

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра оптики и биофотоники

**Разработка методики диагностирования болезни Крона с
помощью гибридных наночастиц**

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

Студента(ки) 2 курса 2224 группы

направления (специальности) 03.04.02 «Физика»

Института физики

Григорьевой Зои Александровны

Научный руководитель
Доцент, к.ф.-м.н.

21.06.23

И.Ю. Янина

Зав. кафедрой оптики и биофотоники
профессор, д.ф.-м.н.,
чл.-корр. РАН

21.06.23

В.В. Тучин

Саратов 2023 год

Введение

Болезнь Крона представляет собой рецидивирующее воспалительное заболевание желудочно-кишечного тракта, при котором поражаются все его отделы. Воспалительный процесс проходит в терминальном отделе подвздошной кишки и толстой кишке [1]. Патогенез заболевания сложен и состоит из трех взаимодействующих элементов: факторов генетической предрасположенности, измененной микробиоты кишечника и иммуноопосредованного повреждения тканей [2].

Своевременная диагностика болезни Крона затруднена, что обусловлено неспецифичностью симптоматики и наличием ряда заболеваний, схожих с болезнью Крона. Симптоматика болезни Крона сходна с язвенным колитом кишечника, острым аппендицитом с местным перитонитом, ишемической болезнью толстой кишки [9]. Таким образом, значимость поиска путей диагностирования болезни Крона обусловлена не только развитием лечения, но и возможностью однозначно определить ее симптомы в сравнении с другими болезнями.

В данной работе предложен новый подход к диагностике болезни Крона с помощью ферромагнитных наночастиц (НЧ) Fe_3O_4 . Основная идея заключается в следующем. После введения гибридных наночастиц $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$ перорально мышам двух групп (здоровым и больным) теоретически возможно проникновение частиц в стенки кишечника больных мышей, т.к. болезнь Крона характеризуется увеличением межклеточного расстояния в стенках кишечника [3]. В данном исследовании был использован эксперимент, в котором мыши были разделены на подгруппы в зависимости от диаметра вводимых НЧ Fe_3O_4 , которые использовались для оценки размеров межклеточного расстояния в стенке кишечника. Поэтому, если сравнить количество НЧ в образцах кала, печени и крови здоровых и больных мышей, и при этом оно будет меньше для мышей с имитацией болезни Крона, это даст повод полагать, что при данном диагнозе НЧ проникают в промежутки межклеточного расстояния стенок кишечника.

Таким образом, количественный анализ содержания НЧ в кале и в других органах мышей, таких как печень, а также в крови, может являться подходящим инструментом диагностики болезни Крона.

Целью данной работы по разработке диагностики болезни Крона является исследование и оценка механизмов проникновения НЧ $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$ в кал, печень, кровь мышей.

Для достижения поставленной цели должны быть выполнены следующие **задачи**:

1. Исследовать магнитные свойства образцов кала, печени, крови мышей с наличием или без гибридных НЧ $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$ структуры «гантель»;
2. На основе экспериментальных данных провести сравнительный анализ магнитных свойств образцов и установить метаболическое время вывода НЧ в образцах кала, печени и крови мышей;
3. Провести сравнительный анализ содержания НЧ в образцах кала, печени и крови здоровых и больных мышей.

ВКР имеет следующую **структуру**:

1. **Первая глава** магистерской работы посвящена литературному обзору существующих методов диагностики болезни Крона. В главе проведен сравнительный анализ имеющихся методик, их достоинств и недостатков. Также приведено описание метаболического пути НЧ в организме мышей.

2. **Вторая глава** посвящена описанию образцов и методики эксперимента. А именно, магнитных и морфоструктурных свойства образцов НЧ с составом $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$. Была подробно описана методика эксперимента и его этапы с описанием биологической части и исследований магнитных свойств образцов с помощью метода вибрационной магнитометрии.

3. **В третьей главе** приведены результаты исследования магнитных свойств образцов дегидрированного стула, печени и крови больных и здоровых мышей.

В заключении сформулированы основные результаты работы.

Основное содержание работы

В работе использовались мыши дикого типа. Группа лабораторных животных была разделена на: группу здоровых мышей и группу мышей с кишечными инфекциями, имитирующими симптомы болезни Крона. Мыши обоих видов получали раствор НЧ $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$ в концентрации 200 мкг/мл через пищевод. Использовались три типа НЧ в зависимости от диаметра Fe_3O_4 $d = 5$ нм, 15 нм и 25 нм.

