

В.С. Мосієнко  
 Н.Ф. Кущевська  
 А.П. Бурлака  
 В.О. Шляховенко  
 Л.К. Куртсейтов  
 І.В. Бойчук  
 О.В. Карнаушенко  
 А.В. Вербиненко  
 О.Й. Дасюкевич

Інститут експериментальної  
 патології, онкології  
 і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького  
 НАН України

Інститут колоїдної хімії і хімії  
 води ім. А.В. Думанського  
 НАН України, Київ, Україна

**Ключові слова:** феромагнітні  
 наночастинки заліза, доклінічне  
 дослідження, протипухлинна  
 активність в експерименті.

## ФІЗИКО-ХІМІЧНІ, ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГІЧНІ ТА ПРОТИПУХЛИННІ ВЛАСТИВОСТІ ФЕРОМАГНІТНИХ НАНОЧАСТИНОК ЗАЛІЗА (ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)

**Резюме.** Досліджено характеристики оригінальних феромагнітних наночастинок заліза (ФНЗ), одержаних в Інституті колоїдної хімії і хімії води ім. А.В. Думанського НАН України: форму, розміри та геометрію ФНЗ; їх токсичність; проникність (за перорального введення) до тканин різних органів і пухлини; вплив на активність FeS-білка N-2 мітохондрій; активність цитохрому P450 (g=2,25); генерування супероксидних та NO-радикалів в тканинах пухлини, печінки, нирок та в нейтрофілах периферичної крові; а також активність ФНЗ щодо модельних штабів пухлин (лімфоми P388, асцитного раку Ерліха, метастазуючої карциноми легенів Льюїса). Одержані дані свідчать про перспективність подальшого дослідження ФНЗ з метою розробки технологій їх клінічного застосування.

Відомо, що наноматеріали останнім часом застосовуються майже в усіх галузях народного господарства. Особливо інтенсивно розробляються нанотехнології та досліджуються наноматеріали в біології, медицині, ветеринарії та фармацевтичній промисловості [1–3]. Сучасна нанофармакологія вивчає фізичні, фізико-хімічні, біохімічні, фармакодинамічні та фармакокінетичні властивості розроблених на основі нанотехнологій речовин, біологічну активність, показання та протипоказання до їх застосування, а також побічні ефекти [4]. За номенклатурою Міжнародної спілки теоретичної та прикладної хімії до наноматеріалів належать наночастинки (НЧ) розміром від 1 до 100 нм різного типу, походження та геометричної форми [5–7].

Клітинні та субклітинні структури організму людини, їх біологічно активні компоненти мають нанорозміри, що зумовлює їх своєрідні властивості. Мембрана клітини є природною наноструктурою, а іонні канали мембрани — своєрідними нанотрубками. Застосування нанотехнологій відкриває можливості отримання якісно нових фармакологічних препаратів, підвищення ефективності лікування при багатьох захворюваннях, у тому числі й злоякісних пухлинах [8, 9]. Американський національний інститут здоров'я включив наномедицину в п'ятірку найбільш пріоритетних галузей медицини XXI століття. Вчені цього інституту вважають, що нанотехнології допоможуть лікувати пацієнтів з різними формами онкологічних захворювань на різних стадіях при мінімізації побічних ефектів [7].

НЧ можуть потрапляти в організм через легені, шлунково-кишковий тракт та шкіру. Найбільш по-

ширені металеві НЧ з унікальними властивостями, які утворені металевими нанокластерами заліза, золота, платини, срібла та інших металів. Серед них слід виділити магнітоактивні НЧ заліза, які отримують з надчистих ізотопозаміщених металів. НЧ можуть швидко проникати через клітинні бар'єри і накопичуватися в органах і тканинах, проникати через гематоенцефалічний бар'єр [10]. Окрім власної дії НЧ на компоненти клітин, важливим напрямком є їх застосування в якості субстанції для нових лікарських засобів на базі вже відомих фармакологічних препаратів з метою швидкого транспортування та глибокого проникнення в тканини або для зміни тривалості дії [11]. Проникаючи через мембрани клітин, НЧ можуть безпосередньо взаємодіяти з ДНК, сприяти розвитку оксидативного стресу та хронічного запалення, виснаженню антиоксидантної системи, що призводить до додаткового пошкодження генетичного матеріалу та зниження репарації ДНК внаслідок збільшення її метилювання [12–15]. Зростання рівнів супероксидних радикалів сприяє утворенню їх високореактивних метаболітів [16, 17], викликає перекисне окиснення ліпідів у клітинах та пошкодження нуклеїнових кислот [11], а також активізує специфічні шляхи внутрішньоклітинної передачі сигналу, включаючи протеїнкінази та ядерний фактор NF-kB [18]. При пошкодженні ДНК активується ген супресії пухлинного росту p53, який відповідає за зупинку клітинного циклу, запускає процес апоптозу, а у випадках мутації сприяє підвищенню ризику виникнення злоякісної трансформації клітин.

