

ИССЛЕДОВАНИЕ *IN VIVO* АНТИ/ПРООКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ МЕТАЛЛООРГАНИЧЕСКОГО КООРДИНАЦИОННОГО ПОЛИМЕРА, МОДИФИЦИРОВАННОГО ОКСИДАМИ ЖЕЛЕЗА И АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТОЙ

Н.С. Тропская^{1,2,*}, Е.В. Клычникова¹, Н.В. Боровкова¹, А.К. Евсеев¹,
И.В. Горончаровская¹, М.В. Сторожева¹, Е.Н. Бородин¹, А.А. Кочетова¹,
Л.С. Бондаренко^{1,2}, Р.К. Баймуратова³, Г.И. Джардималиева³, К.А. Кыдралиева²

¹ ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»
129090, Российская Федерация, Москва, Большая Сухаревская пл., 3

² ФГБОУ ВО «Московский авиационный институт (национальный исследовательский университет)»
125993, Российская Федерация, Москва, Волоколамское ш., 4

³ ФГБУН Федеральный исследовательский центр проблем химической физики
и медицинской химии РАН
142432, Российская Федерация, Московская обл., Черноголовка, пр-кт Академика Семенова, 1

Эксперименты выполнены на 39 крысах-самцах популяции линий Wistar. Металлоорганический координационный полимер, модифицированный оксидом железа и аскорбиновой кислотой (композит), вводили внутривенно здоровым крысам в дозах 25 и 50 мг/кг. Через 3 и 24 ч после введения оценивали его анти/прооксидантную активность. Установлено, что композит в обеих дозах не влияет в значительной степени на гомеостаз прооксидантов/антиоксидантов в сыворотке крови у здоровых животных. В высоких дозах композит усиливает апоптоз лимфоцитов, что свидетельствует о возможном его применении как катализатора свободно-радикальных процессов для дальнейшего использования в биомедицине.

Ключевые слова: металлоорганический координационный полимер, наночастицы оксидов железа, аскорбиновая кислота, анти/прооксидантная активность, крысы

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 22-73-10222.

Для цитирования: Тропская Н.С., Клычникова Е.В., Боровкова Н.В., Евсеев А.К., Горончаровская И.В., Сторожева М.В., Бородин Е.Н., Кочетова А.А., Бондаренко Л.С., Баймуратова Р.К., Джардималиева Г.И., Кыдралиева К.А. Исследование *in vivo* анти/прооксидантной активности металлоорганического координационного полимера, модифицированного оксидами железа и аскорбиновой кислотой. *Биомедицина*. 2024;20(3):114–120. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-20-3-114-120>

Поступила 15.04.2024

Принята после доработки 03.06.2024

Опубликована 10.09.2024

IN VIVO STUDY OF THE ANTI/PROOXIDANT ACTIVITY OF A METAL-ORGANIC COORDINATION POLYMER MODIFIED WITH IRON OXIDES AND ASCORBIC ACID

Nataliya S. Tropkaya^{1,2,*}, Elena V. Klychnikova¹, Natal'ya V. Borovkova¹,
Anatoly K. Evseev¹, Irina V. Goroncharovskaya¹, Mayya V. Storozheva¹,
Yevgeniya N. Borodina¹, Alena A. Kochetova¹, Lyubov S. Bondarenko^{1,2},
Roza K. Baimuratova³, Gulzhian I. Dzhardimalieva³, Kamilia A. Kydralieva²

¹ N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine of the Moscow City Health Care Department
129090, Russian Federation, Moscow, Bolshaya Sukharevskaya Sq., 3

² Moscow Aviation Institute (National Research University)
125993, Russian Federation, Moscow, Volokolamskoe Highway, 4

³ Federal Research Center of Problems of Chemical Physics and Medical Chemistry
of the Russian Academy of Sciences
142432, Moscow Region, Chernogolovka, Akademika Semionova Ave., 1

Experiments on 39 male Wistar rats were performed. A metal-organic coordination polymer modified with iron oxide and ascorbic acid (composite) was administered intravenously to healthy rats at doses of 25 and 50 mg/kg. The anti/prooxidant activity of the composite was assessed 3 and 24 hours after administration. The composite in both doses was shown to have no significant effect on the homeostasis of prooxidants/antioxidants in the blood serum in healthy animals. In high doses, the composite enhances apoptosis of lymphocytes, which indicates its possible use as a catalyst for free radical processes for further use in biomedicine.

