

УДК 546.72-022.532:615.015:612.1-092.9:616-006.04

©Коллектив авторов

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ ЖЕЛЕЗА НА ПОКАЗАТЕЛИ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ В КРОВИ КРЫС С ЛИМФОСАРКОМОЙ ПЛИССА

П.С. Качесова, И.А. Горошинская, В.Б. Бородулин, Е.В. Шалашина, А.В. Чудилова, Л.А. Немайшкова*

Ростовский научно-исследовательский онкологический институт,
344037 Ростов-на-Дону, 14-я линия, 63; тел.: 8(863)295-53-62; тел./факс: 8(863) 295-54-41;
эл. почта: vnp.kachesova@gmail.com, iagor17@mail.ru

Применение наночастиц (НЧ) металлов в онкологии требует тщательного изучения их воздействия на организм. Для оценки состояния процессов свободнорадикального окисления в крови крыс с лимфосаркомой Плисса (ЛС), получавших НЧ металлического железа (30-50 нм) в качестве самостоятельного противоопухолевого средства, определяли показатели антиоксидантного статуса и накопление продуктов липопероксидации (ПОЛ) в эритроцитах и плазме. У крыс без введения НЧ железа наблюдалось повышение уровня малонового диальдегида (МДА) в эритроцитах на 45,0% ($p<0,01$), несмотря на компенсаторное увеличение содержания восстановленного глутатиона (GSH) и активности каталазы (на 24,0% и 14,3% соответственно; $p<0,05$). В плазме крови уровень МДА превышал норму на 167,4% ($p<0,01$), а оксидантная активность церулоплазмينا (ЦП) снижалась на 36,8% ($p<0,001$). Из приведенных данных следует, что рост ЛС сопровождался дисрегуляцией свободнорадикальных процессов и развитием оксидативного стресса. В группе животных с введением НЧ железа интенсивность ПОЛ в крови снижалась на фоне реорганизации антиоксидантной системы. При этом выраженность и направленность выявленных изменений были связаны с наличием противоопухолевого эффекта. У крыс с ростом ЛС отмечена тенденция к понижению уровня МДА в эритроцитах и его нормализация в плазме; при регрессии опухоли данный показатель не отличался от нормы. У всех животных, получавших НЧ, значения ЦП были на уровне значений в группе здоровых животных, а значения GSH возрастали по отношению к норме – на 218,6% у крыс без эффекта и на 69,0% у крыс с эффектом ($p<0,01$). Активность супероксиддисмутазы у крыс с ростом ЛС достоверно увеличивалась (на 42,0%), а у крыс с регрессией уменьшалась (на 30,0%) с последующей нормализацией. Таким образом, введение НЧ железа привело к активации антиоксидантной системы крови и значительному уменьшению проявлений оксидативного стресса, вызванного опухолевым ростом.

Ключевые слова: наночастицы железа, свободнорадикальное окисление, антиоксидантные ферменты, лимфосаркома, противоопухолевый эффект

DOI 10.18097/PBMC20166205555

ВВЕДЕНИЕ

Вопрос создания новых противоопухолевых средств, обладающих большей цитостатической активностью, специфичностью, не оказывающих повреждающего действия на организм и позволяющих преодолевать явление резистентности остается по-прежнему актуальным [1]. В настоящее время достаточно большое внимание уделяется разработке противоопухолевых агентов на основе переходных металлов, в том числе относящихся к биогенным микроэлементам [1, 2]. Интерес к применению биогенных металлов (Fe, Zn, Cu и др.) определяется их потенциально невысокой токсичностью для организма с одной стороны, и способностью подавлять рост опухолевых клеток – с другой [2, 3]. Кроме того, полагают, что противоопухолевые средства, содержащие биогенные металлы, будут обладать отличными от препаратов платины механизмами действия благодаря участию микроэлементов в разнообразных физиологических процессах [2].

