

**ВОЗДЕЙСТВИЕ НАНОКЛАСТЕРНЫХ ЖЕЛЕЗОМОЛИБДЕНОВЫХ
ПОЛИОКСОМЕТАЛЛАТОВ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ
АКТИВНОСТЬ МАКРОФАГОВ И СОСТОЯНИЕ
ЭРИТРОБЛАСТИЧЕСКИХ ОСТРОВКОВ КОСТНОГО МОЗГА.**

Титова С. А.¹,
Тонкушина М. О.¹,
Остроушко А. А.¹,
Улитко М. В.¹,
Бриллиант С. А.²,
Данилова И. Г.^{1,2}

¹ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия.

²ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения РАН, г. Екатеринбург, Россия.

**EFFECT OF IRON-MOLYBDENUM NANOCUSTER
POLYOXOMETALATES ON THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF
MACROPHAGES AND THE STATE OF BONE MARROW
ERYTHROBLASTIC ISLANDS**

Svetlana A. T. ^a,
Margarita O. T. ^a,
Alexander A. O. ^a,
Maria V. U. ^a,
Svetlana A. B. ^b,
Irina G. D. ^{a, b}

^a Ural Federal University named after the First President of Russia B.N. Yeltsin.

^b Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences.

Резюме

Целью данного исследования было изучение механизмов действия $\{Mo_{72}Fe_{30}\}$ на эритропоэз и гематологические показатели *in vitro* и *in vivo*. Результаты показали, что нанокластерный полиоксометаллат $\{Mo_{72}Fe_{30}\}$, продукты его деструкции (низкомолекулярные железо и молибденсодержащие ионы) не влияют на активность неспецифической эстеразы в цитоплазме центральных макрофагов эритробластических островков костного мозга и, следовательно, не нарушают процесс детоксикации эндотоксинов и ксенобиотиков, осуществляемый макрофагами. Однако введение исследуемых веществ приводит к снижению поглотительной способности макрофагов, без изменения вовлеченности клеток в процесс фагоцитоза. Анализ культуры эритробластических островков выявил следующие закономерности: при введении $\{Mo_{72}Fe_{30}\}$ и продуктов его деструкции происходит более интенсивное созревание эритроидных клеток в короне эритробластических островков. В первые сутки после внесения полиоксометаллата вследствие ускоренного созревания и диссоциации эритробластических островков, наблюдается снижение количества эритробластических островков 3-го класса и инволюцирующих эритробластических островков. Данный процесс подтверждается увеличением числа клеток эритроидного ряда в миелограмме на 1 сутки. Одновременное увеличение числа реконструирующихся эритробластических островков в группах с полиоксометаллатом и продуктами его деструкции свидетельствует о развитии в «короне» островков дополнительной волны эритропоэза. На вторые сутки после внесения $\{Mo_{72}Fe_{30}\}$ возрастает число пролиферирующих эритробластических островков 2-го и 3-го классов, на фоне сохранения числа островков 1-го класса, что связано с вовлечением новых макрофагов в эритропоэз и активной пролиферацией эритроидных клеток. На третьи сутки после внесения $\{Mo_{72}Fe_{30}\}$ наблюдается смещение классов эритробластических островков в сторону более зрелых пролиферирующих островков 2 класса. Полученные данные свидетельствуют о том, что на третьи сутки под влиянием ПОМ происходит ускорение процесса созревания эритроцитов в эритробластических островках. Подобная тенденция наблюдается и при воздействии ПД, но в этом случае эффект ускорения эритропоэза выражен слабее.

Анализ миелограммы костного мозга крыс показал, что при введении исследуемых веществ ($\{Mo_{72}Fe_{30}\}$ и ПД) в течение семи суток наблюдается увеличение клеточности костного мозга, при этом рост показателя объясняется в том числе и увеличением количества клеток эритроидного ряда, а также ретикулоцитов.

Эти данные согласуются с показателями периферической крови крыс. Было выявлено достоверно значимое увеличение количество эритроцитов при введении исследуемых веществ ($\{Mo_{72}Fe_{30}\}$ и ПД), которое также сопровождается повышением уровня гемоглобина и значений гематокрита.

Результаты экспериментов могут указывать на возможность активации эритроидного ростка костного мозга.

Ключевые слова: эритробластический островок, костный мозг, нанокластерные полиоксометаллаты, макрофаги, противоанемичное действие.

Abstract

The aim of this study was to determine the mechanisms of action of $\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$ on erythropoiesis and hematological parameters **in vitro** and **in vivo**. The obtained results showed that neither the nanocluster polyoxometalate $\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$ nor its destruction products (low-molecular-weight iron and molybdenum-containing ions) affected the activity of non-specific esterase in the cytoplasm of central macrophages of bone marrow erythroblastic islands, thus indicating no disruption of endotoxin and xenobiotic detoxification processes carried out by these macrophages. However, administration of the studied substances resulted in a decrease in macrophage phagocytic capacity without altering cellular involvement in phagocytosis.

Analysis of erythroblastic island cultures revealed the following patterns: administration of $\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$ and its destruction products (PD) accelerated erythroid cell maturation within the erythroblastic island corona. At 24 hours after their administration, a decrease in the number of class 3 and involutive erythroblastic islands was observed due to accelerated maturation and dissociation of erythroblastic islands. This process was confirmed by an increase in the number of erythroid cells in the myelogram at 24 hours after these substances administration. The simultaneous increase in the number of reconstructing erythroblastic islands in the groups treated with the polyoxometalate and its PD suggests the development of an additional wave of erythropoiesis within the island corona. On day 2 after administration of $\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$, there was an increase in the number of proliferating erythroblastic islands of the class 2 and 3, while the number of class 1 islands remained unchanged. This is attributed to the involvement of new macrophages into erythropoiesis and active erythroid cells proliferation. On day 3, a shift towards a more mature proliferating erythroblastic islands of the class 2 was observed. These data indicate the acceleration of erythrocyte maturation within erythroblastic islands after 3 days of the $\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$ administration. A similar trend was observed with the PD administration, although the erythropoiesis-accelerating effect was less pronounced.

Analysis of rat bone marrow myelograms revealed an increase in bone marrow cellularity after seven days of administration of the studied substances ($\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$ and PD). This increase was attributed, in part, to an increase in the number of erythroid cells and reticulocytes.

These data are consistent with peripheral blood parameters in rats. A statistically significant increase in erythrocyte count, hemoglobin levels, and hematocrit values was observed following administration of the studied substances ($\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$ and PD).

The experimental results suggest a potential stimulatory effect on erythroid lineage development.

Keywords: erythroblastic islands, bone marrow, nanocluster polyoxometalates, macrophages, antianemic effect.

1 Введение

Анемия – клинико-гематологический синдром, который характеризуется снижением уровня гемоглобина и количества эритроцитов в крови, что приводит к недостаточному транспорту кислорода к органам и тканям. По оценкам Всемирной организации здравоохранения, во всем мире от анемии страдают полмиллиарда женщин в возрасте 15–49 лет и 269 миллионов детей в возрасте 6–59 месяцев [16]. По данным Росстата за 2022 год в России зарегистрировали около 1,5 миллиона людей с анемией [5]. Железодефицитная анемия (ЖДА) составляет до 90% от всех анемий в детском возрасте и до 80% от всех анемий у взрослых [21, 26]. Основным методом лечения ЖДА, на сегодняшний день, это устранение дефицита железа.

Железо является переходным металлом, который благодаря присущей ему способности обмениваться электронами с различными молекулами необходим для поддержания жизни. В то же время свободное железо также обладает способностью становиться цитотоксичным, и катализировать производство активных форм кислорода. Эти биологические свойства требуют, чтобы метаболизм железа был строго отрегулирован таким образом, чтобы железо было доступно для основных биологических функций, предотвращая при этом его цитотоксические эффекты [19, 35]. Макрофаги играют центральную роль в установлении этого баланса. Например, макрофаги селезенки и печени фагоцитируют и разрушают стареющие и поврежденные эритроциты для переработки железа, преимущественно для производства гемоглобина в новых эритроцитах. Макрофаги красной пульпы селезенки специализируются на переработке железа и характеризуются повышенной экспрессией белков для поглощения гемоглобина, расщепления гема и экспорта железа. Высвобождение железа из макрофагов тесно регулируется взаимодействием гепсидина, пептидного гормона, вырабатываемого гепатоцитами, с ферропортином, экспортирующим железо из макрофагов [35].

По результатам ранее проведенных исследований было выяснено, что действие нанокластерных полиоксометаллатов на основе молибдена и железа (ПОМ) на фоне кровопотери способствует более ранней и эффективной коррекции характерных для геморрагической анемии гематологических показателей, уровня железа в плазме крови и предшественников эритроцитов в костном мозге по сравнению с их самопроизвольной нормализацией [12], на основании полученных данных был зарегистрирован патент [13]. Кроме того, при введении ПОМ увеличение количества эритроцитов не сопровождалось отклонением от нормы размеров эритроцитов и содержания гемоглобина в каждом отдельном эритроците [12, 13].

Было сделано предположение, что влияние ПОМ связано не только с присутствием в его составе железа, но и с нанокластерной формой соединения, влияющей на его метаболизм. Кроме того, определенную роль в лечении анемии может играть присутствие молибдена, благоприятное влияние которого отмечено рядом исследований [21, 27], молибден входит в состав

многих ферментов, участвует в обмене аминокислот, витаминов С, В12, влияет на устойчивость мембран эритроцитов, способствует стимуляции кроветворения.

Целью настоящей работы являлось выяснение механизмов действия ПОМ на эритропоэз и гематологические показатели *in vitro* и *in vivo*.

