

М.В. Пустовалова^{1,2}, В.Д. Некрасов¹, Е.В. Андреев^{2,3}, И.Н. Фадейкина^{2,3}, С.В. Леонов¹,
А.Н. Нечаев^{2,3}, А.Н. Осипов^{1,2,3}

M.V. Pustovalova¹, V.D. Nekrasov¹, E.V. Andreev^{2,3}, I.N. Fadeikina^{2,3}, S.V. Leonov¹,
A.N. Nechaev^{2,3}, A.N. Osipov^{1,2,3}

Наночастицы серебра и золота, синтезированные с помощью β -циклодекстрина, как радиосенсибилизаторы при лучевой терапии рака молочной железы

Silver and gold nanoparticles synthesized using β -cyclodextrin as radiosensitizers in breast cancer radiotherapy

Ключевые слова: *рак молочной железы, ионизирующее излучение, наночастицы серебра, наночастицы золота, β -циклодекстрин, радиосенсибилизаторы*

Key words: *breast cancer, ionizing radiation, silver nanoparticles, gold nanoparticles, β -cyclodextrin, radiosensitizers*

¹ Московский физико-технический институт (Национальный исследовательский университет), Российская Федерация, Московская обл., г. Долгопрудный

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

³ Объединенный институт ядерных исследований, Российская Федерация, Московская обл., г. Дубна

⁴ Государственный университет «Дубна», Российская Федерация, Московская обл., г. Дубна

¹ Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University), Russian Federation, Moscow Region, Dolgoprudny

² Federal Medical Biophysical Center named after A.I. Burnazyan FMBA of Russia, Moscow

³ Joint Institute for Nuclear Research, Russian Federation, Moscow Region, Dubna

⁴ Dubna State University, Russian Federation, Moscow Region, Dubna

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

Information about the authors:

M.V. Pustovalova, <http://orcid.org/0000-0002-5580-0553>

V.D. Nekrasov, <https://orcid.org/0009-0008-6611-5210>

E.V. Andreev, <https://orcid.org/0009-0003-6924-2622>

I.N. Fadeikina, <https://orcid.org/0009-0006-5094-6760>

S.V. Leonov, <https://orcid.org/0000-0002-3425-723X>

A.N. Nechaev, <https://orcid.org/0000-0002-5138-4265>

A.N. Osipov, <http://orcid.org/0000-0001-5921-9056>

Реферат

Цели: 1) Синтез и характеристика наночастиц серебра и золота, стабилизированных β -циклодекстрином; 2) Оценка влияния синтезированных наночастиц на выраженность радиобиологических эффектов в облученных клетках рака молочной железы (РМЖ).

Материалы и методы: Наночастицы золота и серебра синтезировали с использованием β -циклодекстрина в качестве восстановителя и стабилизатора. В работе были использованы клеточные линии РМЖ человека MDA-MB-231 (ER-/PR-/ EGFR+/ HER2-) и MCF7 (ER+/ PR+/ EGFR-/ HER2-). Клетки облучали на рентгеновской биологической установке РУБ РУСТ-М1 (Россия), оснащенной двумя рентгеновскими излучателями, при мощности дозы 40 мГр/мин, напряжении 100 кВ, токе 0.8 мА, фильтре 1.5 мм Al. Наночастицы вносили за 24 ч до облучения в концентрации 0,5 мг/л. Клетки без наночастиц использовались в качестве контроля. Для оценки радиобиологических эффектов анализировали фокусы белка-маркера повреждений ДНК (γ H2AX) через 1 и 24 ч после облучения. 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: Показана эффективная радиосенсибилизация клеток рака молочной железы (РМЖ) линий MDA-MB-231 и MCF7 с помощью наночастиц золота и серебра, синтезированных на основе β -циклодекстрина. Полученные результаты свидетельствуют о достижении статистически значимых результатов уже при концентрации 0,5 мг/л, что как минимум в 20 раз меньше концентраций, используемых ранее для достижения значимого эффекта.

Abstract

Objectives: 1) Synthesis and characterization of β -cyclodextrin stabilized silver and gold nanoparticles; 2) Evaluation of the effect of the synthesized nanoparticles on the severity of radiobiological effects in irradiated breast cancer (BC) cells.

