

*Мильто И. В., Суходоло И. В., Иванова В. В.,  
Дзюман А. Н., Серебрякова О. Н.*

## **СТРУКТУРА ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПОСЛЕ ВНУТРИВЕННОГО ВВЕДЕНИЯ МАГНИТНЫХ НАНОСФЕР**

*Кафедра морфологии и общей патологии (заведующий – проф. И. В. Суходоло)  
Сибирского государственного медицинского университета, Томск,  
e-mail: milto\_bio@mail.ru*

Железосодержащие наночастицы широко используются в биологических и медицинских исследованиях [1-3]. Вместе с тем, внедрение конструкций на основе наночастиц в медицинскую практику ограничивается низкой коллоидной устойчивостью их растворов, повреждающим действием на клетки и склонностью к накоплению в органах [1, 3]. Одним из вариантов преодоления перечисленных недостатков является поверхностная модификация наночастиц, которая ускоряет элиминацию и снижает их повреждающее действие [2]. Особое внимание при изучении влияния наночастиц на организм уделяется головному мозгу. Целью работы было выявление структурных изменений в головном мозге крыс после однократного внутривенного введения суспензии модифицированных хитозаном наночастиц магнетита (магнитных наносфер).

Наноразмерные частицы магнетита (НЧМ) получены механохимическим способом в Отделе структурной макрокинетики ТНЦ СО РАН (г. Томск) и представляют собой сферические частицы (средний диаметр – 7 нм). Суспензию немодифицированных НЧМ готовили в водно-солевом стабилизирующем растворе. Магнитные наносферы получали сорбционным способом путем смешивания суспензии немодифицированных НЧМ и раствора хитозана (1 г хитозана / л) с последующей сонификацией и фильтрованием.

Исследование проведено на 72 беспородных крысах-самцах, массой  $200 \pm 30$  г, из которых было сформировано 4 группы: 1-я группа (12 крыс) – интактные животные; 2-я группа (20 крыс) – однократное введение стабилизирующего раствора (2 мл); 3-я группа (20 крыс) – однократное введение суспензии немодифицированных НЧМ (50 мг (Fe) / 1 кг массы тела, 2 мл), 4-я группа (20 крыс) – однократное введение суспензии покрытых хитозаном НЧМ (50 мг (Fe) / 1 кг массы тела, 2,5 мл).

Выведение животных из эксперимента проводили методом декапитации под эфирным наркозом через 1, 7, 14, 21, 40, 60, 90 и 120 суток после инъекции.

Фрагменты лобной доли головного мозга для гистологического исследования, а также гистохимического выявления железа фиксировали в 10 %-ном забуференном формалине, затем промывали, обезвоживали в изопропанол и заливали в парафиновую смесь. С целью идентификации в тканях ионов Fe (III), которые входят в состав НЧМ, использовали гистохимическую реакцию с ферроцианидом калия – метод Перлса. Срезы обрабатывались по методу Перлса, после чего докрашивались гематоксилином и эозином.

Немодифицированные НЧМ находятся в суспензии в виде отдельных сферических частиц и их агломератов. Концентрация железа в растворе составила 5 мг

(Fe) / мл (7 мг (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) / мл). В суспензии немодифицированных НЧМ присутствуют агломераты частиц 45–300 нм, с преобладанием структур со средним размером 90,4 нм.

Модифицированные хитозаном НЧМ имеют сферическую форму, в жидкой фазе они находятся в виде отдельных частиц и их агломератов. Концентрация железа в используемой суспензии составила 4 мг (Fe) / мл (5,5 мг (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) / мл). Размер агломератов, модифицированных хитозаном НЧМ в стабилизирующем растворе – 15,2–79,1 нм (средний размер – 32,5 нм).

Структура органов животных 2-й и 3-й групп не отличается от таковой в аналогичные сроки у интактных крыс. Реакция Перлса на препаратах головного мозга животных всех групп была отрицательной.

В сером и белом веществе головного мозга животных после введения немодифицированных НЧМ на 1–21-е сутки наблюдается прогрессирование признаков дисциркуляторных расстройств (полнокровие капилляров и вен, перикапиллярный отек). Во всех слоях коры встречается большое количество погибших нейронов, имеющих оксифильную цитоплазму и пикнотичные ядра, вокруг таких клеток выражен перичеселлюлярный отек и глиальная реакция (рис. 1).

На 40–60-е сутки в головном мозге крыс сохраняется перикапиллярный отек. Во всех слоях коры имеются погибшие нейроны, вокруг которых определяются перичеселлюлярный отек и глиальная реакция. Выраженность глиальной реакции нарастает, тогда как количество погибших нейронов остается без изменений.

