

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.²

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

²ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук,
г. Екатеринбург, Россия

Резюме. Целью данного исследования было изучение механизмов действия $\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$ на эритропоэз и гематологические показатели *in vitro* и *in vivo*. Результаты показали, что нанокластерный полиоксометаллат $\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$, продукты его деструкции (ПД) – низкомолекулярные железо и молибден-содержащие 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 $\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$ и продуктов его деструкции происходит более интенсивное созревание эритроидных клеток в короне эритробластических островков. В 1-е 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-е 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 2-е сутки после внесения $\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$ возрастает число пролиферирующих эритробластических островков.

Адрес для переписки:

Титова Светлана Андреевна
ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет
имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»
620062, Россия, г. Екатеринбург, ул. Куйбышева, 48.
Тел./факс: 8 (962) 314-41-00.
E-mail: titova.svetlana@urfu.ru

Address for correspondence:

Svetlana A. Titova
B. Yeltsin Ural Federal University
48 Kuibyshev St
Yekaterinburg
620062 Russian Federation
Phone/fax: +7 (962) 314-41-00.
E-mail: titova.svetlana@urfu.ru

Образец цитирования:

С.А. Титова, М.О. Тонкушина, А.А. Остроушко, М.В. Улитко, С.А. Бриллиант, И.Г. Данилова «Воздействие нанокластерных железомолибденовых полиоксометаллатов на функциональную активность макрофагов и состояние эритробластических островков костного мозга» // Медицинская иммунология, 2025. Т. 27, № 6. С. 1285-1300.
doi: 10.15789/1563-0625-EOI-3190

© Титова С.А. и соавт., 2025
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0 License

For citation:

S.A. Titova, M.O. Tonkushina, A.A. Ostroushko, M.V. Ulitko, S.A. Brilliant, I.G. Danilova “Effect of iron-molybdenum nanocluster polyoxometalates on the functional activity of macrophages and the state of bone marrow erythroblastic islands”, Medical Immunology (Russia)/Meditinskaya Immunologiya, 2025, Vol. 27, no. 6, pp. 1285-1300.
doi: 10.15789/1563-0625-EOI-3190

© Titova S.A. et al., 2025

The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.15789/1563-0625-EOI-3190

ков 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 3-и сутки после внесения $\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$ наблюдается смещение классов эритробластических островков в сторону более зрелых пролиферирующих островков 2-го класса. Полученные данные свидетельствуют о том, что на 3-и 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 ($\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$ и ПД) в течение 7 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 количества эритроцитов при введении исследуемых веществ ($\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$ 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

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

**Titova S.A.^a, Tonkushina M.O.^a, Ostroushko A.A.^a, Ulitko M.V.^a,
Brilliant S.A.^b, Danilova I.G.^b**

^a B. Yeltsin Ural Federal University, Yekaterinburg, Russian Federation

^b Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

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 (DP) – 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 accelerated erythroid cell maturation within the erythroblastic island corona. At 24 hours after their administration, a decreased number of class 3 and involutive erythroblastic islands was observed, due to accelerated maturation and dissociation of erythroblastic islands. This effect was confirmed by an increased number of erythroid cells in the myelogram at 24 hours after these substances administration. A simultaneous increase in the number of reconstructing erythroblastic islands in the groups treated with the polyoxometalate and its DP suggests 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 to proliferation of more mature class 2 erythroblastic islands 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 administration of its destruction products. Still, the erythropoiesis-accelerating effect was less pronounced in this series. 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 DP). 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 ($\{Mo_{72}Fe_{30}\}$ and PD). The experimental results suggest a potential stimulatory effect of this compound on erythroid lineage development.

Keywords: erythroblastic island, bone marrow, nanocluster polyoxometalates, macrophages, anti-anaemic effect

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.

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]. Основной метод 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 ма-

крофагов 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 [11], на основании полученных данных был зарегистрирован патент [12]. Кроме того, при введении ПОМ увеличение количества эритроцитов не сопровождалось отклонением от нормы размеров эритроцитов и содержания гемоглобина в каждом отдельном эритроците [11, 12].

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*.

Материалы и методы

Синтез полиоксометаллата $\{Mo_{72}Fe_{30}\}$

Синтез полиоксометаллата $[Mo_{72}Fe_{30}O_{252}(CH_3COO)_{12}\{Mo_2O_7(H_2O)\}_2\{H_2Mo_2O_8(H_2O)\}(H_2O)_{91}]\cdot150H_2O$ ($\{Mo_{72}Fe_{30}\}$) осуществляли по опубликованной методике [29]. Для синтеза использовали гептамолибдат аммония $(NH_4)_6Mo_7O_{24}\cdot4H_2O$ квалификации «х.ч.», гидразин сернокислый $N_2H_4\cdotH_2SO_4$ квалификации «ч.д.а.», уксусную кислоту ледянную CH_3COOH «х.ч.», хлорид железа (III) шестиводный $FeCl_3\cdot6H_2O$ Panreac (содержание основного вещества 97–102%), ацетат аммония CH_3COONH_4

