

УДК 616-006-073.7:57.086.16:549.731.13-022.532

DOI: 10.20538/1682-0363-2018-1-139-148

Для цитирования: Никитин А.А., Науменко В.А., Водопьянов С.С., Гаранина А.С., Федорова Н.Д., Калабай Е.Д., Савченко А.Г., Абакумов М.А., Мажуга А.Г. Изучение эффективности контрастирования различных видов опухолей с использованием кубических наночастиц магнетита. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018; 17 (1): 139–148.

Изучение эффективности контрастирования различных видов опухолей с использованием кубических наночастиц магнетита

Никитин А.А.^{1, 2}, Науменко В.А.¹, Водопьянов С.С.¹, Гаранина А.С.¹, Федорова Н.Д.¹, Калабай Е.Д.¹, Савченко А.Г.¹, Абакумов М.А.^{1, 3}, Мажуга А.Г.^{2, 4}

¹Национальный исследовательский технологический университет (НИТУ) «МИСиС»
Россия, г. Москва, 119991, Ленинский пр., 4

²Московский государственный университет (МГУ) имени М.В. Ломоносова
Россия, 119991, г. Москва, ГСП-1, Ленинские горы, 1/3

³Российский национальный исследовательский медицинский университет (РНИМУ) имени Н.И. Пирогова
Россия, г. Москва, 117997, ул. Островитянова, 1

⁴Российский химико-технологический университет (РХТУ) имени Д.И. Менделеева
Россия, г. Москва, 125047, Миусская пл., 9

РЕЗЮМЕ

На сегодняшний день магнитно-резонансная томография (МРТ) является одним из ключевых методов диагностики различных заболеваний. Использование различных контрастных агентов на основе магнитных наночастиц способно повысить эффективность диагностики и, как следствие, качество проводимого впоследствии лечения. Наиболее перспективными контрастными агентами являются наночастицы магнетита кубической формы в связи с их высокими показателями релаксивности, а также биосовместимостью и биоразлагаемостью.

Цель настоящей работы – оценить эффективность МРТ-визуализации опухолевых очагов при помощи кубических наночастиц магнетита (КНЧМ).

Материалы и методы. Осуществлен синтез 15 нм КНЧМ, модифицированных биосовместимым сополимером пльороником F127. Полученные КНЧМ и их водные коллоиды были охарактеризованы комплексом физико-химических методов анализа. Затем методом МРТ было проведено исследование эффективности контрастирования различных видов опухолей после внутривенного введения водных коллоидов КНЧМ. Для комплексной оценки полученных результатов в работе использовали три модели опухолей мыши: рак молочной железы 4Т1, рак толстого кишечника СТ-26 и меланома В16. МРТ-исследования проводили до введения частиц, а также через 30 мин, 6 и 24 ч после инъекции в Т2-взвешенном режиме в двух взаимноортогональных проекциях.

Результаты. Анализ полученных результатов показал, что наиболее эффективное накопление частиц выявлено в моделях 4Т1 (100%) и В16 (57%), а в модели СТ-26 эффективность накопления составила 50%, что связано с эффектом проницаемости кровеносных сосудов.

Ключевые слова: наночастицы, магнетит, магнитно-резонансная томография, контрастные агенты, рак молочной железы, рак толстого кишечника, меланома.

✉ Никитин Алексей Андреевич, e-mail: nikitin.chemistry@mail.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Магнитно-резонансная томография (МРТ) – метод, широко применяемый в клинике для диагностики различных заболеваний, в том числе онкологических [1, 2]. МРТ позволяет достичь высокого пространственного разрешения и не имеет ограничения по проникновению вглубь тканей. Расширение диагностических возможностей метода необходимо для повышения эффективности лечения онкологических заболеваний. Использование магнитных наночастиц позволяет повысить эффективность визуализации опухолей за счет использования T2- или T1-контрастирующих агентов. Наночастицы оксида железа обладают магнитной сердцевинкой, которая делает их эффективным T2-контрастным агентом. За счет того, что магнитная сердцевина влияет на релаксацию протонов в окружающих тканях, происходит изменение (уменьшение) времени релаксации, которое можно детектировать [3]. Результат этого взаимодействия в T2-взвешенном режиме выглядит как зона затемнения, что дает возможность неинвазивно наблюдать накопление магнитных наночастиц в тканях. Парамагнитные гадолиниевые комплексы уже широко используются в качестве контрастных агентов в МРТ-диагностике. Однако недавние результаты свидетельствуют о том, что происходит накопление гадолиния в головном мозге после проведения процедуры диагностики [4].

Действие гадолиния основано на изменении времени T1-релаксации, что проявляется на МРТ-изображениях в виде зоны просветления. В противоположность гадолинию железо представляет собой один из самых распространенных металлов в живом организме и является важным для различных биологических процессов, включая перенос кислорода с помощью гемоглобина и клеточное дыхание. Таким образом, в настоящее время ведется активная разработка T2- и T1-контрастных агентов для повышения эффективности диагностики опухолей методом МРТ. Чаще всего используются наночастицы магнетита с размером 10–100 нм, характеризующиеся высокой биосовместимостью, низкой токсичностью и выраженными контрастирующими свойствами [5]. Однако параметр T2-релаксации наночастиц зависит от их физико-химических характеристик, таких как размер, форма, химия поверхности и поверхностный заряд [6, 7].

