

УДК616-006.48-039.36-037-053.2:575.24

О. Скачкова, канд. біол. наук, С. Антонюк, наук. співроб., В. Орел, д-р біол. наук, проф.,  
Н. Храновська, канд. біол. наук, старш. наук. співроб.  
Національний інститут раку, Київ, Україна,  
М. Іномістова, канд. біол. наук

ННЦ "Інститут біології та медицини", Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

## ВПЛИВ НАНОЧАСТИНОК ОКСИДУ ЗАЛІЗА НА ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ ГЕНЕРОВАНИХ ДЕНДРИТНИХ КЛІТИН ЛЮДИНИ

*Метою роботи було дослідити властивості генерованих дендритних клітин (ДК) із моноцитів периферичної крові, навантажених наночастинками (НЧ) оксиду заліза. Результати цитологічних досліджень показали, що у генерованих ДК практично здорових людей та онкологічних хворих здатність поглинати НЧ заліза  $Fe_3O_4$  не відрізняється. Установлено найоптимальнішу концентрацію НЧ оксиду заліза  $Fe_3O_4$  для навантаження ДК –  $8 \times 10^{-12}$  мг/мл. Показано, що НЧ оксиду заліза  $Fe_3O_4$  практично не впливають на життєздатність, рівень апоптозу та розподіл генерованих ДК по фазах клітинного циклу на 8-му добу культивування (час експозиції з НЧ – 24 години); збільшення терміну культивування ДК із НЧ до 9–10 діб (час експозиції з НЧ складає 48–72 години) призводить до збільшення кількості клітин у G<sub>2</sub>/M-фазі клітинного циклу.*

**Ключові слова:** імунотерапія, наночастинки оксиду заліза, поглинальна активність та життєздатність дендритних клітин

**Вступ.** Останнім часом велика увага приділяється медичним технологіям, які використовують матеріали з лінійними розмірами в декілька десятків нанометрів. На стику фундаментальних наук – фізики, хімії, біології, а також, онкології і нанотехнології – сформувався новий напрямок досліджень "Сансептанотехнологу", присвячений розробці методів молекулярної діагностики і терапії онкологічних захворювань. Припускається, що за допомогою нанотехнологій можуть бути вирішені проблеми ранньої діагностики злоякісних новоутворень, визначення їх локалізації, адресної доставки лікарських препаратів у пухлину, а також розроблені нові методи селективної (таргетної) терапії [1].

Сьогодні в біомедицині широко застосовують наночастинки (НЧ) оксиду заліза (II, III), що обумовлено їх низькою токсичністю і стабільністю магнітних характеристик [9]. Зокрема, магнітні НЧ вже застосовують для сортування клітин, розділення ДНК, у магнітній резонансній томографії (МРТ) і генній терапії [2, 3].

Використання магнітних НЧ із метою впливу на компоненти імунної системи може відкрити нові можливості у конструюванні протипухлинних вакцин. Одним із найперспективніших напрямків протипухлинної вакцинотерапії є використання антигенпрезентуючих дендритних клітин (ДК), генерованих та навантажених пухлинними антигенами *in vitro*. Відомо, що ДК відіграють визначальну роль у протипухлинному імунітеті, оскільки вони мають здатність активувати всі клітини, які належать до основних ефektorів протипухлинного імунітету, індукуючи як первинну, так і вторинну імунні відповіді та розвиток імунологічної пам'яті. Водночас ефективність такої терапії обмежена недостатньою міграційною активністю ДК до лімфоїдної тканини реципієнта. Великі надії пов'язують із можливістю підвищення цільової доставки вакцин на основі ДК до лімфоїдної тканини реципієнта за допомогою магнітних НЧ та дії постійного магнітного поля [4, 5, 6].

Після захоплення ДК НЧ можуть взаємодіяти із клітинними органелами, білками, нуклеїновими кислотами; можуть залучатися у процеси внутрішньоклітинної сигналізації, проліферації і потенційно можуть викликати порушення цих процесів [7]. Однак установлено, що не завжди поглинання клітиною НЧ веде до негативного впливу на клітинну проліферацію і синтез білка або спричиняє загибель клітин [8]. Їх вплив на життєздатність клітини залежить від концентрації і часу експозиції, а також обумовлений типом клітини.

Зазначимо, що на сьогодні немає вичерпної інформації про здатність ДК поглинати та накопичувати ме-

талеві НЧ. Також залишається відкритим питанням токсичності та безпечності НЧ оксиду заліза, зокрема, не досліджений їхній вплив на життєдіяльність та функції ДК. Ураховуючи це, метою роботи було дослідити поглинальну активність та функціональні властивості ДК, генерованих із моноцитів периферичної крові та навантажених НЧ оксиду заліза для оцінювання можливості їх використання у протипухлинній вакцинотерапії.

