

Модификация макрофагов и моноцитов человека магнитными наночастицами *in vitro* для доставки, опосредованной клетками

Перекуча Н.А.¹, Смолина П.А.¹, Дёмин А.М.², Краснов В.П.², Першина А.Г.^{1,3}

¹ Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

² Институт органического синтеза (ИОС) им. И.Я. Постовского Уральского отделения Российской академии наук (УрО РАН)
Россия, 620990, г. Екатеринбург, ул. С. Ковалевской, 22

³ Национальный исследовательский Томский политехнический университет (НИ ТПУ)
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 30

РЕЗЮМЕ

Цель исследования – разработать протокол модификации макрофагов и моноцитов человека магнитными наночастицами оксида железа (Fe_3O_4) *in vitro*.

Материалы и методы. Магнитные наночастицы оксида железа получены методом со-осаждения, покрыты силоксановой оболочкой и полиэтиленгликолем 3000. Макрофаги мыши линии RAW 264.7, моноциты периферической крови и макрофаги человека инкубировали с магнитными наночастицами в течение 1–24 ч. Эффективность захвата наночастиц клетками оценивали феррозиновым методом и методом микроскопии с окрашиванием на железо по Перлсу. Исследование жизнеспособности клеток выполняли методом проточной цитофлуориметрии с использованием красителя SYTOX Green.

Результаты. Инкубация макрофагов с магнитными наночастицами в концентрации >5 мкг/мл в течение 1 ч на ротаторе при 37 °С обеспечивает загрузку наночастиц в $>99\%$ клеток. Исследуемые магнитные наночастицы не оказывают негативных эффектов на жизнеспособность клеток. Клетки линии RAW 264.7, поглотившие наночастицы, сохраняют миграционную активность. Эффективность загрузки макрофагов магнитными наночастицами составляет >50 пкг (Fe)/клетку.

Заключение. Макрофаги, загруженные магнитными наночастицами согласно предложенному протоколу, являются жизнеспособными, сохраняют способность к миграции и перспективны в качестве систем доставки, опосредованной клетками, для диагностики и терапии опухоли.

Ключевые слова: магнитные наночастицы, моноциты, макрофаги, системы доставки на основе клеток.

Конфликт интересов. Авторы гарантируют отсутствие потенциальных и явных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках государственного задания Сибирского государственного медицинского университета (No. AAAA-A18-118031490008-7).

Соответствие принципам этики. Все участники исследования подписали добровольное информированное согласие. Исследование одобрено локальным этическим комитетом СибГМУ (протокол № 7698 от 25.02.2019).

Для цитирования: Перекуча Н.А., Смолина П.А., Дёмин А.М., Краснов В.П., Першина А.Г. Модификация макрофагов и моноцитов человека магнитными наночастицами *in vitro* для доставки, опосредованной клетками. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (4): 143–150. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-4-143-150>.

✉ Першина Александра Геннадьевна, e-mail: allysyz@mail.ru

Modification of human monocytes and macrophages by magnetic nanoparticles *in vitro* for cell-based delivery

Perekucha N.A.¹, Smolina P.A.¹, Demin A.M.², Krasnov V.P.², Pershina A.G.^{1,3}

¹ Siberian State Medical University

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Postovsky Institute of Organic Synthesis, Ural Branch of Russian Academy of Sciences

22, S. Kovalevskoy Str., Yekaterinburg, 620990, Russian Federation

³ National Research Tomsk Polytechnic University

30, Lenina Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

The aim of the study was to develop a method for the modification of human monocytes/macrophages by iron oxide magnetic nanoparticles *in vitro*.

Materials and methods. Iron oxide magnetic nanoparticles were obtained by a co-precipitation method and coated with a thin SiO₂ layer and polyethylene glycol 3000. Murine macrophage-like cell line RAW 264.7, primary human monocytes and macrophages were incubated with magnetic nanoparticles for 1–24 hours. The efficiency of cellular uptake of nanoparticles was measured using a ferrozine-based method and microscopy with Perls' Prussian blue staining. The cell viability was tested by fluorescent flow cytometry using SYTOX Green.

Results. Incubation of RAW264.7 cell, human monocytes and macrophages with magnetic nanoparticles at a concentration > 5 µg/mL on a rotator for 1 hour at 37 °C provides the loading of nanoparticles into > 99% of cells. The magnetic nanoparticles have no adverse effect on the cell viability. The RAW264.7 cells modified with nanoparticles showed no change in migration activity. The efficiency of the nanoparticle uptake by macrophages was >50 pkg (Fe)/cell.

Conclusion. According to the proposed method, macrophages loaded with magnetic nanoparticles have proved viable, they retain the ability to migrate, and therefore can be used as cell-based delivery systems for tumor diagnostic and therapy.

Key words: magnetic nanoparticles, monocytes, macrophages, cell-based delivery system.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. State Assignment of Siberian State Medical University No. AAAA-A18-118031490008-7.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local ethics committee under Siberian State Medical University (Protocol No. 7698 of 25.02.2019).

