DOI:10.33266/1024-6177-2026-71-6-47-54

М.В. Пустовалова[1, 2], А.В. Смирнова[1], З. Нофал[1], Н.А. Дрожжин[3, 4], Е.В. Андреев[3, 4], И.Н. Фадейкина[3, 4], А.К. Чигасова[2, 5], С.В. Леонов[1], А.Н. Нечаев[3, 4], А.Н. Осипов[1, 2]

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ РАДИОСЕНСИБИЛИЗАЦИИ КЛЕТОК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НАНОЧАСТИЦАМИ ЗОЛОТА, КОНЪЮГИРОВАННЫМИ С ГЛЮКОЗОЙ И ВКЛЮЧЕННЫМИ В ЦЕОЛИТО-ИМИДАЗОЛАТНЫЕ КАРКАСЫ 8 (ZIF-8)

[1] Московский физико-технический институт, Московская обл., Долгопрудный

[2] Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва

[3] Объединенный институт ядерных исследований, Московская обл., Дубна

[4] Государственный университет «Дубна», Московская обл., Дубна

[5] Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва

Контактное лицо: Андреян Николаевич Осипов, e-mail: andreyan.radbio@gmail.com

РЕФЕРАТ

Цели: 1) Синтез и характеризация гибридных наночастиц золота, конъюгированных с глюкозой и включенных в цеолито-имидазолатные каркасы 8 (ZIF-8) (Au-глюкоза-ZIF-8); 2) Оценка радиосенсибилизирующего действия синтезированных наночастиц в клетках рака молочной железы (РМЖ).

Материал и методы: Синтез наночастиц золота, конъюгированных с глюкозой и включенных в цеолито-имидазолатные каркасы 8 (ZIF-8), проводился по оригинальной методике. Концентрации элементов анализировали на атомно-эмиссионном спектрометре с индуктивно связанной плазмой Expec 6000 методом градуировки. Геометрические параметры (диаметр, форма) наночастиц исследовали с помощью просвечивающей электронной микроскопии. Биосовместимость наночастиц оценивали путем инкубации с компонентами периферической крови человека. Клетки РМЖ человека MDA-MB-231, MCF7 и РМЖ мыши 4T1 облучали на рентгеновской биологической установке РУБ РУСТ-М1 (Россия). Для оценки радиосенсибилизирующего действия наночастицы Au-глюкоза-ZIF-8 в концентрации 0,5 мкг/мл вносили за 1 ч до облучения. Клетки без наночастиц использовались в качестве контроля. Повреждения ДНК анализировали с помощью метода ДНК комет, клеточную метаболическую активность определяли с помощью AlamarBlue, общая клеточная масса оценивалась по способности сульфородамина Б связываться с белками. Статистический и математический анализ данных проводили с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 9.0.2.161 (GraphPad Software). Статистическую значимость оценивали с использованием дисперсионного анализа (ANOVA).

Результаты: Впервые были проведены синтез и характеризация наночастиц золота, конъюгированных с глюкозой и включенных в цеолито-имидазолатные каркасы 8 (ZIF-8). Синтезированные наночастицы проявили стабильность и безопасность в отношении эритроцитов и мононуклеарных клеток периферической крови человека. Синтезированные наночастицы вызывали статистически значимое увеличение образования повреждений ДНК, снижение клеточной метаболической активности и клеточной массы в облученных популяциях клеток линии MCF7. Однако в клетках линий MDA-MB-231 и 4T1 выраженные эффекты радиосенсибилизации не выявлены. В целом, было показано, что наночастицы Au-глюкоза-ZIF-8 могут быть использованы при разработки наноразмерных сенсибилизаторов для лучевой терапии РМЖ с учетом молекулярной гетерогенности различных типов опухолевых клеток.

Ключевые слова: *рак молочной железы, ионизирующее излучение, наночастицы золота, метталлоорганические каркасы, ZIF-8, радиосенсибилизаторы, оценка эффективности*

Для цитирования: Пустовалова М.В., Смирнова А.В., Нофал З., Дрожжин Н.А., Андреев Е.В., Фадейкина И.Н., Чигасова А.К., Леонов С.В., Нечаев А.Н., Осипов А.Н. Оценка эффективности радиосенсибилизации клеток рака молочной железы наночастицами золота, конъюгированными с глюкозой и включенными в цеолито-имидазолатные каркасы 8 (ZIF-8) // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2026. Т. 71. № 6. С. 47–54. DOI:10.33266/1024-6177-2026-71-6-47-54

DOI:10.33266/1024-6177-2026-71-6-47-54

M.V. Pustovalova[1, 2], A.V. Smirnova[1], Z. Nofal[1], N.A. Drozhzhin[3, 4], E.V. Andreev[3, 4], I.N. Fadeikina[3, 4], A.K. Chigasova[2, 5], S.V. Leonov[1], A.N. Nechaev[3, 4], A.N. Osipov[1, 2]

Evaluation of the Efficiency of Radiosensitization of Breast Cancer Cells by Gold Nanoparticles Conjugated with Glucose and Incorporated Into Zeolitic Imidazolate Frameworks 8 (ZIF-8)

[1] Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudny, Moscow Region, Russia

[2] A.I. Burnazyan Federal Medical Biophysical Center, Moscow, Russia

[3] Joint Institute for Nuclear Research, Dubna, Moscow Region, Russia

[4] Dubna State University, Dubna, Moscow Region, Russia

[5] N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics, Moscow, Russia

Contact person: A.N. Osipov, e-mail: andreyan.radbio@gmail.com

ABSTRACT

Purpose: 1) Synthesis and characterization of hybrid gold nanoparticles conjugated with glucose and incorporated into zeolitic-imidazolate frameworks 8 (ZIF-8) (Au-glucose-ZIF-8); 2) Evaluation of the radiosensitizing effect of the synthesized nanoparticles in breast cancer cells.
Material and methods: Gold nanoparticles conjugated with glucose and incorporated into zeolitic-imidazolate frameworks 8 (ZIF-8) were synthesized using an original method. Element concentrations were analyzed using an Expec 6000 inductively coupled plasma atomic emission spectrometer using the calibration method. The geometric parameters (diameter, shape) of the nanoparticles were examined using transmission electron microscopy. The biocompatibility of the nanoparticles was assessed by incubation with human peripheral blood components. Human breast cancer cells MDA-MB-231, MCF7, and murine breast cancer 4T1 cells were irradiated using a RUB RUST-M1 X-ray biological system (Russia). To assess the radiosensitizing effect, Au-glucose-ZIF-8 nanoparticles at a concentration of 0.5 μg/ml were added 1 hour before irradiation. Cells without nanoparticles served as controls. DNA damage was analyzed using the comet assay, cellular metabolic activity was determined using AlamarBlue, and total cell mass was assessed by the protein binding capacity of sulforhodamine B. Statistical and mathematical data analysis was performed using GraphPad Prism 9.0.2.161 (GraphPad Software). Statistical significance was assessed using analysis of variance (ANOVA).
Results: Gold nanoparticles conjugated with glucose and incorporated into zeolitic-imidazolate frameworks 8 (ZIF-8) were synthesized and characterized for the first time. The synthesized nanoparticles demonstrated stability and safety with respect to human erythrocytes and peripheral blood mononuclear cells. The synthesized nanoparticles caused a statistically significant increase in DNA damage formation and a decrease in cellular metabolic activity and cell mass in irradiated MCF7 cell populations. However, no significant radiosensitizing effects were detected in MDA-MB-231 and 4T1 cell lines. Overall, it was demonstrated that Au-glucose-ZIF-8 nanoparticles can be used in the development of nanoscale sensitizers for radiotherapy of breast cancer cells, taking into account the molecular heterogeneity of various tumor cell types.