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 (ЭО) костного мозга с $\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$, 100 мкл его водного раствора (концентрация 2,0 г/л) добавляли к 900 мкл питательной среды. Доза была отработана в предыдущих исследованиях [10, 12]. $\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$ в питательной среде постепенно деструктирует на более простые молибден и железосодержащие ионы, для оценки влияния нанокластерной структуры использовали продукты деструкции ПОМ (ПД) в качестве образцов сравнения. ПД получали кипячением раствора $\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$ (ПОМ в растворах устойчив до температуры ~ 70 °C) в концентрации 2,0 г/л в течение 3 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 FeCl_3 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 [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 раскалывали по лункам планшета для дальнейшего культивирования в среде RPMI при 37 °C в CO_2 -инкубаторе в атмосфере, содержащей 5% углекислого газа в течение одного часа. Среду заменяли на свежую и культивировали клетки в течение 1-х и 3-х суток, после чего в лунки вносили растворы $\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$, продуктов его деструкции и FeCl_3 .

Методы определения функциональных показателей центральных макрофагов

Исследование ферментативной активности центральных макрофагов эритробластических островков костного мозга

Ферментативную активность макрофагов оценивали по активности неспецифической эстера-

зы. Клетки были фиксированы на покровных стеклах парами 40% формалина в течение 5 минут. Стекла помещали в инкубационную среду, состоящую из:

- 1) 10 мг альфа-нафтилацетата растворенного в 1 мл 1%-ного 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 окрашивали 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 (–), слабоположительной (+), положительной (++) и резкоположительной (+++). Для количественного выражения результатов была использована специальная формула цитохимического индекса:

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

где А – число клеток с отрицательной реакцией (–), В – число клеток в группе со слабоположительной реакцией (+), С – число клеток в группе с положительной реакцией (++) Д – 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 (НПП «ПанЭко», США)). 50 мкл раствора частиц латекса ($\approx 1 \times 10^{10}$ /мл) добавляли к 950 мкл неинактивированной сыворотки эмбрионов коров и инкубировали в течение 60 минут при температуре 37 °C. Готовили среду, содержащую RPMI, 10% сыворотки, 100 мкл гентамицина и коллоидный раствор частиц латекса. Адгезированные макрофаги инкубировали в подготовленной среде с частицами латекса в течение 60 минут при 37 °C и 5% CO_2 . 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%-ным этанолом в течение 10 минут. После этого стекла снова высушивали и окрашивали по методу Романовского–Гимзы (рис. 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 (рН 6,8–7,2), 5–7 минут докрашивались красителем Романовского–Гимзы.

Изучение морфологии и определение классов зрелости эритробластических островков [7, 9] осуществлялось на светооптическом микроскопе ZEISS Primo Star (Германия) при увеличении ×100. Микрофотографии эритробластических островков получали с помощью цифровой цветной видеокамеры CAM 2800 (рис. 2).

Оценивая классы зрелости эритробластических островков, использовали классификацию Ю.М. Захарова и соавт. [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 ядроодержащих клеток, не способных к делению, – более 16.

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

Реконструирующиеся эритробластические островки (ЭОрек) характеризуются присоединением к инволюцирующему эритробластическому островку эритроидных клеток, способных к делению

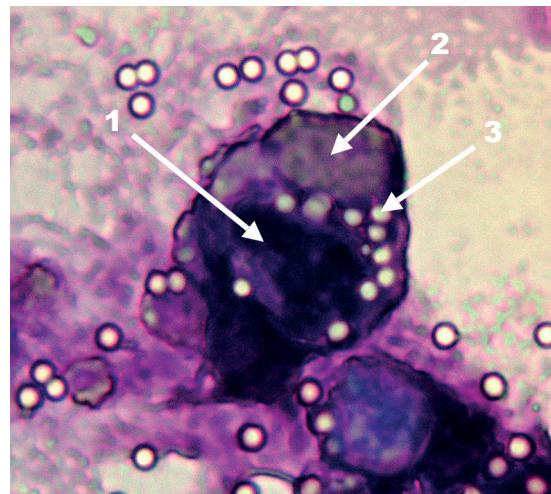


Рисунок 1. Фагоцитарная активность макрофагов костного мозга: 1 – ядро, 2 – цитоплазма, 3 – частицы латекса

Примечание. Окрашивание по Романовскому–Гимзе после инкубирования с частицами латекса, ув. ×400.

Figure 1. Phagocytic activity of bone marrow macrophages: 1, nucleus; 2, cytoplasm; 3, latex beads

Note. Romanowsky–Giems staining after incubation with latex beads, eq. ×400.

нию – 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 EC2010/63/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 раза меньше суточной нормы железа. Животных выводили из эксперимента на 1-е и 7-е сутки под эфирным наркозом.