For citation: Perekucha N.A., Smolina P.A., Demin A.M., Krasnov V.P., Pershina A.G. Modification of human monocytes and macrophages by magnetic nanoparticles *in vitro* for cell-based delivery. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (4): 143–150. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-4-143-150>.

ВВЕДЕНИЕ

Магнитные наночастицы (МНЧ) активно исследуются для разработки альтернативных подходов к терапии [1] и диагностике злокачественных новообразований [2, 3], в том числе контролируемой доставке лекарств [4, 5] и мониторингу эффективности химиотерапии опухолей [6].

Однако проблема эффективной доставки МНЧ в опухоль до сих пор остается нерешенной [7]. Одним

из многообещающих подходов к решению данной проблемы является использование аутологичных лейкоцитов в качестве биоконтейнеров для доставки наночастиц [8, 9]. Лейкоциты способны к активной миграции, могут проходить через эндотелий капилляров и проникать в межклеточное пространство, что делает их идеальными «курьерами» [10], позволяя повысить эффективность доставки более чем в 100 раз [11].

Среди лейкоцитов наиболее привлекательной популяцией для разработки системы доставки наночастиц внутри клеток являются моноциты и макрофаги. Важной особенностью моноцитов и макрофагов в отличие от нейтрофилов является способность сохранять свою жизнеспособность продолжительное время после фагоцитирования частиц. Выраженная способность к фагоцитозу выгодно отличает моноциты и макрофаги от лимфоцитов; для эффективной загрузки последних наночастицами необходимо использование специальных методов [12].

Способность моноцитов и макрофагов за счет хемотаксиса [13] проникать в гипоксические зоны опухоли обещает решить проблему воздействия на раковые клетки в данных зонах, практически недоступных для проникновения классических фармакологических препаратов [14].

Первым шагом к применению систем доставки, опосредованной клетками, является создание комплексов иммунных клеток с наночастицами. Существует несколько подходов [15, 16]; основной метод заключается в сборке *in vitro*, когда наночастицы либо присоединяются к поверхности клеточной мембраны, либо интернализуются в клетках [17, 18]. Альтернативным подходом является использование «теней» клеток – в данном случае наночастицы покрываются изолированными клеточными мембранами [19].

Важным при разработке систем доставки является оптимизация параметров модификации клеток наночастицами. Модификация не должна приводить к существенным изменениям клеточного иммунного ответа, скорости дифференцировки, миграционной способности клеток, снижению жизнеспособности [20].

Целью данной работы было разработать протокол загрузки МНЧ оксида железа (Fe_3O_4) в макрофаги/моноциты человека *in vitro*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

МНЧ оксида железа (Fe_3O_4) со средним диаметром 10 нм были получены методом соосаждения из водных растворов солей Fe^{2+} и Fe^{3+} , покрыты SiO_2 -оболочкой и ковалентно модифицированы O -[N-(6-малеимидогексаноил)аминоэтил]- O' -[3-(N-сукцинимидилокси)-3-оксопропил]полиэтиленгликолем 3000 (ПЭГ). Для получения флуоресцентно-меченных частиц использовали NHS-эфир Cyanine5 (Cy5, Lumiprobe, Россия). Полученные наночастицы (MNP-PEG) формировали стабильные коллоидные суспензии в водных буферах со средним гидродинамическим диаметром 190 нм ($PdI < 0,06$).

Клетки линии RAW264.7 культивировали в полной питательной среде (ППС) DMEM/F12 (Thermo Fisher Scientific, США) с добавлением 10%-й феталь-

ной телячьей сыворотки (FBS, Gibco, США), L-глутамина (Glutamax, Gibco) и гентамицина при уровне 5% CO_2 и температуры 37 °C. Для снятия адгезированных клеток использовали скрепер.

Для выделения моноцитов периферическую венозную кровь здоровых доноров собирали из локтевой вены в вакуумную пробирку с гепарином (Green Vac-Tube с Li-гепарином, Green Cross) в объеме 30 мл. Выделение мононуклеарных клеток из периферической крови здоровых доноров проводили методом центрифугирования на градиенте плотности Фиколла 1,077 (ПанЭко, Россия). Выделение моноцитов из мононуклеарной фракции проводили на магнитных колонках (Miltenyi Biotec Inc., Германия) с использованием магнитных частиц с антителами к CD14 (Miltenyi Biotec Inc.). Моноциты культивировали в ППС RPMI 1640 (ПанЭко, Россия) с добавлением 1% L-глутамина (Glutamax, Gibco), 10% FBS и 1% пенициллин-стрептомицина (ПанЭко). Оценку чистоты популяции моноцитов человека проводили с использованием антител PE Mouse Anti-Human CD14 Clone M5E2 (BD Biosciences, США). Чистота популяции моноцитов составляла не менее 97%.

