pierre, J. Dobson [et al.] // *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. – 2001. - V. 225. - P.41–46.
318. Subchronic inhalation toxicity of silver nanoparticles / J.H. Sung, J.H. Ji, J.D. Park [et al.] // *Toxicol. Sci.* — 2008. — V.108, №2. — P. 452—461.
319. Sun S. Synthesis of monodisperse cobalt nanocrystals and their assembly into magnetic superlattices (invited) / S. Sun, C.B. Murray // *J. Appl. Phys.* – 1999. – V.85. – P. 4325
320. Surface modification of RGD-liposomes for selective drug delivery to monocytes/Neutrophils in brain / J. Qin, D. Chen, H. Hu [et al.] // *Chem. Pharm. Bull.* - 2007. – V.55, №8. – P.1192–1197.
321. Surface modified Fe₃O₄ nanoparticles as a protein delivery vehicle / L. Xu, M. Kim, K. Kim [et al.] // *Colloids Surf. A.* – 2009. – V.350, №1. – P. 8-12.
322. Synthesis and Cellular Up-take of Porphyrin Decorated Iron Oxide Nanoparticles- A Potential Candidate for Bimodal Anticancer Therapy / H. Gu, K. Xu, Z Yang [et al.] // *Chemical Communications*. – 2005. – P. 4270-4272.
323. Synthesis and characterization of biocompatible Fe₃O₄ nanoparticles / J. Sun, S. Zhou, P. Hou [et al.] // *J. Biomed. Mat. Res., Part A.* – 2007. – V.80, №2. - P. 333-341.
324. Synthesis and functionalisation of magnetic nanoparticles for hyperthermia applications / C. Gruttner, K. Muller, J. Teller, F. Westphal // *Int. J. hyperthermia.* – 2013. – V.1. – 1-13.
325. Synthesis and investigation of magnetic properties of Gd-substituted Mn-Zn ferrite nanoparticles as a potential low-TC agent for magnetic fluid hyperthermia / T.N. Brusentsova, N.A. Brusentsov, V.D. Kuznetsov, V.N. Nikiforov // *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. – 2005. – V.293, №1. - P. 298–302.

326. Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications / A.K. Gupta, M. Gupta // *Biomaterials*. – 2005. - V.26. - P. 3995-4021.
327. Synthesis of Iron Oxide Nanoparticles Used as MRI Contrast Agents: A Parametric Study / L. Babes, B. Denizot, G. Tanguy [et al.] // *Colloid Interface Sci.* – 1999. – V.212, №2. – P. 474-482.
328. Targeting of 3'-Azido 3'-Deoxythymidine (AZT)-Loaded Poly(Isohexylcyanoacrylate) Nanospheres to the Gastrointestinal Mucosa and Associated Lymphoid Tissues / A. Dembri, M.J. Montisci, J.C. Gantier [et al.] // *Pharm. Res.* – 2001. – V.18, №4. – P. 467–473.
329. Tassa C. Dextran-coated iron oxide nanoparticles: A versatile platform for targeted molecular imaging, molecular diagnostics and therapy / C. Tassa, S.Y. Shaw, R. Weissleder // *Acc. Chem. Res.* – 2011. – V.44, № 10. P. 842–852.
330. The acute proinflammatory and prothrombotic effects of pulmonary exposure to rutile TiO₂ nanorods in rats / A. Nemmar, K. Melghit, B.H. Ali // *Exp. Biol. Med.* — 2008. — V.233, №5. — P.610—619.
331. The differential cytotoxicity of water-soluble fullerenes / C. M. Sayes, J.D. Fortner, W. Guo [et al.] // *Nano. Lett.* - 2004. – V.4, №10. – P. 1881-1887.
332. The effect of carbon encapsulation on the magnetic properties of Ni nanoparticles produced by arc discharge in de-ionized water / K.H. Ang, I. Alexandrou, N.D. Mathur [et al.] // *Nanotechnology*. – 2004. - V15, №5. – P. 520.
333. The effects of nanoparticles on mouse testis Leydig cells in vitro / T. Komatsu, M. Tabata, M. Kubo-Irie [et al.] // *Toxicol. In Vitro*. — 2008. — V.22, №8. — P.1825—1831.
334. The importance of surface area and specific reactivity in the acute pulmonary inflammatory response to particles / R. Duffin, C.L. Tran, A. Clouter [et al.] // *Ann. Occup. Hyg.* – 2002. – V. 46. – P. 242-245.
335. The potential risks of nanomaterials / P.J. Borm, D. Robbins, S. Haubold [et al.] // *Particle and fibre toxicology*. – 2006. – Vol. 3. – P. 1-36.

336. The Staining Properties of Pyridylazophenol Analogs in Histochemical Staining of a Metal / Y. Sumi, T. Inoue, T. Muraki, T. Suzuki // *Histochemistry*. – 1983. - V. 77. – P. 1-7.
337. The Structure of Carbon Encapsulated NiFe Nanoparticles / W. Teunissen, F.M. de Groot [et al.] // *J. Catal.* – 2001. – V.204, №1. – P. 169-174.
338. The synthesis of core-shell iron@gold nanoparticles and their characterization / Z. Ban, Y.A. Barnakov, F. Li [et al.] // *J. Mater. Chem.* – 2005. – V.15. – P. 4660-4662.
339. Thiesen B. Clinical applications of magnetic nanoparticles for hyperthermia / B. Thiesen, A. Jordan // *Int. J. Hyperthermia*. – 2008. – V.24, №6. – P. 467–474.
340. Thomas K., Sayre P. Research Strategies for Safety Evaluation of Nanomaterials / K. Thomas, P. Sayre // *Toxicological Sciences*. – 2005. – V. 87. – P. 316–321.
341. Tissue engineering using magnetite nanoparticles and magnetic force: heterotypic layers of cocultured hepatocytes and endothelial cells / A. Ito, Y. Takizawa, H. Honda [et al.] // *Tissue Eng.* – 2004. - V.10. - P.833-840.
342. Tissue distribution and toxicity of intravenously administered titanium dioxide nanoparticles in rats / E. Fabian, R. Landsiedel, L. Ma-Hock [et al.] // *Arch. Toxicol.* — 2008. — V.82, №3. — P.151—157.
343. Titanium dioxide nanoparticles aggravate atopic dermatitis-like skin lesions in NC/Nga mice / R. Yanagisawa, H. Takano, K. Inoue [et al.] // *Exp. Biol. Med.* (Maywood). — 2009. — V.234, №3. — P.314—322.
344. Toxic Potential of Materials at the Nanolevel / A. Nel, T. Xia, L. Madler, N. Li // *Science*. – 2007. – V.311, №5761. – P. 622-627.
345. Toxicity of Gold Nanoparticles Functionalized with Cationic and Anionic Side Chains / C. M. Goodman, C. D. McCusker, T. Yilmaz, V. Rotello // *Bioconjugate Chem.* – 2004. – V.15, №4. – P. 897-900.
346. Toxicity of Luminescent Silica Nanoparticles to Living Cells / Y. Jin, S. Kannan, M. Wu, J. Zhao // *Chem. Res. Toxicol.* – 2007. – V.20, №8. – P. 1126-1133.
347. Toxicological Impact Studies Based on Escherichia coli Bacteria in Ultrafine ZnO Nanoparticles Colloidal Medium / R. Brayner, R. Ferrari-Iliou, S. Djediat, F. Fievet // *Nano Lett.* – 2006. – V.6, №4. – P. 866-870.

348. Translocation of bioactive peptides across cell membranes by carbon nanotubes / D. Panterotto, J-P. Briand, M. Prato, A. Bianco // *Chem. Commun.* – 2004. – №1. – P. 16-17.
349. Translocation of inhaled ultrafine particles to the brain / G. Oberdorster, Z. Sharp, V. Atudorei [et al.] // *Inhal. Toxicol.* – 2004. – V. 16. - P. 437-445.
350. Translocation of ultrafine insoluble iridium particles from lung epithelium to extrapulmonary organs is size dependent but very low / W.G. Kreyling, M. Semmler, F. Erbe [et al.] // *Journal toxicology environ health.* - 2002. – V. 65(20). – P. 1513-1530.
351. Tumoral distribution of long-circulating dextran-coated iron oxide nanoparticles in a rodent model / A. Moore, E. Marecos, A.J. Bogdanov, R. Weissleder // *Radiology.* – 2000. – V. 214. – P. 568-574.
352. Ulman A. Formation and Structure of Self-Assembled Monolayers / A. Ulman // *Chem. Rev.* – 1996. – V.96, №4. – P. 1533-1554.
353. Ulrich A.S. Biophysical aspects of using liposomes as delivery vehicles / A.S. Ulrich // *Bioscience Reports.* – 2002. – V.22, №2. – P.129–150.
354. Ultrafine particulate pollutants induce oxidative stress and mitochondrial damage / N. Li, C. Sioutas, A. Cho [et al.] // *Environ. Health Perspect.* – 2003. – V.111, №4. – P. 455-460.
355. Understanding biophysicochemical interactions at the nano-bio interface / A.E. Nel, L. Madler, D. Velegol [et al.] // *Nature Mater.* – 2009. – V.8. – P. 543-557
356. Unusual inflammatory and fibrogenic pulmonary responses to single walled carbon nanotubes in mice / A.A. Shvedova, E.R. Kisin, R. Mercer [et al.] // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* — 2005. — V.289, №55. — P. LL698—708.
357. Uptake of nanoparticles by rat glomerular mesangial cells in vivo and in vitro / L. Manil, J.C. Davin, C. Duchenne [et al.] // *Pharm. Research.* – 1994. – V.5. – P. 134-144.
358. Utell M.J. Acute health effects of ambient air pollution: the ultrafine particle hypothesis / M.J. Utell, M.W. Frampton // *J. Aerosol. Med.* – 2000. – V.13. – P. 355-359.
359. Vitamin E (D-alpha-tocopheryl-co-poly(ethylene glycol) 1000 succinate) micelles-superparamagnetic iron oxide nanoparticles for enhanced thermotherapy and MRI / P.

- Chandrasekharan, D. Maity, C.X. Yong [et al.] // *Biomaterials*. – 2011. -V32, №24. – P. 5663–5672.
360. Wang J. Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration / J. Wang, G. Zhou, C. Chan // *The journal of physical chemistry*. - 2007. – V.168. - P. 176–185
361. Wang W. C. Surface Functionalization of Fe₃O₄ Magnetic Nanoparticles via RAFT-Mediated Graft Polymerization / W. C. Wang, K. G. Neoh, E. T. Kang // *Macromol Rapid Commun*. – 2006. – V.27, №19. – P. 1665-1669.
362. Warheit D.B. Pulmonary toxicity studies with TiO₂ particles containing various commercial coatings / D.B. Warheit, T.R. Webb, K.L. Reed // *Toxicologist*. — 2003. — V.72, №1. — P. 298–300.
363. Water-dispersible sugar-coated iron oxide nanoparticles. An evaluation of their relaxometric and magnetic hyperthermia properties / L. Lartigue, C. Innocenti, T. Kalaivani [et al.] // *J. Am. Chem. Soc.* - 2011. – V.133, №27. – P. 10459–10472.
364. Wisse E. A transmission electron microscopic study on the uptake of AMI-25 by sinusoidal liver cells / E. Wisse, D. Doucet, H.A. Van Bossuyt // *Cells of the hepatic sinusoid*. – 1991. V.3. – P. 534-539.
365. Wu H. pH-sensitive poly(histidine)-PEG/DSPE-PEG co-polymer micelles for cytosolic drug delivery / H. Wu, L. Zhu, V.P. Torchilin // *Biomaterials*. – 2013. – V.34. – P.1213-1222.
366. X-ray characterization of nanocrystalline Ni₃Fe / P. Bose, S. Bid, S.K. Pradhan [et al.] // *J. Alloys Compd.* – 2002. – V.343, №1. – P. 192-198.
367. Yamaoka T. Distribution and tissue uptake of poly(ethylene glycol) with different molecular weights after intravenous administration to mice / T. Yamaoka, Y. Tabata, Y. Ikada // *J. Pharm. Sci.* – 1994. – V.83, №4. – P. 601-606.
368. Yin J.S. Preparation of self-assembled cobalt nanocrystal arrays / J.S. Yin, Z.L. Wang // *Nanostruct. Mater.* – 1999. - V.10, №7. - P. 845-852.
369. Yokoyama M. Polymeric micelles as a new drug carrier system and their required considerations for clinical trials / M. Yokoyama // *Drug Deliv.* - 2010. – V.7, №2. – P. 145-158.

370. Yokoyama M. Preparation of micelle-forming polymer-drug conjugates / M. Yokoyama, G.S. Kwon, K. Kataoka // *Bioconjugate Chem.* – 1992. – V.3. – P.295-301.
371. Zhang Y. Surface modification of superparamagnetic magnetite nanoparticles and their intracellular uptake / Y. Zhang, N. Kohler, M. Zhang // *Biomaterials.* – 2002. – V.23, №7. – P. 1553-1561.

Динамика количества Перлс-положительных клеток в 1 мм² среза печени крыс после однократного и многократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе (X±s).

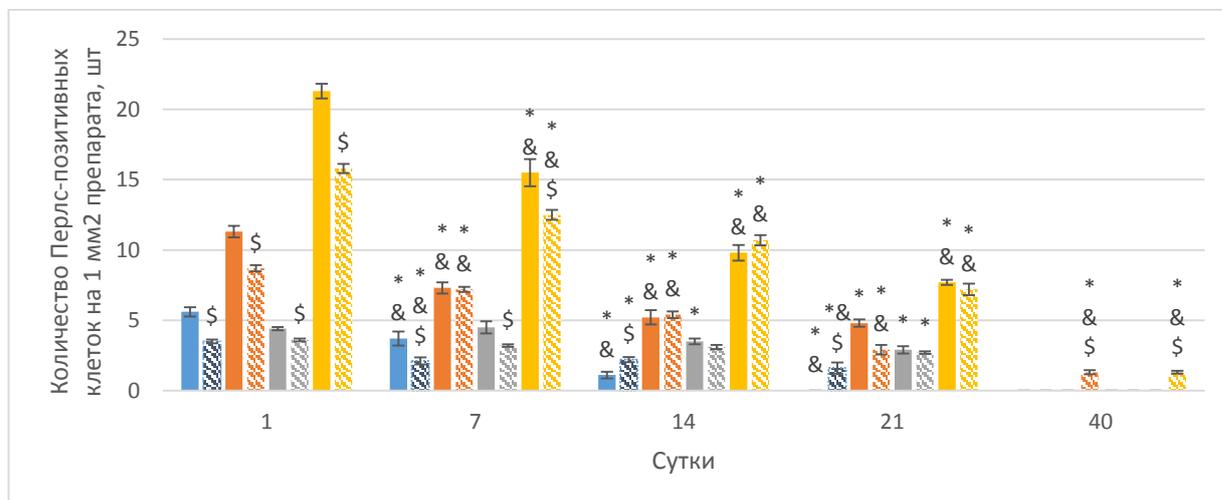
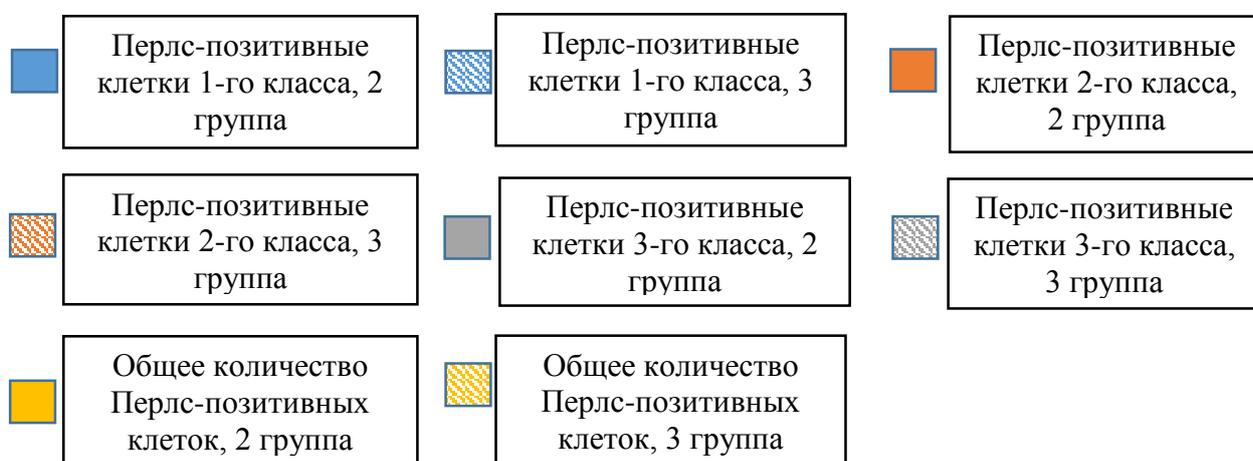


Рисунок 1.1. Динамика количества Перлс-положительных клеток в 1 мм² среза печени крыс после однократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе в дозе 6 мг(Fe)/кг_(массы тела).



Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы (p<0,05).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе (p<0,05).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе (p<0,05).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе (p<0,05).

