 10.46235/1028-7221-17319-FAO

ВЛИЯНИЕ ФУЛЛЕРЕНОЛА $C_{60}(OH)_{22–24}$ НА ЛЮМИНОЛ- И ЛЮЦИГЕНИН-ЗАВИСИМУЮ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЮ ЛЕЙКОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

Бочкова М. С. [1, 2],
Тимганова В. П.[1],
Девятова К. О. [2],
Заморина С. А. [1, 2],
Долгих М. Д. [1, 2],
Раев М. Б. [1]

[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»

 ISSN 1028-7221 (Print)
ISSN 2782-7291 (Online)

 10.46235/1028-7221-17319-FAO

EFFECTS OF FULLERENOL $C_{60}(OH)_{22-24}$ ON LUMINOL- AND LUCIGENIN-DEPENDENT CHEMILUMINESCENCE OF HUMAN LEUKOCYTES

Bochkova M. S. [a, b],
Timganova V. P. [a],
Devyatova K. O. [b],
Zamorina S. A. [a, b],
Dolgikh M. D. [a, b],
Rayev M. B. [a]

[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
[b] Perm State University

 ISSN 1028-7221 (Print)
ISSN 2782-7291 (Online)

Резюме

Фуллеренол $C_{60}(OH)_{22-24}$ — перспективное производное фуллерена с высокой водорастворимостью, биосовместимостью и антиоксидантными свойствами. Несмотря на изученность его нейтрализующих активные формы кислорода эффектов *in vitro* и *in vivo*, влияние на окислительный ответ фагоцитов иммунной системы остается недостаточно ясным. Целью работы послужила оценка продукции активных форм кислорода лейкоцитами периферической крови человека под воздействием фуллеренола $C_{60}(OH)_{22-24}$ методом люминол- и люцигенин-зависимой хемилюминесценции. Фуллеренол $C_{60}(OH)_{22-24}$ характеризуется монодисперсными агрегатами ~130 нм с дзета-потенциалом -26±6,31 (M±SD) мВ. Лейкоциты периферической крови человека (10^6/мл) изолировали седиментацией и стимулировали опсонизированным зимозаном (1,5 мкг/мл). Показано, что фуллеренол $C_{60}(OH)_{22-24}$ не влиял на спонтанную люминол-зависимую хемилюминесценцию, измеренную через 30 и 60 минут после начала реакции. Однако через 90 минут наблюдалось снижение продукции активных форм кислорода в культурах лейкоцитов с высокими (50–200 мкг/мл) концентрациями наночастиц фуллеренола. В стимулированной опсонизированным зимозаном клеточной системе с люминолом эффект угнетения хемилюминесценции проявлялся уже с 30 мин в широком диапазоне концентраций наночастиц (5–200 мкг/мл) и сохранялся до 90 мин (25-200 мкг/мл). В краткосрочных культурах лейкоцитов с люцигенином показатели спонтанной продукции активных форм кислорода клетками не менялись. Напротив, в стимулированном варианте теста наблюдалось подавление окислительной активности клеток в культурах с наночастицами, начиная с концентрации 12,5 мкг и до 200 мкг/мл через 30 и 60 минут после начала реакции. Этот ингибирующий эффект фуллеренола сохранялся и через 90 минут после начала культивирования, но начиная с концентрации наночастиц 50 мкг/мл. В бесклеточной системе с H_2O_2 (0,039–0,625%) фуллеренол не подавлял люминол-зависимую и люцигенин-зависимую хемилюминесценцию, но в диапазоне концентраций 5-200 мкг/мл с люминолом вызывал увеличение сигнала. Этот эффект указывает на пероксидазо-подобную активность фуллеренола. Полученные нами результаты свидетельствуют, что фуллеренол $C_{60}(OH)_{22-24}$ в широком диапазоне концентраций (5–200 мкг/мл) существенно подавляет продукцию АФК стимулированными лейкоцитами человека, детектируемую при помощи как люминол-зависимой, так и люцигенин-зависимой хемилюминесценции. Результаты согласуются с известными антиоксидантными свойствами фуллеренолов и предполагают их супероксиддисмутазо- и/или каталазоподобное действие, возможно, за счет водородных связей гидроксильных групп и π-электронной системы.

Ключевые слова: фуллеренол $C_{60}(OH)_{22-24}$, лейкоциты, активные формы кислорода, люминол, люцигенин, хемилюминесценция.

