

© Группа авторов, 2013

УДК 546.23:669.15;615.032;615.038

Установление кинетических характеристик трансплацентарного переноса укороченных окисленных одностенных углеродных нанотрубок при внутривенном, пероральном и эндотрахеальном поступлении в организм крыс

Алдобаев В. Н.¹, Ерёменко Л. А.¹, Мазанова А. А.¹, Бикетова Д. Х.¹,
Ковалёва Е. В.¹, Дядищев Н. Р.¹, Рыбалкин С. П.¹, Квачёва Л. Д.², Бадун Г. А.³,
Червонобродов С. П.⁴, Мурадян В. Е.⁵, Масликов А. А.⁶

¹ ФГБУН «Научно-исследовательский институт токсикологии и гигиенической регламентации биопрепаратов ФМБА России», г. Серпухов, Московская область

² Институт элементоорганических соединений РАН, г. Москва

³ Химический факультет, МГУ имени М. В. Ломоносова, г. Москва

⁴ ООО «Карбонлайт»

⁵ Институт проблем химической физики РАН, пос. Черноголовка Московской области

⁶ Международный Университет природы, общества и человека «Дубна», филиал «Протвино», Московская область

В статье изложены результаты исследования распределения и оценка основных фармакокинетических параметров укороченных окисленных одностенных углеродных нанотрубок (УОУНТ–COOH) при трансплацентарном переносе от материнского организма плоду на поздних стадиях эмбриогенеза.

Ключевые слова: одностенные углеродные нанотрубки, трансплацентарный перенос, эмбриогенез.

The article deals with research of distribution and assessment of main pharmacokinetic parameters of the truncated oxidized one-wall carbon nanotubes (TOOWNT–COOH) at fetal-maternal exchange at late stages of embryogenesis.

Keywords: one-wall carbon nanotubes, fetal-maternal exchange, embryogenesis.

Введение

Развитие нанотехнологий и их внедрение в различные производства существенно опережает знания в области токсикологии наноматериалов, а также рисков для здоровья человека, связанных с применением нанотехнологий.

Проведённые многочисленные эксперименты чётко указывают на то, что благодаря своим ма-

лым размерам наночастицы могут преодолевать биологические барьеры, попадая внутрь клеток макроорганизмов. Есть данные о проникновении наночастиц через кожные покровы, преодолении барьера желудочно-кишечного тракта, гемато-энцефалического, гемато-ликворного и других биологических барьеров.

На сегодняшний день отсутствуют опубликованные данные, касающиеся проницаемости плацентарного барьера млекопитающих для на-

Контакты: 142253, Московская область, Серпуховский район, о/с Дашковка, ул. Ленина, д. 102А.

ночастиц определённого типа. При этом кажется очевидной возможность преодоления плаценты столь малыми частицами. Результатом такого проникновения может стать как прямое токсическое воздействие на плод, проявляющееся тератогенным и эмбриотоксическим действием у потомства в первом поколении, так и возможные отдалённые последствия. Именно поэтому исследования в этом направлении являются важным аспектом проведения комплексной токсикологической оценки конкретных наноматериалов.

Одним из наиболее востребованных видов современных наноматериалов являются наноструктурированные формы углерода, а именно углеродные нанотрубки. Многим исследователям в области фармакологии одностенные углеродные нанотрубки (ОУНТ) представляются одним из удачных решений для создания универсальной транспортной системы доставки лекарственных средств с широкой перспективой использования их в наномедицине.

Поэтому задача всесторонней токсикологической оценки ОУНТ приобретает сегодня особую актуальность. Кроме того, важной является оценка токсичности промежуточных продуктов и санитарно-гигиеническое нормирование условий производства ОУНТ.

В данной статье изложены результаты исследования распределения и оценка основных фармакокинетических параметров укороченных окисленных одностенных углеродных нанотрубок (УОУНТ–СООН) при трансплацентарном переносе от материнского организма плоду на поздних стадиях эмбриогенеза. Проведённые работы являются частью программы комплексной токсикологической оценки ряда основных продуктов электродугового производства ОУНТ в соответствии с [6].

Материалы и методы исследований

ОУНТ отечественного производства для исследований были на контрактной основе представлены ООО «Карбонлайт».

