

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

© Коллектив авторов, 2019
УДК 612.111.3:612.014.426:599.323.4

И. В. Мильто^{1, 2}, *Н. М. Шевцова*¹, *В. В. Иванова*¹, *И. О. Габитова*¹,
*Л. А. Сафиуллина*¹, *И. В. Суходоло*¹

ВЛИЯНИЕ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ХИТОЗАНОМ МАГНИТНЫХ НАНОСФЕР НА ЭРИТРОПОЭЗ КРЫС

¹ Кафедра морфологии и общей патологии (зав. — проф. И. В. Суходоло), ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; ² отдел молекулярной и клеточной радиобиологии (зав. — проф. И. В. Мильто), ФГУП «Северский биофизический научный центр» ФМБА России

Цель — изучить влияние однократного внутривенного введения суспензии модифицированных хитозаном магнитных наносфер на эритропоэз у крыс.

Материал и методы. Изучали мазки красного костного мозга крыс на 1-, 7-, 14-, 21-, 40-, 60-, 90-е и 120-е сутки после внутривенной инъекции модифицированных хитозаном магнитных наносфер.

Результаты. Инъекция суспензии модифицированных хитозаном магнитных наносфер не вызывает изменения строения клеток эритрона, но сопровождается обратимым снижением индекса созревания нормобластов, а также увеличением лейко-эритроидного соотношения.

Выводы. Введение суспензии модифицированных хитозаном магнитных наносфер вызывает в красном костном мозгу крыс обратимые изменения эритропоэза.

Ключевые слова: *красный костный мозг, эритропоэз, наночастицы магнетита, магнитные наносферы, хитозан*

Магнитные наноматериалы обладают свойством суперпарамагнетизма, что делает перспективным их применение в качестве диагностических и терапевтических агентов. После внутривенного введения наночастицы магнетита (НЧМ) накапливаются в органах с развитой системой мононуклеарных фагоцитов [1], в том числе в красном костном мозгу (ККМ) [3]. Однако сведений о влиянии НЧМ и их модифицированных форм на ККМ недостаточно.

Цель исследования — изучение влияния однократного внутривенного введения суспензии модифицированных хитозаном магнитных наносфер на эритропоэз в ККМ крыс.

Материал и методы. Применяли НЧМ, полученные механохимическим способом в отделе структурной макрокINETИКИ ТНЦ СО РАН (г. Томск). Они имеют сферическую форму, их средний диаметр составляет 7 нм. Суспензию НЧМ готовили в стабилизирующем растворе, содержащем хлорид и цитрат натрия (РЕАХИМ) и динатриевую соль НЕРЕС (AppliChem GmbH). Модифицированные хитозаном магнитные наносферы (ХМН) получали сорбционным способом: подвергали сонификации смесь суспензии НЧМ и раствора хитозана ($1 \text{ г}_{\text{хитозана}}/\text{л}$). Диаметр агломератов

частиц в суспензии НЧМ составил 90,4 нм, в суспензии ХМН — 32,5 нм.

Белые беспородные крысы-самцы массой 150 ± 10 г были разделены на группы по 40 особей: 1-я группа — интактные животные; 2-я — крысы, подвергшиеся инъекции стабилизирующего раствора (2 мл); 3-я — крысы, подвергшиеся введению суспензии НЧМ ($0,14 \text{ г (Fe}_3\text{O}_4\text{)}/\text{кг}$ массы тела (2 мл); 4-я — крысы, подвергшиеся инъекции суспензии ХМН ($0,14 \text{ г (Fe}_3\text{O}_4\text{)}/\text{кг}$ массы тела (2,5 мл). Крыс выводили из эксперимента асфиксией CO_2 на 1-, 7-, 14-, 21-, 40-, 60-, 90-е и 120-е сутки после инъекции. Работа проведена в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» и Хельсинкской декларацией (1975 г., 2000 г.). На проведение исследования получено разрешение локального этического комитета СибГМУ (№ 17 от 12.10.2015 г.). Из ККМ грудины крыс готовили мазки, которые фиксировали в абсолютном метаноле и окрашивали по методике Романовского-Гимзы. На мазках ККМ оценивали строение клеток эритрона. Для определения индекса созревания эритробластов и лейко-эритроидного соотношения осуществляли подсчет миелограмм (не менее 500 клеток). Статистическую обработку количественных данных производили при помощи программы «SPSS 17.0». О значимости различий судили по величине критерия Манна — Уитни и считали их значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования. Введение стабилизирующего раствора, суспензии НЧМ

