

ЭФФЕКТИВНОСТЬ НАНОЧАСТИЦ МАГНЕТИТА, СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ ПРОИЗВОДНЫМ 3-ГИДРОКСИПИРИДИНА И ПОЛИВИНИЛПИРРОЛИДОМ, В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ОСТРОЙ КРОВОПОТЕРИ

УДК [616–005.1:616–001.36]–001.57:553.2

Received 16.11.2014 г.

**Е.М. Важничая**, д.м.н., профессор кафедры экспериментальной и клинической фармакологии¹;**Е.В. Мокляк**, аспирант кафедры экспериментальной и клинической фармакологии¹;**А.А. Забозлаев**, к.фарм.н., зам. генерального директора по развитию²¹Украинская медицинская стоматологическая академия, Полтава, Украина, 36011, ул. Шевченко, 23;²Научно-производственная компания «ФАРМАСОФТ», Москва, 115280, ул. Автозаводская, 22

Одним из условий биомедицинского использования наночастиц оксидов железа, в том числе магнетита, является их стабилизация в жидкой среде, причем покрывающие вещества во многом определяют фармакологическую активность и токсичность таких наночастиц. Получена наножидкость, которая содержит наночастицы магнетита, стабилизированные 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцинатом (Мексидолом) и поливинилпирролидоном (ПВП). Ее антианемические свойства ранее не изучались.

Цель исследования — изучить влияние наночастиц магнетита, стабилизированных в жидкой среде Мексидолом и ПВП, на гематологические показатели лабораторных животных в норме и после острой кровопотери.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на 109 белых крысах-самцах. Жидкость, содержащую наночастицы магнетита, стабилизированные Мексидолом и ПВП, вводили интактным животным и крысам после кровопотери в дозе 1,35 мг Fe/kg массы тела. Ее эффекты сравнивали с действием традиционного препарата железа Феррум Лек — референс-препарата (1,25 мг Fe/kg). Определяли общее число эритроцитов, общий гемоглобин, гематокрит, эритроцитарные индексы и содержание ретикулоцитов в крови через 3 и 72 ч после введения наножидкости и референс-препарата.

Результаты. Наножидкость стимулирует эритропоэз у интактных животных, что характеризуется повышением общего числа эритроцитов, общего гемоглобина и гематокрита, которое, однако, не выходит за пределы нормы. При анемии, вызванной острой кровопотерей, наножидкость способствует восстановлению этих показателей и существенно увеличивает число ретикулоцитов в крови. В обоих случаях эффекты жидкости выражены сильнее, чем таковые при использовании препарата сравнения, что может быть связано с лучшей биодоступностью железа в наноформе и с применением Мексидола в качестве одного из стабилизирующих агентов.

Заключение. Наночастицы магнетита, стабилизированные в жидкой среде Мексидолом и ПВП, стимулируют эритропоэз в норме и при острой кровопотере, что усиливается присутствием в их составе сукцинатсодержащего производного 3-гидроксипиридина. Преимущество в эффективности, а также возможность использования в виде наножидкости открывают перспективы разработки новой лекарственной формы для коррекции анемических состояний на основе данных наночастиц.

Ключевые слова: наночастицы магнетита; 3-гидроксипиридин; Мексидол; поливинилпирролидон; кровопотеря; анемия.

English

Effectiveness of Magnetite Nanoparticles Stabilized by 3-hydroxypyridine Derivative and Polyvinyl Pyrrolidone in Experimental Therapy of Acute Blood Loss

Ye.M. Vazhnichaya, MD, DSc, Professor, Department of Experimental and Clinical Pharmacology¹;**Ye.V. Mokliak**, PhD Student, Department of Experimental and Clinical Pharmacology¹;**A.A. Zabozev**, PhD, Vice Director on Development²¹Ukrainian Medical Stomatological Academy, 23 Shevchenko St., Poltava, 36011, Ukraine;²Company "PHARMASOFT", 22 Avtozavodskaya St., Moscow, 115280, Russian Federation

One of the preconditions of biomedical use of iron oxide nanoparticles including magnetite is their stabilization in liquid medium, wherein the covering substances largely determine pharmacological activity and toxicity of such nanoparticles. We obtained nanofluid that contains

Для контактов: Важничая Елена Митрофановна, e-mail: vazhnichaya@ukr.net

magnetite nanoparticles stabilized with 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate (Mexidol) and polyvinyl pyrrolidone (PVP). Its anti-anemic properties have not been studied previously.

The aim of the investigation was to study the effect of magnetite nanoparticles stabilized with Mexidol and PVP on hematological parameters of laboratory animals in the norm and after acute blood loss.

Materials and Methods. Experiments were performed on 109 albino male rats. The liquid containing magnetite nanoparticles stabilized with Mexidol and PVP was administered to intact animals and rats after blood loss in the dose of 1.35 mg Fe/kg. Its effects were compared with the action of standard iron preparation Ferrum Lek (1.25 mg Fe/kg) as a reference drug. We determined red blood cells count, total hemoglobin, hematocrit, erythrocyte indices as well as reticulocytes content in blood 3 and 72 h after the administration of the nanofluid and the reference preparation.

Results. Nanofluid stimulates erythropoiesis in intact animals that is characterized by the increase in red blood cells count, total hemoglobin and hematocrit, which, however, are within the normal range. In anemia induced by acute blood loss, the nanofluid helps to restore these parameters and increases significantly the number of reticulocytes in blood. In both cases, the effects of the nanofluid are more pronounced than those of the reference preparation that can be due to better bioavailability of iron in the nanofluid, with Mexidol being used as one of stabilizing agents.

Conclusion. Magnetite nanoparticles stabilized with Mexidol and PVP stimulate erythropoiesis in the norm and in acute blood loss that is potentiated by the presence of succinate-containing 3-hydroxypyridine derivative as their constituent. The efficiency of magnetite nanoparticles and the possibility to use them as nanofluid offer the prospect of developing a new pharmaceutical form to correct anemic conditions based on these nanoparticles.

