

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт Фундаментальной биологии и Биотехнологии
Кафедра Медицинской биологии

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель магистерской программы
Е. И. Шишацкая
« » 2021 г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Липидный метаболизм и функциональная поляризация моноцитов-макрофагов
in vitro

06.04.01 – Биология

06.04.01.05 – Реконструктивная биоинженерия

Научный руководитель

к.б.н.

Н. Г. Мензянова

подпись, дата

должность, ученая степень

Выпускник

А. И. Елага

подпись, дата

Рецензент

д.б.н.

Т. Г. Волова

подпись, дата

ученая степень

Красноярск 2021

АННОТАЦИЯ

Макрофаги – гетерогенная клеточная популяция, играющая ключевую роль в реакциях клеточного иммунитета и воспалительных процессах. Фенотипическая вариабельность макрофагов связана с процессами M1/M2-поляризации. Для реализации физиологически адекватных процессов необходима определенная динамика M1/M2-фенотипов. Доминирование одного из вариантов поляризации приводит к развитию патологий. В настоящее время регуляция активности процессов M1/M2 поляризации макрофагов рассматривается как перспективная терапевтическая стратегия. Это определяет актуальность изучения процессов поляризации макрофагов *in vivo* и в модельных системах *in vitro*.

Многочисленные экспериментальные исследования свидетельствуют, что в качестве индукторов поляризации могут выступать наночастицы. В условиях современной цивилизации наночастицы активно используются в сферах, связанных со здоровьем человека. Это определяет необходимость изучения наночастиц как индукторов и регуляторов процессов поляризации макрофагов и прогнозирования их роли в патогенезе различных заболеваний человека, связанных с нарушениями липидного метаболизма.

В связи с этим целью исследования было изучение влияния наночастиц золота на активность формирования липид-нагруженных макрофагов в процессе M1/M2 поляризации *in vitro*. В задачи исследования входило определение численности липид-нагруженных макрофагов, типов поляризации с использованием морфологических и биохимических маркеров в различных условиях культивирования *in vitro*.

Было показано, что наночастицы золота увеличивают численность липид-нагруженных макрофагов. Увеличение численности липид-нагруженных макрофагов под воздействием наночастиц золота сопровождается увеличением активности продукции лейкотриенов B4, антивоспалительных цитокинов и хемокинов. Это позволяет заключить, что

наночастицы золота инициируют формирование M2a- и M2c-фенотипов макрофагов. Полученные результаты свидетельствуют, что наночастицы золота размером 6 нм и 25 нм индуцируют M2-поляризацию макрофагов, которая сопровождается активацией биогенеза липидных капель. Это предполагает включение наночастиц золота в репрограммирование липидного метаболизма макрофагов.

Ключевые слова: МОНОЦИТЫ, МАКРОФАГИ, М1 / М2 ПОЛЯРИЗАЦИЯ, НАНОЧАСТИЦЫ ЗОЛОТА, ИММУННЫЕ КОМПЛЕКСЫ.

РЕФЕРАТ

Магистерская диссертация по теме «Липидный метаболизм и функциональная поляризация моноцитов-макрофагов *in vitro*» содержит 67 страниц текстового документа, 13 иллюстраций, 1 таблицу, 83 использованных источника.

МОНОЦИТЫ, МАКРОФАГИ, M1/M2 ПОЛЯРИЗАЦИЯ МАКРОФАГОВ, НАНОЧАСТИЦЫ ЗОЛОТА

Объект исследования: моноциты-макрофаги человека.

Цель исследования: изучение влияния наночастиц золота на активность формирования липид-нагруженных макрофагов в процессе M1/M2 поляризации *in vitro*.

Актуальность исследования: В условиях современной цивилизации активное использование наночастиц в сферах, связанных со здоровьем человека, определяет необходимость изучения наночастиц как индукторов и регуляторов процессов поляризации макрофагов для прогнозирования роли наночастиц в патогенезе различных заболеваний человека.

Основные результаты: Было показано, что наночастицы золота увеличивают численность липид-нагруженных макрофагов. Наночастицы размером 6 нм являются более эффективными индукторами биогенеза липидных капель, чем наночастицы размером 25 нм. В условиях комбинированного воздействия наночастиц и иммунных комплексов численность липид-нагруженных макрофагов достоверно выше (1,8 и 2,6 раза, для НЧ 6нм и 25 нм, соответственно), чем в условиях однофакторного воздействия (НЧ). Увеличение численности липид-нагруженных макрофагов под воздействием наночастиц золота сопровождается увеличением активности продукции лейкотриенов B4 (по сравнению с контролем). В условиях комбинированного воздействия наночастиц и иммунных комплексов

активность продукции лейкотриенов B4 и простагландинов E2 резко снижается в 9-10 раз, по сравнению с однофакторным воздействием наночастиц. Наночастицы золота в условиях однофакторного и комбинированного воздействия инициируют формирование M2a- и M2c-фенотипов МФ, но секретомы этих фенотипов в условиях однофакторного и комбинированного воздействия существенно различаются.

Полученные результаты свидетельствуют, что наночастицы золота индуцируют M2-поляризацию макрофагов, которая сопровождается активацией биогенеза липидных капель.

ABSTRACT

Master's thesis on "Lipid metabolism and functional polarization of monocytes-macrophages in vitro" contains 67 pages of a text document, 13 illustrations, 1 table, 83 used sources.

MONOCYTES, MACROPHAGES, M1 / M2 POLARIZATION OF MACROPHAGES, GOLD NANOPARTICLES

Research object: human monocytes-macrophages.

Objective: to study the effect of gold nanoparticles on the formation activity of lipid-loaded macrophages in the process of M1 / M2 polarization in vitro.

Relevance of the research: In the conditions of modern civilization, the active use of nanoparticles in areas related to human health determines the need to study nanoparticles as inductors and regulators of macrophage polarization processes to predict the role of nanoparticles in the pathogenesis of various human diseases.

Main results: Gold nanoparticles have been shown to increase the number of lipid-loaded macrophages. Nanoparticles with a size of 6 nm are more effective inducers of biogenesis of lipid droplets than nanoparticles with a size of 25 nm. Under the conditions of the combined effect of nanoparticles and immune complexes, the number of lipid-loaded macrophages is significantly higher (1.8 and 2.6 times, for NPs 6 nm and 25 nm, respectively) than under conditions of single-factor exposure (NP). The increase in the number of lipid-loaded macrophages under the influence of gold nanoparticles is accompanied by an increase in the activity of the production of B4 leukotrienes (as compared to the control). Under the conditions of the combined effect of nanoparticles and immune complexes, the activity of the production of leukotrienes B4 and prostaglandins E2 is sharply reduced by 9-10 times, compared with the single-factor effect of nanoparticles. Gold nanoparticles under the conditions of one-factor and combined exposure initiate the formation of M2- and M2c-phenotypes of MF, but the secretomes of these phenotypes under conditions of one-factor and combined exposure differ significantly.

The results obtained indicate that gold nanoparticles induce M2 polarization of macrophages, which is accompanied by the activation of lipid droplet biogenesis.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	9
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	11
1.1 Общая характеристика моноцитов - макрофагов.....	11
1.1.1 Классификация моноцитов.....	13
1.1.2 Функциональные особенности моноцитов.....	15
1.2 Функциональная поляризация макрофагов	16
1.2.1 Роль метаболизма липидов в поляризации макрофагов.....	18
1.2.1.1 Биогенез липидных капель.....	19
1.2.2 Морфологические особенности поляризации макрофагов.....	21
1.2.3 Биохимические маркеры поляризации макрофагов	22
1.2.4 M1 / M2 – фенотипы макрофагов при разных патологиях	26
1.5 Наночастицы	29
1.5.1 Производство и применение наночастиц золота	31
1.5.2 Морфология наночастиц золота	32
1.5.3 Влияние наночастиц золота на поляризацию макрофагов.....	34
1.6 Роль эверолимуса в метаболизме липидов	35
2 ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	36
2.1 Объекты исследования	36
2.2 Выбор доноров периферической крови.....	36
2.3 Выделение и культивирование моноцитов - макрофагов.....	36
2.4 Иммуноферментный анализ	38
2.5 Электронная микроскопия.....	38
2.6 Морфологический анализ	38
3 РЕЗУЛЬТАТЫ.....	39
3.1 Морфологическая вариабельность моноцитов-макрофагов.....	39
3.1.1 Морфологические маркеры M1/ M2 поляризации моноцитов - макрофагов <i>in vitro</i>	40
3.2 Липидные капли в цитоплазме моноцитов - макрофагов	44
3.2.1 Вариабельность липидных капель	46
3.2.2 Липид-нагруженные макрофаги.....	46
3.3 Биохимические маркеры M1/ M2 поляризации моноцитов - макрофагов <i>in vitro</i>	48

3.3.1 Количество липид-нагруженных макрофагов и содержание ПГЕ2 и ЛТБ4	50
3.3.2 Фенотипы макрофагов в различных условиях культивирования	51
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	53
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	54
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ	56
ПРИЛОЖЕНИЕ А	66

ВВЕДЕНИЕ

Макрофаги (МФ) – гетерогенная клеточная популяция, играющая ключевую роль в реакциях клеточного иммунитета и воспалительных процессах [1]. Фенотипическая вариабельность МФ связана с процессами поляризации: микроэнвайронментальные факторы могут индуцировать дифференцировку наивных МФ в провоспалительный M1-фенотип [2] или в противовоспалительный M2-фенотип [3].

Эпигенетическое репрограммирование наивных МФ реализуется в изменениях спектра поверхностных CD-антигенов, секретируемых цитокинов [2], изменениях активности фагоцитоза [2], перестройках липидного метаболизма и окислительно-восстановительного гомеостаза [2].

Для реализации физиологически адекватных процессов необходима определенная динамика M1/M2-фенотипов. Доминирование одного из вариантов поляризации приводит к развитию патологий [1]. Показано, что такие заболевания, как диабет и атеросклероз связаны с доминированием M1-фенотипа, а, например, онкологические заболевания и астма – с доминированием M2-фенотипа [3].

В настоящее время регуляция активности процессов M1/M2 поляризации МФ рассматривается как перспективная терапевтическая стратегия [2]. Это определяет актуальность изучения процессов поляризации МФ *in vivo* и в модельных системах *in vitro*.

Стандартные протоколы поляризации МФ *in vitro* предусматривают использование в качестве индукторов поляризации LPS, IFN- γ (M1-фенотип) [] и IL-4, IL-13 (M2-фенотип) [3]. Однако, многочисленные экспериментальные исследования свидетельствуют, что в качестве индукторов поляризации могут выступать наночастицы [4]. Репрограммирующие эффекты наночастиц реализуются в перестройках секретома и липидома МФ [3]. Эффекты наночастиц определяются их физико-химическими свойствами, зависят от размеров, формы, концентрации и продолжительности воздействия [3].

В условиях современной цивилизации наночастицы активно используются в сферах, связанных со здоровьем человека, а именно в медицинских технологиях, косметологии, пищевой и текстильной индустриях. Это определяет необходимость изучения наночастиц как индукторов и регуляторов процессов поляризации МФ и прогнозирования их роли в патогенезе различных заболеваний человека.

В связи с этим целью исследования стало: изучение влияния наночастиц золота на активность формирования липид-нагруженных МФ в процессе M1/M2 поляризации *in vitro*.

Были поставлены следующие задачи:

1. Определить численность липид-нагруженных МФ (клеток с липидными каплями в цитоплазме).
2. Оценить тип поляризации МФ, используя морфологические маркеры (соотношение численности округлых и удлиненных клеток).
3. Определить концентрацию провоспалительных цитокинов IL-6, TNF- α и PGE2 (маркеров M1-поляризации) и антивоспалительных цитокинов IL-10, CCL18 и LTB4 (маркеров M2-поляризации).

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Общая характеристика моноцитов - макрофагов

Клеточно-опосредованный иммунитет - это иммунный ответ, не связанный с антителами. Скорее, клеточный иммунитет - это активация фагоцитов, антиген-специфических цитотоксических Т-лимфоцитов и высвобождение различных цитокинов в ответ на антиген [5].

Клеточный иммунитет защищает организм, используя следующие механизмы:

- Т-клеточный иммунитет: активация антиген-специфических цитотоксических Т-клеток, которые способны вызывать апоптоз в клетках организма, отображающих эпитопы чужеродного антигена на своей поверхности, таких как инфицированные вирусом клетки, клетки с внутриклеточными бактериями и раковые клетки, отображающие опухолевые антигены [6];
- Действие МФ и естественных клеток-киллеров: обеспечение уничтожения патогенов посредством распознавания и секреции цитотоксических гранул (для естественных клеток-киллеров) [6] и фагоцитоза (для МФ) [7];
- Стимулирование клеток к секреции различных цитокинов, которые влияют на функцию других клеток, участвующих в адаптивных иммунных ответах и врожденных иммунных ответах [6, 7]

Рассмотрим подробнее моноцитарные и макрофагальные клетки.

Моноциты (МН) представляют собой тип лейкоцитов, который может дифференцироваться в МФ и дендритные клетки миелоидного происхождения.

МН имеют амебовидный внешний вид и не гранулированную цитоплазму [8], в следствии чего, классифицируются как агранулоциты. Эти клетки, содержащие однолистные ядра, являются одним из типов мононуклеарных лейкоцитов, в которых находятся азурофильные гранулы. Архетипическая геометрия ядра моноцита - эллипсоидальная; образно бобовидной или

почковидной формы, хотя наиболее существенным отличием является то, что ядерная оболочка не должна быть гиперболически разделена на доли [8].

