

**ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧНОСТИ ФУЛЛЕРЕНОЛА C₆₀(ОН)₂₂₋₂₄ В
ОТНОШЕНИИ НК-КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА
*IN VITRO***

Тимганова В. П. ¹,
Бочкова М. С. ^{1,2},
Усанина Д. И. ^{1,2},
Долгих М. Д. ^{1,2},
Лазарев С. С. ¹,
Раев М. Б. ^{1,2},
Заморина С. А. ^{1,2}

¹ «Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» - филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук («ИЭГМ УрО РАН»).

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет».

**EVALUATION OF CYTOTOXICITY OF FULLERENOL C₆₀(OH)₂₂₋₂₄
TOWARDS HUMAN PERIPHERAL BLOOD NK CELLS *IN VITRO***

Timganova V. P.^a,
Bochkova M. S.^{a, b},
Usanina D. I.^{a, b},
Dolgikh M. D.^{a, b},
Lazarev S. S.^a,
Rayev M. B.^{a, b},
Zamorina S. A.^{a, b}

^a "Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences" - a branch of the Federal State Budgetary Institution of Science of the Perm Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences ("IEGM Ural Branch of the Russian Academy of Sciences").

^b Perm State University.

Резюме

Полигидроксилированные фуллерены (фуллеренолы) C₆₀(OH)_n являются наиболее перспективными аллотропами углерода благодаря гидрофильности, стабильности и низкой токсичности. В то же время, НК-клетки, ключевые клетки противовирусного и противоопухолевого иммунного ответа, практически не изучены как мишень для наночастиц фуллеренола.

Целью исследования являлась оценка иммуносовместимости гидроксилированного фуллеренола C₆₀(OH)₂₂₋₂₄ с CD3-CD56⁺НК -клетками периферической крови человека, а также исследование интернализации наночастиц в клетки.

Материалы и методы. Исследования были проведены на мононуклеарных клетках периферической крови здоровых доноров (n=4). В экспериментах использовали фуллеренол (MST-WS60-Bio (fullerenol C₆₀(OH)₂₄ 99,99%, «Modern Syntesis Technology», Латвия; размер кластеров ~130 нм) в концентрациях 200, 100, 50, 25, 12,5, 5, 2,5, 0,5 и 0,25 мкг/мл. Контролем служили лунки без добавления наночастиц. Клетки инкубировали в присутствии фуллеренола в течение 24, 48 и 72 часов в условиях 5% CO₂ и 37°C. Оценивали жизнеспособность НК-клеток (CD3-CD56⁺), а также адгезию/интернализацию фуллеренола в клетки с применением проточной цитометрии.

Результаты. Установлено, что наночастицы фуллеренола в концентрациях 0,2 - 200 мкг/мл не обладают цитотоксичностью в отношении НК-клеток в изучаемые сроки наблюдения (24, 48, 72 ч). Так, не выявлено статистически значимого уменьшения процента и абсолютного количества живых НК-клеток в 24-, 48-, 72- часовых культурах с фуллеренолом.

Показано, что НК-клетки не демонстрируют адгезию/интернализацию наночастиц фуллеренола в низких концентрациях - 0,25-50 мкг/мл во все периоды наблюдения (24, 48, 72 ч), однако, высокие концентрации фуллеренола были зафиксированы внутри НК-клеток на 48 и 72 ч наблюдения. Установлено, что на 72 ч наблюдения ~20% НК-клеток адгезировали/интернализировали фуллеренол в концентрации 100 мкг/мл и 50% НК-клеток адгезировали/интернализировали фуллеренол в концентрации 200 мкг/мл.

Заключение. Таким образом, впервые показано, что НК-клетки адгезируют/интернализуют фуллеренол в больших концентрациях (100 и 200 мкг/мл), причём процент фуллеренол (PC7)-позитивных клеток возрастает с увеличением продолжительности культивирования и увеличением концентрации наночастиц. Фуллеренол также не оказывал цитотоксического действия на изучаемую субпопуляцию клеток.

Ключевые слова: фуллеренол C₆₀(OH)₂₂₋₂₄, НК-клетки, жизнеспособность, поглощение наночастиц, биосовместимость, культивирование *in vitro*.

Abstract

Introduction. Polyhydroxylated fullerenes, commonly referred to as fullerlenols, are among the most promising carbon allotropes due to their hydrophilic nature, stability, and low toxicity. Natural Killer (NK) cells, are key components of the antiviral and antitumor immune response. However, they have been largely understudied as targets for fullerlenol nanoparticles.

The objective of this study was to assess the immunocompatibility of hydroxylated fullerlenol C₆₀(OH)₂₂₋₂₄ with CD3-CD56+ NK cells from human peripheral blood, as well as to investigate the internalization of these nanoparticles into cells.