Укороченные окисленные одностенные углеродные нанотрубки получали из так называемых длинных окисленных одностенных углеродных нанотрубок ОУНТ–СООН, имеющих следующие характеристики: диаметр ОУНТ–СООН – 0,9–1,5 нм; длина – 0,5–3 микрон; степень очистки – 80–85 % по углероду (рис. 1), 1–2 % по металлам; в сухом виде ОУНТ–СООН агрегированы в пучки диаметром 20–50 нм; по данным термогравиметрического анализа (ТГА) температура горения ОУНТ–СООН в атмосфере воздуха составляет

Многим исследователям в области фармакологии одностенные углеродные нанотрубки (ОУНТ) представляются одним из удачных решений для создания универсальной транспортной системы доставки лекарственных средств с широкой перспективой использования их в наномедицине.

600–750 °С; на графеновой поверхности и фуллереновых полусферах имеются атомы углерода, несущие гидроксильные и карбоксильные группы, количество «дефектных» атомов $\leq 5\%$ от общего количества структурообразующих атомов углерода; метод синтеза – электродуговой, с использованием никеля и иттрия в качестве катализаторов; методы очистки – обработка кислотами и высокотемпературный отжиг на воздухе.

Для получения УОУНТ–СООН с длиной ≤ 500 нм использовали процедуру ультразвуковой резки ОУНТ–СООН по следующей методике. ОУНТ–СООН суспендировали в смеси концентрированных H_2SO_4/HNO_3 (3/1) и обрабатывали на ультразвуковой ванне в течение 4 ч при температуре 70 °С. Результирующую суспензию затем разбавляли водой и центрифугировали при 6000 об/мин. Нарезанные УОУНТ далее обрабатывали смесью концентрированной H_2SO_4 и 30 % H_2O_2 (4:1), перемешивая в течение 1 ч при 70 °С. Суспензию разбавляли водой, центрифугировали и отфильтровали на фильтре с порами 0,45 мкм. Далее проводили процедуру отжига, как это было описано выше для продукта ОУНТ.

На рис. 1 приведены три микрофотографии «нарезанных» УОУНТ–СООН, полученные методом просвечивающей электронной микроскопии (ТЕМ) с различным разрешением.

На рис. 2 представлены результаты термогравиметрического анализа УОУНТ–СООН. Форма кривых ТГ и ДТГ свидетельствует об отсутствии в образце аморфного углерода, который сгорает при более низких температурах нагрева. Образец УОУНТ–СООН демонстрирует в данном случае высокую устойчивость к окислению и отсутствие значительного числа нанотрубок малого диаметра (0,8–1 нм) и «дефектных» нанотрубок.

Для изучения трансплацентарного переноса и оценки основных фармакокинетических параметров на животных тест-системах отработали условия включения 3H -метки в ОУНТ. Радиоактивную метку включали в препараты методом термической активации [7]. Использовали низкое давление газообразного трития в реакци-

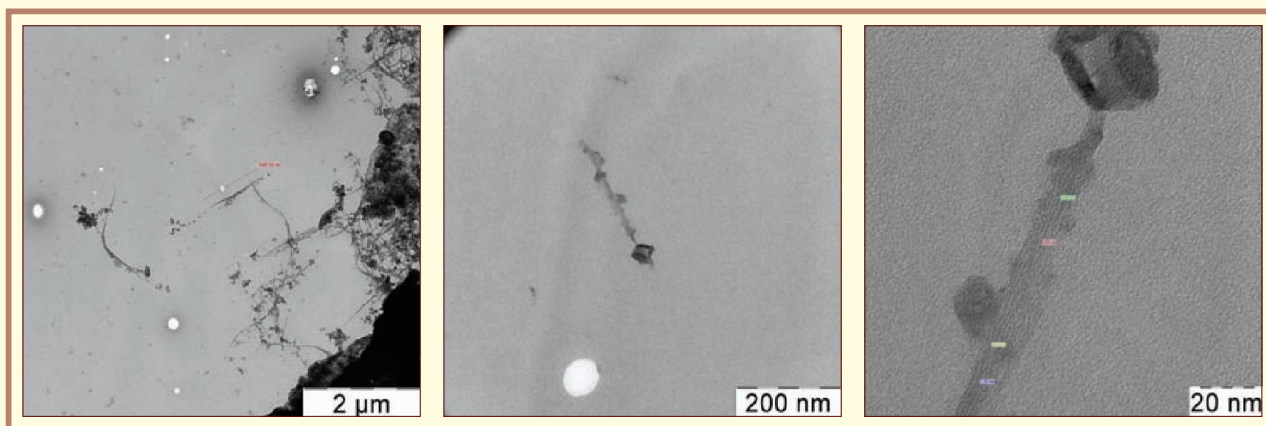


Рис. 1. Микрофотографии образца УОУНТ–СООН, 80–85 % чистоты

онной камере, для его атомизации температура вольфрамовой проволоки составляла 2000 К. Атомы ^3H достигали ОУНТ, находящихся на стенках реакционной камеры, без потери энергии за счёт столкновений с молекулами газа и вступали в реакции замещения и гидрирования.