Keywords: *breast cancer, ionizing radiation, gold nanoparticles, metal-organic frameworks, ZIF-8, radiosensitizers, efficiency evaluation*

For citation: Pustovalova MV, Smirnova AV, Nofal Z, Drozhzhin NA, Andreev EV, Fadeikina IN, Chigasova AK, Leonov SV, Nechaev AN, Osipov AN. Evaluation of the Efficiency of Radiosensitization of Breast Cancer Cells by Gold Nanoparticles Conjugated with Glucose and Incorporated Into Zeolitic Imidazolate Frameworks 8 (ZIF-8). Medical Radiology and Radiation Safety. 2026;71(6):47–54. DOI:10.33266/1024-6177-2026-71-6-47-54

Введение

В 2025 г. за разработку металлоорганических каркасов (или MOF – metal-organic frameworks) была присуждена Нобелевская премия в области химии [1]. MOF представляют собой большую группу кристаллических материалов с очень высокой пористостью (до 90% свободного объема) и огромной внутренней поверхностью, превышающей 6000 м²/г, что делает их привлекательной моделью в различных областях исследований, в том числе в биомедицине [2, 3]. Среди них цеолитные имидазолатные каркасы-8 (ZIF-8) выделяются как широко используемые MOF, известные своей высокой стабильностью в водных средах благодаря сильному взаимодействию между входящими в его состав ионами цинка (Zn2+) и 2-метилимидазолом (2-MIM) [4]. Наночастицы ZIF-8 используются в таких передовых областях, как адресная доставка лекарств в раковые клетки, поскольку их структура чувствительна к изменениям pH, что может спровоцировать высвобождение инкапсулированных лекарственных веществ [5]. Кроме того, опухоли характеризуются так называемым EPR-эффектом (Enhanced Permeability and Retention effect) – механизмом пассивного нацеливания наночастиц на опухоли за счёт повышенной проницаемости сосудов опухолевой ткани и сниженной лимфатической дренажной функции. В опухолях сосуды имеют большие поры и дефекты, что позволяет наночастицам размером около 100–200 нм проникать и накапливаться в межклеточном пространстве. При этом уменьшенный лимфатический отток задерживает частицы в опухоли, усиливая их удержание.

Благодаря своей высокой пористости и способности к поверхностной функционализации, ZIF-8 также способны формировать гетероструктуры с различными металлами, в т.ч. обладающими высоким атомным номером (Z). Эта способность делает их привлекательными для использования в качестве радиосенсибилизаторов при лучевой терапии опухолей, поскольку металлы с высоким Z, такие как золото, лучше поглощают ионизирующее излучение, что приводит к образованию вторичных электронов, оксидативному стрессу и повреждению ДНК [6]. Такие модифицированные наносистемы уже показали свою эффективность в отношении немелкоклеточного рака легкого [7, 8].

В данном исследовании была впервые проведена оценка эффективности наночастиц золота, включенных в цеолито-имидазолатные каркасы 8 (ZIF-8) и модифицированных глюкозой (Au-глюкоза-ZIF-8) в качестве радиосенсибилизаторов клеток рака молочной железы.

Материалы и методы

Синтез и характеристика наночастиц Au-глюкоза- ZIF-8

70 мл воды (использовали деионизированную воду Milli-Q, Millipore с удельным сопротивлением 17 МОм•см при 22°C) нагрели до 50°C и последовательно добавили 0,07 г ПВП 60 кДа (Sigma Aldrich), растворённого в 2 мл воды, 270 мкл раствора H[AuCl4] (≥49,0%(Au), Acros Organics) 113 мМ, 0,0525 г глюкозы моногидрата (99,5%, ЛенРеактив), растворённой в 2 мл воды и 175 мкл 1М NaOH (ХЧ, ЛенРеактив). Грели в течение 30 мин, затем охлаждали до комнатной температуры, и добавляли 1 М уксусную кислоту (99,7%, PanReac) до достижения pH 7. Далее к 20 мл золотых наночастиц последовательно с интервалом 30 с добавляли 2 мл 0,4 М 2-метилимидазола (99%, Sigma Aldrich), 2 мл 0,05 М $Zn(NO_3)2{\cdot}6H_2O$ (ХЧ, Химреактивснаб) и оставляли при перемешивании на 30 мин.

Все образцы наночастиц очищали на ультрафильтре из полисульфона (100 кДа) с использованием препаративной системы тангенциальной фильтрации, разработанной в НХП ЦПФ (ЛЯР) ОИЯИ. Для подачи раствора использовали 5-роликовый перистальтический насос (Heidolph). Объемный расход раствора составил 2,56 мл/с, давление на входе в ячейку 1,5 бар, линейная скорость потока вблизи поверхности мембраны составила 3,2 м/с. Образцы концентрировались с 20 мл до 9 мл 3 раза с промежуточным разбавлением концентрата.

Спектры поглощения в ультрафиолетовой и видимой областях коллоидных растворов после фильтрации регистрировали на двухлучевом спектрофотометре

(Evolution 600, Thermo Scientific). Измерения проводили при комнатной температуре с длиной оптического пути 1 см и шириной щели 2 нм.

Концентрации элементов анализировали на атомно-эмиссионном спектрометре (АЭС) с индуктивно связанной плазмой Expec 6000 методом градуировки.

Геометрические параметры (диаметр, форма) наночастиц исследовали с помощью просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) на микроскопе Talos F200iS/TEM (Thermo Scientific) при ускоряющем напряжении 200 кВ. В качестве подложки использовали медную сетку с тонкой пленкой аморфного углерода (SPI Supplies). Для осаждения наночастиц сетку погружали в раствор, извлекали и высушивали. Размеры наночастиц рассчитывали по микрофотографиям с помощью программы JMicroVision 1.3.4.