Для получения макрофагов моноциты инкубировали в ППС RPMI с добавлением гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF, Sigma, США) до концентрации 100 нг/мл в течение 7 сут, с заменой среды каждые 3 сут. Для оценки созревания использовали антитела Pacific Blue anti-human CD11b Antibody Clone ICRF44 (Biolegend, США) и PE anti-human CD68 Antibody (Biolegend). Чистота популяции макрофагов составляла не менее 91%.

Для исследования поглощения наночастиц по 10^5 клеток линии RAW264.7 в 450 мкл ППС DMEM/F12 вносили в эппендорфы объемом 2 мл или рассаживали в лунки 24-луночного планшета. Затем в пробы вносили 1/10 часть суспензии MNP-PEG (50 мкл) в натрий-фосфатном буфере (PBS). В контрольные образцы клеток добавляли эквивалентный объем $1 \times PBS$. Клетки в эппендорфах инкубировали при температуре 37 °C в течение 1 или 2 ч на ротаторе, клетки в 24-луночных планшетах – в течение 1 ч в CO_2 -инкубаторе.

Клетки после инкубации с MNP-PEG на ротаторе центрифугировали в течение 7 мин при 180 g, ресуспендировали в $1 \times PBS$ для отмывки от наночастиц, центрифугировали и осадок ресуспендировали в 200 мкл $1 \times PBS$. Адгезированные клетки после инкубации с MNP-PEG дважды отмывали $1 \times PBS$, снимали с помощью скрепера и переносили в эппендорфы объемом 2 мл. Клетки центрифугировали в течение 7 мин при 180 g, осадок ресуспендировали в 200 мкл $1 \times PBS$.

Анализ жизнеспособности проводили на точном цитометре BD Accuri C6 (BD Biosciences) с использованием SYTOX Green (Thermo Fisher Scientific). Для проведения конфокальной микроскопии ядра клеток окрашивали Hoechst 33342 в 5 мкг/мл PBS. Исследование проводили на конфокальном микроскопе Carl Zeiss LSM 710 (Германия). Для выявления железа в клетках использовали набор Prussian Blue Iron Stain Kit (Polysciences Inc., США). Клетки анализировали методом световой микроскопии (Leica DMI8, Leica Camera, Германия). Определения содержания железа в клетках проводили феррозинным методом, как описано в [21]. Оценку скорости миграции клеток проводили согласно методике, предложенной в работе [22].

Статистический анализ данных проводили с использованием пакета программ GraphPad Prism 7. Для проверки нормальности распределения данных использовали критерий Шапиро – Уилка. Данные с нормальным распределением представлены как среднее и стандартное отклонение $M \pm SD$. Статистическую значимость различий определяли, используя t-тест Стьюдента. Для выявления достоверности различий в случае множественных сравнений использовали однофакторный дисперсионный анализ (one-way ANOVA) для группового сравнения, затем критерий Даннета для попарных сравнений с контрольной группой. Достоверность различий считали значимой при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для выбора оптимальных условий загрузки клеток наночастицами на клетках линии RAW 264.7 было протестировано два режима инкубации: с адгезированными на культуральной плашке клетками и в суспензии при постоянном перемешивании на ротаторе. При инкубации RAW 264.7 с MNP-PEG в диапазоне концентраций 0,625–5 мкг/мл установлено, что MNP-PEG более эффективно поглощались клетками в суспензии (при инкубации на ротаторе), чем адгезированными клетками. Так, при концентрации MNP-PEG 5 мкг/мл через 1 ч инкубации на планшете доля Су5-позитивных клеток – $(38,0 \pm 2,5)\%$, тогда как при инкубации на ротаторе доля поглотивших наночастицы клеток составила $(99,7 \pm 0,1)\%$. При увеличении времени инкубации на ротаторе до 2 ч количество поглотивших наночастицы клеток возрастало до $(99,9 \pm 0,04)\%$ (рис. 1, а).

После инкубации клеток с MNP-PEG на ротаторе более 90% клеток RAW264.7 сохраняли свою жизнеспособность. Так, через 1 ч инкубации с MNP-PEG в концентрации 5 мкг/мл на ротаторе доля живых клеток составила $(90,7 \pm 0,3)\%$, что не отличалось от значений, полученных для контрольных образцов $(91,4 \pm 0,8)\%$ (рис. 1, б). После инкубации адгезированных клеток на плашке с добавлением MNP-PEG доля погибших клеток составила $(24,5 \pm 4,0)\%$ и не отличалась от значения в контрольных образцах $(24,0 \pm 3,7)\%$.