Materials and methods. The studies were conducted on mononuclear cells from the peripheral blood of healthy donors (n=4). In the experiments, fullerlenol (MST-WS60-Bio, fullerlenol C₆₀(OH)₂₄, 99.99%, Modern Synthesis Technology, Latvia; cluster size approximately 130 nm) was used at concentrations of 200, 100, 50, 25, 12.5, 5, 2.5, 0.5, and 0.25 µg/mL. Wells without added nanoparticles served as controls. Cells were incubated in the presence of fullerlenol for 24, 48, and 72 hours under conditions of 5% CO₂ and 37°C. The viability of NK cells (CD3-CD56+) and the adhesion/internalization of fullerlenol into cells were assessed using flow cytometry.

Results. It was found that fullerlenol nanoparticles at concentrations ranging from 0.25 to 200 µg/mL did not exhibit cytotoxicity towards NK cells during the observation periods of 24, 48, and 72 hours. Thus, no statistically significant decrease in the percentage and absolute number of live NK cells was detected in cultures with fullerlenol over these time frames. The study also showed that NK cells did not demonstrate adhesion/internalization of fullerlenol nanoparticles at low concentrations (0.25-50 µg/mL) during all observation periods. However, high concentrations of fullerlenol were detected inside NK cells at 48 and 72 hours of observation. After 72 hours, approximately 20% of NK cells had adhered/internalized fullerlenol at a concentration of 100 µg/mL, and about 50% had done so at a concentration of 200 µg/mL.

Conclusion. Thus, for the first time, it was demonstrated that NK cells adhere/internalize fullerlenol at high concentrations (100 and 200 µg/mL), and the percentage of fullerlenol-positive cells increases with both longer cultivation duration and higher nanoparticle concentration. Fullerlenol didn't exhibit a cytotoxic effect on the studied cell subpopulation.

Keywords: fullerlenol C₆₀(OH)₂₂₋₂₄, NK cells, viability, nanoparticle internalization, biocompatibility, *in vitro* cultivation.

1 Введение

Полигидроксилированные фуллерены (фуллеренолы) C₆₀(OH)_n являются наиболее перспективными аллотропами углерода. Нанометровый размер, большое отношение площади поверхности к объему, способность проникать через клеточные мембраны, адаптивная поверхность, которую можно легко модифицировать различными функциональными группами, высвобождение лекарств, высокая физическая стабильность в биологических средах, способность удалять свободные радикалы, магнитные и оптические свойства делают наночастицы фуллеренола желанными кандидатами для различных биомедицинских приложений [13]. Благодаря легкой функционализации, фуллеренолы могут применяться для доставки в клетку лекарств и генетических векторов, а также в качестве адъювантов вакцин [1].

Использование наноразмерных соединений углерода в биомедицинских разработках является «вызовом» иммунной системе, ранее не сталкивавшейся с подобными объектами. Однако, исследования цитотоксичности фуллерена и его производных противоречивы: в ряде случаев фуллерен и его производные не влияют на жизнеспособность человеческих лейкоцитов, моноцитов и макрофагов *in vivo*, но в то же время наночастицы фуллеренола способны стимулировать функциональную активность макрофагов [16].

На данный момент нет информации о том, как наночастицы фуллеренола взаимодействуют с НК-клетками. НК-клетки – это лимфоидные цитотоксические клетки врожденного иммунитета, которые циркулируют в организме, представляя собой первую линию защиты от опухолевых и инфекционных заболеваний. Цитотоксические способности НК-клеток реализуются через лизис клеток-мишеней путём секреции цитолитических гранул гранзима и перфорина, либо путём индукции апоптоза через TRAIL и FASL [7]. Помимо этого, натуральные киллеры способны секретировать большое количество цитокинов и хемокинов, в том числе IFN-γ, TNF-α, GM-CSF и CCL5, модулируя адаптивный иммунный ответ [11].

Взаимодействие НК-клеток с наночастицами, как правило, изучается в контексте их противоопухолевого потенциала. Однако, реакция наночастиц на сами НК-клетки, таким образом, остаётся без внимания. В немногочисленных работах отмечается способность НК-клетки интернализировать наноматериалы: нанозвёзды, а также частицы, покрытые ПЭГом и глюкозой [9; 14]. При этом наночастицы способны индуцировать дегрануляцию НК-клеток: такой эффект обнаружен при использовании частиц оксида графена и оксида железа [12]. Однако интернализация не всегда ведёт к высвобождению содержимого гранул [4]. Таким образом, НК-клетки по-разному реагируют на присутствие наночастиц, в зависимости от множества факторов.

Целью исследования являлась оценка иммуносовместимости наночастиц гидроксилированного фуллеренола (C₆₀(OH)₂₂₋₂₄) с НК-клетками периферической крови человека в условиях *in vitro*. Для достижения поставленной цели, изучалась жизнеспособность НК-клеток после

44 взаимодействия с наночастицами C₆₀(ОН)₂₂₋₂₄, а также адгезия/интернализация
45 наночастиц в клетки.