Abstract

Fullerenol $C_{60}(OH)_{22-24}$ is a promising fullerene derivative characterized by high water solubility, biocompatibility, and antioxidant properties. Despite extensive studies of its reactive oxygen species-scavenging effects *in vitro* and *in vivo*, its impact on the oxidative response of immune phagocytes remains unclear. This study aimed to assess reactive oxygen species production by human peripheral blood leukocytes exposed to fullerenol $C_{60}(OH)_{22-24}$ using luminol- and lucigenin-dependent chemiluminescence. Fullerenol $C_{60}(OH)_{22-24}$ (MST-WS60-Bio, 99.99% purity) formed monodisperse aggregates (~130 nm) with a zeta potential of -26 ± 6.31 mV (mean ± SD). Leukocytes (10^6/mL), isolated from healthy female donors (n=4, aged 18–25 years) by sedimentation, were stimulated with opsonized zymosan (1.5 μg/mL). Fullerenol $C_{60}(OH)_{22-24}$ did not affect spontaneous luminol-dependent chemiluminescence at 30 and 60 min but nanoparticle's high concentrations (50–200 μg/mL) reduced it after 90 min. In opsonized zymosan-stimulated luminol assays, inhibition occurred from 30 min across 5–200 μg/mL and persisted to 90 min (25–200 μg/mL). Spontaneous lucigenin-dependent chemiluminescence remained unchanged, but opsonized zymosan-stimulated signals were suppressed from 12.5 to 200 μg/mL at 30–60 min, extending to 90 min at 50–200 μg/mL. In cell-free H_2O_2 systems (0.039–0.625%) fullerenol did not quench either signal but enhanced luminol-dependent chemiluminescence (5–200 μg/mL), indicating peroxidase-like activity. Fullerenol $C_{60}(OH)_{22-24}$ (5–200 μg/mL) significantly suppresses luminol- and lucigenin-dependent chemiluminescence in stimulated human leukocytes, consistent with its antioxidant properties and suggesting superoxide dismutase- and/or catalase-like activity via hydroxyl hydrogen bonding and π-electron interactions.

Keywords: fullerenol $C_{60}(OH)_{22-24}$, leukocytes, reactive oxygen species, luminol, lucigenin, chemiluminescence.

1 Введение Фуллеренолы $C_{60}(OH)_n$ представляют собой полигидроксилированные производные фуллерена C_{60} — одного из наиболее перспективных углеродных наноматериалов. Введение гидроксильных групп обеспечивает отличную растворимость в воде и множество ценных качеств фуллеренолов: высокую стабильность их физико-химических свойств, биосовместимость, низкую токсичность, а также выраженную антиоксидантную, противовоспалительную, противоопухолевую, противовирусную и антибактериальную активность [4, 8]. Эти характеристики делают фуллеренолы многофункциональными агентами для биомедицины (фотодинамическая терапия, таргетная доставка лекарств, визуализация). Взаимодействие наночастиц с клетками способно нарушать их метаболизм, провоцировать окислительный стресс и апоптоз [12]. Ключевой защитный механизм фагоцитов (нейтрофилов, моноцитов) — генерация активных форм кислорода (АФК) в процессе «окислительного взрыва». Для измерения образования АФК разработано большое количество методов, основанных на обнаружении с помощью колориметрии, флуоресценции или хемилюминесценции, в зависимости от используемого зонда. Люминол- и люцигенин-зависимая хемилюминесценция (ХЛ) — стандартный метод детекции продукции АФК клетками. Люминол — универсальный датчик внутри- и внеклеточных вторичных АФК (HOCl, • OH, H_2O_2, • O_2^-). Люцигенин — внеклеточный датчик преимущественно супероксид-аниона (• O_2^-), первого АФК «окислительного взрыва» нейтрофилов [2, 9].

Известно, что фуллеренолы демонстрируют антиоксидантную активность *in vitro* и *in vivo*, нейтрализуя АФК и предотвращая оксидативный стресс [3, 5]. Однако, их влияние на клетки иммунной системы и окислительный ответ фагоцитов изучено недостаточно, несмотря на важную роль АФК в антимикробной защите.

Таким образом, целью нашего исследования явилась оценка эффекта фуллеренола $C_{60}(OH)_{22\text{-}24}$ на продукцию АФК лейкоцитами периферической крови человека методом люминол-/люцигенин-зависимой ХЛ.

2 Материалы и методы

В исследовании применялся фуллеренол MST-WS60-Bio ($C_{60}(OH)_{24}$, чистота 99,99%), произведённый компанией «Modern Synthesis Technology» (Санкт-Петербург) и охарактеризованный ранее [12]. Работа выполнена в соответствии с Хельсинкской декларацией ВМА (2000) и Конвенцией Совета Европы о правах человека и биомедицине (1997). Этическое одобрение этического комитета ИЭГМ УрО РАН (IRB00010009) получено 22.05.2024. Информированное согласие получено от всех участников. Использовали периферическую кровь здоровых доноров (n=4, женщины 18–25 лет), стабилизированную гепарином лития.