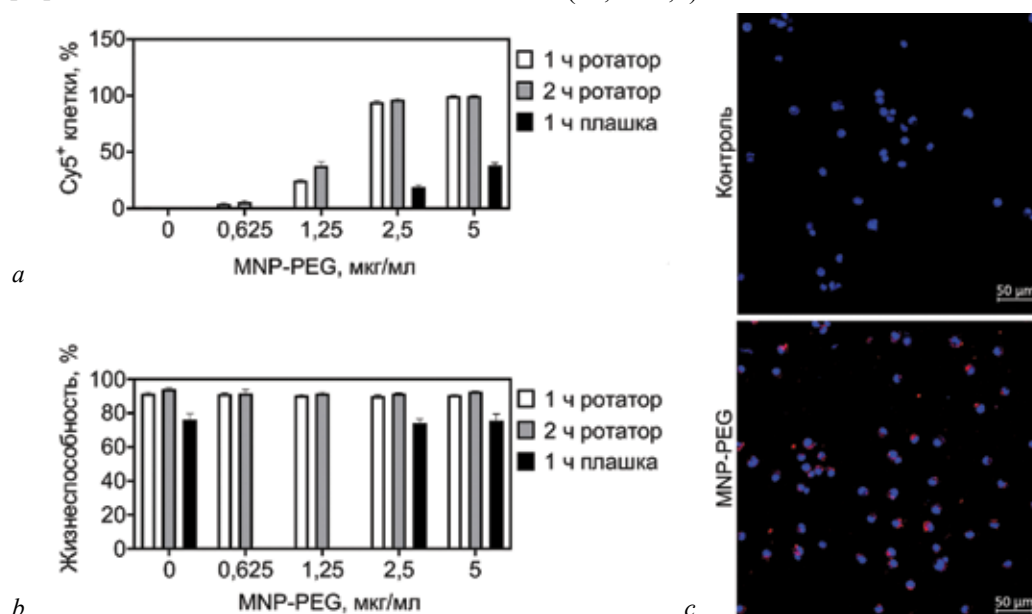


Рис. 1. Поглощение MNP-PEG клетками линии RAW264.7: а – эффективность поглощения MNP-PEG клетками линии RAW264.7 при различных условиях инкубации; б – жизнеспособность клеток линии RAW264.7 при различных условиях инкубации по данным флуоресцентной проточной цитометрии с SYTOX Green; в – изображение клеток линии RAW264.7, проинкубированных без наночастиц (контроль) и после инкубации с MNP-PEG в течение 1 ч на ротаторе, полученное методом конфокальной микроскопии (Carl Zeiss LSM 710, Carl Zeiss, Германия). Ядро окрашено синим (Hoechst 33342), наночастицы – красным (Cyanine5). Масштабный отрезок: 50 мкм

Данный эффект, вероятно, обусловлен негативным влиянием использования скрепера для снятия адгезированных клеток с поверхности пластика.

Эффективное поглощение MNP-PEG клетками RAW 264.7 было подтверждено данными конфокальной микроскопии. Так, в цитоплазме клеток RAW 264.7 после их инкубации с MNP-PEG наблюдали Су5-позитивные включения (рис. 1, *b*).

Выбранный режим инкубации – 1 ч на ротаторе при 37 °С – был далее использован для количественной оценки эффективности «загрузки» клеток линии RAW 264.7. Клетки в количестве 10^6 инкубировали с MNP-PEG в высокой концентрации (50 мкг/мл), после чего отмывали и ресуспендировали в $1 \times$ MACS буфере. После проведения сортировки на магнитных колонках подсчитывали содержание клеток в промывочных растворах и клеточной суспензии, элюированной с колонки после ее извлечения из магнитного сепаратора. Эффективность

магнитного сортировки для клеток RAW 264.7 составила 77%. Магнитно-позитивные клетки переносили в лунки 6-луночного планшета и инкубировали в течение 2 ч в CO₂-инкубаторе для адгезии клеток, после чего дополнительно отмывали от наночастиц дважды $1 \times$ PBS. Далее клетки снимали с поверхности пластика для определения содержания в них железа. Согласно данным феррозинового теста, эффективность поглощения наночастиц макрофагами RAW264.7 составила (58 ± 14) пкг/кл. Согласно данным проточной цитометрии с SYTOX Green, после модификации клеток наночастицами MNP-PEG доля мертвых клеток составила $(9,9 + 3,6)\%$, что не отличалось от значений, полученных для контрольных образцов, – $(11,8 + 4,6)\%$.

При исследовании магнитно-позитивных клеток RAW264.7 методом световой микроскопии в цитоплазме наблюдали большое количество Перлс-позитивных включений (рис. 2).