Другой, не менее перспективной областью применения биогенных металлов, является разработка различных наноконструкций для создания альтернативных средств лечения рака. Известно,

что у веществ в ультрадисперсном состоянии может повышаться реакционная и адсорбционная активность, изменяются каталитические, магнитные и другие характеристики. Это влияет на биосовместимость, биораспределение и биodeградацию веществ в наноформе, обеспечивая определенные преимущества наноматериалов при решении актуальных задач противоопухолевой терапии [4, 5]. Так, различные наноформы биогенных металлов и их оксидов успешно используют для создания систем доставки классических лекарственных средств и различных биомолекул таргетной терапии к тканям-мишеням; в качестве термо-, фото- и радиосенсибилизаторов при проведении гипертермии, фотодинамической и радиотерапии [4, 6]. Появляются экспериментальные работы, демонстрирующие самостоятельный цитотоксический и антипролиферативный эффект наночастиц биогенных металлов в отношении опухолевых клеток различных линий [6]. В то же время лишь единичные исследования посвящены изучению их противоопухолевой активности в опытах *in vivo* и влиянию на организм животных-опухоленосителей [6, 7].

Рассматривая вопрос о применении в биомедицине наноматериалов, нельзя забывать о возможности

* - адресат для переписки

негативного воздействия наночастиц на организм [4, 8]. На сегодняшний день установлено, что наночастицы (НЧ) металлов могут создавать ассоциации с биомолекулами, изменяя их конфигурацию и функционирование [4], взаимодействовать с клетками, приводя к нарушению работы тканей и органов [9]. Также к важнейшим факторам повреждающего действия наночастиц металлов на клеточном и организменном уровне относят способность усиливать продукцию активных форм кислорода (АФК), что, с одной стороны, может найти применение для разработки АФК-генерирующих противоопухолевых агентов, с другой – стать причиной повреждения нормальных клеток и тканей организма [4, 8].

Принимая во внимание вышеизложенное и несомненную патогенетическую роль свободнорадикальных процессов в канцерогенезе и прогрессии опухолей [10], целью данной работы явилось изучение ряда показателей, отражающих состояние процессов свободнорадикального окисления в крови крыс, при самостоятельном применении наночастиц металлического железа в экспериментальной терапии лимфосаркомы Плисса.

МЕТОДИКА

В качестве экспериментальной модели использовали белых нелинейных крыс-самцов массой 250-300 г, которым была перевита лимфосаркома Плисса (ЛС). Эта опухоль характеризуется быстрым агрессивным ростом с тенденцией к инвазии в окружающие ткани и прорастанием в забрюшинную клетчатку, метастазированием, а также сниженной чувствительностью к цитостатикам. Штамм ЛС получен из банка опухолевых штаммов РОНЦ им. Н.Н. Блохина. Для индукции опухолевого роста производили инокуляцию 0,5 мл опухолевой взвеси, содержащей 1×10^6 жизнеспособных клеток, подкожно в область нижней части спины. Биохимические исследования проводили в крови 20 крыс с ЛС без введения НЧ (контрольная группа) и 23 крыс с введением НЧ (основная группа). Полученные в группе экспериментальных животных значения сопоставляли со значениями в группе интактных крыс ($n=22$).

В работе использовали ультрадисперсный порошок железа, полученный из крупнодисперсных порошков с помощью плазменной технологии, основанной на испарении сырья (крупнодисперсного порошка или прутка) в плазменном потоке с температурой 5000-6000 К и конденсации пара до ультрадисперсных частиц требуемого размера (дисперсность частиц 30-50 нм). Форма НЧ была близка к сферической. Исследование структуры наночастиц и их растворов в 0,9% NaCl методом рентгеновской спектроскопии на основе анализа тонкой структуры спектров рентгеновского поглощения в области края поглощения (XANES – X-ray absorption near edge spectroscopy) показало, что наночастицы представляли собой металлическое железо в оксидной оболочке и не окислялись в 0,9% NaCl [9].