Оценка совместимости и биобезопасности синтезированных наночастиц

Оценивалась гемолитическая активность наночастиц на эритроцитах крови человека, полученных от здоровых доноров с учетом информированного согласия. Образец цельной крови объемом 2 мл смешивали с 4 мл фосфатно-солевого буфера Дульбекко (D-PBS), а затем центрифугировали при 3000 об./мин в течение 5 мин для выделения эритроцитов. Эритроциты далее промывали пять раз 10 мл D-PBS, после чего 0,18 мл разведенной суспензии эритроцитов смешивали с 0,02 мл суспензии наночастиц в концентрации 5 мкг/мл. Добавление дистиллированной воды и D-PBS использовалось в качестве положительной (100% лизис) и отрицательной (0% лизис) группы, соответственно. После инкубации при 37°C в течение 4 ч образцы центрифугировали в течение 10 мин при 3000 об./мин, 100 мкл супернатанта всех образцов переносили в 96-луночный планшет и измеряли оптическую плотность при 540 нм с помощью микропланшетного ридера CLARIOstar (BMG LABTECH, Германия). Степень гемолиза рассчитывали по следующей формуле:

$$\text{Коэффициент гемолиза} = \frac{(\text{OD(тест)} - \text{OD(отрицательный)}_{\text{контроль}})}{(\text{OD(положительный)}_{\text{контроль}} - \text{OD(отрицательный)}_{\text{контроль}})} \times \times 100\,\%\,. \quad (1)$$

Оценка жизнеспособности (метаболической активности) лимфоцитов и клеток РМЖ

Лимфоциты выделяли из свежей крови человека с использованием градиента фиколла. Суспензию лимфоцитов, разбавленную в среде RPMI1640, вносили в лунки 96-луночного планшета в концентрации 100 тыс клеток/100 мкл суспензии/лунку. Добавляли наночастицы до конечной концентрации 0,5 мкг/мл и инкубировали в течение 24 ч при 37°C в CO_2-инкубаторе

Для анализа метаболической активности клетки РМЖ высаживали в 96-луночный планшет по 10^4 клеток/лунка. Через 1 ч после добавления наночастиц клетки облучали в дозе 1 Гр и инкубировали 48 ч при 37°C и 5% CO_2.

По прошествии инкубации, к клеткам добавляли реагент AlamarBlue™ (Cell Viability Reagent, Invitrogen, США, кат. № DAL1100) в объеме 1/10 от общего объема среды в лунках и инкубировали в течение 3 ч при температуре 37°C и 5% CO_2. Интенсивность флуоресценции анализировали с помощью планшетного многофункционального анализатора CLARIOstar (BMG LABTECH, Германия) при длине волны 560/580 нм. Относительную жизнеспособность клеток рассчитывали по следующей формуле:

$$\text{Жизнеспособность клеток} = \frac{\text{Интенсивность флуоресценции обработанных клеток}}{\text{Интенсивность флуоресценции контрольных клеток}} \times 100\% \quad (2)$$

Культивирование клеток рака молочной железы

В работе использовали линии клеток рака молочной железы человека MDA-MB-231 (ER-/PR-/EGFR+/HER2), MCF7 (ER+/PR+/EGFR-/HER2-) и 4T1 (клеточная линия рака молочной железы, полученная от мыши линии BALB/c). Клетки культивировали в среде DMEM (Панэко, Россия) с добавлением 10% эмбриональной бычьей сыворотки, L-глутамина и 1% пенициллина/стрептомицина (Панэко, Россия) при температуре 37°C и 5% CO_2.

Облучение

Облучение клеток проводили на рентгеновской биологической установке РУБ РУСТ-М1 (Россия), оснащенной двумя рентгеновскими излучателями с мощностью дозы 0,85 Гр/мин (напряжение 200 кВ, сила тока 5 мА, алюминиевый фильтр 1,5 мм).

Анализ повреждений ДНК

Степень поврежденности ДНК, анализируемая методом ДНК-комет, оценивается по увеличению количества ДНК, мигрировавшей из ядерной области, и расстоянию ее миграции после проведения электрофореза ДНК иммобилизованных в агарозу единичных клеток [9, 10]. После инкубации с наночастицами клетки снимали с поверхности культурального пластика с помощью TrypLE™ Express (Life Technologies Corporation, NY, USA). Суспензию клеток смешивали с агарозой с низкой температурой плавления и наносили на предметные стекла, предварительно покрытые агарозой с нормальной температурой плавления, и оставляли в течение 10 мин при +4°C для затвердевания. После этого стекла с клетками покрывали культуральной средой и облучали в дозе 2 Гр. Сразу после облучения стекла переносили в лизирующий буфер (2,5 M NaCl, 100 мМ EDTA, 20 мМ Tris–HCl, pH 10,0, 1% Triton X-100, 10% DMSO) на 1 ч. Затем стекла помещали в камеру для электрофореза в щелочном буфере (300 мМ NaOH, 1 мМ EDTA, pH > 13,0) для денатурации ДНК и выявления однонитевых разрывов, щелочно-лабильных участков и неполных участков репарации. Электрофорез проводили при 0,75 В/см и 4°C в течение 20 мин. После этого стекла нейтрализовали тремя промывками в 0,4 М буфере Tris–HCl, pH 7,4. Стекла слегка подсушивали и фиксировали (70% этанол, 10 мин). Для окрашивания ДНК использовали SybrGreen I (Invitrogen). Визуализацию комет ДНК проводили с помощью флуоресцентного микроскопа Nikon Eclipse Ni-U (Nikon, Япония) с высокочувствительной камерой ProgRes MFcool (Jenoptik AG, Германия). На каждом стекле регистрировали 100 комет. Для анализа микрофотографий комет ДНК применяли программу CASP 1.2.2 (CASPlab). В качестве критерия повреждения ДНК использовали Olive tail moment, который представляет собой произведение процента ДНК в хвосте и расстояния от центра ядра до центра плотности ДНК в хвосте кометы, измеренное в пикселах.