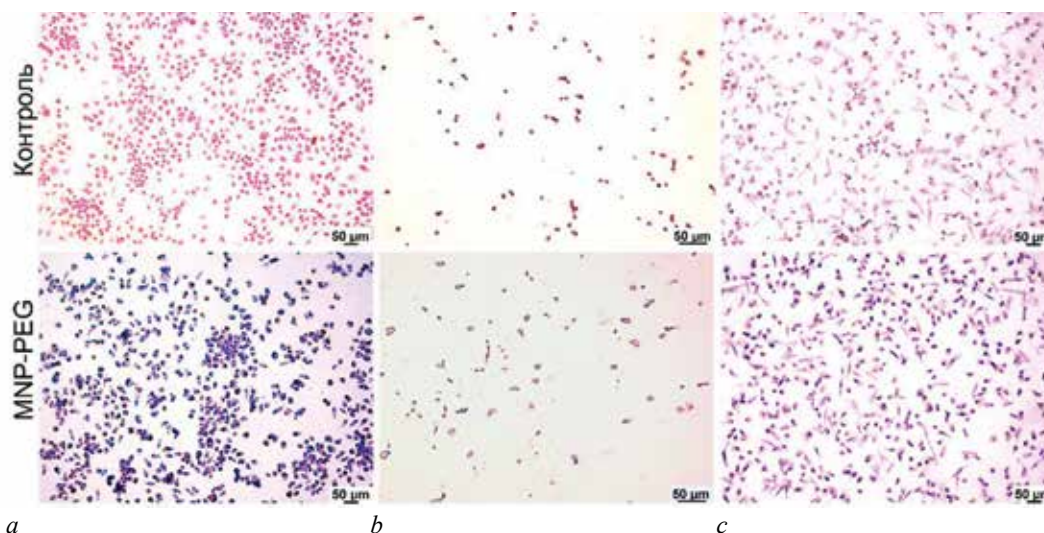


Рис. 2. Изображение клеток линии RAW264.7 (*a*), моноцитов периферической крови человека (*b*) и макрофагов человека (*c*), проинкубированных без наночастиц (контроль) и после загрузки MNP-PEG и магнитного сортировки. Окрашивание по Перлсу. Масштабный отрезок: 50 мкм

Скорость миграции клеток RAW264.7, загруженных MNP-PEG, составила 12,6 мкм/ч (рис. 3) и практически не отличалась от скорости миграции клеток в контрольных образцах (14,8 мкм/ч).

В следующей серии экспериментов нами было выполнено исследование поглощения MNP-PEG моноцитами периферической крови человека и макрофагами, дифференцированными из моноцитов периферической крови. Инкубацию проводили при выбранных для клеток линии RAW264.7 условиях: неадгезированные клетки в суспензии инкубировали с MNP-PEG в концентрации 50 мкг/мл в течение 1 ч на ротаторе при 37 °С. MNP-PEG поглощались как моноцитами, так и макрофагами человека. Изобра-

жение магнитно-позитивных макрофагов человека, адгезированных на плашке, полученные методом световой микроскопии, представлены на рис. 2, *b*.

Согласно данным определения содержания железа в клетках после их инкубации с MNP-PEG, установлено, что эффективность поглощения наночастиц моноцитами составила (46 ± 6) пкг/кл, а макрофагами – (369 ± 96) пкг/кл. Эффективность магнитного сортировки макрофагов после их загрузки MNP-PEG составила 93%. Несмотря на 100%-ю модификацию популяции клеток наночастицами (согласно данным проточной цитометрии), вероятно, плотность загрузки каждой индивидуальной клетки несколько варьирует.