Анализ периферической крови и миелограмма

Для анализа клеточных рядов мазки костного мозга окрашивали красителем Романов-

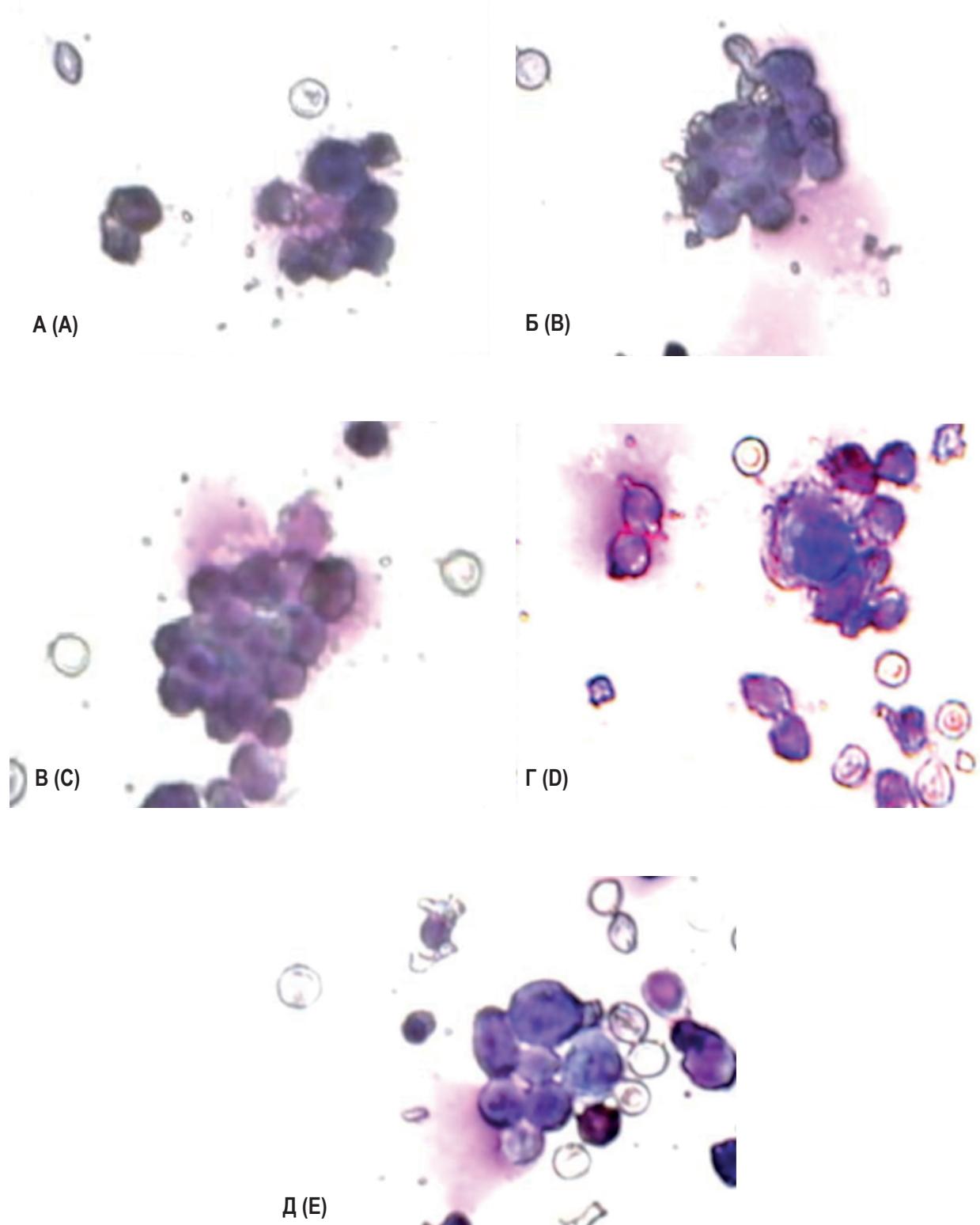


Рисунок 2. Морфологические признаки эритробластических островков: А – ЭО 1-го класса; Б – ЭО 2-го класса; В – ЭО 3-го класса; Г – инволюцирующие; Д – реконструирующиеся ЭО

Примечание. Масляная иммерсия, ув. $\times 1000$.

Figure 2. Morphologic features of erythroblastic islands (EI): A, EI 1; B, EI 2; C, EI 3; D, involutive EI; E, reconstructing EI
Note. Oil immersion, eq. $\times 1000$.

ского—Гимзы. Типирование клеток проводили на 500 миелокариоцитов, используя объектив с масляной иммерсией и увеличением $\times 100$ на световом микроскопе Leica DM 250 (Германия) [3]. Для анализа периферической крови совершили забор крови из хвостовой вены крысы. Измерения образцов крови осуществляли с помощью гематологического анализатора Celly 70 фирмы Biocode-Hycel (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 ($p \leq 0,05$).

Результаты

Оценка ферментативной активности центральных макрофагов эритробластических островков костного мозга

Ферментативную активность макрофагов оценивали по активности неспецифической эстеразы. Во всех исследованных группах цитохимический индекс остается в пределах контрольных значений [13, 18] (рис. 3).

Таким образом, $\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$, 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 (рис. 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 (табл. 1).