2 Материалы и методы

Синтез полиоксометаллата {Mo₇₂Fe₃₀}

Синтез полиоксометаллата [Mo₇₂Fe₃₀O₂₅₂(CH₃COO)₁₂{Mo₂O₇(H₂O)}₂{H₂Mo₂O₈(H₂O)}₂(H₂O)₉₁}]·150H₂O ({Mo₇₂Fe₃₀}) осуществляли по опубликованной методике [29]. Для синтеза использовали гептамолибдат аммония (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O квалификации «х.ч.», гидразин серноокислый N₂H₄·H₂SO₄ квалификации «ч.д.а.», уксусную кислоту ледяную CH₃COOH «х.ч.», хлорид железа(III) шестиводный FeCl₃·6H₂O Panreac (содержание основного вещества 97–102%), ацетат аммония CH₃COONH₄ квалификации «х.ч.», соляную кислоту HCl квалификации «ос.ч.» и хлорид натрия NaCl квалификации «ч.д.а.». Подтверждение идентичности полученного соединения описанному в литературе было проведено путем сравнения полученных ИК и КР-спектров с эталонными данными, приведенными в литературе [29].

Исследования *in vitro*

Характеристика и дозы исследуемых веществ

При культивировании эритробластических островков костного мозга с {Mo₇₂Fe₃₀}, 100 мкл его водного раствора (концентрация 2.0 г/л) добавляли к 900 мкл питательной среды. Доза была отработана в предыдущих исследованиях [11, 13]. {Mo₇₂Fe₃₀} в питательной среде постепенно разрушает на более простые молибден и железосодержащие ионы, для оценки влияния нанокластерной структуры использовали продукты разрушения ПОМ (ПД) в качестве образцов сравнения. ПД получали кипячением раствора {Mo₇₂Fe₃₀} (ПОМ в растворах устойчив до температуры ~70°C) в концентрации 2.0 г/л в течение 3-х ч и также вводили в дозе 100 мкл раствора на 900 мкл питательной среды. Для выявления влияния ионов железа (и исключения влияния молибденсодержащих ионов) использовали сравнение с раствором FeCl₃ в дозе 0,86 г/л (также 100 мкл раствора на 900 мкл питательной среды), содержание железа в таком растворе равно содержанию железа в растворах ПОМ и ПД.

Выделение и культивирование эритробластических островков костного мозга

Выделение эритробластических островков проводились по методу Ю. М. Захарова в модификации А.Г. Рассохина (2002) [9]. Для получения эритробластических островков костного мозга использовали молодых крыс Wistar возрастом 2–3 месяца. После умерщвления передозировкой эфирного наркоза у крыс брали бедренные кости, с обеих сторон отрезали эпифизарные части и затем выделяли костный мозг. С помощью центрифуги осаждали эритроциты крови, а надосадочную жидкость раскапывали по лункам

планшета для дальнейшего культивирования в среде RPMI при 37°C в CO₂-инкубаторе в атмосфере, содержащей 5% углекислого газа в течение одного часа. Среду заменяли на свежую и культивировали клетки в течение 1 и 3 суток, после чего в лунки вносили растворы {Mo₇₂Fe₃₀}, продуктов его деструкции и FeCl₃.

Методы определения функциональных показателей центральных макрофагов

Исследование ферментативной активности центральных макрофагов эритробластических островков костного мозга

Ферментативную активность макрофагов оценивали по активности неспецифической эстеразы. Клетки были фиксированы на покровных стеклах парами 40% формалина в течение 5 минут. Стекля помещали в инкубационную среду, состоящую из:

- 1) 10 мг альфа-нафтилацетата растворенного в 1 мл 1% раствора ацетона;
- 2) 50 мл 0,1 М фосфатного буфера, pH 7,4;
- 3) 50 мг прочного синего RR.

Инкубация проводилась в течение 30 минут при комнатной температуре. Затем среду сливали и ядра клеток докрашивали гематоксилином в течение 5 минут. Ядра окрашивались в фиолетовый цвет, а везикулы внутри клеток в темно-коричневый, черный цвет.

Определение цитохимического индекса макрофагов проводилось по методу Астальди [22], который основан на обнаружении интенсивности окраски везикул в цитоплазме макрофагов. Исследуемые клетки делили на 4 группы: с отрицательной реакцией (–), слабopоложительной (+), положительной (++) и резкоположительной (+++). Для количественного выражения результатов была использована специальная формула цитохимического индекса (формула 1):

$$\text{ЦХИ} = \frac{0 \cdot A + 1 \cdot B + 2 \cdot C + 3 \cdot D}{N}, \quad (1)$$

где А – число клеток с отрицательной реакцией (–), В – число клеток в группе со слабopоложительной реакцией (+), С – число клеток в группе с положительной реакцией (++) , D – число клеток в группе с резкоположительной реакцией (+++), N – общее число сосчитанных клеток.

Исследование фагоцитарной активности центральных макрофагов эритробластических островков костного мозга

Для оценки фагоцитоза использовали частицы латекса (10%-ная полистирольная суспензия) диаметром 1.5 мкм (ПанЭко, США)). 50 мкл раствора частиц латекса ($\approx 1 \times 10^{10}$ /мл) добавляли к 950 мкл не инактивированной сыворотки эмбрионов коров и инкубировали в течение 60 минут при температуре 37 °С. Готовили среду, содержащую RPMI, 10 % сыворотки, 100 мкл гентамицина и коллоидный раствор частиц латекса. Адгезированные макрофаги инкубировали в приготовленной среде с частицами латекса в течение 60 минут при 37 °С и 5 % CO₂. Частицы латекса

добавляли в объеме из расчета, что на каждую лунку приходилось 10^9 частиц. После окончания инкубации культуральную среду сливали, промывали буферной смесью. Затем стекла извлекали из лунки, высушивали и фиксировали 95 % этанолом в течение 10 минут. После этого стекла снова высушивают и окрашивают по методу Романовского-Гимзы (см. рисунок 1).

Фагоцитарную активность выражали в виде индекса, который равен количеству клеток с частицами латекса на общее количество найденных клеток в поле зрения, и фагоцитарного числа, т. е. среднего числа частиц латекса, поглощенных одним макрофагом.

Фагоцитарное число характеризует поглотительную способность, а фагоцитарный индекс – активность вовлечения клеток в фагоцитоз [34].

Методы определения качественного и количественного состава культуры эритробластических островков

Для изучения морфологии эритробластических островков проводили их осаждение на стекле, для чего исходную клеточную взвесь, содержащую островки, помещали на предметные стекла, осаждали в течение 40 минут, после чего культивировали с помощью среды RPMI [6, 8, 9].

Высушенные препараты фиксировались и окрашивались по схеме: 3 минуты препараты находились в красителе Май-Грюнвальда, в течение 1 минуты промывались фосфатным буфером (pH 6,8–7,2), 5–7 минут докрашивались красителем Романовского-Гимза.

Изучение морфологии и определение классов зрелости эритробластических островков [7, 9] осуществлялось на светоптическом микроскопе ZEISS Primo Star (Германия) при увеличении $\times 100$. Микрофотографии эритробластических островков получали с помощью цифровой цветной видеокамеры «СМ 2800» (см. рисунок 2).

Оценивая классы зрелости эритробластических островков, использовали классификацию Ю. М. Захарова и соавторов [7, 9]. Согласно этой классификации, выделяют следующие классы эритробластических островков:

I класс зрелости (ЭО1) представлен проэритробластами, эритробластами, базофильными нормобластами, число способных к делению клеток меньше или равно 8.

II класс зрелости (ЭО2) представлен базофильными и полихроматофильными нормобластами, число эритроидных клеток, способных к делению от 9 до 16.

III класс зрелости (ЭО3) представлен полихроматофильными и оксифильными нормобластами, а также ретикулоцитами, число ядросодержащих клеток, не способных к делению, более 16.

Инволюцирующие эритробластические островки (ЭОинв) представлены полихроматофильными, оксифильными нормобластами и ретикулоцитами, число ядросодержащих клеток, не способных к делению, менее 16.

Реконструирующиеся эритробластические островки (ЭОрек) характеризуются присоединением к инволюцирующему эритробластическому

островку эритроидных клеток, способных к делению – проэритробластов и базофильных нормобластов.

Для анализа эритробластических островков содержание каждого класса выражали в процентах.

Исследования *in vivo*

Животные. В работе использовались 19 самцов крыс 3 месяцев породы Wistar. Условия содержания и обращение с используемыми в эксперименте животными соответствовали рекомендациям международных этических комитетов (Директива Совета ЕС2010/63/EU).

Инъекции полиоксометаллата.

Животные были разделены на группы. Первую группу составили интактные крысы (5 животных). В опытных группах 2–3 (по 7 крыс) осуществляли введение водного раствора $\{Mo_{72}Fe_{30}\}$ внутримышечно. Интактные животные служили контролем к опытным группам. Однократная доза ПОМ составила 3 мг. Количество молибдена, содержащегося в одной инъекции ПОМ, соответствовало верхней границе нормы суточного потребления молибдена, а количество железа было в 21.5 раз меньше суточной нормы железа. Животных выводили из эксперимента на первые и седьмые сутки под эфирным наркозом.

Анализ периферической крови и миеелограмма. Для анализа клеточных рядов мазки костного мозга окрашивали красителем Романовского-Гимза. Типирование клеток проводили на 500 миеелокариоцитов, используя объектив с масляной иммерсией и увеличением 100× на световом микроскопе Leica DM 250 (Германия) [3]. Для анализа периферической крови совершали забор крови из хвостовой вены крысы. Измерения образцов крови осуществляли с помощью гематологического анализатора Celly 70 фирмы Biocode-Nucel (Франция). Для выявления ретикулоцитов производили окрашивание мазков крови бриллиантовым крезиловым синим.