После введения радиоактивной метки препараты ОУНТ многократно промывали 80 % этанолом, затем метанолом и ацетоном. Промывку продолжали до тех пор, пока радиоактивность раствора после центрифугирования меченого препарата одностенных УНТ, выдержанного в растворителе 1 сут., не превышала 1 % от общей радиоактивности препарата. В результате ^3H из лабильных положений (гидроксильные и карбоксильные группы) количественно удалялся, и оставшаяся в препарате радиоактивность относилась к ^3H , связанному непосредственно с углеродом.

Истинная удельная активность полученного таким способом меченого препарата, определяемая при полном разложении, составляла для ^3H -УОУНТ–СООН – 2,1 мКи/мг.

Количественное определение препарата ^3H -УОУНТ–СООН в тканях подопытных животных проводили с учётом оценки уровней сцинтилляции минерализатов биологических образцов.

В качестве оптимальных условий минерализации с точки зрения скорости растворения биологических образцов и последующего гашения сцинтилляции выбрали следующие: минерализация в трёхмолярном растворе гидроксида калия, соотношение биологических образцов 50–150 мг образца / 2 мл раствора гидроксида калия, выдерживание в стеклянных пробирках на кипящей водяной бане при 92–95 °С в течение 40 мин до полного растворения образцов, в случае цельной крови или образцов тканей с высоким содержанием крови – добавка к щелочному раствору 0,05 мл 50 % перекиси водорода.

После нагревания на водяной бане пробирки охлаждали до комнатной температуры и автоматической пипеткой переносили из них аликвоты минерализатов 0,2 мл в сцинтилляционные флаконы с 10 мл сцинтилляционной жидкости «Optiphase HiSafe». Измерение уровня сцинтилляции проводили на жидкостном β , γ -счётчике «THRIATHLER».

Для последующего количественного определения меченых препаратов УОУНТ–СООН в минерализатах тканей экспериментальных животных строили градуировочные характеристики зависимости уровня сцинтилляции от количества ^3H -УОУНТ–СООН в сцинтилляционном флаконе в условиях добавки 0,2 мл щелочных минерализатов крови и тканей основных внутренних органов, взятых у интактных крыс. Тесты на параллельность и равенство свободных членов линейных регрессий с использованием обобщённого дисперсионного анализа на основе критерия Фишера показали, что параметры линейных регрессий, построенных на минерализатах цельной крови и основных внутренних органов, отличались между собой при уровне значимости 0,05. Поэтому в данной работе использовали различные линейные регрессии.

Диапазон линейности находился в пределах 350/500–2,6/4,8 $\times 10^5$ актов сцинтилляции/мин в зависимости от вида минерализата.

При построении градуировочных характеристик и позже, при введении животным в качестве неионогенного ПАВ для получения стабильных водных суспензии ^3H -УОУНТ–СООН, использовали проксанол-268 – стабилизирующий компонент кровезаменителя «Перфторан» [8].

Суспензии ^3H -УОУНТ–СООН 3 мг/мл готовили в 4 % w/v проксаноле-268. Для стабилизации в суспензии погружали стержень излучателя ультразвукового диспергатора Ultrasonic Processor «Cole Parmer», и проводили обработ-

ку ультразвуком в течение 30 мин при выходной мощности излучателя 600 Вт при внешнем охлаждении ёмкости с суспензиями в ванночке со льдом. Полученные в результате стабилизированные суспензии служили исходными растворами для приготовления серий разбавленных калибровочных суспензий ^3H -УОУНТ-СООН в 4 % w/v проксаноле-268 и для введения экспериментальным животным. Условия стабилизации суспензий выбрали с учётом рекомендаций поставщика наноматериалов (ООО «Карбонлайт»).

Был проведён эксперимент по оценке трансплацентарного переноса укороченных одностенных окисленных углеродных нанотрубок (УОУНТ-СООН) при внутривенном поступлении в организм матери. В ходе эксперимента устанавливались распределение и основные кинетические характеристики изменения концентраций ^3H -УОУНТ-СООН в основных органах и тканях материнского организма и плода.

