



УДК 621.762,669.127.4,542.98

© 2007

**Н. В. Бошицкая, Е. А. Иващенко, И. В. Уварова, Л. С. Проценко,
О. В. Будилина**

Взаимодействие железных порошков различной дисперсности с плазмой крови человека

(Представлено академиком НАН Украины В. В. Скороходом)

The interaction between pure iron powders, which possess different sizes of particles and different surface morphologies, and human blood plasma is studied.

Область применения чистых железных порошков, кроме техники, распространяется и на биологические объекты — человека и животных. Так, порошки железа могут быть использованы в качестве носителей для направленного транспорта лекарств в организме животных и человека, теплового рабочего тела при воздействии высокочастотного электромагнитного поля на патологические очаги, механического средства закупорки кровеносных сосудов, управляемого магнитным полем, для прекращения кровоснабжения пораженных участков ткани или остановки кровотечения, а также пищевых добавок для лечения различных видов анемий. Магнитные порошки вводят в организм в виде суспензии в различных физиологически совместимых жидких средах. В настоящее время уже разработаны магнитные лекарственные формы на основе порошков железа — жидкости, суспензии, мази [1, 2].

Столь широкая сфера применения предполагает введение в организм значительного количества порошка железа, что может вызвать интоксикацию [3]. С другой стороны, установлено, что ультрадисперсные частицы железа являются биологически активными агентами и, в зависимости от дозы, могут либо активизировать, либо угнетать определенные виды функциональной активности печени [4]. Таким образом, для решения задач, связанных с введением порошков железа внутрь организма, необходимо, прежде всего, иметь четкое представление о биотрансформации порошка железа и ее влиянии на организм в целом.

Этому направлению посвящен ряд работ, при этом исследования проводились на животных [4–7]. В частности, установлено, что после внутрисосудистого введения частицы порошка обнаруживают, преимущественно, в печени, селезенке, красном костном мозге; единичные частицы обнаружены в сердце, поджелудочной железе и некоторых железах внутренней секреции [1, 6]. При введении в организм ферромагнитных частиц содержание

в организме продуктов их биотрансформации приближается к норме спустя четыре недели [7]. Также отмечено различие в поведении в организме животных крупных и мелких частиц железа [8].

Целью данной работы является исследование взаимодействия порошков железа различной дисперсности с плазмой крови человека (оценка биотрансформации порошков железа в эксперименте *in vitro*). Характеристики порошков железа, используемых в эксперименте, приведены в табл. 1.

Размер, форму частиц и гранулометрический состав исследовали на растровом электронном микроскопе фирмы JEOL “Superprobe 733”.

Внешний вид образца 1 (распыленный порошок) свидетельствует об образовании достаточно прочных частично спеченных агломератов частиц, средний размер которых колеблется в пределах 50–100 мкм. Отдельные частицы в агломератах имеют размеры от 5 до 10 мкм и сферическую форму (рис. 1, *а*). Похожую форму частиц имеет образец 2, средний размер агломератов — 25–50 мкм (рис. 1, *б*), сами частицы в агломератах имеют меньшие размеры, чем в образце 1. Необходимо отметить достаточно широкий интервал распределения частиц и агломератов по размерам, особенно в случае образца 2. Схожесть формы и разброса размеров частиц этих порошков связаны с одинаковым способом их получения — распылением водой высокого давления.

Образец порошка 3 также состоит из агломератов, но эти агломераты распадаются на сферические частицы узкого гранулометрического состава со средним размером частиц от 2 до 5 мкм при незначительном механическом воздействии (рис. 1, *в*, *г*).

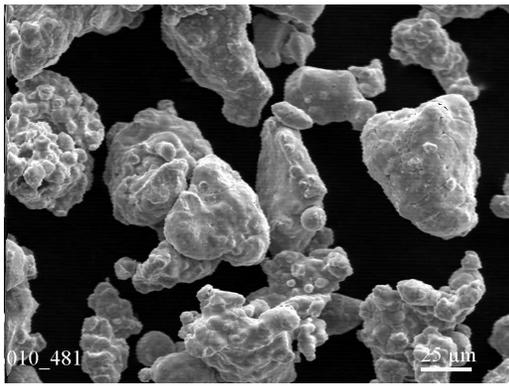
Плазму крови человека получают, отделяя от крови с помощью центрифугирования суспендированные клеточные элементы. Она представляет собой прозрачную вязкую светло-желтую жидкость. На долю растворимых веществ плазмы приходится около 10% (масса/объем), из них ~ 7% белки, ~ 0,9% неорганические соли; остальную часть составляют различные небелковые органические соединения. Основные белки, неорганические и небелковые органические компоненты плазмы крови человека хорошо изучены и описаны в ряде работ [3, 9]. В плазме крови человека железо находится в связанном состоянии, в количествах 50–180 мкг/100 мл [9].