Key words: magnetite nanoparticles; 3-hydroxypyridine; Mexidol; polyvinyl pyrrolidone; blood loss; anemia.

Использование наноматериалов в медицине и фармакологии позволяет управлять биосистемами на молекулярном уровне, сочетать в одном препарате возможности диагностики и лечения — тераностику [1–3].

Среди наночастиц, которые интенсивно изучаются с целью биомедицинского применения, особое место занимают наноразмерные частицы оксидов железа, в том числе оксида железа (II, III), или магнетита. Свойства этих наночастиц обуславливают возможности их применения для визуализации структур при магнитно-резонансной томографии, гипертермии злокачественных новообразований, адресной доставки лекарств, а также для фармакокоррекции анемических состояний [4–7].

В исследованиях, посвященных наночастицам оксидов железа, используют феррофлюиды (наножидкости) — суспензии коллоидных магнитных наночастиц, стабилизированных поверхностно-активными веществами в жидкой среде [8], на основе которых возможно создание лекарственных форм для парентерального введения [9]. С целью стабилизации наночастиц оксидов железа их инкапсулируют, создавая покрытие, которое обеспечивает устойчивость к окислению, коррозии и агрегации, а также сохраняет однодоменность [10]. Стабилизирующие агенты (органические, неорганические, мономерные или полимерные) определяют не только гидродинамические размеры и физико-химические свойства магнитных наночастиц, но и их биологическую активность, взаимодействие с клетками-мишенями, поглощение макрофагами, токсичность [11]. При достаточном многообразии веществ для покрытия наночастиц оксидов железа производные 3-гидрокси-пиридина с этой целью ранее не использовались, поэтому нами была получена жидкая дисперсная система, содержащая наночастицы магнетита, стабилизированные 2-этил-6-метил-3-гидрокси-пиридина сукцинатом (Мексидолом) и поливинилпирролидоном (ПВП) [12], которая открывает новые перспективы биомедицин-

ского применения как наножиелеза, так и покрывающих его препаратов, в частности Мексидола.

Цель исследования — изучить влияние наночастиц магнетита, стабилизированных в жидкой среде Мексидолом и ПВП, на гематологические показатели лабораторных животных в норме и при острой постгеморрагической анемии, оценить эффективность данных наночастиц путем сравнения их противоанемической активности с действием препарата железа для парентерального применения Феррум Лек.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на 109 белых крысах-самцах линии Wistar массой 210–225 г, полученных из питомника «Биомодельсервис» (Киев, Украина). Они производились в соответствии с правилами, установленными Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (принятой в Страсбурге 18.03.1986 г. и подтвержденной в Страсбурге 15.06.2006 г.), и не вызвали возражений комиссии по биоэтике Украинской медицинской стоматологической академии.

Было проведено 3 серии экспериментов. В *первой серии* изучали влияние наночастиц, стабилизированных Мексидолом и ПВП, на крыс с выделением таких групп, как интактные животные; животные с введением растворителя (контроль); с введением референс-препарата (Феррум Лек); образцов наножидкости, содержащей наночастицы магнетита, стабилизированные Мексидолом и ПВП, с дальнейшим исследованием через 3 и 72 ч. Во *второй серии* изучали эффекты наночастиц магнетита, стабилизированных Мексидолом и ПВП, через 3 ч, в *третьей серии* — через 72 ч после острой кровопотери. В двух последних сериях выделяли следующие группы: интактные животные; кровопотеря с введением растворителя (без фармакокоррекции); кровопотеря с введением референс-препарата или с введением жидкой дисперсной системы, содер-

жащей наночастицы магнетита, стабилизированные Мексидолом и ПВП (далее по тексту «наножидкость»). Острую кровопотерю моделировали путем пункции сердца под эфирным наркозом и извлечения 25% объема циркулирующей крови [13].

Для приготовления наножидкости использовали конденсат наночастиц магнетита (Fe₃O₄) класса USPIO (ultra small particles of iron oxide) размерами 5–8 нм, осажденных направленным паровым потоком на кристаллы натрия хлорида путем электронно-лучевой технологии в вакууме (Институт электросварки им. Е.О. Патона НАН Украины, Киев, Украина) [14]. Этот порошок имел следующий состав (в массовых %): железо — 26,9%; натрий — 22,5%; хлор — 34,4%; кислород — 16,2%. Для солюбилизации и стабилизации наночастиц магнетита в водной среде применяли субстанцию 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцината (известного как препарат Мексидол и обладающего антиоксидантным, антигипоксантным и анксиолитическим действием [15]), которую получали от производителя (ООО «Бион», Россия). Совместно с Мексидолом для стабилизации наночастиц магнетита использовали поливинилпирролидон (ПВП, повидон) с молекулярной массой 8,0±2,0 кДа (ООО «АК Синтвита», Россия) [16]. Дисперсную систему, содержащую перечисленные ингредиенты в соотношении 1 мг конденсата наночастиц магнетита, 20 мг Мексидола и 30 мг ПВП в 1 мл, готовили *ex tempore*, используя в качестве растворителя жидкость, которая содержит 2,75 г натрия хлорида, 0,21 г калия хлорида, 0,25 г кальция хлорида, 0,00025 г магния хлорида, 0,115 г натрия гидрокарбоната и дистиллированную воду до 1 л. Для этого в асептических условиях к смеси порошков наночастиц магнетита и субстанции Мексидола прибавляли 3% раствор ПВП в описанном выше растворителе, перемешивали, выдерживали 2 ч при +60°C и охлаждали до комнатной температуры (+20°C). По данным фотон-корреляционной спектроскопии, наножидкость, приготовленная

таким способом, содержит частицы с гидродинамическим размером 30–40 нм в преобладающем количестве (99,9% от общего числа) [12]. Образцы наножидкости вводили животным интраперитонеально сразу же после кровопотери в объеме 1 мл, чтобы доза по элементному железу составляла 1,35 мг Fe/кг массы тела. В качестве препарата сравнения использовали Феррум Лек (Lek, Словения) в дозе 1,25 мг Fe/кг массы тела [17], который инъецировали аналогично.