Животные поступали из филиала «Андреевка» Научного центра биомедицинских технологий РАМН (НЦБМТ РАМН) в возрасте шести недель и массой 160–180 г. Крысы содержались в стандартных условиях вивария, на рационе, соответствующем действующим нормам (Приказ Минздрава СССР № 1179 от 14.10.83 года «Об утверждении нормативов затрат кормов для лабораторных животных в учреждениях здравоохранения»).

Введению суспензий ^3H -УОУНТ-СООН/ ^3H -УОУНТ-СООН предшествовали плановые процедуры контролируемого спаривания для получения крыс с известным сроком беременности. В эксперименте использовали 24 беременных самок беспородных крыс. На каждую временную точку приходилось по три животных. Все животные находились на 18–20 дне беременности к моменту вскрытия.

Введение суспензий ^3H -УОУНТ-СООН приходилось на разные дни третьего триместра беременности, и период между введением и вскрытием составлял от 1 до 6 сут. После вскрытия для анализа брали образцы соответствующих органов и тканей матери и плода. Исключение составляли две группы животных, представленные суммарно шестью особями, у которых период с момента введения суспензии ^3H -УОУНТ-СООН до момента вскрытия составлял 18 и 30 сут. Эти животные давали потомство в положенные сроки и после вскрытия для анализа отбирали только образцы соответствующих органов и тканей матери.

После определения разброса весов экспериментальных животных создавались подопытные

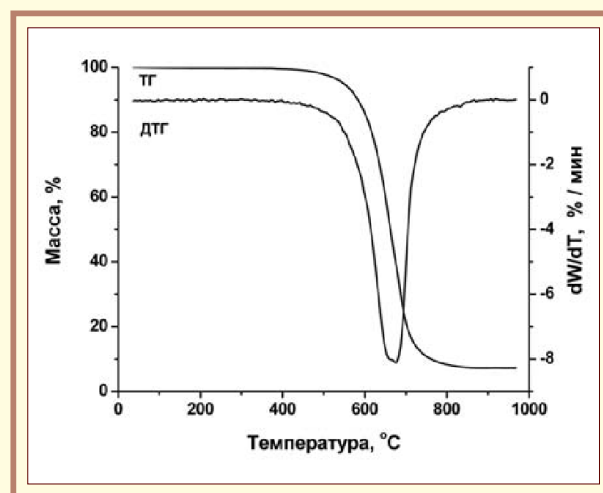


Рис. 2. Диаграмма, полученная при термогравиметрическом анализе на приборе STA 409 Luxx фирмы «Netzsch» в потоке сухого воздуха 100 мл/мин при линейной скорости нагревания 10 °C /мин

группы, внутри каждой из которых весовое СКО не превышало 5 %. С учётом увеличения среднего веса для введения в экспериментальных группах готовилось соответствующее количество суспензий с переменной концентрацией с таким расчётом, чтобы в среднем в каждой группе доза ^3H -УОУНТ-СООН составляла 0,22 мг/кг.

Стабилизированные суспензии ^3H -УОУНТ-СООН крысам вводили внутривенно в указанной дозе.

Через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 18 и 30 сут. после внутривенного введения ^3H -УОУНТ-СООН животных умерщвляли путём цервикальной дислокации и вскрывали для отбора проб крови (из задней полый вены), головного мозга, лёгких, печени, почек, мышцы (бедро) и плаценты у самки, а также крови, лёгких, печени, почки, скелетной мышцы, головного мозга у нескольких плодов в случайном порядке. Вес проб определяли на весах второго класса с точностью до 0,1 мг. При отборе проб анатомическое строение органов (доли, сегменты и т.д.) не учитывали.

Данные по удельному содержанию ^3H -УОУНТ-СООН в образцах тканей материнского организма усреднялись с учётом повторности (три животных на временную точку), данные по содержанию ^3H -УОУНТ-СООН в образцах тканей плодов усреднялись с учётом повторности и количества исследованных плодов в одном материнском организме. Если исследовалось несколько плодов от одной матери, сначала производилось усреднение в пределах материнского организма и затем – усреднение с учётом общей трёхкратной повторности эксперимента.

