

перспективной биологической активностью, в том числе противоопухолевой и противoinфекционной благодаря своей особой структуре и свойствам (Wang, 2022). Их высокая биосовместимость, структурная стабильность и модифицируемость предоставляют широкие возможности для исследований в области диагностики и лечения рака.

Иммунотерапия антигенпрезентирующими клетками инициирует мощный Т-клеточный ответ при онкологических, вирусных и инфекционных заболеваниях (Masson et al., 2008; Gardner et al., 2020). Использование аутологичных макрофагальных вакцин в клинических испытаниях представляет собой индивидуальную форму клеточной терапии, требующей генерации макрофагов типа М2 или М1 в зависимости от вида и тяжести заболевания.

Таким образом, исследуемый нами ПОМ $\{Mo_{72}Fe_{30}\}$ может представлять большой интерес для биомедицины и онкологии. Предполагаемая способность обеспечивать поляризацию макрофагов делает его интересным объектом для онкологических исследований. Мы показали, что исследованный ПОМ $\{Mo_{72}Fe_{30}\}$ эффективно поляризуют макрофаги в направлении фенотипа М1. В дальнейшем мы планируем использовать ПОМ для стимуляции образования М1-макрофагов и возможного использования полученной культуры в экспериментальных моделях ряда онкологических и воспалительных заболеваний.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена с использованием оборудования центра коллективного пользования ИИФ УрО РАН.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена за счет при финансовой поддержке в рамках государственного задания по науке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект № 123031300049-8), а также в рамках госзадания Института иммунологии и физиологии Уральского отделения РАН (№ 122020900136-4) и Программы развития Уральского федерального университета имени первого Президента России

Б.Н. Ельцина в соответствии с программой стратегического академического лидерства «Приоритет-2030».

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты с животными проводились в соответствии с Руководством Национального института здравоохранения по уходу и использованию лабораторных животных (<http://oacu.od.nih.gov/regs/index.htm>). Протоколы с использованием животных были одобрены одобрены этическим комитетом Института иммунологии и физиологии УрО РАН, протокол № 07/19 от 18.12.2019.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Губарев Ю.А., Лебедева Н.Ш., Тонкушина М.О., Ггарин И.Д., Голуб А.Я., Остроушко А.А. 2021. Взаимодействие нанокластерного железосодержащего полиоксометаллата с доxorубицином. Физико-химические аспекты изучения кластеров, наноструктур и наноматериалов. № 13. С. 841. (Gubarev Yu.A., Lebedeva N.Sh., Tonkushina M.O., Gagarin I.D., Golub A.Yu., Ostroushko A.A. 2021. Interaction of iron-containing nanocluster polyoxometalate with doxorubicin. Phys. Chem. Aspects of the Study of clusters, Nanostruct. Nanomat. (Russ.) № 13. P. 841.)
- Кост Е.А. 1975. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования. Москва: Медицина. (Cost E.A. 1975. Handbook of clinical laboratory research methods. Moscow: Medicine.)
- Остроушко А.А., Тонкушина М.О. 2015. Деструкция нанокластерных полиоксометаллатов на основе молибдена в водных растворах. Журн. физической химии. Т. 89. № 3. С. 440. (Ostroushko A.A., Tokushima M.O. 2015. Destruction of molybdenum nanocluster polyoxometallates in aqueous solutions. Russian J. Phys. Chem. A. V. 89. P. 443).
- Остроушко А.А., Тонкушина М.О., Мартынова Н.А. 2010. Особенности явлений массы и электропереноса в системах, содержащих нанокластерные полиоксометаллаты молибдена со структурой фуллерена. Журн. физ. химии. Т. 84. № 6. С. 1135. (Ostroushko A.A., Tonkushina M.O., Martynova N.A. 2010. Mass and charge transfer in systems containing nanocluster molybdenum polyox-

