

ВИКОРИСТАННЯ НАНОЧАСТИНОК ЗОЛОТА ДЛЯ ЦІЛЬОВОЇ ДОСТАВКИ КАРДІОТРОПНИХ ПРЕПАРАТІВ

Мохнатий С.І.¹, Воробйова Г.М.¹, Ступіна О.С.³, Рєзніченко Л.С.², Грузіна Т.Г.², Жовнір В.А.¹, Ємець І. М.¹

¹ДУ «Науково-практичний медичний центр дитячої кардіології та кардіохірургії МОЗ України» (Київ)

²Інститут біологічної хімії імені Ф.Д. Овчаренка НАН України (Київ)

³Інститут геронтології НАМН (Київ)

В експерименті при моделюванні серцевої недостатності у щурів показана перспективність використання наночастинок золота як агентів для цільової доставки кардіотропних препаратів.

Ключові слова: наночастинки золота, модель серцевої недостатності.

Серцево-судинна патологія поідає одне з провідних місць у світі серед причин смертності та інвалідизації у всіх вікових групах населення [1].

Незважаючи на значний арсенал засобів для лікування серцево-судинної патології, актуально залишається проблема розробки нових високоефективних терапевтичних препаратів та підвищення ефективності вже існуючих засобів за рахунок їх цільової доставки та зменшення побічних ефектів [1, 2].

Значний потенціал для досягнення потреб сучасної фармакології мають різні типи наноматеріалів і, зокрема, наночастинок золота з огляду на їх стабільність, біосумісність та легкість модифікації поверхні [3, 4].

Наночастинки золота добре зарекомендували себе як контрастні агенти та вектори цільової доставки протипухлинних препаратів [5, 6, 7]. Меншою мірою це стосувалося терапії кардіологічної патології. Проте активні дослідження, що ведуться з цієї проблеми, свідчать про значні перспективи використання наночастинок золота за цим напрямом [8, 9, 10].

Мета дослідження – оцінити результат принципово нових науково обґрунтованих підходів до конструювання біосумісних та біобезпечних наноконструкцій на основі наночастинок золота для адресної доставки кардіотропних препаратів.

Матеріал і методи. Препарати наночастинок золота (НЗ) синтезовані карбонатно-цитратним методом в Інституті біологічної хімії ім. Ф.Д. Овчаренка НАН України за оригінальною методикою. Використаний метод синтезу дозволив отримати стійкі до коагуляції, стерильні, монодисперсні водні препарати наночастинок золота середнього розміру 30 нм. Сконструйовано кон'югат наночастинок золота розміром 30 нм і препарату левосимендан (далі кон'югат). Кон'югацію проводили при співвідношенні компонентів 1:1 за об'ємом. Кінцеві концентрації діючих речовин склали: левосимендан – 1,25 мг/мл, наночастинок золота – 19,3 мкг/мл за металом.

Створено модель серцевої недостатності (СН) у щурів на основі доксорубіцину ("Sigma", США). У дослідженні використані 6–8-місячні щури лінії Wistar вагою 190–205 г (n = 28). Тварини утримувались у стандартних умовах у приміщенні з кімнатною температурою, вільним доступом до їжі та води. Щурів годували стандартною їжею у вигляді сертифікованого гранульованого корму. Усі дослідження проводились із урахуванням норм Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, що використовуються для ек-

спериментальних та наукових цілей, від 20.09.1985 та закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження».

При моделюванні СН сформовано дві групи по 7 щурів (кумулятивна доза доксорубіцину становила 3,04 мг/тварину або 15 мг/кг). Сумарна доза доксорубіцину вводилася в 4 прийоми з інтервалом 72 години шляхом внутрішньо-перитонеальних ін'єкцій (по 0,5 мл розчину за кожне введення, сумарний об'єм – 2 мл/тварину). В подальшому щури 1-ї групи отримували кон'югат «НЗ-левосимендан» у вигляді ін'єкцій у хвостову вену. Крім того, у 4 щурів досліджуваної групи під контролем УЗД виконувались інтервенційні процедури: 2 щури отримували препарат «НЗ-левосимендан» у плевральну порожнину під контролем УЗД і 2 – в порожнину перикарда. Щури 2-ї групи слугували контролем і отримали такий самий об'єм фізіологічного розчину.

Для оцінки ефективності моделі СН та змін серцевої діяльності під впливом кон'югату використовувались методи УЗ-діагностики. Обстеження проводили в положенні тварини лежачи на спині за допомогою ультразвукового апарату, що працює в режимі реального часу, з використанням датчиків частотою понад 10 МГц з функцією М-режиму, доплерографії, соноеластографії. Ультразвукове сканування проводили за допомогою лінійного 10 МГц ультразвукового сканеру SonoSite TURBO (США). Соноеластографію проводили на приладі Hitachi HV 900 (США). Використовували М-режим та доплерографію.