**Матеріали та методи.** *Культуральні методи.* ДК генерували з моноцитів периферичної крові 4 практично здорових людей та 5 хворих на злоякісні новоутворення (усі маніпуляції проводили з дотриманням правил асептики). Лейкоцити сепаративно розділяли у градієнт густини фіколу ( $\rho = 1,077$  г/см<sup>3</sup>), після чого клітини ресуспендували в середовищі RPMI-1640 ("Sigma", США) із додаванням 2 мМ/л L-Gly, 100 мкг/мл стрептомицину та 100 од/мл пеніциліну та інкубували у пластиковому флаконі при температурі 37 °С, 5 % CO<sub>2</sub> протягом 2–3 годин. Після чого клітини злегка струшували та видаляли ті, що не прикріпилися, шляхом їхнього змивання. Концентрацію клітин доводили до  $0,5 \times 10^6$ /мл середовищем культивування та додавали 1 % аутологічної плазми та 100 нг/мл рекомбінантного гранулоцитомакрофагально-колонієстимулюючого фактора (ГМКФ) людини ("LeucomaxNovartis", Індія / "Schering-Plough", США, або "ICN", США), 20 нг/мл інтерлейкіну-4 (IL-4), "Sigma", США. Ростові фактори також додавали до ДК на третю добу культивування. На шосту добу культивування додавали НЧ оксиду заліза  $Fe_3O_4$  (Sigma-Aldrich) із радіусом 50 нм в різних концентраціях ( $4 \times 10^{-12}$ ,  $8 \times 10^{-12}$  та  $12 \times 10^{-12}$  мкг/мл середовища). На сьому добу дозрівання до ДК додавали 100 нг/мл ЛПС ("Sigma", США) та 2αβ-IFN ("Лаферобіон", "Біофарма", Україна) у концентрації 10 тис. МО/мл.

Перед використанням готували водний розчин НЧ із використанням дистильованої води. Концентрація НЧ становила  $8 \times 10^{-12}$  мкг/мл. Для навантаження ДК в культуральне середовище вносили 50, 100 та 150 мкл водного розчину відповідно.

*Імунологічні методи.* Імунологічні дослідження проводили на 8-му добу (контроль, час експозиції ДК із НЧ – 24 години), 9-ту добу (час експозиції ДК із НЧ – 48 годин) та 10-ту добу (час експозиції ДК із НЧ – 48 годин) культивування ДК.

Цитотоксичність НЧ оцінювали за збільшенням кількості девіталізованих ДК, для цього використовували флюорохром йодистий пропідій (PI). ДК у концентрації  $2 \times 10^5$ /мл ресуспендували у 0,4 мл ЗФР та додавали

5 мкл PI (робоча концентрація 0,5 мкг/мл). Клітини інкубували 15 хв у темряві при кімнатній температурі, після чого відмивали у 2 мл ЗФР. Досліджувану популяцію клітин гейтували в координатах FSC (вісь абсцис) і SSC (вісь ординат), потім аналізували на наявність флуоресценції в координатах на основі DotPlot.

Рівень клітин, що перебувають в апоптозі та розподіл клітин за фазами клітинного циклу визначали за допомогою проточної цитометрії. Фарбування клітин за допомогою PI включало такі етапи: клітини в кількості  $10^6$  на пробу після однократного відмивання в 5 мл ЗФР при 1000 об/хв протягом 10 хв ресуспендували в 1 мл гіпотонічного лізуючого буфера (0,1%-й цитрат натрію, 0,1%-й Triton X-100, 5 мкг/мл PI). Усі реагенти фірми "SigmaChemicalCo", США). Для оцінювання часткового вмісту клітин в основних фазах мітотичного циклу ( $G_{1/0}$ , S,  $G_2 + M$ ) гістограми розподілу обробляли за допомогою спеціалізованої математичної програми ModFit LT 2.0 (BDIS, США) для комп'ютерів Macintosh.

Аналіз зразків проводили на проточному цитофлуориметрі FACS Calibur ("Becton Dickinson", США) за допомогою програми CellQuest-PRO ("Becton Dickinson", США).

