

## ВЛИЯНИЕ ЖЕЛЕЗО-МОЛИБДЕНОВЫХ ПОЛИОКСОМЕТАЛЛАТОВ И СМЕСИ СОСТАВЛЯЮЩИХ НАНОЧАСТИЦЫ ВЕЩЕСТВ НА СОДЕРЖАНИЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ И ГИСТОНОВЫХ БЕЛКОВ В ЛИМФОЦИТАХ КРОВИ КРЫС

© 2020 г. И. Ф. Гетте<sup>1,\*</sup>, И. Г. Данилова<sup>1</sup>, М. О. Тонкушина<sup>2</sup>, А. А. Остроушко<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия

<sup>2</sup> Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

\*E-mail: i.goette@yandex.ru

Поступила в редакцию 14.05.2020 г.

После доработки 19.06.2020 г.

Принята к публикации 20.06.2020 г.

Наноматериалы могут проявлять более выраженное генотоксическое действие по сравнению с действием содержащихся в них отдельных компонентов, изменяя структуру ДНК и гистоновых белков, а также количество этих веществ. Проведено исследование действия нанокластерного железо-молибденового полиоксометаллата (ПОМ) кеплератного типа и продуктов деструкции ПОМ в растворах на содержание нуклеиновых кислот, свободных нуклеотидов и гистоновых белков в лимфоцитах крови крыс Wistar. Установлены обратимое увеличение количества ДНК после однократной инъекции ПОМ дозой 0.15 мг/100 г и отсутствие уменьшения содержания гистонов после 1, 7 и 30 инъекций в отличие от действия продуктов деструкции ПОМ той же дозы, вызывающих изменения уровня ДНК, РНК, свободных нуклеотидов, общего количества и фракций гистонов. Сохранение общего количества лимфоцитов при тридцатикратной экспозиции ПОМ в отличие от действия продуктов деструкции подтверждает менее выраженное токсическое действие ПОМ по сравнению с действием смеси отдельных компонентов ПОМ.

DOI: 10.1134/S1992722320020089

### ВВЕДЕНИЕ

Воздействие наноматериалов на структуру и целостность нуклеиновых кислот привлекает особое внимание исследователей [1–5]. С одной стороны, необходимо выяснить токсические, мутагенные [6], тератогенные [4] эффекты наночастиц и последствия их действия в виде изменения экспрессии генов и возможного генетического и эпигенетического наследования [7–10]. С другой стороны, направленное деструктивное действие наночастиц на нуклеиновые кислоты опухолевых и бактериальных клеток может быть использовано для разработки методов лечения онкологических [3, 11] и инфекционных заболеваний [12].

Многочисленные исследования свидетельствуют о генотоксичности наночастиц, содержащих различные оксиды металлов, в том числе наночастиц с оксидом никеля [1, 2], оксидом цинка [3, 4], оксидом титана [5], оксидом меди [13], оксидом железа [14–17]. Степень повреждающего действия наночастиц зависит от вида металла. Так, наночастицы, содержащие соли кадмия, обладают более выраженной генотоксичностью, ве-

роятно, вследствие повышенной способности кадмия к аккумуляции [18]. Менее выраженное повреждающее действие на ДНК оказывают наночастицы с благородными металлами (золотом, платиной) [19, 20]. Данные о влиянии на ДНК наночастиц, содержащих диоксид титана, противоречивы: одни исследователи не обнаруживают мутагенного действия на клетки лимфомы мыши L5178Y и различные штаммы *Salmonella typhimurium* [21], другие авторы выявили генотоксичность для сперматозоидов человека, а также проникновение наночастиц через гемато-тестикулярный барьер [5].

Повреждение ДНК в результате действия содержащих металлы и оксиды металлов наночастиц выявлено на различных объектах исследования: клетках карциномы и неопухолевых клетках костного мозга человека [3], эпителии бронхов человека [1, 19], клетках периферической крови крыс Wistar [22], нейронах и клетках карциномы мышей [16], сперматозоидах морского ежа *Paracentrotus lividus* [4], растительных [13] и бактериальных клетках [12]. Большинство авторов отме-

чает в качестве проявления генотоксичности увеличение разрывов ДНК и количества микроядер [1, 17, 19, 23], нарушение клеточного цикла и репарации ДНК [3, 15], что указывает на общие механизмы повреждающего действия наночастиц. Генотоксичность, по мнению ряда авторов, объясняется образованием активных форм кислорода, развитием окислительного стресса, истощением запаса неферментативных антиоксидантов и снижением активности антиоксидантных ферментов [1, 5, 6, 13, 20].