Анализ клеточной массы

Клетки РМЖ высевали в 96-луночные планшеты в количестве 10^4 клеток на лунку. Через 24 ч вносили наночастицы и нкубировали в течение 1 ч с последующим облучением клеток в дозе 10 Гр. После облучения клетки инкубировали в CO_2-инкубаторе при 37°C в течение 48 ч. Клетки фиксировали добавлением по 100 мкл 10% трихлоруксусной кислоты (ТХУ) и инкубировали в течение одного часа при комантной температуре для эффективного осаждения клеточных белков. После этого раствор ТХУ удаляли, а планшеты высушивали на воздухе перед добавлением в каждую лунку по 100 мкл 0,057% раствора SRB. Планшеты инкубировали при комнатной температуре в течение 30 мин для связывания красителя с клеточными белками. Несвязавшийся краситель смывали 1%-ной уксусной кислотой, а связанный краситель SRB растворяли добавлением 200 мкл 10 мМ Трис (pH = 10,5) в каждую лунку. Оптическую плотность (ОП) измеряли при длине волны 510 нм с помощью планшетного ридера CLARIOstar (BMG LABTECH, Германия). Изменение клеточной массы рассчитывали относительно ОП 510 нм в контрольных лунках (необработанные клетки).

Статистический анализ

Статистический анализ проводился с использованием *t*-критерия Уэлча и двухфакторного дисперсионного анализа с поправкой для множественных сравнений в программе GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, Сан-Диего, Калифорния, США). Результаты представлены в виде средних значений ± стандартное отклонение по результатам трёх независимых экспериментов, если не указано иное.

Результаты и обсуждение

Характеризация композитных наночастиц

На рис. 1 а представлен спектр поглощения композитных наночастиц Au-глюкоза-ZIF-8, на котором присутствует пик плазмонного резонанса при 520 нм, характерный для наночастиц золота. Также на спектре наблюдается увеличение поглощения в ультрафиолетовой области, что может быть связано с присутствием ZIF-8 в композитном материале.

По данным ПЭМ, размер наночастиц ZIF-8 в составе композита составил 62 ± 12 нм. На рис. 1 б, в можно наблюдать, что наночастицы золота локализованы на наночастицах ZIF-8. Концентрация золота и цинка в составе Au-глюкоза-ZIF-8, оцениваемая методом АЭС, составила 35 и 250 мг/л соответственно.

Биосовместимость синтезированных наночастиц

Для оценки гемолитической активности наночастиц проводили тестирование при концентрациях 0,5 и 2,5 мкг/мл. Степень разрушения эритроцитов определяли по оптической плотности при длине волны 540 нм, что отражает уровень высвобожденного гемоглобина. Результаты сравнивали с положительным контролем (100% лизис в воде) и отрицательным контролем (0% лизис в PBS). Инкубация эритроцитов с Au-глюкоза-PVP-ZIF-8 вызвала крайне низкий гемолиз при обеих концентрациях, сопоставимый или ниже контрольных значений (рис. 2 а, б). Итоговые показатели гемолиза эритроцитов представлены в табл. 1. Полученные результаты свидетельствуют о высокой биосовместимости наночастиц для внутривенного применения, так как уровень гемолиза намного ниже установленного порогового значения ASTM E2524-08 в 5%.

Таблица 1

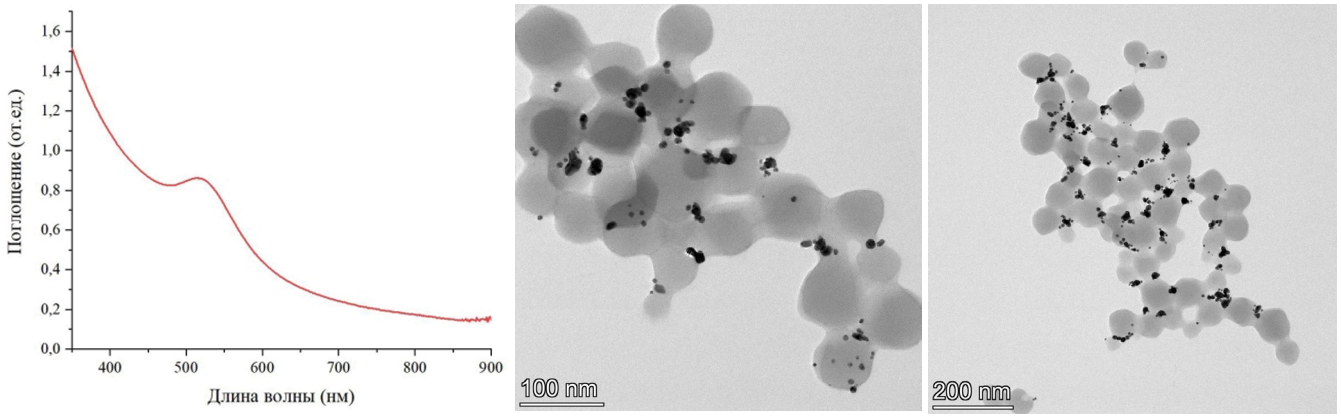
Процент гемолиза, вызванного наночастицами. % гемолиза, среднее значение ± стандартное отклонение

The percentage of hemolysis caused by nanoparticles. % hemolysis, mean value ± standard deviation

	Au-глюкоза-ZIF-8	
	0,5 мкг/мл	2,5 мкг/мл
Донор 1	1,84±1,28	1,22±0,3
Донор 2	0	0
Донор 3	0	0,04±0,15

Влияние наночастиц на образование повреждений ДНК

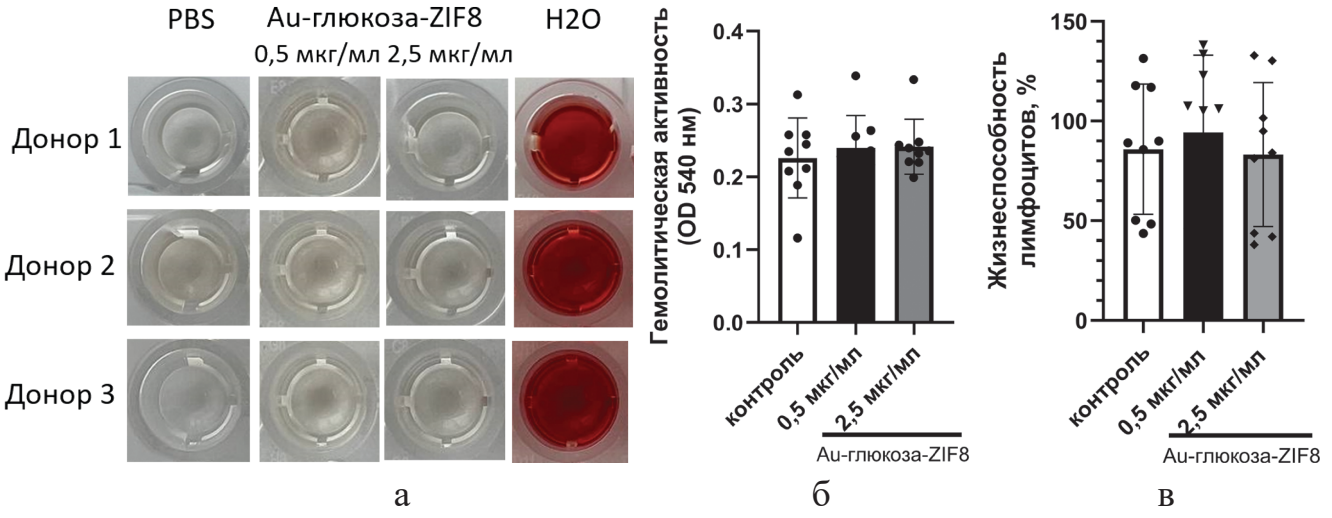
При воздействии ионизирующего излучения на клетки, поглотившие наночастицы с высоким Z, происходит генерация активных форм кислорода, которые вызывают повреждения ДНК, включая одноцепочечные разрывы. Эти повреждения запускают механизмы репарации ДНК, которые требуют энергозатрат и вызывают метаболическое перепрограммирование клеток. В результате предварительная инкубация с наночастицами может усиливать повреждение ДНК при дальнейшем радиационном облучении, усиливая радиосенсибилизирующий эффект и снижая жизнеспособ-