Ранее в работах было показано, что ку-бические наночастицы магнетита превосхо-

дят наночастицы других форм по показателю T₂-релаксации и тем самым являются более предпочтительным контрастным агентом для применения в МРТ-визуализации опухолевых очагов [8, 9]. Чаще всего поверхность магнитных наночастиц модифицируют лигандами на основе полиэтиленгликоля и сополимеров полиэтиленгликоля с полипропиленгликолем для предотвращения слипания наночастиц и их последующей агрегации. В данной работе был использован сополимер плуроник F127, который является клинически одобренным веществом. Гидрофильная «корона», образующаяся вокруг частиц, препятствует их агломерации, адсорбции белков и распознаванию наночастиц ретикулоэндотелиальной системой [10]. Кроме того, контрастирование опухолей зависит не только от физико-химических свойств наночастиц, но и от эффективности их доставки, которая не в последнюю очередь определяется свойствами опухолей. Известно, что накопление частиц при пассивной доставке зависит прежде всего от enhanced permeability and retention (EPR) эффекта – повышенной проницаемости кровеносных сосудов и сниженного лимфатического дренажа [11]. Однако EPR-эффект существенно варьирует как в разных опухолях, так и для разных пациентов [12], что диктует необходимость комплексной оценки контрастирующих свойств кандидатных диагностикумов в различных опухолевых моделях *in vivo*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Олеиновая кислота (≥99%), хлорид железа (III) (97%), 1-октадецен (≥95,0%), ацетат аммония (99,99%), натриевая соль 3-(2-пиридил)-5,6-дифенил-1,2,4-триазин-4',4''-дисульфоновой кислоты (97%), L-аскорбиновая кислота (≥99,0%), плуроник F127, гексан (≥98,0%), 2-пропанол (≥99,8%) и этанол (95%) были приобретены в компании Sigma-Aldrich (США). Олеат натрия (95%) был приобретен в компании ABCR GmbH & Co. KG (США). Все реагенты использованы без какой-либо дополнительной очистки. Деионизированная вода получена при помощи системы Milli-Q. Линии клеток опухоли молочной железы мышей 4T1 (Cat. No.CRL-2539) и опухоли толстого кишечника мыши CT-26 (Cat. No.CRL-2638) приобретены в американском банке клеточных культур ATCC. Линия меланомы мыши B16-F10 получена из лаборатории иммунохимии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный меди-

динский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского».

Характеризация наночастиц. Морфология и средний размер полученных наночастиц определены с использованием просвечивающего электронного микроскопа JEOL JEM-1400 при ускоряющем напряжении 120 кВ. Не менее 1 000 наночастиц проанализированы для оценки их среднего размера. Рентгеноструктурные исследования порошков наночастиц проведены на рентгеновском дифрактометре Rigaku Ultima IV с использованием $\text{CoK}\alpha$ -излучения и графитового монохроматора. Качественный фазовый анализ проведен путем сравнения полученных спектров с базой данных PHAN. Количественный анализ проведен с использованием программ PHAN% и SPECTRUM, разработанных на кафедре физического материаловедения НИТУ «МИСиС» (модификация метода Ритвельда). Измерение магнитных свойств (от -30 до 30 кЭ) проводили на вибромагнитометре измерительного комплекса PPMS-9 фирмы Quantum Design (США). Мёссбауэровский спектр ядер ^{57}Fe зарегистрирован при комнатной температуре с использованием спектрометра MS-1104Em (разработка НИИ физики, г. Ростов-на-Дону) с $^{57}\text{Co}(\text{Rh})$ -источником излучения. МРТ-исследования проводили с использованием 7Т МР-томографа (ClinScan, Bruker, Германия), входящего в состав ЦКП «Медицинские и биотехнологические нанотехнологии». Для получения T2-взвешенных изображений в коронарной плоскости использовалось частотное подавление жира со следующими параметрами последовательности Turbo Spin Echo (TSE): TR/TE = 4000/43 мс, толщина среза 0,5 мм, матрица 288 x 320, FOV = 40 мм. Для T2-ВИ в трансверсальной плоскости: TR/TE = 5110/57 мс, толщина среза 0,5 мм, матрица 288 x 320, FOV = 40 мм. Измерение гидродинамического размера и ξ -потенциала наночастиц было проведено на приборе Malven Zetasizer Nano ZS (угол 173°) с применением He-Ne лазера. Концентрация железа в образцах определялась при помощи стандартного протокола с использованием ферринового теста [13].

Подготовка культур опухолевых клеток. За 5–7 сут до имплантации аликвоту клеток 4Т1 или СТ-26, хранящуюся в жидком азоте, размораживали и помещали в культуральный матрас в ростовой среде (RPMI-1640 для 4Т1 и СТ26; DMEM для В16), содержащей 10% FBS, без добавления антибиотиков при 37°C во влажной атмосфере с 5%-м CO_2 . При достижении плотности монослоя 80–90% культуру пассировали

с коэффициентом рассева 1 : 5–10, используя для диссоциации клеток раствор 0,25%-го трипсина-EDTA (Invitrogen). За 24–48 ч до введения клетки пассировали для обеспечения активной фазы роста клеток в день имплантации.

Моделирование опухолей *in vivo*. В соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Министерства высшего и среднего образования СССР от 13.11.1984 г. № 742) эксперименты проводились на половозрелых самках мышей породы BALB/c, массы от 18 г (возраст 8–10 нед). За день до имплантации клеток будущую зону инъекции выбривали при помощи электробритвы.

В день имплантации монослой опухолевых клеток (4Т1, СТ-26, В16) диссоциировали при помощи 0,25%-го трипсина-EDTA, трипсин инактивировали ростовой средой, после чего производили подсчет с использованием автоматического счетчика клеток Eve. Клетки осаждали при 300 об/мин в течение 5 мин при 4°C , сливали супернатант и готовили суспензию клеток в фосфатно-солевом буфере с концентрацией клеток 20 млн/мл (для 4Т1 и СТ26), 60 млн/мл (В16). До момента введения (не более 30 мин) клетки держали при 4°C и тщательно ресуспендировали непосредственно перед имплантацией.