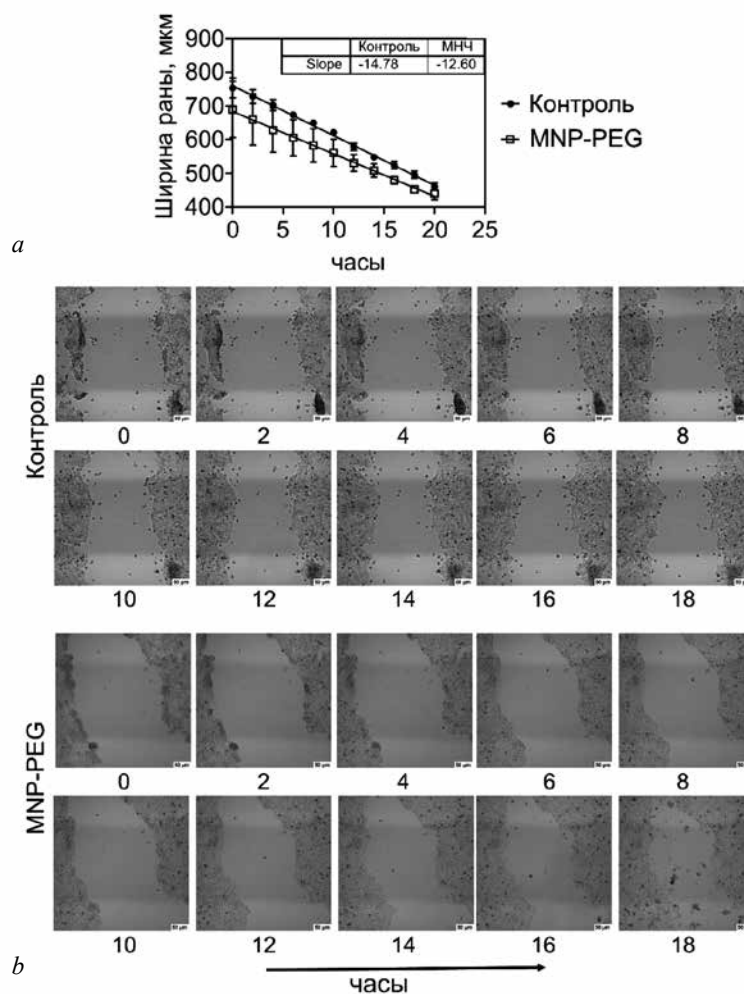


Рис. 3. Исследование миграционной активности клеток линии RAW264.7: *a* – расчет скорости миграции клеток RAW264.7 в контроле и клеток, загруженных MNP-PEG; *b* – изображение клеток RAW264.7, проинкубированных без наночастиц, (контроль) и после загрузки MNP-PEG и магнитного сортировки, полученные в течение 18 ч после формирования «раны» на адгезионном слое

В связи с этим некоторые клетки содержат недостаточное количество частиц для их эффективного удержания на магнитной колонке. Важно отметить, что жизнеспособность клеток, загруженных MNP-PEG, не отличалась от значений, полученных в контрольных образцах.

Исследование влияния MNP-PEG на жизнеспособность мононуклеаров и моноцитов периферической крови человека при совместной инкубации в течение 24 ч показало, что MNP-PEG не оказывали негативных эффектов на жизнеспособность клеток (рис. 4).

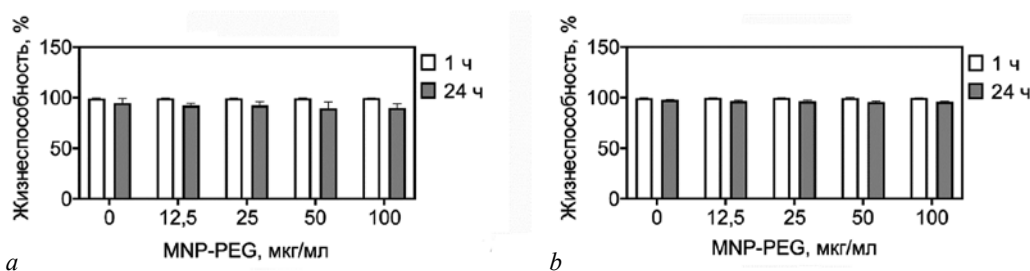


Рис. 4. Влияние MNP-PEG на жизнеспособность мононуклеаров (*a*) и моноцитов (*b*) периферической крови человека после их инкубации с MNP-PEG (12,5–100 мг/мл) в течение 1 и 24 ч согласно данным флуоресцентной проточной цитометрии с SYTOX Green

ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее в экспериментах показано успешное создание систем доставки на основе модифицированных наночастицами моноцитарно-макрофагальных клеточных линий [23], а также альвеолярных [24], перитонеальных [25] и костномозговых макрофагов [20]. Однако исследования поглощения наночастиц первичными культурами моноцитарных и макрофагальных клеток человека остаются единичными.

Время инкубации с МНЧ для достижения максимального накопления, используемое в опубликованных работах, значительно варьирует (от 1 до 24 ч.). Показано, что время зависит от типа поверхностной модификации наночастиц [26]. Согласно нашим данным, увеличение времени инкубации до 2 ч не приводило к заметному увеличению числа загруженных клеток, в связи с чем из соображений оптимизации протокола было выбрано время инкубации 1 ч.

В результате исследования установлено, что макрофаги проявили более выраженную фагоцитарную активность в отношении наночастиц, что хорошо согласуется с опубликованными данными сравнительного исследования поглощения наночастиц клетками моноцитарной линии человека THP-1 и после их дифференцировки до макрофагов dTHP-1 [27]: эффективность составила 6 и 50 пкг/клетку для THP-1 и dTHP-1 соответственно. Отметим, что эффективность поглощения MNP-PEG значительно выше.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Магнитные наночастицы оксида железа, покрытые SiO₂-оболочкой и ПЭГ, эффективно поглощаются клетками макрофагальной линии мыши RAW 264.7, моноцитами периферической крови человека и макрофагами человека, дифференцированными из моноцитов периферической крови. Оптимальными условиями загрузки является инкубация неадгезированных клеток (в суспензии) с наночастицами в течение 1 ч на ротаторе при 37 °С. МНЧ поглощаются >99% клеток в суспензии и не оказывают цитотоксических эффектов на клетки RAW 264.7, моноциты периферической крови человека и макрофаги человека. Таким образом, макрофаги, загруженные МНЧ, согласно предложенному протоколу, являются жизнеспособными, сохраняют способность к миграции и перспективны в качестве систем доставки магнитных наночастиц в опухоль.