Лейкоциты изолировали методом спонтанной седиментации в течение 40 минут при 37 °C, трижды отмывали от сыворотки холодным раствором

Хенкса (Биолот, Россия). Для реакции хемилюминесценции (ХЛ) осуществляли подсчёт нейтрофилов и доводили их концентрацию до $1*10^6$/мл.

Продукцию АФК лейкоцитами определяли при помощи 96-луночного микроварианта теста люминол- (ЛюмХЛ) и люцигенин-усиленной хемилюминесценции (ЛюцХЛ). Люминол использовали в конечной концентрации 20 мкМ, люцигенин (синтезирован и любезно предоставлен д-ром Денисом Ларкиным, Москва, Россия) - в конечной концентрации 5 мкМ. Стимуляцию окислительной активности нейтрофилов осуществляли опсонизированным зимозаном (ОЗ) (Sigma-Aldrich, США), добавляя его к клеткам до конечной концентрации 1,5 мкг/мл (стимулированная ХЛ). Также оценивали ЛюмХЛ и ЛюцХЛ в нестимулированном варианте теста, без добавления ОЗ к лейкоцитам (спонтанная ХЛ).

Для оценки уровня ХЛ в лунки 96-луночного стерильного планшета (Nunc, Дания) для люминометра последовательно вносили раствор Хенкса, наночастицы фуллеренола в различных концентрациях (200; 100; 50; 25; 12,5; 5; 2,5; 0,5; 0,25 мкг/мл и 0 мкг/мл - контроль), 10% эмбриональной телячьей сыворотки, люминол/люцигенин, ОЗ и клеточную суспензию (10^6 кл/мл). Интенсивность люминесценции измеряли в течение 90 минут с интервалом в 3 минуты на гибридном ридере «Synergy H1» (Bio Tek Instruments, США) при 37 °С. Для оценки динамики люминесценции рассчитывали интегральный показатель — светосумму (S), отражающую общий синтез АФК за 30, 60 и 90 мин эксперимента и равную сумме интенсивностей хемилюминесценции по всем измерениям в каждой пробе.

Кроме того, оценивали степень гашения ЛюмХЛ и ЛюцХЛ частицами фуллеренола в бесклеточной системе. Эксперимент проводили аналогично описанному ранее без добавления ОЗ и лейкоцитов. Хемилюминесценцию индуцировали перекисью водорода в концентрациях: 0,039; 0,078; 0,156; 0,312; 0,625%.

Статистическую обработку данных проводили в GraphPad Prism 8 с использованием two-way ANOVA и пост-хок теста Данна для множественных сравнений. Данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения (M ± SD). Различия считали статистически значимыми при уровне значимости $p<0,05$.

3 Результаты

Известно, что ЛюмХЛ отображает суммарный синтез всех АФК клетки, тогда как при помощи люцигенина (ЛюцХМ) можно детектировать, главным образом, супероксид-радикал, поэтому в работе использовали два варианта теста [10]. Установлено, что на уровне спонтанной продукции АФК в реакции ЛюмХЛ присутствие фуллеренола не влияло на этот показатель на 30 и 60 мин наблюдения. Однако на 90 мин наблюдения установлено, что высокие концентрации наночастиц фуллеренола $C_{60}(OH)_{22-24}$ (50, 100 и 200 мкг/мл) достоверно снижали продукцию АФК (рис. 1А).

В то же время, на уровне стимулированного ОЗ варианта ЛюмХЛ, наночастицы фуллеренола в более широком диапазоне концентраций (5, 12,5,

25, 50, 100, 200 мкг/мл) оказывали достоверный супрессивный эффект на суммарный пул продуцируемых АФК, который фиксировался на 30 и 60 минутах наблюдения, и продолжался для концентрации 12,5, 25, 50, 100 и 200 мкг/мл до 90 минут наблюдения (рис. 1В). Увеличение концентрации $C_{60}(OH)_{22-24}$ в пробах приводило к ещё большему снижению показателей. Таким образом, показано, что наночастицы фуллеренола в разных концентрациях способны подавлять продукцию общего пула АФК нестимулированными и стимулированными ОЗ клетками, что выражается в зависимом от концентрации наноматериала снижении ЛюмХЛ.

Рисунок 1. Влияние фуллеренола $C_{60}(OH)_{22-24}$ в различных концентрациях на спонтанный (А) и стимулированный ОЗ (В) варианты ЛюмХЛ через 30, 60 и 90 минут, (n = 4; M±SD).

Примечание. По оси X — концентрации фуллеренола (мкг/мл), по оси Y — значения светосумм (относительные световые единицы). Точки с черной заливкой указывают на значимые различия (p<0,05) по two-way ANOVA с пост-хок тестом Данна по сравнению с соответствующей пробой без фуллеренола (0 мкг/мл).