Другим эффектом воздействия наночастиц могут быть модификации гистоновых белков, регулирующих экспрессию генов [8], при этом жизнеспособность клеток может сохраняться [7]. Ацетилирование гистонов и уменьшение количества фракций  $H_{2A}$ ,  $H_3$ ,  $H_4$  в лимфоцитах способствуют синтезу факторов воспаления [9, 24]. Модификации гистоновых белков могут сохраняться в течение длительного времени, определяя устойчивый провоспалительный фенотип лимфоцитов, а также при передаче следующему поколению обуславливать эпигенетическое наследование аутоиммунных процессов [10]. Увеличение метилирования и снижение ацетилирования гистонов могут сопровождаться остановкой клеточного деления с последующим апоптозом [25]. В [26–28] при 30-кратном внутримышечном введении крысам железо-молибденовых полиоксометаллатов (ПОМ) были выявлены повышение количества линкерных гистоновых белков в лимфоцитах периферической крови крыс и увеличение апоптотических клеток в этот же срок экспозиции.

Железо-молибденовые ПОМ, предназначенные для направленной доставки лекарственных средств [29], как было установлено в предыдущих исследованиях, малотоксичны, способны к распаду на составляющие биodeградируемые соединения и к 30-м суткам исследования не накапливаются в печени, почках, костной ткани [30–32]. Интерес к ПОМ связан с образованием ими в водных растворах многозарядных анионов, которые могут транспортироваться электрофоретически [29, 33–35], образовывать ассоциаты с биологически активными веществами [35–37], временно депонироваться в коже [35, 38], обеспечивая возможное пролонгированное действие препаратов.

Ниже представлена формула железо-молибденового ПОМ ( $Mo_{72}Fe_{30}$ ):  $[Mo_{72}Fe_{30}O_{252}(CH_3COO)_{12}\{Mo_2O_7(H_2O)\}_2\{H_2Mo_2O_8(H_2O)(H_2O)_{91}\} \sim 150H_2O$ .

Ранее было установлено, что при разных способах введения ПОМ в организм увеличивается содержание их неорганических компонентов в крови, однако существенного аккумулярования в

органах в течение длительного времени не происходит [39, 40]. Тем не менее неорганические компоненты ПОМ (молибден, железо) способны избирательно накапливаться в культурах живых клеток [41]. Имеются основания полагать наличие стабилизации ПОМ [42] в средах организма, за счет ассоциации  $Mo_{72}Fe_{30}$  с белковыми молекулами.

Ранее проведенное исследование действия ПОМ на клеточно-молекулярном уровне показало компенсаторное увеличение количества белков теплового шока Hsp60 и Hsp70, способствующих восстановлению нативной структуры белков и предотвращающих повреждение печени и органов иммуноопоза [26, 28]. Для выяснения действия ПОМ на молекулярно-клеточном уровне необходимо также исследовать влияние данных наночастиц на нуклеиновые кислоты.

Материалы в наноразмерном состоянии могут обладать физико-химическими свойствами, значительно отличающимися от свойств этих же веществ в форме сплошных фаз или низкомолекулярных соединений. Воздействия на живые организмы наночастиц и отдельных содержащихся в наночастицах компонентов могут также радикально различаться, в частности по степени генотоксичности [1], однако исследования влияния наночастиц в сравнении с влиянием составляющих их соединений на ДНК крайне ограничены. Авторы [1] пришли к выводу о большей токсичности наночастиц с оксидом никеля по сравнению с действием никеля, при этом действие смеси всех компонентов, содержащихся в наночастицах, остается неисследованным.

Вследствие фрагментации количество ДНК, предположительно, должно убывать. Также возможно уменьшение количества РНК, поскольку экспрессия генов поврежденной ДНК должна быть снижена. В то же время имеются единичные работы, содержащие данные о количестве нуклеиновых кислот в лимфоцитах [43, 44].

Цель настоящего исследования – определить содержание ДНК, РНК, свободных нуклеотидов и гистоновых белков в лимфоцитах периферической крови крыс при остром и подостром действии железо-молибденовых полиоксометаллатов и составляющих полиоксометаллаты компонентов.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Полиоксометаллат кеплератного типа  $Mo_{72}Fe_{30}$  для проведения исследований был синтезирован с использованием отработанной двухстадийной методики [45, 46]. Первоначально был выделен из водных растворов твердый ПОМ  $Mo_{132}$ , из него

путем замещения ионов Mo(V) на Fe(III) получен также твердый конечный продукт  $\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}$ . Для синтеза были взяты следующие реагенты: гептамолибдат аммония  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  квалификации “х.ч.”, гидразин сернокислый  $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$  квалификации “ч.д.а.”, уксусная кислота ледяная  $\text{CH}_3\text{COOH}$  “х.ч.”, хлорид железа(III) шестиводный  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  Ranreas (содержание основного вещества 97–102%), ацетат аммония  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$  квалификации “х.ч.”, соляная кислота  $\text{HCl}$  квалификации “ос.ч.” и хлорид натрия  $\text{NaCl}$  квалификации “ч.д.а.”. Полученный продукт контролировали с точки зрения состава и структуры методами элементного анализа, ИК- и КР-спектроскопии, рентгеновской дифракции и спектрофотометрии [30, 31, 47]. Инъекционные водные растворы содержали 1 мг/мл  $\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}$ .

