

PACS numbers: 83.80.Gv, 87.16.-b, 87.17.-d, 87.18.-h, 87.19.um, 87.50.C-, 87.85.jj

## Влияние магниточувствительных наноразмерных частиц на пул стволовых кроветворных клеток *in vitro*

И. А. Хлусов, В. С. Седой\*, Е. П. Найден\*\*

ООО «СибМедАналит»,

Томск, Россия

\*Институт сильноточной электроники СО РАН,

Томск, Россия

\*\*Томский государственный университет,

Томск, Россия

Изучено *in vitro* влияние ферромагнитных наночастиц в дозе 10 предельно допустимых концентраций (3 мг/л) на колониеобразующую способность костномозговых прекурсоров гранулоцитопоеза и моноцитопоеза в постоянном магнитном поле с напряженностью 200 Э. Исследовались порошки, полученные методами электрического взрыва проводников (медь, магнетит  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , смесь гематита  $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$  с магнетитом) или механохимического синтеза (кобальтовый феррит  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ ). Электронная микроскопия показала средний диаметр частиц в диапазоне 6–65 нанометров. Выявлена специфическая активность нанопорошков в отношении функциональных свойств кроветворных и стромальных клеток, не связанная с их растворением и, тем не менее, имеющая сложную природу. Она зависит от размеров и магнитных характеристик частиц самих порошков, режима и дозы их введения, наличия внешнего магнитного поля. Кроме того, в многоклеточных системах нельзя исключить реакцию коммитированных клеток-предшественников гемопоэза, опосредованную через клетки (факторы) микроокружения, состояние которых у различных индивидуумов и в различных условиях жизнедеятельности весьма изменчиво. Полученные данные открывают новые возможности для создания и целенаправленного использования различных наноразмерных материалов и технологий для индивидуальной терапии.

Вивчено *in vitro* вплив феримагнетних наночастинок у дозі 10 гранично припустимих концентрацій (3 мг/л) на колонієутворювальну здатність кістковомозкових прекурсорів гранулоцитопоезу та моноцитопоезу в сталому магнетному полі з напруженістю 200 Е. Досліджувалися порошки, одержані методами електричного вибуху провідників (мідь, магнетит  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , суміш гематиту  $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$  з магнетитом) або механохімічної синтези (кобальтовий ферит  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ ). Електронна мікроскопія показала середній діаметер

частинок у діапазоні 6–65 нанометрів. Виявлено специфічну активність нанопорошків щодо функціональних властивостей кровотворних і стромальних клітин, яка не пов'язана з їхнім розчиненням і має складну природу. Вона залежить від розмірів і магнетних характеристик частинок самих порошків, режиму й дози їх уведення, наявності зовнішнього магнетного поля. Крім того, у багатоклітинних системах не можна виключити реакцію комитованих кліток-попередників гемопоезу, опосередковану через клітини (фактори) мікрооточення, стан яких у різних індивідуумів і в різних умовах життєдіяльності є надто мінливим. Одержані дані відкривають нові можливості для створення й цілеспрямованого використання різних нанорозмірних матеріалів і технологій для індивідуальної терапії.

Effect of ferrimagnetic nanoparticles in the dose of 10 maximum permissible concentrations (3 mg/l) on colony-forming ability of bone-marrow granulocytopoiesis and monocytopoiesis precursors in constant magnetic field with magnetic intensity of 200 Oe is studied *in vitro*. Powders obtained with method of electric explosion of conductors ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$  magnetite and mixture of  $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$  hematite with magnetite) or mechanochemical synthesis ( $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  cobalt ferrite) are investigated. Electron microscopy showed mean diameter of particles in the range of 6–65 nanometres. Specific activity of nanopowders in respect of functional properties of hemopoietic and stromal cells, which is not connected with their dissolution, but having complex nature, is revealed. It depends on dimensions and magnetic characteristics of powders themselves, conditions and doses of their introduction, presence of external magnetic field. Besides, in multicell systems, one cannot exclude the reaction of committed progenitors of hemopoiesis, mediated through cells (factors) of microenvironment, the state of which is rather variable with different individuals and different vital activities. Data obtained open new possibilities to design and purposely use various nanosize materials and technologies for individual therapy.