Сведения об авторах:

Мильто Иван Васильевич (e-mail: milto_bio@mail.ru), отдел молекулярной и клеточной радиобиологии, ФГУП «Северский биофизический научный центр» ФМБА России, 636013, г. Северск-13, а/я 130

Шевцова Наталья Михайловна, Иванова Вера Владимировна, Габитова Ирина Олеговна, Сафиуллина Линара Асхатовна, Суходоло Ирина Владимировна, кафедра морфологии и общей патологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

Костномозговые индексы у крыс исследуемых групп (Me, Q₁-Q₃ в условных единицах)

Группа	Срок (сутки)							
	1-е	7-е	14-е	21-е	40-е	60-е	90-е	120-е
Индекс созревания эритробластов								
1-я	0,6 (0,6; 0,8)	0,6 (0,5; 0,8)	0,6 (0,6; 0,7)	0,7 (0,6; 0,7)	0,7 (0,6; 0,8)	0,7 (0,5; 0,9)	0,7 (0,6; 0,8)	0,6 (0,6; 0,8)
3-я	0,5 (0,4; 0,6)	0,4 (0,3; 0,6)*	0,4 (0,4; 0,7)*	0,4 (0,4; 0,6)*	0,6 (0,5; 0,8)	0,7 (0,6; 0,8)	0,6 (0,6; 0,8)	0,6 (0,5; 0,8)
4-я	0,6 (0,6; 0,8)	0,5 (0,5; 0,6)	0,4 (0,4; 0,6)*	0,4 (0,3; 0,5)*	0,4 (0,4; 0,5)**	0,5 (0,4; 0,6)	0,7 (0,6; 0,9)	0,4 (0,4; 0,6)
Лейко-эритроидное соотношение								
1-я	1,2 (0,8; 1,8)	1,0 (0,9; 1,3)	1,4 (1,1; 2,3)	1,1 (0,9; 1,3)	1,2 (1,0; 1,5)	1,2 (1,0; 1,4)	1,2 (1,0; 1,3)	1,2 (1,1; 1,4)
3-я	3,1 (2,3; 4,2)*	2,4 (1,5; 3,7)*	2,4 (2,0; 3,3)*	1,5 (1,1; 1,8)*#	1,2 (0,9; 1,5)	1,0 (0,9; 1,3)	1,1 (0,8; 1,3)	1,1 (0,7; 1,3)
4-я	0,9 (0,8; 1,1)**	1,3 (1,6; 2,2)*	1,9 (1,0; 2,4)*#	1,4 (0,8; 1,8)*	1,2 (0,8; 1,5)	1,1 (0,9; 1,7)	1,2 (0,8; 1,6)	1,2 (0,9; 1,3)

* Различия с показателем 1-й группы; ** с показателем 3-й группы; # с показателем этой же группы на предыдущий срок значимы при $p < 0,05$.

и суспензии ХМН не вызывает изменений в строении клеток эритрона крыс. В мазках ККМ крыс всех исследуемых групп эритробласты являются клетками с большим ядерно-цитоплазматическим отношением, нежной структурой хроматина, 1–2 ядрышками и базофильной цитоплазмой. В ядрах базофильных эритробластов ядрышек нет. В полихроматофильных эритробластах круглое ядро с глыбками гетерохроматина локализуется центрально, они имеют меньший размер по сравнению с базофильными эритробластами. Оксифильные эритробласты в мазках ККМ крыс всех исследуемых групп характеризуются умеренной базофилией цитоплазмы и наличием пикнотичного ядра. В мазках ККМ крыс исследуемых групп определяются также серо-голубые ретикулоциты и оксифильные эритроциты. Индекс созревания эритробластов был снижен у крыс 3-й группы с 7-х по 21-е сутки, у животных 4-й группы — с 14-х по 40-е сутки эксперимента (таблица).

Костномозговые индексы крыс 2-й группы не отличались от таковых у интактных животных, поэтому данные показатели не представлены в таблице. Наблюдали обратимое увеличение лейко-эритроидного соотношения у крыс 3-й группы с 1-х по 21-е сутки, у крыс 4-й группы — с 14-х по 21-е сутки эксперимента (см. таблицу).