Эксперимент выполнен на 50 крысах-самцах Wistar массой 210–225 г. Содержание животных и все манипуляции соответствовали Директиве Совета ЕС 2010/63/EU. Животные находились в одинаковых условиях по пять крыс в клетке со свободным доступом к пище и воде. Температурный режим в виварии составлял  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ .

Крысы были разделены на следующие группы: 1 – интактная, 2 – контрольная, 3 – введение ПОМ, 4 – введение продуктов деструкции ПОМ. Группы животных 2, 3 и 4 были разделены на подгруппы по пять животных, находившиеся в эксперименте 1, 7 и 30 сут и получавшие соответственно 1, 7 и 30 внутримышечных инъекций. Крысам группы 3 вводили раствор ПОМ в воде для инъекций 1 мг/мл (рН 4.3) дозой 0.15 мг/100 г в одной инъекции; крысам группы 4 – раствор отдельных компонентов ПОМ, не организованных в наночастицы, в том же объеме и концентрации. Продукты деструкции ПОМ получали посредством увеличения рН, поскольку ПОМ неустойчивы в щелочной среде [31]. Для этого к навеске ПОМ добавляли 0.2 н раствор  $\text{NaOH}$  до получения рН 10, затем проводили нейтрализацию гидроксида натрия 0.1 н  $\text{HCl}$ . Значение рН 4.3 в итоге соответствовало этому показателю для раствора  $\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}$  той же общей концентрации по элементам (Mo и Fe), которое устанавливалось естественным образом при растворении ПОМ в воде без дополнительного регулирования кислотности [30]. Водный раствор исходного  $\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}$  содержит полианионы кеплератного типа с максимальным зарядом  $22^-$  или их самоассоциаты, что создает слабокислую среду. При этом полианионы  $\text{Mo}_{72}\text{Fe}_{30}$  более стабильны в составе ассоциатов, чем их отдельные ионы в растворе [30, 31]. В отличие от исходного ПОМ после его деструкции в щелочной среде содержится смесь простых молибденсодержащих ионов, главным образом

мономолибдата  $\text{MoO}_4^{2-}$  и его протонированной формы  $\text{HMoO}_4^-$  [48]. Железо при этом находится в достаточно разбавленном растворе преимущественно в виде ионов  $\text{Fe}^{3+}$ , о чем свидетельствует отсутствие в нем образования осадка молибдата или гидроксида железа. Для того чтобы уравнивать содержание ионов натрия и хлорида в обоих растворах для инъекций, в раствор ПОМ добавляли количество хлорида натрия, соответствующее количеству, образовавшемуся при нейтрализации гидроксида натрия соляной кислотой. Способ получения смеси отдельных компонентов ПОМ путем деструкции ПОМ в щелочной среде выбран с целью создания равной концентрации железа и молибдена в растворе ПОМ и в растворе смеси отдельных компонентов ПОМ, не организованных в наночастицы. В организме отсутствует среда с рН 10, но в крови при рН 7.4 также будет происходить деструкция наночастиц, хотя и с меньшей скоростью, поэтому сравнение действия смеси отдельных компонентов ПОМ (продуктов деструкции ПОМ) может иметь как теоретическое, так и практическое значение. При этом можно полагать, что состав конечных продуктов деструкции ПОМ, включающих в себя железо и молибден, должен быть близким [49] при названных выше значениях рН, так как форма их существования определяется итоговым значением рН (в частности, после нейтрализации кислотой).

Крысам контрольной группы 2 внутримышечно вводили воду для инъекций в таком же объеме, как для крыс групп 3 и 4. Животных выводили из эксперимента передозировкой диэтилового эфира.

Лимфоциты для определения количества нуклеиновых кислот и нуклеотидов выделяли из цельной крови в смеси фиколл–верографин плотностью 1.087 г/см<sup>3</sup> и суспендировали в 1.5 мл 0.85%-ного раствора хлорида натрия. Подсчитывали количество клеток в млн/мл суспензии [43]. Выделение ДНК, РНК и свободных нуклеотидов или кислоторастворимой фракции (КРФ) проводили методом экстракции в кислотных растворах и дифференциальным центрифугированием [43]. В надосадках, содержащих КРФ и нуклеотиды гидролизатов РНК и ДНК, определяли оптическую плотность при 280 нм и подсчитывали количество нуклеотидов в мкг/мл, затем пересчитывали на 1 млн клеток.