Новий клас органічних кластерних феромагнітних наночастинок заліза (ФНЗ) типу ферану має

унікальні фізико-хімічні властивості: високу магнітну сприйнятливості і низьку щільність. Поєднання особливих хімічних і сорбентних властивостей із транспортними дають можливість конструювати на їх основі високоефективні фармакологічні засоби. Буда і структура ФНЗ близька до гемоглобіну крові; вони мають яскраво виражені імуностимулювальні властивості, ефективно діють при лікуванні вірусних захворювань, при анемії та імунодефіцитних станах. Ферран впливає на відновлення ділянок ДНК, пошкоджених різними чинниками чи змінених вірусами. Препарат практично не має побічних проявів. В Російській Федерації він запатентований і зареєстрований Фармакологічним Комітетом як харчова добавка і застосовується в клінічних умовах.

Водночас технологія отримання ФНЗ та їх застосування є маловивченою проблемою, особливо в онкології [7, 8], яка відкриває перспективні підходи для створення нових композиційних протипухлинних засобів. Крім того, дослідження ФНЗ можуть дати поштовх для створення високоефективних контрастних агентів, магнітно-резонансної візуалізації, термотерапії, лікування залізодефіцитних станів, конструювання оригінальних протизапальних засобів.

Метою роботи було вивчення в експерименті фізико-хімічних властивостей, токсичності оригінальних ФНЗ, визначення ефективних доз та схем їх введення, механізму дії, а також протилейкозної та протипухлинної активності при пероральному введенні.

### ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

В експериментах використано 180 мишей (нелінійні, C57Bl/6, DBA) обох статей масою 17–23 г та 17 шурів-самців лінії Wistar масою 100–120 г, розведених у віварії ІЕПОР ім. Р.Є. Кавецького НАНУ. Всі досліди проводили у відповідності до вимог регіонального Комітету з етики роботи з лабораторними тваринами. Після двотижневого карантину тваринам перещеплювали за стандартними методами клітини модельних (трансплантованих) штамів пухлин: лімфолейкозу Р-388 (в черевну порожнину по 200 тис. клітин в 0,2 мл фізіологічного розчину хлориду натрію), асцитного раку Ерліха (АРЕ) (в черевну порожнину по 300 тис. клітин в 0,3 мл фізіологічного розчину хлориду натрію), аденокарциноми легенів Льюїс (3LL) (внутрішньом'язово в стегно задньої правої лапки по 500 тис. клітин в 0,2 мл фізіологічного розчину хлориду натрію), злоякісної гліоми С6 шурів (інтракраніально по 1 млн клітин в 0,1 мл фізіологічного розчину хлориду натрію). Всі пухлинні штами були отримані із клітинного банку ліній з тканин людини та тварин ІЕПОР НАНУ.

ФНЗ, які були отримані в Інституті колоїдної хімії і хімії води ім. А.В. Думанського НАНУ за оригінальною методикою [8], містять у різних співвідношеннях  $\text{Fe}_2\text{O}_3 + \text{Fe}_3\text{O}_4$ : (70% + 30%) та (40% + 60%). Дослідження фізико-хімічних властивостей

були проведені в Інституті проблем матеріалознавства ім. І.М. Францевича НАНУ. ФНЗ мають вигляд ультрадисперсного порошку чорного кольору, який притягується магнітом, не розчиняється у воді та спирті. Растрова й електронна мікроскопія (з використанням мікроскопів CAMSCAN та JEM-2100-F (JEOL, Японія)) показали, що ФНЗ мають різні розміри та форму, можуть бути роз'єднаними або зібраними в кластери різної величини. За даними рентгеноструктурного аналізу, досліджені ФНЗ виявилися подібними до препарату Ферран (Російська Федерація). Подібність спектрів Феррану та ФНЗ (співвідношення 40%  $\text{Fe}_2\text{O}_3 + 60\% \text{Fe}_3\text{O}_4$ ) була підтверджена методом ЯМР.