- ometallates with a fullerene structure. Russ. J. Phys. Chem. V. 84. P. 1022.)
- Остроушко А.А., Сенников М.Ю., Тонкушина М.О.* 2009. Взаимодействие полиоксометаллата Mo132 с поливиниловым спиртом. Журн. неорганической химии. Т. 84. № 4. С. 666. (*Ostroushko A.A., Sennikov M.Y., Tonkushina M.O.* 2009. Interaction of polyoxometalate Mo132 with poly(vinyl alcohol). Russ. J. Inorg. Chem. V. 54. P. 611.)
- Остроушко А.А., Гетте И.Ф., Медведева С.Ю., Тонкушина М.О., Данилова И.Г., Прокофьева А.В., Морозова М.В.* 2011. Оценка безопасности железо-молибденовых нанокластерных полиоксометаллатов, предназначенных для адресной доставки лекарственных веществ. Вестник уральской медицинской академической науки. Т. 34. № 2. С. 107. (*Ostroushko A.A., Gette I.F., Medvedeva S.Yu., Tonkushina M.O., Danilova I.G., Prokofiev A.V., Morozova M.V.* 2011. Safety assessment of iron-molybdenum nanocluster polyoxometallates intended for targeted drug delivery. Bulletin of the Ural Medical Academic Science. Vol. 34. No. 2. P. 557.)
- Остроушко А.А., Гетте И.Ф., Данилова И.Г., Медведева С.Ю., Тонкушина М.О., Прокофьева А.В.* 2011. Исследование хронической токсичности молибденовых и железо-молибденовых нанокластерных полиоксометаллатов. Уральский мед. ж. Т. 89. № 11. С. 75. (*Ostroushko A.A., Gette I.F., Danilova I.G., Medvedeva S.Yu., Tonkushina M.O., Prokofiev A.V.* 2011. Investigation of the chronic toxicity of molybdenum and iron-molybdenum nanocluster polyoxometallates. Ural Med. Univ. V. 89. No. 11. P. 75.)
- Остроушко А.А., Улитко М.В., Тонкушина М.О., Зубарев И.В., Медведева С.Ю., Данилова И.Г., Губаева О.В., Гагарин И.Д., Гетте И.Ф.* 2018. Влияние нанокластерных молибденсодержащих полиоксометаллатов на морфофункциональное состояние фибробластов в культуре. Российские нанотехнологии. Т. 13. № 1-2. С. 3. (*Ostroushko A.A., Ulitko M.V., Tonkushina M.O. et al.* 2018. Influence of Nanocluster Molybdenum Polyoxometallates on the Morphofunctional State of Fibroblasts in Culture. Nanotechnol Russia. V. 13. P. 1.)
- Шарафутдинова Л.А., Горшкова Е.Н., Садртдинова И.И., Хисматуллина З. Р., Башкатов С.А.* 2014. Оценка морфологических параметров нейтрофильных гранулоцитов методом атомно-силовой микроскопии после воздействия фуллерена C60. Биомедицина. № 3. С. 49. (*Sharafutdinova L.A., Gorshkova E.N., Sadrtinova I.I., Khismatulina Z.R., Bashkatov S.A.* 2014. Evaluation of the morphological parameters of neutrophilic granulocytes by atomic force microscopy after exposure to fullerene C60. Biomed. (Russ.) V. 3. P. 49.)
- Akatsuka S., Yamashita Y., Ohara H., Liu Y-T, Izumiya M., Abe K.* 2012. Fenton reaction induced cancer in wild type rats recapitulates genomic alterations observed in human cancer. PloS One. V. 7: e43403.
- Astaldi G., Bernardelli E., Rondanelli E.* 1952. Behavior of glycogen in surviving leukocytes. Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. V. 28. P. 286.
- Astaldi G., Verga L.* 1957. The glycogen content of the cells of lymphatic leukaemia. Acta Haematol. V. 17. P. 129.
- Bartneck M., Ritz T., Keul H.A., Wambach M., Bornemann J., Gbureck U., Ehling J., Lammers T., Heymann F., Gassler N., Lüdde T., Trautwein C., Groll J., Tacke F.* 2012. Peptide-functionalized gold nanorods increase liver injury in hepatitis. ACS nano. V. 6. P. 8767.
- Bijelic A., Aureliano M., Rompel A.* 2019. Polyoxometalates as potential next-generation metallodrugs in the combat against cancer. Angewandte Chemie Int. Ed. V. 58. P. 2980.
- Caruthers S.D., Wickline S.A., Lanza G.M.* 2007. Nanotechnological applications in medicine. Curr. Opin. Biotechnol. V. 18. P. 26.
- Corhay J.L., Weber G., Bury T., Mariz S., Roelandts I., Radermecker M.F.* 1992. Iron content in human alveolar macrophages. Eur. Respir. J. V. 5. P. 804.
- Dhingra V.K., Gupta R.K., & Sadana J.R.* 1982. Demonstration of acid alpha naphthyl acetate esterase activity in bovine lymphocytes and monocytes or macrophages. Res. Veterinary Sci. V. 33. P. 26.
- Dobrovolskaia M.A., McNeil S. E.* 2007. Immunological properties of engineered nanomaterials. Nature Nanotechnol. V. 2. P. 469.
- Dos Anjos Cassado A.* 2017. F4/80 as a major macrophage marker: the case of the peritoneum and spleen. Results Problems Cell Diff. V. 62. P. 161.
- Duan L., Mukherjee E.* 2016. Janeway's Immunobiol. 9th Ed. Yale J. Biol. Med. V. 89. P. 424.
- Dutta R.C.* 2007. Drug carriers in pharmaceutical design: promises and progress. Curr. Pharm. Des. V. 13. P. 76.
- Ennist D.L., Jones K.H.* 1983. Rapid method for identification of macrophages in suspension by acid alpha-naphthyl acetate esterase activity. J. Histochem. Cytochem. V. 31. P. 960.
- Etzerodt A., Moestrup S.K.* 2013. CD163 and inflammation: biological, diagnostic, and therapeutic aspects. Antioxid. Redox Signal. V. 18. P. 2352.
- Giovanni M., Yue J., Zhang L., Xie J., Ong C.N., Leong D.T.* 2015. Pro-inflammatory responses of RAW264.7 macrophages when treated with ultralow concentrations of silver, titanium dioxide, and zinc oxide nanoparticles. J. Hazard. Materials. V. 297. P. 146.
- Grzhegorzhevskii K., Tonkushina M., Gushchin P., Gagarin I., Ermoshin A., Belova K., Prokofyeva A. Ostroushko A., Novikov A.* 2023. Association of kepler-