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

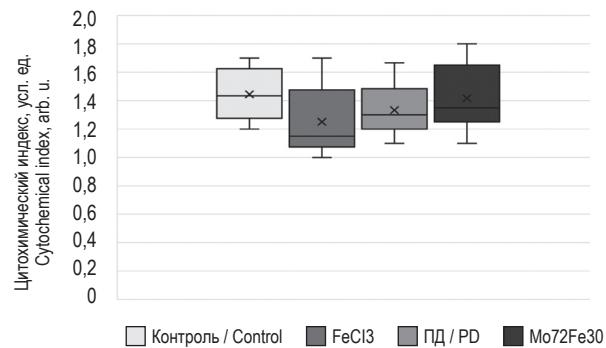


Рисунок 3. Сравнение ферментативной активности при влиянии исследуемых веществ на 3-и сутки культивирования макрофагов костного мозга

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

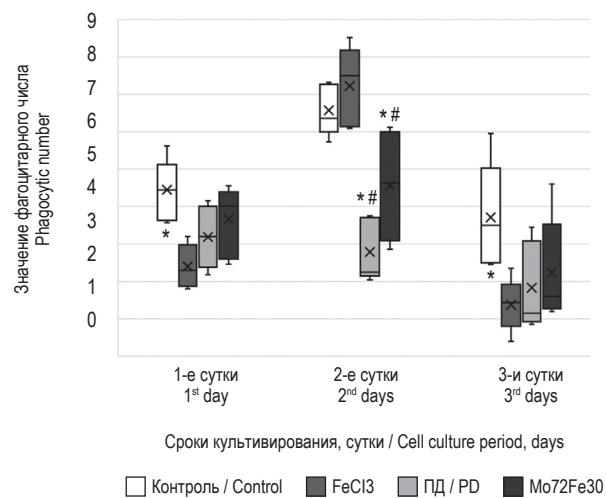


Рисунок 4. Сравнения средних значений фагоцитарного числа при влиянии исследуемых веществ в разные сутки культивирования макрофагов костного мозга

Примечание. * – различие с группой контроля достоверно ($p < 0,05$); # – различие с группой FeCl_3 достоверно ($p < 0,05$).

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

Note. *, the difference with the control group is significant ($p < 0.05$); #, the difference with the FeCl_3 group is significant ($p < 0.05$).

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 1-е сутки после внесения ПОМ (табл. 2) наблюдается снижение количества эритробластических островков 3-го класса и инволюцирующих 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-е 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 инволюцирующих 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 2-е сутки после внесения $\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$ (табл. 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-е сутки — наблюдается увеличение реконструирующихся эритробластических островков на фоне уменьшения количества островков 1-го класса зрелости, что свидетельствует о влиянии отдельных ПД на дополнительную (компенсаторную) форму эритропоэза, тогда как $\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$ воздействует пре-

имущественно на основной путь эритропоэза в эритробластических островках. В группе с FeCl_3 не произошло существенных сдвигов в составе эритрообразующих единиц.

На 3-и сутки после внесения $\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$ (табл. 4) наблюдается смещение классов эритробластических островков в сторону более зрелых пролиферирующих островков 2-го класса, содержащих базофильные и полихроматофильные нормобласти, а также созревающих островков 3-го класса зрелости, представленных оксифильными нормобластами и ретикулоцитами. Эти данные свидетельствуют о том, что на 3-и 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 количества эритроцитов при введении ПОМ и ПД, которое также сопровождается повышением уровня гемоглобина и значений гематокрита. Наиболее сильные изменения наблюдаются в группе введения $\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$ на 1-е сутки: количество эритроцитов выросло на 61%, уро-

ТАБЛИЦА 1. СРАВНЕНИЕ ФАГОЦИТАРНОГО ИНДЕКСА ПРИ ВЛИЯНИИ ИССЛЕДУЕМЫХ ВЕЩЕСТВ В РАЗНЫЕ СУТКИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МАКРОФАГОВ КОСТНОГО МОЗГА, Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

TABLE 1. COMPARISON OF THE PHAGOCYTIC INDEX UNDER THE INFLUENCE OF THE STUDIED SUBSTANCES ON DIFFERENT DAYS OF CULTIVATION OF BONE MARROW MACROPHAGES, Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

Исследуемые вещества Investigated substances	Фагоцитарный индекс, % Phagocytic index, %		
	1-е сутки Day 1	2-е сутки Day 2	3-и сутки Day 3
Контроль Control	100 (100-100)	100 (100-100)	76 (65-85)
FeCl_3	95 (92-97)	100 (100-100)	95 (41-43)
ПД DP	100 (100-100)	100 (100-100)	91 (55-60)
$\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$	100 (100-100)	100 (100-100)	76 (65-85)

ТАБЛИЦА 2. КОЛИЧЕСТВО ЭРИТРОБЛАСТИЧЕСКИХ ОСТРОВКОВ РАЗНЫХ КЛАССОВ ЗРЕЛОСТИ В КОСТНОМ МОЗГЕ КРЫС, 1-Е СУТКИ, МЕ (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 2. THE NUMBER OF ERYTHROBLASTIC ISLANDS OF DIFFERENT MATURITY CLASSES IN THE BONE MARROW OF RATS, DAY 1, ME (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Классы зрелости Maturity classes	1-е сутки, % Day 1, %			
	Контроль Control	FeCl ₃	ПД DP	{Mo ₇₂ Fe ₃₀ }
– 1-й класс – class 1	80 (77-85)	70 (58-75)	40 (38-43)*	70 (63-78)^
– 2-й класс – class 2	5 (1-8)	15 (10-21)*	0 (0-0)	5 (0-6)^ #
– 3-й класс – class 3	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)* # ^
– инволюционные – 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 DP group is significant (p < 0.05).