46 **2 Материалы и методы**

47 *Характеристика используемого в работе фуллеренола C₆₀(ОН)₂₂₋₂₄*

48 В работе использовали фуллеренол (MST-WS60-Bio (fullerenol C₆₀(ОН)₂₄
49 99,99%), «Modern Syntesis Technology», Латвия.

50 Физико-химическая характеристика фуллеренола была проведена в ИТХ
51 УрО РАН (г. Пермь) к.т.н. Кисельковым Д.М. ИК-спектр подтвердил, что
52 спектральные линии соответствуют полигидроксилированным фуллеренам,
53 ТГМ/ДСК анализ показал, что распад фуллеренола происходит в интервале
54 70–830 °С, электронный спектр водного раствора продемонстрировал
55 отсутствие непрореагировавшего исходного фуллерена в исследуемом
56 образце. Анализ спектров методом ЯМР ¹H, ¹³C показал отсутствие
57 органических примесей.

58 Рабочая суспензия фуллеренола (при концентрации 10 мг/мл) имела
59 монодисперсный характер со средним размером агрегатов 130 нм, дзета-
60 потенциал равен 34,44 мВ.

61 Количественное содержание эндотоксина в растворе фуллеренола
62 оценивали с помощью LAL-теста [Chromogenic Endotoxin Quant Kit (Thermo
63 Scientific, США)]. Установлено, что при низких концентрациях стандарта
64 эндотоксина (0,01 – 0,1 EU/мл) было обнаружено менее 0,01 EU/мл (0,006
65 EU/мл) эндотоксина в образцах фуллеренола, что соответствует
66 общепринятым рекомендациям [15].

67 *Объекты исследования*

68 Исследование проводили в соответствии с Хельсинкской декларацией
69 ВМА 2000 г. и протоколом Конвенции Совета Европы о правах человека и
70 биомедицине 1999 г., на работу с образцами периферической крови было
71 получено разрешение этического комитета ИЭГМ УрО РАН (IRB00010009) от
72 22.05.2024. У всех пациентов было получено информированное согласие. В
73 работе использовали гепаринизированную кровь условно здоровых доноров (n
74 = 4, возраст 18-25 лет). Мононуклеары выделяли центрифугированием в
75 градиенте плотности фиколла-верографина (1,077 г/см³). Клетки
76 культивировали в концентрации 2 × 10⁶ кл./мл.

77 *Дизайн исследования*

78 Выделенные мононуклеарные клетки крови по 200 тыс. вносили в лунки
79 96-луночного планшета, после чего добавляли фуллеренол до конечных
80 концентраций 200, 100, 50, 25, 12,5, 5, 2,5, 0,5 и 0,25 мкг/мл. Контролем
81 служили лунки без добавления наночастиц. Клетки инкубировали в
82 присутствии фуллеренола в течение 24, 48 и 72 часов во влажной атмосфере
83 CO₂-инкубатора (5% CO₂, 37 °С).

84 По окончанию инкубации клетки окрашивали антителами к
85 поверхностному маркеру НК-клеток CD 56-AF700 (Biotechne, США), и к
86 поверхностному маркеру Т-клеток CD 3-PerCP (Miltenyi Biotech, Германия).
87 Жизнеспособность клеток оценивали, применяя краситель Zombie Aqua (ZA)
88 (Biolegend, США). Результаты представляли в процентах живых ZA- клеток в
89 целевой субпопуляции CD3⁺CD56⁺. Дополнительно оценивали абсолютное
90 количество живых клеток в целевой популяции. Дизайн нашего исследования
91 не позволяет разделить процессы адгезии и интернализации наночастиц,
92 поэтому мы используем термин «адгезия/интернализация». Адгезию/интернализацию
93 наночастиц фуллеренола оценивали по интенсивности аутофлуоресценции клеток в канале PC7 (λ_{ex} = 488 нм;
94 полосовой фильтр: 720–840 нм). Результаты выражали в проценте PC7⁺
95 клеток в целевой популяции НК-клеток. Жизнеспособность НК-клеток, а
96 также адгезию/интернализацию ими наночастиц фуллеренола оценивали на
97 проточном цитометре CytoFlex S (Beckman Coulter, США).
98

99 **Ограничения используемых методов.** Оценка процента
100 высокогранулярных лимфоцитов методом проточной цитометрии показала
101 противоречивые результаты, которые нельзя корректно интерпретировать без
102 оценки экспрессии маркера дегрануляции CD107a.

103 **Статистическую обработку** данных проводили с использованием
104 GraphPad Prism 8.0.1. Для статистического анализа использовали
105 непараметрический аналог ANOVA (критерий Фридмана) и two-way RM
106 ANOVA.