Keywords: metal-organic coordination polymer, iron oxide nanoparticles, ascorbic acid, anti/prooxidant activity, rats

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Funding: the research was carried out with financial support from the Russian Science Foundation, grant No. 22-73-10222.

For citation: Tropkaya N.S., Klychnikova E.V., Borovkova N.V., Evseev A.K., Goroncharovskaya I.V., Storozheva M.V., Borodina Ye.N., Kochetova A.A., Bondarenko L.S., Baimuratova R.K., Dzhardimalieva G.I., Kydralieva K.A. *In vivo* Study of the Anti/Prooxidant Activity of a Metal-Organic Coordination Polymer Modified with Iron Oxides and Ascorbic Acid. *Journal Biomed.* 2024;20(3):114–120. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-20-3-114-120>

Submitted 15.04.2024

Revised 03.06.2024

Published 10.09.2024

Введение

К настоящему времени сформулирована патогенетическая концепция металл-индуцированного окислительного стресса в биологических системах, возникающего в результате нарушений гомеостаза ионов металлов и приводящего к повреждениям нуклеиновых кислот, перекисному окислению липидов, модификациям белков

и другим эффектам, лежащим в основе сердечно-сосудистых, онкологических заболеваний, диабета и другой патологии [3]. Ферроптоз — новая железозависимая форма программируемой гибели клетки, характеризуется активацией перекисного окисления липидов, которое зависит, среди прочего, от образования активных форм кислорода (АФК), накапливающихся в результате

реакции Фентона [4]. Металлоорганические координационные полимеры (МОКП) на основе железа являются эффективными катализаторами этой реакции [1]. В данной работе мы использовали MIL-88B, трёхмерный пористый МОКП, состоящий из 1,4-бензолдикарбоновой кислоты и октаэдрических трёхъядерных кластеров Fe ($\text{Fe}_3\text{-}\mu_3\text{-оксо}$) и имеющий вакантные координационные центры, доступные для молекул перекиси водорода. МОКП был модифицирован аскорбиновой кислотой для ускорения окислительно-восстановительного цикла $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ и оксидом железа, в частности магнетитом Fe_3O_4 , для возможности в дальнейшем магнитного нацеливания.

Цель работы — оценить анти/прооксидантную активность металлоорганического координационного полимера, модифицированного оксидами железа и аскорбиновой кислотой, в экспериментах на лабораторных животных.

Материалы и методы

Исследования выполнены на 39 крысах-самцах популяции линий Wistar в возрасте 12 мес. массой тела 300–360 г. Протокол исследования был одобрен локальным комитетом по биомедицинской этике НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ.

Все животные содержались в лаборатории в контролируемых условиях окружающей среды при температуре 20–24°C и влажности 45–65%, с режимом освещенности с 8 до 20 часов — свет, с 20 до 8 часов — сумеречное освещение. Доступ к пище и воде до начала экспериментов был свободный.

Крысы ($n=39$) были разделены на 5 групп: 1-я — контрольная (интактные крысы, $n=8$); 2-я ($n=8$) и 3-я ($n=7$) — опытные, в/в введение композита в дозе 25 мг/кг (взятие крови через 3 и 24 ч после введения композита); 4-я ($n=8$) и 5-я ($n=8$) — опытные, в/в введение композита в дозе 50 мг/кг (взятие крови через 3 и 24 ч после введения композита).

Композит предварительно гомогенизировали в деионизированной воде в УЗ-бане при 30 кГц в течение 3 мин при 37°C. Затем растворяли в 1 мл физ. р-ра и вводили в латеральную хвостовую вену крыс. Животные хорошо переносили введение композита. На протяжении всего эксперимента летальных исходов не наблюдалось.

Крыс опытных групп через 3 и 24 ч после введения композита, а также крыс интактной группы выводили из эксперимента летальной дозой наркоза. Кровь для дальнейшего анализа забирали из каудальной вены. Были оценены параметры антиоксидантной/прооксидантной систем, а также раннего и позднего апоптоза лимфоцитов периферической крови.

Электрохимический анализ окислительно-восстановительных свойств сыворотки крови включал в себя измерение потенциала платинового электрода при разомкнутой цепи (ПРЦ), являющегося интегральным показателем окислительно-восстановительного баланса, и вольтамперометрическое определение общей антиоксидантной ёмкости сыворотки крови, выраженной количеством электричества (Q), затраченного на окисление низкомолекулярных антиоксидантов. Измерения проводили с помощью потенциостата «IPC Pro L» (ЗАО «Кронас», Россия), согласно методикам, описанным в работе [2].