МН составляют от 2% до 10% всех лейкоцитов в организме человека и выполняют множество функций иммунной системы. К таким ролям относятся: пополнение резидентных МФ в нормальных условиях; миграция в течение 8–12 часов в ответ на сигналы воспаления из участков инфекции в тканях; дифференцировка в МФ или дендритные клетки для осуществления иммунного ответа. Около половины МН сохраняются в качестве резерва в селезенке [8]. Они превращаются в МФ после проникновения в соответствующие тканевые пространства, которые так же могут трансформироваться в пенистые клетки в эндотелии при патологических изменениях [8].

МН производятся в костном мозге из предшественников – монобластов, которые дифференцировались от гемопоэтических стволовых клеток [8]. МН циркулируют в кровотоке от одного до трех дней, а затем перемещаются в ткани по всему телу, где дифференцируются в МФ и дендритные клетки [8].

МФ несут ответственность за защиту тканей от посторонних веществ, но также они играют важную роль в формировании таких важных органов, как сердце и мозг. Это клетки, которые обладают большим гладким ядром, большой площадью цитоплазмы и множеством внутренних везикул для обработки чужеродного материала [9].

МФ - это специализированные клетки, участвующие в обнаружении, фагоцитозе и уничтожении патогенов. Кроме того, они могут активировать антигены Т-клеткам и вызывать воспаление, высвобождая цитокины для активации других клеток [9].

МФ человека имеют диаметр около 21 мкм [10] и образуются в результате дифференцировки МН в тканях. Среди каждой популяции МФ существует значительная неоднородность, что отражает необходимый уровень специализации в среде любой ткани [**Ошибка! Закладка не определена.**]. Эта гетерогенность проявляется в их морфологии, типе патогенов, которые они могут распознавать, а также в уровнях продуцируемых ими воспалительных

цитокинов (например, ИЛ-1, ИЛ-6, TNF- α). Кроме того, МФ производят активные формы кислорода [11], такие как оксид азота, которые могут уничтожать фагоцитированные бактерии. Гетерогенная природа этих клеток может быть не только результатом процесса их дифференцировки, но, скорее всего, унаследована от их предшественников МН.

МФ мигрируют и циркулируют почти в каждой ткани, патрулируя патогены или удаляя мертвые клетки. В таблице 1 описано расположение и функции нескольких различных популяций МФ [11].

МФ, которые вызывают воспаление, называются макрофагами M1, тогда как те, которые уменьшают воспаление и стимулируют восстановление тканей, называются макрофагами M2 [12]. Это различие отражается в их метаболизме [12].

Их можно идентифицировать с помощью проточной цитометрии или иммуногистохимического окрашивания по их специфической экспрессии белков, таких как CD14, CD40, CD11b, CD64, F4 / 80 (мыши) / EMR1 (человек), лизоцим M, MAC-1 / MAC-3 и CD68 [13].

МФ были впервые обнаружены русским зоологом И. И. Мечниковым в 1884 году [10].

1.1.1 Классификация моноцитов

В крови человека есть как минимум три типа МН [14]:

- Классические МН характеризуются высоким уровнем экспрессии в CD14 рецепторе клеточной поверхности (CD14 ++ CD16 - МН).
- Неклассический моноцит показывает низкий уровень экспрессии CD14 и дополнительную коэкспрессию рецептора CD16 (моноцит CD14 + CD16 ++) [15].
- Промежуточный моноцит с высоким уровнем экспрессии CD14 и низким уровнем экспрессии CD16 (CD14 ++ CD16 + МН) [16].

У мышей МН можно разделить на две субпопуляции [17]. Воспалительные МН (CX3CR1 low , CCR2 pos , Ly6C high , PD-L1 neg), которые эквивалентны человеческим классическим CD14 ++ CD16 - моноцитам и резидентным моноцитам (CX3CR1 high , CCR2 neg , Ly6C low , PD-L1 pos), которые эквивалентны неклассическим CD14 + CD16 + моноцитам человека [18]. Резидентные МН способны «патрулировать» стенку эндотелия в нормальном состоянии и при воспалительных процессах [16]. У людей поведение МН, подобное патрулированию у мышей, было продемонстрировано как для классических, так и для неклассических МН [18].

1.1.2 Функциональные особенности моноцитов

МН выполняют три основные функции в иммунной системе: фагоцитоз, презентация антигена и продукция цитокинов. Фагоцитоз - процесс поглощения патогенов и частиц с последующим разрушением этого материала. МН могут осуществлять фагоцитоз с использованием промежуточных (опсонизирующих) белков, таких как антитела или комплемент, которые покрывают патоген, а также путем связывания с ним напрямую через рецепторы распознавания образов, распознающие патогены. МН также способны убивать инфицированные клетки-хозяева посредством антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности [17].

Остающиеся после фагоцитирования фрагменты патогенов могут служить антигенами. Фрагменты могут быть включены в молекулы МНС, а затем перемещены на клеточную поверхность МН (и МФ и дендритных клеток). Этот процесс называется презентацией антигена и приводит к активации Т-лимфоцитов, которые затем вызывают специфический иммунный ответ против антигена [13].

Другие элементы патогенов могут напрямую активировать МН, что приводит к выработке провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. Типичными цитокинами, производимыми моноцитами, являются TNF, ИЛ-1 и ИЛ-12 [14].

1.2 Функциональная поляризация макрофагов

МФ мигрируют почти в каждую ткань и циркулируют в них, патрулируя патогены или удаляя мертвые клетки. В таблице ниже описано расположение и функции нескольких различных популяций МФ [Ошибка! Закладка не определена.].

Таблица 1 - Классификация МФ

Тип макрофага	Место расположения	Функция
Альвеолярный макрофаг	Альвеолы легких	Фагоцитоз мелких частиц, мертвых клеток или бактерий. Инициирование и контроль иммунитета к респираторным патогенам
Клетки Купфера	Печень	Запускает иммунные реакции и ремоделирование печеночной ткани.
Микроглия	Центральная нервная система	Устранение старых или мертвых нейронов и контроль иммунитета в головном мозге.
МФ селезенки (маргинальная зона, металлофильные МФ и МФ красной пульпы)	Краевая зона селезенки, красно-белая пульпа	Устранение дисфункциональных или старых эритроцитов.

МФ способны обнаруживать продукты бактерий и других микроорганизмов, используя систему распознающих рецепторов, таких как Toll-подобные рецепторы (TLR) [Ошибка! Закладка не определена.]. Эти рецепторы могут специфически связываться с различными компонентами патогенов, такими как липополисахариды (ЛПС), РНК, ДНК или внеклеточные белки (например, флагеллин из бактериальных жгутиков) [Ошибка! Закладка не определена.].

Есть несколько активированных форм МФ [12]. Несмотря на спектр вариантов активации МФ, есть две основные группы, обозначенные M1 и M2.

МФ M1 (классически активированными макрофагами) [12], они же «киллерные» МФ активируются ЛПС и интерфероном- γ (IFN- γ) и секрецируют высокие уровни ИЛ-6, ИЛ-12 и низкие уровни ИЛ-10 [2]. МФ M1 выполняют

проводоспалительную, бактерицидную и фагоцитарную функции [12]. Напротив, обозначение «восстановление» M2 (также называемое альтернативно активированными макрофагами) в широком смысле относится к макрофагам, которые функционируют в конструктивных процессах, таких как заживление ран и восстановление тканей, а также к макрофагам, которые отключают повреждающую активацию иммунной системы, производя противовоспалительные цитокины. МФ M2 продуцируют высокие уровни ИЛ-10, TGF-бета и низкие уровни ИЛ-12. Связанные с опухолью МФ в основном относятся к фенотипу M2 и, по-видимому, активно способствуют росту опухоли [10].

МФ M1 являются доминирующим фенотипом, наблюдаемым на ранних стадиях воспаления, и активируются тремя ключевыми медиаторами: IFN- γ , TNF и молекулярными структурами, связанными с повреждениями [2].

Эти медиаторные молекулы создают провоспалительный ответ, который в свою очередь производит провоспалительные цитокины, такие как ИЛ-6 и TNF. В отличие от МФ M1, МФ M2 секретируют противовоспалительный ответ за счет добавления ИЛ-4 или ИЛ-13. Они также играют роль в заживлении ран и необходимы для реваскуляризации и реэпителизации [13]. Кроме того, разные стимулы могут индуцировать разные подмножества МФ M2, такие как M2b (активируются лигандами TLR или агонистами ИЛ1R), M2c (индуцируются глюкокортикоидами или ИЛ-10) и M2d (индуцируются лигандами TLR и агонистами аденоzinовых рецепторов A2) [19]. Как определяются фенотипы M2, все еще обсуждается, но исследования показали, что их окружение позволяет им приспособливаться к тому фенотипу, который наиболее подходит для эффективного заживления раны [12].

При острых воспалительных реакциях наблюдается сдвиг фенотипа от МФ M1 к M2, однако для хронических патологий этот сдвиг нарушен. Это нарушение регуляции приводит к недостаточному количеству МФ M2 и соответствующих им факторов роста / противовоспалительных цитокинов, при недостатке которых, и переизбытке провоспалительных цитокинов,

хронические воспаления не могут своевременно регенерировать. Обычно после того, как нейтрофилы фагоцитируют дебрис / патогены, они совершают апоптоз и разрушаются. На этом этапе воспаление не требуется, и M1-поляризация переключается на M2 (противовоспалительную). Однако нарушение регуляции происходит, поскольку МФ M1 не фагоцитируют нейтрофилы, подвергшиеся апоптозу, что приводит к увеличению миграции МФ и усилению воспаления [12].

МФ M1 и M2 играют роль в развитии атеросклероза. МФ M1 способствуют развитию атеросклероза за счет воспаления. МФ M2 могут удалять холестерин из кровеносных сосудов, но когда холестерин окисляется, МФ M2 становятся апоптотическими пенистыми клетками, способствуя образованию атероматозной бляшки атеросклероза [12].

1.2.1 Роль метаболизма липидов в поляризации макрофагов

МФ M1 и M2 различаются по своему метаболизму. Метаболические адаптации каждого типа МФ тесно связаны с их основной функцией. Известно, что МФ M1 полагаются на аэробный гликолиз и имеют нарушенное окислительное фосфорилирование (ОФ) [20]. Эта метаболическая адаптация способствует быстрому производству АТФ для поддержания их фагоцитарной функции и обеспечения метаболическими предшественниками пентозофосфатного пути. В этих макрофагах цикл трикарбоновой кислоты (ЦТК) разбит на две части, чтобы обеспечить предшественников, необходимых для синтеза нескольких липидов [21] и стабилизации факторов транскрипции, таких как фактор, индуцируемый гипоксией 1 α , ключевой игрок в активации гликолиза [22]. Напротив, МФ M2 имеют интактный цикл ЦТК и усиленное окисление жирных кислот (ОЖК) и ОФ [21]. Хотя изначально предполагалось, что провоспалительные МФ являются исключительно гликолитическими и ОЖК и ОФ являются характеристиками противовоспалительных МФ, с годами

стало ясно, что это уравнение не так просто, и недавние результаты подтверждают необходимость гликолиза для М2-фенотипа МФ [23, 24].

1.2.1.1 Биогенез липидных капель

Клеткам необходимы липиды, чтобы обеспечить эффективное хранение и производство энергии [25]. Липиды также являются основными строительными элементами клеточных мембран и предшественниками многих сигнальных молекул. Большинство клеток обладают способностью накапливать липиды в форме липидных капель [26].

Липидные капли (ЛК) - это цитоплазматические динамические клеточные органеллы, депонирующие липиды [27]. Многие из ферментов, которые синтезируют фосфолипиды (ФЛ), триацилглицерины (ТГ) и их промежуточные соединения, а также липазы и липолитические регуляторы, локализуются на поверхности ЛК. Помимо их известной роли в метаболизме липидов, все больше данных свидетельствует о том, что ЛК также участвуют в деградации белка [28], ответе на стресс ЭПР [25], гликозилировании белка [29] и инфекции патогенов [30].

ЛК охватывают широкий диапазон размеров (от десятков нм до нескольких микрон в диаметре) и могут расти и уменьшаться в ответ на клеточные сигналы. Ядра ЛК содержат нейтральные липиды, преимущественно стериновые эфиры или ТГ, и, в зависимости от типа клеток, могут также включать ретиниловые эфиры, воски и простые эфиры липидов. Эти липиды окружены фосфолипидным монослоем, состоящим в основном из фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина [31]. Состав поверхности очень важен для регулирования размера ЛК и их способности взаимодействовать с другими ЛК или органеллами, такими как ЭПР.

Поверхность ЛК декорирована специфическими белками, и, что неудивительно, многие из них участвуют в метаболизме липидов. Большинство ЛК имеют около 50-200 различных белков на своей поверхности [28]. Состав

белков может различаться у ЛК разного размера [32] или разного липидного состава [27].

Липидные капли динамически синтезируются и расщепляются в ответ на потребности клеток и сигналы окружающей среды [26]. Их биогенез индуцируется в клетках, подверженных избыточному количеству липидов, питательному и окислительному стрессу, а также различным другим условиям, характеризующимся энергетическим и окислительно-восстановительным дисбалансами [25]. Одним из основных свойств липидных капель является их способность буферизовать избыток липидов, обеспечивая тем самым немедленную защиту от липотоксичности и высвобождать их позже, постепенно и в соответствии с потребностями клеток [25].

