

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ



УДК 574.24

**Наночастицы городской пыли вызывают
провоспалительную активацию нейтрофилов и макрофагов****А.Н. Павлюченкова^{1, 2, 3} , Н.В. Воробьева⁴ , А.А. Дашкевич^{1, 2} , Л.А. Зиновкина^{1, 2} ,
А.И. Иванеев⁵ , М.С. Ермолин⁵ , П.С. Федотов^{1, 5} , Р.А. Зиновкин¹ ,
М.А. Челомбитько¹ , Б.В. Черняк^{1, *} **¹Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 40;²Факультет биоинженерии и биоинформатики, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 73;³Сектор эволюционной цитогеронтологии и ⁴кафедра иммунологии, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12;⁵Институт геохимии и аналитической химии имени В.И. Вернадского, Российская академия наук, Россия, 119334, г. Москва, ул. Косыгина, д. 19

*e-mail: bchernyak1@gmail.com

Частицы городской пыли служат важнейшим патогенным фактором при заболеваниях дыхательных путей, таких как астма и хроническая обструктивная болезнь легких, а также повышают риск развития сердечно-сосудистых заболеваний и рака легких. Наночастицы (НЧ) различного происхождения являются важным компонентом городской пыли, однако их воздействие на организм человека практически не изучено. В настоящей работе было исследовано влияние НЧ городской пыли на клетки врожденного иммунитета, нейтрофилы и макрофаги *in vitro*. В работе были использованы НЧ, выделенные из образцов городской пыли с помощью метода проточного фракционирования частиц во вращающейся спиральной колонке. Показано, что НЧ пыли вызывают статистически значимое повышение продукции активных форм кислорода в нейтрофилах человека. Преинкубация нейтрофилов с НЧ пыли приводила к четырехкратному усилению продукции активных форм кислорода в ответ на хемоаттрактантный пептид *N*-формил-метионил-лейцил-фенилаланин, что свидетельствует об эффекте праймирования нейтрофилов наночастицами. У макрофагов, полученных при дифференцировке клеток моноцитарной линии ТНР-1, НЧ пыли стимулировали секрецию провоспалительных цитокинов, фактора некроза опухоли и интерлейкина-6. Добавление антибиотика полимиксина В, способного связывать липополисахарид бактериальной стенки, снижало воспалительную активацию нейтрофилов и макрофагов. Полученные данные указывают на то, что провоспалительное действие НЧ городской пыли на нейтрофилы и макрофаги, по крайней мере отчасти, связано с присутствием в них липополисахарида бактериальной стенки.

Ключевые слова: наночастицы, городская пыль, клетки врожденного иммунитета, воспалительная активация, нейтрофилы, макрофаги

DOI: 10.55959/MSU0137-0952-16-79-3-5

Введение

Городская пыль представляет собой сложный полидисперсный объект окружающей среды [1]. Частицы городской пыли образуются как в результате выветривания городских почв, так и в результате антропогенной деятельности (автомобильных и промышленных выбросов, строительства, переработки бытовых отходов и пр.) [2]. Они являются одним из важных экологических факторов, угрожающих здоровью человека, особенно при заболеваниях дыхательных путей, та-

ких как астма и хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), а также повышают риск развития сердечно-сосудистых заболеваний и рака легких [3]. Эколого-эпидемиологические исследования, проведенные в городах России, подтвердили связь между содержанием частиц пыли в воздухе и заболеваемостью населения [4]. Важную роль в патогенном действии частиц пыли играет их взаимодействие с клетками врожденного иммунитета: нейтрофилами, макрофагами и тучными клетками.

© Павлюченкова А.Н., Воробьева Н.В., Дашкевич А.А., Зиновкина Л.А., Иванеев А.И., Ермолин М.С., Федотов П.С., Зиновкин Р.А., Челомбитько М.А., Черняк Б.В., 2024

Основную массу взвешенной в атмосфере пыли составляют микрочастицы размером менее 10 мкм (PM10) и 2,5 мкм (PM2.5). Микрочастицы пыли достаточно хорошо изучены, а их содержание в атмосфере контролируется во всех развитых странах мира. Значительно хуже изучены наночастицы (НЧ) городской пыли, имеющие размеры менее 100 нм. Их выделение и исследование осложнено вследствие крайне низкого содержания в окружающей среде. НЧ пыли обладают чрезвычайно высокой подвижностью в городских экосистемах [5, 6]. Они долгое время находятся во взвешенном состоянии в атмосфере, а также способны проникать глубоко в дыхательные пути и далее в кровотоки. В крупных городах содержание НЧ городской пыли антропогенного происхождения может превышать содержание природных НЧ [7, 8]. Основными источниками НЧ городской пыли могут служить продукты изнашивания автомобильных покрышек и неполного сгорания топлива [9, 10]. Антропогенные НЧ содержат значительно больше токсичных и потенциально токсичных элементов, таких как тяжелые металлы (Pb, Cd, Cu, Ni), в сравнении с микрочастицами пыли [11, 12]. Кроме того, НЧ пыли обладают очень высокой сорбционной активностью и способны сорбировать компоненты бактерий, грибов, пыльцы растений и других биологических объектов. При исследовании микрочастиц городской пыли было показано, что токсичность и провоспалительное действие частиц летней пыли существенно выше, чем у частиц, собранных зимой [13], что, видимо, связано с более высоким содержанием биологических компонентов.

К настоящему времени взаимодействие НЧ с клетками изучается исключительно на примерах искусственных НЧ. В частности, показано, что НЧ оксидов титана, церия и цинка вызывают активацию НАДФН-оксидазы и дегрануляцию нейтрофилов [14, 15]. Эти же НЧ [16], а также НЧ диоксида кремния [17] и углеродные НЧ [18] вызывают воспалительную активацию макрофагов.

Нейтрофилы играют важную роль в патогенезе легочных заболеваний, связанных с загрязнением атмосферы [19]. Они являются наиболее многочисленными лейкоцитами крови и быстро рекрутируются в очаги воспаления. При стимуляции различными физиологическими и нефизиологическими агентами в них активируется НАДФН-оксидаза, что ведет к массивному выбросу активных форм кислорода (АФК) и образованию хлорноватистой кислоты (НОСl). В присутствии АФК переходные металлы (в особенности железо), содержащиеся в частицах пыли, могут катализировать реакцию Фентона, в которой образуется чрезвычайно активный окислитель гидроксид-анион-радикал, повреждающий окружающие ткани. При гиперактивации нейтрофилов они способны выбрасывать из клетки декон-

денсированный хроматин, который образует внеклеточные ловушки (neutrophil extracellular traps, NETs). Выброс этих ловушек сопровождается некротической гибелью клеток, NETозом, который, наряду с защитными функциями, участвует в развитии тромбоза и других патологий [20].