а б в

Рис. 1. Характеризация наночастиц Au-глюкоза-ZIF-8. Спектр поглощения в ультрафиолетовой и видимой областях (а). Микрофотографии наночастиц, полученные методом просвечивающей электронной микроскопии (б), (в). Шкала 100 нм и 200 нм

Fig. 1. Characterization of Au-glucose-ZIF-8 nanoparticles. UV-visible absorption spectra (a). Transmission electron micrographs of the nanoparticles (б), (в). Scale bars: 100 nm and 200 nm



а б в

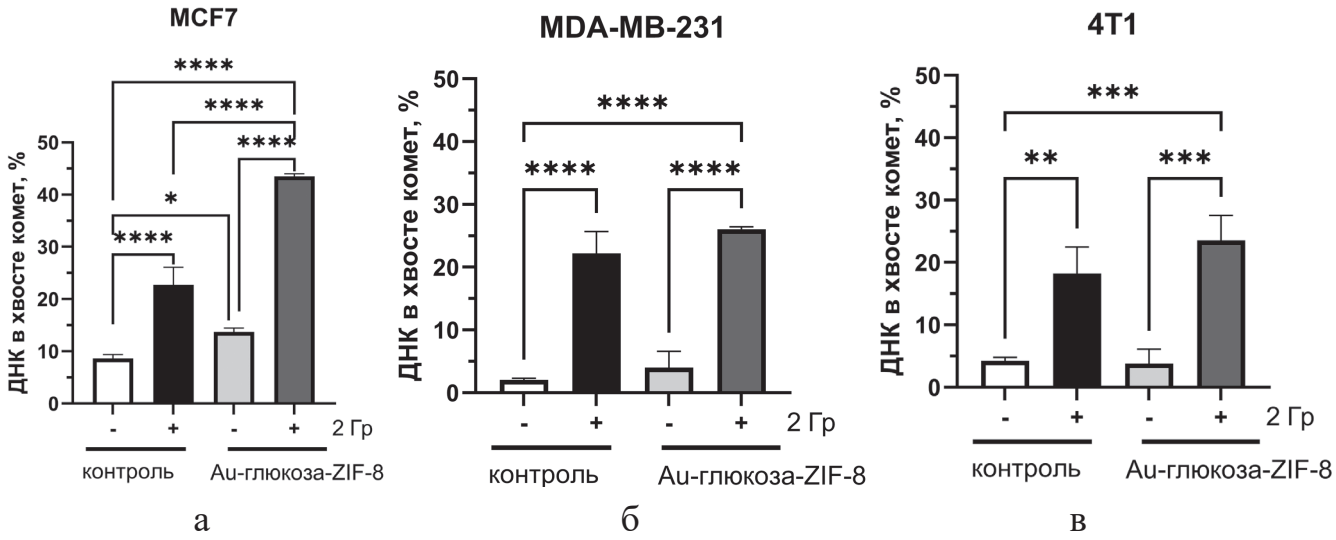
Рис. 2. Исследование биосовместимости наночастиц Au-глюкоза-PVP-ZIF-8 в условиях *in vitro*. На панели (а) представлены фотографии лунок с супернатантом эритроцитов после воздействия наночастиц в концентрациях 0,5 и 2,5 мкг/мл на протяжении 4 ч. PBS и H_2O использовали в качестве отрицательного и положительного контролей соответственно. На графике (б) показаны значения оптической плотности, измеренные при длине волны 540 нм. Рисунок (в) отображает оценку доли живых лимфоцитов после 24-часовой инкубации с этими золотыми наночастицами при тех же концентрациях. Данные представлены в виде средних значений ± стандартное отклонение для трёх доноров в трёх повторах

Fig. 2. *In vitro* biocompatibility study of Au-glucose-PVP-ZIF-8 nanoparticles. Panel (a) shows photographs of wells with red blood cell supernatant after exposure to nanoparticles at concentrations of 0.5 and 2.5 μg/mL for 4 hours. PBS and H_2O were used as negative and positive controls, respectively. Subfigure (б) shows the optical density values measured at a wavelength of 540 nm. Subfigure (в) displays the estimated proportion of viable lymphocytes after 24-hour incubation with these gold nanoparticles at the same concentrations. Data are presented as mean values ± standard deviation for three donors tested in triplicate

ность опухолевых клеток. Для радиобиологических исследований с клеточными линиями рака молочной железы выбрали концентрацию наночастиц 0,5 мкг/мл. Наночастицы Au-глюкоза-ZIF-8 влияют на образование повреждений ДНК в клетках РМЖ, увеличивая их количество в популяции облученных клеток (рис. 3). Наиболее эффективными наночастицы оказались в отношении клеток MCF7, вызывая увеличение поврежденной ДНК на 21%, т.е. в 2 раза по сравнению с облученными клетками без наночастиц ($p \leq 0{,}0001$). Гораздо менее выраженные результаты были получены в клетках MDA-MB-231 и 4T1, где наночастицы приводили к увеличению радиационно-индуцированных однонитевых разрывов ДНК всего на 4% и 5% соответственно.

