

4. Kasyanenko N., Varshavskii M., Ikonnikov E., Tolstyko E., Belykh R., Sokolov P., Bakulev V., Rolich V., Lopatko K DNA modified with metal nanoparticles: preparation and characterization of ordered metal-dna nanostructures in a solution and on a substrate. *Journal of Nanomaterials*, 2016, pp. 3237-250, Doi: 0.1155/2016/3237250.

5. Kasyanenko N., Qiushi Z., Bakulev V., Osolodkov M., Sokolov P., Demidov V. DNA binding with acetate bis(1,10-phenanthroline)silver(I) monohydrate in a solution and metallization of formed. *Polymers*, 2017, vol. 9, no. 6, pp. 211-230; doi:10.3390/polym9060211.

КЛЕТочНЫЕ РЕАКЦИИ, ИНДУЦИРОВАННЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЕМ НАНОКРИСТАЛЛИЧЕСКОГО ОКСИДА ВОЛЬФРАМА (WO₃), *IN VITRO*

Попов А.Л.¹, Иванова О. С.³, Щербakov А.Б.², Попова Н.Р.¹, Иванов В.К.³

¹Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН
ул. Институтская, 3, г. Пуццино, 142290, РФ

²Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН
ул. Академика Заболотного, 154, Киев, 03680, Украина

³Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН
Ленинский пр., 31, г. Москва 119333, РФ
e-mail: antonpopovleonid@gmail.com

Аннотация. В последние годы разработка новых функциональных наноматериалов для диагностики и терапии онкологических заболеваний привлекает все большее внимание. Для эффективной терапии рака важно разработать систему тераностики на основе наноматериалов, которая способна реагировать на локальную опухолевую среду или внешние раздражители, такие как температура, pH, магнитное поле, свет и т.д. Одним из наиболее перспективных таких материалов является наноразмерный оксид вольфрама (WO₃), полупроводник с широкой полосой пропускания n-типа с химическим типом хромирования, что придает ему уникальные фотокаталитические свойства. В рамках данной работы нами изучено влияние поливинилпирролидон (ПВП)-стабилизированных наночастиц WO₃ на метаболическую и пролиферативную активность нормальных и трансформированных клеток человека *in vitro*.

Ключевые слова: наночастицы оксида вольфрама, фотокатализатор, цитотоксическая активность, окислительный стресс.

CELLULAR REACTIONS INDUCED BY NANOCRYSTALLINE TUNGSTEN OXIDE (WO₃) EXPOSURE, *IN VITRO*

Popov A.L.¹, Ivanova O.S., Shcherbakov A.B.², Popova N.R.¹, Ivanov V.K.³

¹Institute of theoretical and experimental biophysics RAS
Institutskaya str., 3, Pushchino, 142290, Russia

²Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine
Zabolotnogo str., 154, Kyiv, D0368, Ukraine

³Kurnakov institute of general and inorganic chemistry RAS
Leninskii av., 31, Moscow, Russia
e-mail: antonpopovleonid@gmail.com

Abstract. The development of new functional nanomaterials for the diagnosis and therapy of cancer has attracted increasing attention in recent years. For effective cancer therapy, it is important to develop a new theranostic system based on unique nanomaterials that is capable of responding to a local tumor environment or external stimuli such as temperature, pH, magnetic field, light, etc. One of the most promising materials is nanocrystalline tungsten oxide (WO₃), a semiconductor with a wide n-type bandwidth with a chemical type of chromium, which gives it unique photocatalytic properties. Within the framework of this work, we studied the effect of polyvinylpyrrolidone (PVP) - stabilized WO₃ nanoparticles on the metabolic and proliferative activity of normal and malignant human cells *in vitro*.

Key words: tungsten oxide nanoparticles, photocatalyst, cytotoxic activity, oxidative stress.