Наряду с нейтрофилами, макрофаги относятся к клеткам врожденного иммунитета. Они являются частью системы мононуклеарных фагоцитов, куда помимо них входят также их костномозговые предшественники, циркулирующие моноциты и дендритные клетки. Тканевые, или резидентные, макрофаги расположены практически во всех органах человека, где они фагоцитируют патогены и погибшие клетки, тем самым играя критическую роль в поддержании тканевого гомеостаза [21]. Альвеолярные макрофаги, перитонеальные макрофаги и клетки Купфера в печени первыми реагируют на патогены, поступающие в организм с вдыхаемым воздухом или через пищеварительный тракт. Активация макрофагов происходит за счет распознавания патогенов специфическими рецепторами, расположенными как на поверхности клетки (10 Толл-подобных рецепторов, TLR), так и в цитоплазме (22 НОД-подобных рецептора (NLRs), а также рецепторы РНК и ДНК). Взаимодействие этих рецепторов со своими лигандами запускает различные сигнальные пути, ведущие к воспалительной активации макрофагов [22]. Воспалительная активация макрофагов ведет к выбросу АФК, усилению фагоцитарной активности, синтезу и секреции многочисленных провоспалительных цитокинов и других медиаторов, которые во многом определяют течение воспалительного процесса.

В настоящей работе была исследована реакция нейтрофилов и макрофагов человека на присутствие НЧ городской пыли. В работе были использованы НЧ, выделенные из образцов городской пыли с помощью метода проточного фракционирования частиц во вращающейся спиральной колонке.

Материалы и методы

Выделение НЧ пыли. Работа была выполнена на образце пыли, собранном летом 2023 г. в Москве с поверхностей на территории, прилегающей к третьему транспортному кольцу, как описано ранее [23]. Для выделения и концентрирования НЧ городской пыли было использовано сочетание метода проточного фракционирования частиц во вращающейся спиральной колонке [11, 24]. ВСК представляет собой трубку из политетрафторэтилена с внутренним диаметром 1,6 мм и внутренним объемом 20 мл, намотанную на сердечник планетарной центрифуги. Для выделения НЧ готовили суспензию из 1 г пыли в 10 мл воды, далее полученную суспензию вводили в ВСК. Выделение НЧ проводили при скорости вращения центрифуги

800 об./мин и скорости потока жидкости-носителя 0,3 мл/мин. При данных условиях разделения из колонки элюируются НЧ, а более крупные частицы удерживаются в колонке. Средняя масса НЧ, извлеченных из 1 г городской пыли, составляла $0,42 \pm 0,15$ мг. Для концентрирования НЧ использовали ультрафильтрацию на целлюлозных мембранных фильтрах Millipore (Merck, Германия) с диаметром пор 50 нм. Фильтры с НЧ обрабатывали в течение 5 мин в ультразвуковой бане и в полученную суспензию добавляли концентрированный фосфатно-солевой буфер (ФСБ; Sigma, США) для получения изотонического раствора.

Воду для получения НЧ и экспериментов готовили с помощью системы Milli-Q® (Merck, Германия) снабженной гидрофильными мембранными фильтрами Millipak® 0,22 мкм. В воде полностью отсутствовали НЧ, что было подтверждено методом динамического светорассеяния.

Для исключения бактериальной контаминации суспензию НЧ обрабатывали ультрафиолетовым светом с помощью УФ-лампы «Кристалл БНБ 01-11-001» (Россия) в течение 5 мин. Стерильность полученных НЧ подтверждали с помощью контрольных посевов (4 сут, 5% CO₂, 37°C) в среде RPMI 1640 с 10% эмбриональной телячьей сыворотки (Fetal Bovine Serum, FBS, Панэко, Россия).

Определение размерного распределения НЧ пыли. НЧ городской пыли имеют тенденцию к агрегации, и добавление ФСБ усиливает эту тенденцию из-за увеличения ионной силы. Для предотвращения агрегации к суспензии НЧ перед добавлением ФСБ добавляли концентрированный раствор бычьего сывороточного альбумина (БСА; Sigma, США) до финальной концентрации 0,2%. Размерное распределение частиц и дзета-потенциал выделенных НЧ в суспензии, содержащей 0,2% БСА, измеряли методом динамического светорассеяния на анализаторе размеров НЧ Zetasizer Nano ZS (Malvern, Великобритания).

Для определения содержания липополисахаридов (ЛПС) бактериальной стенки в суспензии НЧ использовали LAL-тест, основанный на реакции лизата клеток крови (амебоцитов) мечехвостов рода *Limulus* с ЛПС. Наборы для хромогенного LAL-теста Lonza Kinetic-QCL (Fisher Sci., США) использовали согласно инструкции производителя.

Выделение первичных нейтрофилов человека. Все исследования с кровью проводили в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации 2000 г. и протоколом Конвенции Совета Европы о правах человека и биомедицине 1999 г. Образцы крови были получены с добровольного согласия доноров в отделении переливания крови Российской детской клинической больницы ФГБОУ ВО «Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н.И. Пирогова» Минздрава России. Донорами являлись здоровые мужчины

в возрасте 25–30 лет. Периферическую кровь забирали в утренние часы натощак в полипропиленовые пробирки с гепарином. Нейтрофилы выделяли с помощью центрифугирования в одноступенчатом градиенте плотности Ficoll-Нураque (плотность 1,077 г/см³) в течение 25 мин при 400g и комнатной температуре, как описано ранее [25]. Основную массу эритроцитов удаляли путем седиментации в декстране. Оставшиеся эритроциты лизировали в гипотоническом (0,2%-ном) растворе NaCl в течение 30 с и далее восстанавливали изотоничность путем добавления 1,6%-ного раствора NaCl. Нейтрофилы ресуспендировали в полной культуральной среде (ПКС), включающей RPMI 1640, 10 mM HEPES, 2 mM L-глутамин и 1%-ную инактивированную нагреванием FBS. Полученные клетки были представлены на 98% гранулоцитами, а их жизнеспособность составляла не менее 99%, что определяли по исключению 0,1%-ного трипанового синего. Нейтрофилы перед экспериментами инкубировали в течение 1 ч при температуре 4°C, а затем использовали в течение 3 ч.