Для обеспечения доступности интратуморальной инъекции клетки опухоли имплантировали подкожно. Для этого 50 мкл суспензии клеток (4Т1, СТ-26, В16) вводили подкожно в задне-правую область спины (5 мм от линии позвоночника, 15 мм от основания хвоста) с помощью инсулинового шприца на 500 мкл с иглой 32g.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Синтез водорастворимых кубических наночастиц магнетита (КНЧМ) (средний размер 15 нм) проводился в соответствии с ранее опубликованной статьей [14]. На рис. 1 представлены ПЭМ-изображение и гистограмма распределения наночастиц по размерам. Видно, что наночастицы имеют ярко выраженную кубическую форму. Кроме того, наночастицы обладают узким распределением по размерам, что подтверждается соответствующей гистограммой.

Для того чтобы однозначно доказать образование чистой фазы магнетита, был зарегистрирован мёссбауэровский спектр полученных наночастиц. Расчет полученного спектра представлен в табл. 1 и полностью подтверждает образование чистой фазы магнетита.

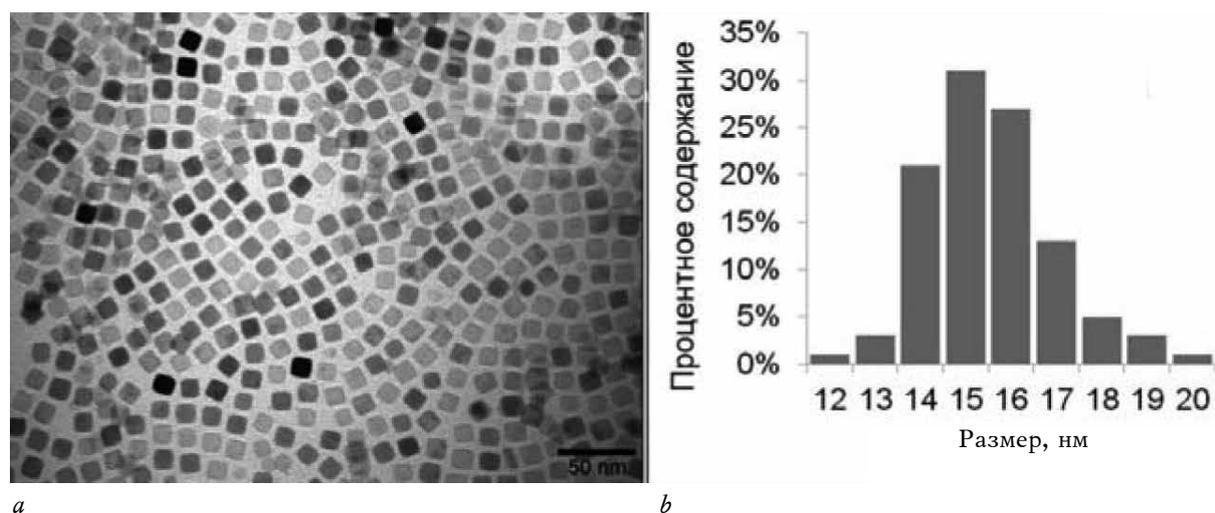


Рис. 1. ПЭМ-изображение (a) и гистограмма распределения по размерам (b) кубических наночастиц магнетита
 Fig. 1. TEM image (a) and histogram of the size distribution (b) of cubic magnetite nanoparticles

Для доказательства фазового состава полученных наночастиц был проведен фазово-структурный анализ в совокупности с мёссбауэровской спектроскопией (рис. 2). Максимумы пиков на дифрактограмме при углах 21,28°; 35,10; 41,41; 43,35; 50,48; 62,97; 67,28 и 74,18° соот-

ветствуют плоскостям кристалла (111), (220), (311), (222), (400), (422), (511) и (440) соответственно. Таким образом, положения и относительные интенсивности пиков указывают на чистую фазу магнетита ($a = 8,396 \text{ \AA}$, JCPDS № 19-0629).