В сыворотке крови определяли маркер перекисного окисления липидов — малоновый диальдегид (МДА) по стандартной методике с использованием 2-тиобарбитуровой кислоты. Состояние антиоксидантной системы оценивали по показателю общей антиокислительной активности (ОАА) сыворотки крови, которую измеряли спектрофотометрическим методом на биохимическом анализаторе «Olympus AU2700» («Beckman Coulter», США) с использованием набора реактивов «TAS kit» («Randox», Великобритания).

Исследование уровня лейкоцитов в крови выполняли на гематологическом ана-

лизаторе «AcT Diff 2» («Beckman Coulter», США) по стандартной методике. Для определения апоптоза лимфоцитов кровь забирала в пробирки с ЭДТА, затем на градиенте плотности выделяли мононуклеары. Клетки отмывали буферным р-ром с ионами кальция. Далее проводили исследование апоптоза лимфоцитов с помощью набора «Annexin V-FITC/7AAD» на проточном цитометре «CYTOMIC FC500» («Beckman Coulter», США) по стандартной методике. На ранней стадии апоптоза целостность клеточной мембраны сохраняется, однако происходит перестройка её фосфолипидных компонентов и на поверхности клетки появляется фосфатидилсерин. Аннексин V способен связываться с фосфатидилсерином в присутствии кальция. Одновременное окрашивание клеток витальным ДНК-специфичным красителем 7-аминоактиномицином D (7AAD) позволяет дифференцировать клетки на ранних стадиях апоптоза (Annexin V+/7AAD–, ранний апоптоз) от клеток, уже погибших в результате апоптоза (Annexin V+/7AAD+, поздний апоптоз) [5].

Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica 6.0 («StatSoft Inc.», США). Данные представлялись в виде медианы и процентилей. Для статистического анализа использовали непараметрические критерии. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Сравнительная оценка показателей крови опытных групп с интактной при внутривенном введении композита в различных дозах в разные сроки наблюдения у здоровых животных представлена в таблице.

При исследовании влияния композита на баланс прооксидантов и антиоксидантов было обнаружено, что применение композита в дозе 25 мг/кг приводит к статистически значимому снижению МДА ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой

как через 3, так и 24 ч после введения композита. Через 3 ч в сыворотке крови наблюдали тенденцию к падению относительного содержания лимфоцитов на 12% ($p > 0,05$), что сопровождалось снижением (на 28%, $p < 0,05$) концентрации лимфоцитов в раннем апоптозе и тенденцией к повышению концентрации уже погибших лимфоцитов (поздний апоптоз) (в 2 раза, $p > 0,05$). Через 24 ч значения описываемых показателей возвращались к значениям контрольной группы.

При применении композита в дозе 50 мг/кг через 3 ч в сыворотке крови наблюдали снижение относительного содержания лимфоцитов на 22% ($p < 0,05$), что сопровождалось тенденцией к увеличению (в 3 раза, $p > 0,05$) концентрации лимфоцитов в раннем апоптозе и концентрации уже погибших лимфоцитов (поздний апоптоз) (в 2 раза, $p > 0,05$). Через 24 ч значения описываемых показателей возвращались к значениям контрольной группы. Однако в эти сроки наблюдалось статистически значимое снижение Q на 14% по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что применение композита в двух дозах в различные сроки после его внутривенного введения не изменяет интегральный показатель окислительно-восстановительного баланса (по данным ПРЦ) и функциональное состояние как эндогенной антиоксидантной системы, так и экзогенных антиоксидантов сыворотки крови здоровых животных (по данным ОАА).

Тем не менее введение композита оказывается неиндифферентным для организма здоровых животных. Так, наблюдаемое снижение МДА (при введении композита в низкой дозе), возможно, связано с присутствием в структуре композита аскорбиновой кислоты, которая является низкомолекулярным антиоксидантом. При этом введение композита в высокой дозе не влияло на уровень МДА, однако

Таблица. Показатели крови при внутривенном введении композита в различных дозах в разные сроки наблюдения у здоровых животных

Table. Blood parameters during intravenous administration of the composite in various doses at different observation periods in healthy animals