- ate-type polyoxometalate $\{Mo_{72}Fe_{30}\}$ with tetracycline: nature of binding sites and antimicrobial action. *Inorganics*. V. 11. P. 9.
- Grzhegorzhevskii K.V., Zelenovskiy P.S., Koryakova O.V., Ostroushko A.A. 2019. Thermal destruction of giant polyoxometalate nanoclusters: a vibrational spectroscopy study. *Inorg. Chimica Acta*. V. 489. P. 287.
- Hayhoe F.G.J., Quaglino D. 1980. Haematological cytochemistry. Edinburgh, N.Y.: Churchill Livingstone. P. 336.
- Holian A., Scheule R.K. 1990. Alveolar macrophage biology. *Hosp. Pract.* V. 25. P. 53.
- Hu J. M., Liu K., Liu J. H., Jiang X. L., Wang X. L., Chen Y. Z., Li S. G., Zou H., Pang L. J., Liu C. X., Cui X. B., Yang L., Zhao J., Shen X. H., Jiang J. F., Liang W. H., Yuan X. L., Li F. 2017. CD163 as a marker of M2 macrophage, contribute to predict aggressiveness and prognosis of Kazakh esophageal squamous cell carcinoma. *Oncotarget*. V. 8. P. 21526.
- Jackson J. 2016. In situ tissue regeneration: host cell recruitment and biomaterial design. In: Lee S.J., Atala A., Yoo J. (Eds.). 2016. *Immunology: Host responses to biomaterials*. Elsevier/Acad. Press. P. 35.
- Khazen W., M'bika J.P., Tomkiewicz C., Benelli C., Chany C., Achour A., & Forest C. 2005. Expression of macrophage-selective markers in human and rodent adipocytes. *FEBS Letters*, V. 579. P. 5631.
- Laskar A., Eilertsen J., Li W., Yuan X. M. 2013. SPION primes THP1 derived M2 macrophages towards M1-like macrophages. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* V. 441. P. 737.
- Li Y., Yang Y., Guo T. 2023. Heme oxygenase-1 determines the cell fate of ferroptotic death of alveolar macrophages in COPD. *Front. Immunol.* V. 14: 1162087.
- Liu Y., Chen Z., Gu N., Wang J. 2011. Effects of DMSA-coated Fe_3O_4 magnetic nanoparticles on global gene expression of mouse macrophage RAW264.7 cells. *Toxicol. Lett.* V. 205. P. 130.
- Liu Y.C., Zou X.B., Chai Y.F., Yao Y.M. 2014. Macrophage polarization in inflammatory diseases. *Int. J. Biol. Sci.* V. 10. P. 520.
- Li Z., Zhao Z.J., Zhu X.Q., et al. 2012. Differences in iNOS and arginase expression and activity in the macrophages of rats are responsible for the resistance against *T. gondii* infection. *PLoS One*. V. 7: e35834.
- Lucarelli M., Gatti A. M., Savarino G., Quattroni, P., Martinelli L., Monari E., Boraschi, D. 2004. Innate defence functions of macrophages can be biased by nano-sized ceramic and metallic particles. *Eur. Cytokine Network*. V. 15. P. 339.
- Martinez F.O., Sica A., Mantovani A. 2008. Macrophage activation and polarization, *Front. Biosci.* V. 13. P. 453.
- Martinez F.O. 2011. Regulators of macrophage activation. *Eur. J. Immuno.* V. 41. P. 1531.
- McKnight A.J., Macfarlane A.J., Dri P., Turley L., Willis A.C., Gordon S. 1996. Molecular cloning of F4/80, a murine macrophage-restricted cell surface glycoprotein with homology to the G-protein-linked transmembrane 7 hormone receptor family. *J. Biol. Chem.* V. 271. P. 486.
- Mills C.D., Kincaid K., Alt J.M., Heilman M.J., Hill A. M. 2000. M-1/M-2 macrophages and the Th1/Th2 paradigm. *J. Immunol.* V. 164. P. 6166.
- Mulens-Arias V., Rojas J.M., Pérez-Yagüe S., Morales M.P., Barber D.F. 2015. Polyethylenimine-coated SPIONs trigger macrophage activation through TLR-4 signaling and ROS production and modulate podosome dynamics. *Biomaterials*. V. 52. P. 494.
- Mulens-Arias V., Rojas J.M., Barber D.F. 2021. The use of iron oxide nanoparticles to reprogram macrophage responses and the immunological tumor microenvironment. *Front. Immunol.* V. 12: 693709.
- Müller A., Krickemeyer E., Bögge H., Schidtmann M., Peters F. 1998. Organizational forms of matter: an inorganic superfullerene and keplerate based on molybdenum oxide. *Angew Chem. Int.* V. 37. P. 3360.
- Müller A., Sarkar S., Nazir Shah S.Q., Bögge H., Schidtmann M., Sarkar Shatarupa, Kögerler P., Hauptfleisch B., Trautwein A.X., Schünemann V. 1999. Archimedian synthesis and magic numbers: «sizing» giant molybdenum – oxide based molecular spheres of the keplerate type. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* V. 38. P. 3238.
- Onofre G., Koláčková M., Jankovicová K., Krejsek J. 2009. Scavenger receptor CD163 and its biological functions. *Acta Medica (Hradec Kralove)*. V. 52. P. 57.
- Ostroushko A.A., Gagarin, I.D., Tonkushina, M.O. 2018. Association of spherical porous nanocluster keplerate-type polyoxometalate $Mo_{72}Fe_{30}$ with biologically active substances. *J. Clust. Sci.* V. 29. P. 111.
- Ostroushko A.A., Grzhegorzhevskii K.V., Medvedeva S.Y. 2021. Physicochemical and biochemical properties of the keplerate-type nanocluster polyoxomolybdates as promising components for biomedical use. *Nanosystems: Phys. Chem. Mathem.* V. 12. P. 81.
- Reichel D., Tripathi M., Perez J.M. 2019. Biological effects of nanoparticles on macrophage polarization in the tumor microenvironment. *Nanotheranostics*. V. 3. P. 66.
- Rogler G. 2017. Immune cells: monocytes and macrophages. In: Baumgart D.C. (Ed.) 2017. *Crohn's disease and ulcerative colitis: from epidemiology and immunobiology to a rational diagnostic and therapeutic approach*: Springer. P. 119.
- Schaer D.J., Schaer C.A., Buehler P.W., Boykins R.A., Schoedon G., Alayash A.I., Schaffner A. 2006. CD163 is the macrophage scavenger receptor for native and chemically modified hemoglobins in the absence of haptoglobin. *Blood*. V. 107. P. 373.