ЛИТЕРАТУРА

- Liu X., Zhang Y., Wang Y., Zhu W., Li G., Ma X. et al. Comprehensive understanding of magnetic hyperthermia for improving antitumor therapeutic efficacy. *Theranostics*. 2020; 10 (8): 3793–3815. DOI: 10.7150/thno.40805.
- Yu E.Y., Bishop M., Zheng B., Ferguson R.M., Khandhar A.P., Kemp S.J. et al. Magnetic Particle Imaging: A Novel *in vivo* imaging platform for cancer detection. *Nano Lett.* 2017; 17 (3): 1648–1654. DOI: 10.1021/acs.nanolett.6b04865.
- Lee J., Huh Y., Jun Y., Seo J., Jang J., Song H. et al. Artificially engineered magnetic nanoparticles for ultra-sensitive molecular imaging. *Nat. Med.* 2007; 13 (1): 95–99. DOI: 10.1038/nm1467.
- Huang Y., Gao X., Chen J. Leukocyte-derived biomimetic nanoparticulate drug delivery systems for cancer therapy. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2018; 8 (1): 4–13. DOI: 10.1016/j.apsb.2017.12.001.
- Shaghasemi S.B., Virk M.M., Reimhult E. Optimization of magneto-thermally controlled release kinetics by tuning of magnetoliposome composition and structure. *Scientific Reports*. 2017; 7 (1): 1–10. DOI: 10.1038/s41598-017-06980-9.
- Zhao H., Richardson R., Talebloo N., Mukherjee P., Wang P., Moore A. uMUC1-targeting magnetic resonance imaging of therapeutic response in an orthotropic mouse model of colon cancer. *Mol. Imaging Biol.* 2019; 21 (5): 852–860. DOI: 10.1007/s11307-019-01326-5.
- Wilhelm S., Tavares A.J., Dai Q., Ohta S., Audet J., Dvorak H.F. et al. Analysis of nanoparticle delivery to tumours. *Nature Reviews Materials*. 2016; 1 (5): 16014. DOI: 10.1038/natrevmats.2016.14.
- Huang Y., Gao X., Chen J. Leukocyte-derived biomimetic nanoparticulate drug delivery systems for cancer therapy. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2018; 8 (1): 4–13. DOI: 10.1016/j.apsb.2017.12.001.
- Choi M.R., Stanton-Maxey K.J., Stanley J.K., Levin C.S., Bardhan R., Akin D. et al. A cellular Trojan Horse for delivery of therapeutic nanoparticles into tumors. *Nano Letters*. 2007; 7 (12): 3759–3765. DOI: 10.1021/nl072209h.
- Moore T.L., Hauser D., Gruber T., Rothen-Rutishauser B., Lattuada M., Petri-Fink A. et al. Cellular shuttles: monocytes/macrophages exhibit transendothelial transport of nanoparticles under physiological flow. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2017; 9 (22): 18501–18511. DOI: 10.1021/acsaami.7b03479.
- Han H., Eyal S., Portnoy E., Mann A., Shmuel M., Benifla M. et al. Monocytes as carriers of magnetic nanoparticles for tracking inflammation in the epileptic rat brain. *Curr. Drug Deliv.* 2019; 16 (7): 637–644. DOI: 10.2174/1567201816666190619122456.
- Steinfeld U., Pauli C., Kaltz N., Bergemann C., Lee H.-H. T lymphocytes as potential therapeutic drug carrier for cancer treatment. *International Journal of Pharmaceutics*. 2006; 311 (1–2): 229–236. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2005.12.040.
- Si J., Shao S., Shen Y., Wang K. Macrophages as active nanocarriers for targeted early and adjuvant cancer chemotherapy. *Small*. 2016; 12 (37): 5108–5119. DOI: 10.1002/smll.201601282.
- Quatromoni J.G., Eruslanov E. Tumor-associated macrophages: function, phenotype, and link to prognosis in human lung cancer. *American Journal of Translational Research*. 2012; 4 (4): 376–389.
- Anselmo A.C., Gilbert G.B., Kumar S., Gupte V., Cohen R.E., Rubner M.F. et al. Monocyte-mediated delivery of polymeric