**Ключевые слова:** костный мозг мыши, наночастицы, гранулоцитарные и моноцитарные прекурсоры, фибробласты, магниточувствительные оксиды железа.

(Получено 22 ноября 2007 г.)

## 1. ВВЕДЕНИЕ

Применение магнитных наночастиц имеет перспективы в биологии и медицине по следующим основным направлениям: 1) адресная доставка, удержание лекарств в организме и управление их высвобождением; 2) в экспериментальной цитологии и гистологии для избирательной сорбции на клетках с целью их стимуляции, разрушения или удаления; 3) гипертермия опухолей и патологических очагов; 4) в качестве биологически активных веществ нового класса (магнитная фармакология) [1]. Активный поиск биосовместимых наноматериалов для конструирования систем целевой доставки лекарств и биологических молекул сосредоточен на липосомах и

твердотельных частицах [2, 3]. Магнитные частицы должны быть биоинертными, иметь размеры не более 1 мкм и требуемые магнитные характеристики.

В то же время, накапливаются негативные сведения о молекулярных и клеточных эффектах наноразмерных частиц. В частности, вещества в виде ультрадисперсных порошков могут быть потенциально опасными и требуют осторожного применения [4]. В связи с этим, разработка магнитных наночастиц для биологии и медицины до сих пор остается проблемой [1].

Мишенями наночастиц выступают система крови, центральная нервная система, респираторный и желудочно-кишечный тракты. Считается, что они способны избегать процессов фагоцитоза, циркулировать в крови и лимфе, проникать через биологические барьеры, системно распределяться в различных органах и тканях [5].

Данная работа посвящена изучению *in vitro* влияния ферри-магнитных наночастиц и их композитов на колониеобразующую способность костномозговых прекурсоров гранулоцитопоэза и моноцитопоэза в постоянном магнитном поле.

## 2. МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

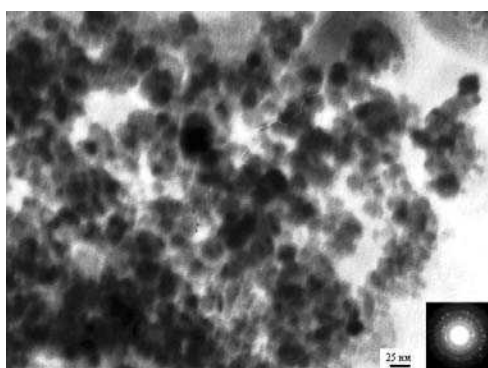
Как известно, ферримагнетики (ферриты) представляют собой сложные оксиды железа, сочетающие свойства ферромагнетика и полупроводника или диэлектрика. Ферримагнитные порошки синтезировали методом электрического взрыва проводников из железа (получали магнетит  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  и смесь гематита  $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$  с магнетитом) и из меди, содержащей 0,2% железа, использовали также кобальтовый феррит  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ , полученный методом механохимического синтеза.

Исследования морфологии, гранулометрии и дефектной субструктуры порошков осуществляли методами электронной дифракционной микроскопии на приборе ЭМ 125. Исследование фазового состава и структурных параметров порошковых образцов проводилось на дифрактометре Shimadzu XRD-6000 на  $\text{CuK}_\alpha$ -излучении. Анализ фазового состава проведен с использованием базы структурных данных PCPDFWIN, а так же программы полнопрофильного анализа рентгенограмм POWDER CELL 2.4. Определение основных магнитных характеристик: величин удельной намагниченности и полей магнитной анизотропии порошков проведено на основе анализа кривых намагничивания, полученных методом сингулярной точки в импульсных магнитных полях.