Параметры	Группы				
	контроль 1 (интактная)	опытная 2 25 мг/кг (3 ч)	опытная 3 25 мг/кг (24 ч)	опытная 4 50 мг/кг (3 ч)	опытная 5 50 мг/кг (24 ч)
ПРЦ, МВ	–66,1 (–78,7; –62,2)	–73,9 (–80,4; –71)	–65,4 (–80,9; –63,7)	–68,3 (–79,7; –63,5)	–66,0 (–73,4; –63,1)
Q, мкКл	9,1 (8,6; 10,3)	8,6 (8,1; 9,9)	9,6 (7,7; 10,2)	8,5 (7,6; 9,8)	7,8 (6,7; 8,2)*
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	8,9 (7; 10,6)	9,4 (7,6; 11,9)	6,5 (4,8; 7,6)	10,3 (9; 11,8)	7,1 (6,6; 9,3)
Лимфоциты, %	74,4 (64; 85,9)	65,6 (56,7; 75,5)	74,6 (67,8; 82)	57,9 (52,6; 61,3)*	81,9 (78,7; 87,4)
Ранний апоптоз лимфоцитов, %	2,5 (2,3; 4,1)	1,8 (1,7; 2)*	3,1 (2,4; 3,4)	3,8 (2,5; 6)	1,9 (1,5; 2,8)
Поздний апоптоз лимфоцитов, %	0,005 (0; 0,01)	0,01 (0,01; 0,02)	0,01 (0; 0,02)	0,015 (0,005; 0,02)	0,01 (0,005; 0,01)
МДА, мкмоль/л	5,4 (5,1; 6,6)	4,5 (3,9; 4,9)*	4,8 (4,4; 4,8)*	5 (4,8; 6)	4,9 (4,1; 5,7)
ОАА, ммоль/л	1,01 (0,94; 1,05)	1,04 (0,96; 1,10)	1,07 (0,98; 1,10)	1,02 (1,01; 1,06)	1,04 (1; 1,05)

Примечание: * — $p < 0,05$, отличия статистически значимы в сравнении опытных групп с контрольной группой. При сравнении данных использовали непараметрический U-критерий Манна — Уитни.

Note: * $p < 0,05$, the differences are statistically significant when comparing the experimental groups with the control group. When comparing data, the nonparametric Mann–Whitney U test was used.

вызывало снижение показателя Q, который как раз и отражает уровень низкомолекулярных антиоксидантов. Возможно, в данной концентрации аскорбиновая кислота не проявляет свои антиоксидантные свойства. Применение композита в высоких дозах через 3 ч после введения приводит к относительной лимфопении и, возможно, к усилению апоптоза лимфоцитов, что связано с накоплением АФК, способствующих гибели клеток.

Выводы

1. Композит в дозах 25 и 50 мг/кг (внутривенно) не влияет в значительной степени на гомеостаз прооксидантов/антиоксидантов в сыворотке крови у здоровых животных.
2. В высоких дозах композит усиливает апоптоз лимфоцитов, что свидетельствует о возможном его применении в качестве катализатора свободно-радикальных процессов для дальнейшего использования в биомедицине.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Cheng M., Lai C., Yang L., Zeng G., Huang D., Zhang C., Qin L., Hu L., Zhou C., Xiong W. Metal-organic frameworks for highly efficient heterogeneous Fenton-like catalysis. *Coordination Chemistry Reviews*. 2018;368:80–92. DOI: 10.1016/j.ccr.2018.04.012
2. Goroncharovskaya I.V., Evseev A.K., Shabanov A.K., Denisenko O., Kuzovlev A.N., Klychnikova E.V., Tazina E.V., Petrikov S.S. Electrochemical methods for assessment of polytrauma outcomes. *Electroanalysis*. 2021;33(2):550–557. DOI: 10.1002/elan.202060356
3. Jomova K., Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology*. 2011;283(2–3):65–87. DOI: 10.1016/j.tox.2011.03.001
4. Kim J.W., Lee J.Y., Oh M., Lee E.W. An integrated view of lipid metabolism in ferroptosis revisited via lipidomic analysis. *Exp. Mol. Med.* 2023;55(8):1620–1631. DOI: 10.1038/s12276-023-01077-y
5. Lecoecur H., Ledru E., Prevost M.-C., Gougeon M.-L. Strategies for phenotyping apoptotic peripheral human lymphocytes comparing ISNT, annexin-V and 7-AAD cytofluorometric staining methods. *J. Immunol. Methods*. 1997;209(2):111–123. DOI: 10.1016/S0022-1759(97)00138-5

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Тропская Наталья Сергеевна*, д.б.н., ГБУЗ
«Научно-исследовательский институт скор-
ой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»;
ФГБОУ ВО «Московский авиационный инсти-
тут (национальный исследовательский универ-
ситет)»;
e-mail: ntropskaya@mail.ru