Также был проведён эксперимент по оценке трансплацентарного переноса УОУНТ-СООН

Был проведён эксперимент по оценке трансплацентарного переноса укороченных одностенных окисленных углеродных нанотрубок при внутривенном поступлении в организм матери. В ходе эксперимента устанавливались распределение и основные кинетические характеристики изменения концентраций ^3H -УОУНТ-СООН в основных органах и тканях материнского организма и плода.

при эндотрахеальном поступлении в организм матери. В ходе эксперимента устанавливались распределения и основные кинетические характеристики изменения концентраций ^3H -УОУНТ-СООН в основных органах и тканях материнского организма и плода.

В эксперименте использовали 21 беременную самку беспородных крыс. На каждую временную точку приходилось по три животных. Все животные находились на 18–20 дне беременности к моменту вскрытия. Введение суспензии ^3H -УОУНТ-СООН приходилось на разные дни третьего триместра беременности, и период между введением и вскрытием составлял от 1 до 6 сут. После вскрытия у животных для анализа брали образцы соответствующих органов и тканей матери и плода.

После определения разброса массы тела пула экспериментальных животных создавались подопытные группы, внутри каждой из которых весовое СКО не превышало 5 %. С учётом увеличения среднего веса в экспериментальных группах для введения готовилось соответствующее количество суспензий с переменной концентрацией с таким расчётом, чтобы в среднем в каждой группе доза ^3H -УОУНТ-СООН составляла 0,44 мг/кг.

Суспензии ^3H -УОУНТ-СООН крысам вводили эндотрахеально в указанной дозе. Объём введения составлял 0,2 мл.

Через 6 ч, 1, 2, 3, 4, 5 и 6 сут. после эндотрахеального введения животных умерщвляли путём цервикальной дислокации и вскрывали для отбора проб крови (из задней полой вены), головного мозга, лёгких, печени, почек, мышцы (бедро) и плаценты у самки, а также крови, лёгких, печени, почки, скелетной мышцы, головного мозга у нескольких плодов в случайном порядке. Вес проб определяли на весах второго класса с точностью до 0,1 мг. При отборе проб анатомическое строение органов (доли, сегменты и т. д.) не учитывали.

Данные по содержанию ^3H -УОУНТ-СООН в образцах тканей материнского организма усреднялись с учётом повторности (три животных на временную точку), данные по содержанию ^3H -УОУНТ-СООН в образцах тканей плодов усреднялись с учётом повторности и количества исследованных плодов в одном материнском организме. (Если исследовалось несколько различных плодов у одного материнского организма, сначала производилось усреднение в пределах материнского организма и затем – усреднение с учётом общей трёхкратной повторности эксперимента).

Данные по содержанию ^3H -УОУНТ-СООН в тканях лабораторных животных, полученные в различные моменты времени после введения суспензий, обрабатывали специализированной программой для оценки фармакокинетических и токсикокинетических параметров – WINNONLIN NONLINEAR ESTIMATION PROGRAM Version 5.2 Build 200701231637 Core Version 19 Dec 2006.

Результаты и обсуждение

Ряд фармакокинетических параметров и их погрешностей, характеризующих степень трансплацентарного переноса ^3H -УОУНТ-СООН при в/в поступлении в материнский организм, представлен в табл. 1.

Из данных табл. 1 следует, что ^3H -УОУНТ-СООН преодолевали плацентарный барьер и регистрировались во всех исследованных тканях зародыша в описанных условиях эксперимента.

Судя по соотношению величин $AUC_{\text{кровь, плод}} / AUC_{\text{кровь, мать}}$, $AUC_{\text{кровь, плод}} / AUC_{\text{плацента}}$ и $C_{\text{макс, кровь, мать}} / C_{\text{макс, кровь, плод}}$, $C_{\text{макс, плацента}}$ ткань плаценты не являлась сколько-нибудь существенным фильтром для ^3H -УОУНТ-СООН, поскольку в ней не происходило относительного накопления активности, и она не обеспечивала большой разницы в величинах показателей $AUC_{\text{кровь, мать}} - AUC_{\text{кровь, плод}}$ и $C_{\text{макс, кровь, мать}} - C_{\text{макс, кровь, плод}}$.

Как было показано в более ранних исследованиях [9], основная часть введённого ^3H -УОУНТ-СООН сразу депонировалась в тканях печени, лёгких и селезёнки материнского организма. Это отчасти подтверждается большими величинами показателей: отношение $AUC_{\text{печень, мать}} / AUC_{\text{печень, плод}}$ и отношение $AUC_{\text{лёгкие, мать}} / AUC_{\text{лёгкие, плод}}$. После стадии быстрого депонирования начиналось медленное выведение ^3H -УОУНТ-СООН из материнского организма почками и через систему билиарной экскреции.