Влияние наночастиц на метаболическую активность (жизнеспособность) облученных клеток

Жизнеспособность клеток оценивали через 48 ч после облучения в дозе 1 Гр с помощью красителя Alamar Blue, который переходит из окисленного, нефлуоресцентного, синего состояния в восстановленное, флуоресцентное, розовое состояние под влиянием митохондриальных и цитоплазматических ферментов [11]. Таким образом, метаболическая активность кле-



а б в

Рис. 3. Образование повреждений ДНК в клетках рака молочной железы, обработанных Au-глюкоза-ZIF-8, оцененное сразу после облучения в дозе 2 Гр. Изменения процентного содержания ДНК в хвосте (%) в клетках MCF7, MDA-MB-231 и 4T1, инкубированных с наночастицами Au-глюкоза-ZIF-8 в концентрации 0,5 мкг/мл, сразу после облучения в дозе 2 Гр. Данные представлены в виде средних значений ± стандартная погрешность среднего. ** $p < 0{,}01$, *** $p \leq 0{,}001$, **** $p \leq 0{,}0001$

Fig. 3. DNA damage formation in breast cancer cells treated with Au-glucose-ZIF-8, assessed immediately after irradiation with 2 Gy. Changes in the percentage of tail DNA (%) in MCF7, MDA-MB-231, and $4T_1$ cells incubated with Au-glucose-ZIF-8 NPs at a concentration of 0.5 μg/mL immediately after irradiation with 2 Gy. Data are presented as mean ± standard error of the mean. ** $p < 0.01$, *** $p \leq 0.001$, **** $p \leq 0.0001$

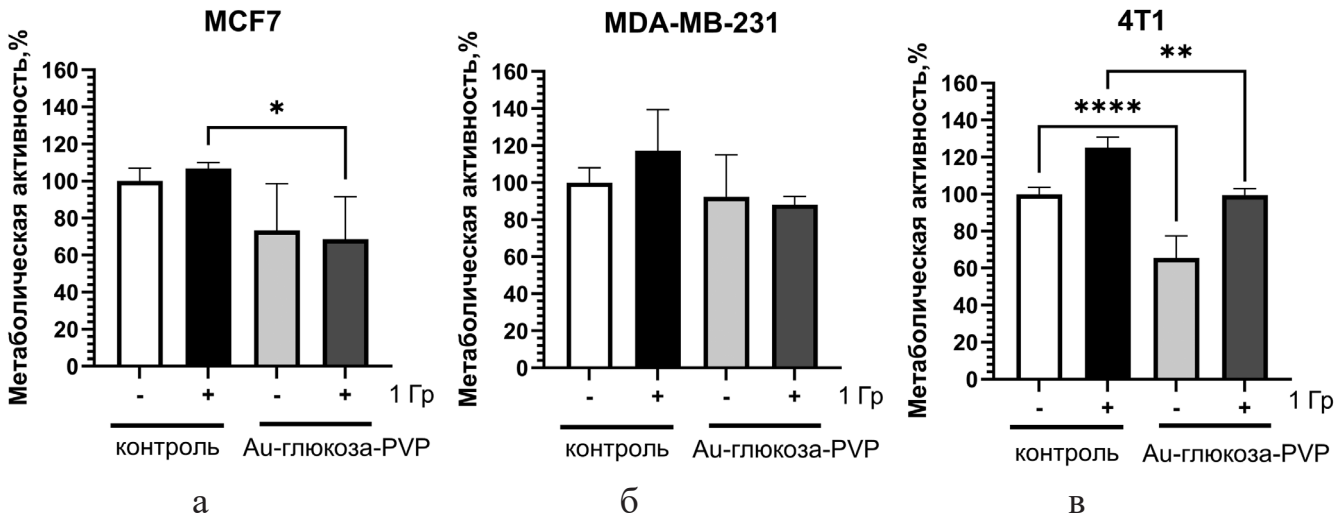


Рис. 4. Для анализа изменений метаболической активности клеток MCF7, MDA-MB-231 и 4T1, инкубированных с наночастицами Au-глюкоза-ZIF-8 в концентрации 0,5 мкг/мл, использовали метод с красителем Alamar Blue. Метаболическую активность измеряли через 48 ч после облучения дозой 1 Гр. Данные представлены как среднее значение ± стандартная погрешность среднего. Данные нормализованы по отношению к контрольным образцам без обработки (0 Гр без наночастиц). * $p < 0,05$; ** $p \leq 0,01$, **** $p \leq 0,0001$

Fig. 4. The Alamar Blue dye assay was used to analyze changes in metabolic activity in MCF7, MDA-MB-231, and 4T1 cells incubated with Au-glucose-ZIF-8 nanoparticles at a concentration of 0.5 μg/mL. Metabolic activity was measured 48 hours after irradiation with 1 Gy. Data are presented as mean ± SEM. Data are normalized to untreated control samples (0 Gy without NPs). * $p < 0.05$; ** $p \leq 0.01$, **** $p \leq 0.0001$

ток фиксируется по изменению цвета и флуоресценции. Обработка наночастицами Au-глюкоза-ZIF-8 вызвала уменьшение метаболической активности клеток MCF7, MDA-MB-231 и 4T1 на 27%, 7,5% и 34,5% ($p \leq 0,0001$) соответственно, по сравнению с контролем (рис. 4). При этом предварительная инкубация с наночастицами дополнительно усиливала радиационно-индуцированное снижение метаболической активности клеток на 38% в популяции MCF7 ($p < 0,05$), на 29% в MDA-MB-231 и на 25,6% в 4T1 ($p \leq 0,01$) по сравнению с облученными без наночастиц клетками, несмотря на увеличенную метаболическую активность этих клеток после облучения в дозе 1 Гр.

Эти данные подтверждают цитотоксические и радиосенсибилизирующие эффекты наночастиц в исследуемых линиях РМЖ. Основным механизмом радиосенсибилизирующего действия наночастиц на основе металлов с высоким атомным номером (Z) является генерация вторичных электронов при воздействии ионизирующего излучения. Атомы металлов с высоким Z эффективно поглощают энергию излучения и испускают фотоэлектроны и комптоновские электроны, что приводит к увеличению плотности ионизации вблизи клетки [12]. Эти вторичные электроны взаимодействуют с водой, вызывая образование активных форм кислорода (АФК), которые усиливают повреждение ДНК и повышают чувствительность опухолевых клеток к радиации. Использование наночастиц Au-глюкоза-PVP-ZIF-8 нивелирует попытку клеток РМЖ устранить повреждения ДНК за счет активации метаболизма и может приводить к радиационно-индуцированной гибели клеток.

Изменение клеточной массы под влиянием наночастиц

Для комплексного анализа изменений клеточной массы под воздействием наночастиц использовали анализ с использованием сульфородамина Б (SRB) [13]. Этот метод позволяет оценить плотность клеток по содержанию клеточного белка. Сульфородамин Б связывается с клеточными белками, и интенсивность окрашивания отражает количество клеток, что помогает измерить общий эффект воздействия веществ на клеточную массу или пролиферацию. Такой анализ информативен для оценки цитотоксичности и мониторинга изменений клеточной популяции при исследовании наночастиц.