107 3 Результаты и обсуждение

108 *Эффекты фуллеренола C₆₀(OH)₂₂₋₂₄ в концентрациях 0,25 - 200 мкг/мл* 109 *на жизнеспособность НК-клеток*

110 При изучении влияния наночастиц фуллеренола на жизнеспособность
111 НК-клеток, не выявлено статистически значимого уменьшения как процента
112 живых НК-клеток в 24-, 48-, 72- часовых культурах с фуллеренолом, так и их
113 абсолютного количества (Таблица 1).

114 В то же время, мы зафиксировали снижение количества жизнеспособных
115 НК-клеток в динамике наблюдения – если после 24 ч инкубации число клеток
116 составляло примерно 50 тыс./лунка, то на 72 ч инкубации число клеток
117 снижалось до 20 тыс./лунка, при этом присутствие наночастиц фуллеренола
118 не влияло на этот процесс.

119 Таким образом, наночастицы фуллеренола в исследованных нами
120 концентрациях не оказывает цитотоксического эффекта на субпопуляцию НК-
121 клеток.

123 **Адгезия/интернализация наночастиц фуллеренола C₆₀(OH)₂₂₋₂₄ НК- 124 клетками периферической крови человека**

125 Известно, что клетки способны фагоцитировать и интернализировать нано-
126 и микрочастицы небиологического происхождения. Ранее было показано, что
127 наночастицы способны интернализироваться и иммунными клетками, не

128 относящимися к фагоцитам [6]. В то же время, лимфоциты практически не
129 адгезировали/интернализировали наночастицы оксида графена в наших
130 предыдущих исследованиях [2].

131 Адгезию/интернализацию наночастиц фуллеренола НК-клетками оценивали
132 на проточном цитометре по флуоресценции клеток, поглотивших фуллеренол,
133 в канале для тандемного красителя PC7 (PE-Cy7).

134 Установлено, что низкие концентрации наночастиц фуллеренола
135 практически не интернализуются НК-клетками - так, уровень PC7⁺-клеток не
136 превышает 0,5% при сокультивированиями с фуллеренолом в концентрациях
137 0,25; 0,5; 2,5; 5; 12,5; 25 мкг/мл на всех сроках наблюдения. Незначительное,
138 повышение процента до 1,5 % мы зафиксировали при использовании
139 концентрации 50 мкг/мл на 48 и 72 ч инкубации (Рисунок 3).

140 Однако, мы показали, что НК-клетки адгезируют/интернализуют наночастицы
141 фуллеренола при добавлении его в больших концентрациях (100 и 200 мкг/мл),
142 причём процент PC7⁺-клеток возрастает с увеличением продолжительности
143 культивирования и увеличением концентрации наночастиц (Рисунок 1).

144 В целом, наночастицы, в том числе фуллеренолы могут легко проникать
145 в живые клетки посредством фагоцитоза, макропиноцитоза, эндоцитоза,
146 опосредованного кавеолами, или эндоцитоза, опосредованного клатрином [8].
147 Физико-химические свойства наночастиц (размер, форма, поверхностный
148 заряд и химия поверхности) влияют на эффективность их поглощения
149 клетками, помимо этого, агрегация наночастиц может меняться в зависимости
150 от состава среды и функциональных покрытий.

151 В 2020 году впервые представлены результаты исследования, ясно
152 показывающие интернализацию фуллеренола C₆₀(ОН)₃₆ в клетки и их
153 адсорбцию на плазматической мембране. Авторы показали, что C₆₀(ОН)₃₆
154 проникал в РВМС в количестве, пропорциональном его использованной
155 концентрации и времени инкубации клеток. Это исследование также показало,
156 что при более длительном времени инкубации внутриклеточное накопление
157 фуллеренола преобладало над его адсорбцией на внешней гидрофильной
158 поверхности клеточной мембраны [8]. Известно также, что фуллеренол
159 способен адсорбироваться на поверхности мембраны, особенно вблизи
160 интегральных мембранных белков, таких как трансмембранные ионные
161 насосы: АТФазы К/Na, Mg и Ca, необратимо ингибируя активность этих
162 ферментов [5].

163 4 Выводы

164 Установлено, что при возрастании концентрации фуллеренола во всех
165 трёх сериях эксперимента (24, 48 и 72 ч) наблюдается усиление поглощения
166 наночастиц фуллеренола клетками, при сохранении их жизнеспособности.

167 Показано, что в присутствии наночастиц фуллеренола в концентрации
168 200 мкг/мл процент клеток, которые его интернализировали, достигал 50%,
169 однако низкие концентрации фуллеренола (12,5, 5, 2,5, 0,5 и 0,25 мкг/м)
170 поглощались не более, чем 0,3% нейтрофилов на 24 ч, 1% на 48 ч и не более,
171 чем 10% на 72 ч наблюдения.