В этот период в ткани зародыша попадало только то небольшое количество ^3H -УОУНТ-СООН, которое циркулировало в кровотоке ма-

Таблица 1

Фармакокинетические параметры и их погрешности, характеризующие степень плацентарного переноса ^3H -УОУНТ-СООН при в/в поступлении

Органы и ткани	Параметры	Материнский организм	Плод
Кровь	AUC, сут·мкг/мл	0,23±0,02*	0,20±0,03
	C_{\max} , мкг/мл	0,04±0,003	0,03±0,0009
	$T_{1/2}$, сут	3,8±0,6	2,4±1,3
Лёгкие	AUC, сут·мкг/г	48,9±6,9	0,19±0,005
	C_{\max} , мкг/г	4,9±0,2	0,06±0,001
	$T_{1/2}$, сут	3,9±1,4	1,5±0,07
Печень	AUC, сут·мкг/г	190±45	0,16±0,04
	C_{\max} , мкг/г	3,4±0,1	0,02±0,001
	$T_{1/2}$, сут	39±10	0,6±0,2
Почки	AUC, сут·мкг/г	7,4±1,1	0,32±0,05
	C_{\max} , мкг/г	0,47±0,02	0,06±0,004
	$T_{1/2}$, сут	8,9±1,9	0,64±0,3
Головной мозг	AUC, сут·мкг/г	0,26±0,03	0,14±0,01
	C_{\max} , мкг/г	0,02±0,0009	0,03±0,001
	$T_{1/2}$, сут	6,8±1,3	0,86±0,38
Скелетные мышцы	AUC, сут·мкг/г	0,38±0,03	0,4±0,04
	C_{\max} , мкг/г	0,04±0,001	0,04±0,001
	$T_{1/2}$, сут	4,3±0,8	0,6±0,1
Плацента	AUC, сут·мкг/г	0,12±0,005	
	C_{\max} , мкг/г	0,03±0,0008	
	$T_{1/2}$, сут	1,3±0,5	

* – ± SD (стандартное среднее квадратическое отклонение, рассчитано программно)

тери. Отсюда – очень близкие к единице соотношения $AUC_{\text{кровь, мать}} / AUC_{\text{кровь, плод}}$; $C_{\max, \text{кровь, мать}} / C_{\max, \text{кровь, плод}}$.

С учётом вышесказанного вполне объяснимо, что распределение ^3H -УОУНТ-СООН по органам и тканям зародыша носило гораздо более равномерный характер, нежели распределение ^3H -УОУНТ-СООН по органам и тканям материнского организма. Отношение максимальной концентрации, зарегистрированной для набора исследованных органов и тканей, к минимальной (C_{\max}/C_{\min}) для материнского организма составляло 245, для плода – 30.

Исследованные органы и ткани плода можно было расположить в ряд по возрастанию в них пиковой концентрации ^3H -УОУНТ-СООН: головной мозг ≤ кровь ≤ скелетные мышцы ≤ лёгкие ≤ почки ≤ печень; по возрастанию величины AUC: головной мозг ≤ печень ≤ лёгкие ≤ кровь ≤ почки ≤ скелетные мышцы.

Исследованные органы и ткани материнского организма можно было расположить в ряд

по возрастанию в них пиковой концентрации ^3H -УОУНТ-СООН: головной мозг ≤ кровь ≤ скелетные мышцы ≤ почки ≤ печень ≤ лёгкие; по возрастанию величины AUC: кровь ≤ головной мозг ≤ скелетные мышцы ≤ почки ≤ лёгкие ≤ печень.

Ряд по возрастанию пиковой концентрации, который образуют органы и ткани плода, походил на ряд, образованный органами и тканями материнского организма. Исключением из этих рядов служила только ткань лёгких, что вероятно связано с особенностями кровоснабжения этой ткани у плода (лёгкие находятся в неактивном состоянии).

Ряд фармакокинетических параметров и их погрешностей, характеризующих степень трансплацентарного переноса ^3H -УОУНТ-СООН при эндотрахеальном поступлении в организм матери, представлен в табл. 2.