LD50 ФНЗ визначали за методом Кербера [19]. Протипухлинну дію ФНЗ оцінювали за швидкістю збільшення асциту (зростання маси тіла мишей після перещеплення клітин Р388 або АРЕ), за об'ємом первинної пухлини та об'ємом і кількістю метастазів (після перещеплення клітин 3LL), за середньою тривалістю життя (СТЖ) піддослідних тварин у порівнянні з контрольними.

Фармакокінетику ФНЗ при введенні тваринам *per os* (накопичення і розподіл ФНЗ в паренхіматозних органах та тканині пухлини) досліджували за допомогою атомно-абсорбційного спектрофотометра С-115 (Selmi, Україна) за рекомендаціями фірми-виробника.

Вплив ФНЗ *in vivo* на активність FeS-білка N-2 мітохондрій; активність цитохрому P450 (g=2,25), генерування супероксидних та NO-радикалів в тканинах печінки, нирок і пухлини 3LL, а також в нейтрофілах периферичної крові вивчали методом ЕПР, використовуючи технологію спінових уловлювачів, за допомогою комп'ютеризованого радіоспектрометра ЕПР PE-1307.

Визначення впливу ФНЗ на рівень загального метилювання ДНК пухлинних клітин здійснювали за допомогою набору MethylFlash Methylated DNA Quantification Kit (Colorimetric, США) відповідно до рекомендацій фірми-виробника. Вимірювання оптичної густини проб здійснювали на приладі Synergy при довжині хвилі 450 нм.

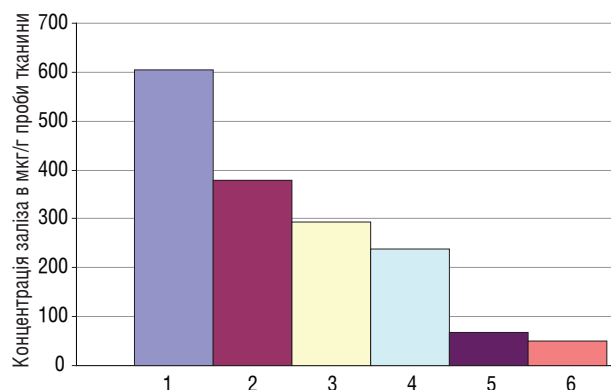
Основні результати досліджень обробляли статистично з використанням t-критерію Стьюдента.

### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На білих нелінійних мишах визначали LD50 ФНЗ. 50 мишей-самців були розподілені на 9 груп, після чого їм вводили *per os* різні дози ФНЗ (від 50 мг/кг до 10 г/кг маси тіла). Готували суспензії ФНЗ в дистильованій воді; кожній тварині вводили по 0,3 мл суспензії відповідної концентрації. При дослідженні високих доз ФНЗ їх суспензії (у більшому об'ємі води) вводили за 2–3 рази протягом доби. За тваринами спостерігали протягом місяця. Було встановлено, що LD50 ФНЗ становить 8,41 г/кг. Тобто вони мають таку ж токсичність, як і харчові добавки,

у яких LD50 сягає більше 5 г/кг маси тіла. За умовно-терапевтичний спершу було прийнято діапазон доз у 10–1000 разів менших за LD50.

У наступних експериментах була досліджена фармакокінетика ФНЗ при їх одноразовому та курсовому введенні. 10 нелінійним мишам-самцям вводили одноразово *per os* ФНЗ у дозі 1 та 3 г/кг. На 5-ту добу замірювали на атомно-абсорбційному спектрофотометрі концентрацію заліза в зразках селезінки, печінки та мозку дослідних і контрольних (яким не вводили ФНЗ) тварин. Після введення ФНЗ у дозі 3 г/кг концентрація НЧ заліза в середньому становила: в селезінці — 603,5, в печінці — 292,6, в мозку — 68,9 мкг Fe/г тканини. У контрольних мишей вона була нижча: 377,9; 239,5 та 50 мкг Fe/г тканин відповідно (рис. 1). Концентрації заліза в тканинах тварин, які отримували ФНЗ у дозі 1 г/кг, були меншими, але також перевищували такі в тканинах контрольних мишей. Таким чином, ФНЗ після перорального введення накопичуються в паренхіматозних органах і здатні проходити через гематоенцефалічний бар'єр.