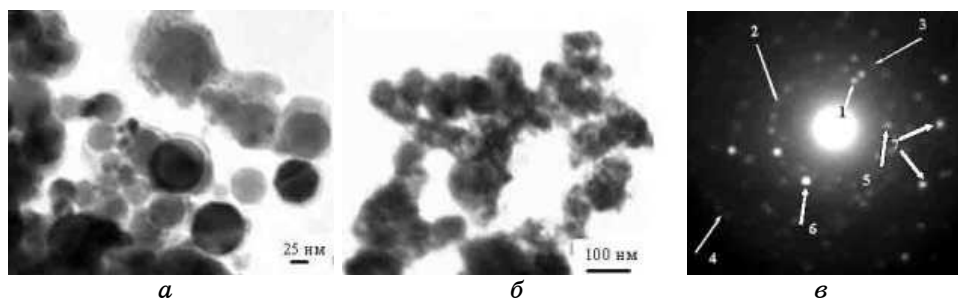
Механохимически синтезированные порошки кобальтовой феррошпинели  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  представляют собой слабо связанные друг с другом наноразмерные сферические частицы со средним диаметром 6–8 нм, объединенные в агрегаты размером  $265 \pm 15$  нм (рис. 1). В соответствии с гистограммой распределения частиц по размерам,

доля частиц с диаметром 4–8 нм составляет примерно 65%. Рентгеноструктурный и электронно-микроскопический анализы показали, что нанопорошки, кроме основного вещества в кристаллическом состоянии, содержат 1–2 об.% гематита ( $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ) и незначительное количество рентгеноаморфной фазы.

Частицы магнетита  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , полученные методом электрического взрыва, имеют сферическую, в отдельных случаях полиэдрическую форму, с кристаллическим ядром и тонкой аморфной оболочкой (рис. 2). 85% из них обладают средним диаметром  $40 \pm 23$  (в других полях измерения  $67 \pm 2$ ) нм, остальные 75–113 нм. Согласно данным рентгеноструктурного анализа, магнетит составляет 98–99 об.%, на гематит и чистое железо  $\alpha$ -модификации приходится 1–2 об.%. Электровзрывной порошок ( $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3 + \text{Fe}_3\text{O}_4$ ) состоял из 44 об.%



**Рис. 1.** Трансмиссионная электронная микроскопия порошка кобальтового феррита. На вставке — микроэлектроннограмма частиц порошка. Увеличение:  $\times 200000$ .



**Рис. 2.** Электронно-микроскопическое изображение частиц порошков магнетита  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (а) и  $\text{Fe}_2\text{O}_3 + \text{Fe}_3\text{O}_4$  (б), микроэлектроннограмма частиц порошка (в) (1 —  $[220] \text{Fe}_3\text{O}_4$ , 2 —  $[113] \text{Fe}_3\text{O}_4$ , 3 —  $[440] \text{Fe}_3\text{O}_4$ , 4 —  $[462] \text{Fe}_3\text{O}_4$ , 5 —  $[113] \text{Fe}_2\text{O}_3$ , 6 —  $[116] \text{Fe}_2\text{O}_3$ , 7 —  $[220] \text{Fe}_2\text{O}_3$ ). Увеличение:  $\times 160000$  (а) и  $\times 100000$  (б).

слабомагнитного гематита и 56 об.% магнетита, средний диаметр частиц которых составил  $28 \pm 9$  нм (рис. 2).

Порошок меди является гетерофазной смесью: Cu — 83 об.%, 16 об.% оксида меди CuO, около 0,2 об.% железа и не более 1% рентгеноаморфной фазы. Данные рентгеноструктурного анализа о наличии фазы металлического железа подтверждаются результатами измерения магнитных свойств. Нанопорошок меди проявляет слабые магнитные свойства. Измеренная величина удельной намагниченности составляет  $0,35 \text{ Гс} \cdot \text{см}^3/\text{г}$ , что соответствует содержанию около 0,3 об.% железа.

Магнитные характеристики наноразмерных порошков представлены в табл. 1.

Для изучения санитарно-химических свойств наночастиц использовали дозировку 0,3–3 мг/л, что составляет 1–10 предельно допустимых концентраций (ПДК) по железу [6], которую в последующем применяли в биологической части исследования. Нанопорошки магнетита или кобальтового феррита (100 мг/л) согласно требованиям ISO 10993-5 растворяли в стерильных условиях в течение 3, 7, 8 и 20 суток при 37°C в изотоническом растворе хлорида натрия (0,9% NaCl), оценивали изменения pH, концентрацию ионов  $\text{Fe}^{3+}$  в растворах методом инверсионной вольтамперометрии [7]. Кроме того, была изучена растворимость наноразмерного магнетита при 5-суточном воздействии постоянного магнитного поля напряженностью 1,3 кЭ.