ТАБЛИЦА 3. КОЛИЧЕСТВО ЭРИТРОБЛАСТИЧЕСКИХ ОСТРОВКОВ РАЗНЫХ КЛАССОВ ЗРЕЛОСТИ В КОСТНОМ МОЗГЕ КРЫС, 2-Е СУТКИ, МЕ (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 3. THE NUMBER OF ERYTHROBLASTIC ISLANDS OF DIFFERENT MATURITY CLASSES IN THE BONE MARROW OF RATS, DAY 2, ME (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Классы зрелости Maturity classes	2-е сутки, % Day 2, %			
	Контроль Control	FeCl ₃	ПД DP	{Mo ₇₂ Fe ₃₀ }
– 1-й класс – class 1	52 (40-58)	57 (49-65)	13 (5-20)* #	41 (32-55)^ #
– 2-й класс – class 2	3 (0-6)	9 (0-12)	26 (12-32)	16 (12-21)*
– 3-й класс – class 3	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)^
– инволюционные – involutive	27 (15-35)	9 (0-18)*	29 (23-30)^	27 (20-40)^

Примечание. См. примечание к таблице 2.

Note. As for Table 2.

вень гемоглобина на 36%, гематокрит изменился на 17%. Это согласуется с ранее полученными данными по коррекции анемии с использованием нанокластерных железо-молибденовых полиоксометаллатов [12]. 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 $\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$ и продуктов его деструкции не оказали значимого влияния на клеточность костного мозга. Однако при введении исследуемых веществ в течение 7 суток наблюдается увеличение клеточности костного мозга как в группе с ПОМ, так и в группе с ПД (табл. 6).

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

При оценке миелокариоцитов было выявлено значимое увеличение количества клеток эритроидного ряда, а также ретикулоцитов в группе $\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$ (7 суток). При этом стоит отметить, что количество ретикулоцитов значимо выше при введении ПОМ в течение 7 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 [12], что описы-ва-

лось ранее как компенсаторный механизм роста 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 слезенку [4, 34].

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 [10]. 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

ТАБЛИЦА 4. КОЛИЧЕСТВО ЭРИТРОБЛАСТИЧЕСКИХ ОСТРОВКОВ РАЗНЫХ КЛАССОВ ЗРЕЛОСТИ В КОСТНОМ МОЗГЕ КРЫС, 3-И СУТКИ, Мe ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

TABLE 4. THE NUMBER OF ERYTHROBLASTIC ISLANDS OF DIFFERENT MATURITY CLASSES IN THE BONE MARROW OF RATS, DAY 3, Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

Классы зрелости Maturity classes	3-и сутки, % Day 3, %			
	Контроль Control	FeCl_3	ПД DP	$\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$
– 1-й класс – class 1	55 (45-29)	64 (54-70)	33 (25-43)* #	19 (8-25)* # ^
– 2-й класс – class 2	7 (0-8)	11 (6-13)*	15 (7-17)*	22 (10-25)* #
– 3-й класс – class 3	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)* #
– инволюционные – involutive	5 (4-7)	4 (0-3)	20 (15-26)* #	10 (4-13)* # ^

Примечание. См. примечание к таблице 2.

Note. As for Table 2.

ТАБЛИЦА 5. ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ

TABLE 5. HEMATOLOGICAL PARAMETERS

Показатель Parameter	Интактные Intact	{Mo ₇₂ Fe ₃₀ }		ПД DP	
		1-е сутки Day 1	7-е сутки Day 7	1-е сутки Day 1	7-е сутки Day 7
WBC	7,8±1,4	11,0±1,1	10,8±0,4	9,1±0,7	10,0±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	0,30±0,02	0,20±0,01	0,20±0,03	0,30±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	159,0±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	6,80±0,05	6,50±0,06	6,4±0,1	6,5±0,1
PDW	16,4±0,6	15,9±0,1	16,90±0,07	15,7±0,1	15,9±0,1
PCT	0,40±0,03	0,40±0,04	0,30±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-е сутки достоверно ($p < 0,05$).

Note. *, the difference with the intact group is significant ($p < 0.05$); #, the difference with the DP group on day 7 is significant ($p < 0.05$).

ТАБЛИЦА 6. ПОКАЗАТЕЛЬ КЛЕТОЧНОСТИ КОСТНОГО МОЗГА

TABLE 6. BONE MARROW CELL COUNT

Интактные, клеточность, 10 ⁶ /на бедро Intact, cellularity, 10 ⁶ /on the hip	{Mo ₇₂ Fe ₃₀ }		ПД DP	
	Клеточность, 10 ⁶ /на бедро Cellularity, 10 ⁶ /on the hip	1-е сутки Day 1	7-е сутки Day 7	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 DP	
		1-е сутки Day 1	7-е сутки Day 7	1-е сутки Day 1	7-е сутки Day 7
Ретикулярные клетки Reticular cells	1,10±0,08	1,10±0,14	1,36±0,12* #	1,150±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-е сутки достоверно ($p < 0,05$); # – различие с группой ПД на 7-е сутки достоверно ($p < 0,05$).