В суспензии лимфоцитов, выделенных из крови центрифугированием в смеси фиколл–верографин, содержащей не менее 6 млн клеток/мл, определяли содержание фракций гистоновых белков методом, описанным в [43]. Метод разделения фракций гистонов основан на их различной растворимости при различных значениях рН

**Таблица 1.** Нуклеиновые кислоты в лимфоцитах крыс после внутримышечного введения ПОМ и продуктов деструкции ПОМ

Группа		КРФ, мкг/млн	РНК, мкг/млн	ДНК, мкг/млн	РНК/ДНК
1 Интактная		0.467 ± 0.056	0.155 ± 0.012	0.127 ± 0.007	1.23 ± 0.09
2 Контроль	1 сут	0.474 ± 0.028	0.165 ± 0.010	0.130 ± 0.08	1.27 ± 0.09
	7 сут	0.388 ± 0.017	0.157 ± 0.015	0.133 ± 0.011	1.19 ± 0.11
	30 сут	0.491 ± 0.032	0.160 ± 0.011	0.134 ± 0.011	1.20 ± 0.04
3 ПОМ	1 сут	0.495 ± 0.032	0.185 ± 0.018	0.238 ± 0.019*	0.78 ± 0.05*
	7 сут	0.366 ± 0.042	0.111 ± 0.020	0.167 ± 0.019	0.64 ± 0.05*
	30 сут	0.464 ± 0.064	0.194 ± 0.029	0.176 ± 0.020	1.12 ± 0.13
4 Продукты деструкции ПОМ	1 сут	0.835 ± 0.130*,**	0.388 ± 0.009*,**	0.185 ± 0.036	2.24 ± 0.37*,**
	7 сут	0.382 ± 0.166	0.269 ± 0.137	0.052 ± 0.023*,**	4.19 ± 1.12*,**
	30 сут	0.632 ± 0.132	0.166 ± 0.048	0.211 ± 0.080	0.87 ± 0.11*

\* Различия с контрольной группой соответствующего срока достоверны при  $p < 0.05$ .

\*\* Различия с группой ПОМ соответствующего срока достоверны при  $p < 0.05$ .

и дифференциальном центрифугировании. Количество белка в каждой фракции подсчитывали по оптической плотности, измеренной при 260 и 280 нм, результат выражали в мкг/мл, затем пересчитывали в мкг/млн клеток.

Определение общего количества лейкоцитов и их фракций в периферической крови проводили на автоматизированном гематологическом анализаторе Celly 70 Biocode Hycel, предназначенном для исследования крови животных в экспериментах и ветеринарии.

Статистический анализ проводили с помощью программ Statistica 6.0 (Stat.Soft.Inc.), Microsoft Excel 2003 и непараметрического критерия Манна–Уитни. При проверке статистических гипотез использовали уровень значимости 5% ( $p < 0.05$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В контрольной группе крыс, получавших 1, 7 и 30 инъекций дистиллированной воды, содержание КРФ, ДНК, РНК, соотношение нуклеиновых кислот (табл. 1), содержание гистоновых белков (табл. 2), количество лейкоцитов и их фракций (табл. 3) достоверно не отличалось от соответствующих показателей интактной группы, поэтому в дальнейшем сравнение показателей групп 3 и 4 проводили с данными контрольной группы соответствующих сроков наблюдения.

В группе крыс 3, получавших инъекции ПОМ, количество свободных нуклеотидов оставалось на уровне показателя контрольной группы во все сроки исследования (табл. 1). В то же время величина КРФ почти удвоилась после однократного

введения продуктов деструкции ПОМ относительно контроля и показателя группы 3. Аналогичные изменения отмечены в содержании количества РНК: отсутствие достоверных изменений после одной, семи и тридцати инъекций ПОМ и почти двукратное достоверное увеличение после одной инъекции компонентов ПОМ (табл. 1). Учитывая увеличенное количество КРФ и РНК при однократном введении компонентов ПОМ, можно предположить, что свободные нуклеотиды служат материалом для синтеза РНК, необходимой для синтеза факторов воспаления белковой природы и осуществления присущей лимфоцитам функции регуляции воспалительного процесса.