Наночастицы железа суспендировали в физиологическом растворе непосредственно перед использованием и вводили животным 8-кратно по 4 введения в неделю с 5-дневным перерывом после 4-го введения. Разовая доза НЧ составила 1,25 мг/кг массы животного, суммарная – 10 мг/кг. Использовали два способа введения НЧ: локально в опухоль и внутривентриально. В контрольной группе животным внутривентриально вводили 0,9% раствор хлорида натрия (по 0,3 мл). Введение НЧ начинали при достижении размеров опухоли в среднем $1,01 \pm 0,14$ см³. Забой большинства животных осуществляли на 5-7 день после окончания воздействия. Восемь животных с полной регрессией опухоли были оставлены под наблюдением на 2,5 месяца и забиты на 73-75 сутки после окончания эксперимента.

Для оценки влияния НЧ железа на состояние процессов свободнорадикального окисления в организме животных с ЛС был исследован ряд показателей, характеризующих интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) и функционирование антиоксидантной системы крови. Интенсивность ПОЛ оценивали по накоплению в эритроцитах и плазме крови продуктов реакции с тиобарбитуровой кислотой в пересчете на концентрацию малонового диальдегида (МДА), как наиболее изученного продукта ПОЛ [11]. Количество МДА выражали в нмоль/мл гемолизата или нмоль/мл плазмы. Для оценки состояния ферментативного звена антиоксидантной системы в гемолизатах эритроцитов исследовали активность супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы. Кроме того, определяли компоненты неферментативного звена антиоксидантной системы – содержание восстановленного глутатиона (GSH) в эритроцитах и окислительную активность церулоплазмينا (ЦП) в плазме спектрофотометрическими методами на спектрофотометре U-2900 фирмы “Hitachi” (Япония). Активность СОД (КФ 1.15.1.1) определяли по степени ингибирования восстановления нитросинего тетразола в присутствии супероксидного радикала, генерируемого в реакции восстановления молекулярного кислорода адреналином в щелочной среде при 545 нм [12]. За единицу активности принимали количество фермента, вызывавшее 50% торможение реакции и выражали в усл. ед. на мг гемоглобина. Активность каталазы (КФ 1.11.1.6.) определяли методом с использованием молибдата аммония [13] и выражали в нмоль H_2O_2 /мин. на мг гемоглобина. Содержание GSH определяли по реакции с 5,5-дитиобис(2-нитробензойной кислотой) при 412 нм и выражали в нмоль/мл гемоглобина [12]. Окислительную активность ЦП определяли общепринятым колориметрическим методом, основанным на окислении *n*-фенилендиамина, и выражали в нмоль/мл плазмы. В работе использованы реактивы 96-99% чистоты фирм “Sigma-Aldrich”, “Fluka” (Германия) и “AppliChem” (США). Концентрацию гемоглобина в гемолизатах определяли гемоглобинцианидным методом с использованием коммерческого набора реагентов ЭКОлаб-Гемоглобин (Россия) и выражали в г/л.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ Statistica 6.0, используя критерии Стьюдента и Манна-Уитни для оценки значимости различий двух независимых выборок. Отклонения между рядами оценивали как значимые при вероятности различий, превышающих 95% ($p < 0,05$ - $p < 0,001$), а при $0,1 > p > 0,05$ считали, что различия обнаружены на уровне статистической тенденции.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении влияния НЧ железа на рост ЛС было выявлено, что НЧ металлического железа проявляли выраженный противоопухолевый эффект, вызывая полную регрессию опухоли у 40% животных при различных способах введения. В остальных случаях отмечали рост или торможение роста опухоли. Анализ результатов биохимических исследований проводили в зависимости от противоопухолевого эффекта; для этого животные основной группы были разделены на подгруппы: крысы без эффекта (масса опухолей 44-88 г) и крысы с эффектом (масса остаточной опухоли 0-0,03 г – уменьшение объема опухоли на 88-100%).

Как видно из представленных в таблице данных, рост опухоли вызывал интенсификацию

процессов ПОЛ в крови крыс контрольной группы на фоне несостоятельности антирадикальной защиты. Так, в эритроцитах наблюдалось увеличение содержания одного из основных компонентов внутриклеточной редокс-системы – GSH (на 24%) и повышение активности каталазы (на 14,3%). Несмотря на активацию этих звеньев антирадикальной защиты, содержание МДА в эритроцитах увеличивалось на 45% по сравнению с интактными животными. В плазме крови, напротив, происходило снижение активности основного белкового антиоксиданта – церулоплазмينا, на 36,8%, что способствовало более выраженному, чем в эритроцитах, накоплению МДА.