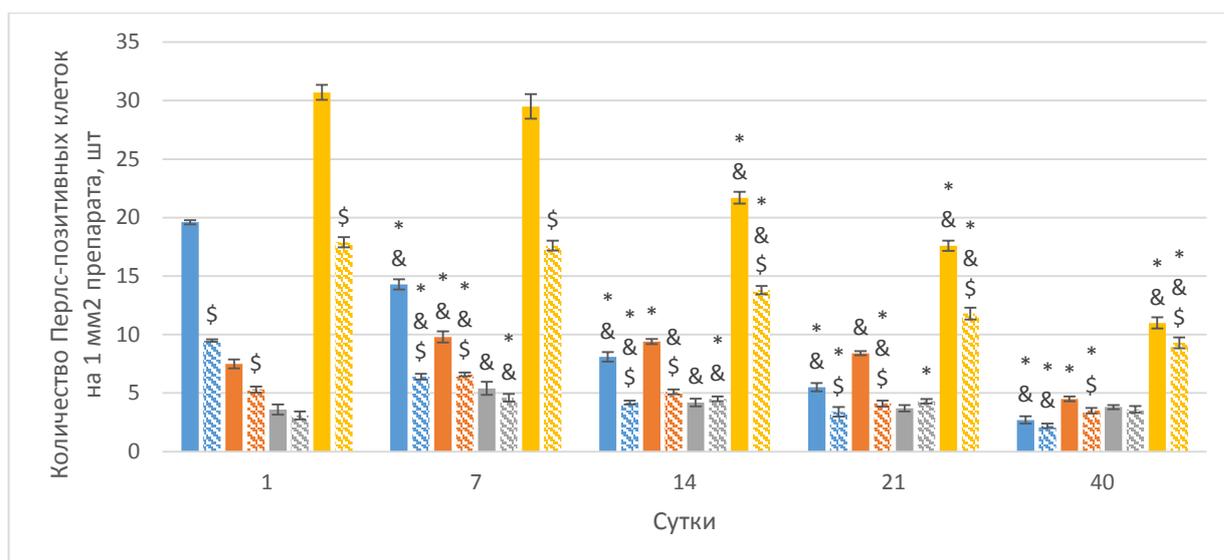
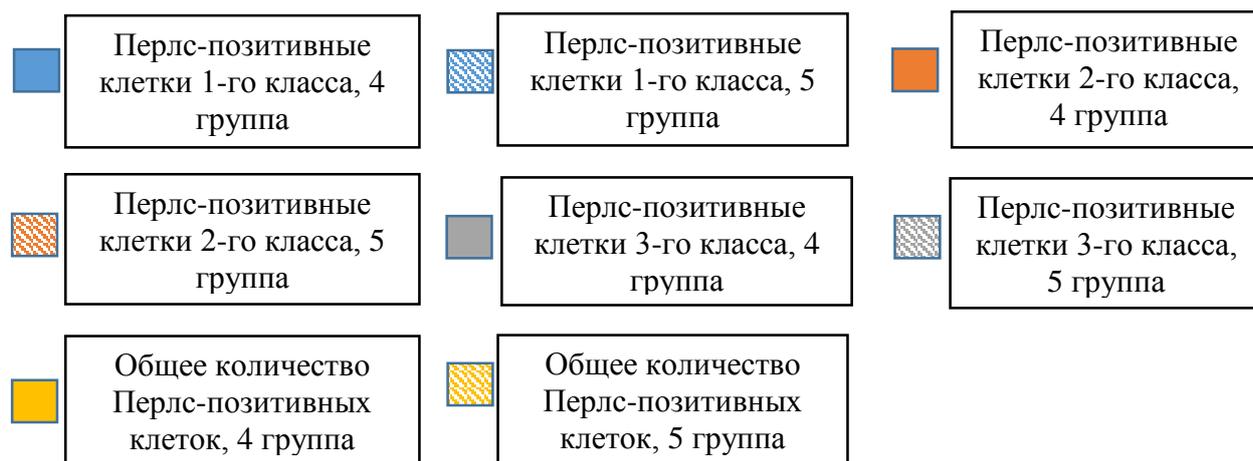


Рисунок 1.2. Динамика количества Перлс-положительных клеток в 1 мм² среза печени крыс после однократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе в дозе 60 мг(Fe)/кг_(массы тела).



Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

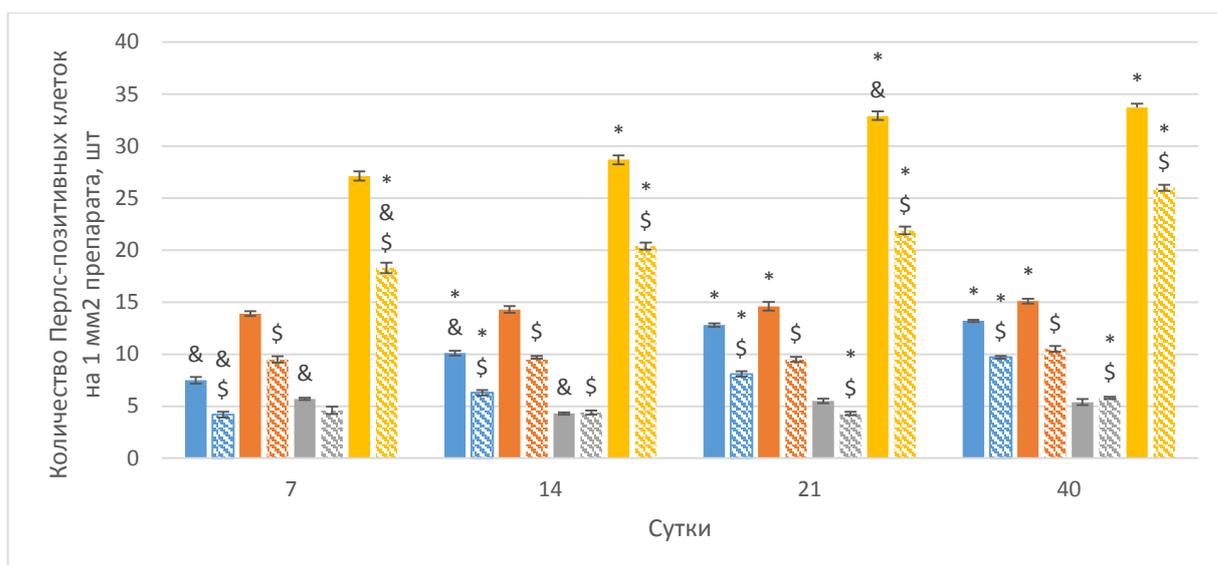
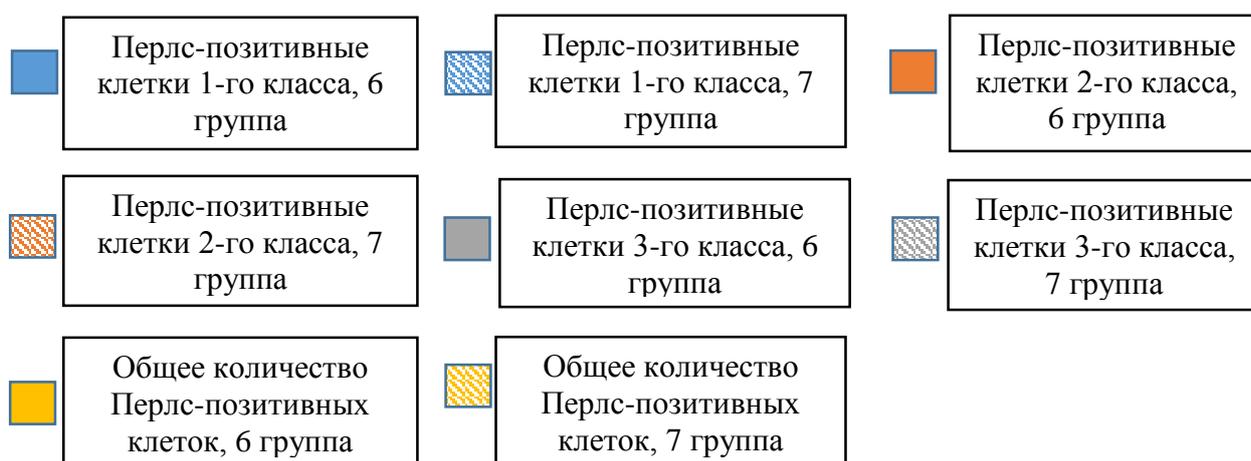


Рисунок 1.3. Динамика количества Перлс-положительных клеток в 1 мм² среза печени крыс после многократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе.



Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 7 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

Динамика количества Перлс-положительных клеток в 1 мм² среза легких крыс после внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе ($X \pm s$).

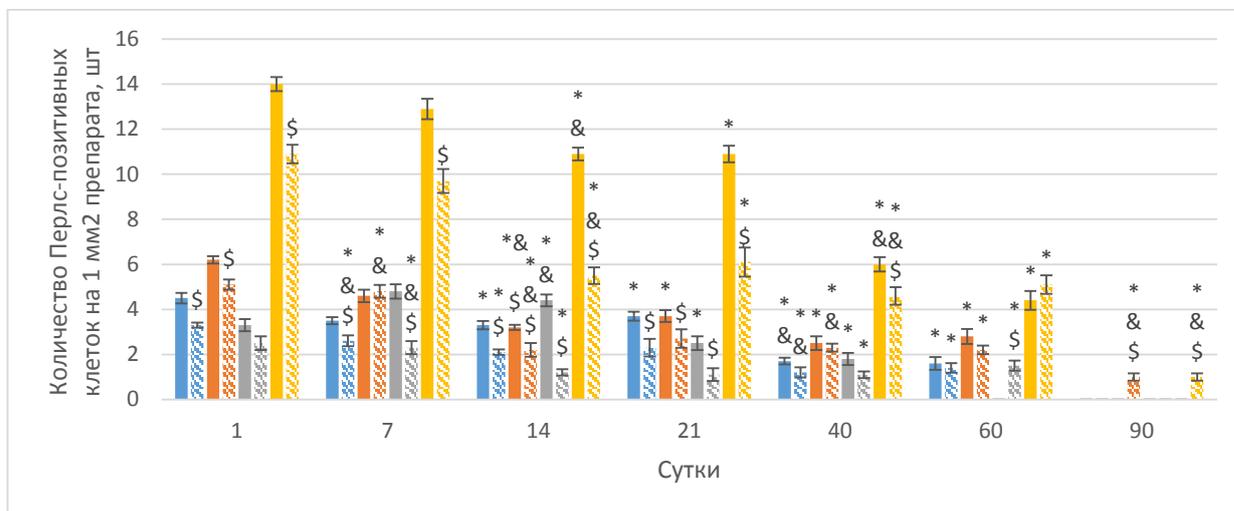
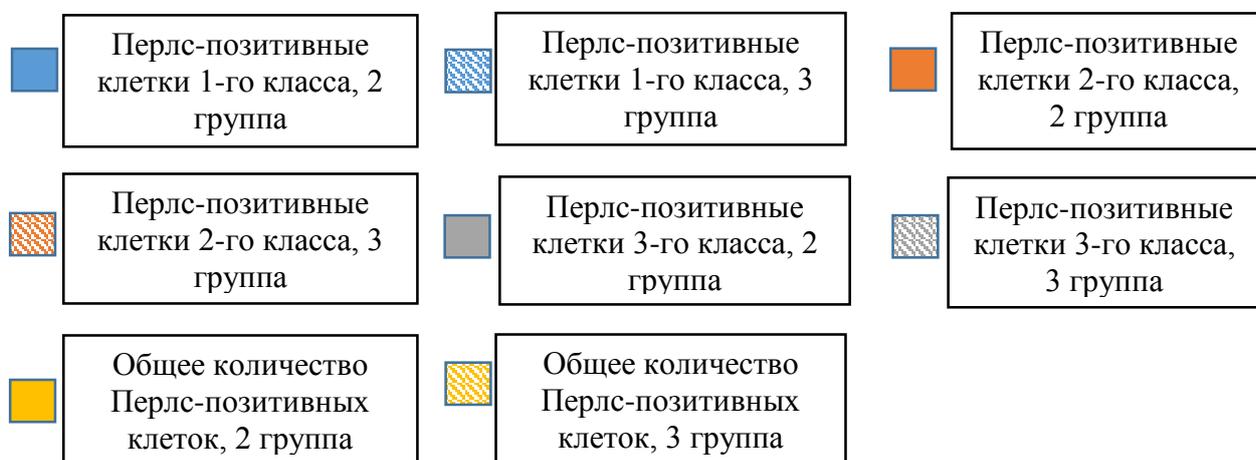


Рисунок 2.1. Динамика количества Перлс-положительных клеток в 1 мм² среза легких крыс после однократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе в дозе 6 мг(Fe)/кг_(массы тела).



Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

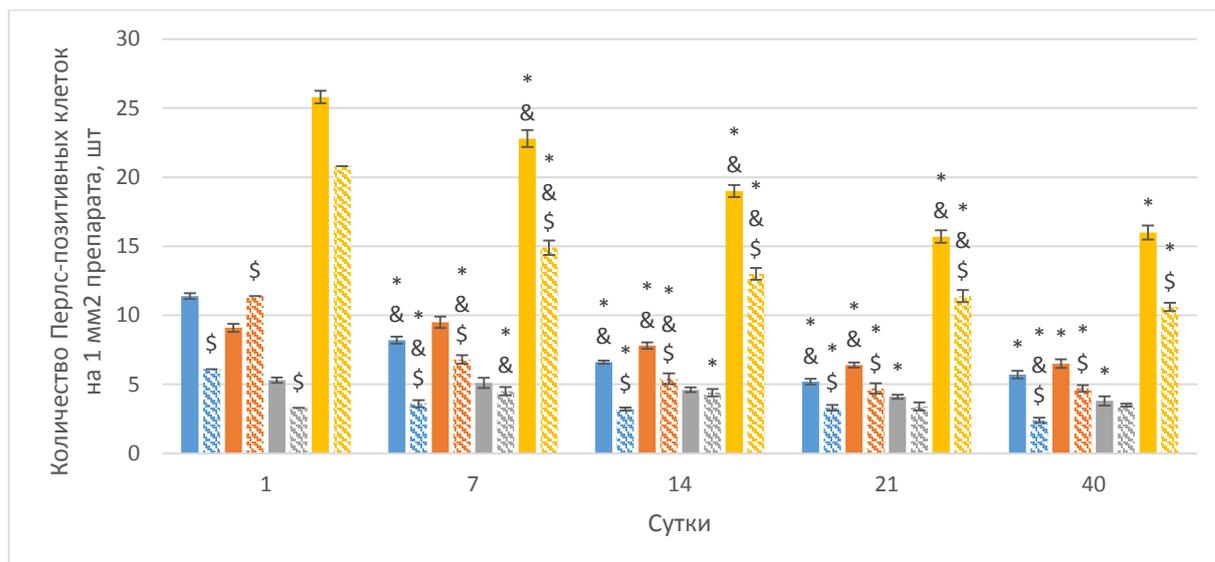
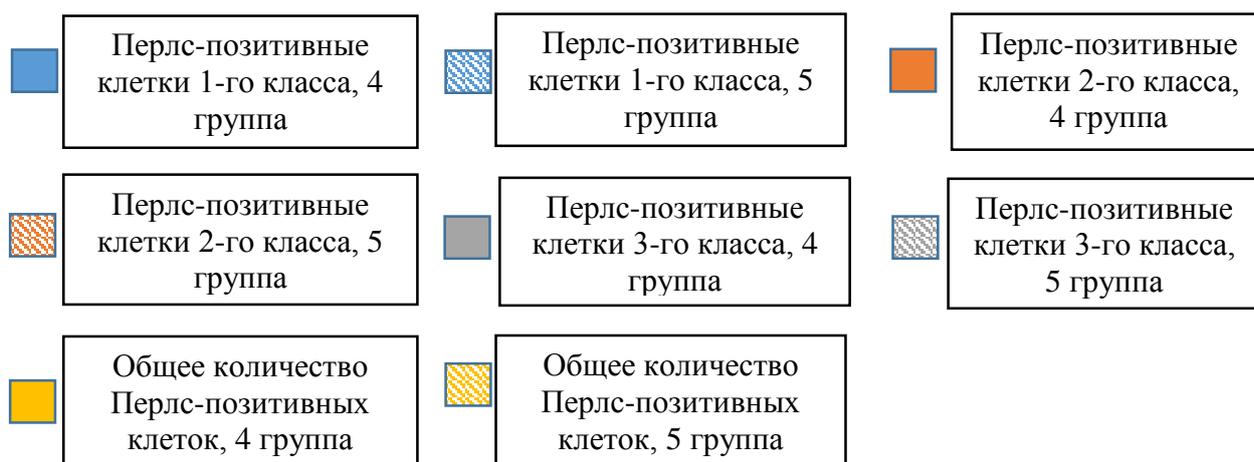


Рисунок 2.2. Динамика количества Перлс-положительных клеток в 1 мм² среза легких крыс после однократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе в дозе 60 мг(Fe)/кг_(массы тела).



Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

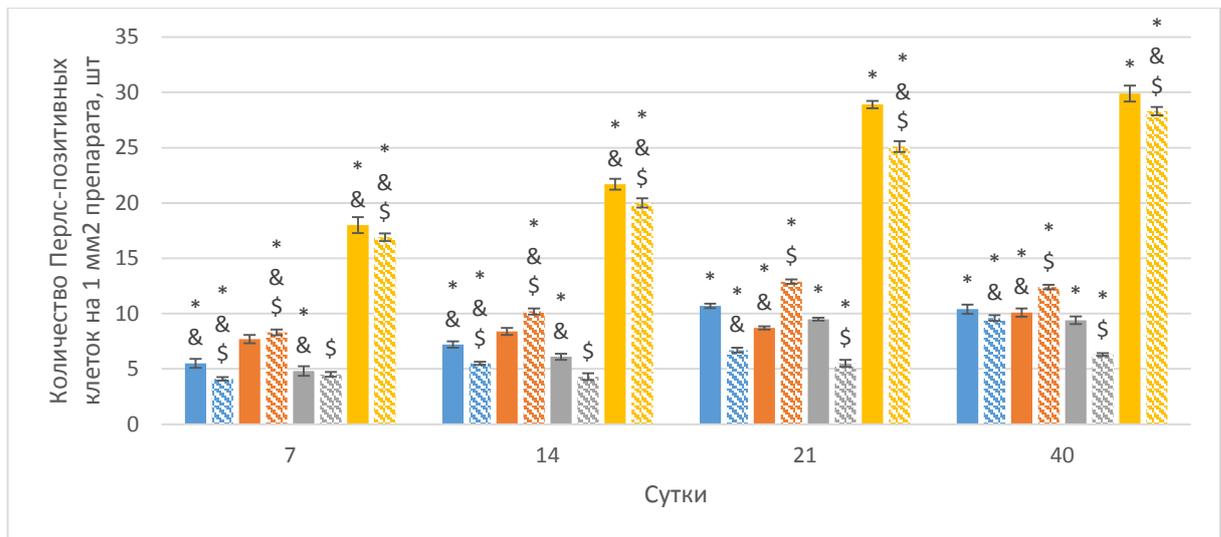


Рисунок 2.3. Динамика количества Перлс-положительных клеток в 1 мм² среза легких крыс после многократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе.



Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 7 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

Динамика количества Перлс-положительных клеток в 1 мм² среза почек крыс после внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе ($X \pm s$).