**Цитологічні методи.** Цитологічні дослідження проводили на 8-му добу культивування ДК. Одним зі способів контролю проникнення НЧ у клітини є візуалізація НЧ оксиду заліза в генерованих ДК. Тож нами розроблено методику отримання цитологічних препаратів генерованих ДК та їх забарвлення за методом Ліллі (метод виявлення  $Fe^{2+}$  та  $Fe^{3+}$  за утворенням берлінської лазурі та турнбулевої сині) [9], що дає можливість візуалізувати здатність ДК поглинати НЧ заліза та оцінити локалізацію НЧ щодо внутрішньоклітинних структур та відсоток ДК, що поглинули НЧ заліза.

ДК культивували в 24-луночному планшеті на покривних скельцях протягом 8–10 діб, після чого фіксували у 4%-му розчині параформальдегіду протягом 4 хв. Після фіксації скельця два рази промивали фізіологічним розчином. На скельця наносили розчин феріціаніду калію (жовта кров'яна сіль) для визначення тривале-

нтного заліза. Клітини інкубували протягом 40 хв–1 години, після чого скельця двічі промивали у 0,01 н. р. HCl. Промиті скельця дофарбовували квасцовим карміном протягом 5–10 хв. Двічі промивали у дистильованій воді. Для аналізу отриманих зразків використовували прямий мікроскоп PrimoStar, CarlZeiss (Німеччина) та програмне забезпечення AxioVision.

**Статистичні методи.** Одержані результати обробляли статистично з використанням  $t$ -критерія Стьюдента. Вірогідними вважали значення при рівнях  $p \leq 0,05$ . Закон нормального розподілу вибірок перевіряли за допомогою статистичного тесту Колмогорова – Смирнова.

**Результати та обговорення.** Відомо, що існує кілька можливих шляхів, за допомогою яких НЧ можуть долати природні клітинні бар'єри. Вони здатні проникати в клітину шляхом фагоцитозу, макропіноцитозу, ендоцитозу за участю клатрина (або клатрина і кавеол), а також за допомогою дифузії та інших механізмів, що запускаються електростатичними силами, вандерваальсовими або стеричними взаємодіями. Звичайно, ступінь ефективності захоплення НЧ залежить від типу клітин, зокрема, їх фагоцитарної здатності й типу НЧ [10]. Для ДК основними шляхами поглинання НЧ є ендоцитоз та піноцитоз. Відомо, що поглинальною активністю володіють лише незрілі ДК на ранніх стадіях диференціювання. У наших дослідженнях оцінювалась здатність ДК, генерованих із моноцитів периферичної крові, поглинати НЧ оксиду заліза.

Аналізом отриманих цитологічних препаратів установлено, що ДК забарвилися в насичено рожевий колір, а НЧ – у темно-синій (рис. 1 та рис. 2). Зазначимо, що у цитологічних препаратах НЧ спостерігались у вигляді відокремлених гранул, які локалізувались вільно по всій цитоплазмі ДК, ядра клітин не містили НЧ. Однак спостерігались і скупчення НЧ заліза з утворенням великих конгломератів у цитоплазмі клітин. Нами проведено серію експериментів для визначення найоптимальнішої концентрації НЧ заліза для навантаження ДК (рис. 1).

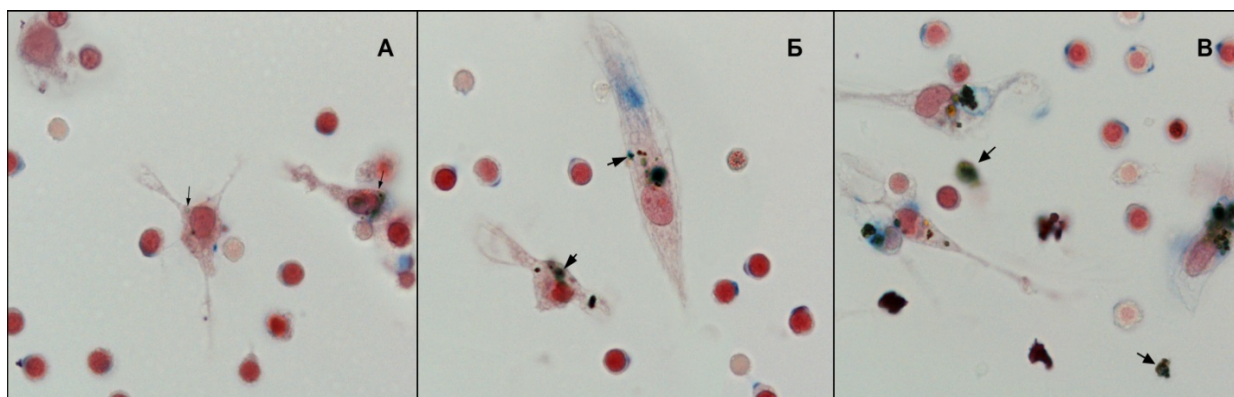


Рис. 1. Накопичення наночастинок заліза різних концентрацій у генерованих дендритних клітинах із моноцитів периферичної крові онкологічного хворого:

А – НЧ заліза в концентрації  $4 \times 10^{-6}$ ; Б – НЧ заліза в концентрації  $8 \times 10^{-6}$ ; В – НЧ заліза в концентрації  $12 \times 10^{-6}$  (забарвлення за адаптованим методом Ліллі. Стрілками вказано пофарбовані НЧ заліза)

Установлено, що при використанні НЧ заліза в найменшій концентрації  $4 \times 10^{-12}$  г/мл тільки 85 % генерованих ДК поглинули НЧ заліза (рис. 1А). При використанні НЧ у більш високих концентраціях  $8 \times 10^{-12}$  та  $12 \times 10^{-12}$  г/мл усі генеровані ДК поглинали НЧ (рис. 1Б, 1В). Однак, при застосуванні НЧ у найбільшій концентрації  $12 \times 10^{-12}$  г/мл спостерігались окремі НЧ, які не були захоплені ДК і вони залишилися в поживному середовищі (рис. 1В). Також при використанні цієї концентрації НЧ, спостерігалось утворення великих конгломератів НЧ

заліза в цитоплазмі генерованих ДК. Тож нами встановлено, що найбільш оптимальна концентрація НЧ заліза для навантаження генерованих ДК є  $8 \times 10^{-12}$  г/мл.

У попередніх дослідженнях нами встановлено, що у онкологічних хворих функціональна активність ДК, отриманих із попередників, як правило, знижена, зокрема, вони часто нечутливі до багатьох активуючих стимулів. Проти пухлини хіміо- та променевої терапії також можуть бути причиною зниження ефективності утворення та гальмування дозрівання ДК, що може лі-

мітувати й ускладнювати їхнє застосування [11]. Тому нашим наступним завданням було провести порівняльний аналіз поглинальної активності ДК, що генеровані з моноцитів периферичної крові онкологічних хворих та

практично здорових людей. Результати цитологічних досліджень показали, що поглинальна здатність ДК, генерованих із моноцитів практично здорових людей та онкологічних хворих не розрізняється (див. рис.1 В,Г).

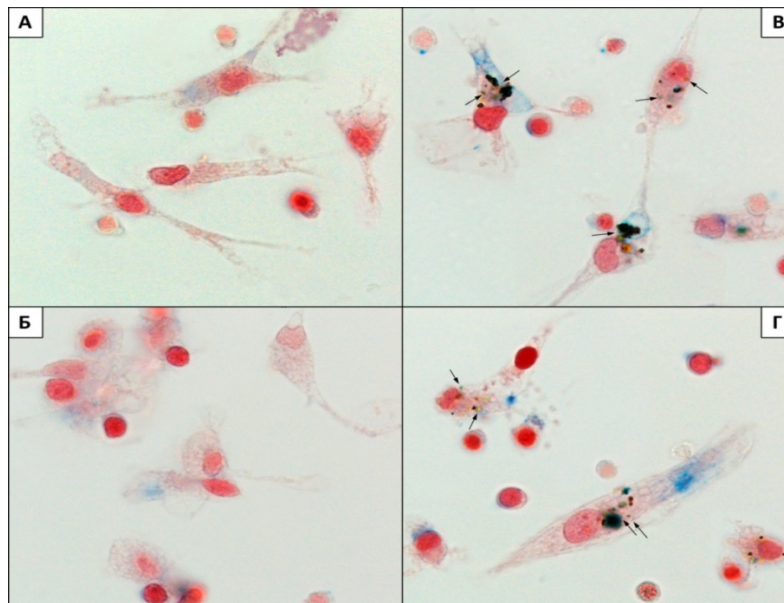


Рис. 2. Накопичення наночастинок заліза в генерованих дендритних клітинах із моноцитів периферичної крові практично здорової людини: А – контроль; В – із НЧ заліза та онкологічного хворого; Б – контроль, Г – із НЧ заліза (забарвлення за адаптованим методом Ліллі. Стрілками вказано пофарбовані НЧ заліза)

Добре відомо, що НЧ і нанопорошки металів характеризуються високою реакційною здатністю і каталітичною активністю. При цьому такого роду наноферромагнетика мають власну токсичність для клітин, тканин і компонентів біологічних рідин, обумовлену їх участю у вільнорадикальних процесах [12]. Тож наступним завданням було дослідити цитотоксичний вплив НЧ заліза на генеровані ДК.