Плазма крови — сложная многокомпонентная система, что обуславливает определенные трудности при химическом анализе. Поэтому при исследовании биологических жидкостей (в том числе плазмы) применяют методы предварительной подготовки проб: кислотную минерализацию, твердофазную экстракцию, пробы многократно разводят водой [10] и др.

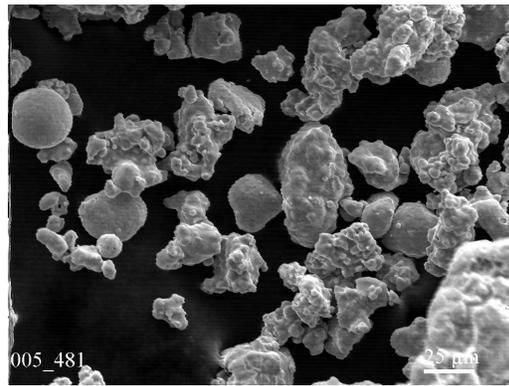
В настоящее время для определения железа в жидких (в том числе биологических) средах используются различные аналитические методы: спектрофотометрия, атомно-ад-

Таблица 1. Технические характеристики чистых порошков железа

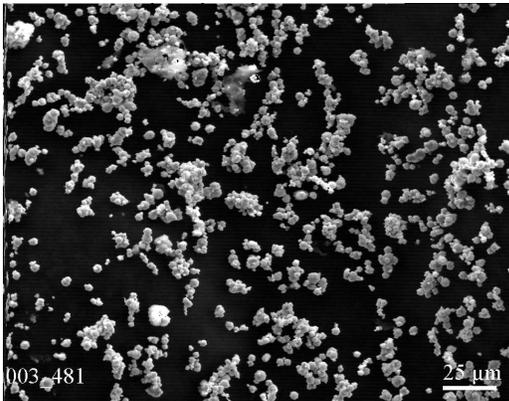
Номер образца	Торговая марка, производитель	Химический состав, % (мас.)	Способ получения
1	ПЖРВ 3.200.26; Казенный завод порошковой металлургии, г. Бровары (Украина)	Fe — 98,5; C — 0,08; Si — 0,15; Mn — 0,40; S — 0,02; P — 0,03; O ₂ — 0,5	Распыление водой высокого давления
2	АНС 100.29; фирма “Höganäs” (Швеция)	Fe — 99,88; O ₂ — 0,12; C — 0,002	Распыление водой высокого давления
3	Карбонильное железо; “Ти-проникель” (Россия)	Fe — 99,46; C — 0,2; O ₂ — 0,44	Разложение пентакарбонила железа при температуре 180–250 °C



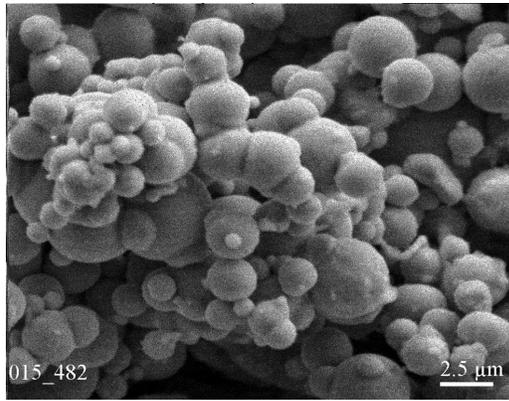
a



б



в



г

Рис. 1. Электронномикроскопический снимок: *a* — ПЖРВ 3.200.26; *б* — АНС 100.29; *в, г* — карбонильное железо

сорбционная спектроскопия, флуориметрия, полярография, ионная хроматография и инверсионная вольтамперометрия [3]. В нашей работе применяли методы спектрофотометрии и титрования.

Эксперимент проводили следующим образом. Навески порошка ($\sim 0,5$ г) заливали 50 мл плазмы, помещали в термостат ТВЗ-25 при температуре 37–38 °С, периодически взбалтывали. Через 5 сут навески порошков отфильтровывали на фильтре с белой лентой. Длительность экспозиции обусловлена, с одной стороны, известными данными о том, что выведение частиц железа из организма осуществляется в течение 15–40 сут, а с другой стороны химический состав плазмы сохраняется неизменным в течение 7 суток после размораживания.