Животных выводили из эксперимента через 3 и 72 ч после кровопотери и в те же сроки — после введения наножидкости интактным белым крысам. Эвтаназию производили под эфирным наркозом путем забора крови из сердца до его остановки.

В крови из сердца определяли общее число эритроцитов (RBC), гематокрит (Hct), общий гемоглобин (Hb), средний объем эритроцита (MCV), среднюю концентрацию гемоглобина в эритроците (MCHC), среднее количество гемоглобина в эритроците (MCH), а также индекс анизоцитоза — ширину кривой распределения эритроцитов (RDW) с помощью гематологического анализатора MicroCC-20Plus Vet (High Technology Inc., США) [18]. Содержание ретикулоцитов в крови изучали путем суправитального окрашивания метиленовым синим с последующим подсчетом клеток в мазках на микроскопе AmScope T490B-10MT (United Scoppe LLC, США) с объективом ×100 [19].

Полученный цифровой материал статистически обрабатывали с помощью стандартных компьютерных программ пакета Statistica for Windows 8.0. При этом вычисляли среднее M, стандартную ошибку m и оценивали достоверность различий между группами с помощью однофакторного дисперсионного анализа ANOVA с апостериорным тестом Fisher LSD.

Результаты. В первой серии экспериментов установлено, что гематологические показатели у животных контрольной группы, которым вводили растворитель, не отличались от таковых у интактных белых

Таблица 1

Влияние наножидкости, содержащей наночастицы магнетита, стабилизированные Мексидолом и ПВП, на гематологические показатели интактных животных, M±m

Срок наблюдений	Группы животных	RBC, ×10 ¹² /л	Hb, г/л	Hct, ед.	MCV, мкм ³	MCH, пг	MCHC, г/дл	RDW, %
3 и 72 ч	Интактные (n=5)	6,94±0,29	129,0±3,3	0,39±0,01	57,3±0,9	17,8±0,4	317,2±6,8	10,1±0,3
3 ч	Растворитель (контроль) (n=5)	6,98±0,29	128,2±3,6	0,40±0,01	57,4±1,1	17,7±0,3	316,4±7,7	10,0±0,4
	Феррум Лек (n=5)	6,95±0,17	142,0±2,6**	0,40±0,01	57,6±0,5	20,4±0,1**	355,2±4,2**	9,1±0,2**
	Наножидкость (n=5)	8,17±0,11**v	142,8±1,5**	0,47±0,01**v	57,9±0,8	17,4±0,3 ^v	301,6±2,5 ^v	9,3±0,5
72 ч	Растворитель (контроль) (n=5)	6,95±0,29	128,8±3,3	0,39±0,01	57,5±1,0	17,6±0,3	317,4±7,8	10,0±0,3
	Феррум Лек (n=5)	6,96±0,16	148,0±2,5**	0,41±0,01	58,7±0,5	21,5±0,3**	362,0±2,4**	8,8±0,3**
	Наножидкость (n=5)	8,10±0,30**v	144,4±4,5**	0,47±0,01**v	58,0±1,1	17,8±0,4 ^v	307,8±3,3 ^v	9,3±0,3

Примечания: * — статистически значимая разница значений (p<0,05) с интактными животными; + — с группой «растворитель (контроль)»; v — с группой «Феррум Лек». RBC — общее число эритроцитов; Hb — общий гемоглобин; Hct — гематокрит; MCV — средний объем эритроцита; MCH — среднее содержание гемоглобина в эритроците; MCHC — средняя концентрация гемоглобина в эритроците; RDW — «ширина распределения» эритроцитов (анизоцитоз).

крыс (табл. 1). Через 3 ч после введения интактным животным эталонного антианемического препарата Феррум Лек значения RBC и Hct находились на уровне контроля, а Hb возрастал на 11% ($p=0,0054$). В этом сроке наблюдений Феррум Лек увеличивал эритроцитарные индексы MCH ($p=0,0001$) и MCHC ($p=0,0002$) по сравнению с контролем. Введение интактным крысам жидкости, которая содержит наночастицы магнетита, стабилизированные Мексидолом и ПВП, приводило к увеличению RBC на 17% ($p=0,0016$), Hb — на 11% ($p=0,0036$) и Hct — на 17,5% ($p=0,0001$) по сравнению с контролем (см. табл. 1). Это статистически значимо выше RBC и Hct на фоне действия референс-препарата (соответственно $p=0,0016$ и $p=0,0001$). При введении наножидкости отмечалась также тенденция к снижению индекса MCHC ($p=0,084$) по отношению к контролю, причем данный показатель был ниже, чем насыщение эритроцитов гемоглобином при введении референс-препарата ($p=0,0001$). Остальные индексы не изменялись.

Через 72 ч после введения Феррум Лек интактным белым крысам регистрировалось повышение Hb ($p=0,0012$) по сравнению с контролем на фоне неизменившихся RBC и Hct (см. табл. 1). Эритроцитарные индексы в этот период после введения интактным животным Феррум Лек характеризовались повышением MCH ($p=0,0001$) и MCHC ($p=0,0001$), а также уменьшением RDW ($p=0,0135$). В данном сроке наблюдения использование наножидкости вызывало повышение RBC на 16% ($p=0,0082$), Hct — на 18% ($p=0,0001$) и Hb — на 13% ($p=0,0058$) по отношению к контролю. Изменения числа эритроцитов и гематокрита под действием наночастиц были более выраженными, чем таковые при использовании рефе-

ренс-препарата (соответственно $p=0,0085$ и $p=0,0013$). На фоне действия наножидкости эритроцитарные индексы находились на уровне контроля, но насыщенность эритроцитов гемоглобином (MCH и MCHC) была ниже, чем под влиянием препарата сравнения Феррум Лек ($p=0,0001$).