Нами встановлено, що НЧ заліза в концентрації  $8 \times 10^{-12}$  мг/мл мають незначний цитотоксичний вплив на генеровані ДК, який зростає при збільшенні тривалості культивування. Так, встановлено, що в контролі (ДК

на 8-му добу культивування) кількість девіталізованих клітин майже не відрізнялась від ДК, навантажених НЧ, та становила  $12,60 \pm 2,42$  % проти  $16,80 \pm 5,4$  %. Утім, при збільшенні часу культивування ми спостерігали збільшення девіталізованих ДК у 1,8 та 2,08 рази на 9-ту та 10-ту добу культивування відносно контролю відповідно. Однак, ці відмінності були статистично не достовірні. Також відмітимо, що рівень апоптозу залишався майже незмінним на всіх етапах спостереження. Тож нами встановлено, що НЧ заліза в концентрації  $8 \times 10^{-12}$  мг/мл не впливають на рівень апоптозу в генерованих ДК (рис. 2).

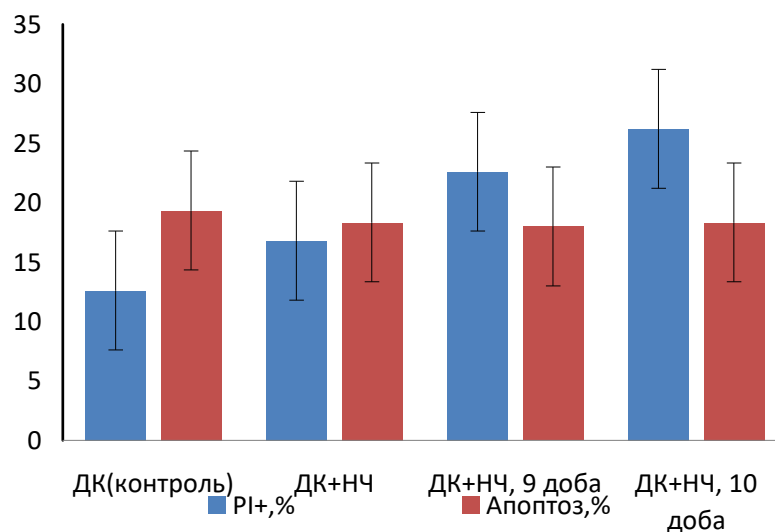


Рис. 3. Кількість девіталізованих та апоптотичних генерованих ДК у культурі

Багато дослідників стверджують, що НЧ під час потрапляння в організм здатні пошкоджувати біомембрани, впливати на функції біомолекул, у тому числі й молекул генетичного апарату клітини і клітинних органел (мітохондрій), що призводить до порушення регуляторних процесів і загибелі клітини. Механізм впливу нанооб'є-

ктів на живі структури пов'язаний з утворенням за їх присутності вільних радикалів, у тому числі перідратів, а також із виникненням комплексів із нуклеїновими кислотами. Тож наступним етапом нашого дослідження було дослідити зміни у клітинному циклі генерованих ДК під впливом НЧ заліза (табл. 1).

Таблиця 1. Зміни в розподілі генерованих ДК за фазами клітинного циклу під впливом НЧ оксиду заліза  $Fe_3O_4$

№	Назва групи	Фази клітинного циклу, %		
		G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub> /M	S
1	ДК (контроль) (8-ма доба) (n=6)	87,99 ± 0,95	8,54 ± 0,42	3,47 ± 1,37
2	ДК+НЧ (8-ма доба) (n=6)	88,38 ± 0,12	8,64 ± 0,69	2,98 ± 0,80
3	ДК+НЧ, 9-та доба (n=6)	76,17 ± 0,52*	22,62 ± 0,59* <sup>0</sup>	1,2 ± 0,11
4	ДК+НЧ, 10-та доба (n=6)	76,83 ± 0,75*	22,66 ± 0,73* <sup>0</sup>	0,51 ± 0,04

**Примітки.** \* –  $p \leq 0,05$  порівняно з контрольною групою;  
<sup>0</sup> –  $p \leq 0,05$  порівняно з групою ДК+НЧ.

Нами встановлено, що на 8-му добу (час експозиції із НЧ – 24 години) культивування НЧ оксиду заліза не мали впливу на розподіл за фазами клітинного циклу генерованих ДК. Усі показники зберігались на рівні контрольних значень. Збільшення терміну культивування ДК із НЧ до 9–10 діб (час експозиції із НЧ становив 48–72 години) призводить до збільшення кількості клітин у G<sub>2</sub>/M-фазі клітинного циклу. Можливо, НЧ заліза впливають на здатність ДК проходити весь мітотичний цикл, а, отже, і на його завершення, за рахунок арешту клітин у G<sub>2</sub>/M-фазі клітинного циклу. Відомо, що G<sub>2</sub>/M-фаза є однією з контрольних точок проходження клітинного циклу, на якій контролюється повнота реплікації ДНК, і зміни в цій точці можуть призвести до порушень проходження повноцінного клітинного циклу. Однак, отримані результати потребують подальшого детальнішого та якіснішого аналізу змін у генетичному апараті генерованих ДК.