Уже через 24 ч после облучения наблюдалось статистически значимое снижение клеточной массы MCF7 по сравнению с контрольными клетками ($p \leq 0,001$). Под влиянием наночастиц Au-глюкоза-ZIF-8 клеточная масса снизилась еще больше ($p \leq 0,01$, по сравнению с облученным контролем без наночастиц) (рис. 5). Через 48 ч после облучения клеточная масса MCF7 продолжила снижаться, однако значимых различий между клетками с наночастицами и без них уже не наблюдалось. Клетки MDA-MB-231, наоборот, продемонстрировали увеличение клеточной массы под влиянием облучения как через 24 ч ($p \leq 0,01$), так и через 48 ч ($p \leq 0,0001$) по сравнению с контролем. При этом наночастицы неожиданным образом внесли дополнительный вклад в увеличение клеточной массы после облучения ($p \leq 0,05$). Однако через 48 ч после воздействия 10 Гр наночастицы внесли вклад в снижение уровня клеточной массы ($p \leq 0,01$). Схожие изменения наблюдались в клетках 4T1, где первоначальное увеличение клеточной массы через 24 ч после облучения сменилось ее снижением через 48 ч инкубации. При этом наночастицы неожиданным образом внесли дополнительный вклад в увеличение клеточной массы через 24 ч после облучения ($p \leq 0,05$). Схожие изменения наблюдались в клетках 4T1, где начальное увеличение клеточной массы через 24 ч после облучения сменилось ее снижением через 48 ч инкубации. При этом статистически значимых различий между облученными клетками с наночастицами и без них не наблюдалось (рис. 5). В целом можно заключить, что увеличение клеточной массы MDA-MB-231 и 4T1 через 24 ч после облучения в дозе 10 Гр может быть связано с попыткой этих клеток устранить повреждения за счет усиленного метаболизма, что в конечном счете истощает ее и приводит к гибели через активацию PARP.

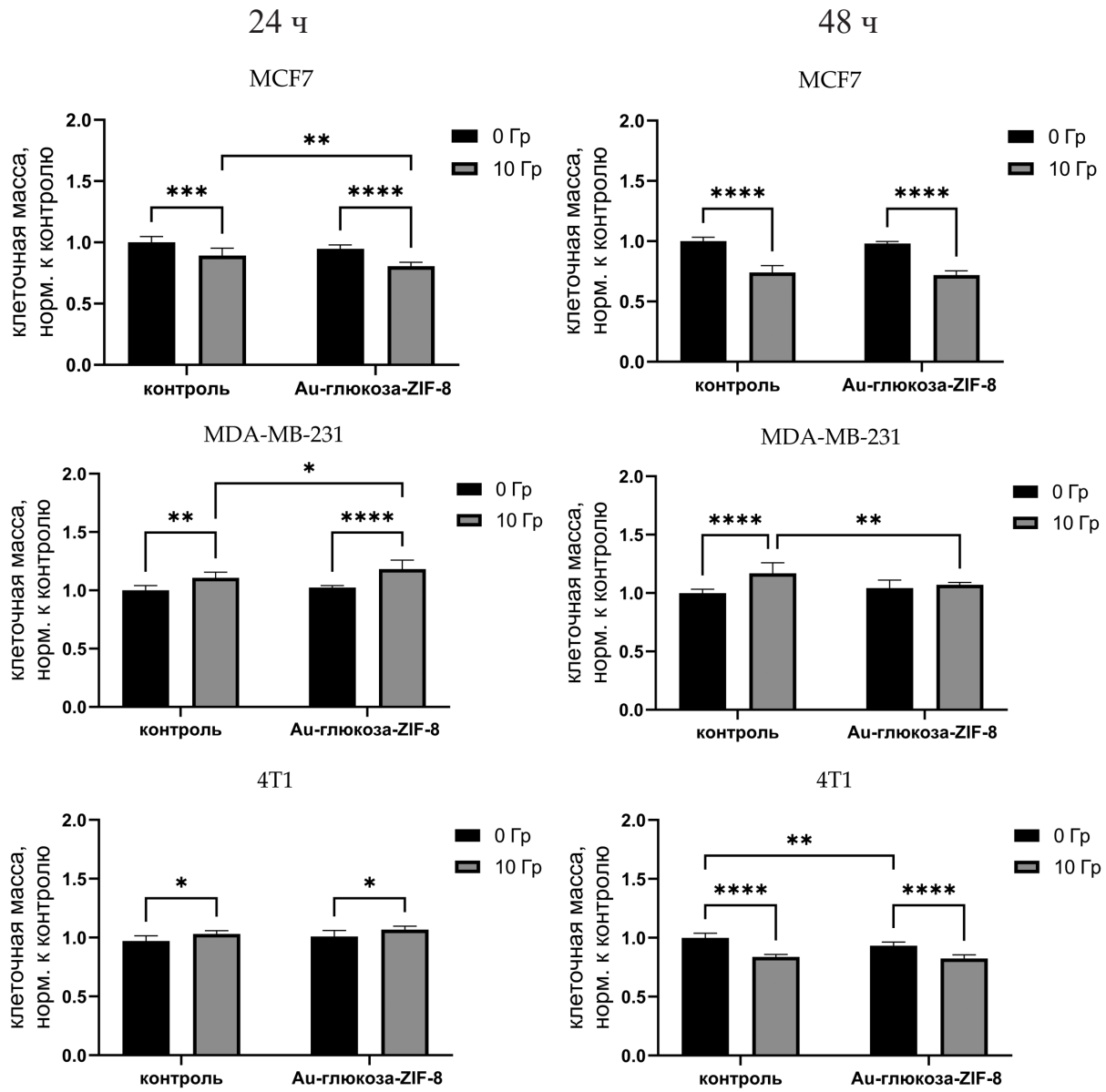


Рис. 5. Анализ клеточной массы. Гистограмма изменения содержания массы клеток MCF7, MDA-MB-231 и 4T1, инкубированных с 0,5 мкг/мл Au-глюкоза-ZIF-8 через 24 ч и 48 ч после облучения в дозе 10 Гр. Данные представлены в виде средних значений клеточной массы, нормализованной к контрольным клеткам без наночастиц ± стандартное отклонение. * $p \leq 0{,}05$, ** $p \leq 0{,}01$, *** $p \leq 0{,}001$, **** $p \leq 0{,}0001$

Fig. 5. Cell mass analysis. Histogram of changes in cell mass content of MCF7, MDA-MB-231, and 4T1 cells incubated with 0.5 μg/mL Au-glucose-ZIF-8 at 24 and 48 hours after irradiation at a dose of 10 Gy. Data are presented as mean cell mass values normalized to control cells without nanoparticles ±standard deviation. * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$, **** $p \leq 0.0001$