У интактных животных введение Феррум Лек не влияло на содержание ретикулоцитов в крови через 3 ч после инъекции (рис. 1). После применения наножидкости этот показатель также не отличался от контроля, но был выше по сравнению с таковым при использовании Феррум Лек ($p=0,0369$). Через 72 ч при введении как эталонного препарата железа, так и стабилизированных наночастиц магнетита содержание ретикулоцитов в крови интактных животных оставалось на уровне контроля.

Во второй серии экспериментов кровопотеря с введением растворителя (без фармакологической кор-

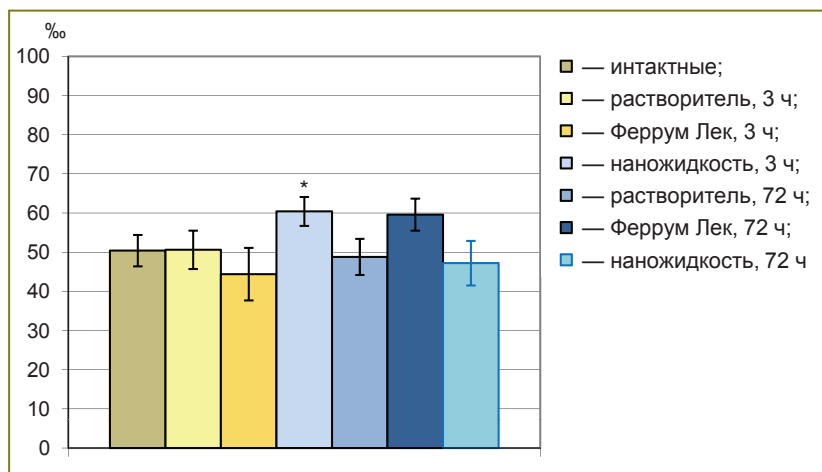


Рис. 1. Содержание ретикулоцитов в крови через 3 и 72 ч после введения интактным животным наножидкости, содержащей наночастицы магнетита, стабилизированные Мексидолом и ПВП; * — статистически значимая разница значений с группой «Феррум Лек, 3 ч» ($p<0,05$)

Таблица 2

Влияние наножидкости, содержащей наночастицы магнетита, стабилизированные Мексидолом и ПВП, на гематологические показатели животных после острой кровопотери, $M \pm m$

Срок наблюдений	Группы животных	RBC, $\times 10^{12}/л$	Hb, г/л	Hct, ед.	MCV, $\mu\text{м}^3$	MCH, пг	MCHC, г/дл	RDW, %
3 ч	Интактные (n=13)	7,61±0,12	135,2±2,9	0,44±0,01	57,6±1,5	17,8±0,5	311,6±11,6	10,5±0,5
	Кровопотеря + растворитель (n=8)	5,32±0,19*	95,5±4,0*	0,32±0,01*	58,6±1,3	17,1±0,3	294,1±7,9	9,7±0,4
	Кровопотеря + Феррум Лек (n=9)	5,83±0,16*	111,7±6,1**	0,35±0,01*	59,2±1,3	19,0±0,7*	315,6±17,9	10,9±0,7
	Кровопотеря + наножидкость (n=10)	6,40±0,21**	110,0±2,8**	0,36±0,01**	55,7±1,2	16,9±0,3 ^v	303,4±6,2	9,7±0,2
72 ч	Интактные (n=9)	7,58±0,20	133,3±2,7	0,43±0,01	59,9±1,4	17,5±0,5	293,2±11,6	10,9±0,7
	Кровопотеря + растворитель (n=8)	6,18±0,12*	122,4±2,8	0,36±0,01*	60,1±0,3	19,7±0,6	331,9±12,6	9,7±0,2
	Кровопотеря + Феррум Лек (n=7)	6,35±0,18*	108,9±9,8*	0,39±0,01*	62,7±2,4	17,5±1,6	283,6±32,1	10,6±0,5
	Кровопотеря + наножидкость (n=10)	6,66±0,17*	127,3±5,0 ^v	0,39±0,01**	60,4±0,6	18,9±1,1	332,0±17,6	10,1±0,3

Примечания: * — статистически значимая разница значений ($p<0,05$) с интактными животными; + — с группой «кровопотеря + растворитель»; ^v — с группой «кровопотеря + Феррум Лек». RBC — общее число эритроцитов; Hb — общий гемоглобин; Hct — гематокрит; MCV — средний объем эритроцита; MCH — среднее содержание гемоглобина в эритроците; MCHC — средняя концентрация гемоглобина в эритроците; RDW — «ширина распределения» эритроцитов (анизцитоз).

рекции) сопровождалась снижением основных показателей «красной» крови (табл. 2). Через 3 ч значения RBC, Hct и Hb уменьшались соответственно на 30, 29 и 27% ($p=0,0001$), а эритроцитарные индексы не изменялись по сравнению с таковыми у интактных животных. Введение крысам с кровопотерей референс-препарата Феррум Лек повышало Hb на 17% ($p=0,0117$) по сравнению с патологией без фармакокоррекции. Это происходило на фоне тенденций к повышению RBC ($p=0,083$) и Hct ($p=0,075$). Введение эталонного препарата железа способствовало увеличению MCH ($p=0,03$) против кровопотери без фармакокоррекции. Наночастицы магнетита, стабилизированные Мексидолом и ПВП, на данном этапе наблюдений обеспечивали увеличение RBC на 20% ($p=0,0004$) и Hb на 15% ($p=0,0197$), а также повышали Hct на 13% ($p=0,018$) по сравнению с кровопотерей без фармакокоррекции. В то же время они не влияли на эритроцитарные индексы по сравнению с патологическим фоном. При этом число эритроцитов и