Культуральные исследования проводились с использованием клеточного материала костного мозга, взятого от 10 мышей линии СВА/СаЛас. Животных умерщвляли эфирным наркозом, выделяли костный мозг бедренных костей в концентрации  $0,5 \cdot 10^6$  кариоцитов/мл и культивировали в течение 1 ч при 37°C в объеме клеточной взвеси 5 мл с порошками наноферритмагнитных оксидов железа  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  или  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  (3 мг/л культуры клеток, 10 ПДК). В контрольные пробирки добавляли соответствующий объем (0,5 мл) растворителя (0,9% NaCl). Использовалась культуральная среда следующего состава: 280 мг/л L-глутамин (Sigma), 40 мг/л гентамицин сульфат, 15% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС, ICN), 85% среды 199 (НПО «Вектор»).

**ТАБЛИЦА 1.** Основные магнитные характеристики ферритмагнитных нанопорошков при комнатной температуре, X.

Параметр	$\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3 + \text{Fe}_3\text{O}_4$	$\text{CoFe}_2\text{O}_4$	$\text{Fe}_3\text{O}_4$	Cu
Удельный магнитный момент, $\sigma$ , $\text{Гс} \cdot \text{см}^3/\text{г}$	2,7	48	71	0,35
Остаточная намагниченность (после снятия магнитного поля), $\text{Гс} \cdot \text{см}^3/\text{г}$	0	0	10	0

Часть (1,5 мл) клеточной суспензии, обработанной взвесью ферромагнитных наночастиц, использовали для выявления спонтанной (без факторов роста) колониеобразующей способности костного мозга при клонировании  $0,75 \cdot 10^6$  жизнеспособных кариоцитов в течение 7 дней в 35-мм пластиковых чашках Петри при  $37^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  и 100% влажности в  $\text{CO}_2$ -инкубаторе. Половину всех исследуемых культур помещали на магнитный коврик с постоянной напряженностью поля 200 Э.

В оставшемся объеме определяли цитотоксичность исследуемых образцов наночастиц в тесте на окрашиваемость 0,4% трипановым синим до и через 24 часа после культивирования при  $37^\circ\text{C}$ .

В другой части экспериментов цельную фракцию интактных миелокариоцитов в концентрации  $1,5 \cdot 10^5$  жизнеспособных нуклеаров разливали в 24-луночные планшеты Corning-Costar в 0,9 мл культуральной среды, описанной выше. После прилипания клеток доводили объем до 1 мл посредством добавления взвеси нанопорошков  $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3 + \text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  или  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  в конечной концентрации 3 мг/л культуры клеток. В контрольные пробирки добавляли соответствующий объем (0,1 мл) растворителя (0,9% NaCl). Клонировали клетки в течение 7 дней в  $\text{CO}_2$ -инкубаторе при  $37^\circ\text{C}$  и 100% влажности. Половину исследуемых культур помещали на магнитный коврик с постоянной напряженностью поля 200 Э (0,02 Т).

Через 7 дней оценивали число колониеобразующих единиц (КОЕ) — клонов родоначальной клетки. Гранулоцитарные прекурсоры (КОЕ-Г) считали по колониям (клонам), состоящих из 50 и более ядросодержащих элементов (рис. 6), моноцитарно-макрофагальные (КОЕ-М) — из 30 и более нуклеаров, имеющих морфологию гранулоцитов или моноцитов при окраске азуром II-эозином.

Кроме того, изучали *in vitro* морфологическую реакцию фибробластов мыши NIH 3T3 на синтезированные наноразмерные оксиды железа. Для этого нанопорошки в указанной дозе наносили на монослой клеток, либо клеточную суспензию ( $5 \cdot 10^4/\text{см}^2$ ) наслаивали на порошок, помещенный на дно культуральных чашек Петри. Культивировали в течение 1–3 суток соответственно при  $37^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  и 100% влажности в 90% среды 199, 10% ЭТС, 280 мг/л L-глутамина, 40 мг/л гентамицина сульфат,  $10^{-6}$  М дексаметазона [8].