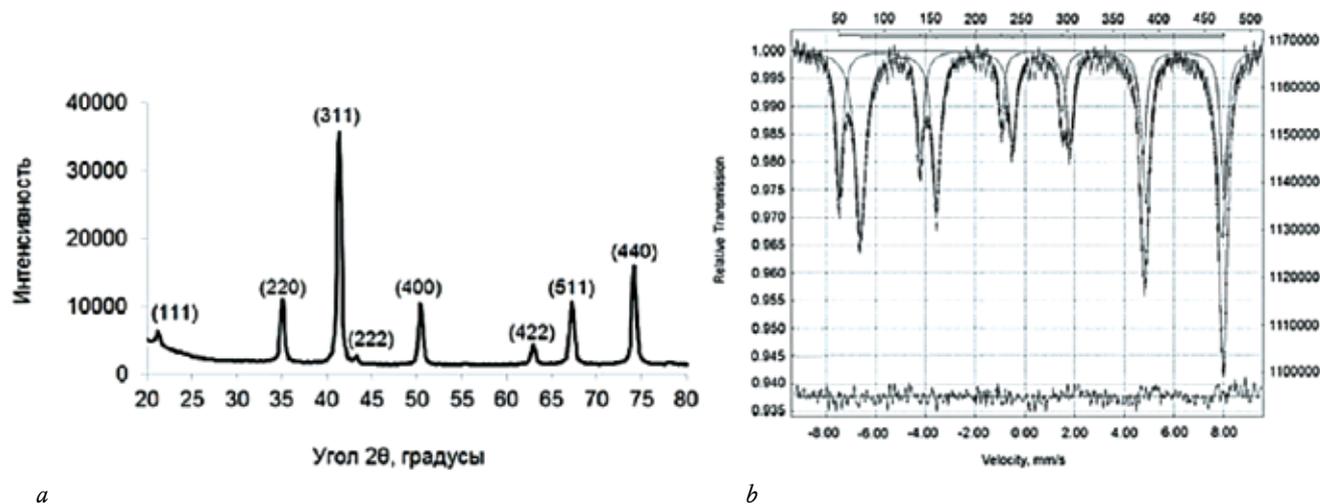


Рис. 2. Дифрактограмма (a) и мёссбауэровский спектр (b) кубических наночастиц магнетита при комнатной температуре

Fig. 2. Diffractogram (a) and Mössbauer spectrum (b) of cubic magnetite nanoparticles at room temperature

Т а б л и ц а 1

| Мёссбауэровские параметры, полученные из экспериментального спектра | | | | |
|---|--|------------------------|-----------------------|--------------------------------|
| Площадь мёссбауэровского спектра для ионов Fe^{3+} в тетраэдрической позиции (S_a) | Площадь мёссбауэровского спектра для ионов Fe^{2+} в октаэдрической позиции (S_b) | S_b/S_a (σ) | Вакантный параметр, k | Fe^{2+}/Fe , % |
| 34,9 | 65,1 | 1,87 | 0,008 | 33 |

Магнитные измерения были проведены при комнатной температуре и нормализованы на содержание магнетита в образце. На рис. 3 приведена петля гистерезиса для КНЧМ. Значение коэрцитивной силы H_c составило 15,2 Э, что говорит о практически суперпарамагнитном характере наночастиц.

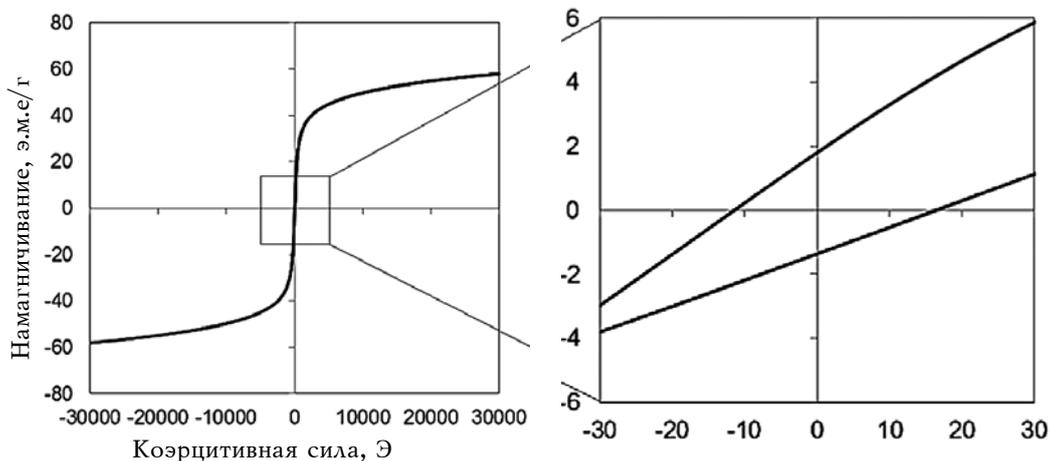


Рис. 3. Петля гистерезиса кубических наночастиц магнетита

Fig. 3. Cubic magnetite nanoparticles hysteresis loop

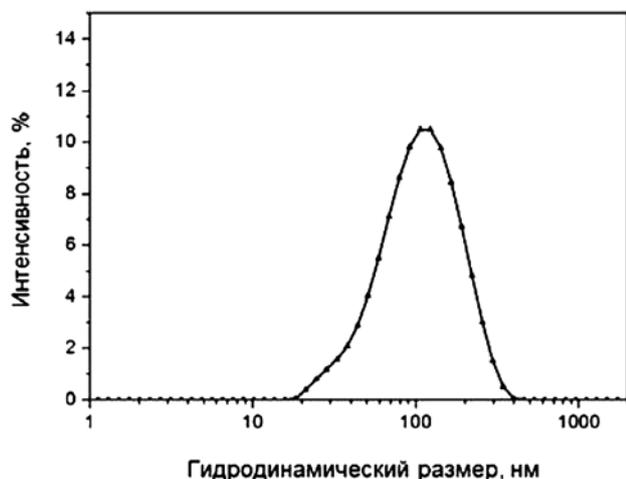


Рис. 4. Гидродинамический размер кубических наночастиц магнетита после покрытия сополимером плуроник F127

Fig. 4. Hydrodynamic size of the cubic magnetite nanoparticles after coating with Pluronic F127 copolymer

Для оценки широты применения КНЧМ в качестве МРТ-контрастных агентов в работе использовали три модели опухолей мыши: рак молочной железы 4Т1, рак толстого кишечника СТ-26 и меланома В16. Для этого животным вводили 1 млн клеток подкожно, а через 10 сут после имплантации вводили внутривенно раствор

Поверхность КНЧМ была покрыта сополимером плуроник F127 для придания им стабильности в физиологической среде. Средний гидродинамический размер наночастиц после конъюгации с полимером составил 100 нм, о чем свидетельствуют соответствующие измерения методом динамического светорассеяния (рис. 4).