На первом этапе эксперимента, мыши обоих видов получили раствор НЧ $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$ в концентрации 200 мкг/мл через пищевод. Контрольная и больная группы были предварительно разделены на три подгруппы, в зависимости от диаметра ферромагнитной составляющей введенных НЧ - $d(\text{Fe}_3\text{O}_4) = 5, 15, 25$ нм.

На втором этапе эксперимента у обеих групп были взяты образцы кала в различное время после введения дозы НЧ: через 0 часов, 8 часов и 24 часа.

В данной работе были исследованы кривые перемангничивания образцов дегидрированного стула, крови и печени лабораторных животных помощью метода вибрационной магнитометрии.

На рисунке 1 показаны зависимости магнитного момента от величины напряженности магнитного поля для контрольного образца мыши, обозначенного как CTR1, при времени взятия образца 0, 8 и 24 часа.

Из графика видно, что сигнал соответствует диамагнитному поведению образцов, что свойственно для тканей животных, диамагнитная восприимчивость которых порядка $-10 \cdot 10^{-6}$ [4].

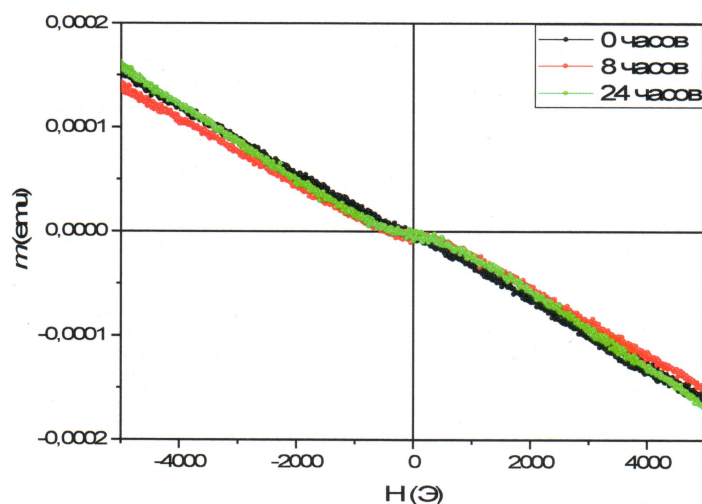


Рисунок 1 – Кривые перемагничивания для образца CTR1.

На рисунке 2 показаны зависимости магнитных моментов образцов дегидрированного стула от величины напряженности приложенного магнитного поля для CTR3 - здоровой мыши, получившей дозу гибридных наночастиц $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$ с диаметром ферромагнитной составляющей $d=5$ нм.

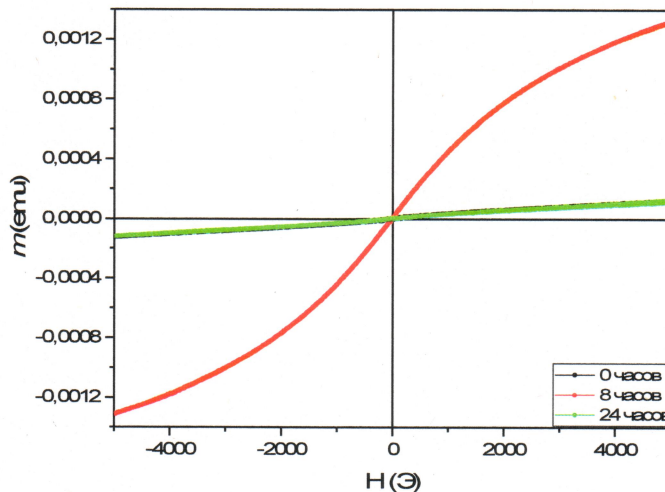


Рисунок 2 – Кривая перемагничивания для образца CTR3, полученного спустя 0, 8 и 24 часа.

Как видно из рисунка 2, все петли гистерезиса демонстрируют ферромагнитный отклик, что означает некое присутствие НЧ в образцах. Однако для образца, полученного спустя 8 часов после введения НЧ, абсолютная величина магнитного момента насыщения на порядок выше. По

сравнению с образцом, взятым спустя 8 ч, сигналы от образцов, полученных спустя 0 и 24 часа, достаточно малы, что отражает незначительное содержание гибридных НЧ $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$.