Биогенез ЛК начинается с эндоплазматического ретикулума (ЭПР), посредством чего триацилглицерины (ТАГ) синтезируются между двумя створками мембранны ЭПР путем последовательного добавления жирных кислот (ЖК) к глицериновой основной цепи [27]. Диацилглицерин ацилтрансферазы 1 и 2 катализируют последнюю и детерминированную стадию пути биосинтеза ТАГ. Когда накапливается достаточное количество нейтральных липидов, образующиеся липидные капли отрываются от мембранны ЭПР и высвобождаются в цитозоль [32]. Липидные капли расщепляются двумя основными механизмами: липолизом и липофагией [33]. Липолиз обеспечивает регулируемое высвобождение из ТВС меток, в результате последовательного действия жировой триглицерид липазы, гормон чувствительной липазы и моноацилглицерол липазы [34]. Липофагия - это недавно открытая селективная форма аутофагии, при которой части или целые ЛК поглощаются аутофагосомными мембранами и сливаются с лизосомами для разложения гидролитическими ферментами. На уровне организма распад ЛК в адипоцитах регулируется гормонально и обеспечивает ЖК для выработки митохондриальной энергии в нежировых тканях во время голодаия и физических упражнений [29]. Однако ЛК в нежировых тканях также подвергаются циклам биогенеза и распада в ответ на питательные вещества и

другие сигналы из окружающей среды. Их состав, количество, размер и распределение внутри клеток динамически меняется в зависимости от физиологического состояния клетки [25].

1.2.2 Морфологические особенности поляризации макрофагов

Frances et al. наблюдали, что МФ, происходящие из костного мозга, стимулированные в культуре цитокинами для индукции поляризации M1 или M2, демонстрируют заметно отличающуюся морфологию клеток. Добавление ЛПС и IFN- γ , которые стимулируют поляризацию M1, заставляло клетки принимать округлую форму в течение 24 часов после стимуляции. В противоположность этому, добавление ИЛ-4 и ИЛ-13, как стимулов M2 поляризации, привело к формирования удлиненных клеток. (Количественная оценка степени удлинения клеток, которую они определили как длину самой длинной оси, деленную на длину короткой оси поперек ядра клетки, показала, что клетки M2 демонстрируют значительно более высокую степень удлинения по сравнению с клетками M1 или нестимулированным M0). Frances et al., для подтверждения поляризации МФ, выполнили иммунофлуоресцентное окрашивание и вестерн-блоттинг, чтобы оценить экспрессию индуцируемой синтазы оксида азота (iNOS) и аргиназы-1, которые являются установленными маркерами провоспалительного и противовоспалительного фенотипов соответственно. Frances et al. обнаружили, что МФ, стимулированные ЛПС / IFN- γ , экспрессировали высокие уровни iNOS, но не аргиназы-1, тогда как клетки, стимулированные ИЛ-4 / ИЛ-13, экспрессировали высокие уровни аргиназы-1. Экспрессия аргиназы-1 зависела от дозировки ИЛ-4 / ИЛ-13, а степень удлинения клеток коррелировала с уровнем экспрессии аргиназы-1. Вместе эти данные предполагают, что форма клеток связана с состоянием поляризации МФ [35].

1.2.3 Биохимические маркеры поляризации макрофагов

В стандартных протоколах поляризации МФ *in vitro* увеличение активности продукции определенных маркеров связывают с поляризацией МФ M1/ M2. Так, например, формированием M1-фенотипа МФ связано с повышенной продукцией ИЛ-6, TNF-альфа, ПГЕ2, а увеличение активности продукции ИЛ-10, хемокина CCL-18, ЛТБ4 – с формированием M2-фенотипа.

Рассмотрим подробнее каждый из медиаторов.

Простагландини Е2 (ПГЕ2) и лейкотриены Б4 (ЛТБ4) являются низкомолекулярными производными жирных кислот, а также медиаторами воспаления.

Синтез ПГЕ2 в организме начинается с активации арахидоновой кислоты (АК) ферментом фосфолипазой А2. После активации АК насыщается кислородом ферментами циклооксигеназы (ЦОГ) с образованием эндопероксидов простагландинов. В частности, простагландин Г2 (ПГГ 2) модифицируется пероксидазной составляющей фермента ЦОГ с образованием простагландина Н2 (ПГН 2), который затем превращается в ПГЕ2 [36].

Природные простагландини, включая ПГЕ1 и ПГЕ2, играют важную роль в структуре и функции артериального протока у плода и новорожденного [37]. Они позволяют артериальному протоку оставаться открытым, обеспечивая необходимое соединение между легочной артерией и нисходящей аортой, что позволяет крови обходить недоразвитые легкие плода и транспортироваться к плаценте для насыщения кислородом [37].

ПГЕ2, как и ПГЕ1, действует как прямое вазодилататор, воздействуя на гладкие мышцы, вызывая расширение кровеносных сосудов. Кроме того, ПГЕ2 подавляет агрегацию тромбоцитов [37].

ПГЕ2 подавляет передачу сигналов и пролиферацию рецепторов Т-клеток и может играть роль в подавлении воспаления. Кроме того, ПГЕ2 ограничивает иммунный ответ, предотвращая дифференцировку В-лимфоцитов [37].

ЛТБ4 синтезируются в процессе окисления АК и эйкозапентаеновой кислоты с помощью фермента арахидоната 5-липоксигеназы [38]. Каталитический механизм включает введение кислородного фрагмента в определенное положение в основной цепи арахидоновой кислоты [38]. Липоксигеназный путь активен в лейкоцитах и других иммунокомпетентных клетках, включая МН и МФ [38]. Когда такие клетки активируются, АК высвобождается из фосфолипидов клеточной мембраны фосфолипазой А2 и передается 5-липоксигеназе, ферменту, который перемещается к ядерной мембране из цитозоля в ответ на повышение уровня внутриклеточного кальция [39], через белок-кофактор FLAP, активирующий 5-липоксигеназу. Заключительным этапом производства ЛТВ4 является гидролиз ЛТА4, катализируемый в цитозоле гидrolазой LTA4.

Лейкотриены используют липидную передачу сигналов для передачи информации продуцирующей их клетке (аутокринная передача сигналов), либо соседним клеткам (паракринная передача сигналов), чтобы регулировать иммунные ответы. Производство лейкотриенов обычно сопровождается выработкой гистамина и простагландинов [39].

Фактор некроза опухоли альфа (TNF- α) является цитокином, используемым иммунной системой для передачи сигналов клеткам. Если МФ обнаруживают инфекцию, они выделяют TNF, чтобы предупредить другие клетки иммунной системы, а также клетки других тканей, что приводит к воспалению.

Передача сигналов TNF осуществляется через два рецептора: TNFR1 и TNFR2 [40]. TNFR1 конститтивно экспрессируется на большинстве типов клеток, тогда как TNFR2 ограничен, главным образом, эндотелиальными, эпителиальными и субпопуляциями иммунных клеток. Передача сигналов TNF1 имеет тенденцию быть провоспалительной и апоптотической, тогда как передача сигналов TNFR2 является противовоспалительной и способствует пролиферации клеток. Подавление передачи сигналов TNFR1 было важно для

лечения аутоиммунных заболеваний, тогда как передача сигналов TNFR2 способствует заживлению ран [40].

Хемокин (мотив СС) лиганд 18 (CCL18) – тип цитокинов, который участвует в миграции иммунных клеток и их сообщении друг с другом.

CCL18 производится в основном с помощью антиген-представляющих клеток в врожденной иммунной системе. Эти клетки включают дендритные клетки, МН и МФ. Его продукция активируется в этих клетках с помощью ИЛ-10, ИЛ-4 и ИЛ-13 – цитокинов, характерных для М2-поляризации, и которые участвуют в гуморальном иммунном ответе или в иммуносупрессии. Присутствие IFN- γ , индуктора М1-поляризации, подавляет продукцию CCL18 [41].

На сегодняшний день для CCL18 предложены три рецептора: PITPNM3, GPR30 и CCR8. Рецептор CCR8 характерен для клеток иммунной системы, в том числе МФ, в то время как PITPNM3 экспрессируется исключительно на раковых клетках, а связывание GPR30- CCL18 не вызывает хемотаксиса [41].

CCL18 побуждает незрелые МФ дифференцироваться в иммуносупрессивные (противовосполительные) М2-МФ, способные продуцировать CCL18, которые привлекают Т-клетки, подавляя функцию эффекторных Т-клеток и генерируя Т-регуляторные клетки путем секреции большого количества ИЛ-10 [41].

Интерлейкин 6 (ИЛ-6) является провосполительным цитокином и миокином (цитокином, вырабатываемым мышцами, уровень которого повышается в ответ на сокращение мышц). Роль ИЛ-6 как противовоспалительного миокина опосредуется его ингибирующим действием на TNF- α и ИЛ-1 и активацией ИЛ-1ra и ИЛ-10 [42].

Существуют некоторые ранние свидетельства того, что ИЛ-6 может использоваться в качестве воспалительного маркера тяжелой инфекции COVID-19 с плохим прогнозом в контексте более широкой пандемии коронавируса [42].

ИЛ-6 секretируется макрофагами в ответ на специфические молекулярные структуры, ассоциированными с патогенами. Они связываются с важной группой молекул детектирования врожденной иммунной системы, называемой рецепторами распознавания образов (PRR), включая Toll-подобные рецепторы (TLR) [43]. Они присутствуют на поверхности клетки и внутриклеточных компартментах и индуцируют внутриклеточные сигнальные каскады, которые вызывают продукцию воспалительных цитокинов. ИЛ-6 является важным медиатором острой фазы иммунного ответа [42]..

ИЛ-6 передает сигналы через комплекс рецепторов цитокинов типа I на клеточной поверхности, состоящий из лиганд-связывающей цепи ИЛ-6Ra (CD126) и компонента, передающего сигнал gp130 (CD130) [43]. Во время взаимодействия ИЛ-6 со своим рецептором, происходит запуск белков gp130 и ИЛ-6R для образования комплекса, активирующего рецептор. Эти комплексы объединяют внутриклеточные области gp130, чтобы инициировать каскад передачи сигнала через определенные факторы транскрипции, киназы Януса (JAK) и сигнальные преобразователи и активаторы транскрипции (STAT) [43].

Интерлейкин 10 (ИЛ-10) является противовоспалительным цитокином. ИЛ-10 передает сигналы через рецепторный комплекс, состоящий из двух белков рецептора ИЛ-10-1 и двух белков рецептора ИЛ-10-2 [44]. Связывание ИЛ-10 индуцирует передачу сигналов STAT3 посредством фосфорилирования цитоплазматических хвостов рецептора 1 ИЛ-10 + рецептора 2 ИЛ-10 посредством JAK1 и Tyk2 соответственно [44].

ИЛ-10 основном секретируют МН и МФ, в меньшей лимфоциты. Экспрессия ИЛ-10 минимальна в нестимулированных тканях и требует запуска комменсальной или патогенной флорой [44]. Экспрессия ИЛ-10 строго регулируется на транскрипционном и посттранскрипционном уровнях. Обширное ремоделирование локуса ИЛ-10 наблюдается в моноцитах при стимуляции путей TLR или Fc рецепторов [45].

ИЛ-10 - это цитокин с множественными плейотропными эффектами при иммунорегуляции и воспалении. Он подавляет экспрессию цитокинов Th1, антигенов МНС класса II и костимулирующих молекул на макрофагах [45].

1.2. 4 M1 / M2 – фенотипы макрофагов при разных патологиях

МФ претерпевают динамические изменения на разных этапах регенерации. M1-поляризованные МФ опосредуют повреждение тканей и инициируют воспалительные реакции [46]. На начальных этапах восстановления поврежденных участков эпителия популяция МФ представлена M2-фенотипом, и их сокращение ингибирует образование сильно васкуляризованной клеточной гранулярной ткани и рубцовых тканей [47].

При моделировании такого заболевания, как нейропатия сетчатки, инфильтрация мононуклеарных фагоцитов создает нейропротекторное микроокружение, способствующее выживанию клеток-предшественников сетчатки [48]. Взаимодействие поляризованных МФ со стволовыми клетками и клетками-предшественниками, вероятно, является ключевым компонентом их роли в восстановлении и ремоделировании, однако истинное значение поляризованных МФ при дегенеративных заболеваниях и их участие в стволовых клетках и клетках-предшественниках еще предстоит определить [48].

Активация МФ была обнаружена при аутоиммунных и воспалительных заболеваниях, в частности при волчаночном нефрите [49]. В мышиной модели СКВ провоспалительная активация МФ поддерживалась передачей сигналов Notch [49]. И наоборот, сывороточный амилоид Р острой фазы смешает МФ в сторону противовоспалительного M2-подобного фенотипа, облегчая, таким образом, волчаночный нефрит [50]. При РА основной источник цитокинов M1 (TNF- α , IL-1 β , IL-12p70) [51] в суставах находятся синовиальные МФ, количество которых коррелирует с активностью воспалительного заболевания [51].

МФ M1 обычно считаются ответственными за устойчивость к внутриклеточным патогенам и характеризуют инфицирование бактериальными агентами [52]. Переключение M1-M2, наблюдаемое при переходе от острой инфекции к хронической, может обеспечивать защиту от неконтролируемого воспаления; тем не менее, переключение фенотипа может также способствовать развитию патогенов, которые разработали стратегии, препятствующие M1-ассоциированному ответу [52].