При определении общего железа спектрофотометрическим методом применяли две методики подготовки проб. Согласно первой, фильтрат многократно разводили дистиллированной водой (в 30–60 раз). Далее действовали по методике [11], основанной на образовании комплексного соединения железа с сульфосалициловой кислотой. Оптическую плотность измеряли на фотоэлектрокалориметре ФЭК-56ПМ (синий светофильтр $\lambda_{\text{эф}} = 440$ нм, кювета с толщиной слоя 10 мм). Раствором сравнения служил раствор многократно разведенной плазмы с реактивами.

Суть второй методики заключается в предварительном осаждении железа в виде $\text{Fe}(\text{OH})_3$, отделении его на фильтре с последующим растворением горячим раствором со-

ляной кислоты (1 : 1), по методике [12]. При таком способе коагулированные белки плазмы остаются на фильтре; рабочие растворы для спектрофотометрического определения более прозрачны, чем в первом способе.

Метод титрования также основан на взаимодействии сульфосалицилового комплекса железа и аммиака [12, 13]. При этом аликвотную часть фильтрата (5 мл) разводили дистиллированной водой в 50 раз, затем для перевода железа в окисную форму приливали 10 мл раствора соляной кислоты (1 : 1) и 1 мл концентрированной азотной и кипятили раствор несколько минут. В охлажденный раствор добавляли 10 мл 10%-ной сульфосалициловой кислоты и осторожно по каплям нейтрализовали раствором аммиака (1 : 1) до перехода окраски раствора в коричневую. Затем добавляем 10 мл 1н соляной кислоты. Содержимое колбы нагревали на электроплитке до температуры 50–60°С и оттитровывали трилоном Б до перехода окраски от коричневой до зеленоватой.

Отмечено неожиданно активное во времени взаимодействие плазмы крови человека (рН ≈ 7,4) с исследуемыми порошками железа, что выражалось в довольно резком изменении цвета плазмы — от светло-желтого до интенсивно коричневого или оливкового после выдержки порошка в течение 5 сут. Количественное определение железа показало высокие концентрации его в плазме. Полученные результаты приведены в табл. 2.

Анализируя результаты, полученные тремя методами, можно отметить достаточно хорошую сходимость методов спектрофотометрии (по способу 1) и титрования. Данные спектрофотометрического измерения растворов плазмы с предварительно отделенными белками (по способу 2) в большинстве случаев несколько ниже. Это, возможно, связано с тем, что в процессе коагуляции белки механически захватывают железосодержащие комплексы, находящиеся в растворе. Таким образом, часть железосодержащих комплексов остается на фильтре внутри свернутых белков и трудно доступна для воздействия горячим раствором соляной кислоты. Следовательно, для определения железа в плазме крови предпочтение следует отдавать методам спектрофотометрии с предварительным многократным разведением проб водой (по способу 1) и титрованию.

Полученные данные свидетельствуют о том, что наиболее интенсивно взаимодействует с плазмой карбонильное железо (образец 3), далее по убыванию интенсивности взаимодействия следует образец 2 и образец 1 (рис. 2). Карбонильное железо (образец 3) — порошок мелкодисперсный со средним размером частиц 2–5 мкм, имеющий наибольшую площадь взаимодействия с плазмой крови. Образцы 1 и 2 получены распылением водой высокого давления, чем и вызвана схожесть их частиц (см. рис. 1, а, б). Оба порошка крупнодисперсные за счет образования подплавленных агломератов, имеющих достаточно развитую форму поверхности.

Таблица 2. Содержание железа в плазме человека после взаимодействия с порошками железа

Номер образца	Масса навески, г	Цвет плазмы после фильтрации	Содержание железа в плазме крови человека, г/50 мл		
			Спектрофотометрический метод		Титрование
			Многократное разведение плазмы (способ 1)	Отделение белка (способ 2)	
1	0,5176 ± 0,0024	Коричневый	0,0468 ± 0,001	0,0624 ± 0,004	0,0518 ± 0,003
2		Зеленовато-коричневый	0,0543 ± 0,001	0,0480 ± 0,003	0,0518 ± 0,003
3		Оливковый	0,1074 ± 0,002	0,0924 ± 0,004	0,1000 ± 0,002

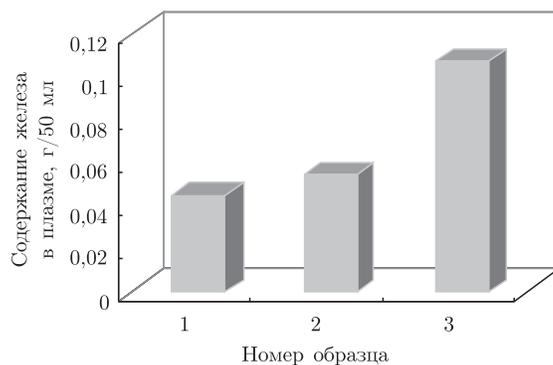


Рис. 2. Диаграмма содержания железа в плазме крови человека после взаимодействия с исследуемыми порошками (по способу 1), г/50 мл