Статистическую обработку результатов проводили согласно непараметрическому U-критерию Вилкоксона–Манна–Уитни ( $P_U$ ) и ранговому коэффициенту корреляции Спирмена.

### 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Согласно рентгеноструктурному анализу, в нанопорошке магнетита присутствовала фаза железа, обладающего известным влиянием на процессы костномозгового кроветворения. В связи с этим, была изу-

чена растворимость нанопорошков в модельной биологической жидкости. 7-суточные экстракты магнетита либо кобальтового феррита незначительно изменяли концентрацию протонов водорода в растворителе (контроль), рН которого составляло в среднем 6,94 единиц ( $n = 4$ ). В интервале дозы наночастиц 1–10 ПДК средние значения рН варьировали в пределах 97,4–98,3% от контрольной величины ( $n = 6$ ). При этом статистически значимой зависимости растворимости наночастиц от их концентрации установлено не было.

По-видимому, наночастицы слабо взаимодействуют с гидроксильными группами, способствуя накоплению в растворе протонов. Тем не менее, их влияние на модельную биологическую жидкость укладывается в допустимые пределы для материалов, предназначенных для медицины ( $\pm 1,0$  ед. рН).

Инверсионная вольтамперометрия показала наличие ионов  $\text{Fe}^{3+}$  в 3–20-суточных растворах наноразмерного магнетита в пределах 42–56 мкг/л при их концентрации в чистом растворителе менее 1 мкг/л. Подобное содержание не превышает 1,4–1,9% от теоретически возможного выхода чистого железа из твердой фазы в раствор, что не имеет существенного биологического значения при использовании наночастиц в диапазоне концентраций 1–10 ПДК. При этом в динамике растворения отмечалось некоторое снижение (со скоростью 0,89 мкг/сут) уровня ионов железа в растворе (рис. 3).

В постоянном магнитном поле выход ионов  $\text{Fe}^{3+}$  из магнетита в раствор также уменьшался. 5-суточное накопление вещества составило 26 мкг/л ( $n = 4$ ) при ожидаемой концентрации 54 мкг/л согласно уравнению регрессии на рис. 3.

Таким образом, санитарно-химические исследования показали, что синтезированные ферримагнитные нанопорошки являются магниточувствительным, слабо растворимым материалом, перспективным для разработки наносистем доставки лекарственных и биологических препаратов.

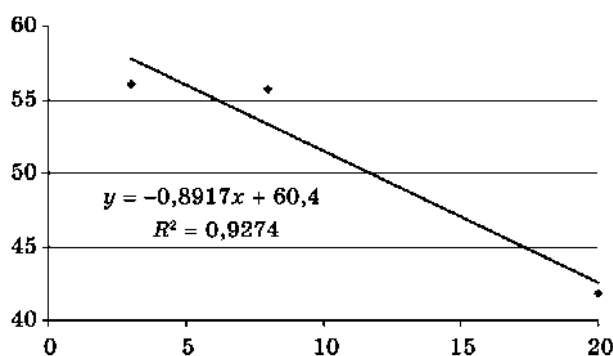
Изучение биологической инертности искусственных наноразмерных материалов проведено с помощью 24-часового цитотоксического теста с трипановым синим. Выявлена 77% ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ )–80% ( $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ ) выживаемость клеток костного мозга при 85% неокрашенных миелокариоцитов в контроле. Полученные данные позволяют заключить, что наноразмерные частицы не вызывают грубых некротических изменений клеточных цитоплазматических мембран.

Вместе с тем известно, что высокой чувствительностью к природе тестируемого материала обладают методы определения функциональной активности клеток [9, 10].