Визначали фракцію викиду лівого шлуночка (ЛШ), при доплерографії визначали максимальну систолічну швидкість кровотоку у вихідному тракті ЛШ. Оцінювали стан цільових внутрішніх органів: розміри печінки, діаметр вен великого кола кровообігу – нижньої порожнистої, печінкових, ниркових вен, стан порталльної системи, ниркового кровоплину, наявність асцити та гідротораксу тощо.

Матеріал для дослідження – міокард – відбирали через 1 годину та 48 годин після введення кон'югату «НЗ-левосимендан». Візуалізацію НЗ та кон'югату проводили методом трансмісійної електронної мікроскопії (трансмісійний електронний мікроскоп JEM-1230, «JEOL», Японія). Ультратонкі зрізи товщиною 50–60 нм досліджували без контрастування.

Результати та обговорення. У процесі дослідження отримано хорошу УЗ-візуалізацію уражених органів щурів з моделюваною доксорубіцином СН. Так, у тварин зменшувались фракція викиду та максимальна систолічна швидкість кровотоку у вихідному тракті ЛШ на тлі збільшеного поздовжнього розміру печінки, селезінки та діаметру ворітної вени. Встановлено, що кон'югат «НЗ-левосимендан» призводив до регресу виявлених нами проявів серцевої недостатності та лінійних розмірів деяких органів у щурів із доксорубіцин-індукованою СН.

Аналіз отриманих нами даних свідчить, що щури із доксорубіцин-індукованою СН, які отримали препарат «НЗ-левосимендан», проявляли кращі компенсаторні властивості системного кровообігу, мали значно вищу фракцію викиду ЛШ (53% проти 37%, $P < 0,05$); нижчий рівень асцити та гідротораксу. В цій групі тварин асцит та гідроторакс визначалися у вигляді тонких смужок рідини (1–2 мм). У групі тварин, які не отримували кон'югат, рідина в грудній та черевній порожнині визначалась у вигляді смужок 5–7 мм.

При доксорубіцин-індукованій СН у щурів кон'югат «НЗ-левосимендан» мав кардіо-протекторну дію, про що свідчили зменшення інтенсивності асцити, гідротораксу, перикардиту, зниження рівня нефропатії. Після введення кон'югату виявили значно вищу фракцію викиду ЛШ. Кон'югат виявився ефективнішим порівняно з чистим препаратом левосимендан, принаймні за зниженням гідротораксу. Внутрішньоплевральний шлях введення усіх препаратів приводив до швидшого відновлення серцевої функції, ніж внутрішньовенний, за попередніми даними не відрізнявся від введення в перикардальну порожнину, що можна пояснити сполученням обох порожнин.

Дані сонометрії щурів

Параметр	Контрольна група n=14	Модель серцевої недостатності n=14
Поздовжній розмір печінки, мм	15,0 ± 1,5	18,0 ± 1,7
Поздовжній розмір нирки, мм	16,0 ± 1,3	17,0 ± 1,4
Поздовжній розмір селезінки, мм	14,0 ± 1,7	17,0 ± 1,8
Діаметр нижньої порожнистої вени, мм	3,0 ± 2,3	3,7 ± 2,6
Діаметр ворітної вени, мм	1,5 ± 0,3	1,78 ± 0,3
Фракція викиду, %	78,0 ± 6,0	46,0 ± 8,0
Максимальна систолічна швидкість у корені аорти, см/с	11,0 ± 1,3	6,5 ± 1,6
Індекс резистентності (IP) в сегментарних ниркових артеріях	0,68 ± 0,04	0,7 ± 0,04

Заключним етапом дослідження була електронна мікроскопія міокарда щурів. Встановлено, що при моделюванні доксорубіцин-індукованої СН відмічався виражений тропізм кон'югату «НЗ-левосимендан» (у вигляді електронно-щільних включень на знімках) до міофібрил та мітохондрій кардіоміоцита (КМЦ). Причому при внутрішньовенному введенні кон'югату через 1 годину відмічалася наявність включень у мітохондріях та міофібрилах у незначній кількості. При внутрішньоплевральному та внутрішньоперикардіальному введенні кон'югату відмічали значну кількість включень у міофібрилах.

Через 48 годин після введення кон'югату зафіксована значна кількість включень у ділянці мікрофіламентів міофібрил та крист мітохондрій, що підтверджує тропізм кон'югату до даних структур.