При сравнении содержания ДНК в лимфоцитах установлено, что только при однократном введении ПОМ этот показатель увеличился почти в 2 раза относительно контроля и нормализовался после 7 и 30 инъекций, но соотношение РНК/ДНК еще оставалось достоверно ниже показателя в контроле на седьмые сутки (табл. 1). После семи инъекций компонентов ПОМ крысам группы 4 количество ДНК в лимфоцитах снизилось почти в 2 раза относительно контроля и в 3 раза относительно показателя группы 3. Определение соотношения РНК/ДНК при введении дериватов ПОМ выявило достоверные изменения этого показателя во все исследованные сроки: увеличение относительно контроля и показателя в группе 3 после одной и семи инъекций и снижение относительно контроля после тридцати инъекций (табл. 1). Изменения количества ДНК в группах животных 3 и 4 имеют разнонаправленный характер. Причиной уменьшения

**Таблица 2.** Гистоновые белки в лимфоцитах крыс после внутримышечного введения ПОМ и продуктов деструкции ПОМ

Группа		H <sub>1</sub> , мкг/млн	H <sub>2A</sub> , H <sub>3</sub> , H <sub>4</sub> мкг/млн	H <sub>2B</sub> , мкг/млн	Общее количество, мкг/млн
1 Интактная		1.05 ± 0.50	24.60 ± 0.80	11.80 ± 2.00	37.50 ± 1.20
2 Контроль	1 сут	0.98 ± 0.62	23.72 ± 2.51	12.28 ± 2.02	36.98 ± 2.67
	7 сут	1.20 ± 0.49	24.40 ± 1.82	13.09 ± 1.69	38.69 ± 1.70
	30 сут	1.03 ± 0.43	24.00 ± 1.90	13.61 ± 2.09	38.64 ± 2.42
3 ПОМ	1 сут	0.36 ± 0.11	18.20 ± 3.60	15.60 ± 1.30	34.10 ± 3.40
	7 сут	1.75 ± 0.70	21.40 ± 2.80	11.90 ± 2.90	35.00 ± 3.40
	30 сут	9.50 ± 0.40*	21.10 ± 2.70	18.80 ± 2.80	49.40 ± 5.30
4 Продукты деструкции ПОМ	1 сут	0.68 ± 0.10	22.25 ± 4.08	60.43 ± 4.81***	83.36 ± 5.62***
	7 сут	0.32 ± 0.11	1.81 ± 0.07***	11.80 ± 4.48	13.93 ± 4.44***
	30 сут	8.92 ± 2.72*	22.22 ± 2.61	18.32 ± 2.65	49.46 ± 5.21

\* Различия с контрольной группой соответствующего срока достоверны при  $p < 0.05$ .\*\* Различия с группой ПОМ соответствующего срока достоверны при  $p < 0.05$ .**Таблица 3.** Лейкоциты и их фракции в крови крыс после внутримышечного введения ПОМ и продуктов деструкции ПОМ

Группа		Лейкоциты, тыс./мкл	Лимфоциты, тыс./мкл	Средние клетки, тыс./мкл	Гранулоциты, тыс./мкл
1 Интактная		13.0 ± 0.6	8.95 ± 1.00	2.00 ± 0.50	2.00 ± 0.30
2 Контроль	1 сут	13.0 ± 0.5	8.92 ± 0.66	2.20 ± 0.40	1.94 ± 0.24
	7 сут	12.8 ± 0.4	8.64 ± 0.84	1.96 ± 0.39	2.24 ± 0.19
	30 сут	12.9 ± 0.6	8.94 ± 0.81	1.88 ± 0.41	2.08 ± 0.26
3 ПОМ	1 сут	6.2 ± 0.5*	4.54 ± 0.41	0.58 ± 0.07*	1.08 ± 0.08*
	7 сут	6.2 ± 0.8*	4.20 ± 0.48	0.56 ± 0.11*	1.48 ± 0.40*
	30 сут	9.3 ± 1.7	6.20 ± 1.13	1.10 ± 0.30	2.00 ± 0.40
4 Продукты деструкции ПОМ	1 сут	4.7 ± 0.4*	2.47 ± 0.35***	0.37 ± 0.22*	1.83 ± 0.37
	7 сут	3.3 ± 0.8***	1.93 ± 0.54***	0.13 ± 0.07***	1.27 ± 0.23
	30 сут	3.8 ± 0.6***	2.40 ± 0.51***	0.23 ± 0.19***	1.17 ± 0.30

\* Различия с контрольной группой соответствующего срока достоверны при  $p < 0.05$ .\*\* Различия с группой ПОМ соответствующего срока достоверны при  $p < 0.05$ .