При паразитарных инфекциях человека МФ обычно подвергаются динамическому переключению в сторону поляризации M2 [53]. Ранняя и поздняя фазы инфекции характеризуются Th1-управляемой M1 и Th2-управляемой IL-4-опосредованной поляризацией МФ M2, соответственно [53].

Поляризованный активация МФ была связана так же с вирусной инфекцией (например, ВИЧ, вирус герпеса, связанный с саркомой Капоши и др.), и эта поляризация может иметь наибольшее значение для сдерживания и ограничения повреждения тканей. В частности, при тяжелом бронхиолите, вызванном респираторно-синцитиальным вирусом, дифференцировка IL-4Ra / STAT6-зависимых МФ M2 снижает воспаление и повреждение эпителия в легких [54].

Аллергия индуцируется Th2-клетками и связана с поляризацией МФ M2 [55]. Также сообщалось, что индуцируемые IL-4 хемокины, действующие на CCR4 (например, CCL22), способствуют искажению функции МФ [56]. Теперь данные показывают, что хитин- и аргиназа-зависимые пути M2 играют активную роль в патогенезе [55, 56]. Астма связана с ремоделированием тканей: отложением коллагена и гиперплазией бокаловидных клеток. Поляризация M2, вызванная IL-4, вероятно, будет играть ключевую роль в качестве регулятора этих процессов [56].

Аллергия представляет собой парадигму воспаления 2 типа, вызванного IL-4 / IL-13 [56].

Воспаление, связанное с раком, характеризуется привлечением клеток моноцитарно-макрофагальной линии к опухолевым тканям [49], которые также

обусловливают преметастатическую нишу, способствуя вторичной локализации рака. Классически активированные M1-поляризованные МФ могут проявлять противоопухолевую активность и вызывать разрушение опухолевой ткани [57]. По крайней мере, в некоторых моделях канцерогенеза у мышей прогрессирование связано с переключением фенотипа с M1 на M2 [57]. Было обнаружено, что активация МФ, управляемая Th1, опосредует устранение стареющих гепатоцитов, которые вызывают последующий канцерогенез [57]. Следовательно, классически активированные МФ M1 вносят вклад в опосредованную Т-клетками элиминацию и фазы равновесия во время прогрессирования опухоли [57].

На более поздних стадиях прогрессирования опухолевой ткани у мышей и людей индуцируется M2-подобный фенотип с низкой экспрессией IL-12, высокой экспрессией IL-10, а также низкой опухолевой активностью и стимулированием ремоделирования тканей и ангиогенеза. Продукты опухолевых клеток, включая компоненты внеклеточного матрикса, IL-10, CSF-1 и хемокины (CCL2, CCL18, CCL17 и CXCL4), устанавливают M2 МФ, которые способствуют развитию рака [58].

1.5 Наночастицы

Нанотехнология – наука управления веществом на атомном и молекулярном уровне, которая занимается разработкой функциональных материалов и устройств с размерами в диапазоне 0,1–100 нм. Как и почти во всех областях, нанотехнологии приводят к высоким ожиданиям в биологии и медицине [59].

Сегодня наномедицина направлена на разработку и создание структур, демонстрирующих биосовместимость на наноразмерном уровне, и обеспечение терапевтических агентов для проникновения в пораженные ткани и клетки. Наноструктуры построены в форме агентов, регулирующих гены, носителей лекарств, зондов для визуализации и светочувствительных терапевтических агентов [59]. Тем не менее, влияние наноматериалов на здоровье человека и взаимодействие этих материалов с живыми системами, по-видимому, являются важными вопросами, на которых необходимо сосредоточиться и изучить. Это имеет решающее значение для лучшего понимания взаимосвязи между живыми клетками и наноразмерными структурами, а также для обеспечения возможности успешного клинического применения. Высокая специфическая аккумуляция в целевых областях и удаление из организма почечными путями, не вызывая каких-либо существенных токсических эффектов, являются ключевыми требованиями к наноматериалам, которые должны быть предназначены для использования в клинических применениях [59]. Среди других наноструктур наночастицы золота (НЧ золота) широко используются в различных медицинских приложениях благодаря их простой и быстрой подготовке, настраиваемым оптическим характеристикам, простоте обнаружения и функциональности с различными биомолекулами. Высокая специфическая аккумуляция в целевых областях и удаление из организма почечными путями, не вызывая каких-либо существенных токсических эффектов, являются ключевыми требованиями к наноматериалам, которые

должны быть предназначены для использования в клинических применениях [59].

Обнаружено, что наноматериалы, определяемые как любой материал, обладающий по меньшей мере одним измерением в нанометровом масштабе от 1 до 100 нм, имеют множество применений и потенциальных применений в области биологии и медицины. Ожидается, что конкретные физико-химические свойства в наномасштабе приведут к увеличению реактивности с биологическими системами. Таким образом, нанотоксичность является новой областью исследований, ответом на растущее использование наноразмерных материалов во множестве технологических применений и потребительских товаров [60].

Золото в его естественной форме долгое время считалось инертным благородным металлом, обладающим некоторой терапевтической и даже лечебной ценностью; следовательно, НЧ золота также считаются относительно нецитотоксичными. Таким образом, воздействие НЧ золота на людей значительно возросло за последние десятилетия из-за их использования во многих областях, таких как электроника и датчики [61], солнечные элементы [62], или катализ [63], но особенно в биомедицинских применениях - радиотерапия [64], в качестве носителей лекарств или в лечение рака [65].

Однако, несмотря на огромную потенциальную эффективность НЧ золота в области биомедицинских и промышленных применений, интерес к изучению их возможных вредных воздействий на биологические системы и способов их смягчения. Было продемонстрировано, что различные характеристики, такие как диаметр, покрытие, форма [66], доза [67] или способ введения, играют важную роль в распределении [68], накоплении, метаболизме [66], элиминации [66], и, следовательно, влиянии и токсичности этих наночастиц [66].

1.5.1 Производство и применение наночастиц золота

Золото - это элемент блока D, периода 6. Это мягкий металл, который часто легируют для придания ему большей прочности. Это хороший проводник тепла и электричества. Это хороший отражатель инфракрасного излучения и химически инертен [60]. .

Универсальный химический состав поверхности наночастиц золота позволяет покрывать их небольшими молекулами, полимерами и молекулами биологического распознавания, тем самым расширяя диапазон их применения. Морфология наночастиц золота сферическая, и они выглядят как коричневый порошок [69].

Наночастицы золота обычно производятся в жидкости путем восстановления золотохлористоводородной кислоты. После растворения кислоты раствор быстро смешивают с восстановителем. Затем в результате этого процесса ионы Au 3+ восстанавливаются до нейтральных атомов золота.

По мере того, как образуется больше этих атомов золота, раствор становится перенасыщенным. Затем золото начинает выпадать в осадок в виде частиц размером менее нанометра. Если раствор перемешивать энергично, частицы имеют тенденцию к однородному размеру [70].

Иногда добавляют стабилизирующий агент, чтобы предотвратить агрегирование частиц [61].

Золотые наночастицы - это универсальные материалы с широким спектром применения в самых разных областях [69]. Исследователи покрыли частицы золота ДНК и вводили их в зародыши растений или клетки растений. Это гарантирует, что некоторый генетический материал попадет в клетки и трансформирует их. Этот метод усиливает пластиды растений.

В июльском выпуске журнала Analytical Chemistry за 2007 г. сообщалось, что ученые из Университета Пердью смогли использовать наночастицы золота для обнаружения рака груди. Позже было также обнаружено, что наночастицы могут обнаруживать токсины и патогенные [65].

Оптико-электронные свойства наночастиц золота широко исследуются для использования в высокотехнологичных приложениях, таких как сенсорные зонды, электронные проводники, терапевтические агенты, органические фотоэлектрические элементы, доставка лекарств в биологических и медицинских приложениях и катализ [66].

Другие применения наночастиц золота перечислены ниже:

- 1) В качестве антибиотического, противогрибкового и антимикробного агента при добавлении в пластмассы, покрытия, нановолокна и текстиль; 2) В нанопроводах и катализаторах; 3) При доставке терапевтического агента; 4) Для подключения резисторов, проводников и других элементов электронной микросхемы; 5) В фотодинамической терапии - когда свет попадает на опухоль, содержащую наночастицы золота, частицы быстро нагреваются, убивая опухолевые клетки; 6) В различных сенсорах, например колориметрический сенсор с наночастицами золота, может определять, подходят ли продукты для употребления; 7) В качестве подложек для измерения энергии колебаний химических связей в спектроскопии комбинационного рассеяния света с усилением поверхности; 8) Рассеянные цвета наночастиц золота в настоящее время используются для получения изображений биологических объектов;
- 9) Наночастицы золота довольно плотные, что позволяет использовать их в качестве зондов для просвечивающей электронной микроскопии; 10) Для обнаружения биомаркеров при диагностике рака, болезней сердца и инфекционных агентов; 11) Как катализаторы в ряде химических реакций;
- 12) Для топливных элементов.

1.5.2 Морфология наночастиц золота

Морфология наночастиц помогает выполнять различные функции, например, длинные углеродные нанотрубки, используемые для перекрытия электрического перехода. Аморфные частицы обычно принимают сферическую форму или наносферы, а анизотропные микрокристаллические усы

соответствуют их конкретной кристаллической форме. Маленькие наночастицы обычно образуют кластеры. Они могут иметь различную форму, например стержни, волокна, чашки и т.д. Изучение мелких частиц называется микромеритикой [60].

Контроль морфологии наночастиц имеет ключевое значение для использования их свойств в нескольких новых технологиях [63]. Оптические фильтры и биодатчики являются одними из многих приложений, в которых используются оптические свойства наночастиц золота, и для этого требуется анизотропия формы частиц, поскольку более крупные формы вызывают большие плазмонные потери [64].

Наночастицы обычно классифицируются на основе их размерности, морфологии, состава, однородности и агломерации. Классификация по размерности - это обобщение концепции соотношения сторон.

1D наноматериалы - это одномерные в нанометровом масштабе, как правило, тонкие пленки или поверхностные покрытия, включая схемы компьютерных микросхем, а также антиотражающие и твердые покрытия на очках. Они используются в электронике, химии и технике [67].

2D наноматериалы - двумерные наноматериалы имеют два измерения в нанометровом масштабе. К ним относятся двумерные наноструктурированные пленки сnanoструктурами, прочно прикрепленными к подложке, или фильтры с нанопорами, используемые для отделения и фильтрации мелких частиц. Волокна асбеста являются примером двумерных наночастиц [67].

3D наноматериалы - материалы, которые являются наноразмерными во всех трех измерениях, считаются трехмерными наноматериалами. К ним относятся тонкие пленки, осажденные в условиях, которые создают пористость атомного масштаба, коллоиды и свободные наночастицы различной морфологии [67].

1.5.3 Влияние наночастиц золота на поляризацию макрофагов

Реакция МФ на наночастицы может зависеть от таких факторов, как доза, способ введения, размер, состав наночастиц и свойства поверхности наночастиц [71]. МФ у пациентов обычно подвергаются воздействию наночастиц тремя основными способами: 1) пероральное или парентеральное введение фармацевтических составов на основе наночастиц, 2) вдыхание переносимых по воздуху наночастиц в результате загрязнения или профессионального воздействия, или 3) образование наночастиц в организме из-за деградации металлических имплантатов. Как только наночастицы попадают в организм, МФ могут идентифицировать наночастицы как инородные тела из-за опсонизации поверхности и захватывать их посредством эндоцитоза или фагоцитоза [72]. Поскольку эти материалы не считаются инертными, МФ часто реагируют на их поглощение, подвергаясь поляризации. Точный вклад конкретных свойств наночастиц, таких как тип материала, состав ядра и оболочки, терапевтическая нагрузка или форма, на их общие поляризационные свойства МФ до конца не изучены [72].

Bastus et al. продемонстрировали, что обработка МФ наночастицами золота, конъюгированными с пептидом, ингибирующим рост амилоида, увеличивала секрецию TNF- α , ИЛ-1 β и ИЛ-6 из-за взаимодействий между конъюгированными с пептидом наночастицами и Toll-подобным рецептором 4 [71, 72]. МФ, обработанные наночастицами, в этом исследовании также продемонстрировали повышенную экспрессию iNOS как элемент иммунного ответа. В другом исследовании Pal et al. измерили влияние обработки покрытых цитратом НЧ золота на ассоциированные с опухолью МФ мышей с опухолью, МФ селезенки мышей с опухолью и МФ здоровых мышей [72]. Генерация АФК увеличилась в большей степени в связанных с опухолью макрофагах, чем в макрофагах селезенки мышей-опухоленосителей или макрофагах здоровых мышей. Кроме того, обработка НЧ золота уменьшала секрецию как TNF- α , так и ИЛ-10 из связанных с опухолью МФ, а также увеличивала секрецию ИЛ-12.

Противоречивые наблюдения секреции цитокинов между двумя ранее обсужденными отчетами могут быть приписаны различиям между цитратным и пептидным покрытием поверхности НЧ золота; однако выяснение влияния покрытия поверхности НЧ на поляризацию МФ при сохранении других факторов, таких как постоянный поверхностный заряд, остается трудным. Эти результаты указывают на важность покрытий поверхности наночастиц для поляризации МФ.

1.6 Роль эверолимуса в метаболизме липидов

Эверолимус – макроциклический лактон, препарат, который используется в качестве иммунодепрессанта, чтобы предотвратить отказ от трансплантации органов и при лечении различных видов рака. Этот препарат был создан на основе такого соединения, как рапамицин, и является ингибитором mTORC [73].