На рисунке 3 показана зависимость магнитного момента образца мыши CTR5 от величины напряженности магнитного поля. Эта мышь получила дозу гибридных НЧ $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$ с диаметром ферромагнитной составляющей $d=15$ нм. Как показывает рисунок, наибольший момент насыщения наблюдается для НЧ из образца, полученного спустя 24 ч после введения НЧ. Для НЧ из образцов этой же мыши при времени взятия образцов 0 и 8 часов характерно более линейное поведение с большим наклоном петли гистерезиса, чем при 24 ч. Таким образом, можно говорить о возможном содержании НЧ и в этих двух образцах, однако, в гораздо меньшем количестве, чем в образце, полученном спустя 24 ч после введения НЧ.

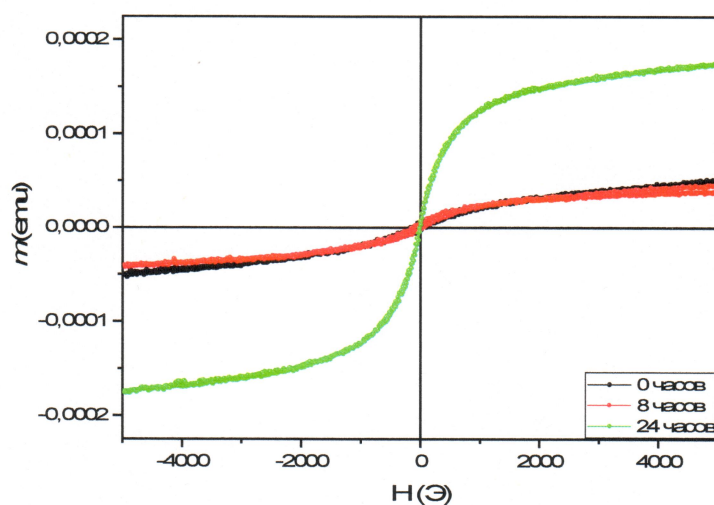


Рисунок 3 – Кривые перемангничивания для образца CTR5..

На рисунке 4 представлена зависимость магнитного момента образца CTR8 от напряженности приложенного магнитного поля. CTR8 - здоровая мышь, получившая дозу гибридных НЧ $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$ с диаметром ферромагнитной составляющей $d=25$ нм. Из представленных данных можно сделать вывод, что сигнал для образца, полученный спустя 8 часов, проявляет достаточно линейный отклик, по сравнению с частицами из других образцов, что свидетельствует о малом содержании либо отсутствии НЧ в

образце мыши CTR8. Для образцов, полученных спустя 0 и 24 часа после введения НЧ, наблюдаются петли гистерезиса с коэрцитивными силами 60 и 75 Э соответственно, что свидетельствует о наличии НЧ в образцах. Для данного образца затруднительно установить однозначное время вывода НЧ в наибольшем количестве.

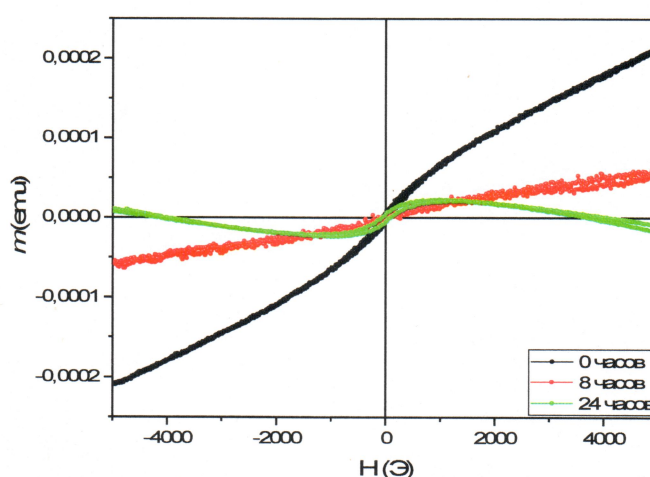


Рисунок 4 – Кривые перемангничивания для образца CTR8.