Отже, нами була показана потенційна можливість застосування НЧ оксиду заліза  $Fe_3O_4$  при конструюванні протипухлинних вакцин на основі ДК для подальшого їх застосування при проведенні імунотерапії в онкологічних хворих. Показано, що НЧ оксиду заліза  $Fe_3O_4$  практично не впливають на життєздатність та рівень апоптозу у генерованих ДК, однак, питання застосування НЧ, як компонента протипухлинної вакцини залишається відкритим. Наше дослідження дає методичну основу для подальших досліджень вивчення ефективного та безпечного застосування НЧ металів при створенні нових клітинних технологій в онкологічній практиці.

**Висновки.** 1. Установлено, що найоптимальніша концентрація НЧ оксиду заліза  $Fe_3O_4$  для навантаження генерованих ДК є  $8 \times 10^{-12}$  мг/мл.

2. Результати цитологічних досліджень показали, що немає значної різниці у здатності поглинати НЧ заліза  $Fe_3O_4$  у генерованих ДК практично здорових людей та онкологічних хворих.

3. Установлено, що НЧ оксиду заліза  $Fe_3O_4$  мають незначний цитотоксичний вплив на генеровані ДК, який спостерігається при збільшенні тривалості культивування.

4. Доведено, що НЧ оксиду заліза  $Fe_3O_4$  не впливають на рівень апоптозу в генерованих ДК протягом усього часу культивування.

5. Збільшення терміну культивування ДК із НЧ до 9–10 діб призводить до статистично достовірного збільшення кількості клітин у G<sub>2</sub>/M-фазі клітинного циклу,  $p \leq 0,05$ .

#### Список використаних джерел:

1. Nanotechnology Applications in Cancer / S. Nie, Y. Xing, G. J. Kim, J. W. Simons // *Annu. Rev. Biomed. Eng.* – 2007. – Vol. 9. – P. 257–288.
2. Carbohydrate-based nanogels as drug and gene delivery systems / S. Uthaman, S. Maya et. al. // *J Nanosci Nanotechnol.* – 2014. – Vol. 14(1). – P. 694–704.
3. Estelrich J. Nanoparticles in magnetic resonance imaging: from simple to dual contrast agents / J. Estelrich, M. J. Sánchez-Martín, M. A. Busquets // *Int J Nanomedicine.* – 2015. – Vol. 10. – P. 1727–1741.
4. Дослідження механізмів протипухлинного ефекту технології магнітної нанотерапії на моделі культур клітин злоякісних пухлин людини різного тканинного генезу / В. Е. Орел, Н. О. Безденежних, О. О. Лихова та ін. // *Клиническая онкология.* – 2014. – № 2(14). – С. 58–61.
5. Magnetic enrichment of dendritic cell vaccine in lymph node with fluorescent-magnetic nanoparticles enhanced cancer immunotherapy / H. Jin, Y. Qian, Y. Dai et al. // *Theranostics.* – 2016. – Vol. 6, № 1. – P. 2000–2014.
6. Fan Y. Nanoparticle Drug Delivery Systems Designed to Improve Cancer Vaccines and Immunotherapy / Y. Fan, J. J. Moon // *Vaccines.* – 2015. – Vol. 3. – P. 662–685
7. Lewinski N. Cytotoxicity of nanoparticles / N. Lewinski, V. Colvin, R. Drezek // *Small.* – 2008. – Vol. 4(1). – P. 26–49.
8. Chaoliang T. Synthesis and applications of graphene based noble metal nanostructures / T. Chaoliang, H. Xiao, Z. Hua // *Materials Today.* – 2013. – Vol. 16, № 1/2. – P. 29–36.
9. Луплу Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. – М.: Мир, 1969. – С. 377–378.
10. Interactions of nanoparticles with pulmonary structures and cellular responses / C. Mühlfeld, B. Rothen-Rutishauser, F. Blank et al. // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* – 2008. – Vol. 294(5). – P. 817–829.
11. Фенотипові та функціональні властивості диференційованих дендритних клітин у хворих на рак легенів / Н. М. Храновська, О. В. Скачкова, В. М. Совенко та ін. // *Клітинна та органна трансплантологія.* – 2016. – Т. 4, № 2. – С. 156–161.
12. Nanomaterial cytotoxicity is composition, size, and cell type dependent / S. K. Sohaebuddin, P. T. Thevenot, D. Baker et al. // *Part. Fibre Toxicol.* – 2010. – Vol. 7, № 22. – P. 1–17.