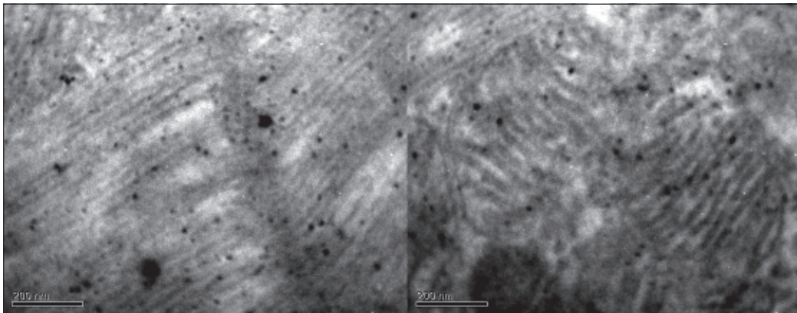


Рис. 1. Міофібрили КМЦ. Включення кон'югату в ділянці мікрофіламент (зліва) та крист мітохондрій (справа)

Висновки

1. На експериментальній моделі доксорубіцин-індукованої серцевої недостатності у щурів досліджуваної групи кон'югат «НЗ-левосимендан» мав кардіопротекторну дію, що підтверджувалось значно вищою фракцією викиду, нижчим рівнем асцити та гідротораксу порівняно з контролем.
2. Кардіопротекторна дія кон'югату вища, ніж чистого препарату левосимендан.

3. При внутрішньоперикардіальному та внутрішньоплевральному способах введення кон'югату «НЗ-левосимедан» відмічалось більш інтенсивне накопичення електронно-щільних включень у ділянці мікрофіламент міофібрил та крист мітохондрій кардіоіоцита, ніж при внутрішньовенному введенні.
4. Отримані дані дають підставу для подальшого вивчення наночастинок золота як векторів цільової доставки кардіотропних препаратів.

Література

1. Global atlas on cardiovascular disease prevention and control: Policies, strategies and interventions // WHO; World Heart Federation; World Stroke Organization. – 2011. – 164 p.
2. Карсанов Н.В., Сукоян Г.В., Татулашвили Д.Р. Субклеточно-молекулярные механизмы действия сердечных гликозидов и ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента на сократительную способность и преобразование энергии миофибриллами миокарда в норме и при острой недостаточности сердца // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2002. – № 1. – С. 87–93.
3. Дыкман Л.А., Богатырев В.А. Наночастицы золота: получение, функционализация, использование в биохимии и иммунохимии // Успехи химии. – 2007. – Т. 76, № 2. – С. 199–213.
4. Caruthers S.D., Wickine S.A., Lanza G.M. Nanotechnological applications in medicine // Current Opinion Biotechnology. – 2007. – Vol. 18, No 1. – P. 26–30.
5. Fu W., Shenoy D., Li J. Hetero-bifunctional poly(ethylene glycol) modified gold nanoparticles as an intracellular tracking and delivery agent // NSTI-Nanotech. – 2005. – Vol. 1. – 324–327.
6. Paciotti G.F., Myer L., Weinreich D. Colloidal gold: novel nanoparticle vector for tumor directed drug delivery // Drug Deliv. – 2004. – Vol. 11, No. 3. – P. 169–183.
7. Xu C., Tung G.A., Sun S. Size- and concentration effect of gold nanoparticles on X-ray attenuation as measured on computed tomography // Chem. Mater. – 2008. – Vol. 20, No. 13. – P. 4167–4169.
8. Cormode D. P., Roessl E., Thran A. Atherosclerotic Plaque Composition: Analysis with Multicolor CT and Targeted Gold Nanoparticles // Radiology. – 2010. – No. 256. – P. 774–782.
9. Galvin P., Thompson D., Ryan K.B. Nanoparticle-based drug delivery: case studies for cancer and cardiovascular applications // Cell Mol. Life Sci. – 2012. – 69 (3). – P. 389–404.
10. Guo Z.R., Gu C.R., Fan X. Fabrication of anti-human cardiac troponin I immunogold nanorods for sensing acute myocardial damage // Nanoscale Res. Lett. – 2009. – No. 4. – 1428–1433.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА ДЛЯ ЦЕЛЕВОЙ ДОСТАВКИ КАРДИОТРОПНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Мохнатий С.И., Воробьева А.М., Ступина А.С., Резниченко Л.С., Грузина Т.Г., Жовнир В.А., Емец И. Н.

В эксперименте при моделировании сердечной недостаточности у крыс показана перспективность использования наночастиц золота в качестве агентов для целевой доставки кардиотропных препаратов.

Ключевые слова: *наночастицы золота, модель сердечной недостаточности.*

THE USE OF GOLD NANOPARTICLES FOR TARGETTED CARDIOTROPIC DRUGS DELIVERY

Mokhnatiy S.I., Vorobyeva G.M., Stupina A.S., Rieznicenko L.S., Gruzina T.G., Zhovnir V.A., Yemets I.M.

In the experiment in modeling of heart failure in rats shows promising use of gold nanoparticles as agents for targeted delivery of drugs cardiotropic.

Key words: *gold nanoparticles, the model of heart failure.*