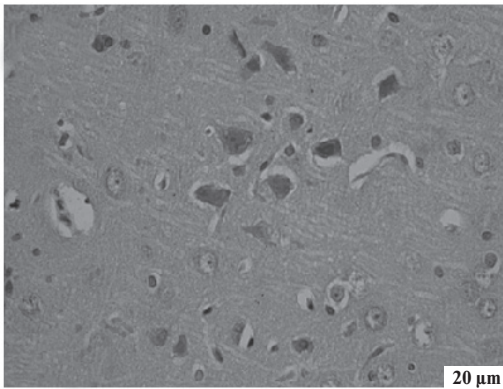
На 90–120-е сутки после инъекции суспензии немодифицированных НЧМ в коре лобной доли обнаруживаются группы погибших гигантских пирамидных нейронов (5–10 нейронов), выраженность глиальной реакции усиливается. Перикапиллярный и перинейрональный отеки сохраняются.

На 1–21-е сутки в коре и белом веществе лобной доли крыс 4-й группы выявляется полнокровие капилляров и умеренный перикапиллярный отек. Выраженный перинейрональный отек и глиальная реакция наблюдается вокруг единичных погибших пирамидных нейронов. В коре лобной доли крыс 4-й группы на 40-е и 60-е сутки выявляется умеренный перикапиллярный отек (рис. 2). Количество погибших пирамидных нейронов представляется меньшим, чем в предыдущие сроки, глиальная реакция выражена умеренно. В коре лобной доли крыс на 90-е и 120-е сутки сохраняется умеренное полнокровие капилляров с признаками перикапиллярного отека. Пирамидные нейроны с морфологическими признаками гибели отсутствуют, глиальная реакция выражена слабо.

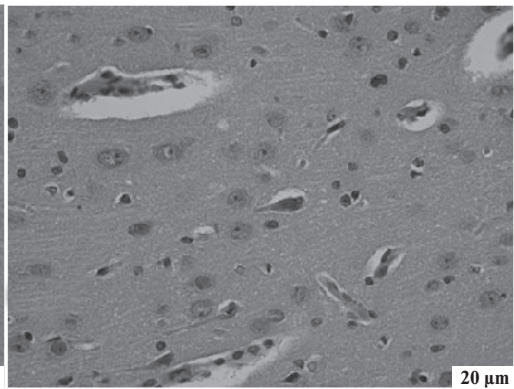
Идентичность морфологических изменений в головном мозге крыс после введения суспензии немодифицированных НЧМ и магнитных наносфер, а также отсутствие таковых у интактных животных свидетельствуют о том, что эти изменения обусловлены НЧМ. Разная степень выраженности повреждений головного мозга крыс связана с разным размером агломератов частиц, временем нахождения в циркуляции и свойствами покрытия.

К концу исследования выраженность и распространенность наблюдаемых морфологических изменений в головном мозге снижается, что свидетельствует о наличии механизмов элиминации НЧМ из организма крысы.

Таким образом, в головном мозге крыс после введения суспензий НЧМ и магнитных наносфер на их основе наблюдается гибель преимущественно пирамид-



*Рис. 2.* Кора лобной доли крысы на 40-е сутки после введения суспензии магнитных наночастиц. Перикапиллярный и перинейрональный отек, глиальная реакция. Ув. 400×. Окр.: реакция Перлса с докраской гематоксилином и эозином



*Рис. 1.* Кора лобной доли крысы на 7-е сутки после введения суспензии немодифицированных НЧМ. Погибшие пирамидные нейроны. Ув. 400×. Окр.: реакция Перлса с докраской гематоксилином и эозином

ных нейронов коры лобной доли и развитие глиальной реакции. Гибель нейронов, вероятно, опосредуется ишемией, которая обусловлена наличием гемодинамических расстройств в коре, а также может быть связана с инициацией НЧМ свободнорадикальных процессов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Borm P., Robbins D., Haubold S. et al.* The potential risks of nanomaterials // Part. Fibre. Toxicol. 2006. Vol. 3(11). P. 1–36.
2. *Ito A., Shinkai M., Honda H., Kobayashi T.* Medical application of functionalized magnetic nanoparticles // J. Biosci. Bioeng. 2005. Vol. 1(100). P. 1–11.
3. *Nel A., Xia T., Madler L.* Toxic potential of materials at the nanolevel // Science. 2006. Vol. 311. P. 622–627.