содержания ДНК в лимфоцитах крыс группы 4 может быть ее деструкция, что согласуется с данными других авторов о фрагментации ДНК при действии содержащих оксиды металлов наночастиц на различные клетки [6, 12, 19]. Увеличение содержания ДНК в лимфоцитах периферической крови при действии наночастиц исследовано мало. Причиной увеличения содержания ДНК в лимфоцитах крыс при экспозиции ПОМ может

быть репликация с задержкой цитокинеза, в этом случае может быть увеличена плоидность клеток. В ряде исследований образование полиплоидных (преимущественно тетраплоидных) лимфоцитов человека было установлено при действии вирусов [50, 51] и токсических веществ [52]. Удвоение ДНК может быть компенсаторной реакцией лимфоцитов в ответ на необходимость усиленного синтеза провоспалительных факторов, при этом

увеличивается количество генов, задействованных в экспрессии этих факторов [52]. За компенсаторной реакцией следуют истощение, деструкция ДНК и апоптоз. Это предположение может объяснить фазность изменения ДНК и РНК в группе животных, получавших продукты деструкции ПОМ. Так, согласно исследованиям V. Manickham и соавт., 2018, в нейронах мышей после экспозиции наночастиц с оксидом железа начинается клеточный цикл, подтвержденный экспрессией циклина D1, с последующим апоптозом нейронов [16].

Полученные в настоящей работе данные об изменении содержания нуклеиновых кислот и их соотношения показывают, что введение ПОМ сопровождается менее выраженными и менее длительными изменениями по сравнению с эффектом продуктов деструкции ПОМ.

При исследовании содержания гистоновых белков в лимфоцитах крыс группы 3 выявлено только достоверное увеличение фракции  $H_1$  после 30 инъекций ПОМ (табл. 2). Фракции  $H_{2A}$ ,  $H_3$ ,  $H_4$ , а также  $H_{2B}$  и общее количество гистоновых белков во все сроки экспозиции ПОМ не имели достоверных отличий от показателей контрольной группы (табл. 2). Введение продуктов деструкции ПОМ сопровождалось увеличением фракции  $H_{2B}$  почти в 9 раз уже после одной инъекции, значительным снижением (почти в 12 раз) фракции гистонов  $H_{2A}$ ,  $H_3$ ,  $H_4$  после семи инъекций и увеличением общего количества гистонов на первые сутки с последующим снижением на седьмые сутки; перечисленные изменения имели достоверные отличия не только от контроля, но и от показателей группы 3 в соответствующие сроки эксперимента. К 30-м суткам введения продуктов деструкции ПОМ, как и при введении ПОМ, отмечается накопление фракции  $H_1$  относительно контроля (табл. 2). Уменьшение общего количества гистонов и фракции  $H_{2A}$ ,  $H_3$ ,  $H_4$  в лимфоцитах в ранние сроки (7 сут) введения продуктов деструкции ПОМ, вероятно, связано с повышенной экспрессией генов провоспалительных факторов, что согласуется с увеличением КРФ и РНК на первые сутки. Удаление гистоновых белков от ДНК делает ее участки уязвимыми для фрагментации, что, вероятно, способствует в дальнейшем апоптозу клетки [52]. Накопление фракции линкерных гистонов  $H_1$  к 30-м суткам введения продуктов деструкции ПОМ до уровня, характерного для показателя группы 3 в тот же срок, может также быть событием, предшествующим апоптозу лимфоцитов [28]. Сравнивая отклонение содержания гистоновых белков от уровня контроля при введении ПОМ и продуктов деструкции ПОМ, можно сделать заключение о более выраженном влиянии продуктов деструк-

ции ПОМ на содержание в лимфоцитах гистоновых белков по сравнению с действием ПОМ.

При исследовании общего количества лейкоцитов и их фракций установлено, что введение ПОМ сопровождается уменьшением фракций средних клеток (преимущественно моноцитов) и гранулоцитов относительно контроля на 1–7-е сутки эксперимента и нормализуется к 30-м суткам, тогда как после введения продуктов деструкции ПОМ общее количество лейкоцитов, лимфоцитов и средних клеток остается ниже уровня контроля во все сроки исследования (табл. 3). На 7-е и 30-е сутки после введения продуктов деструкции ПОМ количество лимфоцитов, средних клеток и общее количество лейкоцитов в группе 4 было достоверно ниже, чем в группе 3. Различия в содержании общего количества лейкоцитов и лимфоцитарной фракции при введении ПОМ и составляющих ПОМ компонентов согласуются с полученными данными о содержании нуклеиновых кислот и нуклеотидов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Введение полиоксометаллата  $Mo_{72}Fe_{30}$  сопровождается обратимым увеличением количества ДНК после однократной инъекции в отличие от действия продуктов деструкции ПОМ, вызывающих более выраженные отклонения ДНК и РНК, не нормализующиеся к концу эксперимента.