Оценка влияния НЧ на образование АФК в нейтрофилах. Для оценки накопления суммарных АФК (внутри- и внеклеточных) при активации нейтрофилов использовали метод регистрации люминол-зависимой хемилюминесценции, как описано ранее [25, 26]. Свежевыделенные нейтрофилы ($4,25 \times 10^5$ клеток) инкубировали в ПКС с 8%-ной FBS (HyClone, США) и 0,04% БСА в течение 40 мин при 37°C и 5% CO₂. В среду инкубации добавляли 1 нг/мл ЛПС, 40 мкг/мл НЧ или 40 мкг/мл НЧ в комбинации с 10 мкг/мл полимиксина В (ПМВ). Далее ПКС заменяли на фосфатный буфер Кребса-Рингера (120 mM NaCl, 5 mM KCl, 1,7 mM KH₂PO₄, 8,3 mM Na₂HPO₄, 10 mM глюкоза, 1 mM CaCl₂, 1,5 mM MgCl₂, pH 7,3). К 2×10^5 клеток добавляли люминол (конечная концентрация, 80 мкМ) и проводили регистрацию окислительного взрыва. Для изучения эффекта праймирования НЧ пыли (40 мкг/мл) добавляли к нейтрофилам чело- века за 40 мин до начала измерения хемилюминесценции, стимулированной 800 нМ fMLP. 10 мкг/мл ПМВ добавляли одновременно с НЧ за 40 мин до стимуляции fMLP. В контрольных экспериментах вместо НЧ добавляли тот же объем буфера, в котором они были суспендированы. Люминесценцию анализировали сразу после стимуляции при 37°C в планшетном хемилюминометре Lucy 1 (Anthos Labtec, Австрия).

Оценка влияния НЧ на воспалительную активацию макрофагов. Исследования проводили на макрофагах, полученных при дифференцировке клеток моноцитарной линии THP-1. Данная клеточная линия получена от пациента с острым моноцитарным лейкозом и широко применяется в исследованиях по изучению механизмов воспалительной активации макрофагов и оценке противовоспалительной активности различных соеди-

нений [27, 28]. Данная клеточная линия уже использовалась для оценки действия разных типов НЧ на макрофаги [29–31]. Клетки культивировали в среде RPMI 1640 (ПанЭко, Россия) с добавлением 0,3 г/л L-глутамин (ПанЭко, Россия) и 10%-ным содержанием FBS (HyClone, США). Для экспериментов клетки в концентрации 500 тыс. клеток/мл высевали на 12-луночные планшеты для адгезионных культур (NEST, Китай), добавляли 100 нМ форболового эфира (Sigma, США) для дифференцировки и инкубировали 48 ч при 37°C и 5% CO₂. Дифференцированные клетки инкубировали с 40 мкг/мл НЧ или 5 нг/мл ЛПС (*E. coli* 0127:B8, Sigma, США) в течение 24 ч с добавлением или без добавления 10 мкг/мл ПМВ (Джодас Экспоим, Россия). Содержание провоспалительных цитокинов определяли в культуральной среде после центрифугирования. Уровни фактора некроза опухоли (ФНО), интерлейкина-6 (ИЛ-6) и интерлейкина-1 β (ИЛ-1 β) определяли с помощью коммерческих наборов для иммуноферментного анализа (Вектор-Бест, Россия) согласно инструкции производителя.

Статистическая обработка. Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы GraphPad InStat 3.06 (GraphPad Software, США). Сравнение между несколькими экспериментальными группами проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа (one-way ANOVA), сопровождаемого тестом множественного сравнения Бонферрони. Данные на рисунках представлены как среднее \pm стандартная ошибка среднего пяти независимых экспериментов. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Размерное распределение НЧ пыли. Распределение по размерам НЧ пыли, полученных методом проточного фракционирования частиц во вращающейся спиральной колонке, определяли методом динамического светорассеяния. Оценивали численное распределение (аналог молярной концентрации растворов) или объемное распределение (аналог весовой концентрации растворов) частиц в суспензиях. Размеры большей части частиц (95% по массе) составляли 110–130 нм. Кроме того, в выделенной фракции присутствовало небольшое количество частиц (менее 5% по массе) со средним размером 300 нм. Таким образом, выделенные частицы с небольшим допущением можно считать фракцией НЧ. Размерное распределение частиц практически совпадало с таковым для образцов, описанных ранее [23]. В первом случае средний размер НЧ составил 120 нм, а во втором – 220 нм. Содержание агрегатов с размером более 300 нм было незначительным. Измерения зета-потенциала НЧ показали, что его среднее значение составляет -20 мВ, что объясняет

склонность НЧ к агрегации, которая наблюдалась в эксперименте. Агрегация НЧ ускорялась в среде с высокой ионной силой и предотвращалась в присутствии БСА. Распределение НЧ по размерам в присутствии альбумина менялась незначительно. Суспензия НЧ в присутствии 0,2% альбумина была стабильна при хранении при 4°C – по крайней мере, в течение 2 нед. Альбумин использовался ранее для стабилизации суспензии искусственных НЧ различной природы [32].

Содержание ЛПС бактериальной стенки в НЧ городской пыли. При анализе содержания ЛПС бактериальной стенки в суспензии НЧ, проведенном с помощью LAL-теста, были получены значения в диапазоне 300–400 EU/мг. Международные эндотоксиновые единицы (EU) отражают биологическую активность ЛПС, и одна EU соответствует 0,1–0,2 нг ЛПС в зависимости от типа. Соответственно, содержание ЛПС в образцах НЧ пыли может варьировать в интервале 30–80 нг/мг. Ранее сообщалось, что присутствие НЧ оксидов Cu, Ti и Si может нарушать точность измерений ЛПС с помощью LAL-теста, особенно при высокой концентрации НЧ [33]. В наших измерениях НЧ пыли использовались в значительно более низких концентрациях. Следует отметить, что LAL-тест реагирует не только с ЛПС, но также и с компонентами оболочки грибов, бета-1,3-глюканами. Требуется дополнительное исследование для выяснения того, какие еще органические соединения, помимо ЛПС, присутствуют в НЧ пыли.

Для проверки возможного участия ЛПС в биологических эффектах НЧ пыли был использован пептидный антибиотик ПМВ, который способен связывать ЛПС [34]. Добавление 10 мкг/мл ПМВ вызывало значительное снижение абсолютного значения зета-потенциала с -20 мВ до -13 мВ, что подтверждает его связывание с НЧ и нейтрализацию отрицательного заряда ЛПС. В то же время, ПМВ не вызывал заметной агрегации НЧ. Природа связывания ЛПС с НЧ пыли неизвестна. Возможно, ЛПС связывается с НЧ непрочно, образуя так называемую «корону». Образование короны при взаимодействии НЧ с белками, липидами и другими биологически активными макромолекулами было подробно исследовано применительно к искусственным НЧ [35–37]. В частности, было показано образование короны при взаимодействии НЧ TiO₂ с ЛПС в присутствии сыворотки крови [38]. В то же время, сообщалось, что связывание ЛПС с поверхностью НЧ золота вызывало снижение образования короны при инкубации в плазме крови [39]. Необходимо проведение дополнительных исследований для выяснения механизмов связывания ЛПС и НЧ пыли.