Статистическая обработка данных

Обработка результатов осуществлялась с помощью программ Microsoft Excel и STATISTICA 10. Достоверность различий между группами определяли с помощью U-критерия Манна-Уитни. Разницу между значениями считали статистически значимой, если вероятность ее случайного появления была ниже 0,05 ($p \leq 0,05$).

3 Результаты

Оценка ферментативной активности центральных макрофагов эритробластических островков костного мозга

Ферментативную активность макрофагов оценивали по активности неспецифической эстеразы. Во всех исследованных группах ЦХИ остается в пределах контрольных значений [10, 18] (см. рисунок 3).

Таким образом, $\{Mo_{72}Fe_{30}\}$, продукты деструкции и $FeCl_3$ не влияют на активность эстеразы в цитоплазме центральных макрофагов эритробластических островков костного мозга. Следовательно, процесс детоксикации эндотоксинов и ксенобиотиков, осуществляемый макрофагами

благодаря наличию в клетках неспецифических эстераз (в том числе α -нафтилацетатэстеразы) не нарушается при их взаимодействии с ПОМ [36].

Оценка фагоцитарной активности центральных макрофагов эритробластических островков костного мозга

При оценке фагоцитарной активности макрофагов проводился подсчет среднего количества частиц латекса, поглощенных макрофагами.

На второй день значительно уменьшилось значение фагоцитарного числа в опытных группах с $\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$ и ПД в сравнении с контролем и группой с FeCl_3 (см. рисунок 4). Таким образом, поглотительная способность центральных макрофагов эритробластических островков имеет тенденцию к уменьшению при влиянии $\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$ и ПД.

Анализ фагоцитарного индекса не выявил статистически значимых различий между контрольной и опытными группами (таблица 1).

Исследуемые вещества не влияют на активность вовлечения макрофагов в фагоцитоз, он находится на высоком уровне.

Таким образом, установлено снижение поглотительной способности макрофагов при действии $\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$ и ПД, без изменения вовлеченности клеток в процесс фагоцитоза.

Оценка качественного состава культуры эритробластических островков

Под влиянием $\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$ происходит изменение качественного состава эритробластических островков.

В первые сутки после внесения ПОМ (таблица 2) наблюдается снижение количества эритробластических островков 3-го класса и инволюционирующих эритробластических островков. Этот процесс, вероятно, является следствием ускоренного созревания и выхода из ЭО эритроидных клеток, что подтверждается увеличением числа клеток эритроидного ряда в миелограмме на 1 сутки. Одновременно возрастает число реконструирующихся эритробластических островков в группах с $\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$, ПД и FeCl_3 . Этот процесс свидетельствует о развитии в «короне» островков дополнительной волны эритропоэза, когда реконструирующиеся эритробластические островки образуются не только на основе инволюционирующих островков, но и эритробластических островков 3-го класса. Количество эритробластических островков 1-го и 2-го классов в группах с $\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$ и ПД практически не меняется, тогда как в группе с FeCl_3 происходит увеличение числа эритробластических островков 2-го класса, что обусловлено ролью железа в пролиферации эритроидных клеток.

На вторые сутки после внесения $\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$ (таблица 3) возрастает число пролиферирующих эритробластических островков 2-го и 3-го классов, на фоне сохранения числа островков 1-го класса, что связано с вовлечением новых макрофагов в эритропоэз и активной пролиферацией эритроидных клеток. В то же время в группе с ПД усиливается тенденция, наметившаяся в 1 сутки - наблюдается увеличение реконструирующихся эритробластических островков на фоне уменьшения количества островков 1 класса зрелости, что

свидетельствует о влиянии отдельных ПД на дополнительную (компенсаторную) форму эритропоэза, тогда как $\{Mo_{72}Fe_{30}\}$ воздействует преимущественно на основной путь эритропоэза в эритробластических островках. В группе с $FeCl_3$ не произошло существенных сдвигов в составе эритрообразующих единиц.

На третьи сутки после внесения $\{Mo_{72}Fe_{30}\}$ (таблица 4) наблюдается смещение классов эритробластических островков в сторону более зрелых пролиферирующих островков 2 класса, содержащих базофильные и полихроматофильные нормобласты, а также созревающих островков 3 класса зрелости, представленных оксифильными нормобластами и ретикулоцитами. Эти данные свидетельствуют о том, что на третьи сутки под влиянием ПОМ происходит ускорение процесса созревания эритроцитов в эритробластических островках. Подобная тенденция наблюдается и при воздействии ПД, но в этом случае эффект ускорения эритропоэза выражен слабее. Кроме того, накопление большого количества инволюцирующих эритробластических островков свидетельствует о замедлении их диссоциации. В группе с $FeCl_3$ наблюдается тенденция, наметившаяся с 1-х суток - увеличение числа эритробластических островков 2-го класса.

Оценка гематологических показателей

В рамках исследования был проведен анализ периферической крови крыс. Данные представлены в таблице 5.

Анализ периферической крови крыс позволил выявить следующие закономерности. В ходе анализа было выявлено достоверно значимое увеличение количество эритроцитов при введении ПОМ и ПД, которое также сопровождается повышением уровня гемоглобина и значений гематокрита. Наиболее сильные изменения наблюдаются в группе введения $\{Mo_{72}Fe_{30}\}$ на 1 сутки: количество эритроцитов выросло на 61%, уровень гемоглобина на 36%, гематокрит изменился на 17%. Это согласуется с ранее полученными данными по коррекции экспериментальной постгеморрагической анемии с использованием нанокластерных железо-молибденовых полиоксометаллатов [13]. Кроме того, отмечается повышение показателя насыщения эритроцита гемоглобином, что также согласуется с данными выше.

Имеется тенденция повышения количества лейкоцитов (WBC) (за счет увеличения лимфоцитов) при введении ПОМ и ПД, однако значимые различия отсутствуют, а показатели входят в референсный интервал [1, 2]. Данная тенденция может объясняться тем, что внутримышечное введение препаратов железа может вызывать стрессовую реакцию у исследуемых животных [30, 33].

Миелограмма

Разовые инъекции $\{Mo_{72}Fe_{30}\}$ и продуктов его деструкции не оказали значимого влияния на клеточность костного мозга. Однако при введении исследуемых веществ в течение семи суток наблюдается увеличение клеточности костного мозга как в группе с ПОМ, так и в группе с ПД (таблица 6).

Для понимания причин повышения данного показателя был осуществлен анализ миелограммы костного мозга животных (таблица 7).

При оценке миелокариоцитов было выявлено значимое увеличение количества клеток эритроидного ряда, а также ретикулоцитов в группе {Mo₇₂Fe₃₀} (7 суток). При этом стоит отметить, что количество ретикулоцитов значимо выше при введении ПОМ в течение 7-ми суток как в сравнении с интактными животными, так и с группой ПД (7 суток). Соответственно, влияние ПОМ определяется не только влиянием железа и молибденсодержащих ионов, являющихся продуктами его деструкции, но специфическими свойствами нанокластерной формы ПОМ.

Также можно отметить, что нейтрофильный ряд уменьшается, аналогично наблюдаемому при постгеморрагической анемии [13], что описывалось ранее как компенсаторный механизм росту клеток эритроидного ростка.

Данные согласуются с повышением значения клеточности костного мозга и могут свидетельствовать о возможном появлении эритроидного ростка в сравнении с интактными животными. Ранее также было показано воздействие ПОМ на кроветворные органы – тимус и селезенку [4, 34].

4 Обсуждение

Железо играет важную роль во многих клеточных процессах, включая синтез ДНК, клеточный метаболизм и дыхание, а также механизмы роста и гибели клеток за счет железосодержащих и связывающих железо белков и ферментов. Кроме того, железо является основным компонентом гемоглобина (Hgb) и, таким образом, необходимо для транспортировки кислорода в эритроцитах [11]. Метаболизм железа жестко регулируется множеством механизмов.

Макрофаги являются клетками врожденной иммунной системы и выполняют важные функции в развитии, тканевом гомеостазе и иммунитете [23, 32, 33]. В частности, популяции макрофагов играют ключевую роль в качестве клеточных компонентов метаболизма железа для поддержания баланса между наличием достаточного уровня железа и предотвращением токсического количества железа в организме [20, 31]. Они используют различные механизмы для контроля эритропоэза и обработки железа. Макрофаги красной пульпы в селезенке, клетки Купфера в печени и центральные макрофаги эритробластических островков костного мозга обеспечивают скоординированный метаболизм железа для поддержки эритропоэза [20, 31]. Популяции макрофагов обладают огромной способностью перерабатывать от 90 до 95% железа в организме и поддерживать эффективный эритропоэз [17, 20, 31].

Макрофаги контролируют импорт и экспорт железа из клеток. В то время как железо поглощается макрофагами в различных формах, таких как трансферрин-связанное железо, гемовое железо, Hgb-связанное железо, и в качестве свободного железа, выход железа из макрофагов происходит только через ферропортин-1 (FPN1); кодируется геном *SLC40A1* [20, 28, 31].

Анализ влияния полиоксометаллата $\{Mo_{72}Fe_{30}\}$ и продуктов его деструкции на центральные макрофаги эритробластических островков показал, что $\{Mo_{72}Fe_{30}\}$ и продукты его деструкции не приводят к значимому изменению показателей активности неспецифической эстеразы (α -нафтилацетатэстеразы), важного компонента системы детоксикации клетки.