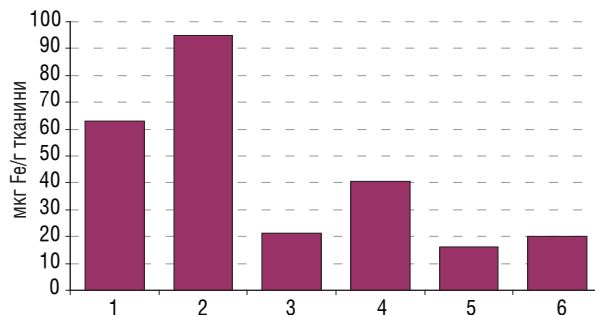


**Рис. 1.** Концентрація заліза в тканинах здорових нелінійних мишей: 1 — селезінка дослідних тварин, які отримували ФНЗ; 2 — селезінка контрольних тварин; 3 — печінка дослідних мишей; 4 — печінка контрольних тварин; 5 — мозок дослідних мишей; 6 — мозок контрольних мишей

Для виявлення проходження ФНЗ через гематоенцефалічний бар'єр за наявності злоякісної пухлини мозку була використана гліома С6, яку перещеплювали шурам-самцям лінії Wistar інтракраніально. ФНЗ вводили *per os* в дозі 10 мг/кг в 3 мл дистильованої води щодня, починаючи з 2-ї доби після перещеплення, протягом 10 діб. На 3-тю добу після закінчення курсу введення ФНЗ визначали концентрації заліза в тканині печінки, мозку, гліоми С6 дослідних і контрольних (яким не вводили ФНЗ) тварин. У дослідних тварин найбільша концентрація заліза виявлена в печінці — 94,8 мкг Fe/г тканини, в мозку — 40,5 мкг Fe/г. У контрольних шурів — 62,9 та 21,4 мкг Fe/г тканини відповідно. В гліомі С6 концентрація заліза виявилася найнижчою і становила 16,2 мкг Fe/г тканини у контрольних шурів та 20,0 мкг Fe/г тканини у дослідних (рис. 2).

Таким чином, проведені дослідження виявили, що ФНЗ переважно накопичуються в селезінці і печін-

ці; набагато менша концентрація заліза виявлена в тканині мозку. Найнижча концентрація заліза була в гліомі С6. Це свідчить про те, що фармакокінетика ФНЗ мало чим відрізняється від розподілу в організмі цитотоксичних протипухлинних препаратів, які також більше накопичуються в паренхіматозних органах, а найнижчі їх концентрації знаходяться в злоякісних пухлинах [21].



**Рис. 2.** Концентрація заліза в тканинах шурів Wistar зі злоякісною гліомою С6: 1 — печінка контрольних тварин; 2 — печінка дослідних тварин; 3 — мозок контрольних тварин; 4 — мозок дослідних тварин; 5 — гліома С6 контрольних тварин; 6 — гліома С6 дослідних тварин

Подальші дослідження були спрямовані на вивчення протипухлинної активності ФНЗ. Для визначення оптимального протипухлинного діапазону їх доз використали 40 нелінійних мишей, яких розподілили на 4 групи. Тваринам дослідних груп профілактично, за 3 доби до перещеплення АРЕ, вводили *per os* (3 рази) ФНЗ в 0,3 мл дистильованої води в дозах 100; 1000 та 3000 мг/кг. Виявлено, що темп росту АРЕ протягом перших двох тижнів був найнижчим у групі мишей, які отримували 100 мг/кг ФНЗ. Збільшення маси тіла тварин цієї групи становило за 1-й тиждень  $0,10 \pm 0,04$  г, за 2-й тиждень —  $1,2 \pm 0,8$  г; у контрольній групі маса тварин збільшилася на  $1,9 \pm 0,6$  г ( $p < 0,05$ ) та  $2,1 \pm 0,6$  г ( $p > 0,1$ ) відповідно. В кінці експерименту темп росту маси тварин цієї дослідної групи зрівнявся з контрольною. В інших дослідних групах, де було застосовано більші дози ФНЗ, у жодній з термінів маса мишей не відрізнялася від такої в контролі. Щодо тривалості життя, то була виявлена тенденція до збільшення СТЖ лише в групі мишей, які отримали ФНЗ у дозі 100 мг/кг ( $27,8 \pm 2,4$  проти  $24,1 \pm 2,7$  доби в контролі). На основі даних цього експерименту дози ФНЗ  $> 100$  мг/кг були виключені з подальшого дослідження.