Materials and methods: Gold and silver nanoparticles were synthesized using β -cyclodextrin as a reducing agent and stabilizer. Human BC cell lines MDA-MB-231 (ER-/PR-/EGFR+/HER2-) and MCF7 (ER+/PR+/EGFR-/HER2-) were used in the work. The cells were irradiated on a RUB RUST-M1 (Russia) X-ray irradiation facility, equipped with two X-ray emitters, at a dose rate of 40 mGy/min, 100 kV voltage, 0.8 mA current, 1.5 mm Al filter. Nanoparticles were added 24 h before irradiation at a concentration of 0.5 mg/l. Cells without nanoparticles were used as a control. To assess radiobiological effects, foci of the DNA damage marker protein (γ H2AX) were analyzed 1 and 24 hours after irradiation. Statistical and mathematical data analysis was performed using GraphPad Prism 9.0.2.161 software (GraphPad Software). Statistical significance was assessed using analysis of variance (ANOVA).

Results: Effective radiosensitization of BC cell lines MDA-MB-231 and MCF7 using β -cyclodextrin stabilized gold and silver nanoparticles (AuNPs and AgNPs) was shown. The results obtained indicate the achievement of statistically significant results already at a concentration of 0.5 mg/l, which is at least 20 times less than the concentrations previously used to achieve a significant effect.

Рак молочной железы (РМЖ) является одной наиболее распространенной формой злокачественных новообразований и основной причиной смертности от рака среди женщин во всем мире [1]. Одним из наиболее широко используемых методов лечения РМЖ является лучевая терапия (ЛТ). Целью современной ЛТ является увеличение терапевтического индекса, отражающего достижение необходимого терапевтического эффекта, например, локального контроля над опухолью, при минимальном токсическом воздействии на нормальные ткани. Одним из путей решения этой проблемы и повышения эффективности ЛТ являются радиосенсибилизаторы, представляющие собой группу соединений, которые обладают способностью усиливать повреждения, наносимые опухолевой ткани ионизирующим излучением. Развитие нанотехнологий привело к созданию инновационных систем на основе элементов с высоким Z , обладающих высокой энергопоглощающей способностью и радиосенсибилизирующим действием [2, 3]. Их использование в ЛТ является многообещающим подходом, поскольку может помочь свести к минимуму дозу излучения, необходимую для уничтожения опухоли, и, тем самым, минимизировать дозу излучения и побочные эффекты для нормальных тканей.

Цели работы: 1) Синтез и характеристика наночастиц серебра и золота, стабилизированных β -циклодекстрином; 2) Оценка влияния синтезированных наночастиц на выраженность радиобиологических эффектов в облученных клетках РМЖ.

Применяемый при синтезе наночастиц β -циклодекстрин, обладает широким потенциалом использования для контейнерирования лекарственных средств, для реализации механизма контролируемой деградации комплексов с ним. При этом циклодекстрин повышает способность наночастиц к проникновению через ткани и слизистые оболочки, что облегчает доставку основного компонента комплекса, повышает биодоступность плохорастворимых компонентов. Циклодекстрин используется и как восстановитель. При восстановлении ионов серебра и золота этим циклическим олигомером глюкозы, процесс происходит за счет α -D-1,4-гликозидных связей, а характерная форма молекулы способствует одновременной стабилизации наночастиц [4].

Для оценки радиобиологических эффектов через 1 и 24 ч после облучения проводили подсчет фокусов (локализованных динамических микроскоплений) белка-маркера повреждений ДНК – фосфорилированного гистона H2AX (γ H2AX). Образование фокусов γ H2AX вследствие локального ремоделирования хроматина, необходимого для доступа и привлечения факторов репарации ДНК, является важным компонентом запуска процессов отклика клетки на образование повреждения ДНК (репарации, остановки клеточного цикла, клеточной гибели) [5, 6]. Показано, что количество остаточных (регистрируемых через 24-72

ч после облучения) фокусов γ H2AX может служить прогностическим критерием репродуктивной клеточной гибели [7, 8] и таким образом использоваться для первичной экспрес-оценки эффективности различных схем ЛТ, в том числе и в комбинации теми или иными фармакологическими препаратами [9, 10].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Методология синтеза и характеристика наночастиц