#### References:

1. Nie S., Xing Y., Kim G. J., Simons J. Nanotechnology Applications in Cancer. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 2007; 9: 257–288. doi.org/10.1146/annurev.bioeng.9.060906.152025.
2. Uthaman S., Maya S., Jayakumar R., Cho C., Park I. Carbohydrate-based nanogels as drug and gene delivery systems. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. 2014; 14(1):694–704. doi: 10.1166/jnn.2014.8904.
3. Estelrich J., Sánchez-Martín M., Busquets M. Nanoparticles in magnetic resonance imaging: from simple to dual contrast agents. *Int J Nanomedicine*. 2015; 10: P. 1727–1741. doi: 10.2147/IJN.S76501.
4. Орел В., Безденежних Н., Лихова О., Николов Н., Орел І., Романов А., Кудрявєтс Я., Шчепотін І. Дослідження механізмів протипухлинного ефекту технології магнітної нанотерапії на моделі культур клітин злоякісних пухлин людського різного тканинного генезу. *Клиническая онкология*. 2014; 2 (14): 58–61. [In Ukraine].
5. Jin H., Qian Y., Dai Y., Qiao S., Huang C., Lu L., Luo Q., Chen J., Zhang Z. Magnetic Enrichment of Dendritic Cell Vaccine in Lymph Node with Fluorescent-Magnetic Nanoparticles Enhanced Cancer Immunotherapy. *Theranostics*. 2016; 2;6(11):2000–2014. eCollection 2016.



6. Fan Y., Moon J. Nanoparticle drug delivery systems designed to improve cancer vaccines and immunotherapy. *Vaccines*. 2015; 3:662-685. doi:10.3390/vaccines3030662.
7. Lewinski N., Colvin V., Drezek R. Cytotoxicity of nanoparticles. *Small*. 2008; 4(1): 26-49. doi: 10.1002/smll.200700595.
8. Chaoliang T., Xiao H., Hua Z. Synthesis and applications of graphene based noble metal nanostructures. *MaterialsToday*. 2013; 16(1-2): 29-36. DOI: 10.1016/j.mattod.2013.01.021.
9. Lilli R. Patogistologičeskaja tehnika i praktičeskaja gistohimija. M.; Mir, 1969:377-378.
10. Mühlfeld C., Rothen-Rutishauser B., Blank F., Vanhecke D., Ochs M., Gehr P. Interactions of nanoparticles with pulmonary structures

and cellular responses. *Am J. Physiol. Lung. Cell Mol. Physiol.* 2008; 294(5): 817-829. doi:10.1152/ajplung.00442.2007.

11. Khranovska N., Skachkova O., Sovenko V., Sydor P., Inomistova M., Melnyk V. Phenotypic and functional properties of generated dendritic cells in lung cancer patients. *Cell and Organ Transplantation*. 2016; 4(2):C. 156-161. doi:10.22494/cot.v4i2.63.

12. Sohaebuddin S., Thevenot P., Baker D., Eaton J., Tang L. Nanomaterial cytotoxicity is composition, size, and cell type dependent. *Part. Fibre Toxicol.* 2010; 7(22): 1-17. doi.org/10.1186/1743-8977-7-22.

Надійшла до редколегії 16.10.17

О. Скачкова, канд. биол. наук, С. Антонюк, науч. сотр., В. Орел, д-р биол. наук, проф.,

Н. Храновская, канд. биол. наук, ст. науч. сотр.

Национальный институт рака, Киев, Украина,

М. Иномистова, канд. биол. наук

УНЦ "Институт биологии и медицины", Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

### ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ГЕНЕРИРОВАННЫХ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

*Целью исследования было изучить свойства генерированных дендритных клеток (ДК) из моноцитов периферической крови, нагруженных наночастицами (НЧ) оксида железа. Результаты цитологических исследований показали, что в генерируемых ДК практически здоровых людей и онкологических больных способность поглощать НЧ железа  $Fe_3O_4$  не отличается. Установлена наиболее оптимальная концентрация НЧ оксида железа  $Fe_3O_4$  для нагрузки ДК –  $8 \times 10^{-12}$  мг/мл. Показано, что НЧ оксида железа  $Fe_3O_4$  практически не влияют на жизнеспособность, уровень апоптоза и распределение генерированных ДК по фазам клеточного цикла на 8-е сутки культивирования (время экспозиции с НЧ – 24 часа); увеличение срока культивирования ДК с НЧ до 9-10 суток (время экспозиции с НЧ – 48-72 часа) приводит к увеличению количества клеток в G2/M-фазе клеточного цикла.*