Железный порошок фирмы “Höganäs” имеет практически на порядок большие частицы по сравнению с карбонильным железом (см. рис. 1, б, в). Исходя из этих данных, можно ожидать значительного (на порядок) возрастания растворимости карбонильного железа в плазме крови по сравнению с порошками, полученными методом распыления. В действительности количество железа, перешедшего в плазму из карбонильного порошка, в два раза больше, чем из распыленных порошков. Уменьшение степени растворимости карбонильного железа в плазме крови по сравнению с ожидаемым можно связать, с одной стороны, с большей склонностью малых частиц к образованию мягких агломератов, труднодоступных для проникновения в них такой вязкой среды, какой является плазма, а с другой стороны, с присутствием на поверхности карбонильного железа примесей углерода.

Таким образом, проведенный *in vitro* эксперимент показал, что существует зависимость между размерами частиц порошка железа и количеством железа, растворившимся в плазме крови человека: образец 3 карбонильного железа со средним размером частиц 2–5 мкм почти вдвое интенсивнее растворяется в плазме, чем образцы 1 и 2 со средними размерами агломератов частиц 50–100 и 25–50 мкм соответственно. Полученные *in vitro* данные созвучны результатам, полученным в эксперименте *in vivo* авторами [5, 8, 14]. Так, И. Т. Брахновой было отмечено более резкое воздействие вдыхания пыли карбонильного железа на организм животных по сравнению с пылью порошка восстановленного железа [14]. Авторами [5, 8] проведено исследование по сопоставлению поведения в организме животных крупных и мелких частиц металлического железа (при введении их в кровь). Полученные данные свидетельствуют о принципиально различном поведении в организме крупных и мелких частиц: крупные частицы быстро попадали из крови в печень, где происходило их капсулирование. Повышение содержания свободного железа в крови не удавалось зарегистрировать. Было отмечено, что крупные частицы железа практически не трансформировались в организме. При введении в кровь животных частиц железа размером 5–8 мкм через неделю было обнаружено увеличение содержания свободного железа в 1,5–3 раза что свидетельствовало о частичном растворении порошка.

Нами также проведен расчет потери массы навесок исследуемых порошков после взаимодействия с плазмой крови человека (табл. 3). Расчет сделан на основании результатов, полученных методами спектрофотометрии (по способу 1) и титрования. Как видно из табл. 3, образцы порошков 1 и 2 в результате взаимодействия с плазмой крови человека в течение 5 суток теряют 9–10% массы; карбонильное железо (образец 3) теряет ~ 20% массы.

Таблица 3. Потери массы навесок исследуемых порошков в результате взаимодействия с плазмой крови человека

Номер образца	Торговая марка порошка железа, производитель	Потеря массы навески после взаимодействия с плазмой крови человека в течение 5 сут, %	
		Спектрофотометрический метод с многократным разведением плазмы (способ 1)	Титрование
1	ПЖРВ 3.200.26; Казенный завод порошковой металлургии, г. Бровары (Украина)	9,0	9,9
2	АНС 100.29; фирма "Höganäs" (Швеция)	10,5	10,0
3	Карбонильное железо; Институт проблем материаловедения НАН Украины	20,9	19,4

Живой организм — совершеннейшая саморегулирующаяся система. Введение инородного тела (порошка железа) мгновенно вызывает отклик в виде синтеза химических соединений, способных их дезактивировать и вывести из организма. В эксперименте *in vitro* система замкнута и вновь синтезируемые вещества не поступают к месту возмущения. В связи с этим затруднительно проводить количественное сравнение результатов экспериментов *in vivo* и *in vitro*. Однако можно предположить, что биотрансформация порошков железа в экспериментах *in vivo* и *in vitro* протекает по одному и тому же механизму: частицы порошка растворяются (вероятно, с участием органических кислот, находящихся в плазме крови, — лимонной, малеиновой, янтарной, ацетоуксусной, пировиноградной и др. [9]), переходя из ферромагнитной формы в антиферромагнитную, предположительно гидроокисную форму железа [5, 8], затем в ионную и захватываются трансферрином — белком, осуществляющим транспортировку двух атомов железа, и ферритином — белком, депонирующим до 4500 атомов железа в форме гидроксилфосфата [15].

Таким образом, можно сделать следующие выводы.