Эверолимус (RAD001) является пероральным ингибитором рапамицина-мишени млекопитающих (mTOR) [74], ключевого компонента активного пути PI3K / Akt при раке человека [75]. Он связывается с внутриклеточным рецептором FKBP12 в пути mTOR с высоким сродством, образуя комплекс эверолимус-FKBP12 [76]. Комплекс дополнительно связывается с mTOR [77], что приводит к снижению активности эффекторов S6 рибосомальной протеинкиназы и белка репрессора трансляции эукариотического фактора элонгации 4E-связывающего белка [78]. Помимо своей иммуносупрессивной активности для предотвращения отторжения трансплантата, эверолимус проявляет противоопухолевую активность и в настоящее время используется для лечения почечно-клеточного рака и других опухолей [79].

2 ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Объекты исследования

МН выделяли из периферической крови здорового донора на градиенте плотности фиколл-урографин. Выделенные МН супенсировали в среде ДМЕМ с фетальной сывороткой. Клеточные супензии МН вносили в пластиковые 96-луночные культуральные планшеты. После культивирования в дифференцированные МФ вносили наночастицы золота сферической формы 6 нм и 25 нм, иммунные комплексы (выделенные из крови доноров, больных атеросклерозом) и эверолимус.

2.2 Выбор доноров периферической крови

Выбор доноров для взятия периферической крови осуществлялся по средствам анкетирования (приложение А). Анкеты были составлены, исходя из потребности изучения влияния наночастиц золота на метаболизм липидов и процессов поляризации здоровых МН-МФ, поэтому в анкете отражены такие показатели, как пол, возраст, образ жизни, привычки питания, вредные привычки, особенности профессии. В результате анкетирования были отобраны четыре здоровых донора мужчины от 21 до 35 лет, имеющие сбалансированную диету, активный образ жизни, имеющие вредные привычки, но ограничивающие употребление алкоголя от 1-2 раз в месяц до нескольких раз в год, не имеющие хронических заболеваний и здоровых на момент сбора крови.

2.3 Выделение и культивирование моноцитов - макрофагов

20 мл крови доноров, прошедших предварительное анкетирование, собирали в пластиковые пробирки с раствором ЭДТА в качестве антикоагуланта (1,2 мг ЭДТА/мл крови).

МН выделяли в гипертоническом градиенте плотности фиколл-урографина по методу Recalde (1984) [80] в стерильных условиях с использованием стерильных реагентов

Клеточные суспензии МН вносили в пластиковые 96-луночные культуральные планшеты. В каждую лунку вносили 100 мкл среды DMEM с 10%-ной фетальной сывороткой (БФС) и добавляли 50 мкл клеточной суспензии.

Клетки культивировали в СО₂- инкубаторе в течение 6 дней, каждые 3 сутки меняли культуральную среду.

На 6-е сутки культивирования отбирали культуральный фильтрат и вносили 150 мкл свежей среды DMEM+10% БФС в контрольный вариант. В экспериментальные варианты вносили по 150 мкл:

1. DMEM+10% БФС + иммунные комплексы (ИК), 200мкг/мл;
2. DMEM+10% БФС + эверолимус (ЭВ), 10-5М;
3. DMEM+10% БФС + ИК, 200мкг/мл + ЭВ, 10-5М;
4. DMEM+10% БФС + наночатицы золота (НЧ Au), 6 нм, 3.3x10¹⁰ частиц/мл;
5. DMEM+10% БФС + НЧ Au, 25 нм, 3.3x10¹⁰ частиц/мл;
6. DMEM+10% БФС + НЧ Au, 6 нм, 3.3x10¹⁰ частиц/мл + ИК, 200мкг/мл;
7. DMEM+10% БФС + НЧ Au, 25 нм, 3.3x10¹⁰ частиц/мл + ИК, 200мкг/мл.

МН-МФ культивировали еще 3-е суток в СО₂-инкубаторе. На 9-е сутки культивирования собирали культуральные фильтраты в пластиковые пробирки и хранили при Т=-70°C. Адгезированные на пластике МН-МФ фиксировали 2,5% глутаровым альдегидом (на ФСБ, pH=7,4) и хранили в холодильнике при Т=5-8°C.

2.4 Иммуноферментный анализ

В культуральных фильтратах определяли содержание ИЛ-6 и -10, ПГЕ2, ЛТБ4, TNF- α , хемокина CCL-18 методом иммуноферментного анализа.

Иммуноферментный анализ (ИФА) - это метод захвата целевого антигена (или антитела) в образцах с использованием определенного антитела (или антигена) и обнаружения / количественного определения целевой молекулы с использованием ферментативной реакции с его субстратом [81].

В зависимости от комбинации антиген-антитело, анализ называется прямым ИФА, непрямым ИФА, сэндвич-ИФА, конкурентным ИФА и др. [81]. Так для определения концентрации CCL-18 использовали сэндвич-анализ, для остальных медиаторов применяли конкурентный ИФА.

2.5 Электронная микроскопия

Зафиксированные 2,5% глутаровом альдегиде МН-МФ дополнительно фиксировали в 1% OsO₄. Клеточные образцы обезвоживали в спиртах восходящей концентрации (10% этанол ... 96% этанол, с шагом 10%). Промывали абсолютным спиртом и напыляли платиной. Образцы анализировали с помощью сканирующего микроскопа TM4000 (NITACHI, Япония). Рентгенофлуоресцентный анализ проводили с использованием приложения Quantax 70 (для определения внутриклеточной локализации Os).

2.6 Морфологический анализ

После электронной микроскопии проводился морфологический анализ. Предварительно фотографии обрабатывали в программе FastStone Image Viewer для улучшения контраста и определения четких границ клеток. Далее, отдельно для каждого варианта культивирования, осуществляли подсчет клеток различной морфологии и локализации липидных капель (ЛК).

Полученные результаты были статистически обработаны по методу Стьюдента. Эксперименты были проведены в 3-х повторах.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1 Морфологическая вариабельность моноцитов-макрофагов

[изъята 1 страница]

3.1.1 Морфологические маркеры M1/ M2 поляризации моноцитов - макрофагов *in vitro*

[изъято 4 страницы]

3.2 Липидные капли в цитоплазме моноцитов - макрофагов

[изъято 2 страницы]

3.2.1 Вариабельность липидных капель

[изъята 1 страницы]

3.2.2 Липид-нагруженные макрофаги

[изъято 2 страницы]

3.3 Биохимические маркеры M1/ M2 поляризации моноцитов - макрофагов in vitro

[изъято 2 страницы]

3.3.1 Количество липид-нагруженных макрофагов и содержание ПГЕ2 и ЛТБ4

[изъято 2 страницы]

3.3.2 Фенотипы макрофагов в различных условиях культивирования

[изъято 2 страницы]

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проделанной работы получены следующие выводы:

1. НЧ золота увеличивают численность липид-нагруженных МФ. НЧ размером 6 нм являются более эффективными индукторами биогенеза ЛК, чем НЧ размером 25 нм.
2. В условиях комбинированного воздействия НЧ + ИК численность липид-нагруженных МФ достоверно выше (1,8 и 2,6 раза, для НЧ 6нм и 25 нм, соответственно), чем в условиях однофакторного воздействия (НЧ).
3. Увеличение численности липид-нагруженных МФ под воздействием НЧ золота сопровождается увеличением активности продукции ЛТВ4 (по сравнению с контролем). В условиях комбинированного воздействия НЧ+ИК активность продукции ЛТВ4 и ПГЕ2 резко снижается в 9-10 раз, по сравнению с однофакторным воздействием, НЧ.
4. НЧ золота в условиях однофакторного и комбинированного воздействия инициируют формирование M2a- и M2c-фенотипов МФ, но секретомы этих фенотипов в условиях однофакторного и комбинированного воздействия существенно различаются.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

TLR – Toll-подобные рецепторы

ЛПС – липополисахариды

ЦТК – трикарбоновой кислоты

ОЖК – окисление жирных кислот

ОФ – окислительное фосфорилирование

ЦОГ – циклооксигеназы

ФЛ – фосфолипиды

ТАГ – триацилглицериды

ТГ – триглицериды

ЖК – жирные кислоты

АФК – активные формы кислорода

МН – МН

МФ – МФ

ЛК – липидные капли

ПГЕ2, PGE2 – простагландины группы Е2

ЛТБ4, LTB4 – лейкотриены группы Б4

ИЛ-6, IL-6 – интерлейкин 6

ИЛ-10 , IL-10 – интерлейкин 10

TNF- α – фактор некроза опухоли-альфа

CCL-18 – хемокин мотив СС лиганд 18

ИК – иммунные комплексы

НЧ – наночастицы

JAK – киназы Януса

STAT – сигнальные преобразователи и активаторы транскрипции

iNOS – синтаза индуцируемая оксидом азота

IFN- γ – интерферон-гамма

ИФА – иммуноферментный анализ

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Li C. Macrophage polarization and meta-inflammation / Li C., Xu M. M., Wang K., Adler A. J., Vella A. T., Zhou B. // Trans. Res. – 2018 – 191 – 29–44.
2. Wang L. X. M2b macrophage polarization and its roles in diseases / Wang L. X, Zhang S. X, Wu H. J, Rong X. L, Guo J. // J Leukoc Biol. – 2018 – 1–14.
3. Y. Yao Macrophage polarization in physiological and pathological pregnancy / Y. Yao, X.-H. Xu, L. Jin // Front. Immunol. – 2019 – 10 – 792 <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.00792/full>
4. X. Miao The current state of nanoparticle-induced macrophage polarization and reprogramming research / X. Miao, X. Leng, Q. Zhang // Int. J. Mol. Sci. – 2017 – 18 – 336.
5. Kansler E. R. Innate lymphocytes—lineage, localization and timing of differentiation./ Kansler E. R., Li M. O. // Cellular & Molecular Immunology. – 2019 – 16 (7) – 627–633.
6. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология: Учебное пособие. — Одесса: Астропринт, 1999. — 604 с.
7. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. –234 с
8. Nichols B. A. Differentiation of monocytes. Origin, nature, and fate of their azurophil granules [Электронный ресурс] / Nichols B. A., Bainton D. F. Farquhar M. G. // J. Cell Biol. – 1971 – 50 (2): – 498–515. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2108281/>
9. Исследовано в Британии [Электронный ресурс]: многопредмет. науч. журн. / The British Society for Immunology's – Электрон. журн. – 2021 – режим доступа: <https://www.immunology.org/public-information/bitesized-immunology/cells/macrophages>

10. Krombach F. Cell size of alveolar macrophages: an interspecies comparison [Электронный ресурс] / Krombach F, Münzing S, Allmeling A. M., Gerlach J. T., Behr J., Dörger M. // Environmental Health Perspectives. – 1997 – 105 – 1261–3. – Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9400735/>
11. Hibbs J.B. Macrophage cytotoxicity: role for L-arginine deiminase and imino nitrogen oxidation to nitrite. [Электронный ресурс] / Hibbs J.B., Taintor R.R., Vavrin Z // Science. – 1987 – 235 (4787): – 473–6. – Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2432665/>
12. Mills C. D. M1 and M2 Macrophages: Oracles of Health and Disease. [Электронный ресурс] / Mills C. D. // Critical Reviews in Immunology. – 2012 – 32 (6) – 463–88. – Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23428224/>
13. Khazen W. Expression of macrophage-selective markers in human and rodent adipocytes. [Электронный ресурс] / Khazen W., M'bika J. P., Tomkiewicz C., Benelli C., Chany C., Achour A., Forest C. // FEBS Letters. – 2005 – 579 (25) – 5631–4. – Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16213494/>
14. Iegler-Heitbrock, L. Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood. [Электронный ресурс] / iegler-Heitbrock, L. // Blood. – 2010 – 116 (16) – 74–80. – Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20628149/>
15. Collison, Joanna L. Heterogeneity in the Locomotory Behavior of Human Monocyte Subsets over Human Vascular Endothelium In Vitro. [Электронный ресурс] / Collison, Joanna L // Journal of Immunology. – 2015 – 195 (3) – 1162–1170. – Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26085686/>
16. Hofer T. P. 6-Sulfo LacNAc (Slan) as a Marker for Non-classical Monocytes. [Электронный ресурс] / Hofer T. P., van de Loosdrecht A. A., Stahl-Hennig C, Cassatella M. A., Ziegler-Heitbrock L. // Front. Immunol. – 2019 – 10 – 2052. – Режим доступа: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.02052/full>
17. Elias A. PD-1 Induced IL10 Production by Monocytes Impairs T-cell Activation in a Reversible Fashion". [Электронный ресурс] / Elias A. //Nature

Medicine. – 2010 – 16 (4) – 452–9. – Режим доступа:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20208540/>

18. Ghattas; et al. Monocytes in Coronary Artery Disease and Atherosclerosis. Where are we now?. [Электронный ресурс] / Ghattas; et al // Journal of the American College of Cardiology. – 2013 – 62 (17) – 1541–1551. – Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23973684/>

19. Shapouri-Moghaddam, A. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. [Электронный ресурс] / Shapouri-Moghaddam, A. et al. // J. Cell. Physiol. – 2018 – 233, – 6425–6440 – Режим доступа: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jcp.26429>

20. Batista-Gonzalez A. New Insights on the Role of Lipid Metabolism in the Metabolic Reprogramming of Macrophages. [Электронный ресурс] / Batista-Gonzalez A., Vidal R., Criollo A., Carreño L. J. // Front Immunol. – 2019 – 10 – 2993. – Режим доступа:

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.02993/full#B12>

21. Van den Bossche J. Macrophage immunometabolism: where are we (going)? / Van den Bossche J., O'Neill L. A., Menon D. // Trends Immunol. – 2017 – 38 – 395–406.