*Ключевые слова: иммунотерапия, дендритные клетки, наночастицы оксида железа, поглощающая активность и жизнеспособность дендритных клеток.*

O. Skachkova, PhD., S. Antonuk, researcher, V. Orel, DSc, N. Khranovska, PhD

Ukrainian National Cancer Center, Kyiv, Ukraine,

M. Inomistova, PhD

ESC "Institute of Biology and medicine", Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

### THE INFLUENCE OF IRON OXIDE NANOPARTICLES ON THE VIABILITY OF THE GENERATED HUMAN DENDRITIC CELLS

*The aim of the study was to investigate the properties of generated dendritic cells (DC) from monocytes of peripheral blood loaded with nanoparticles (NP) of iron oxide. The results of cytological studies showed that the ability to absorb  $Fe_3O_4$  iron NP in generated DCs of healthy donors and cancer patients did not differ. It was established that the most optimal concentration of  $Fe_3O_4$  iron oxide NPs for loading of DCs was  $8 \times 10^{-12}$  mg/ml. It was shown that  $Fe_3O_4$  iron oxide NPs practically does not affect viability, apoptosis and distribution of generated DCs along the phases of the cell cycle on the 8th day of cultivation (exposure time with the NP – 24 hours). Increase of the DC cultivation period with the NPs to 9-10 days (exposure time from the NP – 48-72 hours) leads to the increase in the number of cells in the G2/M phase of the cell cycle.*

*Key words: immunotherapy, dendritic cells, iron oxide nanoparticles, phagocytic activity and viability of dendritic cells.*

УДК 612.82/83; 612.821

М. Бондаренко, канд. біол. наук, О. Бондаренко, канд. біол. наук,

В. Кравченко, канд. біол. наук, М. Макарчук, д-р біол. наук

ННЦ "Інститут біології та медицини", Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

### ФОРМУВАННЯ ДОВІЛЬНОЇ УВАГИ У ЧОЛОВІКІВ ТА ЖІНОК ПРИ ВИКОНАННІ ЗАВДАНЬ ІЗ ВИСОКИМ КОГНІТИВНИМ НАВАНТАЖЕННЯМ

*Досліджували статеві відмінності в мозкових механізмах, що лежать в основі перемикання між мимовільною та довільною увагою. У 20 чоловіків та 20 жінок порівнювали час реакції, кількість помилок та електричну активність головного мозку під час виконання емоційного Струп-тесту на фоні візуального контенту, що містить афективні зображення за умови презентації стимулів через домінуюче око та через недомінуюче. У зазначених умовах створювалась модель значного когнітивного навантаження, коли складно правильно реагувати на пріоритетні характеристики стимулу. Виявлено залежні від статі патерни мозкової активності: у жінок тестові завдання посилюють спектральну потужність у тета-діапазоні переважно лівої півкулі, тоді як у чоловіків за таких умов знижується потужність альфа-ритму в тім'яно-потиличній асоціативній корі з локальним підвищенням тета-ритму в задньолобових ділянках та бета-ритму в лівій префронтальній зоні. За високого когнітивного навантаження, створеного відволікаючим візуальним змістом та подачею зорових стимулів через недомінуюче око, мозкові механізми довільної уваги забезпечують більш ретельний аналіз релевантних стимулів у жінок порівняно з чоловіками, що виявляється в наданні точніших відповідей за довший період часу.*

*Ключові слова: увага, емоційний Струп-тест, IAPS, EEG, недомінуюче око, статеві відмінності.*

**Вступ.** Увага є однією з базових когнітивних функцій головного мозку, що дозволяє вибірково зосередитись на сприйнятті одних об'єктів при ігноруванні інших. З'ясування механізмів, що лежать в основі перемикання між мимовільною та довільною увагою, є вкрай важливим завданням психофізіології, оскільки сучасні реалії вказують на подальше збільшення інформаційного потоку, в

якому утримувати фокус стає все більшим викликом для людини, що часто призводить до неправильних рішень. Стандартною моделлю для вивчення взаємодії автоматичних та контрольованих процесів перемикання уваги є парадигма Струп-тесту [Stroop, 1935], у рамках якої обстежувані стикаються з так званими "конфліктними" завданнями, коли вони мають звертати увагу на певний