В ходе исследования было отмечено снижение поглотительной способности центральных макрофагов без изменения вовлеченности клеток в фагоцитоз для макрофагов под воздействием ПОМ и ПД, в отличие от воздействия $FeCl_3$, что может быть связано с изменением фенотипа центральных макрофагов. Наночастицы способны направлять макрофаги к различным поляризационным состояниям [19, 24, 25, 28]. Множество исследований показали перспективность применения данного явления в медицине. Так, например, в 2016 году Саид Зангане и др. обнаружили, что клинически одобренная наночастица оксида железа ферумокситол может ингибировать рост опухоли, поляризуя макрофаги в направлении M1 [38]. Также было показано, что макрофаги, обработанные суперпарамагнитными наночастицами оксида железа (SPION) в комплексе с IL4, демонстрируют повышенную экспрессию генов, таких как IL10 и ARG1, и белков (CCL2 и IL1Ra), обычно связанных с фенотипом M2, что позволяет рассматривать их в качестве магнитно-чувствительных переключателей про- и противовоспалительной активности [15]. Золотые наночастицы, покрытые пептидами, индуцируют M2-поляризацию макрофагов *in vitro* и *in vivo* для эффективного регулирования воспаления легких, защиты легких от травм и содействия разрешению воспаления [37].

Имеются данные о том, что поляризация макрофагов мышей также влияет на гомеостаз железа [19]. Так, например, макрофаги M1 характеризуются как клетки, задерживающие железо, что имеет значение из-за их бактериостатических свойств, но также представляет собой клеточную основу для анемии при хронических заболеваниях. В отличие от связывающей железо активности провоспалительных клеток M1, макрофаги M2 экспрессируют низкие уровни белка-накопителя железа ферритина и активно экспортируют железо через ферропортин [17, 20, 31]. Такая разница между активностью M1 и M2 приводит к значительным различиям как во внутриклеточной, так и во внеклеточной доступности железа.

Изменение поглотительной способности макрофагов может быть связано с их поляризацией из провоспалительного фенотипа (M1) в противовоспалительный (M2) для которого в меньшей степени характерно накопление железа. Установлено, что именно макрофаги M2 играют ключевую роль в созревании эритробластов, способствуя обмену железом. Они взаимодействуют путем связывания интегрина $\alpha 4\beta 1$, ICAM-4 и Emp (макрофагального белка эритробластов) на эритробластах с VCAM-1 (CD106), и Emp на макрофагах [17, 20, 26, 31].

Анализ состава эритробластических островков выявил, что под влиянием ПД и $\{Mo_{72}Fe_{30}\}$ идет более интенсивное созревание эритроидных

клеток в короне эритробластических островков. Так, в первые сутки после внесения ПОМ вследствие ускоренного созревания и диссоциации эритробластических островков, наблюдается снижение количества эритробластических островков 3-го класса и инволюцирующих эритробластических островков. В миелограмме на 1 сутки также обнаружено увеличение числа клеток эритроидного ряда. Одновременное увеличение числа реконструирующихся эритробластических островков в группах с ПОМ и ПД свидетельствует о развитии в «короне» островков дополнительной волны эритропоэза. Данная тенденция в группе с ПД усиливается ко 2 суткам, что свидетельствует о влиянии отдельных ПД на дополнительную (компенсаторную) форму эритропоэза. $\{Mo_{72}Fe_{30}\}$, в свою очередь, воздействует преимущественно на основной путь эритропоэза в эритробластических островках. Под его влиянием на вторые сутки возрастает число эритробластических островков пролиферирующих классов, что связано с активной пролиферацией эритроидных клеток, а к третьим суткам – созревающих островков, представленных оксифильными нормобластами и ретикулоцитами. Полученные данные свидетельствуют о том, что воздействие $\{Mo_{72}Fe_{30}\}$ вызывает ускорение процесса созревания эритроцитов в эритробластических островках.

Анализ миелограммы костного мозга крыс показал, что при введении исследуемых веществ ($\{Mo_{72}Fe_{30}\}$ и ПД) в течение семи суток происходит увеличение клеточности костного мозга, при этом рост показателя объясняется в том числе и увеличением количества клеток эритроидного ряда, а также ретикулоцитов. Представленные данные могут свидетельствовать о возможном появлении эритроидного ростка. Результаты исследования объясняют повышенный уровень гемоглобина у крыс, получавших ПОМ как в течении одних суток, так и в течение семи дней.

5 Заключение

Воздействие нанокластерного полиоксометаллата $\{Mo_{72}Fe_{30}\}$ на эритропоэз отличается от такового как для ионов трехвалентного железа, так и для продуктов деструкции ПОМ и обусловлено не только присутствием молибдена и железа в его составе, но и особенностями его наноразмерной структуры. Механизм влияния ПОМ на эритропоэз может быть связан с поляризацией центральных макрофагов эритробластических островков в фенотип M2, что способствует более быстрому созреванию ЭО, увеличению численности клеток эритроидного ряда, а также ретикулоцитов и как следствие повышению уровня гемоглобина.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект № 123031300049-8), а также в рамках государственного задания Института иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук (ИИФ УрО РАН) № 122020900136-4.

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Сравнение фагоцитарного индекса при влиянии исследуемых веществ в разные сутки культивирования макрофагов костного мозга. Приводятся медианные значения (первый квартиль; третий квартиль).

Table 1. Comparison of the phagocytic index under the influence of the studied substances on different days of cultivation of bone marrow macrophages. The median values are given (first quartile; third quartile).

исследуемые вещества investigated substances	<i>Фагоцитарный индекс, %</i> <i>Phagocytic index, %</i>		
	1 сутки 1 day	2 сутки 2 days	3 сутки 3 days
Контроль Control	100 (100;100)	100 (100;100)	76 (65;85)
FeCl₃	95 (92;97)	100 (100;100)	95 (41;43)
ПД PD	100 (100;100)	100 (100;100)	91 (55;60)
{Mo₇₂Fe₃₀}	100 (100;100)	100 (100;100)	76 (65;85)

Таблица 2. Количество эритробластических островков разных классов зрелости в костном мозге крыс, первые сутки. Приводятся медианные значения (первый квартиль; третий квартиль).

Table 2. The number of erythroblastic islands of different maturity classes in the bone marrow of rats, the first day. The median values are given (first quartile; third quartile).

	<i>1 сутки, %</i> <i>1 day, %</i>			
<i>Классы зрелости:</i> <i>maturity classes:</i>	Контроль Control	FeCl₃	ПД PD	{Mo₇₂Fe₃₀}
I класс I class	80 (77; 85)	70 (58; 75)	40 (38; 43) *	70 (63;78) ^
II класс II class	5 (1; 8)	15 (10; 21) *	0 (0;0)	5 (0; 6) #^
III класс III class	5 (1; 8)	0 (0;0)	0 (0;0)	0 (0;0) *
Реконструирующиеся Reconstructing	0 (0;0)	10 (7;17) *	50 (48; 60) *	20 (15; 23) *#^
Инволюцирующие Involutive	10 (5; 16)	5 (0; 7) *	10 (7; 11)	5 (0; 8) *^

Примечание: * – различие с группой контроля достоверно ($p < 0,05$), # – различие с группой FeCl₃ достоверно ($p < 0,05$), ^ – различие с группой ПД достоверно ($p < 0,05$).

Note: * – difference with control group is significant ($p < 0.05$), # – difference with FeCl₃ group is significant ($p < 0.05$), ^ – difference with PD group is significant ($p < 0.05$).

Таблица 3. Количество эритробластических островков разных классов зрелости в костном мозге крыс, вторые сутки. Приводятся медианные значения (первый квартиль; третий квартиль).

Table 3. The number of erythroblastic islands of different maturity classes in the bone marrow of rats, the second day. The median values are given (first quartile; third quartile).

	<i>2 сутки, %</i> <i>2 days, %</i>			
<i>Классы зрелости:</i> <i>maturity classes:</i>	Контроль Control	FeCl₃	ПД PD	{Mo₇₂Fe₃₀}
I класс I class	52 (40;58)	57 (49; 65)	13 (5; 20) *#	41 (32; 55) #^
II класс II class	3 (0; 6)	9 (0; 12)	26 (12; 32)	16 (12; 21) *
III класс III class	0 (0;0)	0 (0;0)	6 (0; 7)	5 (1;8) *#
Реконструирующиеся Reconstructing	18 (11; 20)	26 (15; 32)	26 (25; 38) *	11 (7; 15) ^
Инволюцирующие Involutive	27 (15; 35)	9 (0; 18) *	29 (23; 30) #	27 (20; 40) #

Примечание: * – различие с группой контроля достоверно ($p < 0,05$), # – различие с группой FeCl₃ достоверно ($p < 0,05$), ^ – различие с группой ПД достоверно ($p < 0,05$)

Note: * – difference with control group is significant ($p < 0.05$), # – difference with FeCl₃ group is significant ($p < 0.05$), ^ – difference with PD group is significant ($p < 0.05$)

Таблица 4. Количество эритробластических островков разных классов зрелости в костном мозге крыс, третий сутки. Приводятся медианные значения (первый квартиль; третий квартиль).

Table 4. The number of erythroblastic islands of different maturity classes in the bone marrow of rats, the third day. The median values are given (first quartile; third quartile).