Заключение

Впервые были проведены синтез и характеризация наночастиц золота, конъюгированными с глюкозой и включенными в цеолито-имидазолатные каркасы 8 (ZIF-8). Синтезированные наночастицы Au-глюкоза-ZIF-8 в концентрации 0,5 мкг/мл и 2,5 мкг/мл обладают хорошей биосовместимостью с компонентами периферической крови и безопасны для проведения *in vivo* экспериментов. Их радиосенсибилизирующая активность проявилась при рентгеновском облучении клеток РМЖ линии MCF7. Наночастицы приводили к увеличению количества повреждений ДНК и одновременному снижению метаболической активности в клетках РМЖ под влиянием облучения. Однако в клетках линий MDA-MB-231 и 4T1 выраженные эффекты радиосенсибилизации не выявлены. В целом, было показано, что наночастицы Au-глюкоза-ZIF-8 могут быть использованы при разработки наноразмерных сенсибилизаторов для лучевой терапии РМЖ с учетом молекулярной гетерогенности различных типов опухолевых клеток.

Благодарности

Авторы выражают благодарность Мутали Алишеру, сотруднику Лаборатории ядерных реакций им. Г.Н. Флёрова Объединенного института ядерных исследований за помощь в исследовании образцов методом просвечивающей электронной микроскопии.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

1. Castelvecchi D., Naddaf M. Chemistry Nobel for Scientists Who Developed Massively Porous ‘Super Sponge’ Materials. Nature. 2025;646;8085:522-3. Doi: 10.1038/d41586-025-03195-1.
2. Zhou H-C., Long J.R., Yaghi O.M. Introduction to Metal–Organic Frameworks. Chemical Reviews. 2012;112;2:673-4. Doi: 10.1021/cr300014x.
3. Bhattacharyya P., Pudake R.N., Chakrabarti S. A Silver Functionalized ZIF-8 Derived Heterostructure with Excellent Visible-Light-Driven Photocatalytic Removal of Antibiotics. Frontiers in Nanotechnology. 2025;7:1477247. Doi: 10.3389/fnano.2025.1477247.
4. Wang Y., Zeng M., Fan T., Jia M., Yin R., Xue J., et al. Biomimetic ZIF-8 Nanoparticles: a Novel Approach for Biomimetic Drug Delivery Systems. Int J Nanomedicine. 2024;19:5523-44. Doi: 10.2147/IJN.S462480.
5. Mirzanejad S., Bagherzadeh M., Bayrami A., Daneshgar H., Bahrami A., Mahdavi M. Improving the Drug Delivery Performance of ZIF-8 with Amine Functionalization as a 5-Fluorouracil Nanocarrier. Scientific Reports. 2025;15;1:18793. Doi: 10.1038/s41598-025-03542-2.
6. Korman D.B., Ostrovskaya L.A., Bluhterova N.V., Rykova V.A., Fomina M.M. Gold Nanoparticles as Potential Radiosensitizing and Cytotoxic Agents. Biophysics. 2022;66;6:1046-58. Doi: 10.1134/s0006350921060063.
7. Yang R., Xie H., Wu H., Liu X., Luo J., Han L., et al. Cisplatin-Encapsulated Zeolitic Imidazolate Framework-8 Nanosystem Enhanced Radiosensitivity of Non-Small Cell Lung Cancer. Scientific Reports. 2025;15;1:12663482. Doi: 10.1038/s41598-025-27104-8.
8. Liu J., Liu C., Tang J., Chen Q., Yu Y., Dong Y., et al. Synergistic Cerium Oxide Nanozymes: Targeting DNA Damage and Alleviating Tumor Hypoxia for Improved NSCLC Radiotherapy Efficiency. Journal of Nanobiotechnology. 2024;22;1:25. Doi: 10.1186/s12951-023-02196-4.
9. Osipov A., Arkhangelskaya E., Vinokurov A., Smetanina N., Zhavoronkov A., Klokov D. DNA Comet Giemsa Staining for Conventional Bright-Field Microscopy. International journal of Molecular Sciences. 2014;15;4:6086-95. Doi: 10.3390/ijms15046086.
10. Зрилова Ю.А., Чигасова А.К., Игнатов М.А., Воробьёва Н.Ю., Осипов А.А., Сабуров В.О., Казаков Е.И., Корякин С.Н., Федотов Ю.А., Бушманов А.Ю., Осипов А.Н. Низкая эффективность репарации ДНК в лимфоцитах периферической крови человека, облучённых ex vivo нейтронами с энергией 14,1 МэВ // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2025. Т.70. №2. С. 23-26 [Zrilova Yu.A., Chigasova A.K., Ignatov M.A., Vorob’yova N.Yu., Osipov A.A., Saburov V.O., Kazakov Ye.I., Koryakin S.N., Fedotov Yu.A., Bushmanov A.Yu., Osipov A.N. Low Efficiency of DNA Repair in Human Peripheral Blood Lymphocytes Irradiated ex Vivo with 14.1 MeV Neutrons. *Meditsinskaya Radiologiya i Radiatsionnaya Bezopasnost’* = Medical Radiology and Radiation Safety. 2025;70;2:23-26 (In Russ.)]. Doi: 10.33266/1024-6177-2025-70-2-23-26.
11. Rampersad SN. Multiple Applications of Alamar Blue as an Indicator of Metabolic Function and Cellular Health in Cell Viability Bioassays. Sensors (Basel). 2012;12;9:12347-60. Doi: 10.3390/s120912347.
12. Carter J.D., Cheng N.N., Qu Y., Suarez G.D., Guo T. Nanoscale Energy Deposition by X-Ray Absorbing Nanostructures. J Phys Chem B. 2007;111;40:11622-5. Doi: 10.1021/jp075253u.
13. Orellana E.A., Kasinski A.L. Sulforhodamine B (SRB) Assay in Cell Culture to Investigate Cell Proliferation. Bio Protoc. 2016;6;21. Doi: 10.21769/BioProtoc.1984.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследования выполнены при поддержке Российского научного фонда (проект № 24-45-20002, https://rscf.ru/project/24-45-20002/).

Участие авторов. Статья подготовлена с равным участием авторов.

Поступила: 20.06.2026. Принята к публикации: 25.07.2026.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Financing. The research was supported by the Russian Science Foundation (project No. 24-45-20002, https://rscf.ru/project/24-45-20002/).

Contribution. Article was prepared with equal participation of the authors.

Article received: 20.06.2026. Accepted for publication: 25.07.2026.