наночастиц в PBS. МРТ-исследования проводили в T2-взвешенном режиме в двух взаимноортогональных проекциях до введения частиц, а также через 15 мин, 6 ч и 24 ч после инъекции.

В ходе проведения экспериментов было показано, что КНЧМ накапливались и увеличивали T2-контраст в 100% опухолей 4Т1, 70% СТ-26 и 57% В16. Максимальный контраст наблюдали через 6 ч после введения. В экспериментах на модели рака молочной железы 4Т1 накопление КНЧМ выявлено в 100% опухолей 4Т1 (5/5), выраженное накопление (рис. 5) – в 100% опухолей 4Т1 (5/5).

В экспериментах на модели рака толстого кишечника мыши СТ26 накопление КНЧМ выявлено в 70% опухолей СТ26 (7/10), выраженное накопление (рис. 6) – в 50% опухолей СТ26 (5/10).

В экспериментах на модели меланомы В16 накопление кубических наночастиц магнетита выявлено в 57% (4/7) опухолей В16, выраженное накопление (рис. 7) – в 57% (4/7) опухолей В16.

Для диагностики опухолевых очагов необходимо четкое контрастирование опухоли, поэтому для анализа были отдельно выделены опухоли с выраженным накоплением КНЧМ. Для КНЧМ доля таких опухолей составила 64% (табл. 2).

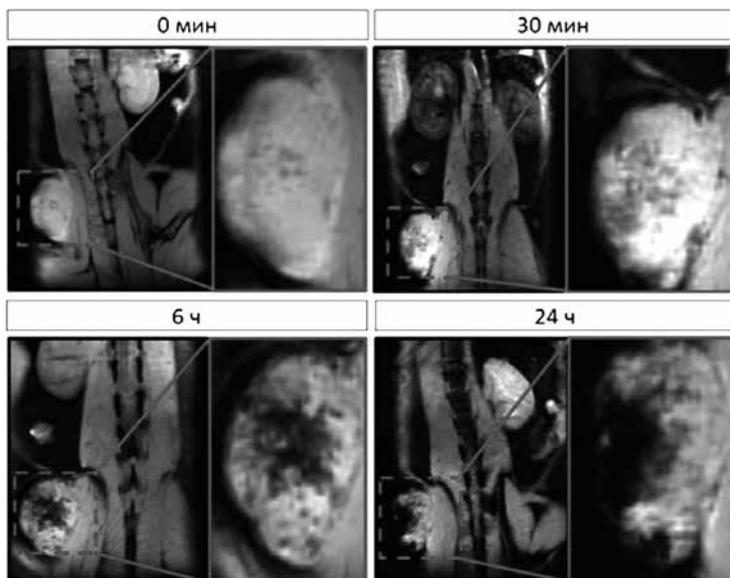


Рис. 5. Репрезентативное фото выраженного накопления кубических наночастиц магнетита в динамике (0 мин, 30 мин, 6 ч, 24 ч) после внутривенного введения 5 мг/кг (Fe) частиц (модель 4Т1). Для каждой временной точки левая панель – обзорный снимок, правая панель – опухоль

Fig. 5. Representative photo of the expressed accumulation of the cubic magnetite nanoparticles over time (0 min, 30 min, 6 h, 24 h) after intravenous administration of 5 mg/kg (Fe) of particles (model 4T1). For each time point, the left panel is an overview image, the right panel is a tumor

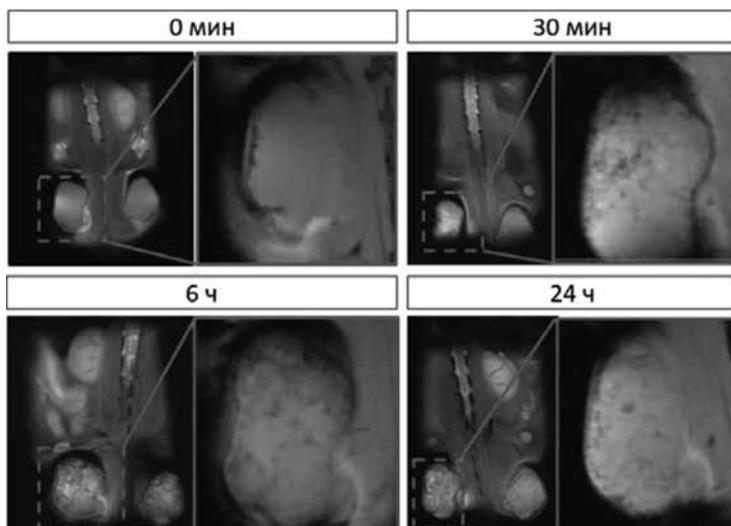


Рис. 6. Репрезентативное фото выраженного накопления кубических наночастиц магнетита в динамике (0 мин, 30 мин, 6 ч, 24 ч) после внутривенного введения 5 мг/кг (Fe) частиц (модель СТ26). Для каждой временной точки левая панель – обзорный снимок, правая панель – опухоль

Fig. 6. Representative photo of the expressed accumulation of of the cubic magnetite nanoparticles over time (0 min, 30 min, 6 h, 24 h) after intravenous administration of 5 mg/kg (Fe) particles (model CT26). For each time point, the left panel is an overview image, the right panel is a tumor

Т а б л и ц а 2

| Накопление (+) и выраженное накопление (+++) КНЧМ в опухолях | | | | | | | | |
|--|------------|------------|------------|------------|-----------|-----------|-------------|-------------|
| Параметр | 4Т1 | | СТ26 | | В16 | | Все модели | |
| | + | +++ | + | +++ | + | +++ | + | +++ |
| КНЧМ | 100% (5/5) | 100% (5/5) | 70% (7/10) | 50% (5/10) | 57% (4/7) | 57% (4/7) | 73% (16/22) | 64% (14/22) |