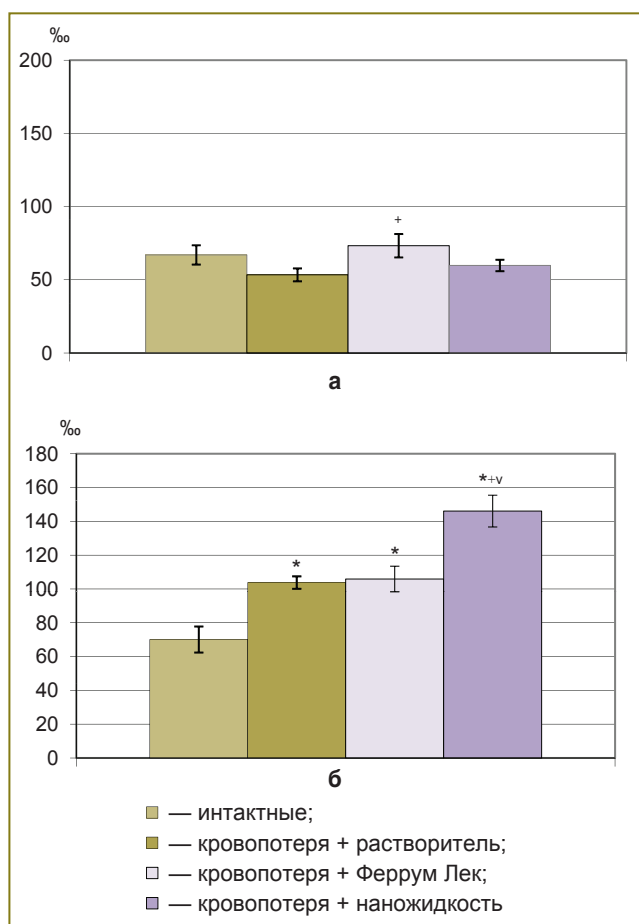


Рис. 2. Содержание ретикулоцитов в крови животных через 3 (а) и 72 ч (б) после острой кровопотери с введением наножидкости, содержащей наночастицы магнетита, стабилизированные Мексидолом и ПВП; * — статистически значимая разница значений ($p<0,05$) с интактными животными; + — с группой «кровопотеря + растворитель (без фармакокоррекции)»; v — с группой «кровопотеря + Феррум Лек»

индекс MCH статистически значимо отличались от аналогичных показателей при введении референс-препарата: соответственно в сторону увеличения ($p=0,0407$) или уменьшения ($p=0,012$).

При кровопотере без фармакокоррекции через 3 ч содержание ретикулоцитов в крови оставалось таким же, как у интактных животных (рис. 2). Введение Феррум Лек способствовало повышению этого показателя ($p=0,0428$) по сравнению с патологическим фоном. При этом наножидкость не вызывала существенных изменений числа ретикулоцитов в крови по отношению к интактным животным, кровопотере без фармакокоррекции и кровопотере с введением референс-препарата.

Через 72 ч после кровопотери с введением растворителя (третья серия) значения RBC и Hct продолжали оставаться сниженными соответственно на 18 и 16% ($p=0,0001$) по сравнению с интактными животными (см. табл. 2). Развитие компенсаторных реакций в этом периоде после кровопотери характеризовалось тенденцией к снижению RDW ($p=0,088$) при отсутствии изменений других эритроцитарных индексов. Использование референс-препарата Феррум Лек проявлялось тенденцией к повышению Hct ($p=0,095$) без изменений RBC и Hb по сравнению с кровопотерей без фармакокоррекции. Влияние наножидкости на данном этапе компенсации острой кровопотери характеризовалось тенденцией к возрастанию RBC ($p=0,0555$) и статистически значимым увеличением Hct ($p=0,0287$) при отсутствии изменений Hb по сравнению с патологическим фоном. При этом значения Hb при введении наножидкости были статистически значимо выше ($p=0,022$), чем при использовании Феррум Лек. И препарат сравнения, и наночастицы магнетита, стабилизированные Мексидолом и ПВП, в данный период наблюдений не влияли на состояние эритроцитарных индексов.

Через 72 ч после кровопотери с введением растворителя содержание ретикулоцитов в крови опытных животных было на 48% больше, чем у интактных ($p=0,0048$) (см. рис. 2). При кровопотере с введением Феррум Лек в это время число ретикулоцитов находилось на уровне модельной патологии без фармакокоррекции. В то же время после применения наножидкости оно увеличивалось на 41% по сравнению с кровопотерей без фармакокоррекции ($p=0,0005$), что было статистически значимо выше аналогичного показателя на фоне действия Феррум Лек ($p=0,0012$).

Обсуждение. Полученные результаты показали, что жидкость, содержащая наночастицы магнетита, стабилизированные Мексидолом и ПВП, стимулирует эритропоэз у интактных животных. Это проявляется уже через 3 ч после введения, сохраняется в пределах последующих 72 ч и характеризуется повышением значений RBC, Hb и Hct, которые, однако, не выходят за пределы нормы [20]. Примечательно, что при подобии введенных доз железа эффект наножидкости в отношении числа эритроцитов и гематокрита был выражен сильнее, чем таковой при использовании Феррум Лек. Более высоким было через 3 ч после инъекции и содержание ретикулоцитов в крови животных, получавших наножидкость. Такое развитие процессов позволило предположить,

что стабилизирующие агенты, и особенно Мексидол, сообщают изучаемым композитным наночастицам дополнительную способность стимулировать деление и созревание клеток эритроидного ростка костного мозга. Данное предположение согласуется с имеющимися в литературе сведениями о миелопротекторных свойствах Мексидола при облучении и его стимулирующем действии на эритропоэз при острой постгеморрагической анемии [21, 22]. Преобладающее увеличение числа эритроцитов при одинаковом уровне Hb в случае введения наножидкости интактным белым крысам также дает возможность объяснить тот факт, что насыщение эритроцитов гемоглобином в этом случае оказалось ниже, чем после применения Феррум Лек.

Моделирование острой кровопотери сопровождалось снижением уровня RBC, Hct и Hb без изменения эритроцитарных индексов, что свидетельствовало о нормохромном, нормоцитарном характере анемии и согласовывалось с данными литературы [23]. Типичным можно было считать отсутствие изменений содержания ретикулоцитов в крови животных через 3 ч после кровопотери, когда наблюдается гидремическая фаза компенсации кровопотери, и его увеличение через 72 ч, когда наступает костномозговая фаза компенсации [24].