Активация нейтрофилов под действием НЧ пыли. Основным источником АФК в нейтрофилах является НАДФН-оксидаза, локализованная в специфических гранулах и плазматической мем-

бране клеток [40]. Активация НАДФН-оксидазы происходит либо при связывании специфических лигандов с рецепторами, либо при повышении проницаемости плазматической мембраны с последующим повышением концентрации ионов Ca^{2+} в цитоплазме. Примером первого механизма активации служит взаимодействие нейтрофилов с хемоаттрактантным пептидом fMLP, который входит в состав бактериальных белков. На рис. 1 видно, что добавление fMLP к нейтрофилам вызывает повышение продукции АФК, измеренное по усилению хемилюминесценции люминола.

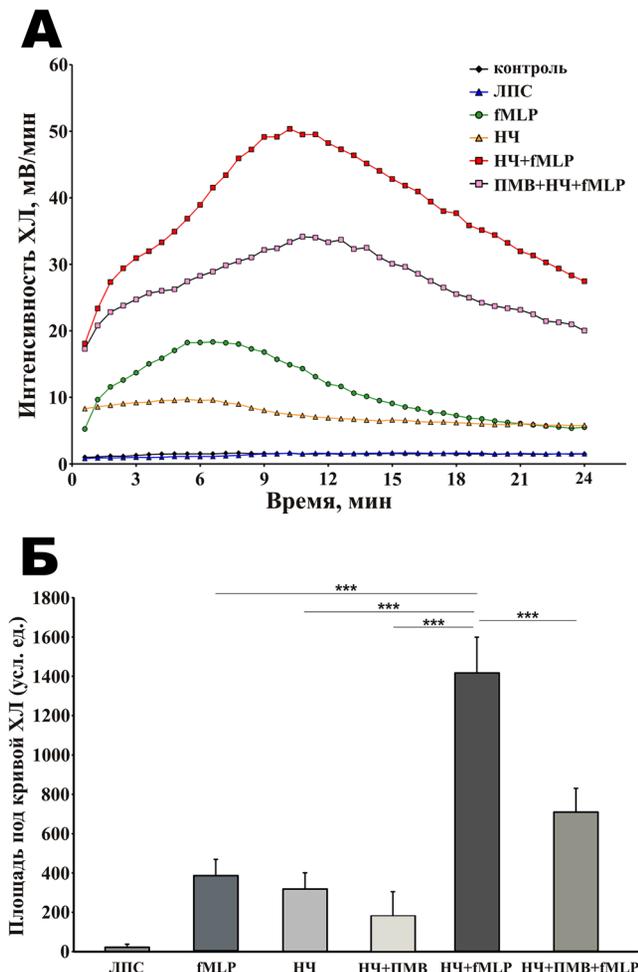


Рис. 1. Активация образования активных форм кислорода (АФК) в нейтрофилах человека под действием наночастиц (НЧ) пыли и fMLP. Нейтрофилы здоровых доноров инкубировали в присутствии 1 нг/мл ЛПС, 40 мкг/мл НЧ пыли или 40 мкг/мл НЧ пыли с 10 мкг/мл полимиксина В (ПМВ) в течение 40 мин ($37^{\circ}C$, 5% CO_2) и регистрировали люминол-зависимую хемилюминесценцию. Для изучения эффекта праймирования НЧ пыли (40 мкг/мл) добавляли к нейтрофилам человека за 40 мин до начала измерения хемилюминесценции, стимулированной 800 нМ fMLP. 10 мкг/мл ПМВ добавляли одновременно с НЧ. (А) Типичные кинетические кривые хемилюминесценции. По оси абсцисс: время, мин. По оси ординат: интенсивность хемилюминесценции, мВ/мин. (Б) Эмиссия света, индуцированная активаторами окислительного взрыва, выраженная в виде площади под кривыми хемилюминесценции; $n = 5$; *** – $p < 0,001$. Сокращения: ЛПС, липополисахарид; НЧ, наночастицы пыли; fMLP, *N*-формил-метионил-лейцил-фенилаланин; ПМВ: ХЛ, хемилюминесценция.

Добавление НЧ пыли к нейтрофилам вызвало усиление продукции АФК, близкое по величине к эффекту fMLP (рис. 1). Добавление 10 мкг/мл пептидного антибиотика ПМВ, который способен связывать ЛПС [34], существенно снизило эффект НЧ, что указывает на участие ЛПС в активации нейтрофилов. Однако очищенный препарат ЛПС не вызывал заметного повышения АФК (рис. 1), что согласуется с литературными данными [41].

Предположение о том, что ПМВ вызывает агрегацию НЧ, не подтвердилось данными динамического светорассеяния. Можно предположить, что ЛПС, сорбированный на НЧ, приобретает особые свойства. Возможно также, что действие НЧ пыли зависит от других биологических компонентов – в частности, бета-глюканов из клеточной стенки грибов, связывающихся с ПМВ. Стоит отметить, что растворимые бета-глюканы не способны активировать продукцию АФК в нейтрофилах [42], так что и в этом случае сорбция на НЧ может изменять свойства молекулы.

Дальнейшие эксперименты на нейтрофилах человека были направлены на проверку возможного эффекта «праймирования» под действием НЧ пыли. Праймирование нейтрофилов наблюдается при продолжительной преинкубации клеток с различными цитокинами и иными факторами и приводит к значительному усилению последующей активации – например, под действием fMLP [43]. Для изучения эффекта праймирования нейтрофилы инкубировали с 40 мкг/мл НЧ в течение 40 мин, а после перевода клеток в буфер Кребс-Рингер стимулировали окислительный взрыв 800 нМ fMLP. Преинкубация нейтрофилов человека с НЧ пыли приводила к четырехкратному усилению ответа клеток на fMLP (рис. 1). Одним из природных компонентов микробного происхождения, которые способны вызывать праймирование нейтрофилов, является ЛПС [41]. Для проверки его возможного участия в праймировании под действием НЧ пыли был использован ПМВ. Ранее было показано, что он подавляет праймирование нейтрофилов под действием ЛПС [44]. В наших экспериментах (рис. 1) добавление ПМВ частично предотвращало эффект праймирования под действием НЧ пыли. Таким образом, праймирование нейтрофилов под действием НЧ пыли отчасти может быть связано с присутствием в них ЛПС.