Note. *, the difference with the intact group is significant ($p < 0.05$); &, the difference with the DP group on day 1 is significant ($p < 0.05$); #, the difference with the DP group on day 7 is significant ($p < 0.05$).

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 поликсометаллата {Mo₇₂Fe₃₀} и продуктов его деструкции на центральные макрофаги эритробластических островков показал, что {Mo₇₂Fe₃₀} 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 FeCl₃, 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 S. Zanganeh и соавт. 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 IL-10 и ARG1, и белков (CCL2 и IL-1ra), обычно связанных с фенотипом M2, что позволяет рассматривать их в качестве магнитно-чувствительных переключателей про- и противовоспалительной активности [15]. Золотые на-

ночастицы, 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 внутреклеточной, 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 $\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$ идет более интенсивное созревание эритроидных клеток в короне эритробластических островков. Так, в 1-е 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-е 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-м суткам, что свидетельствует о влиянии отдельных ПД на дополнительную (компенсаторную) форму эритропоэза. $\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$, в свою очередь, воздействует преимущественно на основной путь эритропоэза в эритробластических островках. Под его влиянием на 2-е сутки возрастает число эритробластических островков пролиферирующих классов, что связано с активной пролиферацией эритроидных клеток, а к 3-м суткам – созревающих островков, представленных окси菲尔ными нормобластами и ретикулоцитами. Полученные данные свидетельствуют о том, что воздействие $\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$ вызывает ускорение процесса созревания эритроцитов в эритробластических островках.

Анализ миелограммы костного мозга крыс показал, что при введении исследуемых веществ ($\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$ и ПД) в течение 7 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 течение 1 суток, так и в течение 7 дней.

Заключение

Воздействие нанокластерного полиоксометаллата $\{\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}\}$ на эритропоэз отличается от такого 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.

Список литературы / References

1. Абрашова Т.В., Гущин А.Я., Ковалева М.А., Рыбакова А.В., Селезнева А.И. Справочник. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных. СПб.: 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]. St. Petersburg: LEMA, 2013. 116 p.

2. Балабекова М.К., Нурмукамбетов 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. *Vestnik Kazakhskogo natsionalnogo meditsinskogo universiteta = Bulletin of the Kazakh National Medical University*, 2010, no. 5-3, pp. 281-286. (In Russ.)]
3. Бриллиант С.А., Юшков Б.Г. Исследование гемоглобинового спектра костного мозга крыс при постгеморрагической анемии // Вестник уральской медицинской академической науки, 2018. Т. 15, № 4. С. 570-576. [Brilliant S.A., Yushkov B.G. The study hemoglobin spectrum of rats bone marrow with posthemorrhagic anemia. *Vestnik uralskoy meditsinskoy akademicheskoy nauki = Bulletin of the Ural Medical Academie Science*. 2018, Vol. 15, no. 4, pp. 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. Т. 11, № 9-10. С. 108-115. [Danilova I.G., Gette I.F., Medvedeva S.Y. 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. *Rossiyskie nanotekhnologii = Nanotechnologies in Russia*, 2016, Vol. 11, no. 9-10, pp. 653-662. (In Russ.)]
5. Драпкина О.М., Авальева Е.Б., Бакулин И.Г., Виноградова М.А., Виноградова Н.Г., Гапонова Т.В., Гаус О.В., Гиляревский С.Р., Голшмид М.В., Демихов В.Г., Дудина Г.А., Жибурт Е.Б., Журина О.Н., Иванова Е.В., Котовская Ю.В., Кохно А.В., Куликов И.А., Купряшов А.А., Ливзан М.А., Луговская С.А., Лукина Е.А., Наумов А.В., Павлюченко Е.С., Паровичникова Е.Н., Пономарев Р.В., Руничина Н.К., Скаржинская Н.С., Тарасова И.С., Тихомирова Е.В., Теплыkh Б.А., Ткачева О.Н., Троицкая В.В., Федоров Е.Д., Ховасова Н.О., Чернов В.М., Чесникова А.И., Шепель Р.Н. Ведение пациентов с железодефицитной анемией на этапе оказания первичной медико-санитарной помощи. М.: РОПНИЗ, ООО «Силицея-Полиграф», 2022. 88 с. [Drapkina O.M., Avalueva E.B., Bakulin I.G., Vinogradova M.A., Vinogradov N.G., Gaponov T.V., Gaus O.V., Gilyarevsky S.R., Golshmid M.V., Demikhov V.G., Dudina G.A., Zhiburt E.B., Zhurina O.N., Ivanova E.V., Kotovskaya Y.V., Kohno A.V., Kulikov I.A., Kupryashov A.A., Livzan M.A., Lugovskaya S.A., Lukina E.A., Naumov A.V., Pavlyuchenko E.S., Parovichnikova E.N., Ponomarev R.V., Runikhina N.K., Skarzhinskaya N.S., Tarasova I.S., Tikhomirova E.V., Teplykh B.A., Tkacheva O.N., Troitskaya V.V., Fedorov E.D., Khovasova N.O., Chernov V.M., Chesnikova A.I., Shepel R.N. Management of patients with iron deficiency anemia at the stage of primary health care: a practical Guide]. Moscow: ROPNIZ, Silitsea-Polygraph, 2022. 88 p.
6. Захаров Ю.М., Мельников И.Ю., Рассокин А.Г. Исследование эритропоэза модифицированным методом выделения эритробластических островков костного мозга // Гематология и трансфузиология, 1984. Т. 29, № 4. С. 52-54. [Zakharov Yu.M., Melnikov I.Yu., Rassokhin A.G. Erythropoiesis studied by a modified method of isolating bone marrow erythroblastic islands. *Gematologiya i transfuziologiya = Hematology and Transfusiology*, 1984, Vol. 29, no. 4, pp. 52-54. (In Russ.)]
7. Захаров Ю.М., Мельников И.Ю., Рассокин А.Г. Классификация эритробластических островков костного мозга с учетом изменения их клеточного состава // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии, 1990. Т. 98, № 5. С. 38-42. [Zakharov Yu.M., Mel'nikov I.Iu., Rassokhin A.G. Classification of erythroblastic islets of the bone marrow and the study of their cellular composition. *Arkhiv anatomii, histologii i embriologii = Archives of Anatomy, Histology and Embryology*, 1990, Vol. 98, no. 5, pp. 38-42. (In Russ.)]
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. *Izvestiya Chelyabinskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = News of the Chelyabinsk Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*, 2001, no. 2, pp. 99-103. (In Russ.)]
9. Захаров Ю.М., Рассокин А.Г. Эритробластический островок: монография. М.: Медицина, 2002. 279 с. [Zakharov Yu.M., Rassokhin A.G. Erythroblastic islet: a monograph]. Moscow: Meditsina, 2002. 279 p.
10. Остроушко А.А., Улитко М.В., Тонкушина М.О., Зубарев И.В., Медведева С.Ю., Данилова И.Г., Губаева О.В., Гагарин И.Д., Гетте И.Ф. Влияние нанокластерных молибденсодержащих полиоксометаллатов на морфофункциональное состояние фибробластов в культуре // Российские нанотехнологии, 2018, Т. 13, № 1-2. С. 3-11. [Ostroushko A.A., Ulitko M.V., Tonkushina M.O., Zubarev I.V., Medvedeva S.Y., Danilova I.G., Gubaeva O.V., Gagarin I.D., Gette I. F. Influence of Nanocluster Molybdenum Polyoxometalates on the Morphofunctional State of Fibroblasts in Culture. *Rossiyskie nanotekhnologii = Nanotechnologies in Russia*, 2018, Vol. 13, no. 1-2, pp. 3-11. (In Russ.)]
11. Остроушко А.А., Гетте И.Ф., Бриллиант С.А., Данилова И.Г. Использование нанокластерных железо-молибденовых поликомплексов для коррекции экспериментальной постгеморрагической анемии // Российские нанотехнологии, 2019. Т. 14, № 3-4. С. 75-80. [Ostroushko A.A., Gette I.F., Brilliant S.A., Danilova I.G. Application of nanocluster iron-molybdenum polyoxometalates for correction of experimental posthemorrhagic anemia. *Rossiyskie nanotekhnologii = Nanotechnologies in Russia*, 2019, Vol. 14, no. 3-4, pp. 159-164. (In Russ.)]