22. Wang T. HIF1 α -induced glycolysis metabolism is essential to the activation of inflammatory macrophages. / Wang T., Liu H., Lian G., Zhang S. Y., Wang X., Jiang C. // Mediators Inflamm. – 2017 – 2017 – 902 - 932.

23. Huang S. C. Metabolic reprogramming mediated by the mTORC2-IRF4 signaling axis is essential for macrophage alternative activation. / Huang S. C., Smith A. M., Everts B., Colonna M., Pearce E. L., Schilling J. D. // Immunity. – 2016 – 45 – 817–30.

24. Korbecki J. The effect of palmitic acid on inflammatory response in macrophages: an overview of molecular mechanisms. / Korbecki J., Bajdak-Rusinek K. // Inflamm Res. – 2019 – 68 – 915–32.

25. Henne W. M. The assembly of lipid droplets and their roles in challenged cells. Henne W. M., Reese M. L., Goodman J. M. // *EMBO J.* – 2018. – 37(12) – 98947
26. Olzmann J. A. Dynamics and functions of lipid droplets. / Olzmann J. A., Carvalho P. // *Nat Rev Mol Cell Biol.* – 2019. – 20(3) – 137–155.
27. Wilfling F. Lipid droplet biogenesis. / Wilfling F., Haas J. T., Walther T. C., Farese R. V. // *Curr Opin Cell Biol.* – 2014. – 29 – 39–45.
28. Olzmann J. A. Spatial regulation of UBXD8 and p97/VCP controls ATGL-mediated lipid droplet turnover. / Olzmann J. A., Richter C. M., Kopito R. R. // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2013 – 110 – 1345–1350.
29. Krahmer N. Protein correlation profiles identify lipid droplet proteins with high confidence. / Krahmer N., Hilger M., Kory N., Wilfling F., Stoehr G., Mann M., Farese R. V., Jr, Walther T. C. // *Mol Cell Proteomics.* – 2013 – 12 – 1115–1126.
30. Thiam A. R. The biophysics and cell biology of lipid droplets. / Thiam A. R., Farese R. V., Jr, Walther T. C. // *Nature Reviews in Molecular Cell Biology.* – 2013 – 14 – 775–786.
31. Wilfling F. Arf1/COPI Machinery Acts Directly on Lipid Droplets and Enables their Connection to the ER for Protein Targeting. / Wilfling F., Thiam A. R., Olarte M. J., Wang J., Beck R., Gould T. J., Allgeyer E.S., Pincet F., Brewersdorf J., Farese R. V. // *eLife.* – 2014.
32. Wilfling F. Triacylglycerol synthesis enzymes mediate lipid droplet growth by relocating from the ER to lipid droplets. / Wilfling F., Wang H., Haas J. T., Krahmer N., Gould T. J., Uchida A., Cheng J. X., Graham M., Christiano R., Frohlich F. // *Dev Cell.* – 2013 – 24 – 384–399.
33. Schulze R. J. Breaking fat: the regulation and mechanisms of lipophagy. / Schulze R. J., Sathyanarayan A., Mashek D. G. // *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids.* – 2017. – 1862 – 1178–1187.

34. Grabner G. F. Monoglyceride lipase as a drug target: at the crossroads of arachidonic acid metabolism and endocannabinoid signaling. / Grabner G. F., Zimmermann R., Schicho R., Taschler U. // Pharmacol Ther. – 2017. – 175 – 35–46.
35. F.Y. McWhorter Modulation of macrophage phenotype by cell shape. / F.Y. McWhorter // Proc. Natl. Acad. Sci., – 2013 – 110 (43) – 17253-17258
36. Hwa J., Martin K. Chapter 18: The Eicosanoids: Prostaglandins, Thromboxanes, Leukotrienes, & Related Compounds. [Электронный ресурс] / Hwa J., Martin K. – Электрон. Текстовые дан. – In Katzung BG Basic & Clinical Pharmacology New York, NY: McGraw-Hill Education, 2017 – Режим доступа: <https://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2249§ionid=175218286>
37. Sharma M. Prostaglandins in Congenital Heart Disease. / Sharma M., Sasikumar M., Karloopia S. D., Shahi B. N. // Medical Journal, Armed Forces India. – 2001 – 57 (2) – 134–148
38. Nelson David L. Leukotrienes. / Nelson David L., Cox Michael M. // Lehninger Principles of Biochemistry – 2005 – 5 – 359.
39. S.W. Crooks Leukotriene B4 Int. J. Biochem. / S.W. Crooks, R.A. Stockley // Cell Biol., – 1998 – 30, – 173-178
40. H.T. Idriss TNF α and the TNF receptor superfamily: structure–function relationship(s). / H.T. Idriss, J.H. Naismith // Microsc. Res. Tech. – 2000 – 50 –. 184-195
41. Schraufstatter I. U. The chemokine CCL18 causes maturation of cultured monocytes to macrophages in the M2 spectrum. / Schraufstatter I. U., Zhao M., Khaldoyanidi S. K., Discipio R. G. // Immunology. – 2012 – 135 (4) – 287–298.
42. Исследовано в США [Электронный ресурс]: многопредмет. науч. журн. / Cardiac Rhythm News – Электрон. журн. – Raised troponin and interleukin-6 levels are associated with a poor prognosis in COVID-19, 2020 – режим доступа: <https://cardiacrhythmnews.com/raised-troponin-and-interleukin-6-levels-are-associated-with-a-poor-prognosis-in-covid-19/>

43. Heinrich P. C. Interleukin-6-type cytokine signalling through the gp130/Jak/STAT pathway. / Heinrich P. C., Behrmann I., Müller-Newen G., Schaper F., Graeve L. // The Biochemical Journal. – 1998 – 334 – 297–314.
44. Mosser D. M. Interleukin-10: new perspectives on an old cytokine". / Mosser D. M., Zhang X. // Immunological Reviews. – 2008 – 226 (1) – 205–218.
45. Saraiva M. The regulation of IL-10 production by immune cells. / Saraiva M., O'Garra A. // Nature Reviews. Immunology. – 2010 – 10 (3) – 170–181.
46. Gordon S. Alternative activation of macrophages: mechanism and functions. / Gordon S., Martinez F. O. // Immunity. – 2010 – 32(5) – 593–604.
47. Lucas T. Differential roles of macrophages in diverse phases of skin repair. / Lucas T. // J Immunol. – 2010 – 184(7) – 3964–3977.
48. London A. Neuroprotection and progenitor cell renewal in the injured adult murine retina requires healing monocyte-derived macrophages. / London A. // J Exp Med. – 2011 – 208(1) – 23–39.
49. Zhang W. Blockade of Notch1 signaling alleviates murine lupus via blunting macrophage activation and M2b polarization. / Zhang W., Xu W., Xiong S. // J Immunol. – 2010 – 184(11) – 6465–6478.
50. Zhang W. Macrophage differentiation and polarization via phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-ERK signaling pathway conferred by serum amyloid P component. / Zhang W., Xu W., Xiong S. // J Immunol. – 2011 – 187(4) – 1764–1777.
51. Shirinsky I. V. Targeting nuclear hormone receptors: PPARalpha agonists as potential disease-modifying drugs for rheumatoid arthritis. / Shirinsky I. V., Shirinsky V. S. // Int J Rheumatol. – 2011 – 2011 – 937-943.
52. Sica A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. / Sica A., Mantovani A. // J. Clin. Invest. – 2012 – 122 – 787–795.
53. T.A. Wynn Macrophage biology in development, homeostasis and disease. / T.A. Wynn, A. Chawla, J.W. Pollard // Nature – 2013 – 496 – 445-455.

54. Shirey K. A. Control of RSV-induced lung injury by alternatively activated macrophages is IL-4R alpha-, TLR4-, and IFN-beta-dependent. / Shirey K. A. // Mucosal Immunol. – 2010 – 3(3) – 291–300.
55. Kim H. Y. The many paths to asthma: phenotype shaped by innate and adaptive immunity. / Kim H. Y., DeKruyff R. H., Umetsu D. T. // Nat Immunol. – 2010 – 11(7) – 577–584.
56. Melgert B. N. More alternative activation of macrophages in lungs of asthmatic patients. / Melgert B. N, ten Hacken N. H., Rutgers B., Timens W., Postma D. S., Hylkema M. N. // J Allergy Clin Immunol. – 2011 – 127(3) – 831–833.
57. Zaynagetdinov R. A critical role for macrophages in promotion of urethane-induced lung carcinogenesis. / Zaynagetdinov R. // J Immunol. – 2011 – 187(11) – 5703–5711.
58. Jinushi M. Tumor-associated macrophages regulate tumorigenicity and anticancer drug responses of cancer stem/initiating cells. / Jinushi M. // Proc Natl Acad Sci U S A. – 2011 – 108(30) – 12425–12430.
59. G. Tan Cellular localization and biological effects of 20nm- gold nanoparticles. / G. Tan, M. A. Onur // Biomedical Materials Research – 2018 – 106, – 1708-1721
60. C. Lopez-Chaves Gold nanoparticles: Distribution, bioaccumulation and toxicity. In vitro and in vivo studies. / C. Lopez-Chaves, J. S. Alvaredo, M. M. Bayon, J. Bettmer Llopis, C. Sanchez-Gonzalez // Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine – 2018 – 14 – 1-12
61. Y.D. Han, Y.M. Park, H.J. Chun, H.C. Yoon A low-cost optical transducer utilizing common electronics components for the gold nanoparticle-based immunosensing application. / Y.D. Han, Y.M. Park, H.J. Chun, H.C. Yoon // Sensors Actuators B Chem, – 2015 – 220 – 233-242
62. L. Chen, S. Wang, C. Han, Y. Cheng, L. Qian Performance improvement of inverted polymer solar cells by incorporating au and ZnO nanoparticles bilayer plasmonic nanostructure / L. Chen, S. Wang, C. Han, Y. Cheng, L. Qian // Synth Met, – 2015 – 209 – 544-548.

63. R. Nita Leary Kinetic analysis of the hydrolysis of methyl parathion using citrate-stabilized 10 nm gold nanoparticles. / R. Nita, S.A. Trammell, G.A. Ellis, M.H. Moore, C.M. Soto, D.H. Leary // Chemosphere, – 2016 – 144 – 1916-1919
64. W. Ngwa Targeted radiotherapy with gold nanoparticles: current status and future perspectives. / W. Ngwa, R. Kumar, S. Sridhar, H. Korideck, P. Zygmandski, R. A. Cormack // Nanomedicine, – 2014 – 9 – 1063-1082
65. M. Yamada Therapeutic gold, silver, and platinum nanoparticles. / M. Yamada, M. Foote, T.W. Prow // Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol. – – 2015 – 7 – 428-445.
66. N. Feliu In vivo degeneration and the fate of inorganic nanoparticles. / N. Feliu, D. Docter, M. Heine, P. del Pino, S. Ashraf, J. Kolosnjaj-Tabi // Chem Soc Rev. – 2016 – 45 – 2440-2457
67. E.E. Connor Gold nanoparticles are taken up by human cells but do not cause acute cytotoxicity / E.E. Connor, J. Mwamuka, A. Gole, C.J. Murphy, M.D. Wyatt // Small/ – 2005 – 1 – 325-327/
68. M. Geiser Ultrafine particles cross cellular membranes by nonphagocytic mechanisms in lungs and in cultured cells / M. Geiser, B. Rothen-Rutishauser, N. Kapp, S. Schürch, W. Kreyling, H. Schulz // Environ Health Perspect, – 2005 – 113 – 1555-1560
69. Tyner K. Effect of silica and gold nanoparticles on macrophage proliferation, activation markers, cytokine production, and phagocytosis in vitro. / Tyner K., Bancos S., Stevens D. // Int. J. Nanomed. – 2015 – 10 – 183–206.
70. G. Tan Cellular localization and biological effects of 20nm- gold nanoparticles [Электронный ресурс]: / Gamze Tan, Mehmet Ali Onur // Biomedical Materials Research – 2018 – 106 – 1708-1721 Режим доступа: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jbm.a.36373>
71. Reichel D Biological Effects of Nanoparticles on Macrophage Polarization in the Tumor Microenvironment. / Reichel D., Tripathi M., Perez J. M. // Nanotheranostics. – 2019 – 3 – 66–88.

72. Walkey C. D. Nanoparticle Size and Surface Chemistry Determine Serum Protein Adsorption and Macrophage Uptake / Walkey C. D., Olsen J. B., Guo H, Emili A, Chan W. C. W. // Journal of the American Chemical Society. – 2012 – 134 – 39-47

73. Исследовано с США [Электронный ресурс]: многопредмет. науч. журн. / APExBIO Technology LLC – Электрон. журн. – 2013 – 2021 Режим доступа: <https://www.apexbt.com/everolimus-rad001.html>

74. Исследовано с США [Электронный ресурс]: многопредмет. науч. журн. / Archived copy – Электрон. журн. – 2014 Режим доступа: <https://web.archive.org/web/20140308141850/http://www.novartis.com.au/DownloadFile.aspx?t=p&f=afi.pdf&dateid=1343206022000>

75. L. Elibenschutz Everolimus for compassionate use in multiple basal cell carcinomas. / L. Elibenschutz, D. Colombo, C. Catricala. // Case Reports in Dermatological Medicine – 2013

76. Li J. Silencing lnc-ASAII2B-2 Inhibits Breast Cancer Cell Growth via the mTOR Pathway. / Li J., Zhang J. // Anticancer Res. – 2018 – 38 – 3427-3434

77. Arriola Apelo S. I. Alternative rapamycin treatment regimens mitigate the impact of rapamycin on glucose homeostasis and the immune system. / Arriola Apelo S. I., Neuman J. C., Baar E. L., Syed F. A., Cummings N. E., Brar H. K., Pumper C. P., Kimple M. E., Lamming D. W. // Aging Cell. – 2016 – 15 – 28–38.