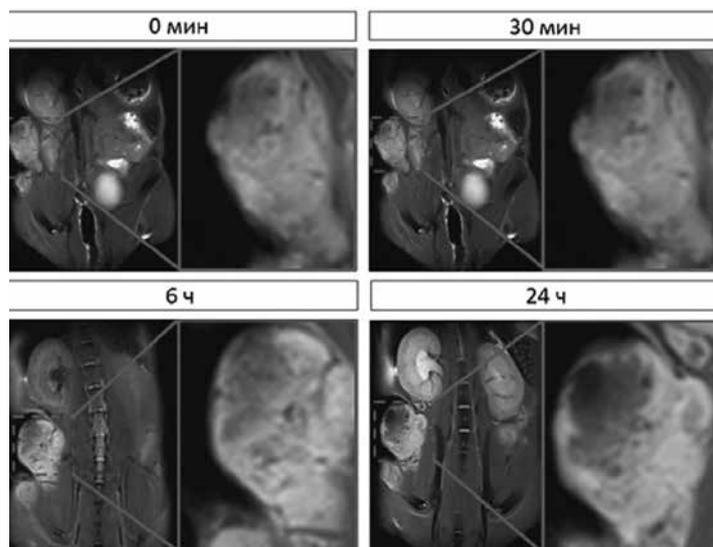


Рис. 7. Репрезентативное фото выраженного накопления кубических наночастиц магнетита в динамике (0 мин, 30 мин, 6 ч, 24 ч) после внутривенного введения 5 мг/кг (Fe) частиц (модель В16). Для каждой временной точки левая панель – обзорный снимок, правая панель – опухоль

Fig. 7. Representative photo of the expressed accumulation of the cubic magnetite nanoparticles over time (0 min, 30 min, 6 h, 24 h) after intravenous administration of 5 mg/kg (Fe) particles (model B16). For each time point, the left panel is an overview image, the right panel is a tumor

ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее неоднократно было показано, что различная форма нанокристаллов магнетита обладает существенным влиянием на магнитные и релаксационные свойства материала. В представленной работе исследована система на основе наночастиц магнетита кубической формы. Проведенные физико-химические исследования показали, что полученные частицы обладают высокой монодисперсностью, упорядоченной кристаллической структурой и суперпарамагнитными свойствами, что позволяет их использовать в качестве МРТ-контрастного агента.

Значения намагниченности в области нулевых значений внешнего магнитного поля близки к нулю, что говорит о пренебрежимо малой остаточной намагниченности и позволяет утверждать о наличии суперпарамагнитных свойств у КНЧМ. Данное свойство важно в аспекте применения КНЧМ в экспериментах на живых системах, особенно при МРТ. Наличие суперпарамагнитных свойств обеспечивает отсутствие магнитных взаимодействий между наночастицами без воздействия внешнего магнитного поля, что приводит к уменьшению сил притяжения между наночастицами и препятствует агрегации в сосудах и тканях, способной привести к эмболизации микрососудов.

Поскольку наночастицы магнетита обладают низкой агрегативной устойчивостью в водных

средах, нами был предложен метод солюбилизации КНЧМ, позволяющий повысить их стабильность с использованием сополимера плуроника F127. Данный амфифильный полимер встраивается в оболочку КНЧМ из олеиновой кислоты центральным гидрофобным полипропиленовым фрагментом, тогда как гидрофильные боковые фрагменты сополимера обращаются в сторону водной фазы, формируя гидрофильную корону из полиэтиленгликоля, препятствующую агрегации, в том числе и во внешнем магнитном поле.

Значение скорости r_2 -релаксации для КНЧМ, покрытых плуроником F127, составило $300 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ (рис. 8), что значительно превышает такие же значения для коммерческих контрастных агентов на основе наночастиц магнетита (Lumirem, Feridex, Resovist и др.).

Столь высокое значение можно объяснить наличием дополнительных неоднородностей магнитного поля, создаваемых каждой отдельной наночастицей, что в совокупности приводит к ускорению времени спин-спиновой релаксации протонов, попадающих в области с различной напряженностью магнитного поля. При этом стоит отметить, что наночастицы кубической формы обладают более выраженной анизотропией по сравнению со сферическими наночастицами, что и обеспечивает увеличение T2-релаксивности.

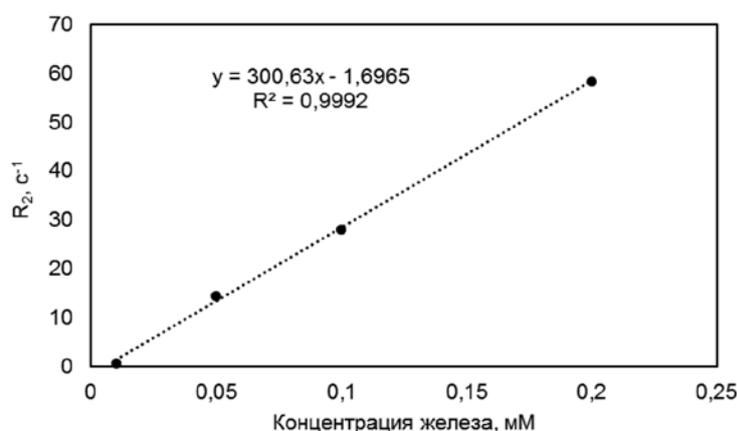


Рис. 8. Зависимость параметра R₂ релаксации от концентрации железа в образце кубических наночастиц
 Fig. 8. Dependence of R₂ parameter of relaxation on the iron concentration in the cubic magnetite nanoparticles sample