12. Остроушко А.А., Тонкушина М.О., Гагарин И.Д., Гржегоржевский К.В., Данилова И.Г., Гетте И.Ф. Способ коррекции постгеморрагической анемии. Патент RU 2671077 C1, 29.10.2018. [Ostroushko A.A., Tonkushina M.O., Gagarin I.D., Grzhegorzhevsky K.V., Danilova I.G., Gette I.F. Patent RU 2671077 C1, 29.10.2018].
13. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования / под. ред. Кост Е.А. М.: Медицина, 1975. 383 с. [Handbook of clinical laboratory research methods. Ed. Kost E.A.]. Moscow: Meditsina, 1975. 383 p.
14. Abbaspour N., Hurrell R., Kelishadi R. Review on iron and its importance for human health. *J. Res. Med. Sci.*, 2014, Vol. 19, no.2, pp. 164-174.
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 immune-switch nanoparticles. *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, Vol. 23, no. 23, 15125. doi: 10.3390/ijms232315125.
16. Anaemia in women and children. World Health Organization. Available at: 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, Vol. 95, no. 11, pp. 1814-1822.
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 macrophages. *Res. Vet. Sci.*, 1982, Vol. 33, no. 1, pp. 26-30.
19. Gaetano C., Massimo L., Alberto M. Control of iron homeostasis as a key component of macrophage polarization. *Haematologica*, 2010, Vol. 95, no. 11, pp. 1801-1803.
20. Gammella E., Buratti P., Cairo G., Recalcati S. Macrophages: central regulators of iron balance. *Metalomics*, 2014, Vol. 8, no. 6, pp. 1336-1345.
21. Grech B.J. Mechanistic insights into the treatment of iron-deficiency anemia and arthritis in humans with dietary molybdenum. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2021, Vol. 75, no. 8, pp. 1170-1175.
22. Hayhoe F.G.J., Quaglino D. Haematological cytochemistry. Edinburgh; N.Y.: Churchill Livingstone, 1980. 336 p.
23. Jackson J. Immunology: Host Responses to Biomaterials. In: Lee S.J., Atala A., Yoo J. (eds.). *In Situ Tissue Regeneration: Host Cell Recruitment and Biomaterial Design*. Elsevier/Academic Press, 2016, p. 35. [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1742-7061\(14\)00269-4](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. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2013, Vol. 441, no. 4, pp. 737-742.
25. Lucarelli M., Gatti A.M., Savarino G., Quattroni P., Martinelli L., Monari E., Boraschi D. Innate defence functions of macrophages can be biased by nano-sized ceramic and metallic particles. *Eur. Cyt. Network*, 2004, Vol. 15, no. 4, pp. 339-346.
26. Martinez-Torres V., Torres N., Davis J.A., Corrales-Medina F.F. Anemia and Associated Risk Factors in Pediatric Patients. *Pediatric Health Med. Ther.*, 2023, Vol. 14, pp. 267-280.
27. Mendel R.R. Metabolism of Molybdenum. In: Banci L. (ed.). *Metalomics and the Cell. Metal Ions in Life Sciences*. Springer, Dordrecht, 2013, Vol. 12, pp. 503-528.
28. Miao X., Leng X., Zhang Q. The Current State of Nanoparticle-Induced Macrophage Polarization and Reprogramming Research. *Int. J. Mol. Sci.*, 2017, Vol. 18, no. 2, 336. doi: 10.3390/ijms18020336.
29. Müller A., Sarkar S., Shah S. Q., Bögge, H., Schmidtmann 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. *Angew. Chem. Int. Ed.* 1999, Vol. 38, no. 21, pp. 3238-3241.
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, Vol. 99, no. 11, pp. 1671-1676.
31. Recalcati 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. *Eur. J. Immunol.*, 2010, Vol. 40, no. 3, pp. 824-835.
32. Rogler G. Immune Cells: Monocytes and Macrophages. In: Baumgart D. (ed.). *Crohn’s Disease and Ulcerative Colitis*. Springer, Cham, 2017, pp. 119-122.
33. Shafer A.W., Marlow A.A. Toxic Reaction to Intramuscular Injection of Iron. *N. Engl. J. Med.*, 1959. Vol. 260, no. 4, 180. 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., Siegelbaum N., Bamba K., Barile F.A., Mantell L.L. Assessment of Phagocytic Activity of Cultured Macrophages Using Fluorescence Microscopy and Flow Cytometry. In: Vancurova I. (ed.). *Cytokine Bioassays. Methods in Molecular Biology*, Vol. 1172. Humana Press, New York, NY, 2014, pp. 137-145.
35. Soares M.P., Hamza I. Macrophages and Iron Metabolism. *Immunity*, 2016, Vol. 44, no. 3, pp. 492-504.
36. Terriere L.C. Induction of Detoxication Enzymes in Insects. *Annu. Rev. Entomol.*, 1984. Vol. 29, pp. 71-88.