Figure 1. Effect of fullerenol C60(OH)22–24 at various concentrations on spontaneous (A) and OZ-stimulated (B) variants of luminol chemiluminescence after 30, 60, and 90 minutes (n = 4; M ± SD).

Note. The X-axis represents fullerenol concentration (µg/mL); the Y-axis represents total light emission values (relative light units). Black-filled points indicate significant differences (p < 0.05) determined by two-way ANOVA with Dunn’s post-hoc test compared to the corresponding fullerenol-free sample (0 µg/mL).

Как уже было сказано, ЛюцХЛ преимущественно детектирует супероксид-радикал. Показано, что на уровне спонтанной продукции АФК в реакции ЛюцХЛ наночастицы фуллеренола не модулировали этот показатель на протяжении всего времени наблюдения (рис.2А).

Однако в стимулированном ОЗ варианте реакции ЛюцХЛ, обнаружено статистически значимое снижение уровня АФК в пробах с фуллеренолом в концентрациях 12,5, 25, 50, 100 и 200 мкг/мл, усиливающееся с ростом концентрации наночастиц. Этот эффект фиксировался на 30 минуте наблюдения, и продолжался для концентраций 50, 100 и 200 мкг/мл до 60 и 90 минут наблюдения, повторяя действие $C_{60}(OH)_{22-24}$ на ЛюмХЛ (рис. 2В). Таким образом, наночастицы фуллеренола в высоких концентрациях способны подавлять детекцию супероксид-аниона в стимулированном варианте теста ЛюцХЛ в динамике наблюдения до 90 минут.

Рисунок 2. Влияние фуллеренола $C_{60}(OH)_{22-24}$ в различных концентрациях на спонтанный (А) и стимулированный ОЗ (В) варианты ЛюцХЛ через 30, 60 и 90 минут, (n = 4; M±SD).

Примечание. По оси X — концентрации фуллеренола (мкг/мл), по оси Y — значения светосумм (относительные световые единицы). Точки с черной заливкой указывают на значимые различия ($p<0,05$) по two-way ANOVA с пост-хок тестом Данна по сравнению с соответствующей пробой без фуллеренола (0 мкг/мл).

Figure 2. Effect of fullerenol $C_{60}(OH)_{22–24}$ at various concentrations on spontaneous (A) and OZ-stimulated (B) variants of lucigenin chemiluminescence after 30, 60, and 90 minutes (n = 4; M ± SD).

Note. The X-axis represents fullerenol concentration (μg/mL); the Y-axis represents total light emission values (relative light units). Black-filled points indicate significant differences ($p < 0.05$) determined by two-way ANOVA with Dunn's post-hoc test compared to the corresponding fullerenol-free sample (0 μg/mL).

В бесклеточной системе при индукции H_2O_2 (0,039–0,625%) фуллеренол не подавлял ЛюмХЛ и ЛюцХЛ, но в диапазоне концентраций 5-200 мкг/мл с люминолом вызывал стимуляцию сигнала, тогда как с люцигенином эффекта не наблюдалось. Эта селективная стимуляция ЛюмХЛ при отсутствии эффекта на ЛюцХЛ указывает на преобладающую пероксидазную активность фуллеренола $C_{60}(OH)_{22-24}$ в бесклеточной системе (данные не представлены). Таким образом, наночастицы модулируют внеклеточные окислительные реакции избирательно, усиливая ХЛ без влияния на супероксид-зависимые процессы.

4 Обсуждение результатов

Учитывая антиоксидантную активность углеродных наноматериалов и их потенциал для защиты клеток от окислительного стресса, мы изучили влияние наночастиц фуллеренола $C_{60}(OH)_{22–24}$ на продукцию АФК лейкоцитами человека. В наших предыдущих исследованиях на аналогичной модели показано, что наночастицы оксида графена (ОГ), модифицированного полиэтиленгликолем (ОГ-ПЭГ), подавляли продукцию АФК при низких концентрациях 2,5–5 мкг/мл как в спонтанном, так и в стимулированном вариантах ЛюмХЛ, тогда как немодифицированный ОГ проявлял ингибирующий эффект только при стимуляции клеток. Важно, что в бесклеточной системе ни ОГ, ни ОГ-ПЭГ не оказывали эффекта тушения ХЛ [1].

В целом, углеродные наночастицы могут взаимодействовать непосредственно с АФК и люминолом/люцигенином, изменяя интенсивность ХЛ [13]. Кроме того, они способны оказывать влияние на продукцию АФК лейкоцитами, учитывая тот факт, что фагоциты (нейтрофилы, моноциты) способны к активному поглощению/ интернализации/адгезии наночастиц [6].