78. Syafruddin S. E. A KLF6-driven transcriptional network links lipid homeostasis and tumour growth in renal carcinoma. / Syafruddin S. E., Rodrigues P. // Nat Commun. – 2019 – 10 – 1152.

79. Cherian V. T. A CARP-1 functional mimetic compound is synergistic with BRAF-targeting in non-small cell lung cancers. / Cherian V. T., Alsaab H. // Oncotarget. – 2018 – 51 – 29680-29697.

80. A.J. Freemerman, A.R. Johnson, G.N. Sacks, J.J. Milner, E.L. Kirk, M.A. Troester, A.N. Macintyre, P. Goraksha-Hicks, J.C. Rathmell, L. Makowski Metabolic reprogramming of macrophages: glucose transporter 1 (GLUT1)-mediated

glucose metabolism drives a proinflammatory phenotype / A.J. Freemerman, A.R. Johnson, G.N. Sacks, J.J. Milner, E.L. Kirk, M.A. Troester, A.N. Macintyre, P. Goraksha-Hicks, J.C. Rathmell, L. Makowski // J. Biol. Chem. – 2014 – 289 289 pp. 7884-7896

81. Исследовано в Японии [Электронный ресурс]: многопредмет. науч. журн. / MBJ Life Science – Электрон. журн. – 2021 – режим доступа: <https://ruo.mbl.co.jp/bio/e/support/method/elisa.html>

82. Menzyanova N. G. The Morphology and Phenotype of Monocyte-Macrophages When Cultured on Bionanofilms Substrates with Different Surface Relief Profiles. / Menzyanova N. G., Pyatina S. A., Shabanov A. V., Nemtsev I. V., Stolyarov D. P., Dryganov D. B., Sakhnov E. V., Shishatskaya E. I. // Biomolecules, – 2019 – 10

83. N. G. Menzyanova Morphological Aspects of Monocyte/Macrophage Polarization on Biopolymer Scaffolds in Atherosclerosis Patients / N. G. Menzyanova S. V. Pyatinal, E. D. Nikolaeva, A. V. Shabanov, I. V. Nemtsev, Dmitry P. Stolyarov, Dmitry B. Dryganov, Eugene V. Sakhnov, D. A. Vinokurova, E. I. Shishatskaya // J Biotechnol Biomater, – 2018 – 8

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Анкета для выбора доноров

1) Ваш пол?	a. Женский б. Мужской
2) Ваш возраст?	a. до 20 лет б. от 21 до 35 в. от 35
3) Выберите диету, которая наиболее точно отражает Ваш рацион?	a. сбалансированная (Вы едите мясо, овощи, фрукты, крупы, молочные продукты и др.) б. вегетариантская (Вы употребляете в пищу преимущественно продукты растительного происхождения) в. несбалансированная (Вы предпочитаете есть преимущественно один вид продуктов, например, мясо)
4) Какой Вы ведете образ жизни?	a. очень активный (5-7 раз в неделю интенсивная физическая нагрузка) б. активный (занятие активными видами отдыха + физическая нагрузка 1-3 раза в неделю) в. малоактивный (ежедневные прогулки) г. неактивный (Ваша активность поход в магазин / на работу)
5) Есть ли у Вас вредные привычки?	а. да б. нет
6) Как часто Вы курите?	а. никогда б. крайне редко (реже 1 раза в месяц)

	<p>в. редко (несколько раз в месяц)</p> <p>г. часто (несколько раз в неделю)</p> <p>д. очень часто (каждый день)</p>
7) Как часто Вы употребляете алкоголь?	<p>а. никогда</p> <p>б. крайне редко (1-2 раза в год)</p> <p>в. редко (несколько раз в месяц)</p> <p>г. часто (несколько раз в неделю)</p> <p>д. очень часто (каждый день)</p>
8) Болели ли Вы за последние два недели ОРЗ / ОРВИ?	<p>а. да</p> <p>б. нет</p>
9) Если ли у Вас хронические заболевания? Если да, какие?	<p>а. да</p> <p>б. нет</p> <hr/>
10) Выберите положение, которое наиболее близко отражает Ваш род деятельности?	<p>а. офисный сотрудник</p> <p>б. научный сотрудник</p> <p>в. пеший курьер</p> <p>г. грузчик</p> <p>д. такси / курьер на авто</p>

-
- 1 Li C. Macrophage polarization and meta-inflammation / Li C., Xu M. M., Wang K., Adler A. J., Vella A. T., Zhou B. // Trans. Res. – 2018 – 191 – 29–44.
- 2 Wang L. X. M2b macrophage polarization and its roles in diseases / Wang L. X, Zhang S. X, Wu H. J, Rong X. L, Guo J. // J Leukoc Biol. – 2018 – 1–14.
- 3 Y. Yao Macrophage polarization in physiological and pathological pregnancy / Y. Yao, X.-H. Xu, L. Jin // Front. Immunol. – 2019 – 10 – 792
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.00792/full>
- 4 X. Miao The current state of nanoparticle-induced macrophage polarization and reprogramming research / X. Miao, X. Leng, Q. Zhang // Int. J. Mol. Sci. – 2017 – 18 – 336
- 5 Kansler, Emily R.; Li, Ming O. (July 2019). "Innate lymphocytes—lineage, localization and timing of differentiation". Cellular & Molecular Immunology. 16 (7): 627–633.
- 6 Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология: Учебное пособие. — Одесса: Астропринт, 1999. — 604 с.
- 7 Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. –234 с
- 8 Nichols B. A. Differentiation of monocytes. Origin, nature, and fate of their azurophil granules [Электронный ресурс] / Nichols B. A., Bainton D. F. Farquhar M. G. // J. Cell Biol. – 1971 – 50 (2): – 498–515. – Режим доступа:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2108281/>
- 9 Исследовано в Британии [Электронный ресурс]: многопредмет. науч. журн. / The British Society for Immunology's – Электрон. журн. – 2021 – режим доступа: <https://www.immunology.org/public-information/bitesized-immunology/cells/macrophages>
- 10 Krombach F. Cell size of alveolar macrophages: an interspecies comparison [Электронный ресурс] / Krombach F, Münzing S, Allmeling A. M., Gerlach J. T.,

Behr J., Dörger M. // Environmental Health Perspectives. – 1997 – 105 – 1261–3. – Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9400735/>

11 Hibbs J.B. Macrophage cytotoxicity: role for L-arginine deiminase and imino nitrogen oxidation to nitrite. [Электронный ресурс] / Hibbs J.B., Taintor R.R., Vavrin Z // Science. – 1987 – 235 (4787): – 473–6. – Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2432665/>

12 Mills C. D. M1 and M2 Macrophages: Oracles of Health and Disease. [Электронный ресурс] / Mills C. D. // Critical Reviews in Immunology. – 2012 – 32 (6) – 463–88. – Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23428224/>

13 Khazen W. Expression of macrophage-selective markers in human and rodent adipocytes. [Электронный ресурс] / Khazen W., M'bika J. P., Tomkiewicz C., Benelli C., Chany C., Achour A., Forest C. // FEBS Letters. – 2005 – 579 (25) – 5631–4. – Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16213494/>

14 iegler-Heitbrock, L. Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood. [Электронный ресурс] / iegler-Heitbrock, L. // Blood. – 2010 – 116 (16) – 74–80. – Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20628149/>

15 Collison, Joanna L. Heterogeneity in the Locomotory Behavior of Human Monocyte Subsets over Human Vascular Endothelium In Vitro.[Электронный ресурс] / Collison, Joanna L // Journal of Immunology. – 2015 – 195 (3) – 1162–1170. – Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26085686/>

16 Hofer T. P. 6-Sulfo LacNAc (Slan) as a Marker for Non-classical Monocytes. [Электронный ресурс] / Hofer T. P., van de Loosdrecht A. A., Stahl-Hennig C, Cassatella M. A., Ziegler-Heitbrock L. // Front. Immunol. – 2019 – 10 – 2052. – Режим доступа:

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.02052/full>

17 Elias A. PD-1 Induced IL10 Production by Monocytes Impairs T-cell Activation in a Reversible Fashion". [Электронный ресурс] / Elias A. //Nature Medicine. – 2010 – 16 (4) – 452–9. – Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20208540/>

18 Ghattas; et al. Monocytes in Coronary Artery Disease and Atherosclerosis. Where are we now?. [Электронный ресурс] / Ghattas; et al // Journal of the American College of Cardiology. – 2013 – 62 (17) – 1541–1551. – Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23973684/>

19 Shapouri-Moghaddam, A. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. [Электронный ресурс] / Shapouri-Moghaddam, A. et al. // J. Cell. Physiol. – 2018 – 233, – 6425–6440 – Режим доступа: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jcp.26429>

20 Batista-Gonzalez A. New Insights on the Role of Lipid Metabolism in the Metabolic Reprogramming of Macrophages. [Электронный ресурс] / Batista-Gonzalez A., Vidal R., Criollo A., Carreño L. J. // Front Immunol. – 2019 – 10 – 2993. – Режим доступа: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.02993/full#B12>

21 Van den Bossche J. Macrophage immunometabolism: where are we (going)? / Van den Bossche J., O'Neill L. A., Menon D. // Trends Immunol. – 2017 – 38 – 395–406.

22 Wang T. HIF1 α -induced glycolysis metabolism is essential to the activation of inflammatory macrophages. / Wang T., Liu H., Lian G., Zhang S. Y., Wang X., Jiang C. // Mediators Inflamm. – 2017 – 2017 – 902 - 932.

23 Huang S. C. Metabolic reprogramming mediated by the mTORC2-IRF4 signaling axis is essential for macrophage alternative activation. / Huang S. C., Smith A. M., Everts B., Colonna M., Pearce E. L., Schilling J. D. // Immunity. – 2016 – 45 – 817–30.

24 Korbecki J. The effect of palmitic acid on inflammatory response in macrophages: an overview of molecular mechanisms. / Korbecki J., Bajdak-Rusinek K. // Inflamm Res. – 2019 – 68 – 915–32.

25 Henne W. M. The assembly of lipid droplets and their roles in challenged cells. Henne W. M., Reese M. L., Goodman J. M. // EMBO J. – 2018. – 37(12) – 98947

-
- 26 Olzmann J. A. Dynamics and functions of lipid droplets. / Olzmann J. A., Carvalho P. // Nat Rev Mol Cell Biol. – 2019. – 20(3) – 137–155.
- 27 Wilfling F. Lipid droplet biogenesis. / Wilfling F., Haas J. T., Walther T. C., Farese R. V. // Curr Opin Cell Biol. – 2014. – 29 – 39–45.
- 28 Olzmann J. A. Spatial regulation of UBXD8 and p97/VCP controls ATGL-mediated lipid droplet turnover. / Olzmann J. A., Richter C. M., Kopito R. R. // Proc Natl Acad Sci U S A. – 2013 – 110 – 1345–1350.
- 29 Krahmer N. Protein correlation profiles identify lipid droplet proteins with high confidence. / Krahmer N., Hilger M., Kory N., Wilfling F., Stoehr G., Mann M., Farese R. V., Jr, Walther T. C. // Mol Cell Proteomics. – 2013 – 12 – 1115–1126.
- 30 Thiam A. R. The biophysics and cell biology of lipid droplets. / Thiam A. R., Farese R. V., Jr, Walther T. C. // Nature Reviews in Molecular Cell Biology. – 2013 – 14 – 775–786.
- 31 Wilfling F. Arf1/COPI Machinery Acts Directly on Lipid Droplets and Enables their Connection to the ER for Protein Targeting. / Wilfling F., Thiam A. R., Olarte M. J., Wang J., Beck R., Gould T. J., Allgeyer E.S., Pincet F., Brewersdorf J., Farese R. V. // eLife. – 2014.
- 32 Wilfling F. Triacylglycerol synthesis enzymes mediate lipid droplet growth by relocalizing from the ER to lipid droplets. / Wilfling F., Wang H., Haas J. T., Krahmer N., Gould T. J., Uchida A., Cheng J. X., Graham M., Christiano R., Frohlich F. // Dev Cell. – 2013 – 24 – 384–399.
- 33 Schulze R. J. Breaking fat: the regulation and mechanisms of lipophagy. / Schulze R. J., Sathyaranarayanan A., Mashek D. G. // Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids. – 2017. – 1862 – 1178–1187.
- 34 Grabner G. F. Monoglyceride lipase as a drug target: at the crossroads of arachidonic acid metabolism and endocannabinoid signaling. / Grabner G. F., Zimmermann R., Schicho R., Taschler U. // Pharmacol Ther. – 2017. – 175 – 35–46.
- 35 F.Y. McWhorter Modulation of macrophage phenotype by cell shape. / F.Y. McWhorter // Proc. Natl. Acad. Sci., – 2013 – 110 (43) – 17253-17258

36 Hwa J., Martin K. Chapter 18: The Eicosanoids: Prostaglandins, Thromboxanes, Leukotrienes, & Related Compounds. [Электронный ресурс] / Hwa J., Martin K. – Электрон. Текстовые дан. – In Katzung BG Basic & Clinical Pharmacology New York, NY: McGraw-Hill Education, 2017 – Режим доступа: <https://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2249§ionid=175218286>

37 Sharma M. Prostaglandins in Congenital Heart Disease. / Sharma M., Sasikumar M., Karloopia S. D., Shahi B. N. // Medical Journal, Armed Forces India. – 2001 – 57 (2) – 134–148

38 Nelson David L. Leukotrienes. / Nelson David L., Cox Michael M. // Lehninger Principles of Biochemistry – 2005 – 5 – 359.