Из данных табл. 2 следует, что ^3H -УОУНТ-СООН преодолевали плацентарный барьер и регистрировались во всех исследованных тканях зародыша в описанных условиях эксперимен-

Таблица 2

Фармакокинетические параметры и их погрешности, характеризующие степень плацентарного переноса ³H–УОУНТ–СООН при эндотрахеальном поступлении

Органы и ткани	Параметры	Материнский организм	Плод
Кровь	AUC, сут•мкг/мл	0,25±0,02*	0,13±0,02
	C _{max} , мкг/мл	0,04±0,001	0,02±0,0007
	T _{1/2} , сут	1,0±0,4	2,4±0,6
Лёгкие	AUC, сут•мкг/г	0,19±0,005	0,14±0,01
	C _{max} , мкг/г	0,06±0,001	0,02±0,0007
	T _{1/2} , сут	1,5±0,07	2,2±0,9
Печень	AUC, сут•мкг/г	0,2±0,006	0,16±0,04
	C _{max} , мкг/г	0,06±0,001	0,02±0,001
	T _{1/2} , сут	1,6±0,09	0,6±0,2
Почки	AUC, сут•мкг/г	0,2±0,009	0,13±0,02
	C _{max} , мкг/г	0,06±0,002	0,02±0,002
	T _{1/2} , сут	1,6±0,14	2,2±0,9
Головной мозг	AUC, сут•мкг/г	0,21±0,06	0,1±0,01
	C _{max} , мкг/г	0,07±0,002	0,02±0,0007
	T _{1/2} , сут	1,4±0,1	0,9±0,4
Скелетные мышцы	AUC, сут•мкг/г	0,22±0,009	0,2±0,02
	C _{max} , мкг/г	0,06±0,002	0,02±0,0006
	T _{1/2} , сут	1,6±0,1	4,3±0,8
Плацента	AUC, сут•мкг/г	0,2±0,006	
	C _{max} , мкг/г	0,06±0,001	
	T _{1/2} , сут	1,7±0,09	

* – ± SD (стандартное среднеквадратическое отклонение, рассчитано программно)

та. Судя по соотношению величин $AUC_{\text{кровь, мать}} / AUC_{\text{кровь, плод}} / AUC_{\text{плацента}}$ и $C_{\text{max, кровь, мать}} / C_{\text{max, кровь, плод}} / C_{\text{max, плацента}}$ ткань плаценты не являлась существенным барьером для ³H–УОУНТ–СООН, поскольку в ней не происходило относительного накопления активности и поскольку она не обеспечивала большой разницы в величинах показателей $AUC_{\text{кровь, мать}} - AUC_{\text{кровь, плод}}$ и $C_{\text{max, кровь, мать}} - C_{\text{max, кровь, плод}}$.

В отличие от внутривенного способа введения при эндотрахеальном способе ³H–УОУНТ–СООН распределялись по исследованным органам в организме матери и плода равномерно. Отношение максимальной концентрации, зарегистрированной для набора исследованных органов и тканей, к минимальной ($C_{\text{max}}/C_{\text{min}}$) для материнского организма составляло 5, для плода – 1.

Это было связано с относительно низкой биодоступностью ³H–УОУНТ–СООН. Учитывая то обстоятельство, что в случае э/т введения доза была в два раза больше, чем в случае в/в вве-

дения, а также допуская линейную зависимость между величинами AUC и D в исследуемом диапазоне доз, для материнского организма показатель f_{abs} был равен 50 %, а показатели f_{tis} – 40; 29; 1,4; 0,2 и 0,05 % для тканей головного мозга, скелетных мышц, почек, лёгких и печени, соответственно.

Как и в случае в/в введения в ткани плода попадало только то количество ³H–УОУНТ–СООН, которое циркулировало в кровотоке матери. Отсюда – очень близкие к единице соотношения $AUC_{\text{кровь, мать}} / AUC_{\text{кровь, плод}}; C_{\text{max, кровь, мать}} / C_{\text{max, кровь, плод}}$.

Как было показано в более ранних исследованиях [9], основная часть введённых в/в ³H–УОУНТ–СООН сразу депонировалась в тканях печени, лёгких и селезёнки (основные органы-накопители) материнского организма. После стадии быстрого депонирования начиналось медленное выведение ³H–УОУНТ–СООН почками и через систему билиарной экскреции.

Таким образом, самую низкую тканевую биодоступность (0,2–0,05 %) при э/т введении де-

монстрировали как раз органы-накопители, в которых в течение короткого промежутка времени после в/в введения задерживалось основное количество ^3H -УОУНТ-СООН.