При вивченні ефекту ФНЗ (терапевтичний режим) щодо лімфолейкозу Р388 тварин розподілили на 4 групи (по 10 мишей у кожній). 1-ша група — контрольна, 2-4-та група — пероральне введення ФНЗ в дозах 1; 3; 5 мг/кг в 0,3 мл дистильованої води. Застосування ФНЗ починали на наступну добу після перещеплення Р388; курс лікування складався із 5 введень. Тенденцію до гальмування збільшення маси тіла дослідних тварин порівняно з контролем (на 21%,  $p > 0,1$ ) спостерігали лише в групі ІІ (1 мг/кг) протягом перших 6 діб. СТЖ тварин всіх груп була практично однаковою і стано-

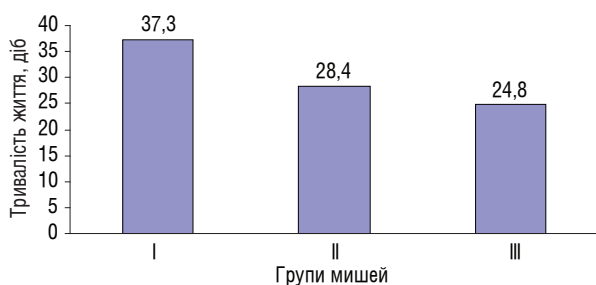


вила: група I —  $9,8 \pm 0,9$ , II —  $10,7 \pm 0,4$ , III —  $10,1 \pm 0,3$ , IV —  $9,7 \pm 0,5$  доби. Отримані дані свідчать, що штам P388 не є чутливою моделлю для вивчення протилейкозної активності речовин, механізм дії яких значно відрізняється від цитотоксичних протипухлинних засобів.

У наступній серії дослідів визначали вплив ФНЗ на тривалість життя мишей-самок C57Bl/6 з карциномою 3LL. ФНЗ вводили *per os* щоденно в дозі 1 мг/кг (група I) і 10 мг/кг (група II) — 12 введень, починаючи з 2-ї доби після перещеплення. СТЖ виявилася найбільшою в групі I —  $37,3 \pm 6,5$  доби ( $p < 0,05$ ); у групі II —  $28,4 \pm 3,8$ , у контрольній —  $24,8 \pm 2,4$  доби (рис. 3). Виходячи з одержаних даних, здійснили подальше зменшення доз ФНЗ при їх курсовому введенні.

Для визначення впливу ФНЗ на ріст та метастазування солідних пухлин карцинома легенів Льюїс була перещеплена 30 мишам-самкам C57Bl/6. Тваринам дослідних груп ФНЗ вводили *per os* щоденно в дозах 10 мкг/кг (група I) або 2 мкг/кг (група II) — 10 введень, починаючи з наступної доби після перещеплення пухлини. Мишам контрольної групи в такому ж режимі вводили дистильовану воду по 0,3 мл. На 23-тю добу після перещеплення об'єм пухлин мишей в 1-й та 2-й групах становив  $383,2 \pm 132,6$  і  $366,1 \pm 125,3$  мм<sup>3</sup> відповідно, в контрольній —  $430,6 \pm 143,0$  мм<sup>3</sup>; тобто ФНЗ на 12 і 15% затримували ріст первинної пухлини ( $p > 0,05$ ). Більш вираженим був вплив ФНЗ на метастазування. У групі I кількість метастазів була меншою, ніж у контролі, на 80%, а їх розмір — меншим на 63,4%; в групі II — на 92,5 і 87,3% відповідно ( $p < 0,05$ ).

Таким чином, ФНЗ мали достовірний вплив на перебіг метастазуючої солідної пухлини (карциноми легенів Льюїс): навіть найменші з досліджених доз (10 і 2 мкг/кг) статистично значимо гальмували розвиток метастазів. ФНЗ також достовірно подовжують СТЖ тварин, хоча вплив на первинну пухлину спостерігається лише на рівні тенденції.



**Рис. 3.** СТЖ (доби) мишей C57Bl/6 з перещепленою карциномою легенів Льюїс при введенні ФНЗ в різних дозах: I — 1 мг/кг, II — 10 мг/кг; III — контрольна група мишей

Оскільки основні механізми дії ФНЗ, мабуть, пов'язані із впливом на функціональні характеристики клітин та їх органодів, вивчення таких впливів становить значний інтерес [11, 13, 15]. На комп'ютеризованому радіоспектрометрі ЕПР PE-1307 з використанням спінового уловлювача досліджували вплив ФНЗ (10 мкг/кг, 10 введень *per os*) на

активність FeS-білка N-2 електронтранспортного ланцюга мітохондрій клітин пухлинної та нормальних тканин, на рівень низькоспінової форми цитохрому P-450 в ендоплазматичному ретикулумі клітин печінки та нирок, на супероксидну та NO-генеруючу активність нейтрофілів периферичної крові та пухлинної тканини мишей з карциномою легенів Льюїс та інтактних тварин. Одержані результати наведено у таблиці.