У всех животных основной группы интенсивность накопления продуктов ПОЛ в эритроцитах и плазме заметно снижалась. У крыс без эффекта обозначилась тенденция к понижению уровня МДА в эритроцитах, в плазме данный показатель значимо не отличался от нормативных величин и был ниже значений в контрольной группе в 3,5 раза. У крыс с регрессией опухоли содержание МДА оказался ниже, чем в контрольной группе: в эритроцитах на 25%, в плазме – на 58,3%.

Очевидно, что снижение интенсивности ПОЛ у крыс, получавших НЧ железа, было вызвано изменением регуляции свободнорадикальных

Таблица. Состояние свободнорадикальных процессов в крови крыс с лимфосаркомой Плисса при различной эффективности противоопухолевого действия НЧ железа

Показатели	Интактные животные n=22	Контрольная группа (Mo = 50-89 г) n=20	Введение наночастиц железа		
			Рост опухоли (Mo = 44-88 г) n=4	Регрессия опухоли (Mo= 0-0,05 г) n=11	Регрессия опухоли после 2,5 месяцев (отсутствие рецидивов) n=8
МДА эритр. нмоль/мл 1% гемолизата	1,43±0,10	2,07±0,08 p<0,01	1,81±0,10 0,05<p<0,1 0,05<p<0,1	1,56±0,08 p<0,01	0,76±0,04 p<0,05 p ₁ <0,001 p ₂ <0,01 p<0,001
МДА плазм. нмоль/мл плазмы	3,59±0,61	9,59±1,31 p<0,01	2,72±0,02 p<0,05	4,0±0,68 p<0,01	2,26±0,40 p<0,01 p ₂ <0,05
СОД усл.ед.акт./ мг Hb	478,9±27,2	510,5±34,9	684,0±180,1 p<0,05	335,2±16,1 p<0,01 p ₁ <0,01 p<0,001	494,06±12,37 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05
Каталаза эритр. нмоль/мг Hb	129,2±5,13	147,63±5,37 p<0,05	123,20±4,39 0,05<p<0,1	151,68±6,73 p<0,05 p ₁ <0,05	149,98±3,93 p<0,05 p ₁ <0,01
GSH нмоль/мг Hb	31,89±1,90	39,54±2,37 p<0,05	101,6±25,52 p<0,001 p<0,001	53,96±9,32 p<0,01 p ₁ <0,05 0,05<p<0,1	39,6±0,80 p<0,05
Церулоплазмин нмоль/мл	1,973±0,134	1,246±0,220 p<0,001	1,71±0,238	1,878±0,204 p<0,05	2,878±0,132 p<0,001 p ₁ <0,01 p<0,001

Примечание. Данные представлены в виде средней величины ± ошибка средней. Статистическая значимость различий: p - по сравнению с группой интактных животных; p_к - по сравнению с контрольной группой; p₁ - между группами с полной регрессией и ростом опухоли (или торможением роста) при введении наночастиц железа; p₂ - между группами животных с регрессией опухоли, выведенных из эксперимента через 5-7 дней и животных, выведенных из эксперимента через 2,5 месяца после окончания воздействия. Mo - масса опухоли (Min-Max).

процессов. При этом функциональное состояние изучаемых компонентов антиоксидантной системы изменялось в зависимости от наблюдаемого противоопухолевого эффекта.

В группе крыс с ростом опухоли или торможением роста после введения НЧ железа активность СОД в эритроцитах была максимальной и превышала значения в остальных группах на 34-100%. Это указывало на повышение концентрации супероксид-анион радикала в эритроцитах, поскольку СОД является индуцибельным ферментом, а также должно было способствовать накоплению пероксида водорода. Однако мы не наблюдали компенсаторного повышения активности каталазы у крыс данной группы, значения которой оставались на уровне нормативных показателей. Несмотря на дисфункцию в работе физиологического каскада СОД-каталаза, мы не обнаружили чрезмерной интенсификации ПОЛ, вероятно, благодаря значительному увеличению содержания GSH в эритроцитах (на 218,6% выше нормы). В плазме крови снижение активности процессов липопероксидации относительно контроля сопровождалось увеличением активности ЦП до уровня нормативных величин.