В отличие от графеновых наноматериалов, фуллеренол $C_{60}(OH)_{22-24}$ проявлял активность в широком диапазоне концентраций (5–200 мкг/мл), подавляя преимущественно стимулированный окислительный ответ лейкоцитов (ЛюмХЛ и ЛюцХЛ).

Известно, что фуллеренолы с 24–28 гидроксильными группами оптимальны по соотношению антиоксидантной активности и токсичности [7]. Их действие реализуется через супероксиддисмутазные/каталазоподобные механизмы: гидроксильные группы (•OH) улавливают супероксид ($•O_2^-$) водородными связями, превращая его в H_2O_2 и O_2, а π-электронная система фуллеренового ядра расщепляет H_2O_2 на воду и кислород. Такая двойная функциональность обеспечивает комплексное подавление окислительного взрыва нейтрофилов на уровне как первичных (O_2^--, ЛюцХЛ), так и вторичных (H_2O_2/HOCl, ЛюмХЛ) АФК [11].

В целом, в наших исследованиях наночастицы фуллеренола $C_{60}(OH)_{22–24}$ продемонстрировали выраженный антиоксидантный эффект в отношении окислительного ответа человеческих лейкоцитов *in vitro*, подавляя продукцию как общего пула АФК (ЛюмХЛ), так и супероксид-аниона (ЛюцХЛ) при стимуляции ОЗ. Однако для понимания точного механизма действия необходимы дополнительные исследования с использованием прямых методов детекции АФК (EPR-спектроскопия, окрашивание клеток флуоресцентными красителями), ингибиторного анализа, а также морфологических методов (конфокальная микроскопия, TEM) для оценки взаимодействия фуллеренола с плазматической мембраной и внутриклеточными компартментами фагоцитов.

Исследование проводили при финансовой поддержке РНФ, проект 24-15-00432 «Комплексное исследование иммуносовместимости фуллеренола C60(OH)22-24».

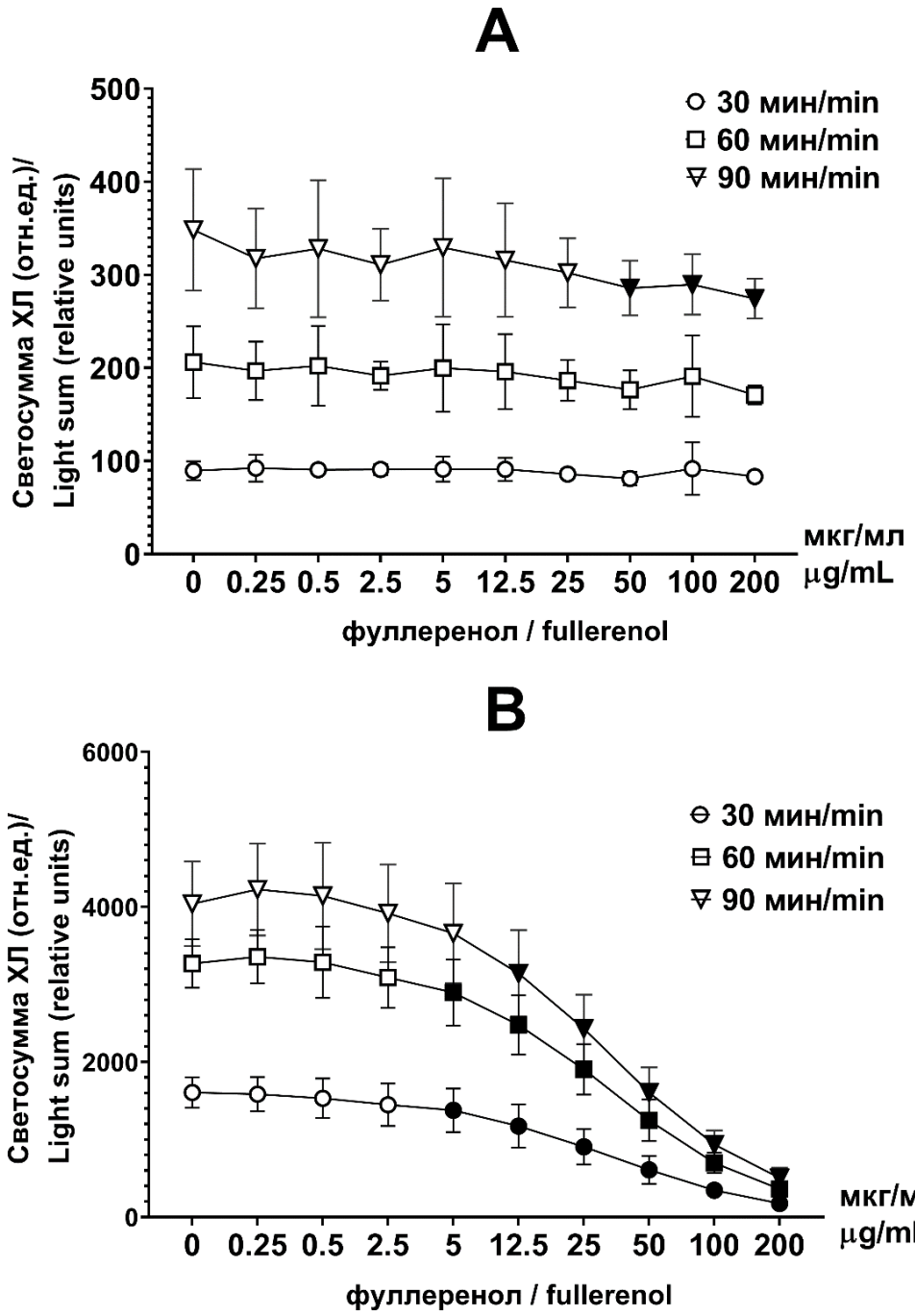
Additional research with financial support from the Russian Science Foundation, project 24-15-00432 “Comprehensive study of the immunocompatibility of fullerenol C60(OH)22-24”.