Як видно, клітини карциноми 3LL характеризуються низьким рівнем активності FeS-білка N-2 в НАД<sup>+</sup>Н-убіхінон-оксидоредуктазному комплексі електронтранспортного ланцюга мітохондрій, який в залежності від ступеня диференціювання визначається в межах 0–20% від норми. При введенні тваринам з пухлинами ФНЗ активність FeS-білка N-2 в мітохондріях клітин 3LL зросла на 20%, в мітохондріях клітин печінки і нирок — на 25 і 20% відповідно. Це може свідчити про часткове відновлення транспорту електронів через НАД<sup>+</sup>Н-убіхінон-оксидоредуктазний комплекс, тобто відзначено незначний нормалізуючий зсув у функціонуванні мітохондрій — від гліколізу до окисного фосфорилювання. У тварин з пухлиною рівні низькоспінової форми цитохрому P-450 ( $g=2,25$ ) в ендоплазматичному ретикулумі клітин печінки та нирок були суттєво нижчими, ніж у інтактних мишей. ФНЗ викликали їх зростання майже до контрольних величин (див. таблицю). У тварин з пухлиною спостерігали збільшення (порівняно з інтактними мишами) швидкості генерування супероксидних радикалів NO нейтрофілами крові. Введення ФНЗ призводило до подальшого зростання супероксид- та зниження NO-продукуючої активності цих клітин.

Зміни генерування супероксидних радикалів та активності iNOS в пухлинній тканині були аналогічними (див. таблицю). Джерелами генерування супероксидних радикалів в пухлинах вважають мітохондрії пухлинних клітин та НАДФ<sup>+</sup>Н-оксидази нейтрофілів і макрофагів пухлинного мікрооточення. Як відомо, значне зростання рівнів генерування радикалів кисню в пухлинах призводить до підвищення загибелі злоякісних клітин. Що ж до генерування NO в пухлині, то було показано, що зниження рівнів NO в тканині карциноми 3LL зменшує метастатичний потенціал в злоякісних клітинах [15]. Таким чином, ФНЗ чинять низку впливів на енергетичний потенціал пухлини і організму, на детоксикуючу активність паренхіматозних органів (у першу чергу печінки), на потенційну активність реакції природного протипухлинного захисту, що сумарно може забезпечувати непрямий, але значний протипухлинний ефект.

Гіпоксія пухлин і здорових тканин за наявності в організмі злоякісного процесу є давно встановленим фактом [20]. Вона передуює виникненню злоякісної пухлини, супроводжує її ріст, посилюється в термінальній стадії і послаблюється при ефективному лікуванні (або у випадках спонтанного розсмоктування

Вплив ФНЗ на біофізичні характеристики пухлинної і нормальних тканин мишей з карциномою 3LL

Показник	Зразок	Група тварин		
		Інтактні миші	Миші з карциномою 3LL (контроль)	Миші з карциномою 3LL + введення ФНЗ (дослід)
FeS-білок N-2, відн. од.	легені	1,35 ± 0,12		
	карцинома 3LL		0,14 ± 0,08	0,17 ± 0,03
Цитохром P-450 (g = 2,25), відн. од.	печінка	2,35 ± 0,18	1,16 ± 0,25*	1,70 ± 0,25
	нирки	1,28 ± 0,09	0,85 ± 0,15*	1,11 ± 0,23
Супероксид-продукуюча активність	нейтрофіли периферичної крові, нМоль/10 <sup>3</sup> кл·хв	0,35	2,05	2,35
	карцинома 3LL, нМоль/г·хв		1,80	2,40
NO-продукуюча активність	нейтрофіли периферичної крові, нМоль/10 <sup>3</sup> кл·хв	0,77	2,96	2,65
	карцинома 3LL, нМоль/г·хв		1,80	1,65

\* p < 0,05 порівняно з інтактними тваринами.