Введение. Разработка и исследование новых наноразмерных материалов для биомедицинского применения в последнее время является ключевым приоритетом в междисциплинарных исследованиях. Физико-химические свойства наноматериалов придают им новые уникальные возможности для использования в диагностике и лечении социально значимых заболеваний. Одним из наиболее ярких представителей подобных материалов в нанокристаллическом состоянии является триоксид вольфрама (WO₃). Ранее оказано, что наночастицы WO₃ можно использовать в качестве одного из компонентов костного цемента, в качестве контрастирующего агента для рентгеновской компьютерной томографии и т.д. [1-3] Хитозан-модифицированные наночастицы WO₃ используются в качестве контрастирующего вещества для рентгеновской компьютерной томографии [4]. Хотя вольфрам считался относительно инертным и токсикологически безопасным материалом, недавние результаты исследований вызывают озабоченность по поводу возможных вредных последствий для здоровья после острого и хронического воздействия этого металла

[5-6]. Сообщалось, что растворимые вольфрамовые соединения абсорбируются после перорального воздействия, как у людей, так и у лабораторных крыс. Было показано, что встроенные гранулы вольфрамового сплава вызывали метастатические опухоли у крыс. Было обнаружено, что вольфрам накапливается в нескольких органах и / или тканях, таких как почки, печень, яичники, простата, поджелудочная железа, легкие, сердце, мышцы, селезенка и кость после одной пероральной дозы. Генотоксический потенциал соединений вольфрама не был широко оценен. Учитывая последнюю информацию, мутагенный потенциал нанопорошка WO_3 не был точно изучен. Таким образом, в этой статье мы тщательно исследуем цитотоксические и генотоксические потенциалы наночастиц WO_3 в человеческом нормальном мезенхимальном стволе и трансформированных клетках остеосаркомы MNNG / HOS.

Материалы и методы. В данной работе был использован золь нанокристаллического оксида вольфрама ультрамалого размера, стабилизированного поливинилпирролидоном, синтезированный путем гидротермальной химической обработки вольфрамовой кислоты в присутствии поливинилпирролидона (PVP K-30, $M \approx 40\ 000$), который выступал в качестве матрицы, стабилизатора и регулятора роста. Вольфрамовую кислоту получали ионообменным методом с использованием раствора вольфрамата натрия (Na_2WO_4) и сильнокислотной катионообменной смолы (Amberlite® IR120). Для токсикологических экспериментов использовали полученный золь в диапазоне концентраций наночастиц WO_3 0,1-25,0 мг / мл.

Эксперименты проводили с использованием культуры первичных человеческих мезенхимальных стволовых клеток (МСК), полученных из третьего моляра, удаленного у здорового 16-летнего пациента по ортодонтическим показаниям, и линии клеток остеосаркомы человека MNNG/HOS. Клетки культивировали в среде DMEM / F12 (1: 1), содержащей 10% фетальной бычьей сыворотки, 50 мкг/мл пенициллина, 50 мкг/мл стрептомицина и 1% L-глутамина при 37°C и 5% CO_2 . Через шесть часов после прикрепления клеток вносили наночастицы WO_3 в различных концентрациях путем смены среды. В контрольных экспериментах клетки культивировали без наночастиц WO_3 .

Для анализа уровня метаболической активности клеточной культуры использовали стандартный МТТ-тест, а для исследования пролиферативной активности использовался прямой подсчет количества клеток в камере Горяева после культивирования в присутствии наночастиц WO_3 . Уровень жизнеспособности определяли путем окрашивания клеточных культур флуоресцентными красителями SYTO9 и пропидиум йодид.