Влияние ПОМ на количество гистоновых белков в лимфоцитах менее выражено, чем эффект введения смеси отдельных компонентов ПОМ, сопровождающийся резким дисбалансом в содержании гистонов в течение ранних сроков (1–7-е сутки) эксперимента.

Увеличение количества гистонов фракции  $H_1$  к 30-м суткам после введения ПОМ может быть основанием для уменьшения срока предполагаемого терапевтического воздействия ПОМ.

Меньшее повреждающее действие ПОМ на нуклеиновые кислоты лимфоцитов по сравнению с действием продуктов деструкции ПОМ подтверждается сохранением количества лимфоцитов при введении ПОМ.

Исследования проведены в рамках выполнения государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ (проект № FEUZ-2020-0052 и АААА-А18-118020590107-0).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Åkerlund E., Cappellini F., Di Bucchianico S. et al. // Environ. Mol. Mutagen. 2018. V. 59. № 3. P. 211.
2. De Carli R.F., Chaves D.D.S., Cardozo T.R. et al. // Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen. 2018. V. 836. Pt B. P. 47.

3. *Moratin H., Scherzad A., Gehrke T. et al.* // Environ. Mol. Mutagen. 2018. V. 59. № 3. P. 247.
4. *Oliviero M., Schiavo S., Dumontet S., Manzo S.* // Sci. Total. Environ. 2019. 651. Pt 1. P. 756.
5. *Santonastaso M., Mottola F., Colacurci N. et al.* // Mol. Reprod. Dev. 2019. V. 86. № 10. P. 1369.
6. *Jain A.K., Singh D., Dubey K. et al.* // J. Appl. Toxicol. 2019. V. 39. № 5. P. 735.
7. *Bonadio R.S., Cunha M.C.P.C.D., Longo J.P.F. et al.* // J. Nanosci. Nanotechnol. 2020. V. 20. № 3. P. 1454.
8. *Wong B.S.E., Hu Q., Baeg G.H.* // Food Chem. Toxicol. 2017. V. 109. Pt 1. P. 746.
9. *Zager R.A., Johnson A.C.* // Am. J. Physiol. Renal. Physiol. 2010. V. 298. № 3. P. 827.
10. *Villeneuve L.M., Reddy M.A., Lanting L.L. et al.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2008. V. 105. № 26. P. 9047.
11. *Rageh M.M., El-Gebaly R.H., Afifi M.M.* // Naunyn. Schmiedebergs. Arch. Pharmacol. 2018. V. 391. № 12. P. 1421.
12. *Fatima F., Pathak N., Verma S.R., Bajpai P.* // Artif. Cells Nanomed. Biotechnol. 2018. V. 46. № 8. P. 1637.
13. *Baskar V., Nayeem S., Kuppuraj S.P. et al.* // 3 Biotech. 2018. V. 8. № 8. P. 362.
14. *Alabi O.A., Silva A.H., Purnhagen L.R.P. et al.* // Sci. Total Environ. 2019. V. 660. P. 1264.
15. *Fernández-Bertólez N., Costa C., Brandão F. et al.* // Food Chem. Toxicol. 2018. V. 118. P. 13.
16. *Manickam V., Dhakshinamoorthy V., Perumal E.* // J. Mol. Neurosci. 2018. V. 64. № 3. P. 352.
17. *Villacis R.A.R., Filho J.S., Piña B. et al.* // Aquat. Toxicol. 2017. V. 191. P. 219.
18. *Apykhtina O.L., Dybkova S.M., Sokurenko L.M., Chaikovskiy Y.B.* // Exp. Oncol. 2018. V. 40. № 3. P. 194.
19. *Lebedová J., Hedberg Y.S., Odnevall Wallinder I., Karlsson H.L.* // Mutagenesis. 2018. V. 33. № 1. P. 77.
20. *May S., Hirsch C., Rippl A. et al.* // Nanoscale. 2018. V. 10. № 33. P. 15723.
21. *Du X., Gao S., Hong L. et al.* // Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen. 2019. V. 838. P. 22.
22. *Martins A.D.C. Jr, Azevedo L.F., de Souza Rocha C.C. et al.* // J. Toxicol. Environ. Health. A. 2017. V. 80. № 19–21. P. 1156.
23. *Zhou F., Liao F., Chen. L. et al.* // Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 2019. V. 26. № 2. P. 1911.
24. *Гетте И.Ф.* // Вестник Уральской академической науки. 2014. Т. 49. № 3. С. 19.
25. *Gao F., Ma N., Zhou H. et al.* // Int. J. Nanomedicine. 2016. V. 11. P. 3859.
26. *Данилова И.Г., Гетте И.Ф., Медведева С.Ю. и др.* // Российские нанотехнологии. 2015. Т. 10. № 9–10. С. 120.
27. *Гетте И.Ф., Данилова И.Г., Остроушко А.А.* // Российский иммунологический журнал. 2015. Т. 9 (18). №2 (1). С. 444.
28. *Данилова И.Г., Гетте И.Ф., Медведева С.Ю. и др.* // Российские нанотехнологии. 2016. V. 11. № 9–10. С. 653.
29. *Ostroushko A.A., Gagarin I.D., Danilova I.G., Gette I.F.* // Nanosystems: Physics, Chemistry, Mathematics. 2019. V. 10. № 3. P. 318.
30. *Остроушко А.А., Тонкушина М.О.* // Журн. физ. химии. 2015. Т. 89. № 3. С. 440.
31. *Остроушко А.А., Тонкушина М.О., Коротаев В.Ю. и др.* // Журн. неорган. химии. 2012. Т. 57. № 9. С. 1292.
32. *Остроушко А.А., Гетте И.Ф., Медведева С.Ю. и др.* // Вестник Уральской академической медицинской науки. 2011. Т. 34. № 2. С. 107.
33. *Остроушко А.А., Гетте И.Ф., Данилова И.Г. и др.* // Российские нанотехнологии. 2014. Т. 9. № 9–10. С. 101.
34. *Тонкушина М.О., Гагарин И.Д., Гржегоржевский К.В., Остроушко А.А.* // Вестник Уральской академической медицинской науки. 2014. Т. 49. № 3. С. 59.
35. *Гагарин И.Д., Кулеш Н.А., Тонкушина М.О. и др.* // Межвуз. сб. науч. трудов “Физико-химические аспекты изучения кластеров, наноструктур и наноматериалов”. Тверь: Тверской гос. ун-т, 2017. № 9. С. 147.
36. *Ostroushko A., Gagarin I., Tonkushina M. et al.* // J. Clust. Sci. 2018. V. 29. № 1. P. 111.
37. *Остроушко А.А., Данилова И.Г., Гетте И.Ф., Тонкушина М.О.* // Журн. неорган. химии. 2015. Т. 60. № 4. С. 561.
38. *Остроушко А.А., Тонкушина М.О., Мартынова Н.А.* // Журн. физ. химии. 2010. Т. 84. № 6. С. 1135.
39. *Остроушко А.А., Сафронов А.П., Тонкушина М.О. и др.* // Журн. физ. химии. 2014. Т. 88. № 12. С. 1977.
40. *Остроушко А.А., Гетте И.Ф., Медведева С.Ю. и др.* // Российские нанотехнологии. 2013. Т. 8. № 9–10. С. 67.
41. *Остроушко А.А., Улитко М.В., Тонкушина М.О. и др.* // Российские нанотехнологии. 2018. Т. 13. № 1–2. С. 3.
42. *Gagarin I., Tonkushina M., Ostroushko A.* // Ural Symposium on Biomedical Engineering, Radioelectronics and Information Technology (USBREIT). IEEE sponsors: Russia (Siberia) 2018. P. 41.
43. *Маркушева Л.И., Савина М.И., Решина В.М., Тогузов Р.Т.* // Клиническая лабораторная диагностика. 2000. № 7. С. 18.
44. *Righolt C.H., Guffei A., Knecht H. et al.* // J. Cell. Biochem. 2014. V. 115. № 8. P. 1441.