Синтез наночастиц золота (НЧЗ- β -ЦД) проводили на основе методики, предложенной в работе Saito et al. [11]. В качестве источника Au^{3+} использовали $HAuCl_4 \cdot 3H_2O$ ($\geq 49.0\%$ (Au), Acros Organics), в качестве восстановителя и стабилизатора использовали β -циклодекстрин (Panreac). На первом этапе для синтеза затравочного раствора наночастиц золота готовили раствор из 35 мл деионизированной воды (Milli-Q, Millipore с удельным сопротивлением 17 МОм·см при 22 °С) и 10 мл раствора β -циклодекстрина 0.01 М (98.0%, CDH), рН которого доводили до значения 10.6 1М раствором NaOH (98%, Panreac). После этого нагревали до кипения при перемешивании, а затем добавляли 200 мкл 0.01 М раствора $HAuCl_4$. Реакцию останавливали через 2 часа путём понижения температуры раствора при погружении в холодную воду. Для выделения зародышей конечный раствор центрифугировали при 11000 об/мин в течение 20 минут, декантировали и редеспергировали в воде. На втором этапе проводили синтез наночастиц золота. Для этого в колбу последовательно добавляли 47 мл дистиллированной воды, 1 мл раствора β -циклодекстрина 0.01 М, рН которого доводили до значения 10.6 1М раствором NaOH. После этого нагревали до кипения, а затем добавляли 1 мл затравочного раствора и 600 мкл $HAuCl_4$ (0.01 М). Реакцию завершали через 1 час после добавления $HAuCl_4$ путём охлаждения раствора до комнатной температуры. Полученные наночастицы золота центрифугировали при 7000 об/мин в течение 20 минут и промывали два раза деионизированной водой до рН ≈ 7 .

Наночастицы серебра, покрытые β -циклодекстрином (НЧС- β -ЦД), синтезировали с использованием β -циклодекстрина в качестве восстановителя и стабилизатора. Готовили два раствора: 50 мл 1 мМ $AgNO_3$ (х.ч., ЛенРеактив) и 100 мл 1 мМ β -ЦД. Раствор β -ЦД помещали в колбу объемом 250 мл, далее добавляли 1М NaOH до рН=11. После этого раствор нагревали до 70 °С и по каплям добавляли раствор $AgNO_3$. Реакция продолжалась в течение 30 минут, а затем смесь центрифугировали при 17000 об/мин в течение 20 минут и промывали два раза деионизированной водой до рН ≈ 7 .

Характеризация наночастиц

Для характеристики формы и распределения наночастиц серебра по размерам использовали метод просвечивающей электронной микроскопии (Thermo Scientific Talos

F200iS/TEM). В качестве подложки использовали медные сетки с тонкой пленкой аморфного углерода (SPI supplies). Для осаждения наночастиц подложку погружали в коллоидный раствор наночастиц серебра и золота, затем высушивали на воздухе. При помощи программы JMicroVision 1.3.4 по микрофотографиям были рассчитаны размеры наночастиц и стандартное отклонение. Для каждого образца проводился анализ выборки, включающей не менее 50 частиц. Концентрацию наночастиц определяли по спектрам поглощения в ультрафиолетовой и видимой областях, полученным на двухлучевом спектрофотометре Evolution 600 (Thermo Scientific), длина оптического пути составляла 1 см основываясь на статьях [12, 13]. Значение рН коллоидных растворов наночастиц серебра и растворов реагентов для синтеза измеряли на рН-метре SG2-ELK (Mettler Toledo). ζ -Потенциал синтезированных наночастиц определяли методом лазерного доплеровского микроэлектрофореза на приборе Zetasizer Nano ZSP (Malvern). Для измерения использовали U-образную кювету со встроенными золотыми электродами DTS1070 (Malvern).

Культивирование клеток

В работе были использованы клеточные линии РМЖ человека MDA-MB-231 (ER-/PR-/EGFR+/HER2-) и MCF7 (ER+/PR+/EGFR-/HER2-). Клетки культивировали в среде DMEM (Gibco, Fisher Scientific, Waltham, США) с добавлением 10% фетальной сыворотки крупного рогатого скота (KPC), L-глутамина и 1% пенициллина / стрептомицина (Sigma -Aldrich, США) при 37 ° C и 5% CO₂.