Инфицирование грамотрицательными бактериями, клеточные стенки которых содержат ЛПС, является глобальной проблемой, особенно для людей с ослабленным иммунитетом. ЛПС является одним из основных факторов, вызывающих острую воспалительную реакцию. При попадании в кровоток он вызывает симптомы септического шока, такие как расширение сосудов, и полиорганную недостаточность. Праймирование нейтрофилов под действием ЛПС приводит к их гиперактивации низкими дозами других активаторов,

таких как fMLP, что приводит к повреждению тканей при воспалении.

Активация макрофагов под действием НЧ пыли.

Исследования воспалительной активации макрофагов под действием НЧ городской пыли проводили на макрофагах, полученных при дифференцировке клеток моноцитарной линии THP-1. Данная клеточная линия широко применяется в исследованиях по изучению механизмов воспалительной активации макрофагов и, в частности, для оценки провоспалительного действия разных типов искусственных НЧ [29–31]. В качестве маркеров воспалительной активации была исследована секреция основных провоспалительных цитокинов ФНО, ИЛ-6 и ИЛ-1 β .

Результаты измерения уровня ФНО и ИЛ-6 в инкубационной среде показали, что НЧ вызывают их секрецию макрофагами (рис. 2). ПМВ частично снижал эффект действия НЧ на секрецию обоих цитокинов. Очищенный ЛПС также стимулировал секрецию ФНО и ИЛ-6, и его эффект полностью блокировался ПМВ. Эти данные позволяют предположить, что провоспалительное действие НЧ на макрофаги отчасти обусловлено присутствующим в них ЛПС. В то же время, либо сами НЧ, либо сорбированные на них иные биологические компоненты также стимулируют воспалительную активацию макрофагов.

Активация макрофагов ЛПС инициируется взаимодействием с TLR4 и образованием ЛПС-связывающего комплекса с CD14 и MD-2 на клеточной поверхности. Затем с помощью адапторных молекул происходит активация различных проте-

инкиназ и фосфоинозитид-3-киназы (PI3K), что в конечном итоге приводит к активации NF- κ B, его транслокации в ядро и последующей транскрипции воспалительных цитокинов, в первую очередь – ФНО и ИЛ-6 [45].

Как показали результаты анализа содержания ИЛ-1 β , ни ЛПС, ни НЧ не стимулируют его секрецию макрофагами (рис. 2). Однако неожиданно оказалось, что НЧ в сочетании с ПМВ стимулирует секрецию ИЛ-1 β .

Трансляция ИЛ-1 β приводит к синтезу неактивного предшественника. Созревание ИЛ-1 β происходит путем протеолитического расщепления предшественника под действием каспазы-1. Активация каспазы-1, в свою очередь, происходит в составе многокомпонентного комплекса инфламмосомы NLRP3 [46]. Для активации инфламмосомы в макрофагах недостаточно воздействия ЛПС. ЛПС-зависимая активация NF- κ B приводит лишь к экспрессии и накоплению предшественника ИЛ-1 β и компонентов инфламмосомы. Вторым сигналом, необходимым для активации инфламмосомы, могут служить самые различные агенты – в том числе, внеклеточные молекулы АТФ, порообразующие токсины, кристаллы мочевой кислоты, пирофосфата кальция и холестерина и т.д. Известно, что ПМВ в концентрациях >20 мкг/мл может активировать в макрофагах NLRP3 инфламмосому, ответственную за продукцию зрелого ИЛ-1 β [47]. Возможно, ПМВ в более низкой концентрации в комбинации с НЧ пыли формирует подобный «второй сигнал» для активации инфламмосомы.

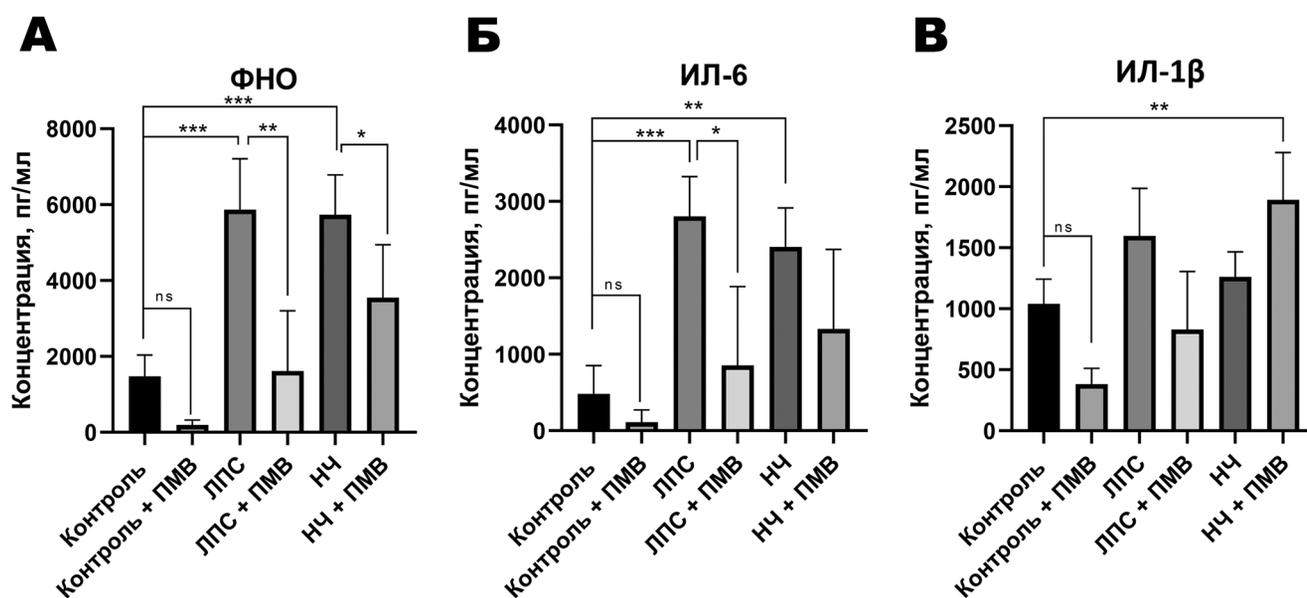


Рис. 2. Влияние наночастиц (НЧ) пыли на секрецию цитокинов воспаления в макрофагах человека. К стимулированным к дифференцировке с помощью форболового эфира клеткам линии THP-1 добавляли 40 мкг/мл НЧ или 5 нг/мл ЛПС и проводили инкубацию в течение 24 ч с 10 мкг/мл полимиксина В (ПМВ). В супернатанте, полученном после центрифугирования кондиционированной среды, измеряли содержание цитокинов с помощью коммерческих наборов для иммуноферментного анализа. Гистограммы отражают содержание ФНО (А), ИЛ-6 (Б) и ИЛ-1 β (В). Результаты представлены как среднее значение \pm стандартное отклонение; $n = 5$; * – $p \leq 0,05$, ** – $p \leq 0,01$, *** – $p \leq 0,001$.