С целью подтвердить перспективы использования КНЧМ в качестве контрастного средства для МРТ-опухолей был проведен анализ накопления КНЧМ в опухолях разного происхождения. Анализ накопления частиц в разных моделях выявил также биологические факторы, влияющие на эффективность доставки препаратов в опухоль. Две модели, характеризующиеся выраженным неоангиогенезом и метастазированием (4Т1 и В16), показали высокие показатели накопления КНЧМ – 100 и 57% соответственно (выраженное накопление 100 и 57% соответственно). Для модели СТ-26 доля опухолей, накопивших частицы, составила 70% (выраженное накопление – 50%). По всей видимости, повышенная проницаемость сосудов в метастазирующих моделях опухолей объясняет также более выраженный ЕРР-эффект, обуславливающий более выраженное накопление частиц. Известно также, что гетеротопические опухоли (в данном случае СТ26, имплантированная подкожно) накапливают частицы немного хуже, чем гетеротопические (в данном случае В16, растущая в естественном микроокружении) [11]. Тем не менее стоит отметить, что во всех трех культурах были обнаружены случаи достоверных изменений интенсивности сигнала после внутривенного введения КНЧМ. В целом полученные данные свидетельствуют о перспективе использования КНЧМ как МРТ-контрастных агентов, а также как возможных носителей для доставки лекарственных препаратов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработанный метод синтеза позволил получить стабильные водные суспензии КНЧМ, обладающие высокими значениями T₂-релаксивности. Проведенное МРТ-исследование экспери-

ментальных образцов выявило, что КНЧМ весьма эффективны для T₂-контрастирования злокачественных очагов в различных опухолевых моделях, позволяя визуализировать 73% опухолей. Среди изученных опухолевых моделей наиболее эффективное накопление частиц выявлено в ортотопических моделях с выраженным метастатическим потенциалом (4Т1 – 100%, В16 – 57%), что связано с более выраженным ЕРР-эффектом. Гетеротопическая опухоль СТ-26 характеризуется менее эффективным накоплением частиц (50%). Максимальный контраст для всех типов частиц наблюдали через 6 ч после введения.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (14.607.21.0132, RFMEFI60715X0132).

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Этические нормы соблюдены в полном объеме № 25/2017; № 26/2017.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Lee N. et al. Iron Oxide Based Nanoparticles for Multimodal Imaging and Magnetoresponse Therapy. *Chemical Reviews*. 2015; 115 (19): 10637–10689. DOI: 10.1021/acs.chemrev.5b00112.
2. Yigit M.V., Moore A., Medarova Z. Magnetic nanoparticles for cancer diagnosis and therapy. *Pharmaceutical Research*. 2012; 29 (5): 1180–1188. DOI:10.1007/s11095-012-0679-7.

3. Josephson L. et al. The effects of iron oxides on proton relaxivity. *Magn. Reson. Imaging*. 1988; 6 (6): 647–653.
4. Ramalho J. et al. Gadolinium-based contrast agent accumulation and toxicity: An update. *American Journal of Neuroradiology*. 2016; 37 (7): 1192–1198. DOI:10.3174/ajnr.A4615.
5. Kievit F.M., Zhang M. Surface engineering of iron oxide nanoparticles for targeted cancer therapy. *Acc. Chem. Res.* 2011; 44 (10): 853–862. DOI:10.1021/ar2000277.
6. Jun Y.W. et al. Nanoscale Size Effect of Magnetic Nanocrystals and Their Utilization for Cancer Diagnosis via Magnetic Resonance Imaging. *J. Am. Chem. Soc.* 2005; 127 (16): 5732–5733. DOI: 10.1021/ja0422155.
7. Brooks R.A., Moyny F., Gillis P. On T2-shortening by strongly magnetized spheres: A partial refocusing model. *Magn. Reson. Med.* 2002; 47 (2): 257–263.
8. Zhen G. et al. Comparative Study of the Magnetic Behavior of Spherical and Cubic Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles. *J. Phys. Chem. C*. 2011; 115 (2): 327–334. DOI: 10.1021/jp104953z.
9. Lee N. et al. Water-dispersible ferrimagnetic iron oxide nanocubes with extremely high r₂ relaxivity for highly sensitive in vivo MRI of tumors. *Nano Lett.* 2012; 12 (6): 3127–3131. DOI:10.1021/nl3010308.
10. Batrakova E.V., Kabanov A.V. Pluronic block copolymers: Evolution of drug delivery concept from inert nanocarriers to biological response modifiers. *Journal of Controlled Release*. 2008; 130 (2): 98–106. DOI: 10.1016/j.jconrel.2008.04.013.
11. Nakamura Y. et al. Nanodrug Delivery: Is the Enhanced Permeability and Retention Effect Sufficient for Curing Cancer? *Bioconjugate Chemistry*. 2016; 27 (10): 2225–2238. DOI: 10.1021/acs.bioconjchem.6b00437.
12. Bertrand N. et al. Cancer nanotechnology: The impact of passive and active targeting in the era of modern cancer biology. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2014; 66: 2–25. DOI: 10.1016/j.addr.2013.11.009.
13. Riemer J. et al. Colorimetric ferrozine-based assay for the quantitation of iron in cultured cells. *Anal. Biochem.* 2004; 331 (2): 370–375. DOI: 10.1016/j.ab.2004.03.049.
14. Nikitin A. et al. Synthesis, characterization and MRI application of magnetite water-soluble cubic nanoparticles. *J. Magn. Magn. Mater.* 2017; 441: 6–13. DOI:10.1016/j.jmmm.2017.05.039.

