

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ВОЗМОЖНОСТЬ МЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ ФЕРРИГИДРИТА БАКТЕРИАЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Хилажева Е.Д.,

научный руководитель канд. биол. наук Инжеваткин Е.В.

Сибирский федеральный университет

Исследование возможности биомедицинского применения нанообъектов является одним из приоритетных направлений современной науки. Особого внимания заслуживают частицы, обладающие магнитными свойствами, так как они могут найти свое применение для управляемой доставки различных агентов *in vitro* и *in vivo*, а также для исследования процессов миграции клеток в организме, после предварительного включения их в клетки, и для управления этими процессами. Особенно актуальным представляется применение магнитных наночастиц для исследования миграции стволовых клеток в организме, так как с их помощью в настоящее время разрабатываются эффективные технологии лечения многих заболеваний. Примером таких частиц являются железосодержащие магнитные наночастицы на основе ферригидрита $5\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, образующиеся в результате жизнедеятельности бактерий *Klebsiella oxytoca*, полученные в Красноярском научном центре СО РАН. Однако, прежде чем говорить о возможности биомедицинского применения данных наночастиц, необходимо оценить возможные последствия пребывания наночастиц в организме.

Таким образом, целью данной работы стало исследование влияния железосодержащих магнитных наночастиц на организм лабораторных животных, а также оценка возможности их применения для изучения миграции стволовых клеток в организме.

В качестве лабораторных животных в работе использовались мыши аутбредной популяции ICR и беспородные лабораторные крысы, полученные в питомнике Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор» (Новосибирская обл.).

В частности, нами было исследовано влияние железосодержащих магнитных наночастиц на функции нейтрофильных гранулоцитов. Нейтрофилы выделяли из крови лабораторных мышей, в качестве маркера оценки функциональной активности нейтрофилов использовали уровень спонтанной и индуцированной люминол- и люцигенин-зависимой хемилюминесценции интактных нейтрофилов и нейтрофилов при добавлении наночастиц в реакционную смесь. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что железосодержащие магнитные наночастицы не оказывают значимого влияния на уровень как люминол-зависимой, так и люцигенин-зависимой спонтанной и индуцированной хемилюминесценции.

Кроме того, было исследовано влияние железосодержащих магнитных наночастиц на печень крыс в условиях изолированной перфузии с добавлением наночастиц в перфузат. При этом исследовали активность аспартатаминотрансферазы в оттекающем перфузате для оценки деструктивного влияния наночастиц на печень, а также включение магнитных наночастиц в перфузируемую печень с использованием методов электронно-парамагнитной спектроскопии (ЭПР-спектроскопии). Из полученных нами данных следует, что магнитные наночастицы не оказывают влияния на активность аспартатаминотрансферазы в перфузате, однако в ходе перфузии изолированной печени раствором, содержащим магнитные наночастицы, происходит

накопление последних в печени. Причем при воздействии на печень магнитным полем, количество адсорбированных в ней наночастиц увеличивается в 5 раз.

Также были исследованы особенности взаимодействия железосодержащих магнитных наночастиц с клетками в культуре *in vitro*. В частности, клетки линии НЕК-293 культивировали в среде, содержащей наночастицы, после чего оценивали показатели жизнеспособности клеток, а также исследовали клетки на наличие в них наночастиц с помощью ЭПР-спектроскопии. Так, было выявлено, что клетки в процессе культивирования в среде, содержащей железосодержащие магнитные наночастицы, накапливают их. При этом на жизнеспособность клеток, прикрепление к подложке, а также на пролиферативную активность присутствие наночастиц в среде влияния не оказывает.

Полученные данные свидетельствуют о том, что железосодержащие магнитные наночастицы, вероятно, не оказывают значимого влияния на организм. В связи с этим нами была поставлена цель разработать метод изучения миграции эмбриональных стволовых клеток в организме лабораторных животных с использованием железосодержащих магнитных наночастиц. Мышечные эмбриональные стволовые клетки, экспрессирующие зеленый флуоресцентный белок (green fluorescent protein, GFP) нагружали железосодержащими магнитными наночастицами и вводили в организм лабораторных мышей через хвостовую вену. Через сутки у мышей забирали ткани печени, почки, селезенки и легкого, которые в дальнейшем исследовали на предмет наличия в них введенных эмбриональных стволовых клеток различными методами. Во-первых, гомогенаты тканей исследовали методом ЭПР-спектроскопии на предмет наличия в них железосодержащих магнитных частиц. Также производили исследование тканей на наличие GFP методом флуоресцентной микроскопии. Кроме того, была проведена полимеразная цепная реакция на выявление гена GFP в ДНК, выделенной из полученных тканей с электрофоретической детекцией продуктов амплификации.

Так, с помощью метода флуоресцентной микроскопии GFP был обнаружен в тканях почки и селезенки, что говорит о миграции эмбриональных стволовых клеток в эти органы. С помощью методов ЭПР-спектроскопии было зарегистрировано усиление интенсивности сигнала, характерного для данных наночастиц, в гомогенатах тканей почки и селезенки опытной группы животных по сравнению с гомогенатами тканей контрольной группы, что свидетельствует о нахождении в данных органах введенных стволовых клеток и согласуется с данными флуоресцентной микроскопии. Также было выявлено, что используемый нами метод обнаружения имплантированных стволовых клеток с помощью полимеразной цепной реакции на выявление гена GFP нуждается в дальнейшей модификации.

Таким образом, можно заключить, что применение железосодержащих магнитных наночастиц в качестве метки для исследования миграции эмбриональных стволовых клеток в организме лабораторных животных методом ЭПР-спектроскопии можно рассматривать в качестве перспективного метода биомедицинских исследований, соответствующего современному уровню развития науки и способному стать альтернативой уже существующему методу, предполагающему использование GFP.