Воспалительная реакция является защитной, однако чрезмерная выработка ИЛ-1 β , ФНО и ИЛ-6 вызывает острую воспалительную реакцию, которая характерна, в частности, для респираторных заболеваний [22, 48]. Содержание цитокинов ИЛ-1 β , ФНО и ИЛ-6 повышено в мокроте и бронхоальвеолярном смыве у пациентов с астмой и ХОБЛ, а их уровень коррелирует с тяжестью заболевания, что отражает важную роль данных цитокинов в патогенезе респираторных заболеваний [49–53].

Таким образом, полученные в нашей работе данные позволяют предположить, что попадание НЧ городской пыли в кровеносные сосуды дыха-

тельных путей и других органов может стимулировать в них воспалительные реакции нейтрофилов и макрофагов. Этот эффект может быть особенно ярко выражен в очагах воспаления, возникших до вдыхания пыли, в частности, при ХОБЛ и астме.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект №23-14-00084). Работа с нейтрофилами человека одобрена Комиссией по биоэтике МГУ имени М.В. Ломоносова (заявка №6-ч ред., заседание комиссии №131-д 31 мая 2021 г.), все доноры дали информированное согласие. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Giere R., Querol X. Solid particulate matter in the atmosphere. *Elements*. 2010;6(4):215–222.

2. Haynes H.M., Taylor K.G., Rothwell J., Byrne P. Characterisation of road-dust sediment in urban systems: a review of a global challenge. *J. Soils Sediments*. 2020;20(12):4194–4217.

3. Loomis D., Grosse Y., Lauby-Secretan B., El Ghissassi F., Bouvard V., Benbrahim-Tallaa L., Guha N., Baan R., Mattock H., Straif K. The carcinogenicity of outdoor air pollution. *Lancet Oncol*. 2013;14(13):1262–1263.

4. Ревич Б.А. Мелкодисперсные взвешенные частицы в атмосферном воздухе и их воздействие на здоровье жителей мегаполисов. *Проблемы экологического мониторинга и моделирования экосистем*. 2018;29(3):53–78.

5. Hu X., Zhang Y., Luo J., Wang T., Lian H., Ding Z. Bioaccessibility and health risk of arsenic, mercury and other metals in urban street dusts from a mega-city, Nanjing, China. *Environ. Pollut*. 2011;159(5):1215–1221.

6. Albanese A., Tang P.S., Chan W.C. The effect of nanoparticle size, shape, and surface chemistry on biological systems. *Annu. Rev. Biomed. Eng*. 2012;14(1):1–16.

7. Saffari A., Daher N., Shafer M.M., Schauer J.J., Sioutas C. Seasonal and spatial variation of trace elements and metals in quasi-ultrafine (PM_{0.25}) particles in the Los Angeles metropolitan area and characterization of their sources. *Environ. Pollut*. 2013;181:14–23.

8. Deng J., Zhang Y., Qiu Y., Zhang H., Du W., Xu L., Hong Y., Chen Y., Chen J. Source apportionment of PM_{2.5} at the Lin'an regional background site in China with three receptor models. *Atmos. Res*. 2018;202:23–32.

9. Dietrich M., O'Shea M.J., Gieré R., Krekeler M.P.S. Road sediment, an underutilized material in environmental science research: a review of perspectives on United States studies with international context. *J. Hazard. Mater*. 2022;432:128604.

10. Phairuang W., Inerb M., Hata M., Furuuchi M. Characteristics of trace elements bound to ambient nanoparticles (PM_{0.1}) and a health risk assessment in southern Thailand. *J. Hazard Mater*. 2022;425:127986.

11. Fedotov P.S., Ermolin M.S., Karandashev V.K., Ladonin D.V. Characterization of size, morphology and elemental composition of nano-, submicron, and micron particles of street dust separated using field-flow fractionation in a rotating coiled column. *Talanta*. 2014;130:1–7.

12. Ermolin M.S., Fedotov P.S., Ivaneev A.I., Karandashev V.K., Fedyunina N.N., Burmistrov A.A. A contribution of

nanoscale particles of road-deposited sediments to the pollution of urban runoff by heavy metals. *Chemosphere*. 2018;210:65–75.

13. Gualtieri M., Øvrevik J., Holme J.A., Perrone M.G., Bolzacchini E., Schwarze P.E., Camatini M. Differences in cytotoxicity versus pro-inflammatory potency of different PM fractions in human epithelial lung cells. *Toxicol. In Vitro*. 2010;24(1):29–39.

14. Babin K., Antoine F., Goncalves D.M., Girard D. TiO₂, CeO₂ and ZnO nanoparticles and modulation of the degranulation process in human neutrophils. *Toxicol. Lett*. 2013;221(1):57–63.

15. Masoud R., Bizouarn T., Trepout S., Wien F., Baciou L., Marco S., Houé Levin C. Titanium dioxide nanoparticles increase superoxide anion production by acting on NADPH oxidase. *PLoS One*. 2015;10(12):e0144829.

16. Poulsen K.M., Albright M.C., Niemuth N.J., Tighe R.M., Payne C.K. Interaction of TiO₂ nanoparticles with lung fluid proteins and the resulting macrophage inflammatory response. *Environ. Sci. Nano*. 2023;10(9):2427–2436.

17. Pavlin M., Lojk J., Strojjan K., Hafner-Bratkovič I., Jerala R., Leonardi A., Križaj I., Drnovšek N., Novak S., Veranič P., Bregar V.B. The relevance of physico-chemical properties and protein corona for evaluation of nanoparticles immunotoxicity-in vitro correlation analysis on THP-1 macrophages. *Int. J. Mol. Sci*. 2022;23(11):6197.

18. Svadlakova T., Holmannova D., Kolackova M., Malkova A., Krejsek J., Fiala Z. Immunotoxicity of carbon-based nanomaterials, starring phagocytes. *Int. J. Mol. Sci*. 2022;23(16):8889.

19. Glencross D.A., Ho T-R., Camiña N., Hawrylowicz C.M., Pfeffer P.E. Air pollution and its effects on the immune system. *Free Radic. Biol. Med*. 2020;151:56–68.

20. Vorobjeva N.V., Chernyak B.V. NETosis: molecular mechanisms, role in physiology and pathology. *Biochemistry (Mosc.)*. 2020;85(10):1178–1190.