Статистическую обработку результатов проводили методами вариационной статистики. Определяли среднее значение величин и среднеквадратичное отклонение от среднего значения. Достоверность различий между группами определяли по t-критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Было показано, что концентрации наночастиц WO_3 от 0,1 до 1 мг/мл наночастиц не были токсичны для обоих типов клеток на протяжении 72 часов культивирования, однако с повышением концентрации (начиная с 5 мг/мл) наблюдался различный ответ клеточных культур на внесение наночастиц: культура МСК человека была более устойчива к токсическому действию наночастиц WO_3 и внесение наночастиц WO_3 в концентрации 5 мг/мл не приводило к значительному снижению уровня дегидрогеназной активности, в то время как в культуре клеток остеосаркомы линии MNNG/HOS наблюдалась значительное снижение сигнала МТТ и увеличения количества мертвых клеток. При этом исследование влияния высоких концентрации наночастиц WO_3 (10-25 мг/мл) на эти 2 типа клеточных культур показало подобную корреляцию в отношении уровня дегидрогеназной активности и клеточной гибели.

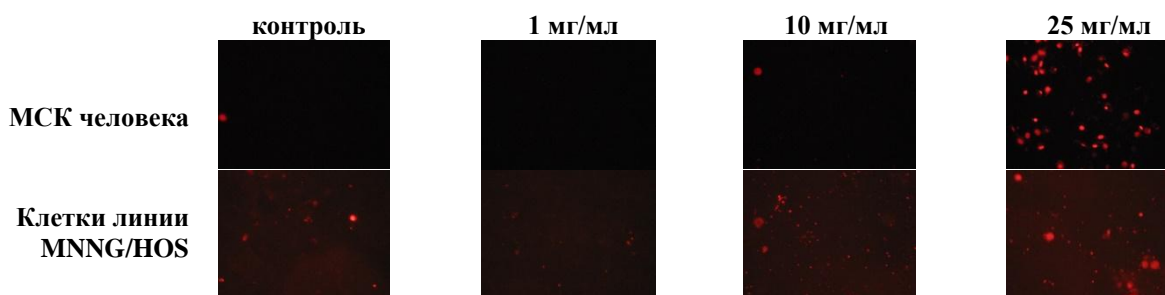


Рисунок 1 – Флуоресцентные микрофотографии клеток линии MNNG/HOS и МСК человека через 24 часа после воздействия наночастиц WO_3 . Окрашивание пропидий йодидом (1мкг/мл)

Селективное цитотоксическое действие наночастиц WO_3 в отношении трансформированных клеток остеосаркомы линии MNNG/HOS может быть связано с их высокой (по сравнению с МСК человека) скоростью пролиферации, так как ранее было показано, что данный тип наночастиц способен интегрироваться непосредственно в молекулу ДНК и ингибировать процесс репликации, а также напрямую снижать активность ДНК-полимеразы. Таким образом, активно пролиферирующие клетки более подвержены воздействию данного типа наночастиц.

Выводы. Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что нанокристаллический WO_3 может быть использован для разработки новых эффективных тераностических агентов для терапии онкологических заболеваний.

Эксперименты с клеточными культурами выполнены при финансовой поддержке гранта РНФ № 17-73-10417.

Список литературы / References:

1. Butler T.J., Jackson R.W., Robson J.Y., Owen R.J., Delves H.T., et al. In vivo degradation of tungsten embolisation coils. *Br J Radiol.*, 2000, vol. 73, pp. 601-603.
2. Peuster M., Kaese V., Wuensch G., Wuebbolt P., Niemeyer M., et al. Dissolution of tungsten coils leads to device failure after transcatheter embolisation of pathologic vessels. *Heart*, 2001, vol. 85, pp. 703-704.
3. Hierholzer J., Depriester C., Fuchs H., Venz S., Maier-Hauff K., et al. *Rofo-Fortschr. Rontg*, 2002, vol. 174, pp. 328-334.
4. Firouzi M., Poursalehi R., Delavari H., Saba F., & Oghabian M. A. Chitosan coated tungsten trioxide nanoparticles as a contrast agent for X-ray computed tomography. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, vol. 98, pp. 479-485.
5. Guandalini G.S., Zhang L., Fornero E., Centeno J.A., Mokashi V.P., et al. Tissue distribution of tungsten in mice following oral exposure to sodium tungstate. *Chem Res Toxicol*, 2011, vol. 24, pp. 488-493.
6. Witten M.L., Sheppard P.R., Witten B.L. Tungsten toxicity. *Chem-Biol Interact*, 2012, vol. 196, pp. 87-88.

НАНОСТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ КРЕМНИЕВОГО ЭКЗОСКЕЛЕТА *PSAMMODICTYON PANDURIFORME* VAR. *CONTINUA* (BACILLARIOPHYTA)

Романова Д.Ю.¹, Шевченко О.Г.², Карпенко А.А.², Пономарева А.А.², Шульгина М.А.²
¹ФГБУН Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН,
пр. Нахимова, 2, г. Севастополь, 299011, РФ
²ФГБУН Национальный научный центр морской биологии ДВО РАН,
ул. Пальчевского, 17, г. Владивосток, 690041, РФ
e-mail: driaromanova@yandex.ru

Аннотация. В работе изучены молекулярные и наномеханические свойства панциря глубоководной бентосной диатомеи *Psammodyctyon panduriforme* var. *continua*. Исследование основано на интерпретации данных Рамановской спектроскопии и атомно-силовой микроскопии. Рассмотрен подход к пониманию роли кремниевого экзоскелета в физиологии клетки. Важное значение имеет формирование целостной картины для объекта исследования. Диатомовые водоросли являются перспективными модельными объектами, как для фундаментальных исследований, так и для прикладных целей биотехнологии.

Ключевые слова: диатомовые водоросли, кремниевый панцирь, Рамановская спектроскопия, атомно-силовая микроскопия, наноструктурные характеристики.

NANOSTRUCTURED FEATURES OF SILICEOUS EXOSKELETON OF *PSAMMODICTYON PANDURIFORME* VAR. *CONTINUA* (BACILLARIOPHYTA)

Romanova D.Y.¹, Shevchenko O.G.², Karpenko A.A.², Ponomareva A.A.², Shulgina M.A.²
¹Kovalevsky Institute of marine biological research RAS
Nahimov ave., 2, Sevastopol, 299011, Russia
²National Scientific Center of Marine Biology Far East Branch RAS,
ul. Palchevskogo 17, Vladivostok, 690041 Russia
e-mail: driaromanova@yandex.ru

Abstract. The molecular and nanomechanical properties of the deep-sea benthic diatoms *Psammodyctyon panduriforme* var. *continua* were studied. The study is based on the interpretation of Raman spectroscopy and atomic force microscopy data. The approach to understanding the role of the siliceous exoskeleton in the physiology of the cell is considered. It is important to form an integral picture for the object of research. Diatoms are promising model objects, both for basic research and for applied biotechnology applications.

Key words: diatoms, silicon frustule, Raman spectroscopy, Atomic Force Microscopy, nanocharacteristics.

Диатомовые водоросли – уникальные объекты, представители кремниевой жизни в Мировом океане. Соединений кремния в составе их неорганического панциря варьирует от 80 до 95,6% [1, 2]. Осаждение молекул Si контролируется особым классом видоспецифических молекулярных белков – силаффинов [3], что соответствует огромному разнообразию форм архитектуры клеток данного таксона [4]. Находясь в условиях постоянного давления воды [5], панцири диатомовых водорослей должны быть достаточно упругими. Кроме того, неорганический каркас клетки должен выдерживать процесс фильтрации воды для обеспечения жизнеспособности микроорганизма. Данные о физиологических особенностях клеток эукариот важны для понимания базовых принципов биоразнообразия.

Новым и достаточно эффективным методом для анализа и идентификации видов становится применение Рамановской спектроскопии [6-8]. Данные спектрограмм являются уникальными для каждого микроорганизма и несут большую информативность по отношению к молекулярной структуре исследуемой поверхности клетки.