	<i>3 сутки, %</i> <i>3 days, %</i>			
<i>Классы зрелости:</i> maturity classes:	Контроль Control	FeCl₃	ПД PD	{Mo₇₂Fe₃₀}
I класс I class	55 (45; 29)	64 (54; 70)	33 (25; 43) *#	19 (8; 25) *#^
II класс II class	7 (0; 8)	11 (6; 13) *	15 (7; 17) *	22 (10; 25) **
III класс III class	5 (0; 4)	4 (0; 7)	13 (7; 15) *	21 (10; 27) **
Реконструирующиеся Reconstructing	27 (25; 31)	16 (15; 21) *	20 (15; 26)	28 (12; 33) #
Инволюцирующие Involutive	5 (4; 7)	4 (0; 3)	20 (15; 26) *#	10 (4; 13) *# ^

Примечание: * – различие с группой контроля достоверно ($p < 0,05$), # – различие с группой FeCl₃ достоверно ($p < 0,05$), ^ – различие с группой ПД достоверно ($p < 0,05$).

Note: * – difference with control group is significant ($p < 0.05$), # – difference with FeCl₃ group is significant ($p < 0.05$), ^ – difference with PD group is significant ($p < 0.05$).

Таблица 5. Гематологические показатели.

Table 5. Hematological parameters.

Показатель Parameter	Интактные Intact	{Mo ₇₂ Fe ₃₀ }		ПД PD	
		1 сутки 1 day	7 сутки 7 day	1 сутки 1 day	7 сутки 7 day
WBC	7,8±1,4	11±1,1	10,8±0,4	9,1±0,7	10±0,6
Lymph	4,5±0,7	6,8±0,9	5,6±0,4	6,3±0,5	5,3±0,5
Mon	0,2±0,1	0,3±0,02	0,2±0,01	0,2±0,03	0,3±0,01
Gran	3,1±0,9	2,6±0,5	2,7±0,6	2,5±0,2	2,2±0,5
Lymph, %	60,6±5,3	69,8±2,0	69,5±2,1	69,6±0,9	67,3±2,4
Mon, %	3,2±0,1	2,7±0,1	3,0±0,2	2,7±0,1	2,6±0,1
Gran, %	38,2±5,0	27,5±1,8	21,2±2,4	28,1±1,0	26,0±3,2
RBC	7,5±1,0	12,1±0,3 *	10,6±0,2 *	10,8±0,5 *	9,4±1,0
HGB	159±4,7	217,2±8,2 *	197,0±8,5 *#	197,1±13,8 *	173,3±5,2
HCT	44,6±4,5	61,6±2,1 *	52,2±1,5 *	61,0±2,8 *	51,4±2,3 *
MCV	52,6±1,3	53,8±0,6	49,2±0,6	56,6±0,8	50,0±0,5
MCH	17,7±0,4	17,9±0,3	17,3±0,3	17,5±0,3	17,6±0,1
MCHC	337,2±3,5	350,5±4,4 *	352,0±1,5 *	345,6±2,8	359,0±2,6 *
RDW	12,7±0,3	12,9±0,1	16,1±0,2	13,5±0,2	15,7±0,3
PLT	475,2±62,7	480,0±67,2	481,7±26,5	483,6±42,6	489,8±17,5
MPV	6,6±0,1	6,8±0,05	6,5±0,06	6,4±0,1	6,5±0,1
PDW	16,4±0,6	15,9±0,1	16,9±0,07	15,7±0,1	15,9±0,1
PCT	0,4±0,03	0,4±0,04	0,3±0,01	0,4±0,1	0,3±0,1

Примечание: * – различие с группой контроля достоверно (p < 0,05), # – различие с группой ПД на 7 сутки достоверно (p < 0,05).

Note: * – the difference with the intact group is significant (p < 0.05), # – the difference with the PD group on day 7 is significant (p < 0.05).

Таблица 6. Показатель клеточности костного мозга.

Table 6. Bone marrow cell count.

	Интактные Intact	{Mo ₇₂ Fe ₃₀ }		ПД PD	
		1 сутки 1 day	7 сутки 7 days	1 сутки 1 day	7 сутки 7 days
Клеточность, 10 ⁶ / на бедро Cellularity, 10 ⁶ /On the hip	40,80±1,16	41,00±0,36	50,50±2,17 *	40,33±1,96	52,83±2,09 *

Примечание: * – различие с группой контроля достоверно (p <0,05).

Note: * – the difference with the intact group is significant (p <0.05).

Таблица 7. Миелограмма.

Table 7. Myelogram.

Показатели Parameters	Интактные Intact	{Mo ₇₂ Fe ₃₀ }		ПД PD	
		1 сутки 1 day	7 сутки 7 days	1 сутки 1 day	7 сутки 7 days
ретикулярные клетки reticular cells	1,10±0,08	1,10±0,14	1,36±0,12 ^{*#}	1,15±0,004 [#]	1,11±0,04
эритроидные клетки (всего) erythroid cells (total)	20,73±0,44	24,30±0,38 [*]	22,85±0,41 [*]	22,24±0,23	19,24±0,46
нейтрофильный ряд (всего) neutrophilic series (total)	62,20±0,50	58,77±0,15 [*]	57,94±0,59 [*]	59,61±0,72 [*]	58,43±0,59 [*]
базофильный ряд (всего) basophilic series (total)	1,37±0,10	1,47±0,12	1,78±0,06 ^{*#}	1,43±0,05 [#]	2,38±0,08 [*]
эозинофильный ряд (всего) eosinophilic series (total)	0,64±0,04	0,69±0,06	1,42±0,12 ^{*#}	0,69±0,09	2,01±0,06 [*]
моноцитарный ряд (всего) monocyte series (total)	2,61±0,22	4,13±0,27 ^{*&}	3,97±0,17 ^{*#}	4,30±0,16 [*]	5,01±0,14 [*]
лимфоидный ряд (всего) lymphoid series (total)	7,24±0,17	7,53±0,36 ^{&}	8,55±0,40 ^{*#}	8,25±0,50 [*]	10,89±0,32 [*]
мегакариоцитарный ряд (всего) megakaryocytic series (total)	0,46±0,08	0,42±0,10	0,30±0,05 ^{*#}	0,43±0,05	0,14±0,04 [*]
Плазмоциты plasmocytes	1,51±0,11	1,59±0,09	1,26±0,06 ^{*#}	1,60±0,13	0,79±0,08 [*]

Примечание: * – различие с группой контроля достоверно (p < 0,05), & – различие с группой ПД на 1 сутки достоверно (p < 0,05), # – различие с группой ПД на 7 суток достоверно (p < 0,05).

Note: * – the difference with the intact group is significant (p < 0.05), & – the difference with the PD group on day 1 is significant (p < 0.05), # – the difference with the PD group on day 7 is significant (p < 0.05).

РИСУНКИ

Рисунок 1. Фагоцитарная активность макрофагов костного мозга: 1 – ядро; 2 – цитоплазма; 3 – частицы латекса. Окрашивание по Романовскому-Гимзе после инкубирования с частицами латекса, ув. x400.

Figure 1. Phagocytic activity of bone marrow macrophages: 1 - nucleus; 2 - cytoplasm; 3 – latex beads. Romanowsky-Giemsa staining after incubation with latex beads, eq. x400.

Рисунок 2. Морфологические признаки эритробластических островков: А – ЭО 1 класса; В – ЭО 2 класса; С – ЭО 3 класса; D – инволюцирующие ЭО; Е – реконструирующиеся ЭО. Масляная иммерсия, ув. x1000.

Figure 2. Morphologic features of erythroblastic islands (EI): A – EI 1; B – EI 2; C – EI 3; D – involutive EI; E – reconstructing EI. Oil immersion, eq. x1000.