Таким образом, можно отметить, что частицы с наименьшим используемым диаметром $d=5$ нм ферромагнитной части выводятся быстрее (спустя 8 часов), чем НЧ (спустя 24 часа) с диаметрами 15 и 25 нм.

На рисунке 5 показаны кривые перемангничивания, анализируя которые, можно сделать вывод, что гибридные НЧ $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$ наблюдаются в кале больных мышей.

Далее, НЧ в остальных образцах больных мышей демонстрируют ферромагнитный отклик на изменения напряженности магнитного поля. Для образца с НЧ с диаметром $d=5$ нм кривые перемангничивания примерно одинаковы, с небольшим ферромагнитным вкладом. Петли гистерезиса для образцов с диаметром $d=25$ несильно отличаются, а именно в то время как для больной мыши MRI M5 ферромагнитный отклик очень слабый (бирюзовая кривая), для мыши MRI M6 образец демонстрирует наибольший для больных мышей ферромагнитный отклик.

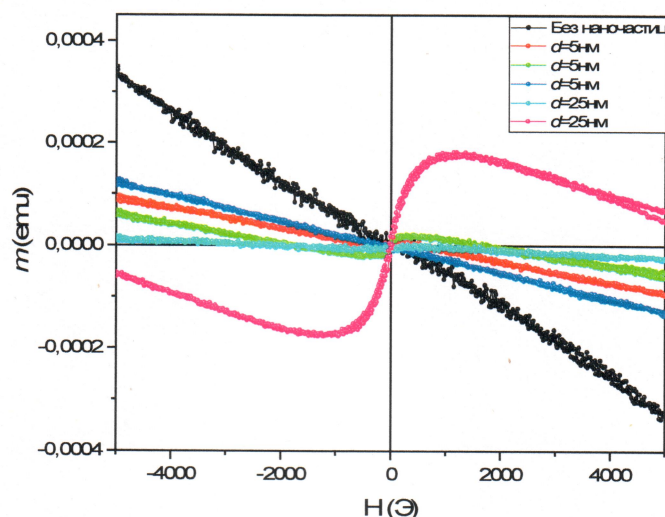


Рисунок 5 – Кривые перемангничивания для образцов больных мышей

Таким образом, экспериментальные данные свидетельствуют о том, что в образцах кала, полученных от мышей с имитацией болезни Крона так же, как и для образцов, полученных от здоровых мышей, присутствуют НЧ. Вероятно, присутствие НЧ в наибольшем количестве спустя 24 ч после введения НЧ соответствует образцу кала, полученному от мыши, получившей НЧ с диаметром ферромагнитной части в 25 нм.

На рисунке 6 представлена зависимость магнитного момента образцов печени от здоровых мышей от величины напряженности приложенного магнитного поля. Образцы печени мышей, которым ввели раствор НЧ, демонстрируют диамагнитное поведение, в отличие от образца печени без НЧ. На данный момент сделать однозначный вывод о том, почему образец печени от мыши, не получившей дозу НЧ, демонстрирует парамагнитное поведение, нельзя, однако, по данным некоторых статей, это может быть обусловлено особенностями непосредственно тканями печени, а именно содержанием железа в них.

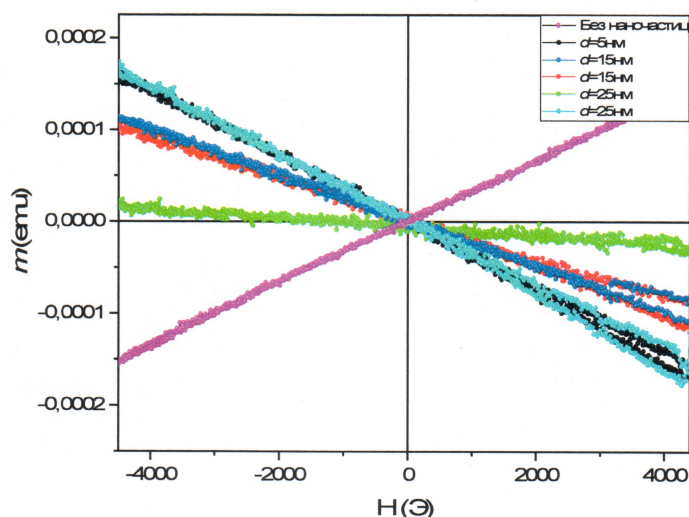


Рисунок 6 – Кривая перемангничивания для образцов печени здоровых мышей.