 10.46235/1028-7221-17319-FAO

РИСУНКИ

Рисунок 1. Влияние фуллеренола $C_{60}(OH)_{22-24}$ в различных концентрациях на спонтанный (А) и стимулированный ОЗ (В) варианты ЛюмХЛ через 30, 60 и 90 минут, (n = 4; M±SD).

Figure 1. Effect of fullerenol C60(OH)22–24 at various concentrations on spontaneous (A) and OZ-stimulated (B) variants of luminol chemiluminescence after 30, 60, and 90 minutes (n = 4; M ± SD).



Примечание. По оси X — концентрации фуллеренола (мкг/мл), по оси Y — значения светосумм (относительные световые единицы). Точки с черной

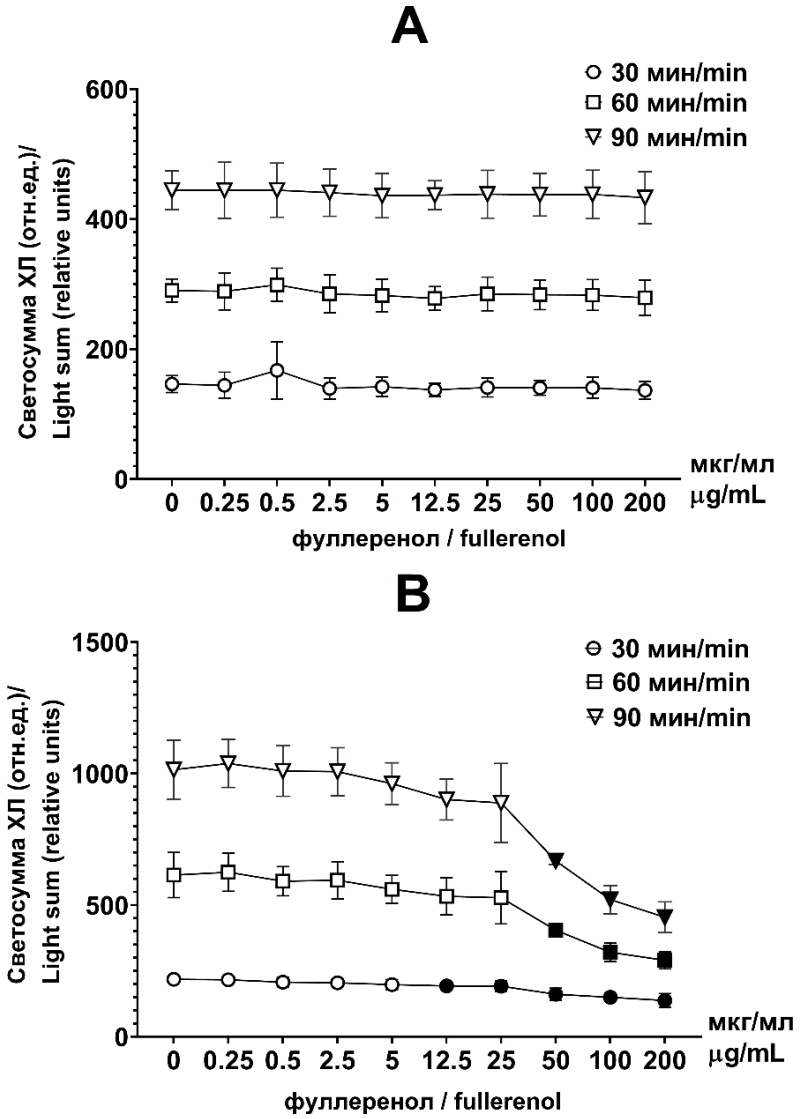
 ISSN 1028-7221 (Print)
ISSN 2782-7291 (Online)

заливкой указывают на значимые различия (p<0,05) по two-way ANOVA с пост-хок тестом Данна по сравнению с соответствующей пробой без фуллеренола (0 мкг/мл).