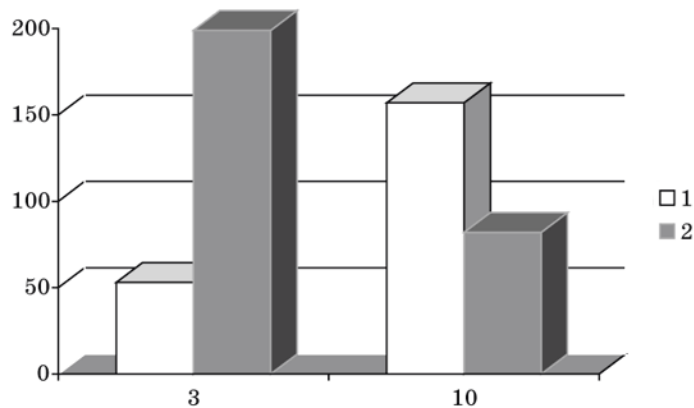
Так, добавление ферримагнитных нанопорошков на уже сформированный монослой фибробластов НИИ ЗТЗ не влияло на морфологию и процент гибели клеток. В другом эксперименте адгезия стромальных клеток к пластику, заранее покрытому нанопорош-

ком, ухудшалась в местах скопления наночастиц. К 3-м суткам монослой формировался только в присутствии магнетита, но не кобальтового феррита.

Культуральные эксперименты также показали результаты, зависящие от способа применения ферромагнитных наночастиц (табл. 2, 3). Предварительное краткосрочное сокультивирование наночастиц с миелокариоцитами теоретически способствует, как минимум, их фиксации на цитоплазматических мембранах. Тем не менее, при последующем клонировании родоначальных кроветворных клеток не было замечено их статистически значимой реакции на раздражитель



**Рис. 3.** Динамика растворения наноразмерных частиц магнетита. По оси абсцисс — время растворения, сутки; по оси ординат — концентрация ионов железа в растворе, мкг/л. В каждой точке представлены данные четырех измерений.



**Рис. 4.** Зависимость роста унипотентных гранулоцитарных прекурсоров от дозы магнетита в интактных условиях (1) и при наложении внешнего магнитного поля (2). По оси абсцисс — доза наночастиц, предельно допустимая концентрация; по оси ординат — амплитуда эффекта, % от контроля.



(табл. 2).

Напротив, наноразмерные частицы магнетита и гематита, но не кобальтового феррита, добавленные в культуру миелокариоцитов на пластике, стимулировали на 50% выход КОЕ-Г (табл. 3). При этом колониестимулирующий эффект наночастиц напрямую коррелировал с их средним размером.

Внешнее магнитное поле в использованных дозах оказалось биологически инертным в отношении роста гранулоцитарных и моноцитарных прекурсоров. В то же время, наноразмерные ферримагнетики являются модуляторами эффекта постоянного магнитного по-

**ТАБЛИЦА 2.** Содержание кроветворных прекурсоров (на  $10^5$  нуклеоров/ $\text{см}^2$ ) при предварительном смешивании миелокариоцитов с ферримагнитными наночастицами, X.

Образец, $n = 4$	Без постоянного магнитного поля		Постоянное магнитное поле	
	КОЕ-Г	КОЕ-М	КОЕ-Г	КОЕ-М
Контроль	2,03	0,94	1,43	0,88
$\text{Fe}_3\text{O}_4$	1,08	1,2	2,85 $p_1 = 0,04$	1,90
$\text{CoFe}_2\text{O}_4$	2,08	2,37	2,19	2,24 $p_1 = 0,04$

**ТАБЛИЦА 3.** Содержание кроветворных прекурсоров (на  $10^5$  нуклеоров/ $\text{см}^2$ ) после добавления ферримагнитных наночастиц в культуру миелокариоцитов на пластике, X.

Образец, $n = 4$	Без постоянного магнитного поля		Постоянное магнитное поле	
	КОЕ-Г	КОЕ-М	КОЕ-Г	КОЕ-М
Контроль	6,22	3,86	6,11	3,20
$\text{Fe}_3\text{O}_4$	9,78 $p_1 = 0,016$	5,65	6,00	3,58
$\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3 + \text{Fe}_3\text{O}_4$	7,91 $p_1 = 0,02$	5,27	4,14 $p_2 = 0,03$	3,21
$\text{CoFe}_2\text{O}_4$	4,52	3,01	5,84	3,95
Cu	4,22 $p_1 = 0,027$ $p_2 = 0,015$		9,56 $p_1 = 0,003$ $p_2 = 0,001$ $p_3 = 0,016$	