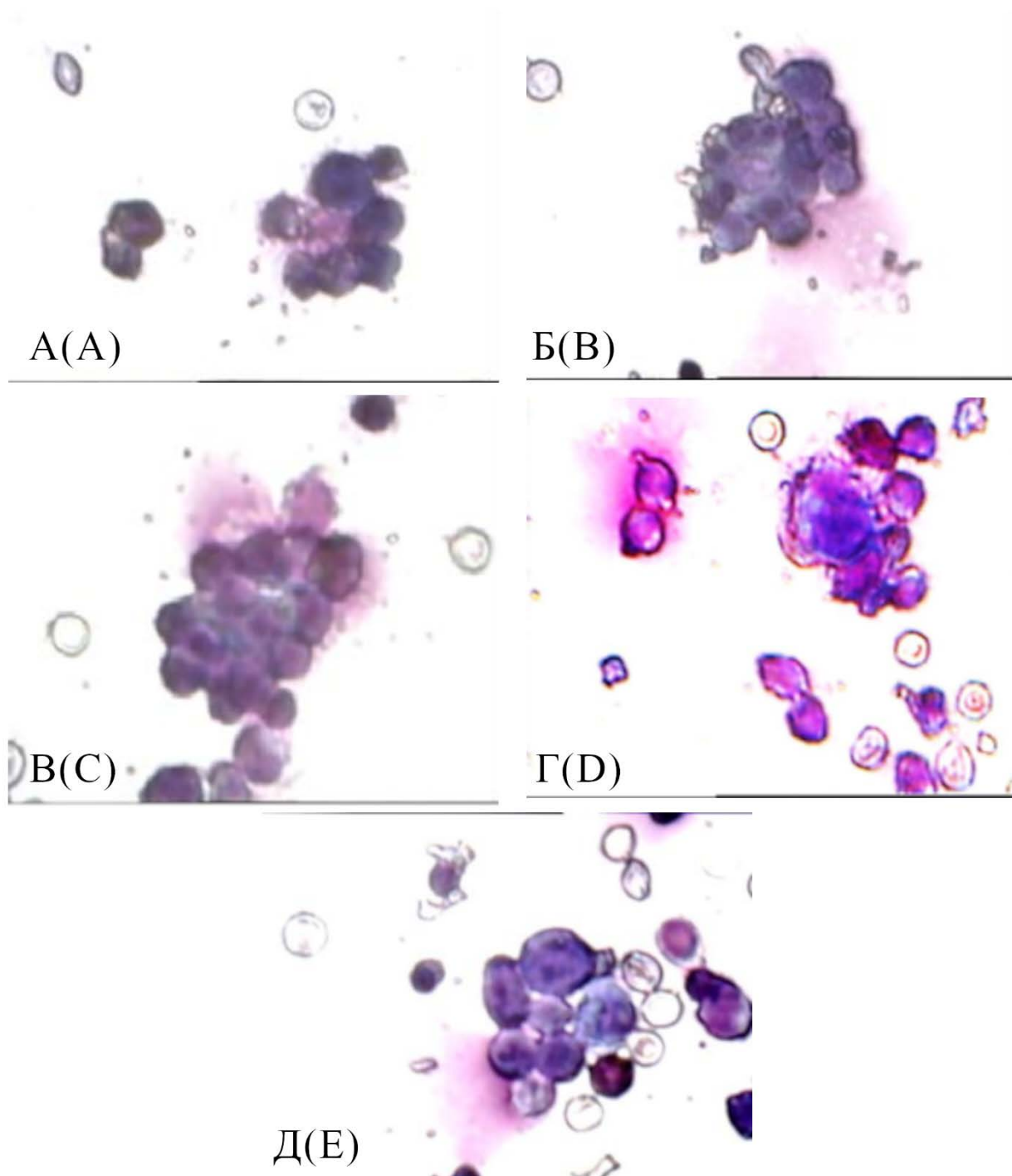


Рисунок 3. Сравнение ферментативной активности при влиянии исследуемых веществ на третьи сутки культивирования макрофагов костного мозга.

Figure 3. Comparison of enzymatic activity after the influence of the tested substances on day three of cultivation of bone marrow macrophages.

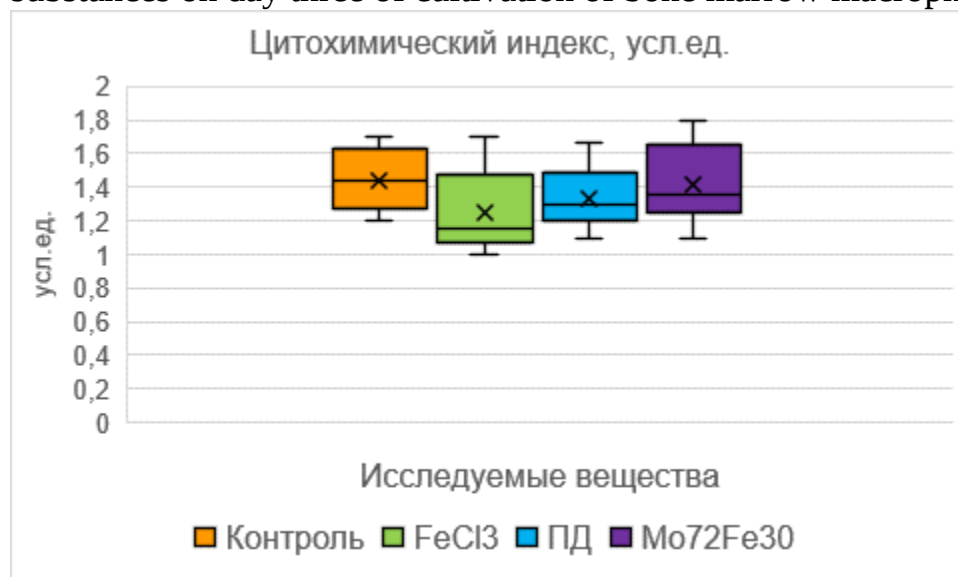
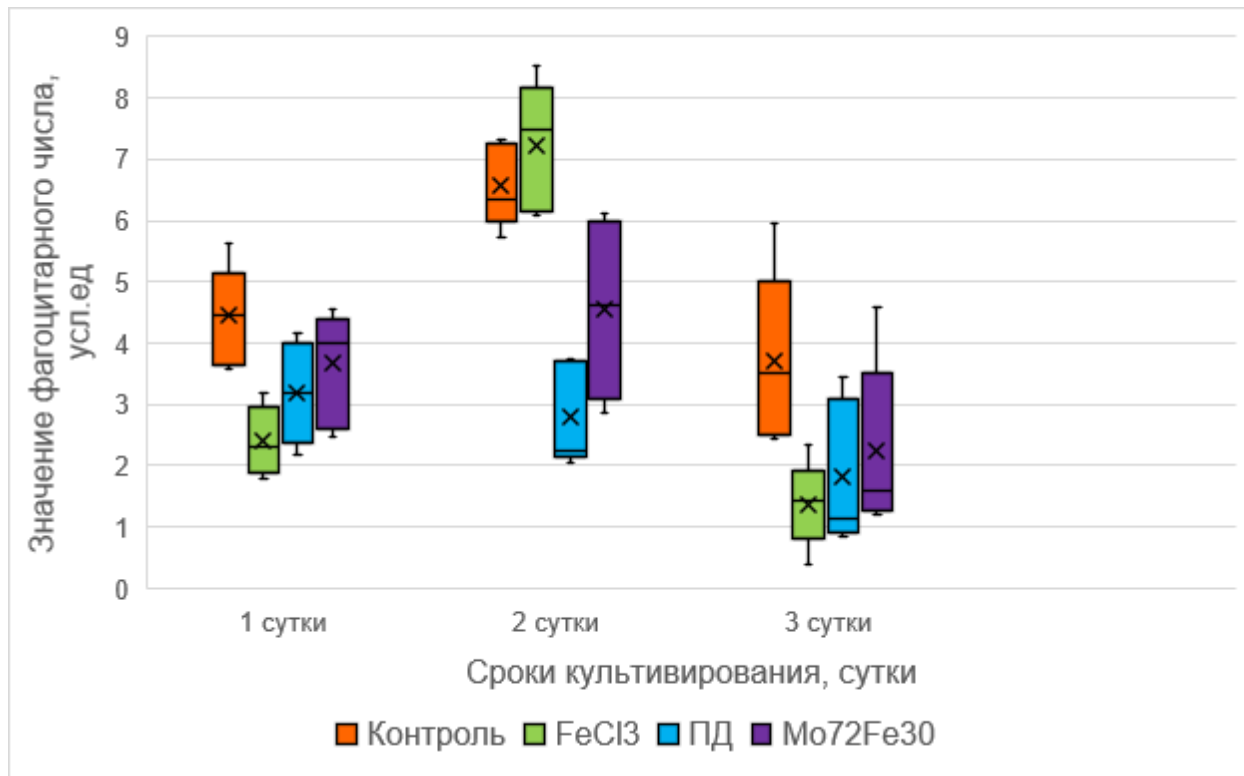


Рисунок 4. Сравнения средних значений фагоцитарного числа при влиянии исследуемых веществ в разные сутки культивирования макрофагов костного мозга.

Figure 4. Comparison of the average phagocytic numbers under the influence of the studied substances at different days of macrophage cultivation in bone marrow.



Примечание: * – различие с группой контроля достоверно ($p < 0,05$), # – различие с группой FeCl₃ достоверно ($p < 0,05$).

Note: * – the difference with the control group is significant ($p < 0.05$), # – the difference with the FeCl₃ group is significant ($p < 0.05$).

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДАННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Титова Светлана Андреевна, младший научный сотрудник;
ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина»;

адрес: 620062, Россия, г. Екатеринбург, ул. Куйбышева, 48;

телефон/факс: 8 (962)314-41-00;

e-mail: titova.svetlana@urfu.ru

Svetlana A. Titova, Junior Researcher;

Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin;

address: 48, Kuibysheva Street, Yekaterinburg 620062, Russian Federation;

telephone/fax: 8 (962)314-41-00;

e-mail: titova.svetlana@urfu.ru

Блок 2. Информация об авторах

Тонкушина Маргарита Олеговна, к.х.н., старший научный сотрудник,
ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия;

Margarita Olegovna Tonkushina, Ph. D., Senior Researcher, Ural Federal University named after the First President of Russia B.N. Yeltsin;

Остроушко Александр Александрович, д.х.н., профессор, главный научный сотрудник, заведующий отделом, ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия;

Alexander Alexandrovich Ostroushko, Dr. Sc., Professor, Chief Researcher and Head of Department, Ural Federal University named after the First President of Russia B.N. Yeltsin;

Улитко Мария Валерьевна, к.б.н., доцент, директор департамента, ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия;

Maria Valeryevna Ulitko, Ph. D., Associate professor, Director of the Department, Ural Federal University named after the First President of Russia B.N. Yeltsin;

Бриллиант Светлана Александровна, к.б.н., научный сотрудник, ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения РАН, г. Екатеринбург, Россия;

Svetlana Alexandrovna Brilliant, Ph.D, researcher, Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences;

Данилова Ирина Георгиевна, д.б.н., доцент, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией, ФГАОУ ВО «Уральский федеральный

университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия, ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения РАН, г. Екатеринбург, Россия;

Irina Georgievna Danilova, Dr. Sc., Associate Professor,

Ural Federal University named after the First President of Russia B.N. Yeltsin, Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences.

Блок 3. Метаданные статьи

ВОЗДЕЙСТВИЕ НАНОКЛАСТЕРНЫХ ЖЕЛЕЗОМОЛИБДЕНОВЫХ ПОЛИОКСОМЕТАЛЛАТОВ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ МАКРОФАГОВ И СОСТОЯНИЕ ЭРИТРОБЛАСТИЧЕСКИХ ОСТРОВКОВ КОСТНОГО МОЗГА.