Note. The X-axis represents fullerenol concentration (µg/mL); the Y-axis represents total light emission values (relative light units). Black-filled points indicate significant differences ($p < 0.05$) determined by two-way ANOVA with Dunn's post-hoc test compared to the corresponding fullerenol-free sample (0 µg/mL).

Рисунок 2. Влияние фуллеренола $C_{60}(OH)_{22-24}$ в различных концентрациях на спонтанный (A) и стимулированный ОЗ (B) варианты ЛюцХЛ через 30, 60 и 90 минут, (n = 4; M±SD).

Figure 2. Effect of fullerenol $C_{60}(OH)_{22–24}$ at various concentrations on spontaneous (A) and OZ-stimulated (B) variants of lucigenin chemiluminescence after 30, 60, and 90 minutes (n = 4; M ± SD).



Примечание. По оси X — концентрации фуллеренола (мкг/мл), по оси Y — значения светосумм (относительные световые единицы). Точки с черной заливкой указывают на значимые различия (p<0,05) по two-way ANOVA с

пост-хок тестом Данна по сравнению с соответствующей пробой без фуллеренола (0 мкг/мл).

Note. The X-axis represents fullerenol concentration (μg/mL); the Y-axis represents total light emission values (relative light units). Black-filled points indicate significant differences ($p < 0.05$) determined by two-way ANOVA with Dunn's post-hoc test compared to the corresponding fullerenol-free sample (0 μg/mL).

 10.46235/1028-7221-17319-FAO

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДАННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Заморина Светлана Анатольевна, д.б.н., в.н.с. лаборатории клеточной иммунологии и нанобиотехнологии
Адрес: Пермь, 614081, ул. Голева, 13
телефон: +7(342)280-77-94
факс: +7(342)280-92-11
e-mail: mantissa7@mail.ru
Zamorina Svetlana Anatolyevna, PhD, MD (Biology), leading researcher, laboratory of Cellular Immunology and Nanobiotechnology
telephone: +7(342)280-77-94
fax: +7(342)280-92-11
e-mail: mantissa7@mail.ru

Блок 2. Информация об авторах

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;
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;

Девятова Ксения Олеговна, студентка Пермского государственного национального исследовательского университета,
Devyatova Kseniya Olegovna, student at Perm State University.
Долгих Мария Денисовна, инженер лаборатории клеточной иммунологии и нанобиотехнологии,
Dolgikh Maria Denisovna, technician, laboratory of Cellular Immunology and Nanobiotechnology;
Раев Михаил Борисович, д.б.н., заведующий лабораторией клеточной иммунологии и нанобиотехнологии,
Rayev Mikhail Borisovich, PhD, MD (Biology), head of laboratory of Cellular Immunology and Nanobiotechnology.

 ISSN 1028-7221 (Print)
ISSN 2782-7291 (Online)

 10.46235/1028-7221-17319-FAO

Блок 3. Метаданные статьи

ВЛИЯНИЕ ФУЛЛЕРЕНОЛА $C_{60}(OH)_{22–24}$ НА ЛЮМИНОЛ- И ЛЮЦИГЕНИН-ЗАВИСИМУЮ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЮ ЛЕЙКОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

EFFECTS OF FULLERENOL $C_{60}(OH)_{22-24}$ ON LUMINOL- AND LUCIGENIN-DEPENDENT CHEMILUMINESCENCE OF HUMAN LEUKOCYTES

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:
ФУЛЛЕРЕНОЛ И ЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ ЛЕЙКОЦИТОВ
FULLERENOL AND LEUKOCYTE LUMINESCENCE

Ключевые слова: фуллеренол $C_{60}(OH)_{22-24}$, лейкоциты, активные формы кислорода, люминол, люцигенин, хемилюминесценция.
Keywords: fullerenol $C_{60}(OH)_{22-24}$, leukocytes, reactive oxygen species, luminol, lucigenin, chemiluminescence.
Иммунологические чтения в Челябинске.
Количество страниц текста – 5,
Количество таблиц – 0,
Количество рисунков – 2.
02.03.2026

 ISSN 1028-7221 (Print)
ISSN 2782-7291 (Online)