При острой кровопотере действие наночастиц магнетита, стабилизированных Мексидолом и ПВП, как и действие эталонного препарата железа, было выражено сильнее через 3 ч от момента потери крови. При этом наножидкость вызывала более интенсивное восстановление уровня эритроцитов в крови по сравнению с Феррум Лек, что, очевидно, имеет ту же природу, что и подобные эффекты в системе эритрона интактных животных с введением стабилизированных наночастиц магнетита. В свете такого предположения противоречивым является тот факт, что в раннем сроке наблюдения наножидкость не вызывала увеличения числа ретикулоцитов в крови, как это наблюдалось в случае использования эталонного препарата железа. Исходя из темпов созревания клеток эритроидного ростка и его ускорения в условиях стресс-эритропоэза [25, 26], можно предположить, что наночастицы магнетита, стабилизированные Мексидолом и ПВП, ускоряют переход ретикулоцитов в эритроциты. Это создает иллюзию отсутствия изменений регенераторной реакции эритрона по сравнению с контрольной патологией. Не исключено также, что вещества, создающие покрытие наночастиц магнетита, способствуют выходу эритроцитов в циркуляцию, влияя на сосуды микроциркуляторного русла костного мозга и других депо, как то наблюдается под их действием в других тканях [27, 28].

Через 72 ч после кровопотери состояние основных показателей «красной» крови на фоне применяемых средств (за исключением гематокрита при введении наножидкости) не отличалось от такового при естественном развитии компенсаторных реакций и не достигало исходного уровня. Мы считаем, что это можно объяснить однократностью фармакологической коррекции и сравнительно низкой дозой введенного железа. В то же время следует отметить, что на фоне применения

наночастиц магнетита, стабилизированных Мексидолом и ПВП, Hb был выше, чем при использовании Феррум Лек. Это может быть связано с их большей биодоступностью за счет наноразмерности, а также с присутствием в составе частиц сукцинатсодержащего производного 3-гидроксипиридина, способного участвовать в митохондриальных процессах [29], где происходит синтез гема [30]. Повышение через 72 ч содержания ретикулоцитов в крови животных, которым для коррекции кровопотери вводили наножидкость, указывает, что исследуемые наночастицы не только усиливают переход ретикулоцитов в зрелые эритроциты, как это предположено относительно предыдущего срока наблюдения, но и активируют регенераторную реакцию эритроидного ростка костного мозга на более ранних ее этапах.

Заключение. Наночастицы магнетита, стабилизированные в жидкой среде 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцинатом (Мексидолом) и поливинилпирролидоном (ПВП), в дозе 1,35 мг Fe/кг массы тела стимулируют эритропоэз у интактных животных и активируют регенераторную реакцию эритрона при анемии, вызванной острой кровопотерей. Данные наночастицы действуют эффективнее, чем традиционный препарат железа Феррум Лек в сопоставимой дозе. Это преимущество, а также возможность использования в виде наножидкости открывают перспективы разработки новой лекарственной формы для коррекции анемических состояний.

Финансирование исследования и конфликт интересов. Исследование не финансировалось какими-либо источниками, и конфликты интересов, связанные с данным исследованием, отсутствуют.

Благодарности. Авторы выражают свою признательность заведующему отделом электронно-лучевой нанотехнологии Института электросварки им. Е.О. Патона (Киев, Украина) к.т.н. Ю.А. Курапову за предоставление исходного конденсата наночастиц магнетита и данных об его физико-химических характеристиках.

Литература

1. McIntyre R.A. Common nano-materials and their use in real world applications. *Sci Prog* 2012; 95(Pt 1): 1–22, <http://dx.doi.org/10.3184/003685012x13294715456431>.
2. Никифоров В.Н. Биомедицинские применения магнитных наночастиц. *Наука и технологии в промышленности* 2011; 1: 90–99.
3. Urban C., Urban A.S., Charron H., Joshi A. Externally modulated theranostic nanoparticles. *Transl Cancer Res* 2013; 2(4): 292–308, <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2218-676X.2013.08.05>.
4. Zhao X., Zhao H., Chen Z., Lan M. Ultrasmall superparamagnetic iron oxide nanoparticles for magnetic resonance imaging contrast agent. *J Nanosci Nanotechnol* 2014; 14(1): 210–220, <http://dx.doi.org/10.1166/jnn.2014.9192>.
5. Laurent S., Saei A.A., Behzadi S., Panahifar A., Mahmoudi M. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles for delivery of therapeutic agents: opportunities and challenges. *Expert Opin Drug Deliv* 2014; 11(9): 1449–1470, <http://dx.doi.org/10.1517/17425247.2014.924501>.

6. Wang S.Y., Liu M.C., Kang K.A. Magnetic nanoparticles and thermally responsive polymer for targeted hyperthermia and sustained anti-cancer drug delivery. *Adv Exp Med Biol* 2013; 765: 315–321, http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4614-4989-8_44.

7. Rosner M.H., Auerbach M. Ferumoxytol for the treatment of iron deficiency. *Expert Rev Hematol* 2011; 4(4): 399–406, <http://dx.doi.org/10.1586/ehm.11.31>.

8. Yoon M., Tománek D.J. Equilibrium structure of ferrofluid aggregates. *J Phys Condens Matter* 2010; 22(45): 455105, <http://dx.doi.org/10.1088/0953-8984/22/45/455105>.

9. Liu J., Sun Z., Deng Y., Zou Y., Li C., Guo X., Xiong L., Gao Y., Li F., Zhao D. Highly water-dispersible biocompatible magnetite particles with low cytotoxicity stabilized by citrate groups. *Angew Chem Int Ed Engl* 2009; 48(32): 5875–5879, <http://dx.doi.org/10.1002/anie.200901566>.

10. Behrens S. Preparation of functional magnetic nanocomposites and hybrid materials: recent progress and future directions. *Nanoscale* 2011; 3: 877–892, <http://dx.doi.org/10.1039/c0nr00634c>.