EFFECT OF IRON-MOLYBDENUM NANOCUSTER POLYOXOMETALATES ON THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF MACROPHAGES AND THE STATE OF BONE MARROW ERYTHROBLASTIC ISLANDS

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

ВОЗДЕЙСТВИЕ ПОЛИОКСОМЕТАЛЛАТА НА ЭРИТРОПОЭЗ

EFFECT OF POLYOXOMETALATE ON ERYTHROPOIESIS

Ключевые слова: эритробластический островок, костный мозг, нанокластерные полиоксометаллаты, макрофаги, противоанемичное действие.

Keywords: erythroblastic islands, bone marrow, nanocluster polyoxometalates, macrophages, antianemic effect.

Оригинальные статьи,

Количество страниц текста – 13,

Количество таблиц – 7,

Количество рисунков – 4.

13.02.2025

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядков ый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет- адрес (URL) цитируемой статьи или ее doi.
1	Абрашова Т. В., Гушин А. Я., Ковалева М. А., Рыбакова А. В., Селезнева А. И. Справочник. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных. – Санкт-Петербург: ООО "Издательство «ЛЕМА», 2013. – 116 С.	Abrashova T. V., Guschin A. Ya., Kovaleva M. A., Rybakova A.V., Selezneva A. I. Handbook. Physiological, biochemical and biometric indicators of the norm of experimental animals. Saint Petersburg: LEMA Publishing House. 2013. P. 116.	https://www.elibrary.ru/item.asp?edn=ptsruo
2	Балабекова М. К., Нурмухамбетов А. Н., Ударцева Т. П., Нургалиева Т. К. Показатели периферической крови и клеточный состав костного мозга крыс с экспериментальным воспалением // Вестник Казахского Национального медицинского университета. 2010. № 5–3. С. 281–286.	Balabekova M. K., Nurmukhambetov A. N., Udartseva T. P., Nurgalieva T. K. Peripheral blood parameters and cellular composition of bone marrow in rats with experimental inflammation // Bulletin of the Kazakh National Medical University. 2010. V 5–3. P. 281–286.	https://cyberleninka.ru/article/n/pokazateli-perifericheskoy-krovi-i-kletochnyy-sostav-kostnogo-mozga-krys-s-eksperimentalnym-vospaleniem
3	Бриллиант С., Юшков Б. Исследование гемоглобинового спектра костного	Brilliant S.A., Yshkov B.G. The study hemoglobine	extension://cinfafgbaachkaamaeglolofeahelkd/pdf

	мозга крыс в условиях репаративной регенерации печени // Медицинская иммунология. 2015. № S (17). С. 16.	spectrum of rats bone marrow with post-hemorrhagic anemia. Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2018, Vol. 15, no. 4, pp. 570–576.	- viewer.html?file=http%3A%2F%2Fvestnikural.ru%2Fuploads%2F2018%2F2018_4%2Facademia-15_4_2018_%25D1%2581%25D1%2582%25D1%2580.%2520570-576.pdf [DOI:10.22138/2500-0918-2018-15-4-570-576 (In Russ)]
4	Данилова И. Г., Гетте И. Ф., Медведева С. Ю. Влияние нанокластерных железомолибденовых полиоксометаллатов на апоптоз лейкоцитов крови и содержание белков теплового шока в клетках тимуса и селезенки крыс // Российские нанотехнологии. 2016. № 9–10 (11). С. 108–115.	Influence of iron-molybdenum nanocluster polyoxometalates on the apoptosis of blood leukocytes and the level of heat-shock proteins in the cells of thymus and spleen in rats / I. G. Danilova, I. F. Gette, S. Y. Medvedeva [et al.] // Nanotechnologies in Russia. – 2016. – Vol. 11, No. 9-10. – DOI 10.1134/S1995078016050049. – EDN XFMHUN.	https://www.elibrary.ru/item.asp?id=27577270&y sclid=m61ec9zzpk251857852 [DOI 10.1134/S1995078016050049.]
5	Драпкина О. М., Авалуева Е. Б., Бакулин И. Г. [и др.] Ведение пациентов с железодефицитной анемией на этапе	Drapkina O.M., Avalueva E.B.,	extension://cinfafllgbaachkaamaeglolofoeahelkd/pdf

	оказания первичной медико-санитарной помощи. М.: РОПНИЗ, ООО «СилицеяПолиграф», 2022. 88 с.	Bakulin I.G., Vinogradova M.A. et al. Management of patients with iron deficiency anemia at the stage of primary health care: a practical guide. M.; 2022. 88 p. (in Russian). DOI: 10.15829/ROPNIZ-zda-2022	- viewer.html?file=https%3A%2F%2Fgnicpm.ru%2Fwp-content%2Fuploads%2F2024%2F03%2F18-mr-novoe.pdf%3Fysclid%3Dm61ehdpxuk319157710 [DOI: 10.15829]
6	Захаров Ю. М., Мельников И. Ю., Рассохин А. Г. Исследование эритропоэза модифицированным методом выделения эритробластических островков костного мозга // Гематология и трансфузиология. 1984. № 4 (29). С. 52–54.	Zakharov, I.uM., Mel'nikov, I. I.u, & Rassokhin, A. G. (1984). Issledovanie éritropoéza modifitsirovannym metodom vydeleniia éritroblasticheskikh ostrovkov kostnogo mozga [Erythropoiesis studied by a modified method of isolating bone marrow erythroblastic islands]. Gematologiya i transfuziologiya, 29(4), 52–54.	https://translated.turbopages.org/proxy_u/en-ru.ru.75258582-678cff7d-bf91913b-74722d776562/https/pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6735119/
7	Захаров Ю. М., Мельников И. Ю., Рассохин А. Г. Классификация эритробластических островков костного мозга с учетом изменения их клеточного	Zakharov, I.uM., Mel'nikov, I. I.u, & Rassokhin, A. G. (1990). Klassifikatsiia éritroblasticheskikh ostrovkov kostnogo mozga s uchetom izmeneniï ikh kletochno go sostava [Classification of	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2222205/

	состава // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. 1990. № 5 (98). С. 38–42.	erythroblastic islets of the bone marrow and the study of their cellular composition]. <i>Arkhiv anatomii, gistologii i embriologii</i> , 98(5), 38–42.	
8	Захаров Ю. М. Новые подходы к исследованию эритропоэза у человека и животных. // Известия Челябинского научного центра УрО РАН. 2001. № 2. С. 99–103.	Zakharov Yu.M. New approaches to the study of erythropoiesis in animals and humans. <i>Izvestiya Chelyabinskogo nauchnogo tsentra UrO RAN</i> . 2(11): 99-103. 2001	https://www.elibrary.ru/item.asp?edn=bjiizx&ysclid=m61ez6ulkv688917922
9	Захаров Ю. М. Эритробластический островок: монография / Ю. М. Захаров, А. Г. Рассохин. - Москва : Медицина, 2002. - 279, [1] с.	Zakharov Yu.M. Erythroblastic islet: a monograph / Yu. M. Zakharov, A. G. Rassokhin. Moscow : Meditsina Publ., 2002. 279, [1] p.	https://search.rsl.ru/ru/record/01000905909?ysclid=m61f2yfgrm926049758
10	Кост Е. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования // М.: Медицина. 1975. (178).	Kost E. Handbook of clinical laboratory research methods // M.: Medicine. 1975. (178).	https://search.rsl.ru/ru/record/01007007111 https://m.eruditor.one/file/1036710/?ysclid=m61f6724mr202129140 (PDF) Handbook of clinical automation, robotics, and

			optimization edited by Gerald J. Kost with the collaboration of Judith Welsh
11	Остроушко А. А., Улитко М. В., Тонкушина М. О. [и др.]. Влияние нанокластерных молибденсодержащих полиоксометаллатов на морфофункциональное состояние фибробластов в культуре // Российские нанотехнологии. 2018. № 1–2 (13). С. 3–11	Influence of Nanocluster Molybdenum Polyoxometalates on the Morphofunctional State of Fibroblasts in Culture / A. A. Ostroushko, M. V. Ulitko, M. O. Tonkushina [et al.] // Nanotechnologies in Russia. – 2018. – Vol. 13, No. 1-2. – DOI 10.1134/S199507801801010X. – EDN YBNRJR.	https://link.springer.com/article/10.1134/S199507801801010X [DOI 10.1134/S199507801801010X.]
12	Остроушко А. А., Гетте И. Ф., Бриллиант С. А. [и др.]. Использование нанокластерных железо-молибденовых полиоксометаллатов для коррекции экспериментальной постгеморрагической анемии // Российские нанотехнологии. 2019. № 3–4 (14). С. 75–80.	Ostroushko, A.A., Gette, I.F., Brilliant, S.A. et al. Application of nanocluster iron–molybdene polyoxometalates for correction of experimental posthemorrhagic anemia. Nanotechnol Russia 14, 159–164 (2019). https://doi.org/10.1134/S1995078019020101	https://link.springer.com/article/10.1134/S1995078019020101 [https://doi.org/10.1134/S1995078019020101]
13	Патент № 2671077 C1 Российская Федерация, МПК G09B 23/28, A61K 33/26, A61P 7/06. способ коррекции постгеморрагической анемии : №	Patent No. 2671077 C1 Russian Federation, IPC G09B 23/28, A61K 33/26, A61P 7/06. method of correction of posthemorrhagic anemia : No. 2017124300 : application 07.07.2017 : published	https://patenton.ru/patent/RU2671077C1/en?ysclid=m61fdrp08x580355732