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	Бочкова М.С., Тимганова В.П., Храмцов П.В., Ужвиюк С.В., Шардина К.Ю., Нечаев А.И., Раев М.Б., Заморина С.А. Изучение влияния наночастиц оксида графена на люминол-зависимую хемилюминисценцию лейкоцитов человека. *Медицинская иммунология*, 2020. Т. 22, №5. С. 977-986.	Bochkova M. S., Timganova V.P., Khramtsov P.V., Uzhviyuk S.V., Shardina K.Yu., Nechaev A.I., Raev M.B., Zamorina S.A. Study of the graphene oxide nanoparticles effect on luminol-dependent chemiluminescence of human leukocytes. *Medical Immunology*, 2020, Vol. 22, no. 5, pp. 977-986.	doi: 10.15789/1563-0625-SOT-2051
2	Bedouhène S., Moulti-Mati F., Hurtado-Nedelec M., Dang P.M.-C., El-Benna J. Luminol-amplified chemiluminescence detects mainly superoxide anion produced by human neutrophils. *Am J Blood Res*, 2017, Vol. 7, pp. 41-48.		https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5545213/
3	Dellinger A., Zhou Z., Connor J., Madhankumar A., Pamujula S., Sayes C.M., Kepley C.L. Application of Fullerenes in		doi: 10.2217/nnm.13.99

ISSN 1028-7221 (Print)
ISSN 2782-7291 (Online)

	Nanomedicine: An Update. *Nanomedicine*, 2013, Vol. 8, pp. 1191-1208. doi: 10.2217/nnm.13.99.		
4	Grebowski J., Kazmierska P., Krokosz A. Fullerenols as a New Therapeutic Approach in Nanomedicine. *BioMed Research International*, 2013, Vol. 2013, 751913.		doi: 10.1155/2013/751913
5	Grebowski J., Kazmierska-Grebowska P., Cichon N., Konarska A., Wolszczak M., Litwinienko G. Fullerenol C60(OH)36 Protects the Antioxidant Enzymes in Human Erythrocytes against Oxidative Damage Induced by High-Energy Electrons. *IJMS*, 2022, Vol. 23, 10939.		doi: 10.3390/ijms231810939
6	Jovanović B., Anastasova L., Rowe E.W., Palić D. Hydroxylated fullerenes inhibit neutrophil function in fathead minnow (Pimephales promelas Rafinesque, 1820). *Aquatic Toxicology*, 2011, Vol. 101, pp. 474-482.		doi: 10.1016/j.aquatox.2010.11.002
7	Kovel E., Sachkova A., Vnukova N., Churilov G., Knyazeva E.,		doi: 10.3390/ijms20092324

	Kudryasheva N. Antioxidant Activity and Toxicity of Fullerenols via Bioluminescence Signaling: Role of Oxygen Substituents. *IJMS*, 2019, Vol. 20, 2324.		
8	Lazarev S., Dolgikh M., Zamorina S., Timganova V., Bochkova M., Rayev M. Polyhydroxylated fullerenes: A review of biological properties and potential applications in biomedicine. *International Journal of Pharmaceutics*, 2025, Vol. 683, 126055.		doi: 10.1016/j.ijpharm.2025.126055
9	Nauseef W.M. Detection of superoxide anion and hydrogen peroxide production by cellular NADPH oxidases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 2014, Vol. 1840, pp. 757-767.		doi: 10.1016/j.bbagen.2013.04.040
10	Rost M., Karge E., Klinger W. What do we measure with luminol-, lucigenin- and penicillin-amplified chemiluminescence? 1. Investigations with hydrogen peroxide and sodium hypochlorite. *J*		doi: 10.1002/(SICI)1099-1271(199811/12)13:6<355::AID-BIO502>3.0.CO;2-L

ISSN 1028-7221 (Print)
ISSN 2782-7291 (Online)

	Biolumin Chemilumin, 1998, Vol. 13, pp. 355-363.		
11	Shafiq F., Iqbal M., Raza S.H., Akram N.A., Ashraf M. Fullerenol [60] Nano-cages for Protection of Crops Against Oxidative Stress: A Critical Review. *J Plant Growth Regul*, 2023, Vol. 42, pp. 1267-1290.		doi: 10.1007/s00344-022-10629-x
12	Usanina D., Zamorina S., Bochkova M., Timganova V., Vlasova V., Ponomareva V., Dolgikh M., Lazarev S., Rayev M. Effect of Fullerenol C60(OH)24 on the Viability and Metabolism of THP-1 Cells. *Molecules*, 2025, Vol. 30, 4407.		doi: 10.3390/molecules30224407
13	Yablonskaya O.I., Voeikov V.L., Novikov K.N., Buravleva E.V., Berdnikova N.G. Effect of Hydrated Fullerene C60 in a Wide Concentration Range on Low-Level Photon Emission from Undiluted Human Blood. *J-BPE*, 2022, 040504.		doi: 10.18287/JBPE22.08.040504

ISSN 1028-7221 (Print)
ISSN 2782-7291 (Online)