Для всех исследованных органов и тканей наблюдалось закономерное уменьшение величин параметров AUC в направлении $\text{AUC}_{\text{IV}} \rightarrow \text{AUC}_{\text{IT}}$, что было связано в случае материнского организма с уменьшением величин C_{max} и $T_{1/2}$, а в случае плода – только с уменьшением величин C_{max} .

Эти эффекты, в свою очередь, предположительно были связаны также с уменьшением эффективной дозы ^3H -УОУНТ-СООН.

Исследованные органы у плода можно было расположить в ряд по возрастанию в их тканях параметра AUC: головной мозг \leq почки \leq кровь \leq лёгкие \leq печень \leq скелетные мышцы.

Исследованные органы материнского организма можно было расположить в ряд по возрастанию в их тканях параметра AUC: лёгкие \leq печень \leq почки \leq головной мозг \leq скелетные мышцы \leq кровь.

При внутрижелудочном введении суспензий ^3H -УОУНТ-СООН в дозе, эквивалентной той, которые получали экспериментальные животные при э/т введении, во всех исследованных органах и тканях плода в различные моменты времени регистрировались уровни активности, превышающие фоновые в 2–4 раза. Распределение и уровни накопления ^3H -УОУНТ-СООН при однократном в/ж введении в органах и тканях материнского организма соответствовали данным, полученным в 2008–2009 г. в рамках [9].

По полученным уровням активности для плода не представлялось возможным достоверно оценить удельное содержание ^3H -УОУНТ-СООН в органах и тканях и тем более построить по этим данным фармакокинетические кривые с последующим расчётом кинетических параметров и их погрешностей.

Выводы

1. Впервые были изучены распределения по органам и тканям материнского организма и плода, а также получены основные фармакокинетические параметры для УОУНТ-СООН в экспериментах на беременных крысах при внутривенном, внутрижелудочном и эндотрахеальном способах введения.

2. Было установлено, что УОУНТ-СООН легко преодолевают плацентарный барьер при парентеральном и эндотрахеальном введении и сравнительно равномерно распределяются между тканями и успевшими сформироваться органами плода. В случае внутрижелудочного введения малых доз не удалось установить кинетических параметров равновесия УОУНТ-СООН между тканями материнского организма и плода, что, вероятно, обусловлено низкой биодоступностью исследуемого наноматериала.

3. Было установлено, что ОУНТ-СООН не преодолевают плацентарный барьер при парентеральном, эндотрахеальном и внутрижелудочном введении, и это связано с низкой проницаемостью плацентарного барьера для этого вида наноматериалов.

Литература

1. Grubek-Jaworska H., Nejman P., Czuminska K., et al. Preliminary results on the pathogenic effects of intratracheal exposure to one-dimensional nanocarbons // *Carbon* 44, 2006. – P. 1057–1063.
2. Monteiro-Riviere N. A., Inman A. O. Challenges for assessing carbon nanomaterial toxicity to the skin // *Carbon* 44, 2006. – P. 1070–1078.
3. Muller J., Huaux F., Lison D. Respiratory toxicity of carbon nanotubes: How worried should we be? // *Carbon* 44, 2006. – P. 1048–1056.
4. Smart S. K., Cassady A. I., Lu G. Q., Martin D. J. The biocompatibility of carbon nanotubes // *Carbon* 44, 2006. – P. 1034–1047.
5. Wang H., Wang J., Deng X., et al. Biodistribution of carbon single-wall nanotubes in mice // *J. Nanoscience and Nanotechnology*, 2004, Vol. 4, N 8. – P. 1019–1024.
6. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Р. У. Хабриева. – 2-е изд. перераб. и доп. – М.: Медицина, 2005. – С. 41–54.
7. Алдобаев В. Н., Еременко Л. А., Мазанова А. А. и др. Изучение распределения, экскреции и оценка основных фармакокинетических параметров одностенных углеродных нанотрубок (ОУНТ) в организме мелких лабораторных животных при различных способах введения // *Сборник тезисов докладов научно-технологических сессий Международного форума по нанотехнологиям «Rusnanotech'08»*. – Москва, 2008, т. 2. – С. 314–315.
8. Иваницкий Г. Р., Воробьев С. И. Кровезаменитель «Перфторан» // *Вестник РАН*, 1997, Т. 67, № 11. – С. 998–1013.
9. Заключительный отчёт по Государственному контракту № 26.002.08.0 «Токсикологические исследования наноструктурированного углерода в форме углеродных нанотрубок».