39 S.W. Crooks Leukotriene B4 Int. J. Biochem. / S.W. Crooks, R.A. Stockley // Cell Biol., – 1998 – 30, – 173-178

40 H.T. Idriss TNF α and the TNF receptor superfamily: structure–function relationship(s). / H.T. Idriss, J.H. Naismith // Microsc. Res. Tech. – 2000 – 50 –. 184-195

41 Schraufstatter I. U. The chemokine CCL18 causes maturation of cultured monocytes to macrophages in the M2 spectrum. / Schraufstatter I. U., Zhao M., Khaldoyanidi S. K., Discipio R. G. // Immunology. – 2012 – 135 (4) – 287–298.

42 Исследовано в США [Электронный ресурс]: многопредмет. науч. журн. / Cardiac Rhythm News – Электрон. журн. – Raised troponin and interleukin-6 levels are associated with a poor prognosis in COVID-19, 2020 – режим доступа: <https://cardiacrhythmnews.com/raised-troponin-and-interleukin-6-levels-are-associated-with-a-poor-prognosis-in-covid-19/>

43 Heinrich P. C. Interleukin-6-type cytokine signalling through the gp130/Jak/STAT pathway. / Heinrich P. C., Behrmann I., Müller-Newen G., Schaper F., Graeve L. // The Biochemical Journal. – 1998 – 334 – 297–314.

44 Mosser D. M. Interleukin-10: new perspectives on an old cytokine". / Mosser D. M., Zhang X. // Immunological Reviews. – 2008 – 226 (1) – 205–218.

-
- 45 Saraiva M. The regulation of IL-10 production by immune cells. / Saraiva M., O'Garra A. // *Nature Reviews Immunology*. – 2010 – 10 (3) – 170–181.
- 46 Gordon S. Alternative activation of macrophages: mechanism and functions. / Gordon S., Martinez F. O. // *Immunity*. – 2010 – 32(5) – 593–604.
- 47 Lucas T. Differential roles of macrophages in diverse phases of skin repair. / Lucas T. // *J Immunol*. – 2010 – 184(7) – 3964–3977.
- 48 London A. Neuroprotection and progenitor cell renewal in the injured adult murine retina requires healing monocyte-derived macrophages. / London A. // *J Exp Med*. – 2011 – 208(1) – 23–39.
- 49 Zhang W. Blockade of Notch1 signaling alleviates murine lupus via blunting macrophage activation and M2b polarization. / Zhang W., Xu W., Xiong S. // *J Immunol*. – 2010 – 184(11) – 6465–6478.
- 50 Zhang W. Macrophage differentiation and polarization via phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-ERK signaling pathway conferred by serum amyloid P component. / Zhang W., Xu W., Xiong S. // *J Immunol*. – 2011 – 187(4) – 1764–1777.
- 51 Shirinsky I. V. Targeting nuclear hormone receptors: PPARalpha agonists as potential disease-modifying drugs for rheumatoid arthritis. / Shirinsky I. V., Shirinsky V. S. // *Int J Rheumtol*. – 2011 – 2011 – 937-943.
- 52 Sica A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. / Sica A., Mantovani A. // *J. Clin. Invest*. – 2012 – 122 – 787–795.
- 53 T.A. Wynn Macrophage biology in development, homeostasis and disease. / T.A. Wynn, A. Chawla, J.W. Pollard // *Nature* – 2013 – 496 – 445-455.
- 54 Shirey K. A. Control of RSV-induced lung injury by alternatively activated macrophages is IL-4R alpha-, TLR4-, and IFN-beta-dependent. / Shirey K. A. // *Mucosal Immunol*. – 2010 – 3(3) – 291–300.
- 55 Kim H. Y. The many paths to asthma: phenotype shaped by innate and adaptive immunity. / Kim H. Y., DeKruyff R. H., Umetsu D. T. // *Nat Immunol*. – 2010 – 11(7) – 577–584.

-
- 56 Melgert B. N. More alternative activation of macrophages in lungs of asthmatic patients. / Melgert B. N, ten Hacken N. H., Rutgers B., Timens W., Postma D. S., Hylkema M. N. // J Allergy Clin Immunol. – 2011 – 127(3) – 831–833.
- 57 Zaynagetdinov R. A critical role for macrophages in promotion of urethane-induced lung carcinogenesis. / Zaynagetdinov R. // J Immunol. – 2011 – 187(11) – 5703–5711.
- 58 Jinushi M. Tumor-associated macrophages regulate tumorigenicity and anticancer drug responses of cancer stem/initiating cells. / Jinushi M. // Proc Natl Acad Sci U S A. – 2011 – 108(30) – 12425–12430.
- 59 G. Tan Cellular localization and biological effects of 20nm- gold nanoparticles. / G. Tan, M. A. Onur // Biomedical Materials Research – 2018 – 106, – 1708-1721
- 60 C. Lopez-Chaves Gold nanoparticles: Distribution, bioaccumulation and toxicity. In vitro and in vivo studies. / C. Lopez-Chaves, J. S. Alvaredo, M. M. Bayon, J. Bettmer Llopis, C. Sanchez-Gonzalez // Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine – 2018 – 14 – 1-12
- 61 Y.D. Han, Y.M. Park, H.J. Chun, H.C. Yoon A low-cost optical transducer utilizing common electronics components for the gold nanoparticle-based immunosensing application. / Y.D. Han, Y.M. Park, H.J. Chun, H.C. Yoon // Sensors Actuators B Chem, – 2015 – 220 – 233-242
- 62 L. Chen, S. Wang, C. Han, Y. Cheng, L. Qian Performance improvement of inverted polymer solar cells by incorporating au and ZnO nanoparticles bilayer plasmonic nanostructure / L. Chen, S. Wang, C. Han, Y. Cheng, L. Qian // Synth Met, – 2015 – 209 – 544-548.
- 63 R. Nita Leary Kinetic analysis of the hydrolysis of methyl parathion using citrate-stabilized 10 nm gold nanoparticles. / R. Nita, S.A. Trammell, G.A. Ellis, M.H. Moore, C.M. Soto, D.H. Leary // Chemosphere, – 2016 – 144 – 1916-1919

64 W. Ngwa Targeted radiotherapy with gold nanoparticles: current status and future perspectives. / W. Ngwa, R. Kumar, S. Sridhar, H. Korideck, P. Zygmanski, R. A. Cormack // Nanomedicine, – 2014 – 9 – 1063-1082

65 M. Yamada Therapeutic gold, silver, and platinum nanoparticles. / M. Yamada, M. Foote, T.W. Prow // Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol. – – 2015 – 7 – 428-445.

66 N. Feliu In vivo degeneration and the fate of inorganic nanoparticles. / N. Feliu, D. Docter, M. Heine, P. del Pino, S. Ashraf, J. Kolosnjaj-Tabi // Chem Soc Rev. – 2016 – 45 – 2440-2457

67 E.E. Connor Gold nanoparticles are taken up by human cells but do not cause acute cytotoxicity / E.E. Connor, J. Mwamuka, A. Gole, C.J. Murphy, M.D. Wyatt // Small/ – 2005 – 1 – 325-327/

68 M. Geiser Ultrafine particles cross cellular membranes by nonphagocytic mechanisms in lungs and in cultured cells / M. Geiser, B. Rothen-Rutishauser, N. Kapp, S. Schürch, W. Kreyling, H. Schulz // Environ Health Perspect, – 2005 – 113 – 1555-1560

69 Tyner K. Effect of silica and gold nanoparticles on macrophage proliferation, activation markers, cytokine production, and phagocytosis in vitro. / Tyner K., Bancos S., Stevens D. // Int. J. Nanomed. – 2015 – 10 – 183–206.

70 G. Tan Cellular localization and biological effects of 20nm- gold nanoparticles [Электронный ресурс]: / Gamze Tan, Mehmet Ali Onur // Biomedical Materials Research – 2018 – 106 – 1708-1721 Режим доступа: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jbm.a.36373>

71 Reichel D Biological Effects of Nanoparticles on Macrophage Polarization in the Tumor Microenvironment. / Reichel D., Tripathi M., Perez J. M. // Nanotheranostics. – 2019 – 3 – 66–88.

72 Walkey C. D. Nanoparticle Size and Surface Chemistry Determine Serum Protein Adsorption and Macrophage Uptake / Walkey C. D., Olsen J. B., Guo H,

Emili A, Chan W. C. W. // Journal of the American Chemical Society. – 2012 – 134 – 39-47

73 Исследовано с США [Электронный ресурс]: многопредмет. науч. журн. / APExBIO Technology LLC – Электрон. журн. – 2013 – 2021 Режим доступа: <https://www.apexbt.com/everolimus-rad001.html>

74 Исследовано с США [Электронный ресурс]: многопредмет. науч. журн. / – Электрон. журн. – 2014 Режим доступа: <https://www.apexbt.com/everolimus-rad001.html>

[Электронный ресурс] "Archived copy". Archived from the original on 8 March 2014. Retrieved 26 February 2014 Режим доступа: <https://web.archive.org/web/20140308141850/http://www.novartis.com.au/DownloadFile.aspx?t=p&f=afi.pdf&dateid=1343206022000>

75 L. Elibenschutz Everolimus for compassionate use in multiple basal cell carcinomas. / L. Elibenschutz, D. Colombo, C. Catricala. // Case Reports in Dermatological Medicine – 2013

76 Li J. Silencing lnc-ASAII2B-2 Inhibits Breast Cancer Cell Growth via the mTOR Pathway. / Li J., Zhang J. // Anticancer Res. – 2018 – 38 – 3427-3434

77 Arriola Apelo S. I. Alternative rapamycin treatment regimens mitigate the impact of rapamycin on glucose homeostasis and the immune system. / Arriola Apelo S. I., Neuman J. C., Baar E. L., Syed F. A., Cummings N. E., Brar H. K., Pumper C. P., Kimple M. E., Lamming D. W. // Aging Cell. – 2016 – 15 – 28–38.

78 Syafruddin S. E. A KLF6-driven transcriptional network links lipid homeostasis and tumour growth in renal carcinoma. / Syafruddin S. E., Rodrigues P. // Nat Commun. – 2019 – 10 – 1152.

79 Cherian V. T. A CARP-1 functional mimetic compound is synergistic with BRAF-targeting in non-small cell lung cancers. / Cherian V. T., Alsaab H. // Oncotarget. – 2018 – 51 – 29680-29697.

80 A.J. Freemerman, A.R. Johnson, G.N. Sacks, J.J. Milner, E.L. Kirk, M.A. Troester, A.N. Macintyre, P. Goraksha-Hicks, J.C. Rathmell, L. Makowski Metabolic

reprogramming of macrophages: glucose transporter 1 (GLUT1)-mediated glucose metabolism drives a proinflammatory phenotype / A.J. Freemerman, A.R. Johnson, G.N. Sacks, J.J. Milner, E.L. Kirk, M.A. Troester, A.N. Macintyre, P. Goraksha-Hicks, J.C. Rathmell, L. Makowski // J. Biol. Chem. – 2014 – 289 289 pp. 7884-7896

81 Исследовано в Японии [Электронный ресурс]: многопредмет. науч. журн. / MBJ Life Science – Электрон. журн. – 2021 – режим доступа: <https://ruo.mbl.co.jp/bio/e/support/method/elisa.html>

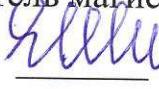
82 Menzyanova N. G. The Morphology and Phenotype of Monocyte-Macrophages When Cultured on Bionanofilms Substrates with Different Surface Relief Profiles. / Menzyanova N. G., Pyatina S. A., Shabanov A. V., Nemtsev I. V., Stolyarov D. P., Dryganov D. B., Sakhnov E. V., Shishatskaya E. I. // Biomolecules, – 2019 – 10

83 N. G. Menzyanova Morphological Aspects of Monocyte/Macrophage Polarization on Biopolymer Scaffolds in Atherosclerosis Patients / N. G. Menzyanova S. V. Pyatina1, E. D. Nikolaeva, A. V. Shabanov, I. V. Nemtsev, Dmitry P. Stolyarov, Dmitry B. Dryganov, Eugene V. Sakhnov, D. A. Vinokurova, E. I. Shishatskaya // J Biotechnol Biomater, – 2018 – 8

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт Фундаментальной биологии и Биотехнологии
Кафедра Медицинской биологии

УТВЕРЖДАЮ

Руководитель магистерской программы

 Е. И. Шишацкая

«24 » июня 2021 г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Липидный метаболизм и функциональная поляризация моноцитов-макрофагов
in vitro

06.04.01 – Биология

06.04.01.05 – Реконструктивная биоинженерия

Научный руководитель


подпись, дата

к.б.н.

Н. Г. Мензянова

должность, ученая степень

Выпускник


подпись, дата

А. И. Елага

Рецензент


подпись, дата

д.б.н.

Т. Г. Волова

ученая степень

Красноярск 2021