Облучение

Клетки облучали на рентгеновской биологической установке РУБ РУСТ-М1 (Россия), оснащенной двумя рентгеновскими излучателями, при мощности дозы 40 мГр/мин, напряжении 100 кВ, токе 0.8 мА, фильтре 1.5 мм Al. Наночастицы вносили за 24 ч до облучения в концентрации 0,5 мг/л. Клетки без наночастиц использовались в качестве контроля.

Иммуноцитохимический анализ фокусов гистона γ H2AX

Клетки высаживали в 96 луночный планшет в количестве 10⁴ клеток/лунка. Наночастицы вносили за 24 ч до облучения в концентрации 0,5 мг/л. Клетки без наночастиц использовались в качестве контроля. Через 1 ч и 24 ч после облучения в дозе 2 Гр клетки фиксировали 4% параформальдегидом 15 минут при комнатной температуре и пермеабелизировали 1 час при комнатной температуре в 0,1% растворе Тритона X-100 с добавлением 2% бычьего сывороточного альбумина. Клетки инкубировали в течение часа с первичными антителами к γ H2AX (разведение 1:200, клон EP854(2)Y, Merck-Millipore,

США). После отмывки от не связавшихся антител, добавлялся раствор вторичных антител Alexa Fluor® 488 (Goat Anti-Mouse IgG H&L (Alexa Fluor® 488), разведение 1:2000, ab150113, Abcam Limited, США) на 1 час при комнатной температуре. Окраска ядер осуществлялась с помощью красителя Hoechst 33342 (Life technologies Corporation, USA). Визуализация клеток осуществлялась на микроскопе EVOS M5000 (Invitrogen, США) при 40х объективе.

Статистический анализ

Статистический и математический анализ данных проводили с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 9.0.2.161 (GraphPad Software). Результаты представлены как среднее арифметическое (M)±стандартная ошибка среднего (SEM) трех независимых экспериментов. Статистическую значимость проверяли с использованием дисперсионного анализа (ANOVA).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Характеризация наночастиц серебра и золота, стабилизированных β-циклодекстрином

На рисунке 1 а представлен спектр поглощения НЧС-β-ЦД, на котором можно наблюдать пик плазмонного резонанса при 415 нм, характерный для наночастиц серебра. Концентрация НЧС-β-ЦД, оцениваемая по спектру поглощения в ультрафиолетовой и видимой областях (Рис.1 а) составила ≈ 17 мг/л. Средний размер НЧС- β-ЦД, оцениваемый с помощью просвечивающей электронной микроскопии, составил 14±4 нм(Рисунок 1 б). Среднее значение дзета-потенциала составило -35 мВ.

На Рисунке 2 а представлен спектр поглощения НЧЗ-β-ЦД, на нём можно наблюдать пик плазмонного резонанса при 540 нм, характерный для наночастиц золота. Концентрация НЧЗ- β-ЦД, оцениваемая по спектру поглощения (Рисунок 2 а), составила ≈ 5 мг/л. Размеры НЧЗ-β-ЦД оценивали с помощью сканирующей электронной микроскопии (Рисунок 2 б). Средний размер НЧЗ- β-ЦД составил 41 ± 9 нм. Среднее значение дзета-потенциала составило -24 мВ.

Оценка влияния наночастиц на изменение числа фокусов гистона γH2AX

Результаты исследования показали, что через 1 час после облучения в дозе 2 Гр число фокусов γH2AX в клетках MCF7, инкубированных с НЧЗ-β-ЦД, было статистически значимо выше по сравнению с облученными клетками без добавления НЧ и с добавлением НЧС-β-ЦД (Рисунок 3 а, p<0,0001). Через 24 ч число фокусов γH2AX в ядрах облученных клеток MCF7 снизилось до контрольного уровня, в то время как в клетках, инкубированных с НЧС-β-ЦД и

НЧЗ-β-ЦД, число остаточных фокусов было статистически значимо выше соответствующих им необлученных контролей (Рисунок 3 б, $p < 0,0001$). Следует отметить, что число остаточных фокусов в этих клетках также было статистически значимо выше по сравнению с облученными клетками без добавления НЧ ($p < 0,0001$). Это может свидетельствовать о существенном вкладе НЧС-β-ЦД и НЧЗ-β-ЦД в формирование комплексных повреждений ДНК, вызванных облучением этих клеток.