пухлини). Наявність пухлини в організмі призводить до порушення дихання та окисного фосфорилування, пригнічує функціонування антигіпоксантичних та антиоксидантних систем різних рівнів, супроводжується переокисненням як пухлинної, так і нормальних тканин. Вплив ФНЗ, описаний вище, може нормалізувати біоенергетику та клітинний метаболізм в організмі з пухлиною, що в кінцевому рахунку може загальмувати прогресування пухлинного процесу (на деякий час). Крім того, показано [10, 18], що ФНЗ можуть блокувати репарацію ДНК в пухлинних клітинах та викликають підвищене її метилювання, що призводить до змін експресії генів. Нами після описаного вище застосування ФНЗ у мишей з карциномою легенів Льюїс було також виявлено значне підвищення метилювання ДНК в пухлинних клітинах порівняно з таким в карциномах 3LL контрольної групи мишей (рис. 4).

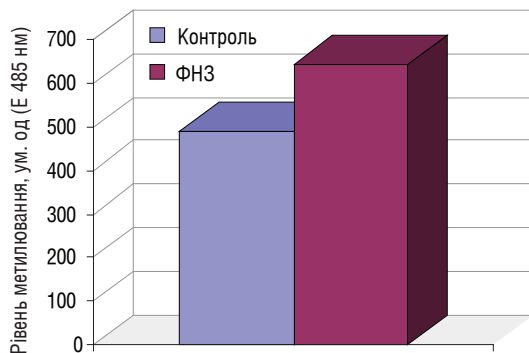


Рис. 4. Вплив ФНЗ на метилювання ДНК в клітинах карциноми легенів Льюїс

## ВИСНОВКИ

1. LD50 досліджених оригінальних ФНЗ при пероральному введенні мишам дорівнює 8,41 г/кг маси, тобто ФНЗ виявилися майже не токсичними, близькими за цим параметром до харчових домішок.

2. При одноразовому та курсовому введенні *per os* ФНЗ потрапляють до внутрішнього середовища організму, накопичуються в паренхіматозних органах, здатні проникати через гематоенцефалічний бар'єр в тканини мозку. Найнижчу концентрацію заліза визначали у злоякісній пухлині мозку (гліомі С6), тобто фармакокінетика ФНЗ мало чим відрізняється

від розподілу в тканинах організму тварин протипухлинних цитотоксичних препаратів.

3. ФНЗ (в діапазоні доз 2–10 мкг/кг маси при щоденному введенні *per os* 10–12 разів) статистично значимо гальмують метастазування карциноми легенів Льюїс, зменшуючи як кількість метастазів, так і швидкість їх росту, та подовжують тривалість життя тварин. Водночас, в застосованих нами дозах та режимах (1–5 мкг/кг щоденно *per os*, 5 введення) ФНЗ не справляли статистично значимої протилежної дії щодо модельного штаму Р388.

4. ФНЗ здатні частково міняти (в напрямку від гліколізу до окисного фосфорилування) окисний фенотип клітин пухлини і паренхіматозних органів; підвищувати рівень активної форми цитохрому Р-450; підвищувати рівень генерування супероксидних радикалів і знижувати продукування NO в тканині пухлини і нейтрофілах крові; підвищувати рівень метилювання ДНК пухлинних клітин. Тобто протипухлинний ефект ФНЗ може реалізуватися завдяки комплексу непрямих (не цитотоксичних) механізмів.

5. Сукупність одержаних даних свідчать про перспективність подальшого дослідження ФНЗ з метою розробки технологій їх клінічного застосування.

## ЛІТЕРАТУРА

- Волков СВ, Ковальчук ЄП, Огненко ВМ та ін. Нанохімія, наносистеми, наноматеріали. К: Наукова думка, 2008; 422 с.
- Гусев АІ. Наноматеріали, наноструктури, нанотехнології, 2-е изд. исправ. М: ФИЗМАТЛИТ, 2007; 416 с.
- Шпак АП, Горбик ПП, Чехун ВФ и др. Нанокompозиты медико-биологического назначения на основе ультрадисперстного магнетита. В: Сб. трудов. Физико-химия наноматериалов и супермолекулярных структур... / Под ред: АП Шпака, ПП Горбика / К: Наук думка, 2007; т 1: 45–87.
- Москаленко ВФ, Яворовський ОП, Цехмістер ЯВ та ін. Природні механізми дії наноматеріалів, фізико-хімічні, фізіологічні, біохімічні, фармакологічні та токсикологічні аспекти. Укр наук-мол ж 2011; (4): 21–5.
- Чекман ІС, Горчакова НО, Озєйчук ОЮ та ін. Наноматеріали і наночастинки. Класифікація. Наук вісн Нац мед універ ім ОО Богомольця 2009; 2: 188–201.
- Шимановский НЛ. Нанотехнологии в современной фармакологии. Междунар мед ж 2009; (1): 131–5.
- Sahoo SK, Parveen S, Panda JJ. The present and future of nanotechnology in human health care. Nanomed 2007; 3 (1): 20–31.
- Кушевская НФ. Наноразмерные порошки ферромагнетиков, полученные термическим способом и возможные

пути их биомедицинского назначения. Порошк метал 2006; (7/8): 116–21.