172 Таким образом, впервые установлено, что НК-клетки
173 адгезируют/интернализуют фуллеренол в больших концентрациях (100 и 200
174 мкг/мл), причём процент клеток, интернализовавших фуллеренол, возрастает
175 с увеличением продолжительности культивирования и концентрации
176 наночастиц.

177

178 **Исследование проводили при финансовой поддержке РФФИ, проект 24-15-**
179 **00432 ««Комплексное исследование иммуносовместимости фуллеренола**
180 **C₆₀(OH)₂₂₋₂₄»**

181 **Additional research with financial support from the Russian Science**
182 **Foundation, project 24-15-00432 “Comprehensive study of the**
183 **immunocompatibility of fullereneol C₆₀(OH)₂₂₋₂₄”**

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Процент живых НК-клеток, и их абсолютное количество в культурах с фуллеренолом (n=4, Me Q1-Q3).

Table 1. Percentage of living NK cells and their absolute number in cultures with fullereneol (n=4, Me Q1-Q3).

Концентрация фуллеренола (мкг/мл)/ Fullereneol concentration (µg/mL)	Жизнеспособность # Viability #	Абсолютное кол-во живых клеток в лунке *10³ Absolute number of living cells per well *10³
24 часа / 24 hours		
Контроль/Control	99,14 (99,11 – 99,52)	27,72 (11,46 – 46,79)
0,25	99,38 (99,27 – 99,46)	26,87 (11,84 – 39,80)
0,5	99,08 (98,33 – 99,50)	22,79 (11,28 – 61,58)
2,5	99,47 (99,14 – 99,55)	30,68 (12,14 – 51,49)
5	99,34 (98,92 – 99,61)	29,75 (12,16 – 53,28)
12,5	99,49 (99,27 – 99,62)	30,55 (11,36 – 52,40)
25	99,44 (98,90 – 99,69)	33,48 (12,56 – 55,28)
50	99,20 (98,93 – 99,61)	31,89 (12,32 – 55,43)
100	99,43 (99,14 – 99,80)	29,35 (11,99 – 53,41)
200	98,71 (96,28 – 99,58)	25,63 (12,25 – 35,18)
48 часов / 48 hours		
Контроль/Control	98,87 (98,53 – 99,09)	21,78 (8,92 – 43,65)
0,25	98,35 (97,44 – 99,11)	20,37 (10,01 – 32,24)
0,5	98,85 (97,78 – 99,37)	17,49 (7,14 – 37,29)
2,5	98,86 (98,36 – 99,27)	19,24 (8,08 – 31,23)
5	98,83 (98,02 – 99,41)	19,90 (8,48 – 31,23)

12,5	98,89 (98,64 – 99,38)	19,02 (7,32 – 35,13)
25	99,32 (98,55 – 99,38)	17,12 (7,97 – 31,07)
50	99,27 (98,90 – 99,44)	20,73 (9,32 – 38,39)
100	99,13 (98,63 – 99,51)	24,47 (10,37 – 31,07)
200	97,95 (92,00 – 99,40)	18,81 (7,39 – 18,07)
72 часа / 72 hours		
Контроль/Control	98,43 (96,80 – 99,09)	13,78 (6,18 – 21,07)
0,25	98,56 (96,32 – 98,98)	15,73 (7,03 – 18,91)
0,5	98,56 (97,04 – 99,27)	15,20 (7,11 – 22,33)
2,5	98,47 (96,94 – 98,99)	14,94 (7,62 – 23,22)
5	98,13 (96,81 – 98,81)	17,15 (7,03 – 24,17)
12,5	98,64 (97,56 – 98,78)	18,28 (6,54 – 25,44)
25	98,96 (97,28 – 99,34)	15,25 (6,77 – 22,11)
50	98,73 (98,56 – 99,21)	18,77 (8,42 – 23,63)
100	98,27 (97,12 – 99,29)	15,94 (7,94 – 22,69)
200	98,36 (97,34 – 98,86)	8,47 (4,49 – 20,53)