1. Исследовано взаимодействие чистых железных порошков, полученных различными методами, отличающихся морфологией и размерами частиц с плазмой крови человека. Установлено, что существует зависимость между размерами частиц порошка железа и количеством железа, растворившегося в плазме крови человека. Так, наиболее интенсивно взаимодействует с плазмой порошок карбонильного железа с размерами частиц ~ 2 – 5 мкм, далее по убыванию интенсивности взаимодействия следуют порошки, полученные распылением водой высокого давления с размерами агломератов частиц ~ 25 – 50 и ~ 50 – 100 мкм.

2. Расчетным путем установлено, что порошки, полученные распылением водой высокого давления с размерами агломератов частиц ~ 25 – 50 и ~ 50 – 100 мкм, растворяясь при взаимодействии с плазмой крови человека в течение 5 сут, теряют 9–10% массы; карбонильное железо с размерами частиц ~ 2 – 5 мкм теряет около 20% массы.

3. Полученные нами в эксперименте *in vitro* данные созвучны результатам, полученным в эксперименте *in vivo* предыдущими исследователями. Можно предположить, что биотрансформация порошков железа в плазме крови в экспериментах *in vivo* и *in vitro* протекает по одному и тому же механизму. В связи с этим исследование взаимодействия порошков железа с плазмой крови человека *in vitro* может отражать уровень биотрансформации порошков железа в эксперименте *in vivo*.

Работа выполнена в рамках проекта УНТЦ 3864.

1. Терновой К. С., Державин А. Е. Магнитоуправляемые лекарственные препараты. Теоретическое и экспериментальное обоснование: Обзор лит. // Врач. дело. – 1984. – № 6. – С. 13–18.
2. Ranum P. Elemental iron powder for food fortification // Cereal Foods World. – 2001. – 46, No 3b. – P. 137–138.
3. Handbook on the toxicology of metals / Ed. by L. Friberg, G. Nordberg, Vol. Vouk / Elsevier/ North-Holland Biomedical Press, 1979. – 709 p.
4. Волконский В. А., Рымарчук В. И. Влияние внутривенного введения ультрадисперсных ферромагнитных частиц на некоторые показатели функциональной активности печени // Эксперим. и клинич. медицина. – 1990. – 30, № 1. – С. 77–80.
5. Цапин А. И., Девухерстнов С. Д., Маленков А. Г., Ванин А. Ф. Превращение ферромагнитных суспензий в организме животных // Биофизика. – 1986. – 31, вып. 6. – С. 1023–1026.
6. Волконский В. А. Морфофункциональный статус крови при внутривенном введении ультрадисперсных ферромагнитных частиц в эксперименте // Гематология и трансфузиология. – 1989. – № 12. – С. 37–40.
7. Цапин А. И., Иваненко Г. Ф., Глуценко Н. Н., Федоров Ю. И. Распределение и изменение свойств ферромагнитных частиц железа при введении их в организм животных // Биофизика. – 1987. – 32, вып. 1. – С. 132–134.
8. Шабарчина М. М., Цапин А. И., Маленков А. Г., Ванин А. Ф. Поведение магнитных частиц металлического железа в организме животных // Там же. – 1990. – 35, вып. 6. – С. 985–988.
9. Уайт А., Хендлер Ф., Смит Э. и др. Основы биохимии: в 3-х т. Т. 3. / Пер. с англ. Л. М. Гиодмана / Под ред. Ю. А. Овчинникова. – Москва: Мир, 1981. – 726 с.
10. ГОСТ 26929–94. Сырье и продукты пищевые. Подготовка проб. Минерализация для определения содержания токсичных элементов. – Киев: Госстандарт Украины, 1994. – 11 с.
11. ГОСТ 4011–72. Вода питьевая. Методы определения общего железа. – Москва: Госстандарт СССР, 1972. – 9 с.
12. ТУУ 88 023.022–96. Сырье из горных пород для производства штапельных волокон. Тех. условия. – Киев: Держстандарт України, 1996. – 37 с.
13. ГОСТ 8269.1. Щебень и гравий из плотных горных пород и отходов промышленного производства для строительных работ. Методы химического анализа. – Киев: Укрархбудінформ, 1998. – 62 с.
14. Бражнова И. Т. Токсичность порошков металлов и их соединений. – Киев: Наук. думка, 1974. – 224 с.
15. Панкратов Ю. В. Особливості розподілу високодисперсного заліза в організмі експериментальних тварин: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Киев, 1995. – 21 с.

*Институт проблем материаловедения
им. И. Н. Францевича НАН Украины, Киев*

Поступило в редакцию 22.12.2006