37. Wang L., Zhang H., Sun L., Gao W., Xiong Y., Ma A., Liu X., Shen L., Li Q., Yang H. Manipulation of macrophage polarization by peptide-coated gold nanoparticles and its protective effects on acute lung injury. *J. Nanobiotechnology*, 2020. Vol. 18, no. 1, 38. doi: 10.1186/s12951-020-00593-7.
38. Zanganeh S., Hutter G., Spitzer 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. Vol. 11, no. 11, pp. 986-994.
39. Zvereva E. Activity and heavy metal resistance of non-specific esterases in leaf beetle *Chrysomela lapponica* from polluted and unpolluted habitats. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.*, 2003, Vol. 135, no. 4, pp. 383-391.

Авторы:

Титова С.А. – младший научный сотрудник ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия

Тонкушина М.О. – к.х.н., старший научный сотрудник ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия

Остроушко А.А. – д.х.н., профессор, главный научный сотрудник, заведующий отделом химического материаловедения ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия

Улитко М.В. – к.б.н., доцент, директор департамента биологии и фундаментальной медицины ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия

Бриллиант С.А. – к.б.н., научный сотрудник ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Данилова И.Г. – д.б.н., доцент, заместитель директора по науке, заведующая лабораторией морфологии и биохимии ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Поступила 13.02.2025
Отправлена на доработку 10.03.2025
Принята к печати 23.03.2025

Authors:

Titova S.A., Junior Researcher, B. Yeltsin Ural Federal University, Yekaterinburg, Russian Federation

Tonkushina M.O., PhD (Chemistry), Senior Researcher, B. Yeltsin Ural Federal University, Yekaterinburg, Russian Federation

Ostroushko A.A., PhD, MD (Chemistry), Professor, Chief Researcher, Head, Department of Chemical Materials Science, B. Yeltsin Ural Federal University, Yekaterinburg, Russian Federation

Ulitko M.V., PhD (Biology), Associate Professor, Director, Department of Biology and Fundamental Medicine, B. Yeltsin Ural Federal University, Yekaterinburg, Russian Federation

Brilliant S.A., PhD (Biology), Researcher, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Danilova I.G., PhD, MD (Biology), Associate Professor, Deputy Science Director, Head, Laboratory of Morphology and Biochemistry, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Received 13.02.2025
Revision received 10.03.2025
Accepted 23.03.2025