В эритроцитах крыс с регрессией ЛС происходили противоположные изменения в работе системы ферментов восстановления молекулярного кислорода: снижение активности СОД (на 30%) и некоторое увеличение активности каталазы (на 17%) по отношению к норме. Наблюдаемые изменения указывали на смещение баланса в сторону повышения утилизации пероксида водорода, что согласуется с выраженным снижением МДА в эритроцитах. Содержание GSH у крыс данной группы оказалось ниже, чем у животных без эффекта, но оставалось выше нормативных значений на 69%. Активность ЦП в плазме не отличалась от уровня в группе интактных животных, и при этом была выше на 50%, чем в контрольной группе.

Для оценки долгосрочного влияния наночастиц металлического железа на состояние свободнорадикальных процессов в крови крыс с регрессией ЛС, была обследована группа животных, выведенных из эксперимента на более поздних сроках. Проведенные исследования показали, что у животных данной группы происходило снижение содержания МДА относительно значений в группе, выведенной из эксперимента на 5-7 день после окончания воздействия, на 51,3% в эритроцитах, в плазме крови – на 43,5% (таблица). При этом активность каталазы в эритроцитах оставалась на прежнем уровне, а активность СОД увеличилась по отношению к таковой в более ранние сроки исследования на 47,4% и не отличалась от уровня у интактных животных. Это указывало на процесс восстановления сбалансированной работы физиологического каскада СОД-каталаза. Также было выявлено снижение уровня GSH по отношению к значениям на более ранних сроках (на 27%). Уменьшение накопления МДА в плазме сопровождалось усилением активности ЦП на 45,9% по отношению к значениям у интактных животных.

Отметим, что у животных с полной регрессией опухоли мы не выявили возникновения рецидивов и/или метастазов в течение всего периода наблюдения.

Развитие злокачественных новообразований сопровождается дисбалансом процессов свободнорадикального окисления. Так, рост опухолей во многих случаях сопровождается накоплением МДА в крови [10, 14]. При этом наблюдается неоднозначность изменений в системе антирадикальной защиты, что может быть связано с гетерогенностью и нелинейной динамикой роста опухолей, а также с распространённостью опухолевого процесса [10, 14]. Результаты проведенного нами исследования показали, что рост лимфосаркомы Плисса характеризуется нарушением равновесия окислительно-антиоксидантной системы крови и развитием окислительного стресса, что согласуется с имеющимися литературными данными [15].

Известно, что ионы железа в биологических средах непосредственно стимулируют генерацию АФК через активацию молекулярного кислорода и участие в реакции Фентона. Соответственно, избыточное поступление железа в организм может приводить к повреждению клеток тканей и органов в результате развития железо-индуцированного окислительного стресса [16]. Как уже было отмечено ранее, введение металлов в форме НЧ также может стимулировать генерацию АФК. Показано, что однократное внутривенное введение крысам сферических НЧ Fe_2O_3 (30-35 нм) в дозах от 7,5 мг/кг до 30,0 мг/кг не приводило к выраженным изменениям ПОЛ и активности антиоксидантных ферментов. В тоже время увеличение кратности введения (до 4-х раз) сопровождалось дозозависимым накоплением МДА, снижением активности СОД и каталазы, а также уменьшением содержания GSH в эритроцитах [17]. При внутрибрюшинном введении НЧ Fe_3O_4 (6,5 нм) в дозе 5 мг/кг и 10 мг/кг происходило снижение уровня GSH и увеличение МДА в клетках печени и мозга крыс, а при использовании меньших доз (0,5 мг/кг и 1 мг/кг) признаков развития окислительного стресса не наблюдалось [8].