В отличие от MCF7, инкубация с НЧС-β-ЦД, а не с НЧЗ-β-ЦД приводила к увеличению числа фокусов γ H2AX в клетках MDA-MB-231 через 1 ч после облучения ($p < 0,0001$, Рисунок 4 а). Интересно, что инкубация с НЧЗ-β-ЦД, наоборот, вызывала снижение числа фокусов γ H2AX в клетках MDA-MB-231 в 1,2 и 1,5 раз по сравнению с облученным контролем без наночастиц и с НЧС-β-ЦД, соответственно ($p < 0,0001$, Рисунок 4 а). Облучение в дозе 2 Гр приводило к поддержанию повышенного числа остаточных фокусов γ H2AX, как в клетках без наночастиц, так и в клетках, инкубированных с НЧС-β-ЦД и НЧЗ-β-ЦД ($p < 0,0001$, Рисунок 4 б). То есть, увеличение времени инкубации до 24 ч не приводило к снижению числа фокусов в этих клетках до контрольного уровня (Рисунок 4 б). Наоборот, наблюдалось увеличение числа «спонтанных» фокусов в необлученных клетках MDA-MB-231, инкубированных с наночастицами, по сравнению со значением, наблюдавшимся через 1 ч инкубации после облучения (рис. 4 б). Известно, что в отличие от MCF7, которые экспрессируют p53 дикого типа, MDA-MB-231 экспрессируют мутантный p53. Это может являться причиной повышенного уровня эндогенного γ H2AX, наблюдавшееся ранее [14], что может отражать повышенную генетическую нестабильность этих клеток. С другой стороны, увеличение числа спонтанных фокусов может свидетельствовать о дополнительной токсичности НЧС-β-ЦД и НЧЗ-β-ЦД для клеток MDA-MB-231 в отсутствие облучения при увеличении времени инкубации. Клетки MDA-MB-231, относящиеся к трижды-негативному подтипу РМЖ, обладают высоким метастатическим потенциалом, что позволяет им эффективно поглощать синтетические наночастицы, в отличие от клеток с низким метастатическим потенциалом [15]. Таким образом, можно сделать вывод о вкладе как нестабильного p53, так и более эффективного поглощения наночастиц клетками MDA-MB-231 в образование повышенного уровня фокусов γ H2AX. Наши данные согласуются с полученными ранее результатами, где было показано, что наночастицы серебра оказывали более выраженный цитотоксический эффект на клетки MDA-MB-231, а не MCF7 [16]. ТЭМ анализ выявил накопление наночастиц в ядре этих клеток, в то время как в клетках MCF7 преобладающее количество наночастиц было обнаружено в цитоплазме [16]. Близость наночастиц к ДНК и одновременное образование вторичных Комптоновских электронов при облучении может

являться логичным объяснением существования повышенного уровня фокусов γ H2AX в клетках MDA-MB-231.

Заключение

Впервые проведено исследований влияния наночастиц золота и серебра, синтезированных на основе β -циклодекстрина, на формирование и элиминацию фокусов γ H2AX в клетках РМЖ линий MCF7 и MDA-MB-231, облученных рентгеновским излучением. Полученные результаты свидетельствуют о достижении статистически значимых результатов уже при концентрации 0,5 мг/л, что как минимум в 20 раз меньше концентраций, используемых ранее для достижения значимого эффекта [17].

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Радиобиологические исследования выполнены при поддержке Российского научного фонда (проект № 24-45-20002, <https://rscf.ru/project/24-45-20002/>).

Благодарности

Авторы выражают благодарность Мутали Алишеру, сотруднику Лаборатории ядерных реакций Объединенного института ядерных исследований, и Ivan Padron Ramirez за помощь в проведении экспериментов.