Поступила в редакцию 13.11.2017

Утверждена к печати 06.02.2018

Никитин Алексей Андреевич, аспирант, химический факультет, МГУ имени М.В. Ломоносова; инженер, НИТУ МИСиС, г. Москва.

Науменко Виктор Алексеевич, канд. мед. наук, инженер, НИТУ МИСиС, г. Москва.

Водопьянов Степан Сергеевич, канд.биол. наук, инженер, НИТУ МИСиС, г. Москва.

Гаранина Анастасия Сергеевна, канд.биол. наук, инженер, НИТУ МИСиС, г. Москва.

Федорова Наталья Дмитриевна, магистрант, НИТУ МИСиС, г. Москва.

Калабай Енлик Даулеткызы, магистрант, НИТУ МИСиС, г. Москва.

Савченко Александр Григорьевич, канд. физ.-мат. наук, зав. кафедрой физического материаловедения, НИТУ МИСиС, г. Москва.

Абакумов Максим Артемович, канд. хим. наук, зав. лабораторией «Биомедицинские наноматериалы», НИТУ МИСиС, г. Москва.

Мажуга Александр Георгиевич, д-р хим. наук, профессор, МГУ имени М.В. Ломоносова; и.о. ректора РХТУ имени Д.И. Менделеева, г. Москва.

✉ Никитин Алексей Андреевич, e-mail: nikitin.chemistry@mail.ru.

УДК 616-006-073.7:57.086.16:549.731.13-022.532

DOI: 10.20538/1682-0363-2018-1-121-129

For citation: Nikitin A.A., Naumenko V.A., Vodopyanov S.S., Garanina A.S., Fedorova N.D., Kalabay E.D., Savchenko A.G., Abakumov M.A., Majouga A.G. Study of the contrasting effectiveness of various tumors types using cubic magnetite nanoparticles. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2018; 17 (1): 121–129.

Study of the contrasting effectiveness of various tumors types using cubic magnetite nanoparticles

Nikitin A.A.^{1,2}, Naumenko V.A.¹, Vodopyanov S.S.¹, Garanina A.S.¹, Fedorova N.D.¹, Kalabay E.D.¹, Savchenko A.G.¹, Abakumov M.A.^{1,3}, Majouga A.G.^{2,4}

¹ National University of Science and Technology “MISIS”

4, Leninskiy Av., Moscow, 119991, Russian Federation

² *Lomonosov Moscow State University
1/3, Leninskiye Gory, GSP-1, Moscow, 119991, Russian Federation*

³ *Russian National Research Medical University
1, Ostrovityanova Str., Moscow, 117997, Russian Federation*

⁴ *Dmitry Mendeleev University of Chemical Technology of Russia
9, Miusskaya Str., Moscow, 125047, Russian Federation*

ABSTRACT

Currently magnetic resonance imaging (MRI) is one of the key diagnostics methods of various diseases. Utilizing various contrast agents based on magnetic nanoparticles can improve the diagnostic efficiency and, consequently, the quality of the subsequent treatment. The most promising contrast agents are cubic magnetite nanoparticles, due to their high relaxation rates, as well as biocompatibility and biodegradability.

Thereby, the **purpose of this work** was to evaluate the effectiveness of MRI imaging of tumors by cubic magnetite nanoparticles (CMN).

Materials and methods. For this purpose, the synthesis of 15 nm CMN modified with biocompatible copolymer pluronic F127 was carried out. Synthesized CMN and their water colloids were characterized by a complex of physicochemical methods of analysis. Then, using MRI a study of the effectiveness of contrasting of various tumor types after intravenous administration of CMN aqueous colloids was made. Three models of mouse tumors were used for a comprehensive assessment of obtained results: breast cancer 4T1, colon cancer CT-26 and melanoma B16. MRI studies were performed prior to the administration of the particles, and also after 15 min, 6 hours and 24 hours after injection in T_2 -weighted regime in two mutually orthogonal projections.

Results. The analysis of the obtained results showed that the most effective accumulation of particles was found in the 4T1 (100%) and B16 (57%) models, and in the case of CT-26 model the accumulation efficiency was 50% due to the effect of the permeability of blood vessels.

Key words: nanoparticles, magnetite, magnetic resonance imaging, contrast agents, breast cancer, colon cancer, melanoma.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

SOURCE OF FINANCING

The work was supported by the Ministry of Education

and Science of the Russian Federation (14.607.21.0132, RFMEFI60715X0132).

CONFORMITY WITH THE PRINCIPLES OF ETHICS

Ethical standards are fully complied with No. 25/2017; № 26/2017.

Received 13.11.2017

Accepted 06.02.2018

Nikitin Aleksey A., PhD-student, Lomonosov Moscow State University; Engineer, Moscow, Russian Federation.

Naumenko Victor A., PhD, Engineer, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation.

Vodopyanov Stepan S., PhD, Engineer, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation.

Garanina Anastasia S., PhD, Engineer, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation.

Fedorova Natalya D., Graduate Student, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation.

Kalabay Enlik D., Graduate Student, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation.

Savchenko Alexander G., PhD, Head of the Department of Physical Materials Science, NUST MISiS, Moscow, Russian Federation.

Abakumov Maxim A., PhD, Head of the Department of Biomedical Nanomaterials, NUST MISiS, Moscow, Russian Federation.

Majouga Alexander G., Professor, DChSc, Acting Rector of Dmitry Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, Moscow, Russian Federation.

(✉) Nikitin Aleksey A., e-mail: nikitin.chemistry@mail.ru.