В нашей работе мы не обнаружили усугубления дисбаланса редокс системы в крови крыс с лимфосаркомой, получавших тестируемые НЧ железа. Напротив, в ближайшие после воздействия сроки у животных опытной группы происходила реорганизация антиоксидантной системы в эритроцитах и плазме, носящая, по-видимому, адаптивный характер. Это привело к снижению интенсивности ПОЛ в крови. У всех животных основной группы отмечались изменения в работе СОД, что влияло на систему СОД-каталаза, и содержании GSH. При этом активность СОД изменялась в зависимости от противоопухолевого эффекта – повышалась относительно нормы при неэффективном и понижалась при эффективном воздействии. Содержание GSH увеличивалось у всех опытных животных, однако у крыс с ростом ЛС значения данного показателя достоверно превышали таковые в группе с регрессией опухоли.

По данным литературы, изменение уровня железа в организме может оказывать влияние на показатели

антиоксидантного статуса. Так, введение крысам препаратов железа значительно повышает активность ключевых ферментов антирадикальной защиты – СОД и каталазы, в эритроцитах и других клетках [16, 18]. Изменение уровня железа влияет на концентрацию основного компонента редокс-системы клетки – восстановленного глутатиона. Авторы работы [19] описали последовательное увеличение, а затем истощение концентрации GSH при постепенном росте концентрации железа в нейрональных клетках и отметили, что клетки, приспособившиеся к окислительному стрессу, вызванному повышенным содержанием железа, имели высокий уровень GSH.

Эффективная регуляция железо-индуцированного окисления антиоксидантной системой может быть связана не только с непосредственной способностью её компонентов утилизировать АФК, но опосредована их влиянием на уровень железа. На нескольких линиях нервных клеток млекопитающих было показано влияние активности СОД на метаболизм железа, о чём свидетельствовало изменение уровня отвечающих за транспорт и депонирование железа белков – трансферрина, ферритина и регуляторного белка IRP1 [20]. Также доказано участие системы глутатион-глутаредоксин в процессах внутриклеточного транспорта и утилизации железа, что способствует поддержанию клеточного редокс-баланса [21].

Вероятно, выявленный нами максимальный подъём показателей СОД и GSH у животных с ростом опухоли является защитным механизмом, направленным на подавление железо-индуцированного ПОЛ. Это предположение согласуется с более высоким уровнем ПОЛ у крыс без эффекта.

При развитии злокачественных опухолей, как правило, отмечается увеличение уровня ЦП [22]. Тем не менее, есть сообщения и о снижении его уровня у онкобольных, что рассматривается как признак снижения общей антиоксидантной активности сыворотки [22]. Мы также обнаружили снижение оксидазной активности ЦП в плазме крови контрольных животных, однако у крыс опытной группы отмечена нормализация данного показателя. Известно, что ЦП является мультифункциональным антиоксидантом, способным понижать уровень окисления разнообразных органических и неорганических субстратов [22, 23]. В то же время, ЦП проявляет самую высокую аффинность и оксидазную активность именно по отношению к ионам Fe^{2+} , благодаря чему данный белок определяет 90-95% общей феррооксидазной активности сыворотки крови [23] и принимает активное участие в процессах поступления, транспорта и утилизации железа в организме [24]. Поскольку между оксидазной и феррооксидазной активностью ЦП была установлена высокая положительная корреляционная связь ($r=0,96-0,99$) [24], можно предположить, что наблюдаемое в результате введения НЧ железа увеличение

активности ЦП связано с повышением концентрации восстановленного железа в плазме. Такое предположение согласуется с представлениями о том, что в процессе биodeградации наночастицы металлов могут постепенно растворяться и переходить в ионное состояние. Так, в работе [25] было продемонстрировано накопление железа в тканях лёгкого и печени, а также повышение уровня ферритина в плазме после введения нетоксических доз наночастиц оксида железа. Поскольку антиоксидантные функции ЦП и его участие в обороте железа тесно связаны, выявленное нами увеличение активности ЦП можно рассматривать как механизм защиты от ПОЛ в ответ на повышение уровня железа в организме.