11. Simberg D., Park J.H., Karmali P.P., Zhang W.M., Merkulov S., McCrae K., Bhatia S.N., Sailor M., Ruoslahti E. Differential proteomics analysis of the surface heterogeneity of dextran iron oxide nanoparticles and the implications for their in vivo clearance. *Biomaterials* 2009; 30(23–24): 3926–3933, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.03.056>.

12. Важничая Е.М., Мокляк Е.В., Мовчан Б.А., Куратов Ю.А., Забозлаев А.А. Способ получения биологически активной наножидкости на основе наночастиц оксида железа (II, III) и производного 3-гидроксипиридина. Патент RU 2493857. 2012.

13. Доклінічні дослідження лікарських засобів. За ред. Стефанова О.В. Київ: Авіцена; 2001; 528 с.

14. Патон Б.Є., Мовчан Б.О., Куратов Ю.А., Яковчук К.Ю. Спосіб одержання наночастинок системи металкисень із заданим складом електронно-променевим випаровуванням і конденсацією у вакуумі. Патент UA 92556. 2009.

15. Мексидол: инструкция, описание, <http://health.mail.ru/drug/mexidol/>.

16. Поливинилпирролидон низкомолекулярный медицинский 8000±2000. ФСП 42-0345-4367-03: PN002600/01-2003, <http://www.sintvita.ru/docs/povidone8000.pdf>.

17. Феррум Лек: инструкция, описание, http://it-apharm.ru/ferrum_lek.html.

18. Антонов В.С., Богомоллова Н.В., Волков А.С. Автоматизация гематологического анализа. Справочник заведующего клинико-диагностической лабораторией 2010; 1, <http://www.mcf.ru/journals/41/256/17837/>.

19. Методы клинических лабораторных исследований. Под ред. Камышниковой В.С. М: МЕДпресс-информ; 2013; 736 с.

20. Giknis M.L.A., Clifford Ch.B. Clinical laboratory parameters for CrI:Wl(Han). Charles River Laboratories 2008, http://www.criver.com/files/pdfs/rms/wistarhan/rm_rm_r_wistar_han_clin_lab_parameters_08.aspx.

21. Мороз Б.Б., Дешеовой Ю.Б., Сукоян Г.В., Воронина Т.А., Лырщикова А.В., Лебедев В.Г. Влияние Мексидола на пострадиационное восстановление кроветворной системы. Радиационная биология. Радиоэкология 2009; 49(1): 90–96.

22. Власенко Н.О., Важничая О.М. Вплив 2-етил-6-метил-3-оксипіридину сукцинату на регенераторну реакцію

еритрону при гострій крововтраті. Фармацевтичний часопис 2013; 1(25): 181–185.

23. Погорелов В.М., Козинец Г.И., Ковалева Л.Г. Лабораторно-клиническая диагностика анемий. М: МИА; 2004; 173 с.

24. Патофизиология. Т. 2. Под ред. Новицкого В.В., Гольдберга Е.Д., Уразовой О.И. М: ГЭОТАР-Медиа; 2009; 640 с.

25. Румянцев А.Г., Морщакова Е.Ф., Павлов А.Д. Эритропоэтин в диагностике, профилактике и лечении анемий. М; 2003; 448 с.

26. Paulson R.F., Shi L., Wu D.C. Stress erythropoiesis: new signals and new stress progenitor cells. *Curr Opin Hematol* 2011; 18(3): 139–145, <http://dx.doi.org/10.1097/MOH.0b013e32834521c8>.

27. Карпикова Н.И., Петерюхина А.А. Применение препарата Мексидол для лечения больных с заболеваниями сосудов головного мозга. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины 2006; Прил. 1: 32–33.

28. Неогемодез: инструкция по применению и отзывы, <https://health.mail.ru/drug/neohemodez>.

29. Лукьянова Л.Д., Германова Э.Л., Цыбина Т.А., Чернобаева Г.Н. Энерготропное действие сукцинатсодержащих производных 3-оксипиридина. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины 2009; 147(10): 388–392.

30. Iron and heme metabolism, <http://themedicalbiochemistrypage.org/heme-porphyrin.php>.

References

1. McIntyre R.A. Common nano-materials and their use in real world applications. *Sci Prog* 2012; 95(Pt 1): 1–22, <http://dx.doi.org/10.3184/003685012x13294715456431>.

2. Nikiforov V.N. Biomedical applications of magnetic nanoparticles. *Nauka i tehnologii v promyshlennosti* 2011; 1: 90–99.

3. Urban C., Urban A.S., Charron H., Joshi A. Externally modulated theranostic nanoparticles. *Transl Cancer Res* 2013; 2(4): 292–308, <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2218-676X.2013.08.05>.

4. Zhao X., Zhao H., Chen Z., Lan M. Ultrasmall superparamagnetic iron oxide nanoparticles for magnetic resonance imaging contrast agent. *J Nanosci Nanotechnol* 2014; 14(1): 210–220, <http://dx.doi.org/10.1166/jnn.2014.9192>.

5. Laurent S., Saei A.A., Behzadi S., Panahifar A., Mahmoudi M. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles for delivery of therapeutic agents: opportunities and challenges. *Expert Opin Drug Deliv* 2014; 11(9): 1449–1470, <http://dx.doi.org/10.1517/17425247.2014.924501>.

6. Wang S.Y., Liu M.C., Kang K.A. Magnetic nanoparticles and thermally responsive polymer for targeted hyperthermia and sustained anti-cancer drug delivery. *Adv Exp Med Biol* 2013; 765: 315–321, http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4614-4989-8_44.

7. Rosner M.H., Auerbach M. Ferumoxytol for the treatment of iron deficiency. *Expert Rev Hematol* 2011; 4(4): 399–406, <http://dx.doi.org/10.1586/ehm.11.31>.