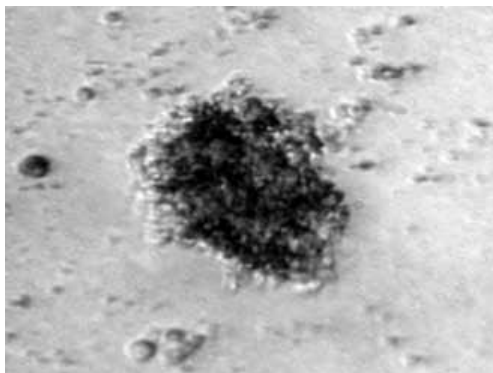
*Примечание:* здесь и в табл. 1 ( $P_1$ ) — статистически значимые различия с контролем, ( $P_2$ ) — с соответствующими значениями без магнитного воздействия.

ля, усиливая или ослабляя способность КОЕ-Г к делению (табл. 2, 3).

В свою очередь, модулирующее влияние наночастиц зависит от способа их использования, фазового состава, размеров, магнитных характеристик и, возможно, неравномерного распределения в культуре клеток (рис. 5). В частности, наноразмерные композитные частицы меди с примесью железа проявляли слабые магнитные свойства по сравнению с магнетитом. Тем не менее, они проявляли различную биологическую активность, противоположную магнетиту, в зависимости от напряженности магнитного поля (табл. 3). Возможным объяснением феномена может быть существенное различие в магнитных характеристиках примененных нами ферритмагнитных нанопорошков (табл. 1).



**Рис. 5.** Стромальные механоциты в культуре костного мозга, подвергнутой комбинированному воздействию наноразмерного магнетита и постоянного магнитного поля.  $\times 700$ .



**Рис. 6.** Нативная колония из 580 кроветворных клеток, выросшая на 7 сутки культивирования в жидкой питательной среде в присутствии наночастиц. Для визуализации скопления наночастиц использовано контрастирование снимка в оттенках серого цвета.  $\times 100$ .

Известно, что размерный фактор может оказывать существенное влияние на магнитные свойства веществ в нанодисперсном состоянии [11]. По мере уменьшения диаметра частиц металла до некоторого критического значения может происходить нарушение доменной структуры, что сопровождается возрастанием коэрцитивной силы, а при дальнейшем уменьшении размера — появлением супермагнитных свойств и, как следствие, понижением способности нанопорошков откликаться на воздействие внешнего стационарного магнитного поля.

Фундаментальные магнитные свойства наноразмерных порошков оксидных ферритмагнетиков  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  и  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  существенно отличаются от свойств для массивного состояния [12]. При уменьшении структурного элемента с  $10^5$  до 3–15 нм эти вещества проявляют характерные свойства кластерного спинового стекла. В этом состоянии спины «замерзают» в определенном, но хаотически изменяющемся от точки к точке направлении так, что дальний порядок в системе отсутствует. В результате удельный магнитный момент  $\sigma$  значительно снижается и составляет 71 и 48 Гс·см<sup>3</sup>/г для магнетита и кобальтовой феррошпинели соответственно (табл. 1), но остается достаточно большим для решения различных биомедицинских задач, в частности транспортировки и удержания лекарственных средств или проведения гипертермии.

С другой стороны, функционально активными в отношении родоначальных клеток гранулоцитопоза, как в магнитном поле, так и без него, оказались крупные наночастицы (средний диаметр 28–67 нм) с крайними значениями магнитных параметров (табл. 1). Таким образом, размерный фактор, в сравнении с магнитными свойствами, может оказаться решающим в определении возможных направлений использования ферритмагнитных наночастиц в биологии и медицине.

Далее эксперименты показали, что возможна дозовая зависимость биологического эффекта наночастиц в интактных условиях и в магнитном поле (рис. 4). Согласно методике исследования, при предварительном смешивании ферритов и миелокариоцитов с последующим переносом на пластик конечная концентрация искусственных наноразмерных частиц равнялась 0,9 мг/л (3 ПДК), что составило 30% от первоначальной дозировки.

Кроме того, мишенью магниточувствительных ферритов могут быть фибробласты — необходимый элемент гемопозиндуцирующего микроокружения для пролиферации и дифференцировки родоначальных и зрелых гранулоцитов [13]. В культуре цельного костного мозга на пластике, как и в культуре фибробластов НИИ ЗТЗ, добавление наноразмерного магнетита, но не кобальтового феррита, способствует прилипанию стромальных клеток, формированию межклеточных контактов по силовым линиям магнитного поля (рис. 5).