На рисунке 7 представлена зависимость магнитного момента образцов печени больных мышей от величины напряженности приложенного магнитного поля. Наблюдаемые мыши также были разделены на группы в зависимости от диаметра ферромагнитной составляющей: $d=5$ нм, 15 нм или 25 нм. В качестве контроля был выбран образец печени больной мыши, не получившую дозу НЧ. В целом можно сказать, что все кривые свидетельствуют об отсутствии НЧ в образцах печени в силу отсутствия какого-то бы ни было ферромагнитного отклика от образцов.

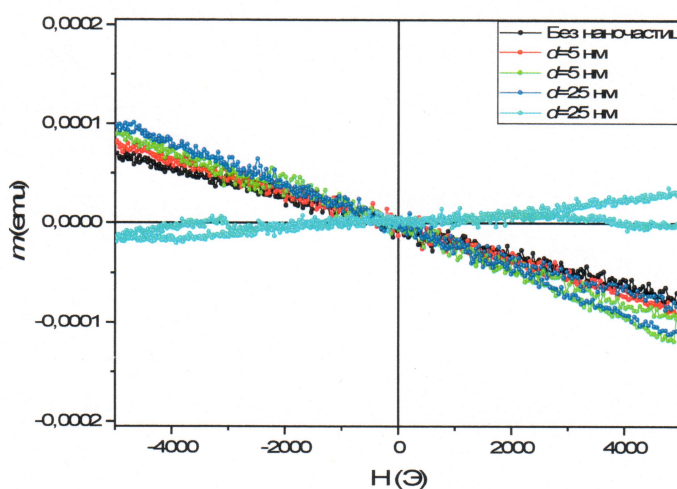


Рисунок 7— Кривая перемангничивания для образцов печени больных мышей.

Таким образом, можно заключить, что в образцах печени как здоровых,

так и мышей с имитацией болезни Крона, НЧ обнаружено не было.

На рисунке 8 представлена зависимость магнитного момента наночастиц образцов крови здоровых мышей от величины напряженности приложенного магнитного поля. Все образцы крови мышей демонстрируют диамагнитное поведение без видимого ферромагнитного вклада. Анализируя полученные данные, можно сделать вывод об отсутствии НЧ в данных образцах.

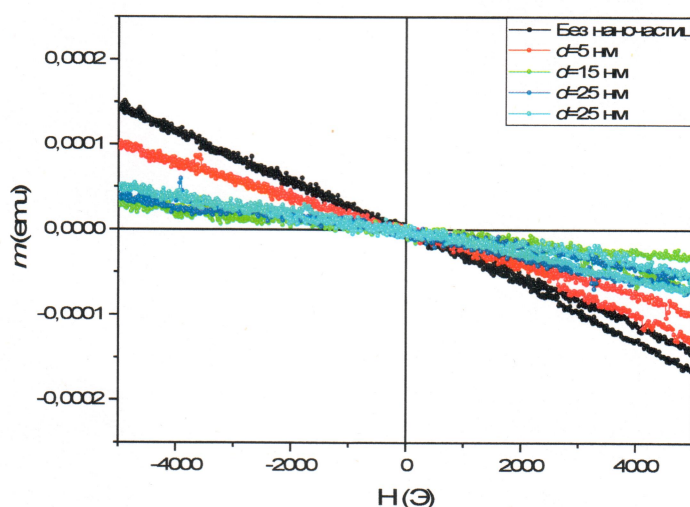


Рисунок 8— Кривая перемангничивания для образцов крови здоровых мышей.

На рисунке 9 представлена зависимость магнитного момента НЧ образцов крови больных мышей от величины напряженности приложенного магнитного поля. Наблюдаемые мыши были также разделены на группы в зависимости от диаметра ферромагнитной составляющей: $d=5$ нм, 15 нм или 25 нм. В качестве контроля был выбран образец крови больной мыши, не получившую дозу НЧ. Кривые от образцов крови от мышей, не получивших НЧ, также, как и от образца крови от одной из мышей, получивших с диаметром ферромагнитной части в 5 нм, демонстрируют полностью диамагнитное поведение. Таким образом, для данных образцов присутствие НЧ не наблюдается.