- Sharma L., Wu W., Dholakiya S.L. 2014. Assessment of phagocytic activity of cultured macrophages using fluorescence microscopy and flow cytometry. *Metods Mol. Biol.* V. 1172. P. 137.
- Stangel M., Joly E., Scolding N. J., Compston D.A.S. 2000. Normal polyclonal immunoglobulins ('IVIg') inhibit microglial phagocytosis in vitro. *J. Neuroimmunol.* V. 106. P. 137.
- Strober W. 2015. Trypan blue exclusion test of cell viability. *CP Immunol.* V. 111. P. A3. B. 1.
- Su L., Zhang W., Wu X., Zhang Y., Chen X., Liu G., Chen G., Jiang M. 2015. Glycocalyx-mimicking nanoparticles for stimulation and polarization of macrophages via specific interactions. *Small.* V. 11. P. 4191.
- Taylor P. R., Martinez-Pomares L., Stacey M., Lin H. H., Brown G. D., Gordon S. 2005. Macrophage receptors and immune recognition. *Ann. Rev. Immunol.* V. 23. P. 901.
- Terriere L.C. 1984. Induction of detoxication enzymes in insects. *Ann. Rev. Entomol.* V. 29. P. 71.
- Tian F., Cui D., Schwarz H., Estrada G.G., Kobayashi H. 2006. Cytotoxicity of single-wall carbon nanotubes on human *fi* broblasts. *Toxicol. In Vitro.* V. 20. P. 1202.
- Tonkushina M.O., Grzhegorzhevskii K.V., Ermoshin A.A., Tugbaeva A.S., Kim G.A., Taniya O.S., Gagarin I.D., Ostroushko A.A. 2022. The electrostatic-mediated formation of a coordination complex: the trapping and release of an antitumor drug with an anthracycline core from {Mo₇₂Fe₃₀} based ensembles. *Chemistry-Select.* V. 7. P. e202203684.
- Wang K, Feng B, Yang Y. 2021. Dual-factor synergistically activated ES IPT-based probe: differential fluorescence signals to simultaneously detect α -naphthyl acetate and acid α -naphthyl acetate esterase. *Anal. Chem.* V. 93. P. 14471.
- Wang X., Wei S., Zhao C. 2022. Promising application of polyoxometalates in the treatment of cancer, infectious diseases and Alzheimer's disease. *J. Biol. Inorg. Chem.* V. 27. P. 405.
- Wiggins D. 1991. Bronchoalveolar lavage. *Methods and application. Pulmonology.* V. 3. P. 43.
- Wolf-Grosse S., Mollnes T. E., Ali S., Stenvik J., Nilsen A.M. 2018. Iron Oxide nanoparticles enhance toll-like receptor-induced cytokines in a particle size- and actin-dependent manner in human blood. *Nanomed.* V. 13. P. 1773.
- Yamase T. 2013. Polyoxometalates active against tumors, viruses, and bacteria. *Prog. Mol. Subcell. Biol.* V. 54. P. 65.
- Yunna C., Mengru H., Lei W., Weidong C. 2020. Macrophage M1/M2 polarization. *Eur. J. Pharmacol.* V. 877: 173090.
- Zvereva E., Serebrov V., Glupov V., Dubovskiy I. 2003. Activity and heavy metal resistance of non-specific esterases in leaf beetle *Chrysomela lapponica* from polluted and unpolluted habitats. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.* V. 35. P. 383.