Наночастицы оксидов железа (в диапазоне средних диаметров 15–60 нм) позиционируются в отношении биологических мишеней как пассивные или активные агенты [14], что предполагает их применение в различных разделах наномедицины, включая биомаркеры, молекулярную диагностику, системы доставки и высвобождения лекарств или клеточные технологии [5].

Высокая площадь удельной поверхности порошков определяет их высокую активность в клеточном окружении [5]. Нами выявлена специфическая активность взвеси ферримагнитных нанопорошков в отношении функциональных свойств (адгезия, пролиферация) кровяных и стромальных клеток, не связанная с их растворением, тем не менее, имеющая сложную природу. Она может зависеть от физико-химических свойств самих порошков, режима и дозы введения, наличия внешнего магнитного поля. Кроме того, в многоклеточных системах нельзя исключить опосредованную реакцию коммитированных клеток-предшественников гемопоэза через клетки (факторы) микроокружения, состояние которых у различных индивидуумов и в различных условиях жизнедеятельности весьма изменчиво.

Полученные данные открывают новые возможности к созданию и целенаправленному использованию наноразмерных материалов и технологий для индивидуальной терапии в рамках персонализированной медицины [15]. Так, например, композит меди и кобальтовый феррит, в силу наличия магнитных свойств, отсутствия остаточной намагниченности (табл. 1), малого размера частиц и биологической инертности по отношению к пулу стволовых кровяных клеток, перспективны в качестве потенциального средства целевой доставки лекарств и биологических молекул. Функционально активный наноразмерный магнетит может найти применение в клеточных технологиях.

Работа выполнялась при частичной финансовой поддержке гранта ИНТАС № 06-10000-13-8949, федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007-2012 годы» (госконтракт № 02.513.11.3127) и Программы фундаментальных исследований Президиума РАН (проект № 8.21).

## ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Н. Ф. Кущевская, *Порошковая металлургия*, № 11/12: 116 (1997).
2. *Биологические методы лечения онкологических заболеваний* (Ред. В. Т. Де Вит, С. Хеллман, С. А. Розенберг) (Москва: 2002).
3. А. П. Каплун, Ле Банг Шон, Ю. М. Краснопольский, В. И. Швец, *Вопросы медицинской химии*, № 1: 3 (1999).
4. Y. Gogotsi, *Materials Research Innovations*, 7: 192 (2003).

5. C. Medina, M. J. Santos-Martinez, A. Radomski et al., *Br. J. Pharm.*, **150**: 552 (2007).
6. Б. М. Злобинский, В. Г. Иоффе, В. Б. Злобинский, *Воспламеняемость и токсичность металлов и сплавов* (Москва: 1972).
7. Х. З. Брайнина, *Инверсионная вольтамперометрия твердых фаз* (Москва: 1972).
8. *Введение в методы культуры клеток, биоинженерии органов и тканей* (Ред. В. В. Новицкий, В. П. Шахов, И. А. Хлусов) (Томск: 2004).
9. А. В. Карлов, И. А. Хлусов, Н. С. Поженько, М. В. Чайкина, *Бюлл. эксперим. биол. и мед.*, **138**, № 9: 356 (2004).
10. H. J. Johnson, S. J. Northup, P. A. Seagraves et al., *J. Biomed. Mater. Res.*, **19**: 489 (1985).
11. А. Д. Помогайло, *Наночастицы металлов в полимерах* (Москва: Химия: 2000).
12. Е. П. Найден, В. А. Журавлев, В. И. Итин и др., *Изв. ВУЗов. Физика*, № 9: 40 (2006).
13. Е. Д. Гольдберг, А. М. Дыгай, Е. Ю. Шерстобоев, *Механизмы локальной регуляции кроветворения* (Томск: 2000).
14. A. K. Gupta and M. Gupta, *Biomaterials*, **26**: 3995 (2005).
15. K. K. Jain, *Curr. Opin. Mol. Ther.*, **4**: 548 (2002).