21. Mass E., Nimmerjahn F., Kierdorf K., Schlitzer A. Tissue-specific macrophages: how they develop and choreograph tissue biology. *Nat. Rev. Immunol*. 2023;23(9):563–579.

22. Sheu K.M., Hoffmann A. Functional hallmarks of healthy macrophage responses: their regulatory basis and disease relevance. *Annu. Rev. Immunol*. 2022;40(1):295–321.

23. Ivaneev A.I., Brzhezinskiy A.S., Karandashev V.K., Ermolin M.S., Fedotov P.S. Assessment of sources, environmental, ecological, and health risks of potentially toxic elements in urban dust of Moscow megacity, Russia. *Chemosphere*. 2023;321:138142.

24. Ivaneev A.I., Ermolin M.S., Fedotov P.S., Faucher S., Lespes G. Sedimentation field-flow fractionation in thin channels and rotating columns: from analytical to preparative scale separations. *Sep. Purif. Rev.* 2020;50(4):363–379.
25. Vorobjeva N., Prikhodko A., Galkin I., Pletjushkina O., Zinovkin R., Sud'ina G., Chernyak B., Pinegin B. Mitochondrial reactive oxygen species are involved in chemoattractant-induced oxidative burst and degranulation of human neutrophils *in vitro*. *Eur. J. Cell Biol.* 2017;96(3):254–265.
26. Vorobjeva N., Galkin I., Pletjushkina O., Golyshov S., Zinovkin R., Prikhodko A., Pinegin V., Kondratenko I., Pinegin B., Chernyak B. Mitochondrial permeability transition pore is involved in oxidative burst and NETosis of human neutrophils. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.* 2020;1866(5):165664.
27. Chanput W., Mes J.J., Wichers H.J. THP-1 cell line: an *in vitro* cell model for immune modulation approach. *Int. Immunopharmacol.* 2014;23(1):37–45.
28. Mohd Yasin Z.N., Mohd Idrus F.N., Hoe C.H., Yvonne-Tee G.B. Macrophage polarization in THP-1 cell line and primary monocytes: a systematic review. *Differentiation.* 2022;128:67–82.
29. Kettler K., Giannakou C., de Jong W.H., Hendriks A.J., Krystek P. Uptake of silver nanoparticles by monocytic THP-1 cells depends on particle size and presence of serum proteins. *J. Nanopart. Res.* 2016;18(9):286.
30. Premshkharan G., Nguyen K., Zhang H., Forman H.J., Leppert V.J. Low dose inflammatory potential of silica particles in human-derived THP-1 macrophage cell culture studies – mechanism and effects of particle size and iron. *Chem. Biol. Interact.* 2017;272:160–171.
31. Brzicova T., Javorkova E., Vrbova K., Zajicova A., Holan V., Pinkas D., Philimonenko V., Sikorova J., Klema J., Topinka J., Rossner P. Jr. Molecular responses in THP-1 macrophage-like cells exposed to diverse nanoparticles. *Nanomaterials.* 2019;9(5):687.
32. Zijno A., Cavallo D., Di Felice G., Ponti J., Barletta B., Butteroni C., Corinti S., De Berardis B., Palamides J., Ursini C.L., Fresegna A.M., Ciervo A., Maiello R., Barone F. Use of a common European approach for nanomaterials' testing to support regulation: a case study on titanium and silicon dioxide representative nanomaterials. *J. Appl. Toxicol.* 2020;40(11):1511–1525.
33. Smulders S., Kaiser J.-P., Zuin S., Van Landuyt K.L., Golanski L., Vanoirbeek J., Wick P., Hoet P.H. Contamination of nanoparticles by endotoxin: evaluation of different test methods. *Part. Fibre Toxicol.* 2012;9:41.
34. Bhor V.M., Thomas C.J., Surolia N., Surolia A. Polymyxin B: an ode to an old antidote for endotoxic shock. *Mol. Biosyst.* 2005;1(3):213–222.
35. Monopoli M.P., Aberg C., Salvati A., Dawson K.A. Biomolecular coronas provide the biological identity of nanosized materials. *Nat. Nanotechnol.* 2012;7(12):779–786.
36. Neagu M., Piperigkou Z., Karamanou K., Engin A.B., Docea A.O., Constantin C., Negrei C., Nikitovic D., Tsatsakis A. Protein bio-corona: critical issue in immune nanotoxicology. *Arch. Toxicol.* 2017;91(3):1031–1048.
37. Cai K., Wang A.Z., Yin L., Cheng J. Bio-nano interface: The impact of biological environment on nanomaterials and their delivery properties. *J. Control Release.* 2017;263:211–222.
38. Bianchi M.G., Allegri M., Chiu M., Costa A.L., Blossi M., Ortelli S., Bussolati O., Bergamaschi E. Lipopolysaccharide adsorbed to the bio-corona of TiO₂ nanoparticles powerfully activates selected pro-inflammatory transduction pathways. *Front. Immunol.* 2017;8:866.
39. Li Y., Shi Z., Radauer-Preiml I., Andosch A., Casals E., Luetz-Meindl U., Cobaleda M., Lin Z., Jaber-Douraki M., Italiani P., Horejs-Hoeck J., Himly M., Monteiro-Riviere N.A., Duschl A., Puentes V.F., Boraschi D. Bacterial endotoxin (lipopolysaccharide) binds to the surface of gold nanoparticles, interferes with biocorona formation and induces human monocyte inflammatory activation. *Nanotoxicology.* 2017;11(9–10):1157–1175.
40. Borregaard N., Cowland J.B. Granules of the human neutrophilic polymorphonuclear leukocyte. *Blood.* 1997;89(10):3503–3521.
41. Guthrie L.A., McPhail L.C., Henson P.M., Johnston R.B. Jr. Priming of neutrophils for enhanced release of oxygen metabolites by bacterial lipopolysaccharide. Evidence for increased activity of the superoxide-producing enzyme. *J. Exp. Med.* 1984;160(6):1656–1671.
42. Goodridge H.S., Wolf A.J., Underhill D.M. Beta-glucan recognition by the innate immune system. *Immunol. Rev.* 2009;230(1):38–50.
43. Forehand J.R., Pabst M.J., Phillips W.A., Johnston R.B. Jr. Lipopolysaccharide priming of human neutrophils for an enhanced respiratory burst. Role of intracellular free calcium. *J. Clin. Invest.* 1989;83(1):74–83.
44. Böhmer R.H., Trinkle L.S., Staneck J.L. Dose effects of LPS on neutrophils in a whole blood flow cytometric assay of phagocytosis and oxidative burst. *Cytometry.* 1992;13(5):525–531.
45. Wan J., Shan Y., Fan Y., Fan C., Chen S., Sun J., Zhu L., Qin L., Yu M., Lin Z. NF- κ B inhibition attenuates LPS-induced TLR4 activation in monocyte cells. *Mol. Med. Rep.* 2016;14(5):4505–4510.
46. Martinon F, Burns K, Tschopp J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta. *Mol. Cell.* 2002;10(2):417–426.
47. Kagi T., Naganuma R., Inoue A., Noguchi T., Hamano S., Sekiguchi Y., Hwang G.W., Hirata Y., Matsuzaawa A. The polypeptide antibiotic polymyxin B acts as a pro-inflammatory irritant by preferentially targeting macrophages. *J. Antibiot.* 2022;75(1):29–39.
48. Arango Duque G., Descoteaux A. Macrophage cytokines: involvement in immunity and infectious diseases. *Front. Immunol.* 2014;5:491.
49. Barnes P.J. The cytokine network in chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2009;41(6):631–638.
50. Matera M.G., Calzetta L., Cazzola M. TNF-alpha inhibitors in asthma and COPD: we must not throw the baby out with the bath water. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 2010;23(2):121–128.
51. Rincon M., Irvin C.G. Role of IL-6 in asthma and other inflammatory pulmonary diseases. *Int. J. Biol. Sci.* 2012;8(9):1281–1290.
52. Barnes P.J. Targeting cytokines to treat asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Nat. Rev. Immunol.* 2018;18(7):454–466.
53. Osei E.T., Brandsma C.-A., Timens W., Heijink I.H., Hackett T.-L. Current perspectives on the role of interleukin-1 signalling in the pathogenesis of asthma and COPD. *Eur. Respir. J.* 2020;55(2):1900563.