8. Yoon M., Tománek D.J. Equilibrium structure of ferrofluid aggregates. *J Phys Condens Matter* 2010; 22(45): 455105, <http://dx.doi.org/10.1088/0953-8984/22/45/455105>.

9. Liu J., Sun Z., Deng Y., Zou Y., Li C., Guo X., Xiong L., Gao Y., Li F., Zhao D. Highly water-dispersible biocompatible

magnetite particles with low cytotoxicity stabilized by citrate groups. *Angew Chem Int Ed Engl* 2009; 48(32): 5875–5879, <http://dx.doi.org/10.1002/anie.200901566>.

10. Behrens S. Preparation of functional magnetic nanocomposites and hybrid materials: recent progress and future directions. *Nanoscale* 2011; 3: 877–892, <http://dx.doi.org/10.1039/c0nr00634c>.

11. Simberg D., Park J.H., Karmali P.P., Zhang W.M., Merkulov S., McCrae K., Bhatia S.N., Sailor M., Ruoslahti E. Differential proteomics analysis of the surface heterogeneity of dextran iron oxide nanoparticles and the implications for their in vivo clearance. *Biomaterials* 2009; 30(23–24): 3926–3933, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.03.056>.

12. Vazhnichaya Ye.M., Mokliak Ye.V., Movchan B.A., Kurapov Yu.A., Zabozaev A.A. *Sposob polucheniya biologicheskii aktivnoy nanozhidkosti na osnove nanochastits oksida zheleza (II, III) i proizvodnogo 3-gidroksipiridina* [Method of obtaining of biologically active nanofluid on the base of iron oxide (II, III) nanoparticle and 3-hydroxypyridine derivative]. Patent RU 2493857. 2012.

13. *Doklinicheskie issledovaniya lekarstvennykh sredstv* [Preclinical investigations of medicinal drugs]. Edited by Stefanov O.V. Kiev: Avitcena; 2001; 528 p.

14. Paton B.Ye., Movchan B.A., Kurapov Yu.A., Yakovchuk K.Yu. *Sposob polucheniya nanochastits sistemy metall-kislorod s zadannym sostavom, elektronno-luchevym ispareniem i kondensatsiey v vakuume* [Method of obtaining nanoparticles of metal-oxygen system with given composition by electron beam evaporation and condensation in vacuum]. Patent UA 92556. 2009.

15. *Meksidol: instruktsiya, opisaniye* [Mexidol: instruction, description], <http://health.mail.ru/drug/mexidol/>.

16. *Polivinilpyrrolidon nizkomolekulyarnyy meditsinskiy 8000±2000* [Polyvinylpyrrolidone of low molecular weight medicinal 8000±2000]. ФСП 42-0345-4367-03: PN002600/01-2003, <http://www.sintvita.ru/docs/povidone8000.pdf>.

17. *Ferrum Lek: instruktsiya, opisaniye* [Ferrum Lek: instruction, description], http://it-apharm.ru/ferrum_lek.html.

18. Antonov V.S., Bogomolova N.V., Volkov A.S. Automatization of hematological analysis. *Spravochnik zaveduyushchego kliniko-dagnosticheskoy laboratoriy* 2010; 1, <http://www.mcf.ru/journals/41/256/17837/>.

19. *Metody klinicheskikh laboratornykh issledovaniy* [Methods of clinical laboratory investigations]. Edited by Kamyishnikov V.S. Moscow: MEDpress-inform; 2013; 736 p.

20. Giknis M.L.A., Clifford Ch.B. Clinical laboratory parameters for CrI:WI(Han). *Charles River Laboratories* 2008, http://www.criver.com/files/pdfs/rms/wistarhan/rm_rm_r_wistar_han_clin_lab_parameters_08.aspx.

21. Moroz B.B., Deshevoi Iu.B., Sukoian G.V., Voronina T.A., Lyrshchikova A.V., Lebedev V.G. The influence of Mexidol on post-radiation recovery of hemopoietic system. *Radiats Biol Radioecol* 2009; 49(1): 90–96.

22. Vlasenko N.O., Vazhnicha O.M. The influence of 2-ethyl-6-methyl-3-oxypyridine succinate on regenerative reaction of erythron at an acute blood loss. *Farmatsevtichnyi chasopis* 2013; 1(25): 181–185.

23. Pogorelov V.M., Kozinets G.I., Kovaleva L.G. *Laboratorno-klinicheskaya diagnostika anemiy* [Laboratory and clinical diagnosis of anemias]. Moscow: MIA; 2004; 173 p.

24. *Patofiziologiya. T. 2* [Pathophysiology. Vol. 2]. Edited by Novitskiy V.V., Goldberg E.D., Urazova O.I. Moscow: GEOTAR-Media 2009; 640 p.

25. Rumyantsev A.G., Morschakova E.F., Pavlov A.D. *Eritropoetin v diagnostike, profilaktike i lechenii anemiy* [Erythropoietin in the diagnosis, prevention and treatment of anemias]. Moscow; 2003; 448 p.

26. Paulson R.F., Shi L., Wu D.C. Stress erythropoiesis: new signals and new stress progenitor cells. *Curr Opin Hematol* 2011; 18(3): 139–145, <http://dx.doi.org/10.1097/MOH.0b013e32834521c8>.

27. Karpikova N.I., Peteryuhina A.A. Use of the preparation Mexidol for the treatment of patients with cerebrovascular diseases of the brain. *Bulleten' eksperimental'noj biologii i mediciny* 2006; Suppl. 1: 32–33.

28. *Neogemodez: instruktsiya po primeneniyu i otzvyvy* [Neohemodes: instruction for use and feedback], <https://health.mail.ru/drug/neohemodez>.

29. Lukyanova L.D., Germanova E.L., Tsybina T.A., Chernobaeva G.N. Energotropic effect of succinate-containing derivatives of 3-hydroxypyridine. *Bulleten' eksperimental'noj biologii i mediciny* 2009; 147(10): 388–392.

30. *Iron and heme metabolism*, <http://themedicalbiochemistrypage.org/heme-porphyrin.php>.