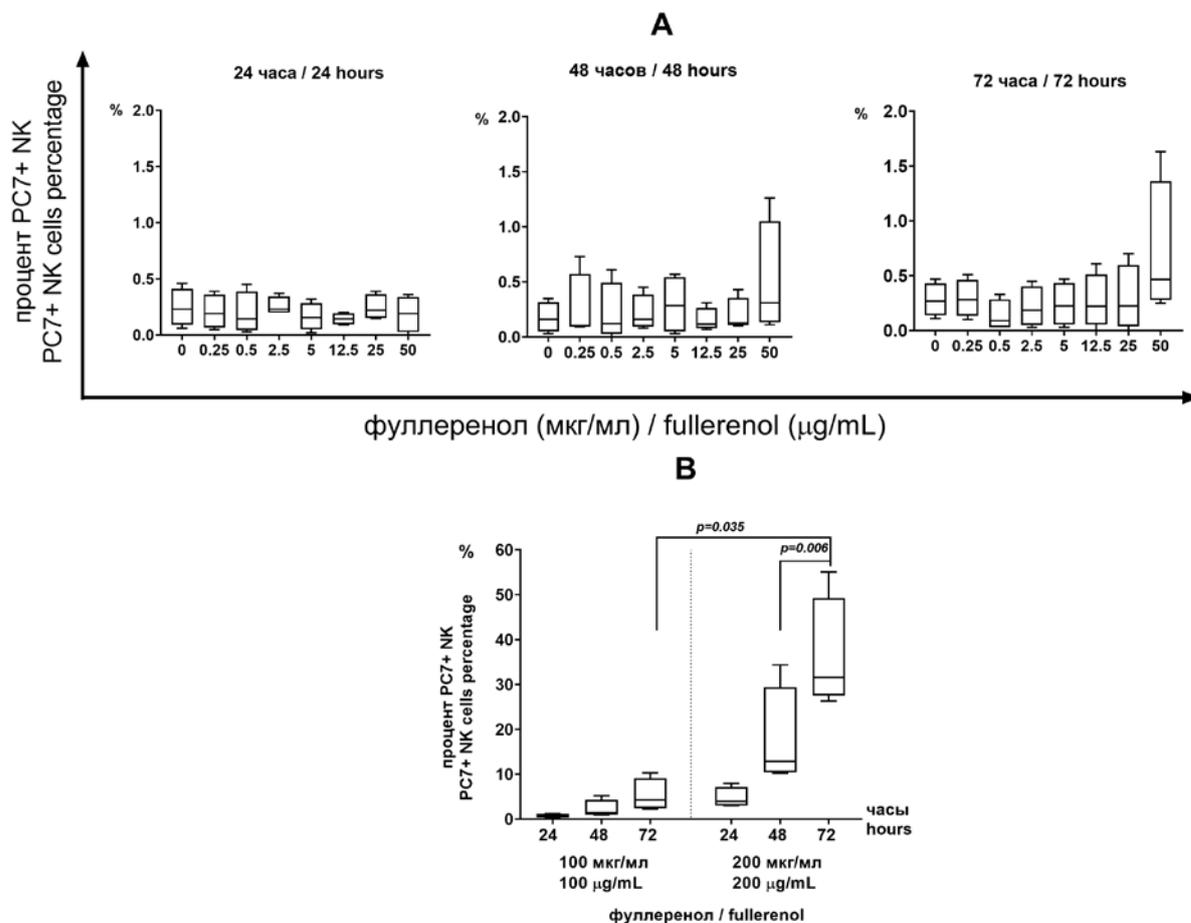
Примечания: # - процент Zombie Aqua⁻ клеток в гейте CD3⁻CD56⁺ клеток; Контроль – проба без фуллеренола.

Notes: # - percentage of Zombie Aqua⁻ cells in the gate of CD3⁻CD56⁺ cells; Control - sample without fullereneol.

РИСУНКИ

Рисунок 1. А) процент PC7⁺ (адгезировавших/интернализовавших фуллеренол) НК-клеток в культурах с концентрациями фуллеренола от 0.25 до 50 мкг/мл; В) увеличение процента PC7⁺ НК-клеток в культурах с 100 и 200 мкг/мл фуллеренола в процессе культивирования (n=4).

Figure 1. A) percentage of PC7⁺ (adherent/internalized fullereneol) NK cells in cultures with fullereneol concentrations from 0.25 to 50 µg/mL; B) increase in percentage of PC7⁺ NK cells in cultures with 100 and 200 µg/ml fullereneol during cultivation (n=4).



Примечание: по оси x - концентрации фуллеренола, по оси y - процент PC7⁺ клеток в гейте CD3-CD56⁺-клеток; Показаны медианы, первый и третий квартили, минимальные и максимальные значения.

Note: x-axis – fullereneol concentrations, y-axis – percentage of PC7⁺ cells in the CD3-CD56⁺ cell gate; Medians, first and third quartiles, minimum and maximum values are shown.