Поступила в редакцию 15.07.2024

После доработки 26.09.2024

Принята в печать 02.10.2024

RESEARCH ARTICLE

Urban dust nanoparticles induce proinflammatory activation of neutrophils and macrophages

A.N. Pavlyuchenkova^{1, 2, 3} , N.V. Vorobyeva⁴ , A.A. Dashkevich^{1, 2} ,
L.A. Zinovkina^{1, 2} , A.I. Ivaneev⁵ , M.S. Ermolin⁵ , P.S. Fedotov^{1, 5} ,
R.A. Zinovkin¹ , M.A. Chelombitko¹ , B.V. Chernyak^{1, *} 

¹A.N. Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1–40, Moscow, 119992, Russia;

²Faculty of Bioengineering and Bioinformatics, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1-73, Moscow, 119234, Russia;

³Evolutionary Cytogerontology Sector and ⁴Department of Immunology, School of Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1–12, Moscow, 119234, Russia;

⁵Vernadsky Institute of Geochemistry and Analytical Chemistry, Russian Academy of Sciences, Kosygina 19, Moscow, 119334, Russia

*e-mail: bchernyak1@gmail.com

Urban dust particles are a major pathogenic factor in respiratory diseases such as asthma and chronic obstructive pulmonary disease, and also increase the risk of cardiovascular disease and lung cancer. Nanoparticles (NPs) of various origins are an important component of urban dust, but their effects on the human body are barely studied. In the present work, the effect of urban dust NPs on innate immune cells, neutrophils and macrophages was investigated *in vitro*. Urban dust nanoparticles were isolated from urban dust samples using coiled tube field-flow fractionation technique. Urban dust NPs were shown to induce a slight increase in the production of reactive oxygen species in human neutrophils. Preincubation of neutrophils with dust NPs resulted in a significant increase in ROS production in response to the chemoattractant peptide *N*-formylmethionine-leucyl-phenylalanine (fMLP). This suggests an effect of neutrophil priming with nanoparticles. On macrophages differentiated from the monocytic line THP-1, urban dust NPs stimulated the secretion of pro-inflammatory cytokines, tumor necrosis factor, and interleukin-6. The inflammatory activation of neutrophils and macrophages was reduced by antibiotic polymyxin B, which is able to bind bacterial wall lipopolysaccharide. The results suggest that the pro-inflammatory effect of urban dust NPs on neutrophils and macrophages is, at least in part, due to the presence of LPS.

Keywords: *nanoparticles, urban dust, innate immune cells, inflammatory activation, neutrophils, macrophages*

Funding: The research was funded by the Russian Science Foundation (project No. 23-14-00084).

Сведения об авторах

Павлюченкова Анастасия Никитична – аспирантка факультета биоинженерии и биоинформатики МГУ, вед. инженер отд. биоэнергетики НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского МГУ, инженер 1 категории сектора эволюционной цитогеронтологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-03-38; e-mail: anabella.gen@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3694-8007>

Воробьева Нина Викторовна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры иммунологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-46-46; e-mail: nvvorobjeva@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5233-9338>

Дашкевич Анна Алексеевна – студентка факультета биоинженерии и биоинформатики МГУ, инженер 1 категории отд. биоэнергетики НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского МГУ. Тел.: 8-495-939-03-38; e-mail: anna.dash.221@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-6728-9849>

Зиновкина Людмила Андреевна – канд. биол. наук, доц. факультета биоинженерии и биоинформатики МГУ, ст. науч. сотр. отд. биоэнергетики НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского МГУ. Тел.: 8-495-939-03-38; e-mail: luzinovkina@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2583-6448>

Иванеев Александр Игоревич – канд. хим. наук, ст. науч. сотр. Института геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН. Тел.: 8-495-939-70-01; e-mail: aiiivaneev@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6356-5784>

Ермолин Михаил Сергеевич – канд. хим. наук, ст. науч. сотр. Института геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН. Тел.: 8-495-939-70-01; e-mail: ermolin@geokhi.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0023-4507>

Федотов Петр Сергеевич – докт. хим. наук, гл. науч. сотр., зав. лаб. геохимии наночастиц Института геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН. Тел.: 8-495-939-70-01; e-mail: fedotov_ps@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0246-9905>

Зиновкин Роман Алексеевич – канд. биол. наук, зав. лабораторией электронного транспорта отдела молекулярной энергетики микроорганизмов НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского МГУ. Тел.: 8-495-939-03-38; e-mail: roman.zinovkin@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5337-4346>

Челомбитко Мария Александровна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. отд. биоэнергетики НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского МГУ. Тел.: 8-495-939-03-38; e-mail: chelombitko@mail.bio.msu.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3902-7812>

Черняк Борис Викторович – докт. биол. наук, зав. лаб. биоэнергетики клетки НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского МГУ. Тел.: 8-495-939-50-30; e-mail: bchernyak1@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1523-0864>