Изменения изученных параметров у животных с полной регрессией опухоли на 73-75 сутки после окончания эксперимента свидетельствуют о снижении напряженности антирадикальных механизмов защиты. При этом повышение оксидазной активности ЦП на данном этапе, возможно, было направлено на предотвращение активации окислительных процессов, которая могла произойти в результате более полного перехода НЧ железа в ионную форму с течением времени.

В целом, полученные данные указывают на существенную роль таких компонентов антиоксидантной системы, как СОД, ВГ и ЦП в регуляции свободнорадикального окисления при введении наночастиц металлического железа животным с опухолевым ростом. При этом выраженность и направленность изменений изученных показателей связана с наличием противоопухолевого эффекта.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наночастицы металлического железа в использованной нами дозировке проявляли противоопухолевую активность, как при локальном, так и при системном (внутрибрюшинном) введении. При достижении полной регрессии лимфосаркомы не наблюдалось возникновения рецидивов и/или метастазов. Введение НЧ железа способствовало снижению интенсивности липопероксидации и повышению эффективности антиоксидантной защиты при опухолевом росте. При этом у животных с полной регрессией лимфосаркомы обнаружены более благоприятные изменения ряда показателей по сравнению с животными, у которых введение НЧ оказалось неэффективным.

Таким образом, можно заключить, что исследованные наночастицы металлического железа не вызывают токсических эффектов, связанных с системным усилением генерации активных форм кислорода, и обладают противоопухолевой активностью, что может быть использовано при разработке новых противоопухолевых препаратов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №14-04-32046 мол_а.

ЛИТЕРАТУРА

- Ott I., Gust R. (2007) Arch. Pharm., **340**(3), 117-126.
- Marzano C., Pellei M., Tistado F., Santini C. (2009) J. Anticancer Agents in Med. Chem., **9**(2), 185-211.
- Kwong W.L., Lok C.N., Tse C.W., Wong E.L., Che C.M. (2015) Eur. J. Chem., **21**(7), 3062-3072.
- Lei L., Ling-Ling J., Yun Z., Gang L. (2013) Chinese Physics B., **22**(12), 127503.
- Li X., Wang L., Fan Y., Feng Q., Cui F.-Z. (2012) J. Nanomaterials, 548389.
- Vinardel M.P., Mitjans M. (2015) Nanomaterials, **5**, 1004-1021.
- Шалашина Е.В., Горошинская И.А., Качесова П.С., Жукова Г.В., Евстратова О.Ф., Бартьева Т.А., Нескубина И.В., Бородулин В.Б. (2011) Бюлл. экспер. биол. мед., **152**(11), 552-556.
- Samal N.K., Paulraj R. (2010) J. Bionanoscience, **4**(1-2), 22-28.
- Borodulin V.B., Goroshinskaya I.A., Kachesova P.S., Babushkina I.V., Polozhentsev O.E., Durnova N.A., Vasiliadis R.A., Losev O.E., Chesovskiy Yu.S. (2015) Nanotechnologies in Russia, **10**(3-4), 268-277.
- Metgud R., Bajaj S. (2014) J. Oral Sci., **56**(2), 135-142.
- Стальная И.Д., Горешвили Т.Г. (1977) В кн.: Современные методы в биохимии, Медицина, М. сс. 66-67.
- Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. (2000) Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма. Метод. Рекомендации, ИКФ "Фолиант", СПб., 104 с.
- Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. (1988) Лаб. дело, №1, 16-19.
- Lauschke H., Tolba R., Burger B., Minor T., Hirner A. (2002) Eur. Surg. Res., **34**(5), 346-350.
- Кулакова К.В., Щербатюк Т.Г., Давыденко Д.В., Клинецова Е.С., Макушева М.А. (2012) Бюлл. экспер. биол. мед., **154**, 746-749.
- Liu D., He H., Yin D., Que A., Tang L., Liao Z., Huang Q., He M. (2013) Mol. Med. Rep., **7**, 1173-1117.
- Gaharwa U.S., Paulraj R. (2015) J. Biomed. Sci. Eng., **8**(4), 274-286.
- Seymen O., Seven A., Candan G., Yigit G., Hatemi S., Hatemi H. (1997) Acta Med. Okayama, **51**, 129-133.
- Aracena P., Aguirre P., Muñoz P., Núñez M.T. (2009) Biol. Res., **39**, 157-165.
- Danzeisen R., Achsel T., Bederke U., Cozzolino M., Crosio C., Ferri A., Frenzel M., Gralla E.B., Huber L., Ludolph A., Nencini M., Rotilio G., Valentine J.S., Carri M.T. (2006) J. Biol. Inorg. Chem., **11**, 489-498.
- Kumar C., Igbaria A., D'Autreaux B., Planson A.G., Junot C., Godat E., Bachhawat A.K., Delaunay-Moisin A., Toledano M.B. (2011) EMBO J., **30**, 2044-2056.
- Вавилова Т.П., Гусарова Ю.Н., Королева О.В., Медведев А.Е. (2005) Биомед. химия, **51**, 263-275.
- Erel O. (1998) Clinical Chem., **44**, 2313-2319.
- Attieh Z.K., Mukhopadhyay C.K., Seshadri V., Tripoulas N.A., Fox P.L. (1999) J. Biol. Chem., **274**, 1116-1123.
- Ruiz A., Gutiérrez L., Cáceres-Vélez P.R., Santos D., Chaves S.B., Fascineli M.L., Garcia M.P., Azevedo R.B., Morales M.P. (2015) Nanoscale, **7**, 16321-16329.