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Заморина Светлана Анатольевна, д.б.н., в.н.с. лаборатории клеточной иммунологии и нанобиотехнологии;

адрес: «ИЭГМ УрО РАН», Пермь, 614081, ул. Голева, 13;

факс: 8(342)280-92-11;

телефон: 8(342)280-77-94;

e-mail: mantissa7@mail.ru

Zamorina Svetlana Anatolyevna, PhD, MD (Biology), leading researcher, laboratory of Cellular Immunology and Nanobiotechnology;

fax: 8(342)280-92-11;

telephone: 8(342)280-77-94;

e-mail: mantissa7@mail.ru

Блок 2. Информация об авторах

Тимганова Валерия Павловна, к.б.н., н.с. лаборатории клеточной иммунологии и нанобиотехнологии;

Timganova Valeria Pavlovna, PhD (Biology), researcher, laboratory of Cellular Immunology and Nanobiotechnology;

Бочкова Мария Станиславовна, к.б.н., н.с. лаборатории клеточной иммунологии и нанобиотехнологии;

Bochkova Mariya Stanislavovna, PhD (Biology), researcher, laboratory of Cellular Immunology and Nanobiotechnology;

Усанина Дарья Игоревна, м.н.с. лаборатории молекулярной иммунологии;

Usanina Daria Igorevna, junior researcher, laboratory of Molecular Immunology;

Долгих Мария Денисовна, инженер лаборатории клеточной иммунологии и нанобиотехнологии;

Dolgikh Maria Denisovna, technician, laboratory of Cellular Immunology and Nanobiotechnology;

Лазарев Сергей Станиславович, инженер лаборатории клеточной иммунологии и нанобиотехнологии;

Lazarev Sergey Stanislavovich, technician, laboratory of Cellular Immunology and Nanobiotechnology;

Раев Михаил Борисович, д.б.н., заведующий лаборатории клеточной иммунологии и нанобиотехнологии;

Rayev Mikhail Borisovich, PhD, MD (Biology), head of laboratory of Cellular Immunology and Nanobiotechnology.

Блок 3. Метаданные статьи

ОЦЕНКА ЦИТОТОКСИЧНОСТИ ФУЛЛЕРЕНОЛА C₆₀(OH)₂₂₋₂₄ В
ОТНОШЕНИИ НК-КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА *IN*
VITRO

EVALUATION OF CYTOTOXICITY OF FULLERENOL C₆₀(OH)₂₂₋₂₄
TOWARDS HUMAN PERIPHERAL BLOOD NK CELLS *IN VITRO*

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

ФУЛЛЕРЕНОЛ C₆₀(OH)₂₂₋₂₄ И НК-КЛЕТКИ
FULLERENOL C₆₀(OH)₂₂₋₂₄ AND NK CELLS

Ключевые слова: фуллеренол C₆₀(OH)₂₂₋₂₄, НК-клетки, жизнеспособность,
поглощение наночастиц, биосовместимость, культивирование *in vitro*.

Keywords: fullereneol C₆₀(OH)₂₂₋₂₄, NK cells, viability, nanoparticle internalization,
biocompatibility, *in vitro* cultivation.

Иммунологические чтения в Челябинске.

Количество страниц текста – 5,

Количество таблиц – 1,

Количество рисунков – 1.

23.03.2025

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или ее doi.
1	Масалова О.В., Леснова Е.И., Андреев С.М., Шершакова Н.Н., Козлов В.В., Пермякова К.Ю., Демидова Н.А., Валуев-Эллистон В.Т., Турецкий Е.А., Иванов А.В., Николаева Т.Н., Хаитов М.Р., Пронин А.В., Кушч А.А. Адьювантное действие диспергированного фуллерепа C ₆₀ на иммунный ответ на конструкции, содержащие аминокислоты и нуклеотидные последовательности неструктурного белка NS5B вируса гепатита С // Вопр Вирусол. — 2023. — Т. 67, № 6. — С. 516-526.	Masalova O.V., Lesnova E.I., Andreev S.M., Shershakova N.N., Kozlov V.V., Permyakova K.Y., Demidova N.A., Valuev-Elliston V.T., Turetskiy E.A., Ivanov A.V., Nikolaeva T.N., Khaitov M.R., Pronin A.V., Kushch A.A. Adjuvant effect of dispersed fullerene C ₆₀ on the immune response to constructs harboring amino acid and nucleotide sequences of hepatitis C virus nonstructural NS5B protein. Vopr Virusol., 2023, Vol. 67, no. 6, pp. 516-526.	doi: 10.36233/0507-4088-149.
2	Ужвиюк С.В., Храпцов П.В., Раев М.Б., Тимганова В.П., Бочкова М.С., Хазиахматова О.Г.,	Uzhviyuk S.V., Khramtsov P.V., Raev M.B., Timganova V.P., Bochkova M.S., Khaziakhmatova	doi.org/10.1007/s10517-023-05830-1