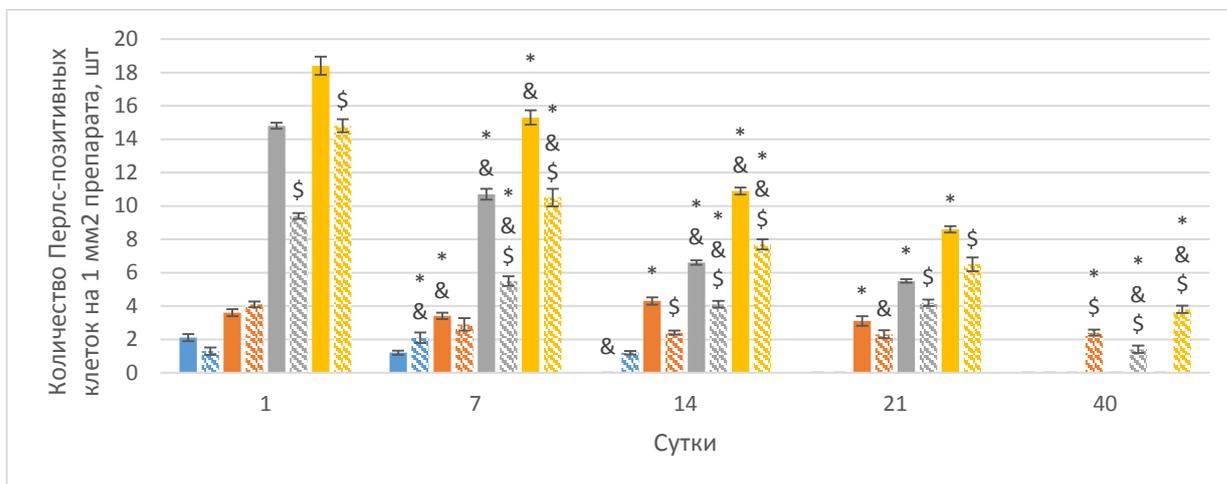
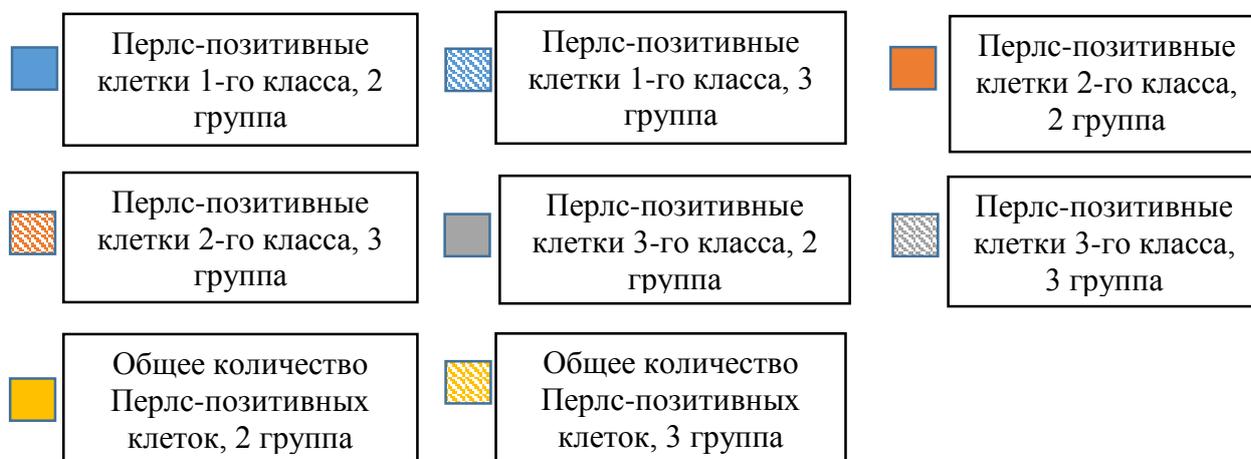


Рисунок 3.1. Динамика количества Перлс-положительных клеток в 1 мм² среза почек крыс после однократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе 6 мг(Fe)/кг_(массы тела).



Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

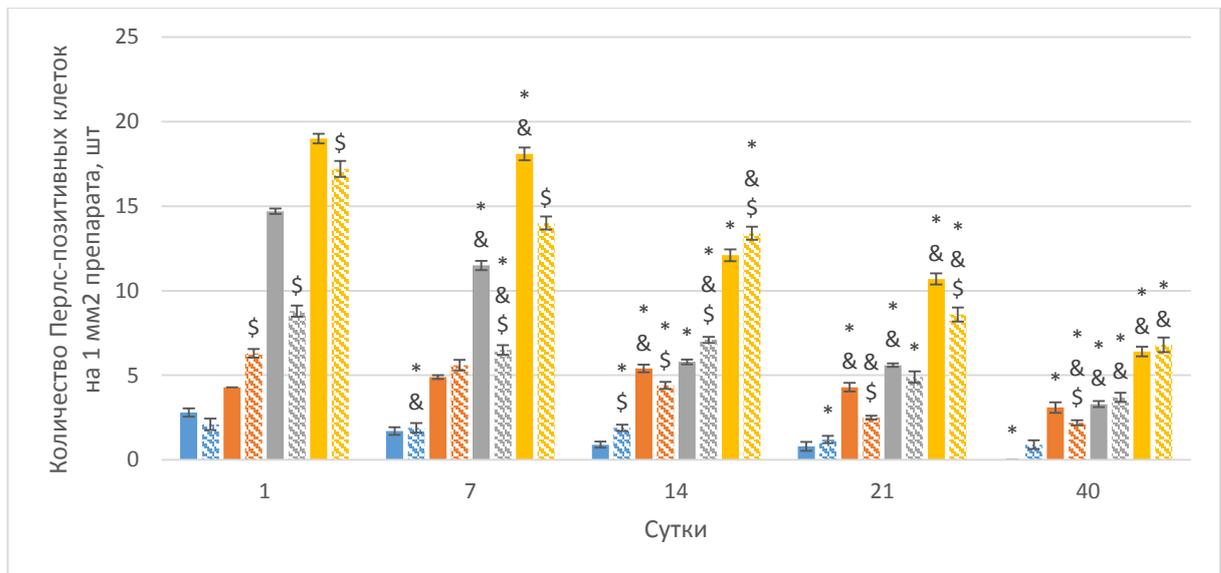
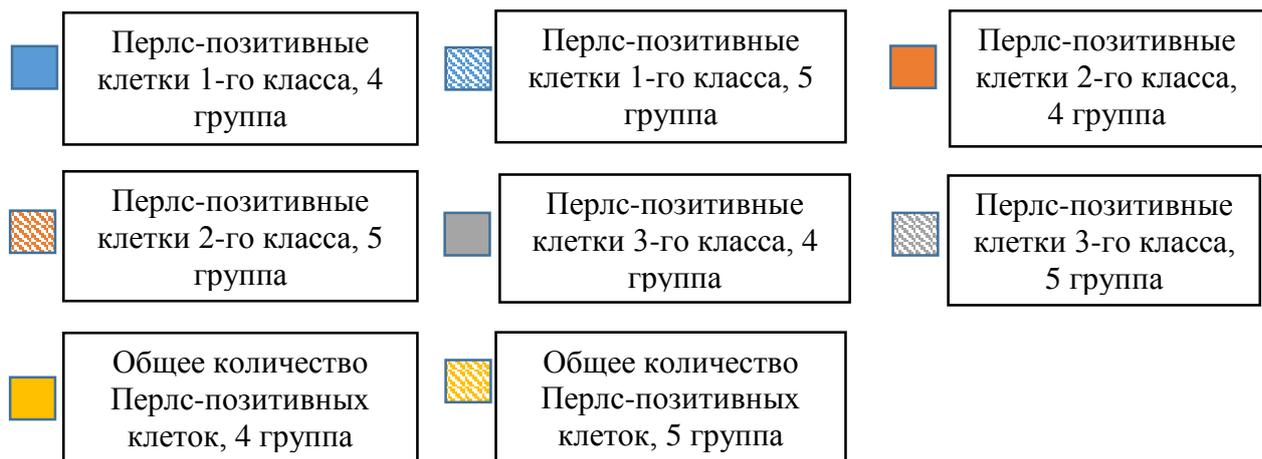


Рисунок 3.2. Динамика количества Перлс-положительных клеток в 1 мм² среза почек крыс после однократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе 60 мг(Fe)/кг_(массы тела).



Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

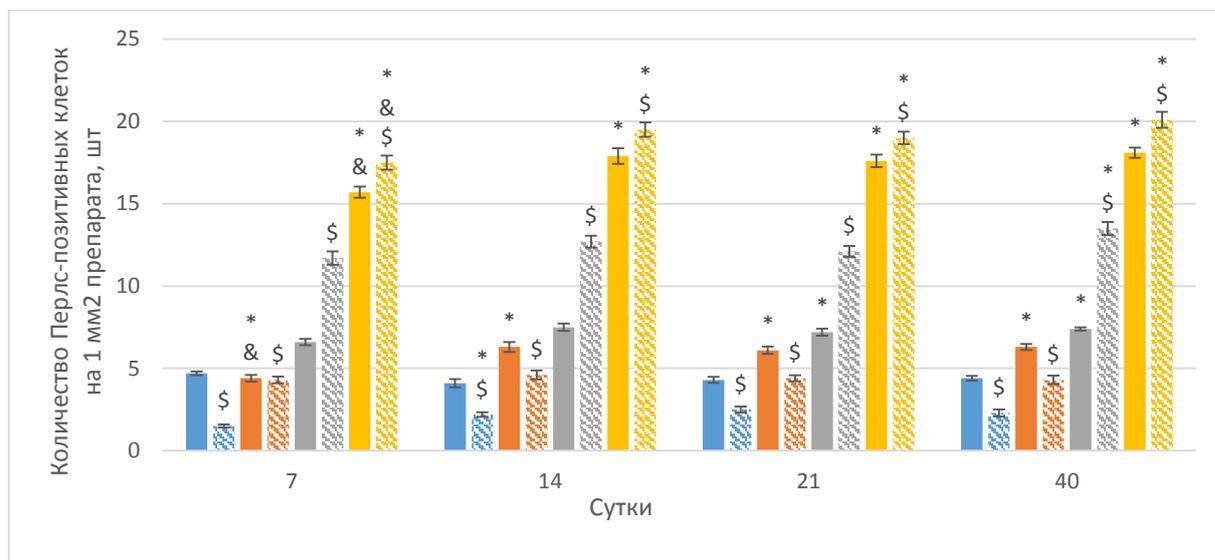
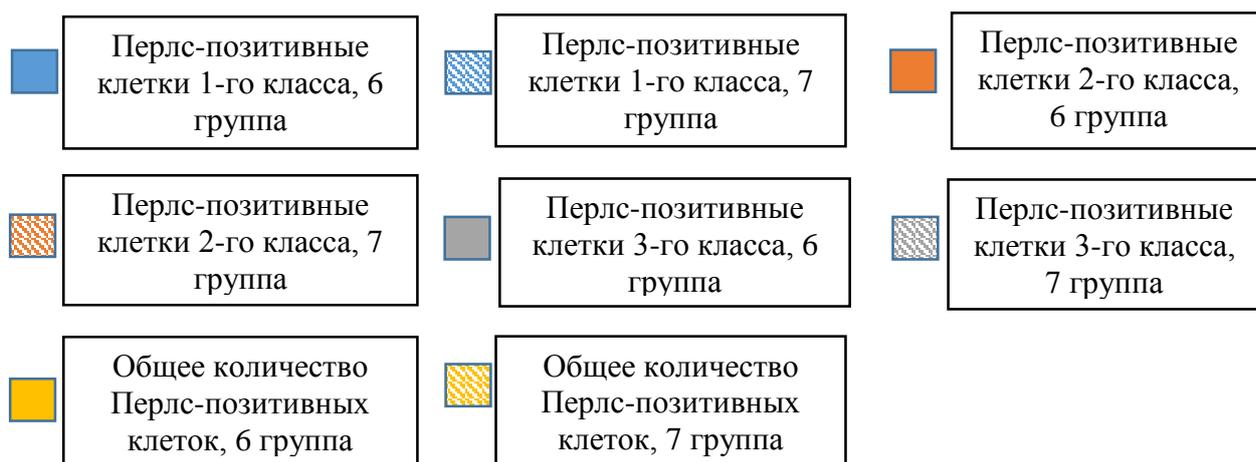


Рисунок 3.3. Динамика количества Перлс-положительных клеток в 1 мм² среза почек крыс после многократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе.



Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 7 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

Динамика количества патологических форм эритроцитов крыс после внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе (%), $X \pm s$.

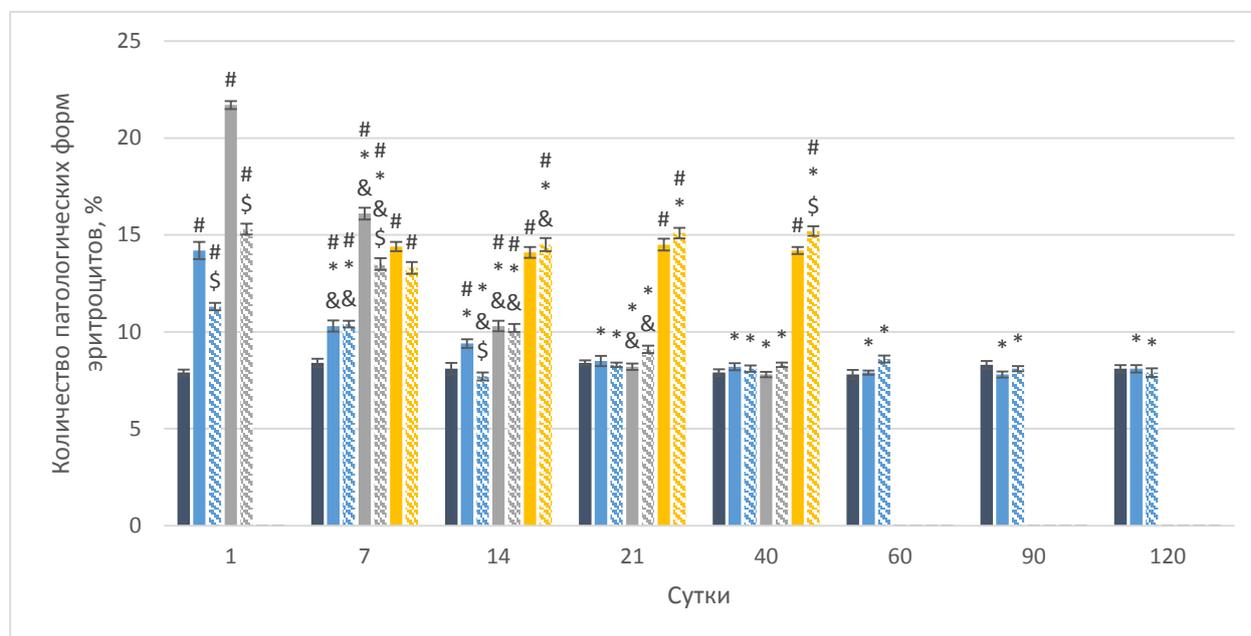
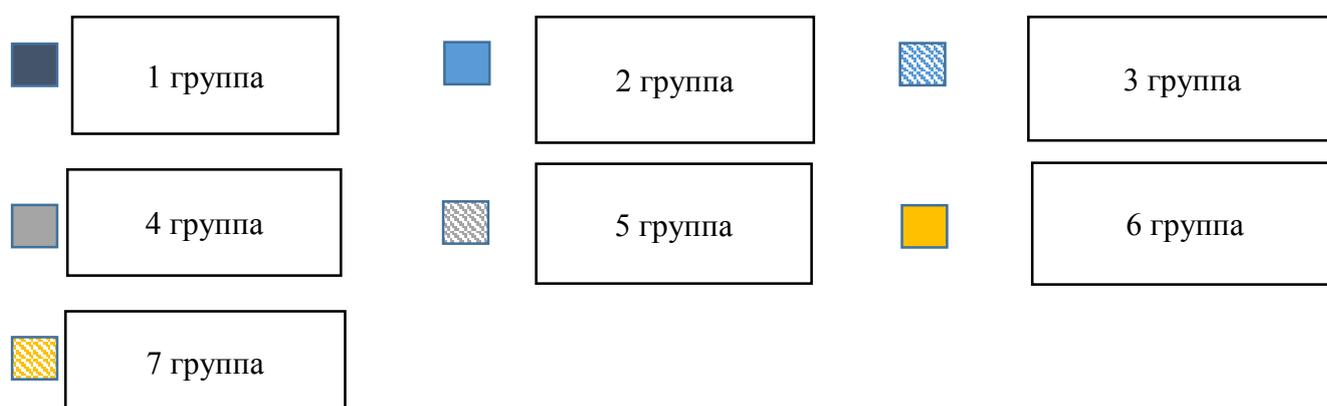


Рисунок 4.1. Динамика количества патологических форм эритроцитов крыс после однократного и многократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе.



Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

Активность внутриклеточных ферментов в гепатоцитах крыс экспериментальных групп с внутривенным введением покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе (условные единицы оптической плотности), $X \pm s$.

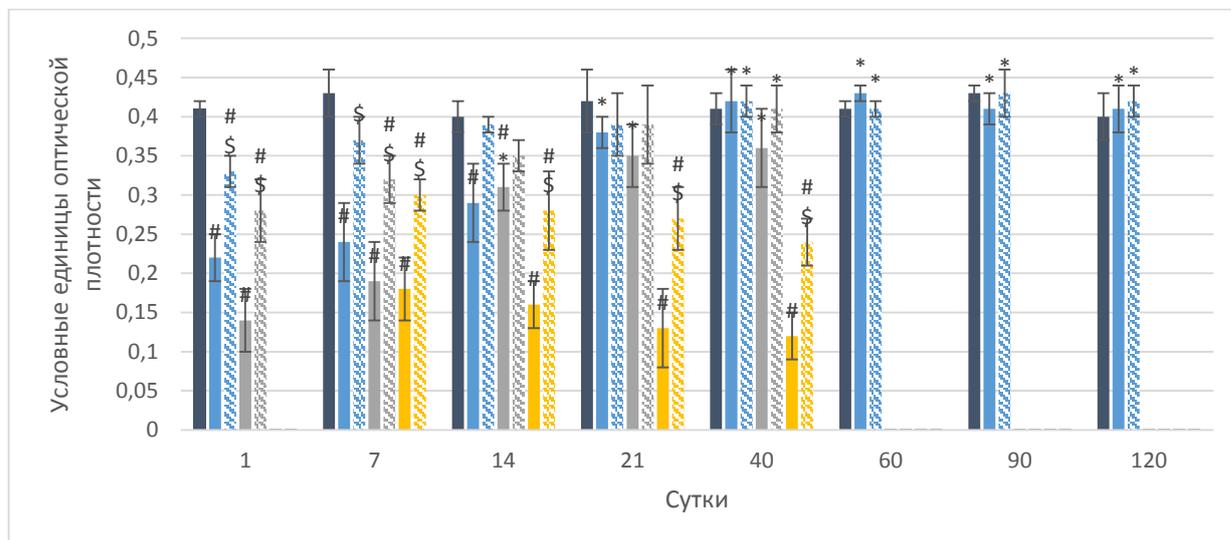
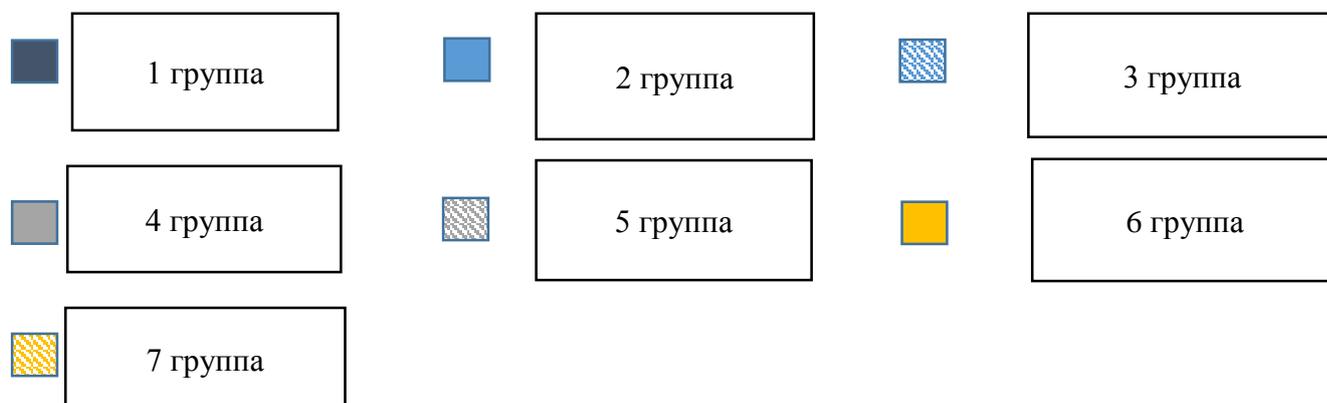


Рисунок 5.1. Активность СДГ в гепатоцитах крыс после однократного и многократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе.



Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

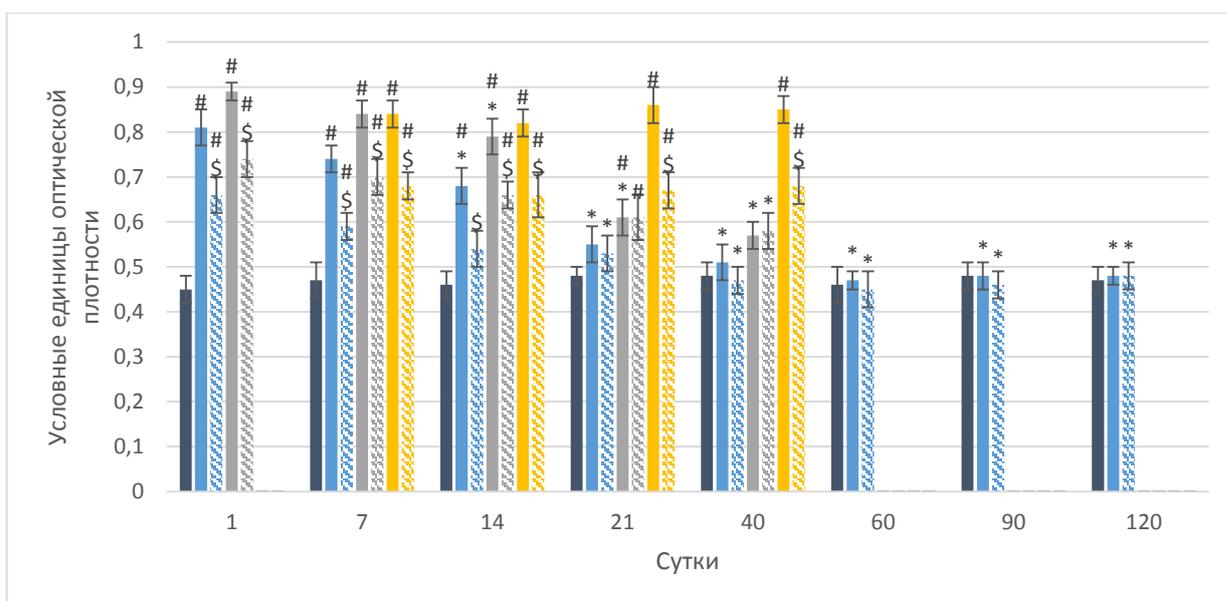
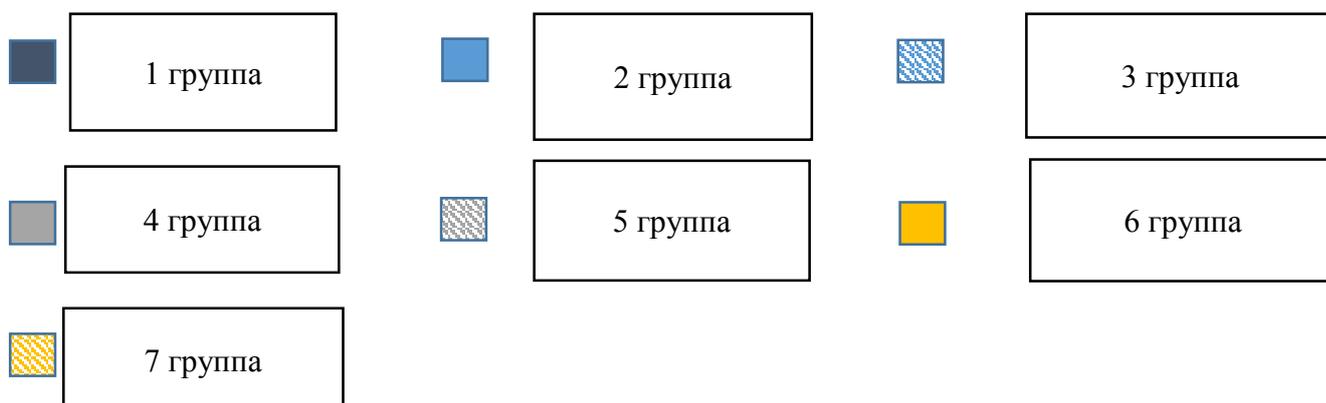


Рисунок 5.2. Активность ЛДГ в гепатоцитах крыс после однократного и многократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе.



Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

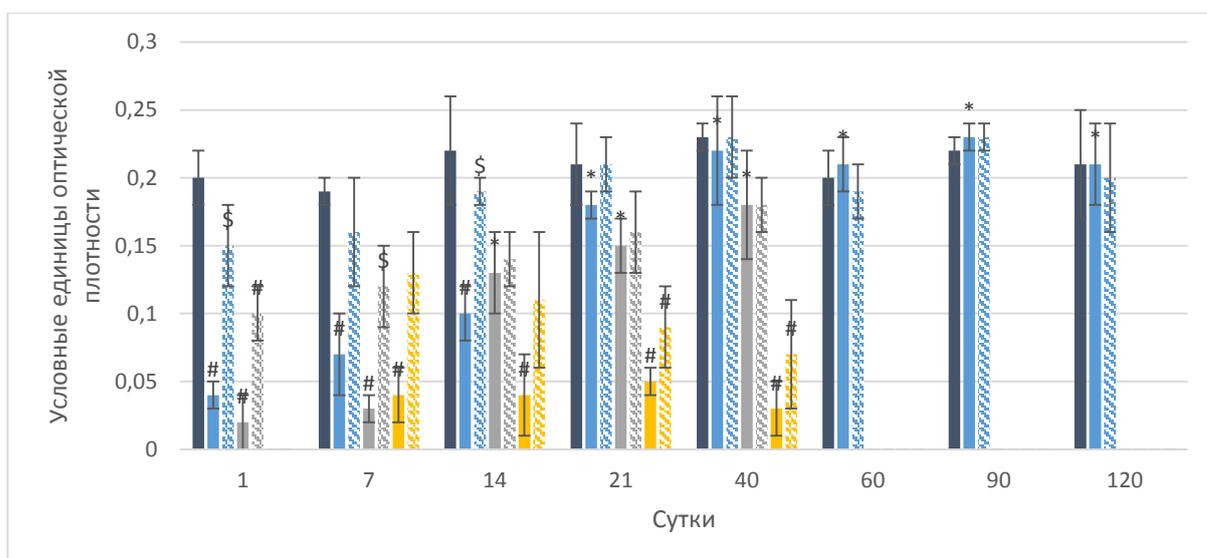
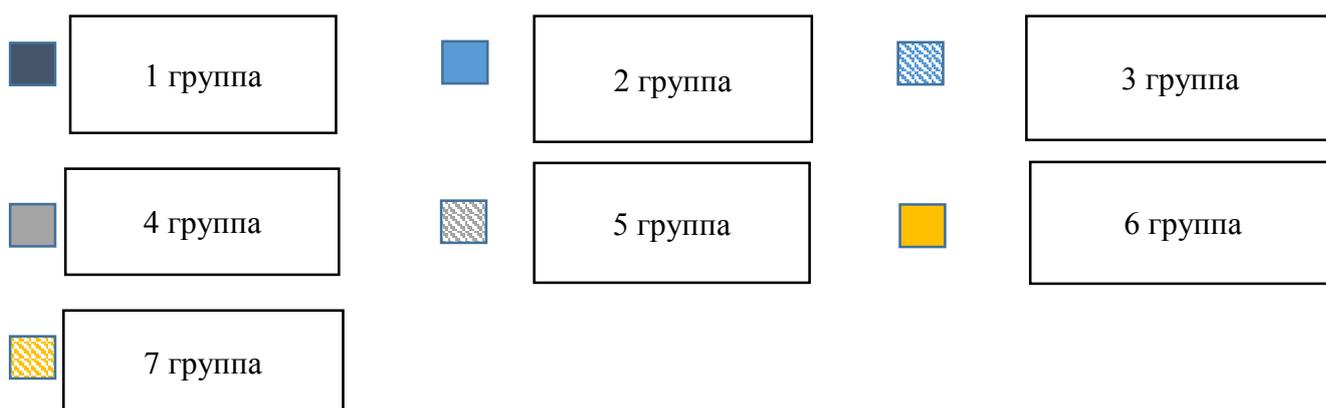


Рисунок 5.3. Активность ЩФ в гепатоцитах крыс после однократного и многократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе.



Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

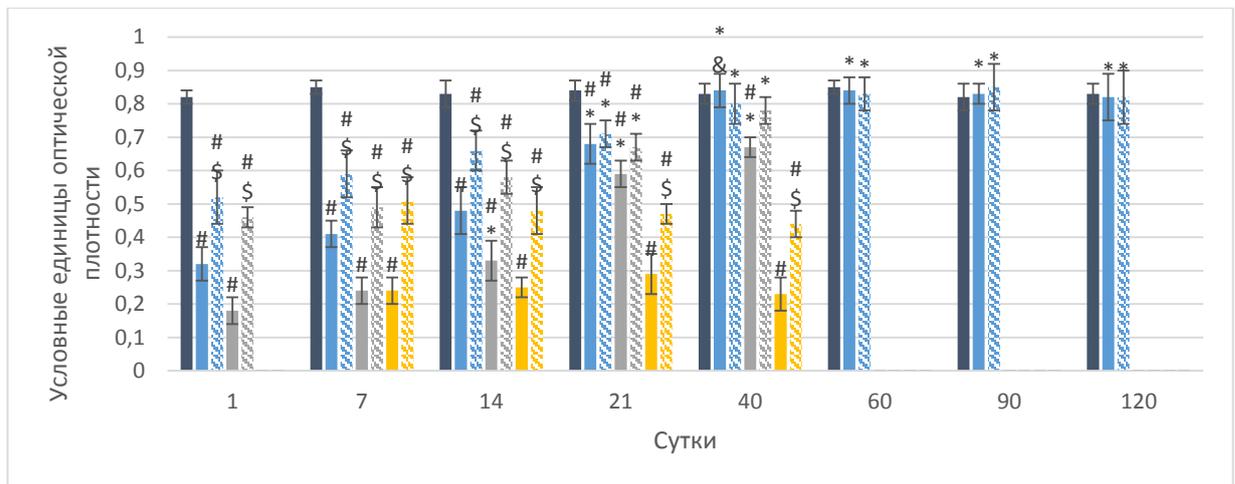
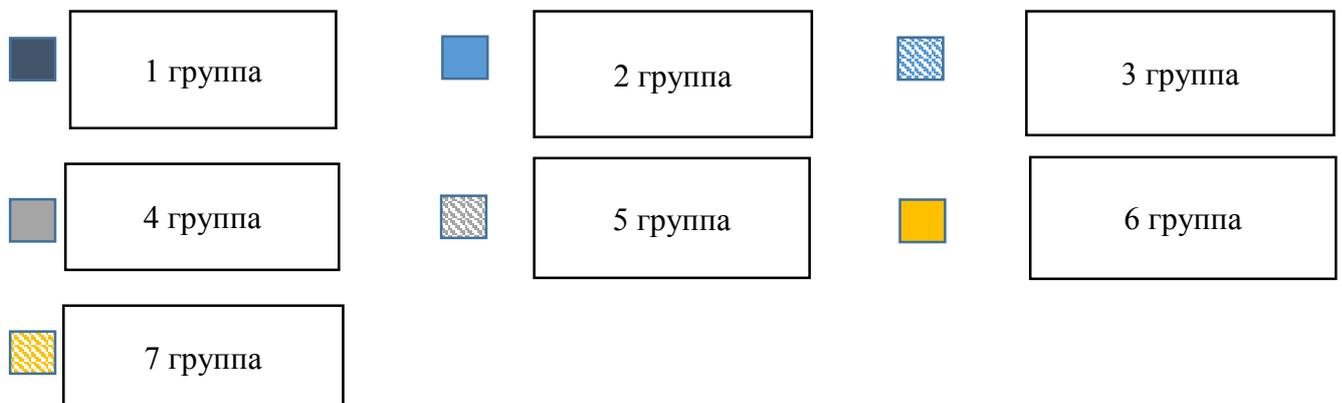


Рисунок 5.4. Активность ГБДГ в гепатоцитах крыс после однократного и многократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе.



Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

Активность внутриклеточных ферментов в нефроцитах крыс экспериментальных групп с внутривенным введением покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе (условные единицы оптической плотности), $X \pm s$.

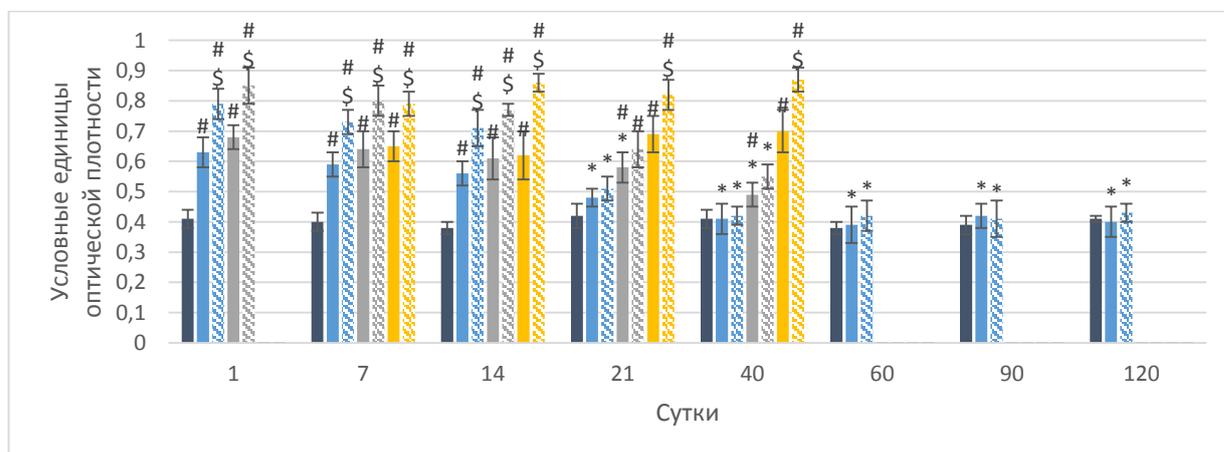
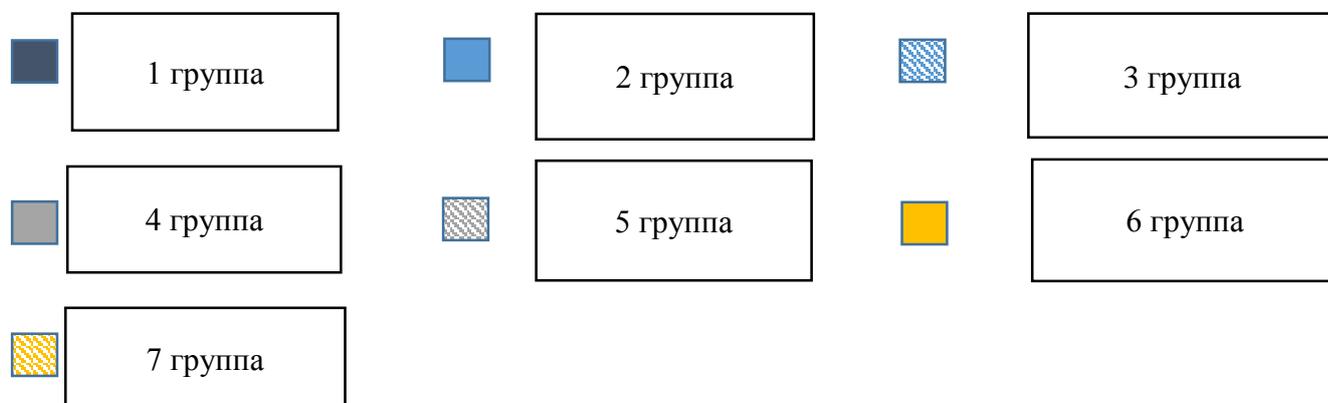


Рисунок 6.1. Активность СДГ в нефроцитах крыс после однократного и многократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе.



Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

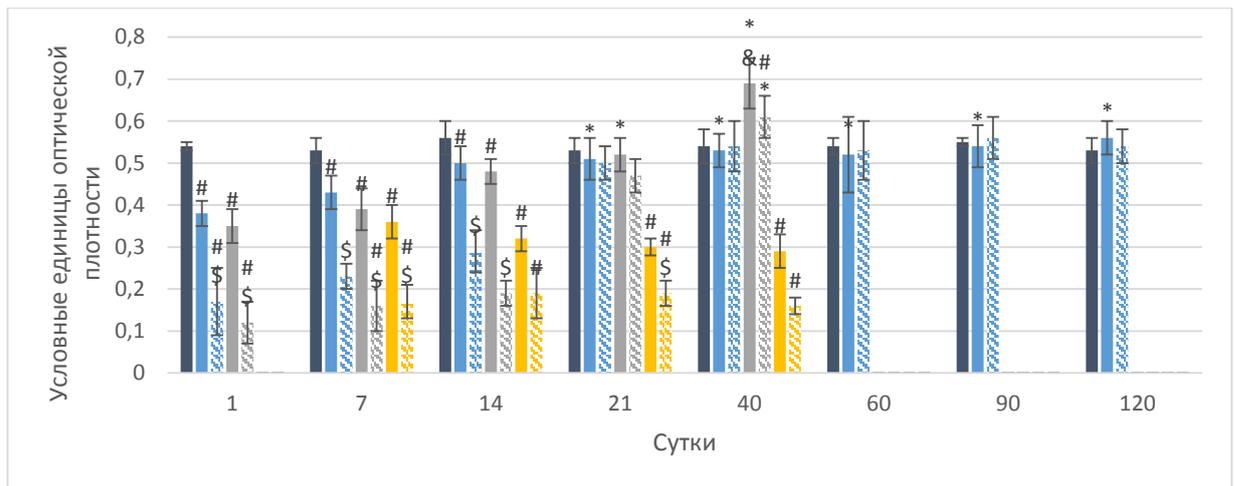
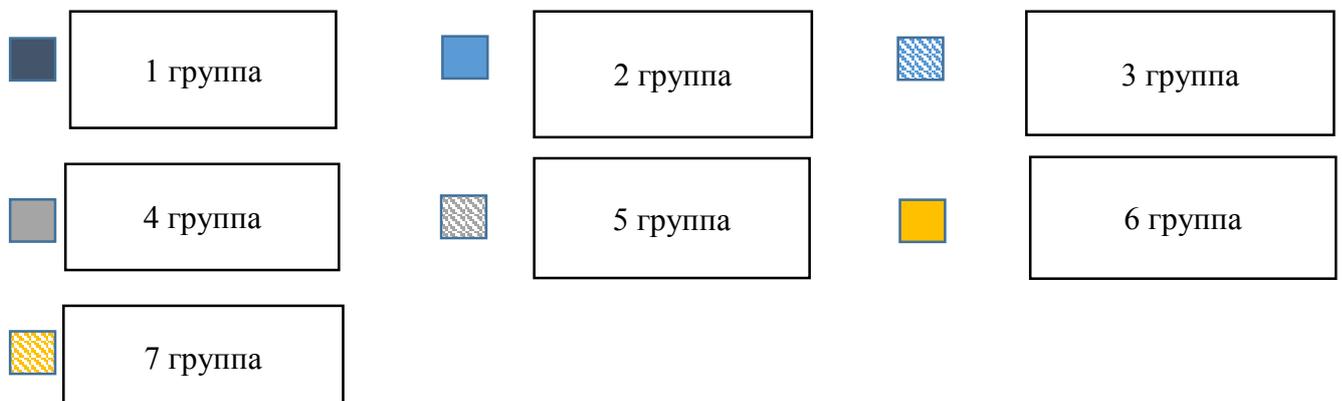


Рисунок 6.2. Активность ЛДГ в нефроцитах крыс после однократного и многократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе.



Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

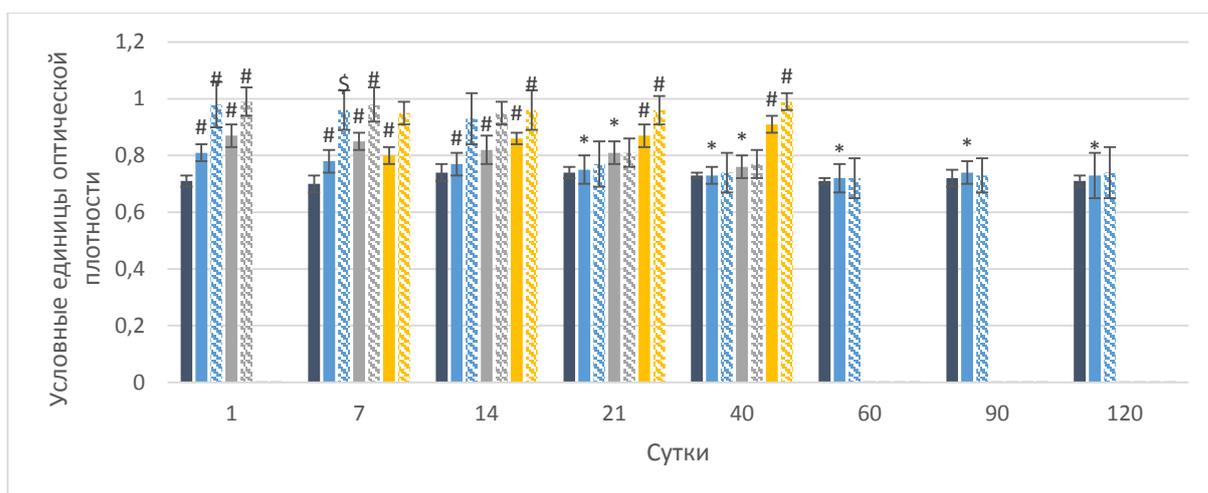
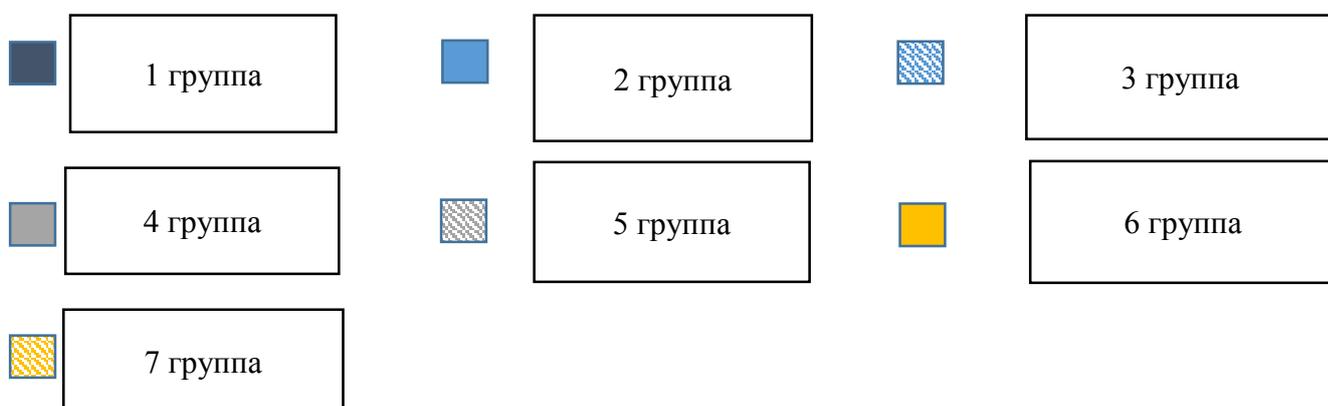


Рисунок 6.3. Активность ЩФ в нефроцитах крыс после однократного и многократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе.



Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

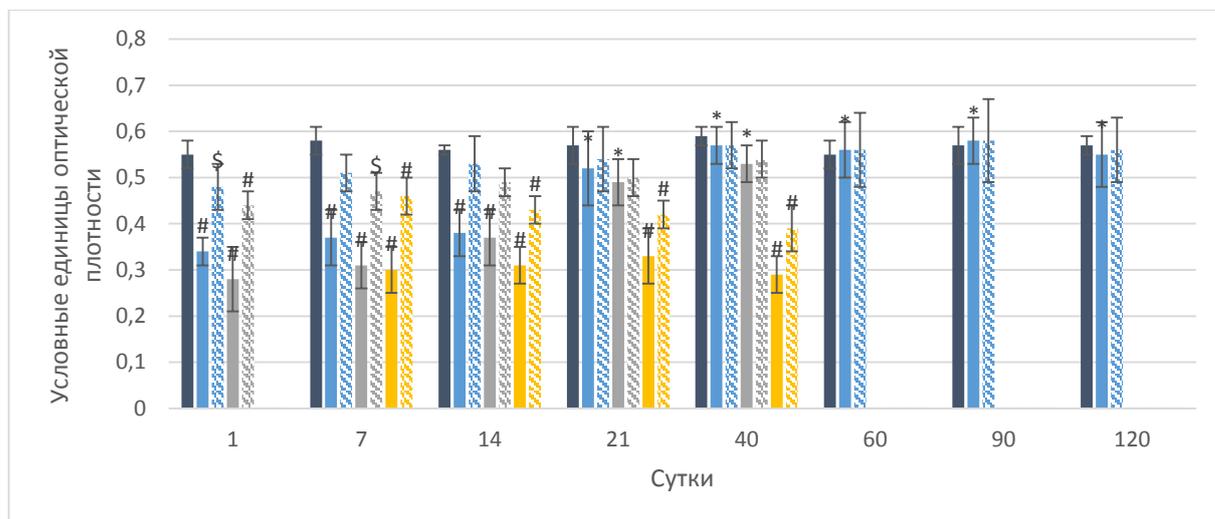
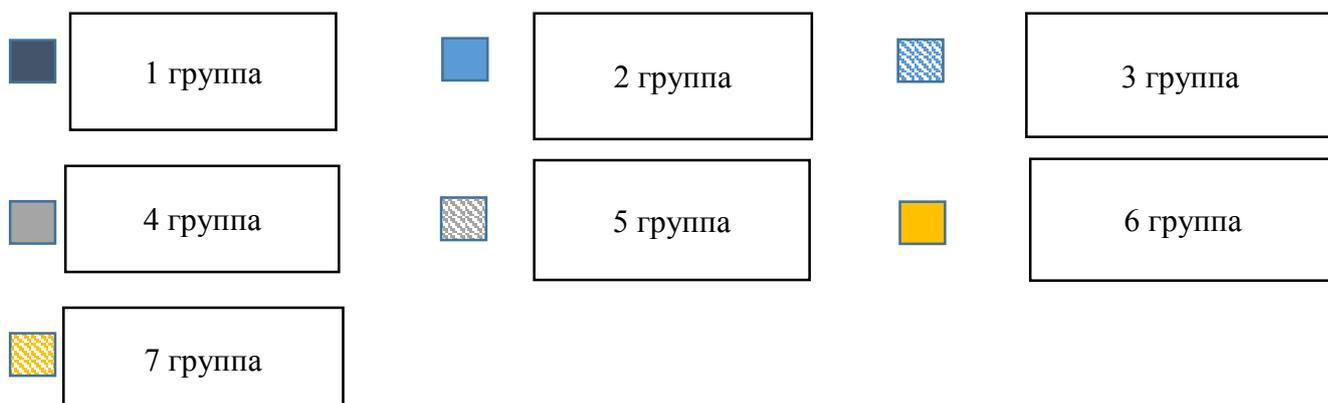


Рисунок 6.4. Активность ГБДГ в нефроцитах крыс после однократного и многократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе.



Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

Активность внутриклеточных ферментов в кардиомиоцитах крыс экспериментальных групп с внутривенным введением покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе (условные единицы оптической плотности), $X \pm s$.

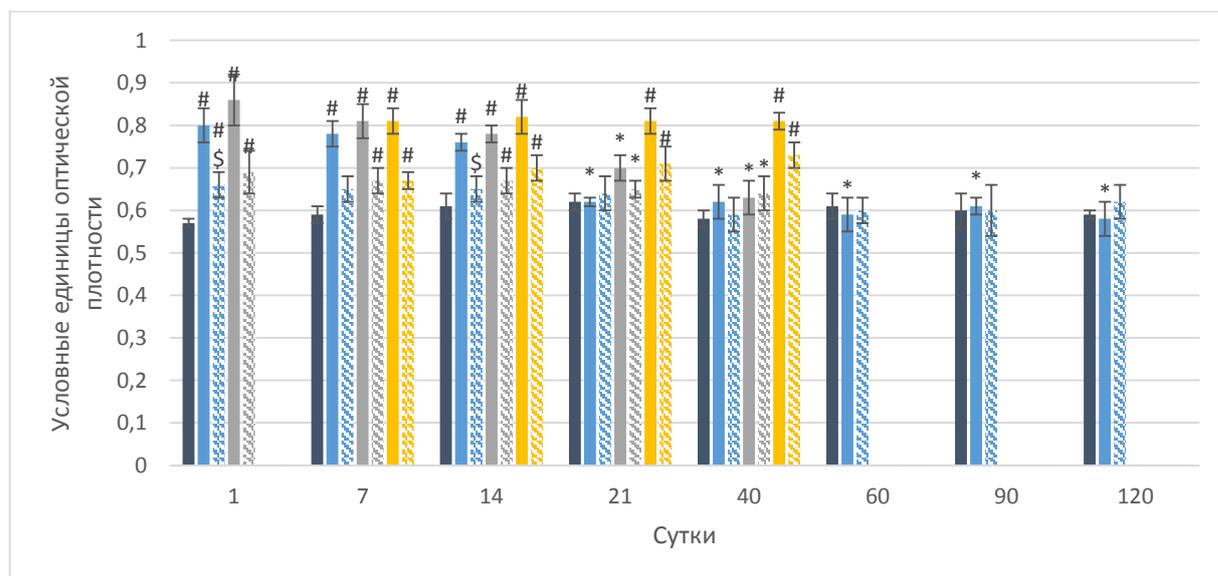
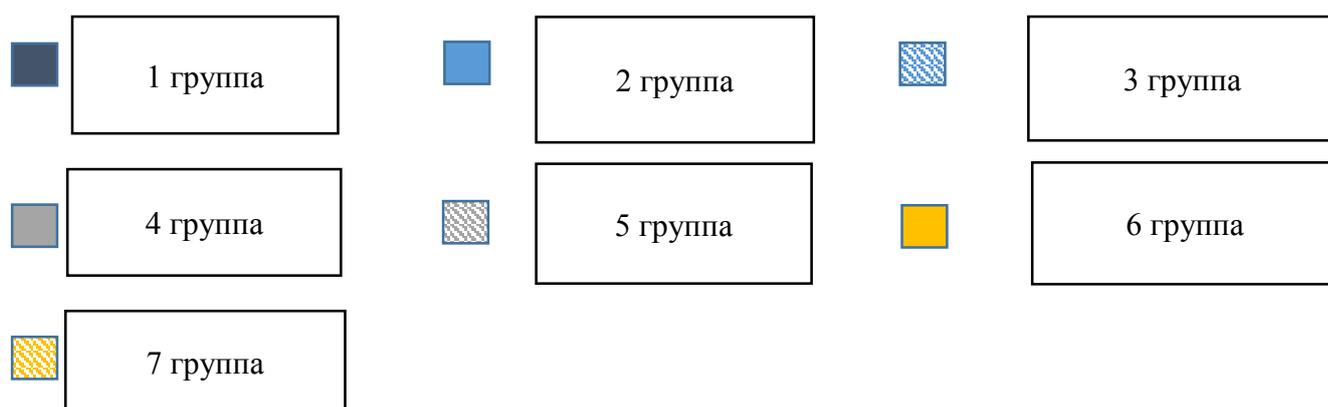


Рисунок 7.1. Активность СДГ в кардиомиоцитах крыс после однократного и многократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе.



Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

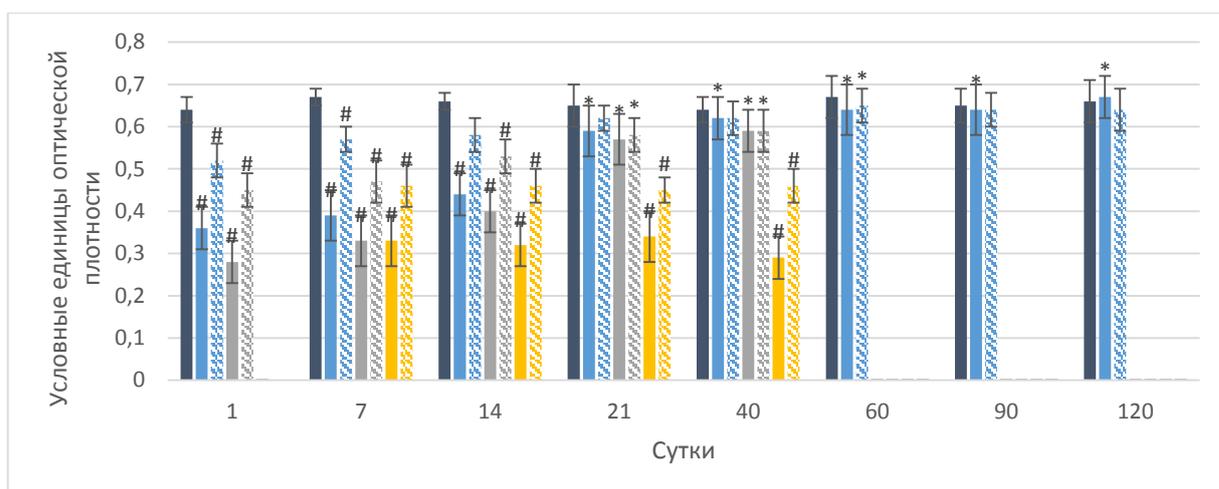
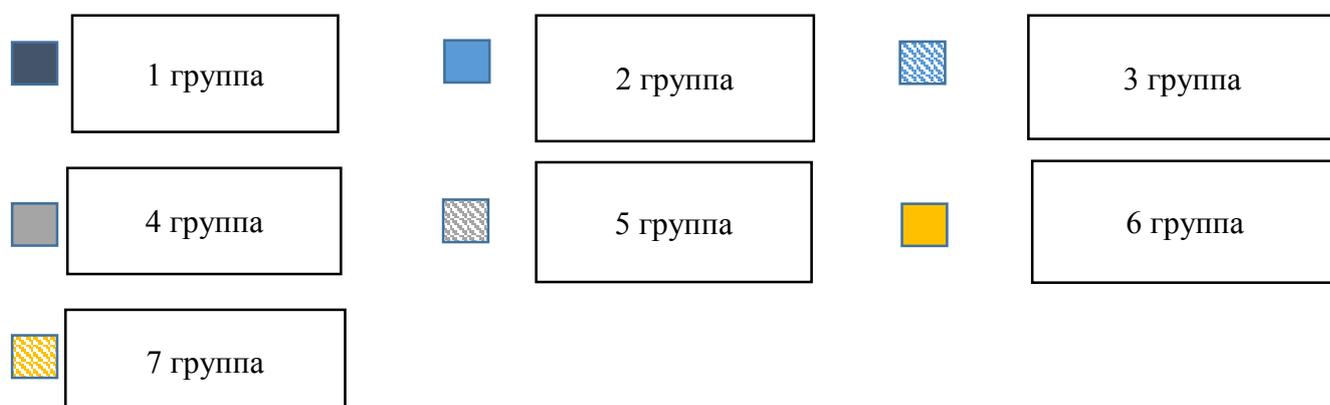


Рисунок 7.2. Активность ЛДГ в кардиомиоцитах крыс после однократного и многократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе.



Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

Активность ферментов в плазме крови крыс после внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе (Ед/л), $X \pm s$.

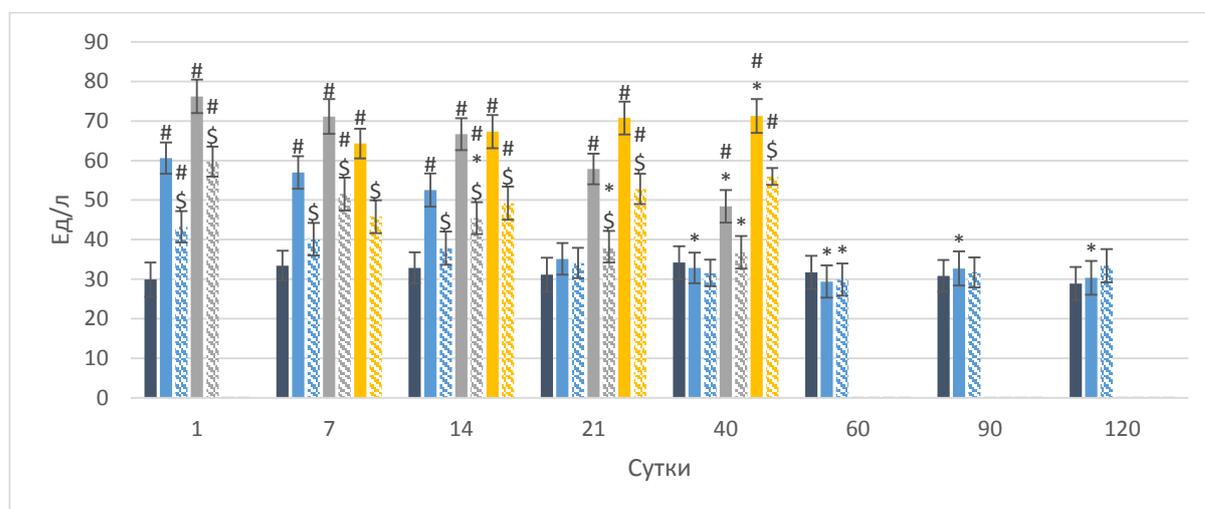
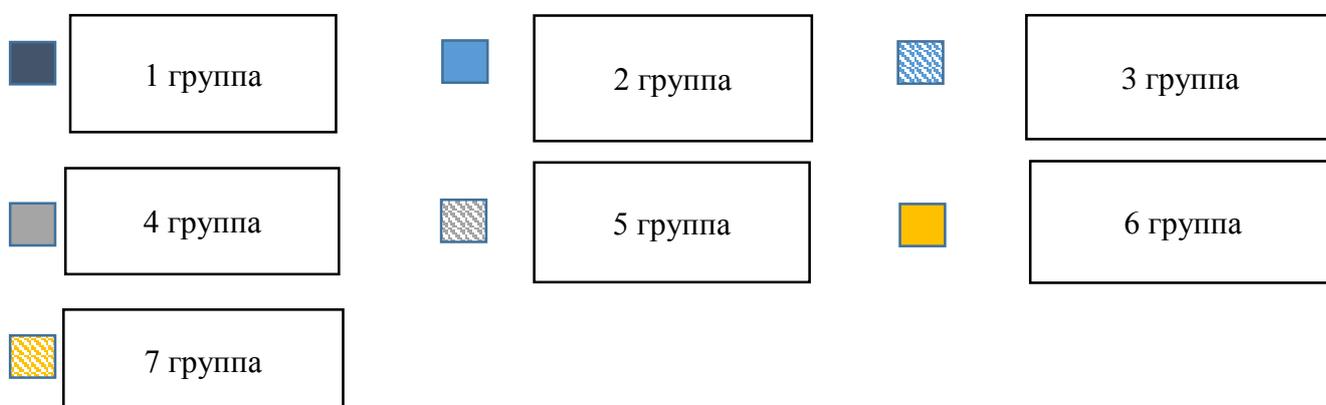


Рисунок 8.1. Активность АЛТ в плазме крови крыс после однократного и многократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе.



Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

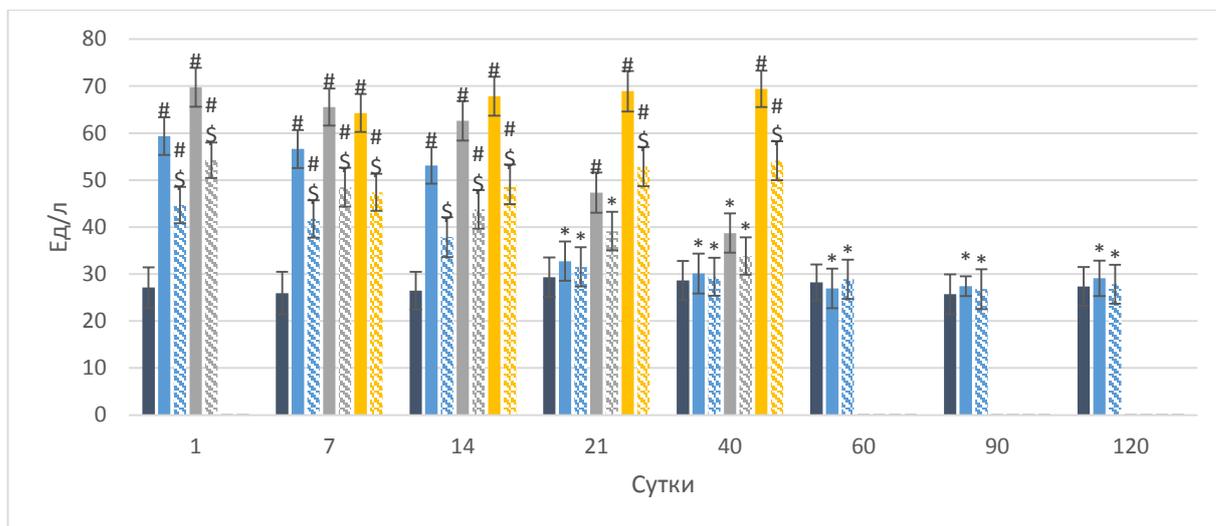
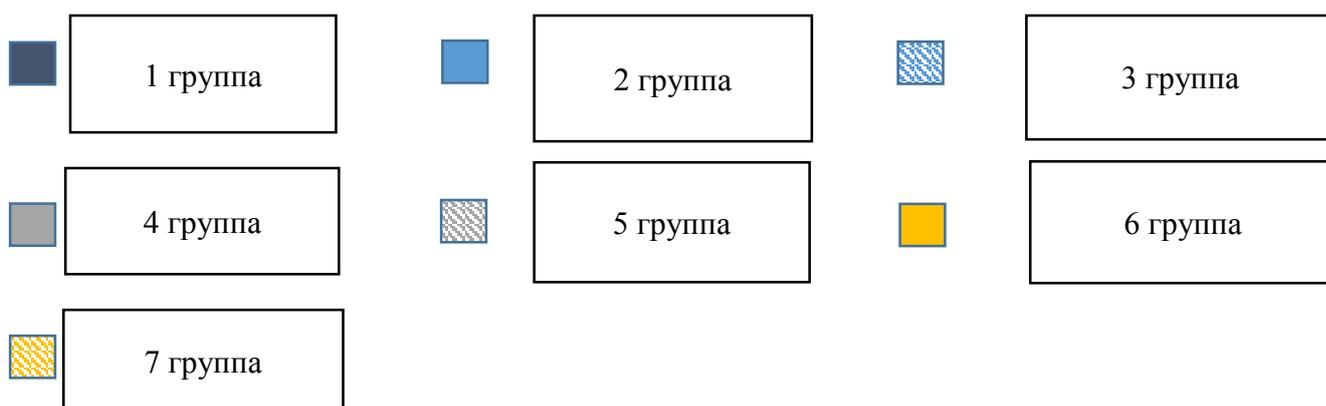


Рисунок 8.2. Активность АСТ в плазме крови крыс после однократного и многократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе.



Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

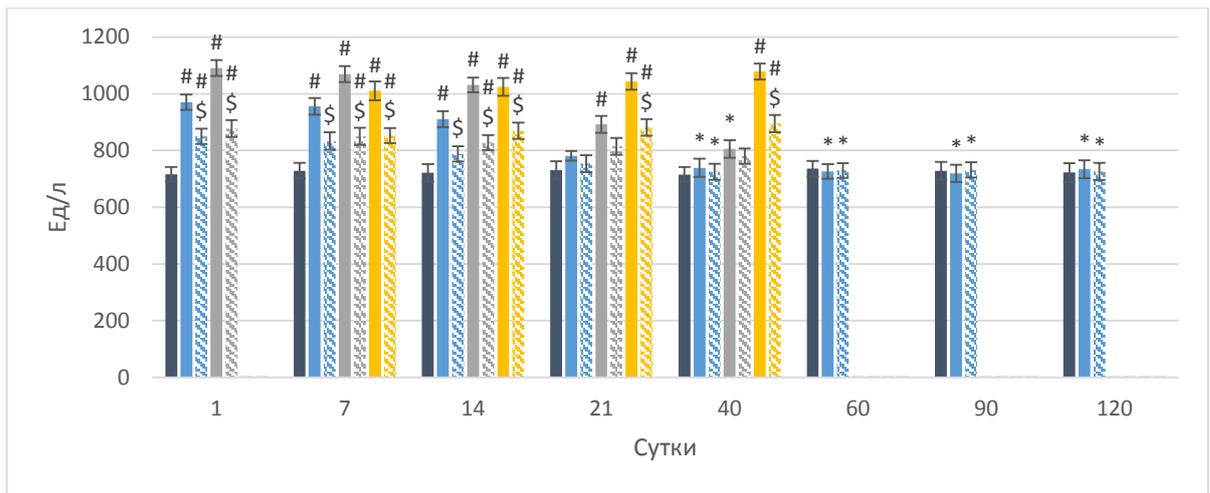
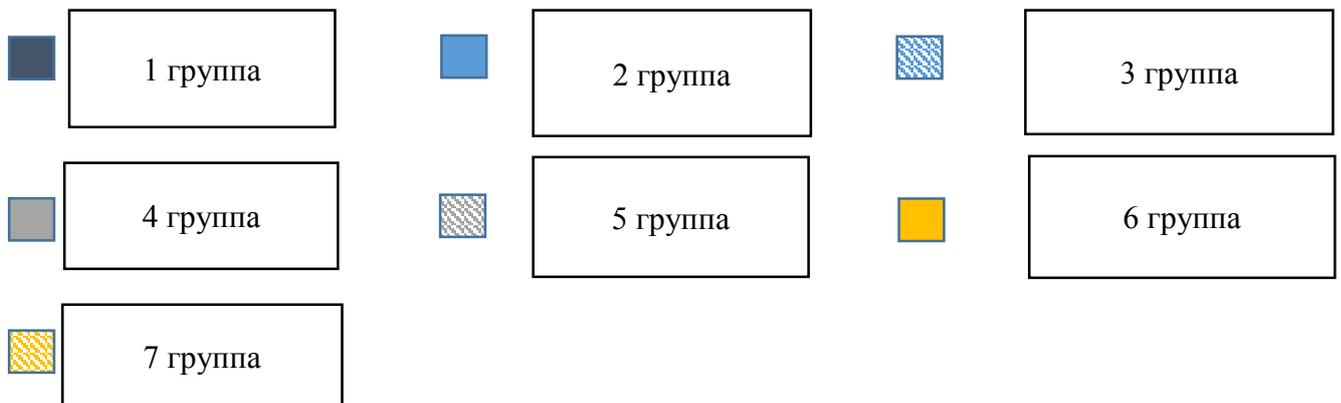


Рисунок 8.3. Активность ЛДГ в плазме крови крыс после однократного и многократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе.



Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

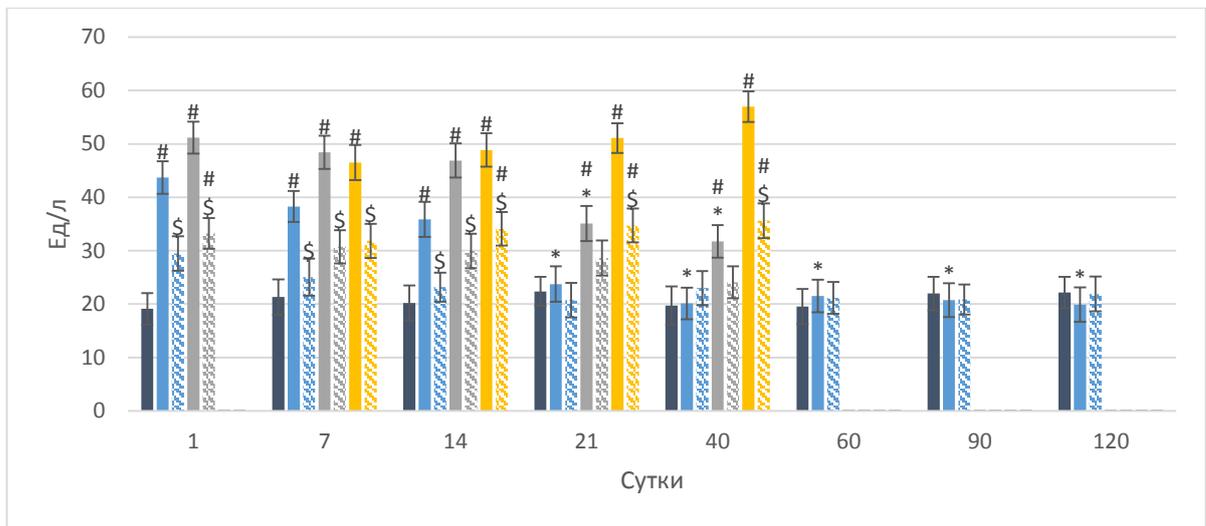
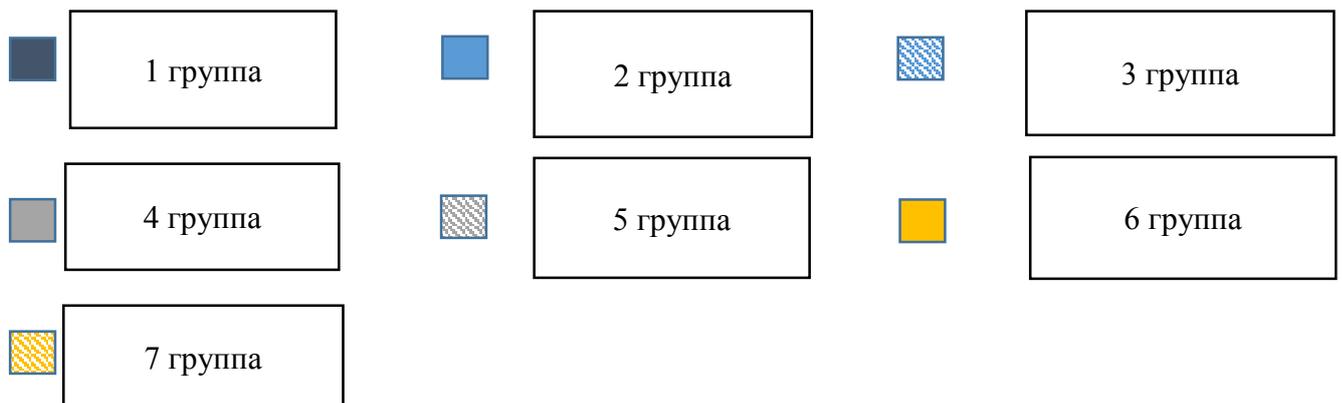


Рисунок 8.4. Активность ЩФ в плазме крови крыс после однократного и многократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе.



Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

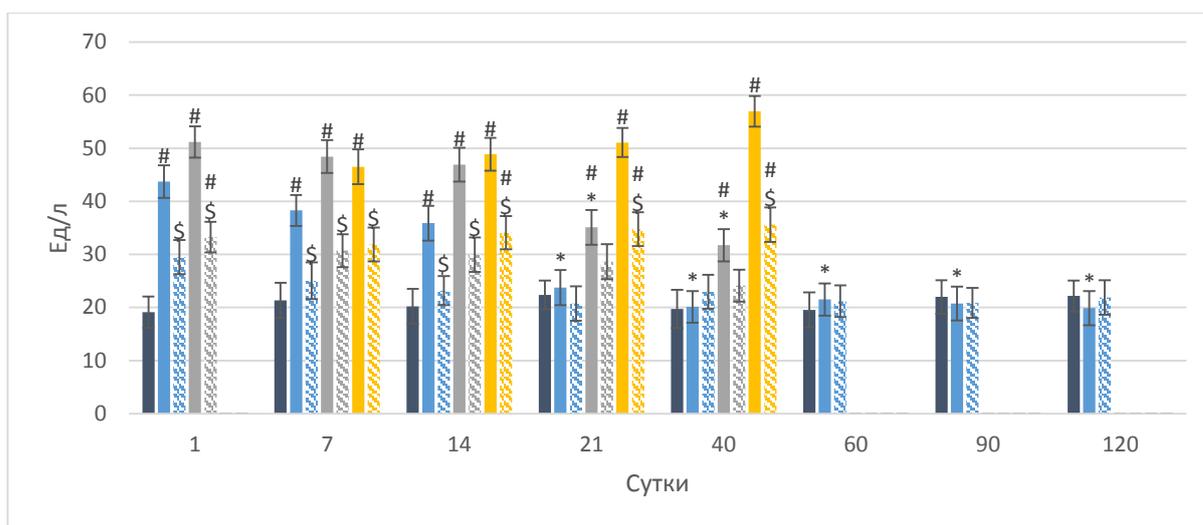
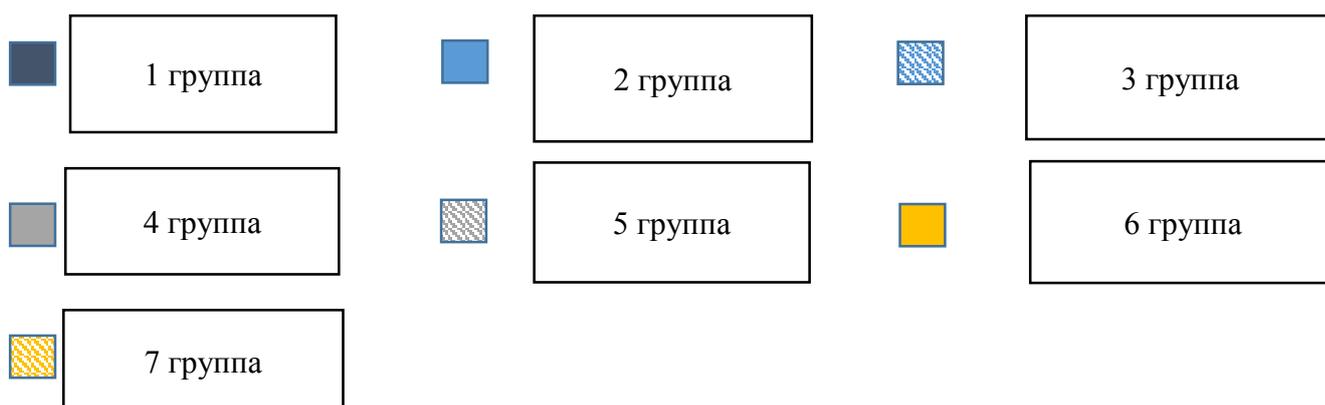


Рисунок 8.5. Активность КФК в плазме крови крыс после однократного и многократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе.



Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

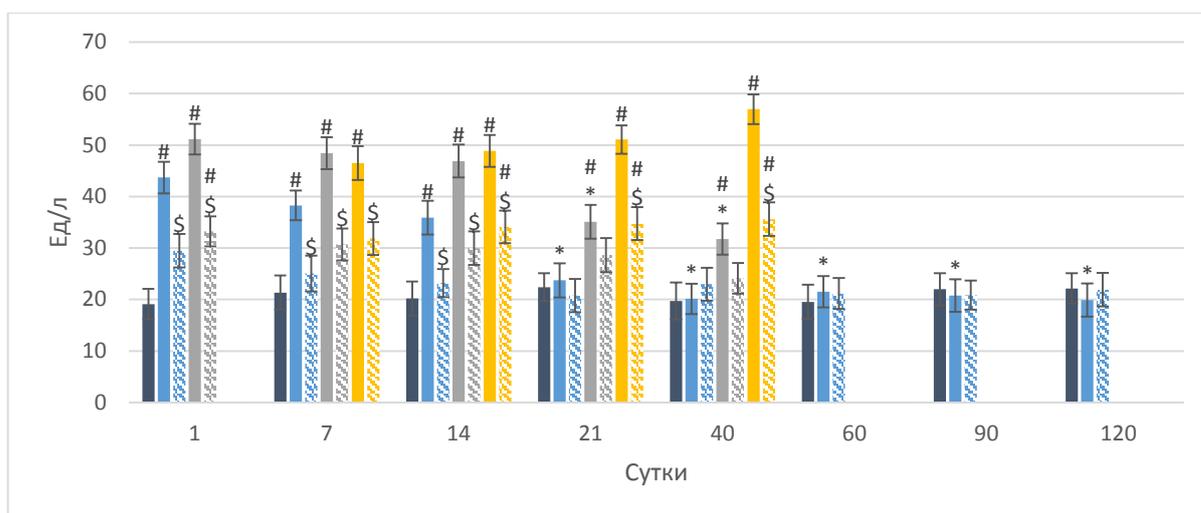
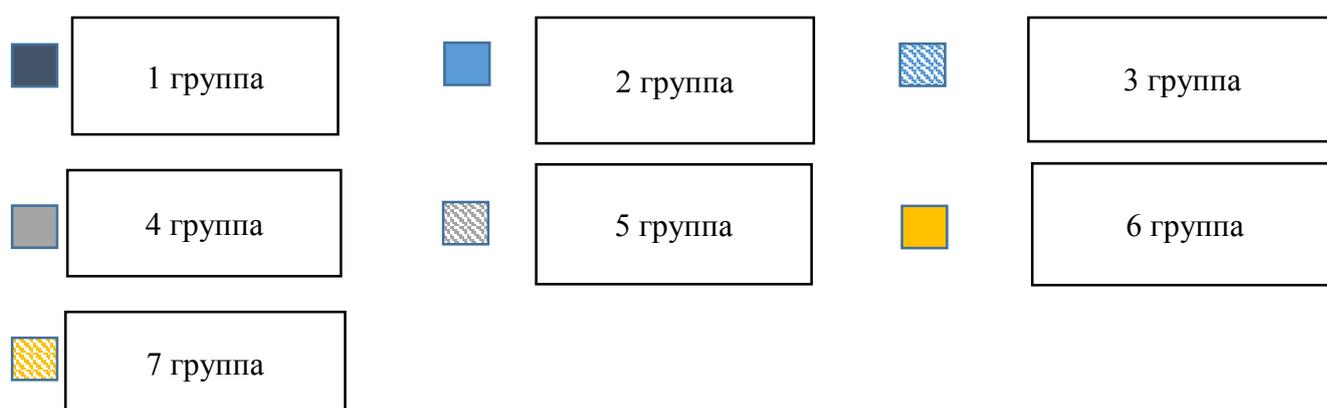


Рисунок 8.6. Активность КФК-МВ в плазме крови крыс после однократного и многократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе.



Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

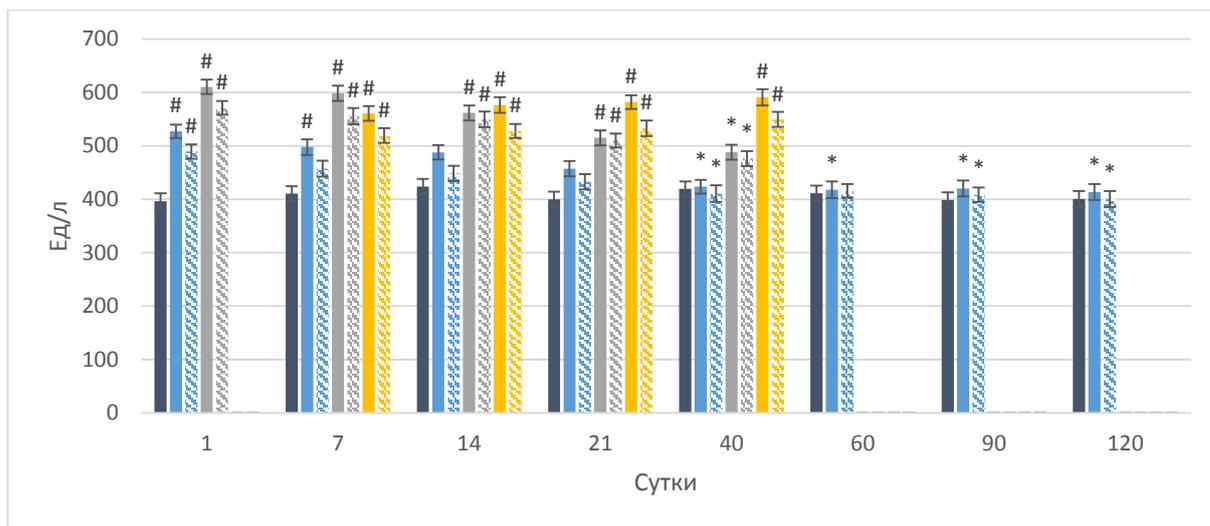
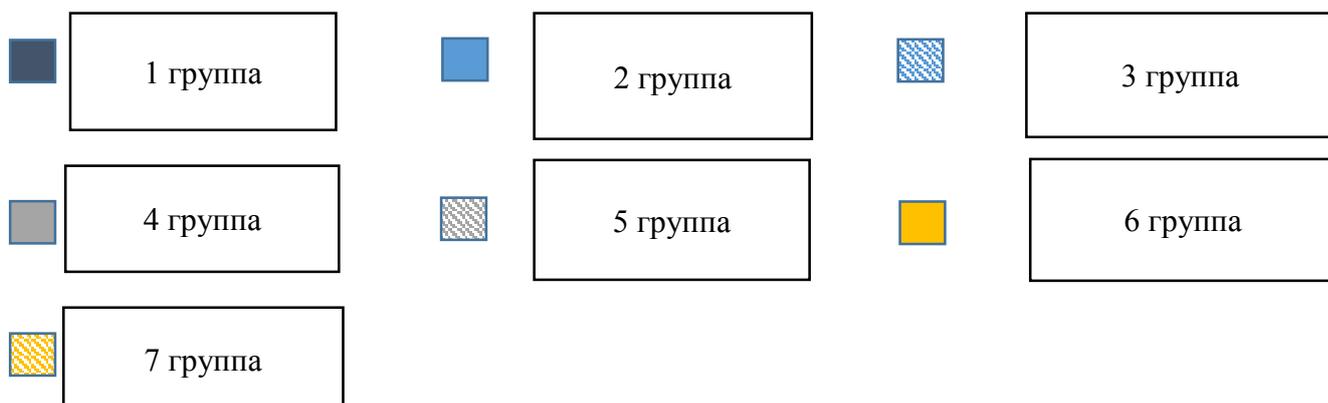


Рисунок 8.7. Активность ГБДГ в плазме крови крыс после однократного и многократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе.



Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

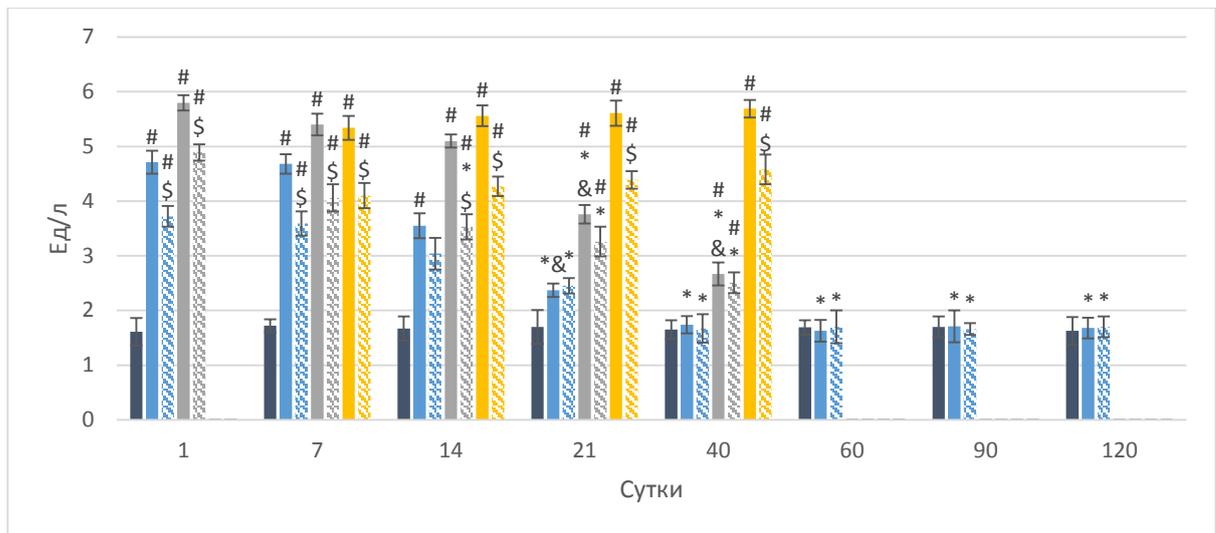
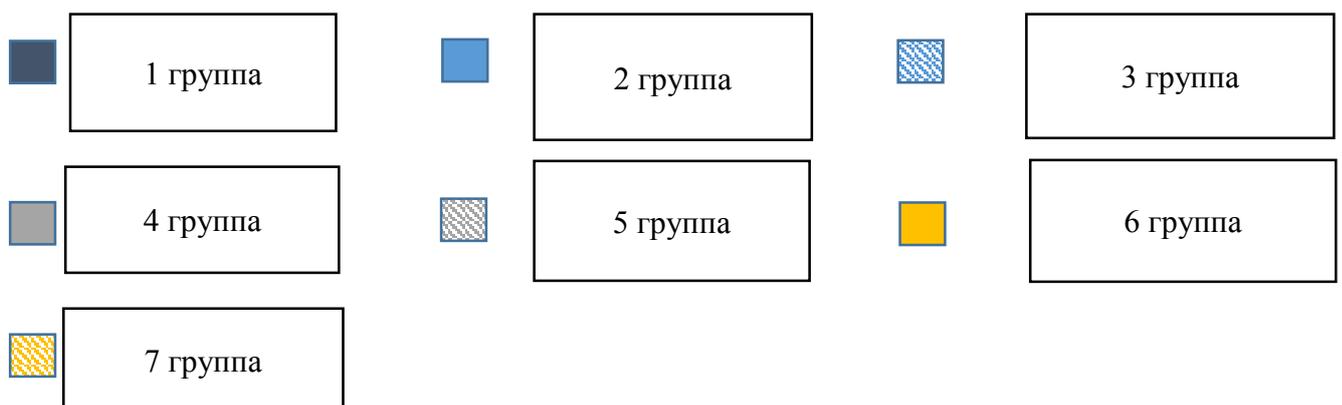


Рисунок 8.8. Активность γ -ГТ в плазме крови крыс после однократного и многократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе.



Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

Концентрация метаболитов в плазме крови крыс после внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе, $X \pm s$.

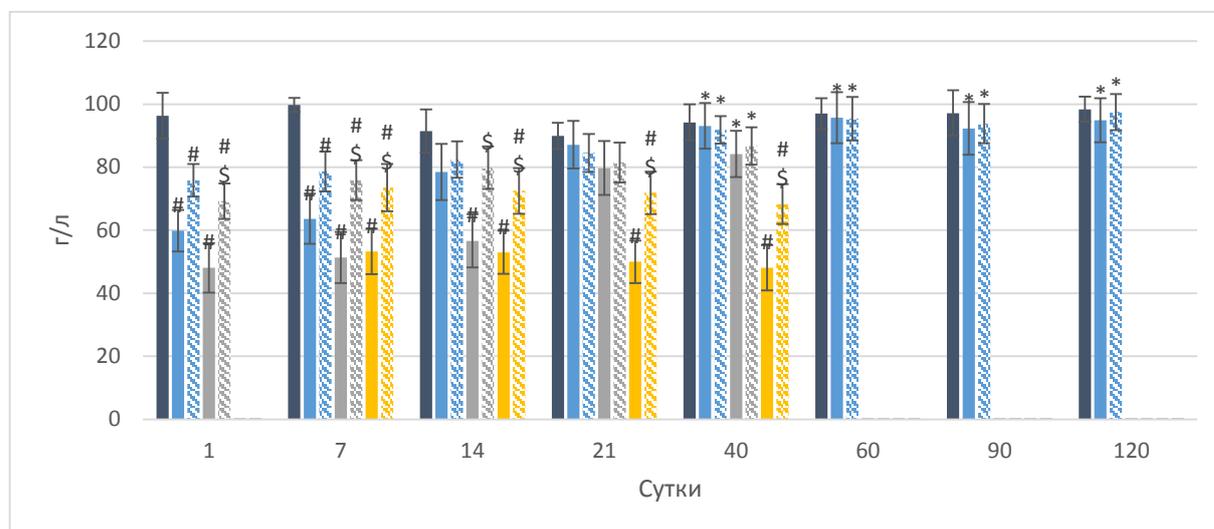
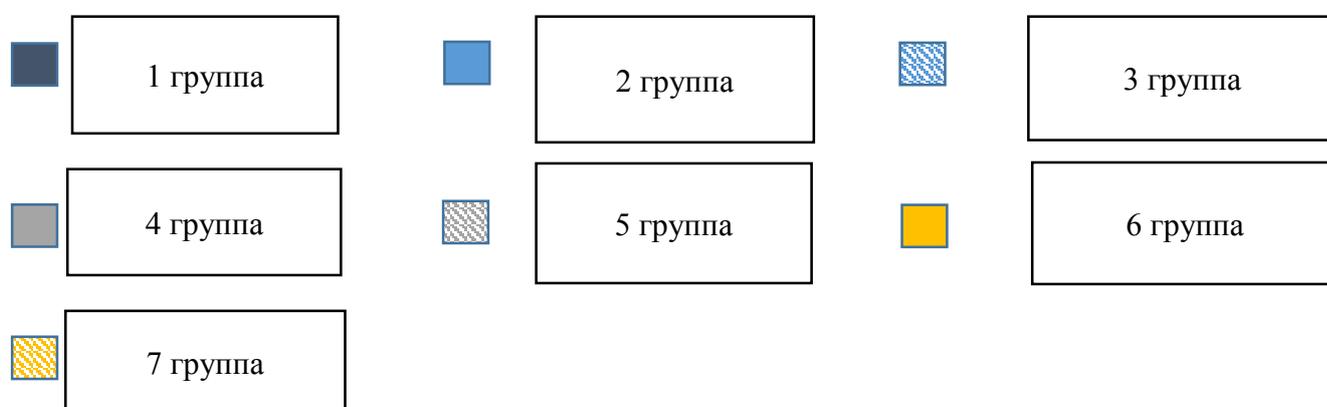


Рисунок 9.1. Концентрация общего белка в плазме крови крыс после однократного и многократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе.



Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

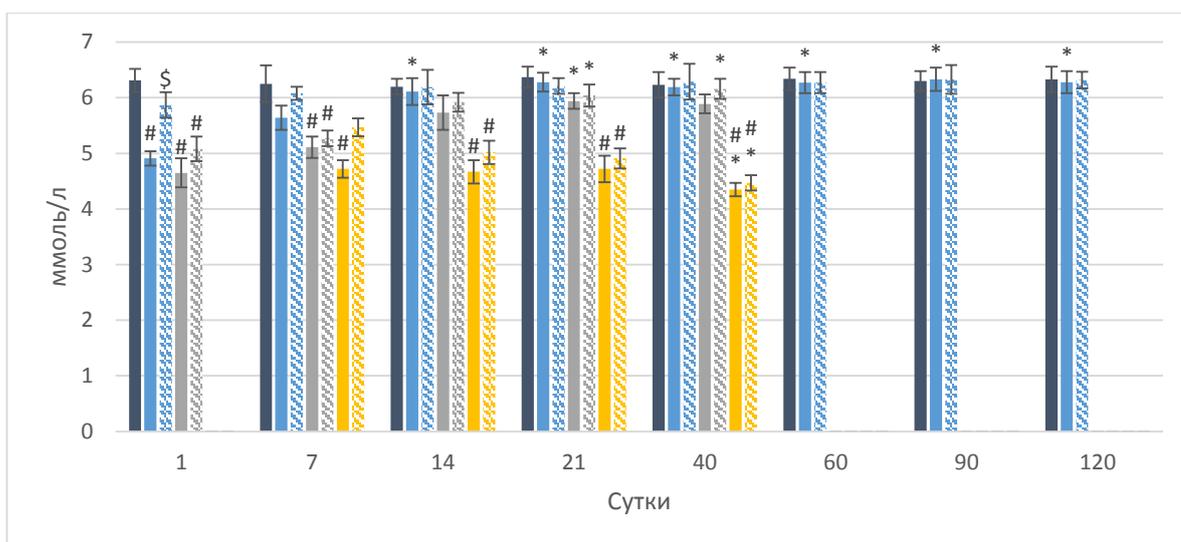
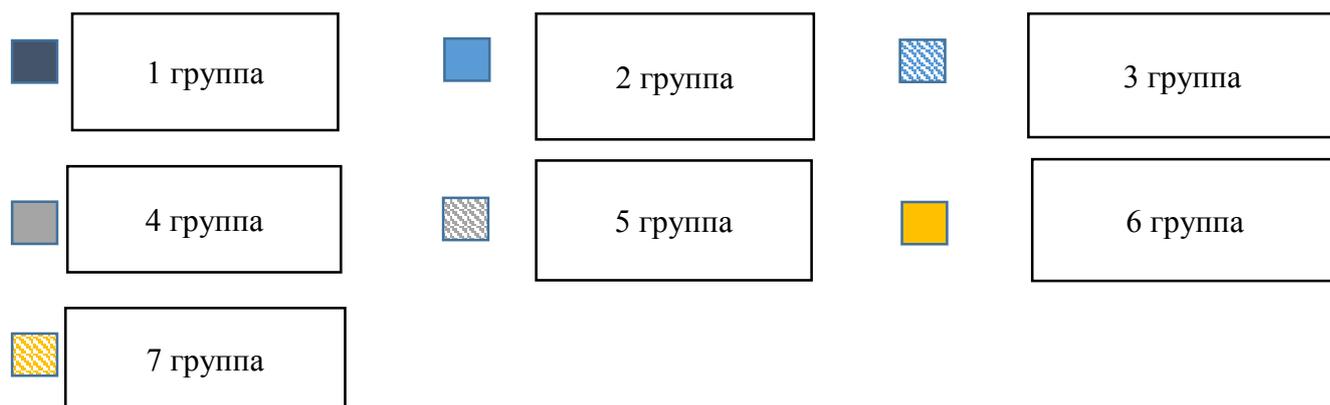


Рисунок 9.2. Концентрация глюкозы в плазме крови крыс после однократного и многократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе.



Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

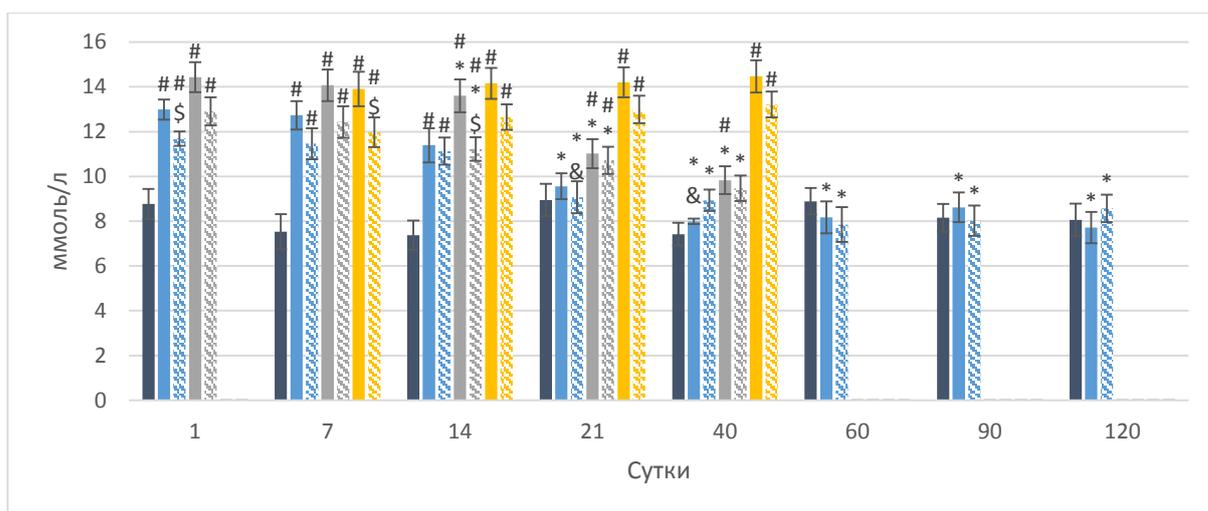
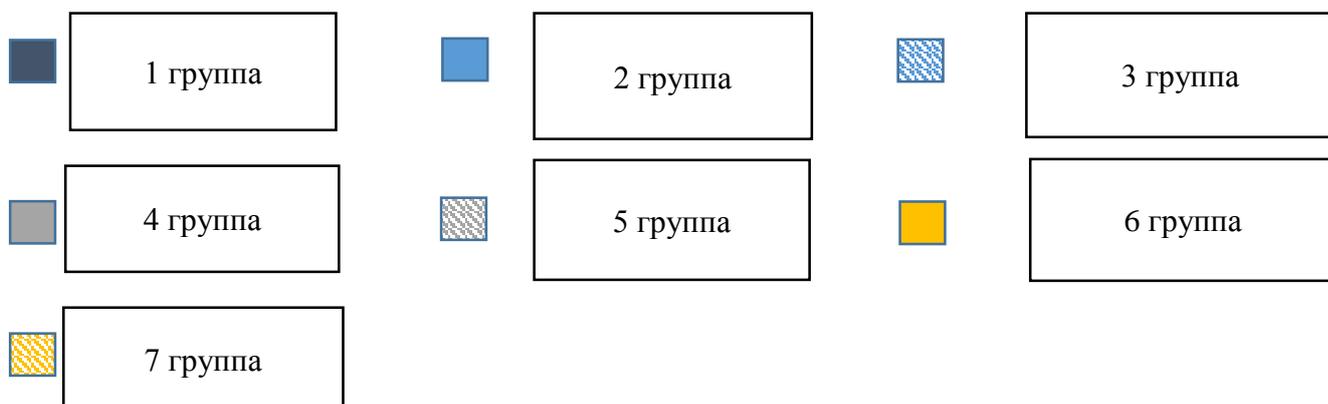


Рисунок 9.3. Концентрация мочевины в плазме крови крыс после однократного и многократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе.



Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

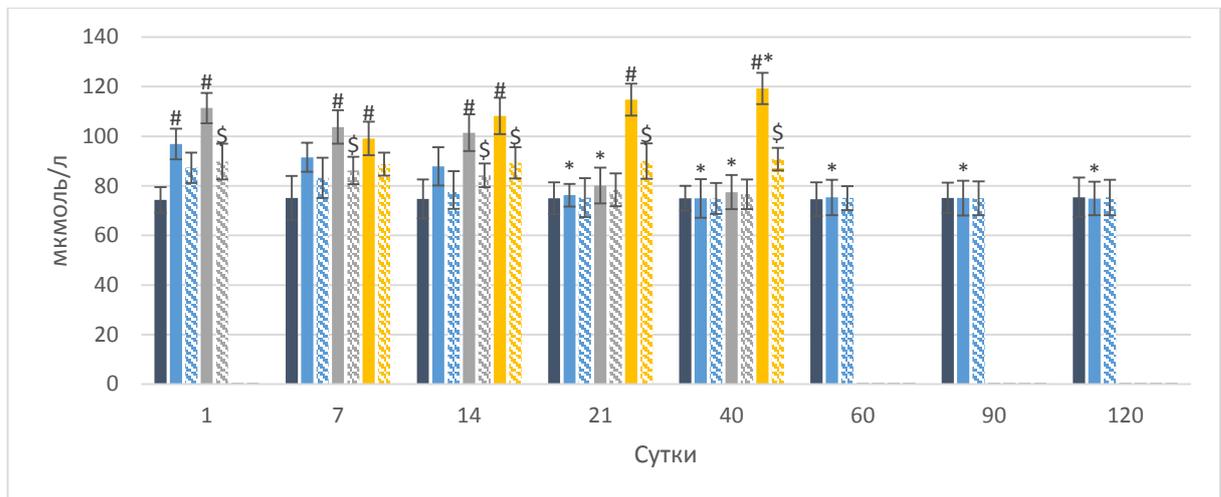
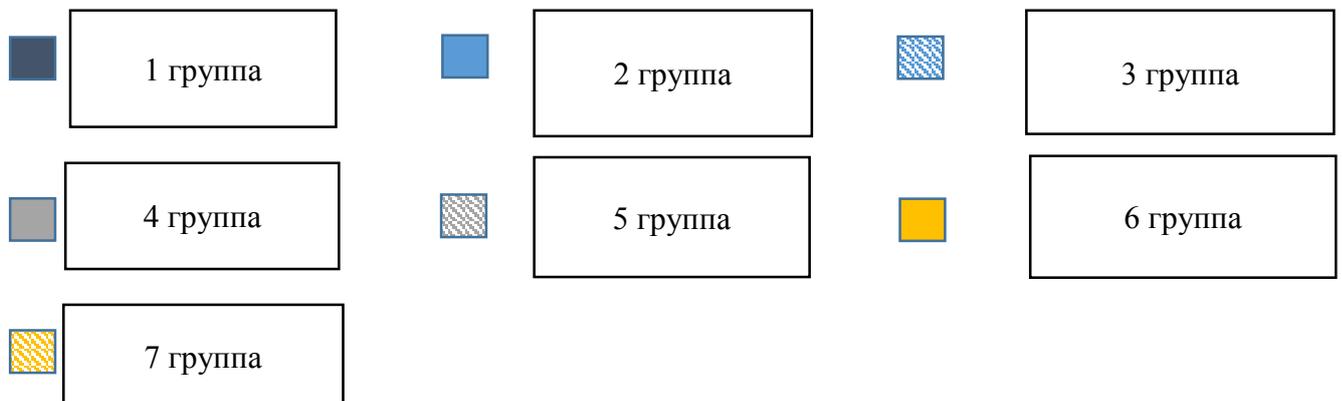


Рисунок 9.4. Концентрация креатинина в плазме крови крыс после однократного и многократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе.



Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

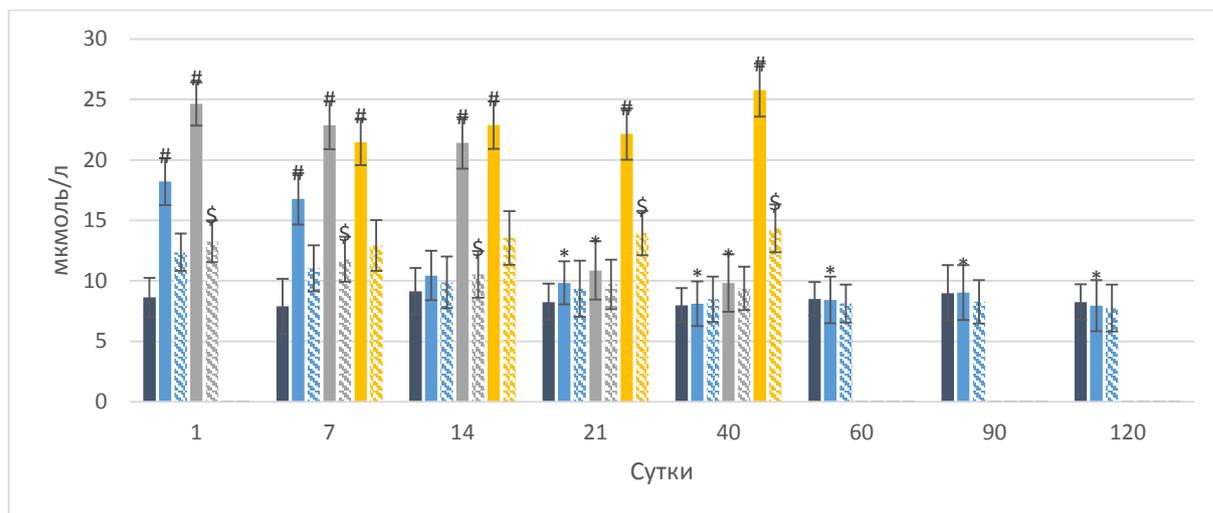
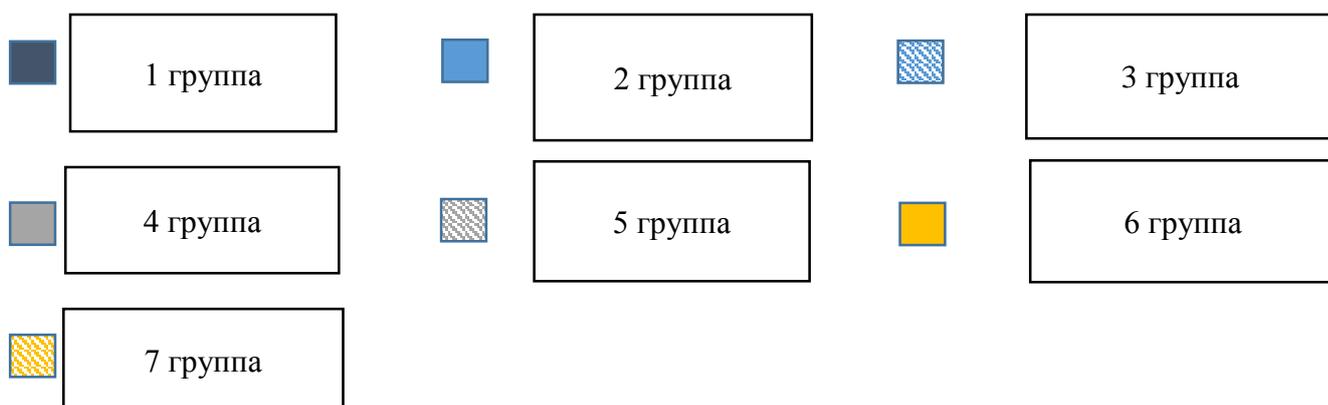


Рисунок 9.5. Концентрация общего билирубина в плазме крови крыс после однократного и многократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе.



Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).

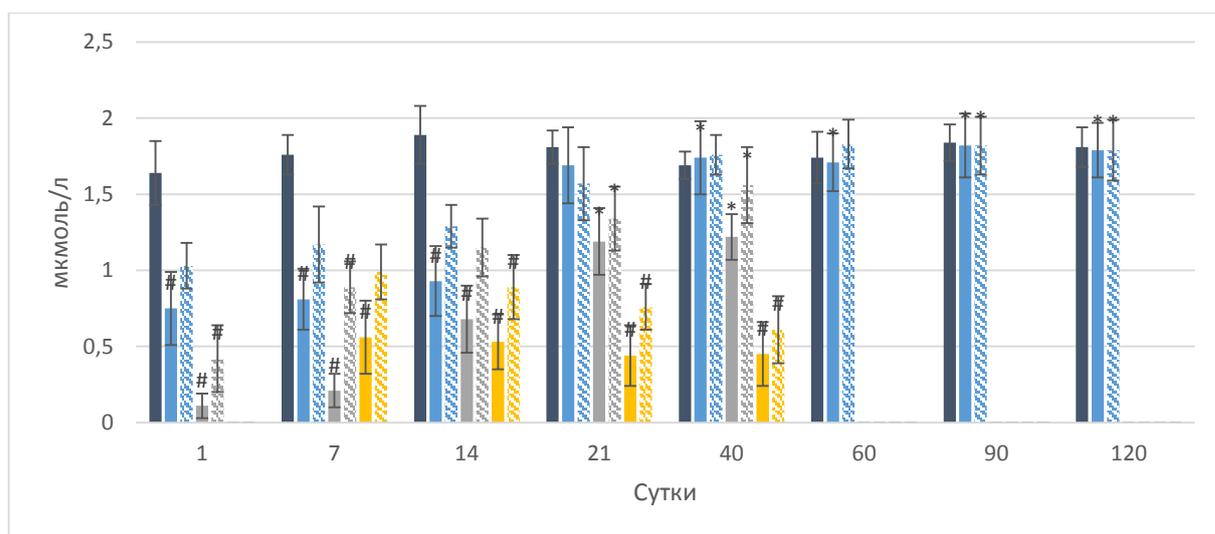
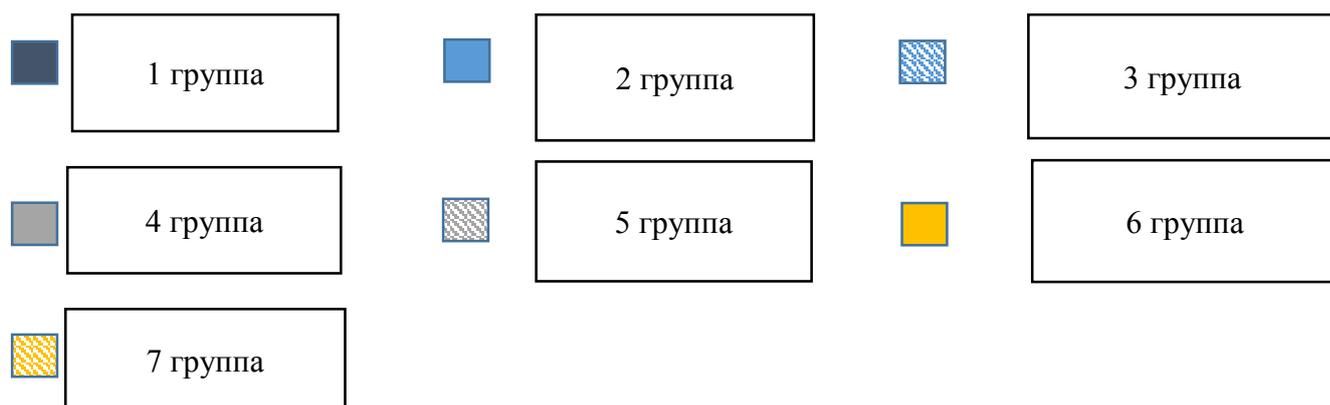


Рисунок 9.6. Концентрация конъюгированного билирубина в плазме крови крыс после однократного и многократного внутривенного введения покрытых углеродом наночастиц железа и магнитомицелл на их основе.



Примечание:

- отличие показателя от аналогичного у крыс интактной группы ($p < 0,05$).

* - отличие показателя от его значения на 1 сутки в той же группе ($p < 0,05$).

\$ - отличие показателя от аналогичного у крыс после введения покрытых углеродом наночастиц железа в аналогичной дозе ($p < 0,05$).

& - отличие показателя от его значения в предыдущий срок в той же группе ($p < 0,05$).