Поступила: 19. 10. 2015.
Принята к печати: 27. 07. 2016.

EFFECT OF IRON NANOPARTICLES ON FREE RADICAL OXIDATION PROCESS IN BLOOD OF RATS WITH PLISS LYMPHOSARCOMA

P.A. Kachesova, I.A. Goroshinskaja, V.B. Borodulin, E.V. Shalashnaja, A.V. Chudilova, L.A. Nemashkalova

Rostov Research Institute of Oncology,
63, 14-line, Rostov-on-Don, 344037 Russia; tel.: 8(863)295-53-62; tel./fax: 8(863) 295-54-41;
e-mail: vnp.kachesova@gmail.com, iagor17@mail.ru

The use of metal nanoparticles (NPs) for cancer treatment requires careful examination of their biological effects. The aim of this study was to determine parameters of oxidative processes in the blood of tumor-bearing animals treated with metallic iron NPs only. The markers of antioxidant status and accumulation of lipid peroxidation products were measured in erythrocytes and blood plasma of rats with Pliss lymphosarcoma (PLS) and intact rats. PLS animals were treated eight times with iron NPs (at a dose of 1.25 mg/kg bw (main group), rats of the control group received saline (0.3 ml). In control animals, an increase in malondialdehyde (MDA) was observed in red blood cells (RBC) by 45%; this was accompanied by compensatory increase in reduced glutathione (GSH) and catalase by 24% and 14.3%, respectively ($p < 0.05$). In plasma an increase in MDA by 167.4% ($p < 0.01$) and a decrease in oxidase activity of ceruloplasmin (CP) by 36.8% ($p < 0.001$) were found. In the main group there was a decrease of accumulation of lipid peroxidation products in the blood. Intensity of detected changes depended on the antitumor effect: rats with growing LSP showed a tendency to the decrease in the RBC MDA level and normalization of plasma MDA; in animals with LSP regression this marker did not differ from normal values. In all animals of the main group the CP content was basically the same as in intact rats while GSH increased in the group without therapeutic effect (by 218.6%) and in the group with the effect by 69% (versus normal values; $p < 0.01$). SOD activity in the rats with LSP growth significantly increased (by 42%), in the rats with regression decreased (by 30%) with subsequent normalization. Thus, administration of iron NPs caused activation of the antioxidant system in blood and a significant decrease in the manifestations of oxidative stress associated with tumor growth.

Key words: iron nanoparticles, free radical oxidation, antioxidant enzymes, lymphosarcoma, antitumor effect