Обсуждение полученных данных. Введение суспензии ХМН не влияет на структуру клеток эритрона, что согласуется с данными, демонстрирующими отсутствие влияния НЧМ на строение эритроцитов *in vitro* [4]. В ответ на введение крысам суспензии ХМН мы, в отличие от A. Ruiz и соавт. [4], наблюдали уменьшение индекса созревания эритробластов, сочетающееся с увеличением лейко-эритроидного соотношения. Изменения исследуемых показателей крыс 4-й группы развиваются в более поздние сроки и менее выражены, чем у животных 3-й группы. Это объясняется увеличением времени циркуляции ХМН по сравнению с НЧМ. Преобладание пролиферирующих форм над непролиферирующими отражает активацию эритропоэза в результате вовлечения ионов железа, образующихся в ходе внутриклеточного метаболизма магнетита, в синтез гема гемоглобина [2]. Вышеописанные изменения нивелируются к концу 60-х суток эксперимента, что обусловлено метаболизмом и элиминацией наномангнетита. Таким образом, введение суспензии модифицированных хитозаном магнитных наносфер вызывает обратимые изменения эритропоэза в красном костном мозгу крыс.

Вклад авторов:

Концепция и дизайн исследования: И. В. М., И. В. С.

Сбор и обработка материала: Н. М. Ш., И. О. Г., Л. А. С.

Статистическая обработка данных: В. В. И.

Анализ и интерпретация данных: И. В. М.

Написание текста: И. В. М., В. В. И.

Авторы сообщают об отсутствии в статье конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мильто И.В., Суходоло И.В. Структура печени, легкого, почек, сердца и селезенки крыс после многократного внутривенного введения суспензии наноразмерных частиц магнетита // Вестн. Российск. акад. мед. наук. 2012. Т. 67. № 3. С. 75–79. [Mil'to I.V., Sukhodolo I.V. Liver, lung, kidney, heart and spleen structure of rats after multiple intravenous injections of magnetite nanosuspension // Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk. 2012. Vol. 67. № 3. P. 75–79. In Russ.]
2. Arami H., Khandhar A., Liggitt D., Krishnan K.M. In vivo delivery, pharmacokinetics, biodistribution and toxicity of iron oxide nanoparticles // Chem. Soc. Rev. 2015. Vol. 44. № 23. P. 8576–8607.
3. Dadachova E. The Effects of Nanoparticles on Bone Marrow Cells // Handbook of Immunological Properties of Engineered Nanomaterials. Singapore: World scientific, cop. 2013. P. 433–448.
4. Ruiz A., Ali L.M., Cáceres-Vélez P.R., Cornudella R., Gutiérrez M., Moreno J.A., Pinol R., Palacio F., Fascineli M.L.,

de Azevedo R.B., Morales M.P., Milan A. Hematotoxicity of magnetite nanoparticles coated with polyethylene glycol: in vitro and in vivo studies // Toxicol. Res. 2015. Vol. 4. № 6. P. 1555–1564.

Поступила в редакцию 21.06.2019

INFLUENCE OF CHITOSAN-MODIFIED MAGNETIC NANOSPHERES ON ERYTHROPOIESIS OF RATS

I. V. Mil'to^{1, 2}, *N. M. Shevtsova*¹, *V. V. Ivanova*¹,
*I. O. Gabitova*¹, *L. A. Safiullina*¹, *I. V. Sukhodolo*¹

Objective — to study the effect of single intravenous injection of suspension of chitosan-modified magnetic nanospheres on rat erythropoiesis.

Material and methods. Smears of rat bone marrow were examined at 1, 7, 14, 21, 40, 60, 90, and 120 days after intravenous injection of magnetic nanospheres.

Results. Injection of chitosan-modified magnetic nanospheres suspension provoke no change the morphology of the blood cells, and cause reversible decrease in erythroid maturation ratio and an increase in myelo-erythroid ratio.

Conclusions. Injection of chitosan-modified magnetic nanospheres suspension cause reversible changes in rat erythropoiesis.

Key words: *red bone marrow, erythropoiesis, nanomagnetite particles, magnetic nanospheres, chitosan*

¹ Department of Morphology and General Pathology, Siberian State Medical University, 2 Moskovsky trakt, Tomsk 634055; ² Seversk Biophysical Research Centre, P. O. Box 130, Seversk-13 636013