9. Zlatnik EY, Peredreeva LV, Zakora JI. Antitumor effect of metallic nanoparticles. *Exp Oncol* 2010; **32** (Suppl): 85.

10. Ferrari M. Cancer nanotechnology opportunities and challenges. *Nat Rev Cancer* 2005; **3**: 161–71.

11. Чекман ІС, Говоруха МО, Дорошенко АМ. Нанотехнологія: вплив наночастинок на клітину. *Укр мед часопис* 2011; **1**: 30–5.

12. Valinluck V, Sowers LC. Inflammation-mediated cytosine damage: a mechanistic link between inflammation and epigenetic alteration in human cancer. *Cancer Res* 2007; (12): 5583–6.

13. Valco M, Rhodes C J, Moncol J, *et al.* Free radicals metals and antioxidants in oxidative stress induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006; **160** (1): 1–40.

14. Jia HY, Liu Y, Zhang XJ, *et al.* Potential oxidative stress of gold nanoparticles by Induced-NO releasing in serum. *J Am Chem Soc* 2009; **131** (1): 40–1.

15. Бурлака АП, Сидорик ЄП. Радикальні форми кисню та оксиду азоту при пухлинному процесі. К: Наукова думка, 2006; 228 с.

16. Muller L, Riediker M, Wick P, *et al.* Oxidative stress and inflammation response after nanoparticle exposure differs between human lung cell monocultures and an advanced three-dimensional model of the human epithelial airways. *J R Soc Interface* 2010; **7** (1): 27–40.

17. Waldman WJ, Kristovich R, Knight DA, *et al.* Inflammatory properties of iron-containing carbon nanoparticles. *Chem Res Toxicol* 2007; **20** (8): 1149–54.

18. Colognato R, Bonelli A, Ponti J, *et al.* Comparative genotoxicity of cobalt nanoparticles and ions on human peripheral leukocytes *in vitro*. *Mutagenesis* 2008; **23** (5): 377–82.

19. Бельський МЛ. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Л: Гос Изд Мед Лит, 1963. 138 с.

20. Мосієнко ВС. Рак: пути в незнане, розочарования и надежды. К: Школьный мир, 2009: 137–203.

21. Мосієнко ВС, Куртсеітов ЛК. Интегральные подходы к лечению опухолевой болезни. К: Школьный. Мир, 2010. 448 с.

## PHARMACO-TOXICOLOGICAL, PHYSICAL-CHEMICAL AND ANTICANCER PROPERTIES OF FERROMAGNETIC IRON NANOPARTICLES (EXPERIMENTAL STUDY)

V.S. Mosienko, N.F. Kuschevska, A.P. Burlaka, V.O. Shlyakhovenko, I.V. Boichuk, L.K. Kurtseitov, O.V. Karanashenko, O.J. Dasiukevich, A.V. Verbinenko

**Summary.** *The characteristics of original ferromagnetic iron nanoparticles (FIN), obtained in A.V. Duman-sky Institute of colloid chemistry and water chemistry of the NAS of Ukraine: the shape, the dimensions and geometry of FIN; their toxicity; penetration (per os administration) in the tissues of different organs and tumors; influence on activity of mitochondrial FeS-protein N-2; cytochrome P450 (g=2,25) activity; the generation of superoxide and NO-radicals in the tissues of liver, kidneys and tumors and in neutrophils of peripheral blood; and activity of FIN of model tumors strains (lymphoma R388, Ehrlich ascites cancer, metastatic Lewis lung carcinoma) were studied. The obtained data testify about the prospects of further FIN research with a view to develop technology of their clinical application.*

**Key Words:** ferromagnetic iron nanoparticles, preclinical investigations, anticancer activity in experiments.

### Адреса для листування:

Мосієнко В.С.

ІЕПОР ім. Р.Є. Кавецького НАН України  
03022, Київ, вул. Васильківська, 45