	Малащенко В.В., Литвинова Л.С., Заморина С.А. Взаимодействие наночастиц оксида графена с моноклеарными клетками человека в системе Cell-IQ // Клеточные технологии в биологии и медицине. — 2023. — № 1. — С. 62-68.	O.G., Malashchenko V.V., Litvinova L.S., Zamorina S.A. Interaction of Graphene Oxide Nanoparticles with Human Mononuclear Cells in the Cell-IQ System. Bull Exp Biol Med, 2023, Vol. 175, pp. 172–178.	
3	Alhallak K., Sun J., Muz B., Jeske A., O'Neal J., Ritchey J.K., Achilefu S., DiPersio J.F., Azab A.K. Liposomal phytohemagglutinin: In vivo T-cell activator as a novel pan-cancer immunotherapy. J Cell Mol Med., 2022, Vol. 26, no. 3, pp. 940-944.		doi: 10.1111/jcmm.16885.
4	Bouchlaka M.N., Ludwig K.D., Gordon J.W., Kutz M.P., Bednarz B.P., Fain S.B., Capitini C.M. (19)F-MRI for monitoring human NK cells in vivo. Oncoimmunology, 2016, Vol. 5, no 5, e1143996.		doi: 10.1080/2162402X.2016.1143996.
5	Grebowski J., Krokosz A., Puchala M. Membrane fluidity and activity of membrane ATPases in human		doi:10.1016/j.bbamem.2012.09.008

	erythrocytes under the influence of polyhydroxylated fullerene. <i>Biochim. Biophys. Acta</i> , 2013, Vol. 1828, pp. 241–248.		
6	Huq R., Samuel E.L., Sikkema W.K., Nilewski L.G., Lee T., Tanner M.R., Khan F.S., Porter P.C., Tajhya R.B., Patel R.S., Inoue T., Pautler R.G., Corry D.B., Tour J.M., Beeton C. Preferential uptake of antioxidant carbon nanoparticles by T lymphocytes for immunomodulation. <i>Sci Rep.</i> , 2016, Vol. 6, 33808.		doi: 10.1038/srep33808
7	Imširović V., Wensveen F.M., Polić B., Jelenčić V. Maintaining the Balance: Regulation of NK Cell Activity. <i>Cells</i> , 2024, Vol. 13, no. 17, 1464.		doi:10.3390/cells13171464.
8	Lichota A., Piwoński I., Michlewska S., Krokosz, A. A Multiparametric Study of Internalization of Fullerol C ₆₀ (OH) ₃₆ Nanoparticles into Peripheral Blood Mononuclear		doi: 10.1016/j.canlet.2014.03.013.

	Cells: Cytotoxicity in Oxidative Stress Induced by Ionizing Radiation. <i>Int. J. Mol. Sci.</i> 2020, Vol. 21, 2281.		
9	Liu B., Cao W., Cheng J., Fan S., Pan S., Wang L., Niu J., Pan Y., Liu Y., Sun X., Ma L., Song J., Ni J., Cui D. Human natural killer cells for targeting delivery of gold nanostars and bimodal imaging directed photothermal/photodynamic therapy and immunotherapy. <i>Cancer Biol Med.</i> , 2019, Volo. 16, no. 4, pp. 756-770.		doi: 10.20892/j.issn.2095-3941.2019.0112.
10	Liu J., Feng X., Chen Z., Yang X., Shen Z., Guo M., Deng F., Liu Y., Zhang H., Chen C. The adjuvant effect of C ₆₀ (OH) ₂₂ nanoparticles promoting both humoral and cellular immune responses to HCV recombinant proteins. <i>Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.</i> , 2019, Vol. 97, pp. 753-759.		doi: 10.1016/j.msec.2018.12.088.
11	Liu M., Liang S., Zhang C. NK Cells in Autoimmune Diseases:		doi:10.3389/fimmu.2021.624687

	Protective or Pathogenic? Front Immunol., 2021, Vol. 12, 624687.		
12	Loftus C., Saeed M., Davis D.M., Dunlop I.E. Activation of Human Natural Killer Cells by Graphene Oxide-Templated Antibody Nanoclusters. Nano Lett., 2018, Vol. 18, no. 5, pp. 3282-3289.		doi: 10.1021/acs.nanolett.8b01089;
13	Seke M., Zivkovic M., Stankovic A. Versatile applications of fullereneol nanoparticles. Int J Pharm., 2024, Vol. 660, 124313.		doi: 10.1016/j.ijpharm.2024.124313.
14	Shamalov K., Meir R., Motiei M., Popovtzer R., Cohen C.J. Noninvasive Tracking of Natural Killer Cells Using Gold Nanoparticles. ACS Omega, 2021, Vol. 6, no. 43, pp. 28507-28514.		doi: 10.1021/acsomega.1c02143
15	USP 30 NF 25 “85” Bacterial endotoxin test, 2007		
16	Zhu J., Ji Z., Wang J., Sun R., Zhang X., Gao Y., Sun H., Liu Y., Wang Z., Li A., Ma J., Wang T., Jia G., Gu Y. Tumor-inhibitory effect and		doi: 10.1002/sml.200701219.

	immunomodulatory activity of fullerol C ₆₀ (OH) _x . Small, 2008, Vol. 4, no. 8, pp. 1168-1175.		
--	--	--	--