- backpacks to inflamed tissues: a generalized strategy to deliver drugs to treat inflammation. *Journal of Controlled Release*. 2015; 199: 29–36. DOI: 10.1016/j.jconrel.2014.11.027.
16. Hao J., Chen J., Wang M., Zhao J., Wang J., Wang X. et al. Neutrophils, as “Trojan horses”, participate in the delivery of therapeutical PLGA nanoparticles into a tumor based on the chemotactic effect. *Drug Deliv.* 2020; 27 (1): 1–14. DOI: 10.1080/10717544.2019.1701141.
17. Irvine D.J., Hanson M.C., Rakhra K., Tokatlian T. Synthetic nanoparticles for vaccines and immunotherapy. *Chemical Reviews*. 2015; 115 (19): 11109–11146. DOI: 10.1021/acs.chemrev.5b00109.
18. Dong X., Chu D., Wang Z. Leukocyte-mediated delivery of nanotherapeutics in inflammatory and tumor sites. *Theranostics*. 2017; 7 (3): 751–763. DOI: 10.7150/thno.18069.
19. Cao H., Dan Z., He X., Zhang Z., Yu H., Yin Q. et al. Liposomes coated with isolated macrophage membrane can target lung metastasis of breast cancer. *ACS Nano*. 2016; 10 (8): 7738–7748. DOI: 10.1021/acs.nano.6b03148.
20. Tong Y.-I., Kang W., Shi Y., Zhou G., Lu Y. Physiological function and inflamed-brain migration of mouse monocyte-derived macrophages following cellular uptake of superparamagnetic iron oxide nanoparticles – Implication of macrophage-based drug delivery into the central nervous system. *Int. J. Pharm.* 2016; 505 (1–2): 271–282. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2016.03.028.
21. Pershina A.G., Brikunova O.Y., Perekuha N.A., Demin A.M., Shevelev O.B., Malkeyeva D., Kiseleva E., Minin A., Kostikova L.A., Stepanov I.V., Kuznetsov D.K., Shur V.Ya., Krasnov V.P. Supporting data and methods for the characterization of iron oxide nanoparticles conjugated with pH-(low)-insertion peptide, testing their cytotoxicity and analyses of biodistribution in SCID mice bearing MDA-MB231 tumor. *Data in Brief*. 2020; 29: 105062. DOI: 10.1016/j.dib.2019.105062.
22. Justus C.R., Leffler N., Ruiz-Echevarria M., Yang L.V. *In vitro* cell migration and invasion assays. *J. Vis. Exp.* 2014; (88): 51046. DOI: 10.3791/51046.
23. Basel M.T., Balivada S., Wang H., Shrestha T. Cell-delivered magnetic nanoparticles caused hyperthermia-mediated increased survival in a murine pancreatic cancer model. *International Journal of Nanomedicine*. 2012; 7: 297–306. DOI: 10.2147/IJN.S28344.
24. Madsen S.J., Christie C., Hong S.J., Trinidad A., Peng Q., Uzal F.A. et al. Nanoparticle-loaded macrophage-mediated photothermal therapy: potential for glioma treatment. *Lasers in Medical Science*. 2015; 30 (4): 1357–1365. DOI: 10.1007/s10103-015-1742-5.
25. Choi J., Kim H.Y., Ju E.J., Jung J., Park J., Chung H.K. et al. Use of macrophages to deliver therapeutic and imaging contrast agents to tumors. *Biomaterials*. 2012; 33 (16): 4195–4203. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2012.02.022.
26. Beduneau A., Ma Z., Grotepas C.B., Kabanov A., Rabinow B.E., Gong N. et al. Facilitated monocyte-macrophage uptake and tissue distribution of superparamagnetic iron-oxide nanoparticles. *PLoS ONE*. 2009; 4 (2): e4343. DOI: 10.1371/journal.pone.0004343.
27. Luciani N., Gazeau F., Wilhelm C. Reactivity of the monocyte/macrophage system to superparamagnetic anionic nanoparticles. *J. Mater. Chem.* 2009; 19 (35): 6373–6380. DOI: 10.1039/b903306h.

Вклад авторов

Перекуча Н.А. – выполнение экспериментальной части исследования, интерпретация и анализ данных, написание рукописи.
Смолина П.А. – выполнение экспериментальной части исследования. Дёмин А.С., Краснов В.И. – синтез магнитных наночастиц.
Першина А.Г. – разработка концепции и дизайна, интерпретация и анализ данных, редактирование рукописи, проверка интеллектуального содержания.

Сведения об авторах

Перекуча Наталья Андреевна, мл. науч. сотрудник, Центр биологических исследований и биоинженерии Центральной научно-исследовательской лаборатории, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-9310-3196.

Смолина Полина Алексеевна, студент, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-9216-9572.

Дёмин Александр Михайлович, канд. хим. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория асимметрического синтеза, ИОС им. И.Я. Постовского УрО РАН, г. Екатеринбург. ORCID 0000-0002-4132-232.7

Краснов Виктор Павлович, д-р хим. наук, профессор, зав. лабораторией асимметрического синтеза, ИОС им. И.Я. Постовского УрО РАН, г. Екатеринбург. ORCID 0000-0003-1411-6218.

Першина Александра Геннадьевна, канд. биол. наук, зав. центра биологических исследований и биоинженерии Центральной научно-исследовательской лаборатории, СибГМУ; доцент, Исследовательская школа химических и биомедицинских технологий, НИ ТПУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-7604-9722.

(✉) **Першина Александра Геннадьевна**, e-mail: allysyz@mail.ru.

Поступила в редакцию 08.09.2020

Подписана в печать 03.11.2020