Nataliya S. Tropetskaya*, Dr. Sci. (Biol.), N.V. Skli-
fosovsky Research Institute for Emergency Medicine
of the Moscow City Health Care Department;
Moscow Aviation Institute (National Research
University);
e-mail: ntropskaya@mail.ru

Клычникова Елена Валерьевна, к.м.н., ГБУЗ
«Научно-исследовательский институт скорой
помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»;
e-mail: klychnikovae@mail.ru

Elena V. Klychnikova, Cand. Sci. (Med.), N.V. Skli-
fosovsky Research Institute for Emergency Medicine
of the Moscow City Health Care Department;
e-mail: klychnikovae@mail.ru

Боровкова Наталья Валерьевна, д.м.н., ГБУЗ
«Научно-исследовательский институт скорой
помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»;
e-mail: borovkovany@yandex.ru

Natal'ya V. Borovkova, Dr. Sci. (Med.), N.V. Skli-
fosovsky Research Institute for Emergency Medicine
of the Moscow City Health Care Department;
e-mail: borovkovany@yandex.ru

Евсеев Анатолий Константинович, д.х.н.,
ГБУЗ «Научно-исследовательский институт ско-
рой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»;
e-mail: anatolevseev@gmail.com

Anatoly K. Evseev, Dr. Sci. (Chem.), N.V. Skli-
fosovsky Research Institute for Emergency Medicine
of the Moscow City Health Care Department;
e-mail: anatolevseev@gmail.com

Горончаровская Ирина Викторовна, к.х.н.,
ГБУЗ «Научно-исследовательский институт ско-
рой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»;
e-mail: goririna22@gmail.com

Irina V. Goroncharovskaya, Cand. Sci.
(Chem.), N.V. Sklifosovsky Research Institute for
Emergency Medicine of the Moscow City Health
Care Department;
e-mail: goririna22@gmail.com

Сторожева Майя Викторовна, ГБУЗ «Научно-
исследовательский институт скорой помощи
им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»;
e-mail: mayya.storozheva@yandex.ru

Mayya V. Storozheva, N.V. Sklifosovsky Research
Institute for Emergency Medicine of the Moscow
City Health Care Department;
e-mail: mayya.storozheva@yandex.ru

Бородин Евгений Никитична, ГБУЗ «Научно-
исследовательский институт скорой помощи
им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»;
e-mail: januaria@list.ru

Yevgeniya N. Borodina, N.V. Sklifosovsky
Research Institute for Emergency Medicine of the
Moscow City Health Care Department;
e-mail: januaria@list.ru

Кочетова Алена Алексеевна, ГБУЗ «Научно-
исследовательский институт скорой помощи
им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»;
e-mail: KochetovaAA@sklif.mos.ru

Alena A. Kochetova, N.V. Sklifosovsky Research
Institute for Emergency Medicine of the Moscow
City Health Care Department;
e-mail: KochetovaAA@sklif.mos.ru

Бондаренко Любовь Сергеевна, к.х.н., ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», ФГБОУ ВО «Московский авиационный институт (национальный исследовательский университет)»;
e-mail: L.s.bondarenko92@gmail.com

Lyubov S. Bondarenko, Cand. Sci. (Chem.), N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine of the Moscow City Health Care Department, Moscow Aviation Institute (National Research University);
e-mail: L.s.bondarenko92@gmail.com

Баймуратова Роза Курмангалиевна, к.х.н., ФГБУН Федеральный исследовательский центр проблем химической физики и медицинской химии РАН;
e-mail: roz_baz@mail.ru

Roza K. Baimuratova, Cand. Sci. (Chem.), Federal Research Center of Problems of Chemical Physics and Medical Chemistry of the Russian Academy of Sciences;
e-mail: roz_baz@mail.ru

Джардималиева Гульжиан Исаковна, д.х.н., ФГБУН Федеральный исследовательский центр проблем химической физики и медицинской химии РАН;
e-mail: dzhardim@icp.ac.ru

Gulzhian I. Dzhardimalieva, Dr. Sci. (Chem.), Federal Research Center of Problems of Chemical Physics and Medical Chemistry of the Russian Academy of Sciences;
e-mail: dzhardim@icp.ac.ru

Кыдралиева Камиля Асылбековна, д.х.н., ФГБОУ ВО «Московский авиационный институт (национальный исследовательский университет)»;
e-mail: kydralievaka@mai.ru

Kamilia A. Kydraliev, Dr. Sci. (Chem.), Moscow Aviation Institute (National Research University);
e-mail: kydralievaka@mai.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author