45. Müller A., Krickemeyer E., Bögge H. et al. // *Angew. Chem. Int.* 1998. V. 37. № 24. P. 3360.
46. Müller A., Sarkar S., Nazir Shah S.Q. et al. // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1999. V. 38. P. 3238.
47. Grzegorzhevskii K.V., Zelenovskiy P.S., Koryakova O.V., Ostroushko A.A. // *Inorg. Chim. Acta.* 2019. V. 489. P. 287.
48. Мохосоев М.В., Шевцова Н.А. Состояние ионов молибдена и вольфрама в водных растворах. Улан-Удэ: Бурятск. книжн. изд-во, 1977. 168 с.
49. Остроушко А.А., Тонкушина М.О. Особенности де-струкции сферического пористого нанокластер-ного полиоксометаллата Mo<sub>132</sub> кеплератного типа в водных растворах // *Журн. физ. химии.* 2016. Т. 90. № 2. С. 256.
50. Ильинских Н.Н., Ильинских Е.Н., Талынев В.Д. и др. // *Бюллетень медицинской науки.* 2019. Т. 14. № 2. С. 67.
51. Рязанцева Н.В., Жукова О.Б., Белобородова Э.И. и др. // *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии.* 2004. № 1. С. 37.
52. Сычева Л.П. // *Медицинская генетика.* 2007. № 11. С. 3.