EFFECT OF NANOCUSTER POLYOXOMETALATE {Mo₇₂Fe₃₀} ON MORPHOFUNCTIONAL STATE OF MACROPHAGES IN CULTURES

S. A. Titova^{a, *}, M. O. Tonkushina^a, K. V. Grzhegorzhevskii^a, I. G. Danilova^{a, b}, V. A. Pozdina^b, M. V. Ulitko^a, A. A. Ostroushko^a

^a Ural Federal University named after the First President of Russia B. N. Yeltsin, Ekaterinburg, 620002, Russia

^b Institute of Immunology and Physiology, Urals Branch, Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, 620049, Russia

* E-mail: svetattitova12021998@gmail.com

The aim of this work was to study the effect of nanocluster polyoxometalate {Mo₇₂Fe₃₀} on the macrophage link of the immune system. In vitro studies of polyoxometalate on macrophage cultures allowed us to evaluate the reaction of immune system cells (in particular, peritoneal and alveolar macrophages) to nanoparticles. The analysis of the obtained data allowed to establish that {Mo₇₂Fe₃₀} is not toxic for peritoneal and alveolar macrophages, has no significant effect on the morphology of cells, as well as on the activity of α -naphthylacetate esterase. However, it significantly reduces phagocytic activity when cells are cultured with POM, which may indicate possible polarisation of macrophages. The obtained results confirm the possibility of using {Mo₇₂Fe₃₀} in the field of biomedicine.

Keywords: macrophages, nanoclusters, polyoxometalates, cell cultures