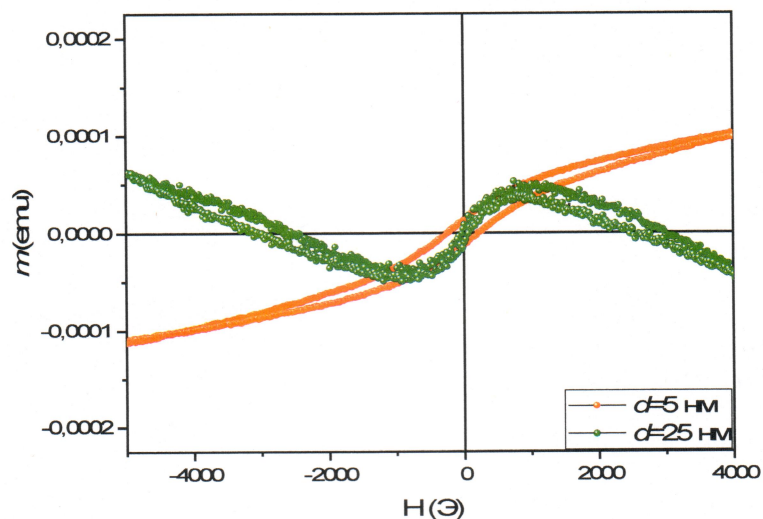


Рисунок 9– Кривые перемангничивания для образцов крови больных мышей , получивших дозу НЧ с $d=5$ нм и 25 нм.

При этом, кривые от образцов крови от другой из мышей, получивших НЧ с диаметром ферромагнитной части в 5 нм, а также от мыши, получившей с диаметром ферромагнитной части в 25 нм, демонстрируют ферромагнитное поведение. При этом, в последнем случае наблюдается также диамагнитный вклад, в отличие от образца с $d=5$ нм. Таким образом, предположительно, НЧ с диаметром $d=5$ нм содержится в образце больше, чем НЧ с $d=25$ нм.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе было проведено исследование и оценка механизмов проникновения НЧ $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$ в кал, печень, кровь здоровых мышей и с имитацией болезни Крона. В ходе работы были исследованы магнитные свойства образцов, проведен сравнительный анализ этих свойств, проведена оценка влияния размера используемых НЧ на время выведения их в образцы кала. Также была проведена качественная оценка возможности проникновения НЧ в печень и кровь исследуемых мышей:

1. Было установлено, что НЧ с диаметром ферромагнитной части $d=5$ нм выводятся в кал здоровых мышей спустя 8 часов после их введения, НЧ с диаметрами 15 и 25 нм выводятся в кал спустя 24 часа. Таким образом, увеличение размера НЧ приводит к увеличению времени их вывода в кал. Также были обнаружены следы НЧ с диаметром $d=25$ нм и, предположительно, с диаметром $d=5$ нм в образцах кала больных мышей.

2. Присутствие НЧ в образцах печени здоровых и больных мышей обнаружено не было.

3. Следы НЧ были обнаружены в образцах крови больных мышей с диаметрами $d=5$ и 25 нм при времени взятия 24 часа.

Полученные результаты будут использованы в дальнейшем для разработки методики диагностики болезни Крона и комплексной оценки метаболического пути гибридных НЧ $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$ в организм мышей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Baumgart D. C., Sandborn W. J. Crohn's disease //The Lancet. – 2012. – V. 380. – №. 9853. – С. 1590-1605
2. De Alvares Goulart R., Barbalho S., Galhardi Gasparini R., de Carvalhoc A. Facing terminal ileitis: going beyond Crohn's disease //Gastroenterology research. – 2016. – V. 9. – №. 1. – С. 1.
3. Burke J. P., Mulsow J. J., O'keane C., Docherty N. G., Watson R. W. G., O'connell P. R. Fibrogenesis in Crohn's disease //Official journal of the American College of Gastroenterology| ACG. – 2007. – V. 102. – №. 2. – С. 439-448.
4. Klohs J., Hirt A. M. Investigation of the magnetic susceptibility properties of fresh and fixed mouse heart, liver, skeletal muscle and brain tissue //Physica Medica. – 2021. – V. 88. – С. 37-44.