	2017124300 : заявл. 07.07.2017 : опубл. 29.10.2018 / А. А. Остроушко, М. О. Тонкушина, И. Д. Гагарин [и др.] ; заявитель Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина" (УрФУ), Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук (ИИФ УрО РАН).	29.10.2018 / А. А. Ostroushko, М. О. Tonkushina, I. D. Gagarin [et al.] ; applicant Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin" (UrFU), Federal State Budgetary Institution of Science Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (IIF Ural Branch of the Russian Academy of Sciences).	
14	Abbaspour N., Hurrell R., Kelishadi R. Review on iron and its importance for human health // Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences. 2014. V. 2 (19). P. 164.	—	https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3999603/
15	Almeida A. F., Miranda M. S., Vinhas A., Gonçalves A. I., Gomes M. E., Rodrigues M. T. Controlling Macrophage Polarization to Modulate Inflammatory Cues Using	—	https://www.mdpi.com/1422-0067/23/23/15125

	Immune-Switch Nanoparticles // International Journal of Molecular Sciences. 2022. V. 23 (23). P. 15125.		[DOI: 10.3390/ijms232315125]
16	Anaemia in women and children [Электронный ресурс]. URL: https://www.who.int/data/gho/data/themes/topics/anaemia_in_women_and_children (дата обращения: 26.12.2024).	—	https://www.who.int/data/gho/data/themes/topics/anaemia_in_women_and_children
17	Corna G., Campana L., Pignatti E., Castiglioni A., Tagliafico E., Bosurgi L., Campanella A., Brunelli S., Manfredi A. A., Apostoli P., Silvestri L., Camaschella C., Rovere-Querini, P. Polarization dictates iron handling by inflammatory and alternatively activated macrophages // Haematologica. 2010. V. 11 (95). P. 1814–1822.	—	https://haematologica.org/article/view/5776 [DOI: 10.3324/haematol.2010.023879]
18	Dhingra V. K., Gupta R. K. P., Sadana J. R. Demonstration of acid alpha naphthyl acetate esterase activity in bovine lymphocytes and monocytes or	—	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7134645/

	macrophages // Research in Veterinary Science. 1982. V. 1 (33). P. 26–30.		
19	Gaetano C., Massimo L., Alberto M. Control of iron homeostasis as a key component of macrophage polarization // Haematologica. 2010. V. 11 (95). P. 1801–1803.	—	https://haematologica.org/article/view/5771 [DOI: 10.3324/haematol.2010.030239]
20	Gammella E., Buratti, P., Cairo, G., Recalcati, S. Macrophages: central regulators of iron balance // Metallomics. 2014. V. 8 (6). P. 1336–1345.	—	https://academic.oup.com/metallomics/article/6/8/1336/6008000?login=false [DOI: 10.1039/c4mt00104d]
21	Grech B. J. Mechanistic insights into the treatment of iron-deficiency anemia and arthritis in humans with dietary molybdenum // European Journal of Clinical Nutrition. 2021. V. 8 (75). P. 1170–1175.	—	https://www.nature.com/articles/s41430-020-00845-7?error=cookies_not_supported&code=973eaf31-2f90-41ee-9561-43b60c9908f1

			[DOI: https://doi.org/10.1038/s41430-020-00845-7]
22	Hayhoe F. G. J., Quaglino D. 1980. Haematological cytochemistry. Edinburgh; N.Y.: Churchill Livingstone. P. 336.	—	https://archive.org/details/haematologicalcy00hayh/page/n13/mode/2up
23	Jackson J. 2016. Chapter 3: Immunology: Host Responses to Biomaterials. In: Lee SJ, Atala A, Yoo J (editors), In Situ Tissue Regeneration: Host Cell Recruitment and Biomaterial Design. Elsevier/Academic Press. P. 35.	—	https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1742-7061(14)00269-4
24	Laskar A., Eilertsen J., Li W., Yuan X. M. SPION primes THP1 derived M2 macrophages towards M1-like macrophages // Biochemical and Biophysical Research Communications. 2013. V. 4 (441). P. 737–742.	—	https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006291X13018068?via%3Dihub [https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2013.10.115]
25	Lucarelli, M., Gatti, A. M., Savarino, G., Quattroni, P., Martinelli, L., Monari, E., &	—	https://www.jle.com/fr/revues/ecn/e-

	Boraschi, D. Innate defence functions of macrophages can be biased by nano-sized ceramic and metallic particles // European cytokine network. 2004. V. 4 (15). P. 339–346.		docs/innate_defence_functions_of_macrophages_can_be_biased_by_nano_sized_ceramic_and_metallic_particles_264246/article.phtml
26	Martinez-Torres V., Torres N., Davis J. A., Corrales-Medina F. F. Anemia and Associated Risk Factors in Pediatric Patients // Pediatric Health, Medicine and Therapeutics. 2023. V. 14. P. 267–280.	—	https://www.dovepress.com/anemia-and-associated-risk-factors-in-pediatric-patients-peer-reviewed-fulltext-article-PHMT [DOI https://doi.org/10.2147/PHMT.S389105]
27	Mendel R. R. Metabolism of Molybdenum Metal Ions in Life Sciences / под ред. L. Banci, Dordrecht: Springer Netherlands, 2013.P. 503–528.	—	https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-007-5561-1_15 [https://doi.org/10.1007/978-94-007-5561-1_15]

28	Miao X., Leng X., Zhang Q. The Current State of Nanoparticle-Induced Macrophage Polarization and Reprogramming Research // International Journal of Molecular Sciences. 2017. V. 2 (18). P. 336.	—	https://www.mdpi.com/1422-0067/18/2/336 [DOI: 10.3390/ijms18020336]
29	Müller A., Sarkar S., Shah S. Q., Bögge, H., Schmidtman M., Kögerler P., Hauptfleisch, B., Trautwein A. X., Schünemann V. V. Archimedean Synthesis and Magic Numbers: «Sizing» Giant Molybdenum-Oxide-Based Molecular Spheres of the Keplerate Type // Angewandte Chemie International Edition. 1999. V. 21 (38). P. 3238–3241.	—	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10556914/
30	Rampton D., Folkersen J., Fishbane S., Hedenus M., Howaldt S., Locatelli F., Patni S., Szebeni J., Weiss G. Hypersensitivity reactions to intravenous iron: guidance for risk minimization and management // Haematologica. 2014. V. 11 (99). P. 1671–1676.	—	https://haematologica.org/article/view/7194

31	Recalcatti S., Locati M., Marini A., Santambrogio P., Zaninotto F., De Pizzol M., Zammataro L., Girelli D., Cairo G. Differential regulation of iron homeostasis during human macrophage polarized activation // European Journal of Immunology. 2010. V. 3 (40). P. 824–835.	—	https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/eji.200939889 [DOI: 10.1002/eji.200939889]
32	Rogler G. Immune Cells: Monocytes and Macrophages под ред. D. C. Baumgart, Cham: Springer International Publishing, 2017. P. 119–122.	—	https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-33703-6_10 [DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-33703-6_10]
33	Shafer A. W., Marlow A. A. Toxic Reaction to Intramuscular Injection of Iron // New England Journal of Medicine. 1959. V. 4 (260). P. 180–180.	—	https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM195901222600408 [DOI: 10.1056/NEJM195901222600408]
34	Sharma L., Wu W., Dholakiya S. L., Gorasiya S., Wu, J., Sitapara R., Patel V., Wang M., Zur M., Reddy S., Siegelau N., Bamba K., Barile F. A., Mantell L. L.	—	https://link.springer.com/protocol/10.1007/978-1-4939-0928-5_12

	Assessment of Phagocytic Activity of Cultured Macrophages Using Fluorescence Microscopy and Flow Cytometry Methods in Molecular Biology / под ред. I. Vancurova, New York, NY: Springer New York, 2014.P. 137–145.		[https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0928-5_12]
35	Soares M. P., Hamza I. Macrophages and Iron Metabolism // Immunity. 2016. V. 3 (44). P. 492–504.	—	https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1074-7613(16)30054-1 [DOI: 10.1016/j.immuni.2016.02.016]
36	Terriere L. C. Induction of Detoxication Enzymes in Insects // Annual Review of Entomology. 1984. V. 1 (29). P. 71–88.	—	https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev.en.29.010184.000443 [https://doi.org/10.1146/annurev.en.29.010184.000443]
37	Wang L., Zhang H., Sun L. et al. Manipulation of macrophage polarization	—	https://jnanobiotechnology.biomedcentral.com/ar

	by peptide-coated gold nanoparticles and its protective effects on acute lung injury // J. Nanobiotechnol. 2020. V. 18 (1). P. 38.		ticles/10.1186/s12951-020-00593-7 [https://doi.org/10.1186/s12951-020-00593-7]
38	Zanganeh S., Hutter G., Spitler R., Lenkov O., Mahmoudi M., Shaw A., Pajarinen J.S., Nejadnik H., Goodman S., Moseley M. Iron oxide nanoparticles inhibit tumour growth by inducing pro-inflammatory macrophage polarization in tumour tissues // Nat. Nanotechnol. 2016. V. 11. P. 986–994.	—	https://www.nature.com/articles/nnano.2016.168 [https://doi.org/10.1038/nnano.2016.168]
39	Zvereva E. Activity and heavy metal resistance of non-specific esterases in leaf beetle <i>Chrysomela lapponica</i> from polluted and unpolluted habitats // Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology. 2003. V. 4 (135). P. 383–391.	—	https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1532045603001157 [https://doi.org/10.1016/S1532-0456(03)00115-7]