Участие авторов

Статья подготовлена с равным участием авторов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Arnold M, Morgan E, Rumgay H, Mafra A, Singh D, Laversanne M, et al. Current and future burden of breast cancer: Global statistics for 2020 and 2040. *Breast*. 2022;66:15-23. doi: 10.1016/j.breast.2022.08.010.
2. Chen Y, Yang J, Fu S, Wu J. Gold Nanoparticles as Radiosensitizers in Cancer Radiotherapy. *Int J Nanomedicine*. 2020;15:9407-30. doi: 10.2147/IJN.S272902.
3. Jackson N, Cecchi D, Beckham W, Chithrani DB. Application of High-Z Nanoparticles to Enhance Current Radiotherapy Treatment. *Molecules*. 2024;29(11). doi: 10.3390/molecules29112438.
4. Khan MJ, Ahmad A, Zamzami MA, Siddiqui S, Khan MA. Bidirectional approach of β -cyclodextrin-capped silver nanoparticles: reduction in toxicity and enhancement in antibacterial activity. *Clean Technologies and Environmental Policy*. 2023;26(11):3955-64. doi: 10.1007/s10098-023-02618-9.
5. Osipov A, Chigasova A, Yashkina E, Ignatov M, Vorobyeva N, Zyuzikov N, et al. Early and Late Effects of Low-Dose X-ray Exposure in Human Fibroblasts: DNA Repair Foci, Proliferation, Autophagy, and Senescence. *International journal of molecular sciences*. 2024;25(15). doi: 10.3390/ijms25158253.

6. Osipov AA, Chigasova AK, Yashkina EI, Ignatov MA, Vorobyeva NY, Osipov AN. Link Between Cellular Senescence and Changes in The Number and Size of Phosphorylated Histone H2ax Foci in Irradiated Human Fibroblasts. *Medical Radiology and Radiation Safety*. 2024;69(3):13-8. doi: 10.33266/1024-6177-2024-69-3-13-18.
7. Babayan NS, Guryev DV, Vorobyeva NY, Grigoryan BA, Tadevosyan GL, Apresyan LS, et al. Colony-Forming Ability and Residual Foci of DNA Repair Proteins in Human Lung Fibroblasts Irradiated with Subpicosecond Beams of Accelerated Electrons. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2021;172(1):22-5. doi: 10.1007/s10517-021-05323-z.
8. Van Oorschot B, Oei AL, Nuijens AC, Rodermond H, Hoeben R, Stap J, et al. Decay of gamma-H2AX foci correlates with potentially lethal damage repair and P53 status in human colorectal carcinoma cells. *Cell Mol Biol Lett*. 2014;19(1):37-51. doi: 10.2478/s11658-013-0113-0.
9. Sorokin M, Kholodenko R, Grekhova A, Suntsova M, Pustovalova M, Vorobyeva N, et al. Acquired resistance to tyrosine kinase inhibitors may be linked with the decreased sensitivity to X-ray irradiation. *Oncotarget*. 2017;9(4):5111-24. doi: 10.18632/oncotarget.23700.
10. Olive PL. Retention of γ H2AX foci as an indication of lethal DNA damage. *Radiotherapy and Oncology*. 2011;101(1):18-23. doi: 10.1016/j.radonc.2011.05.055.
11. Saito K, McGehee K, Norikane Y. Size-controlled synthesis of cyclodextrin-capped gold nanoparticles for molecular recognition using surface-enhanced Raman scattering. *Nanoscale Advances*. 2021;3(11):3272-8. doi: 10.1039/d1na00125f.
12. Paramelle D, Sadovoy A, Gorelik S, Free P, Hobley J, Fernig DG. A rapid method to estimate the concentration of citrate capped silver nanoparticles from UV-visible light spectra. *The Analyst*. 2014;139(19). doi: 10.1039/c4an00978a.
13. Haiss W, Thanh NTK, Aveyard J, Fernig DG. Determination of Size and Concentration of Gold Nanoparticles from UV-Vis Spectra. *Analytical Chemistry*. 2007;79(11):4215-21. doi: 10.1021/ac0702084.
14. Mirzayans R, Andrais B, Scott A, Wang YW, Weiss RH, Murray D. Spontaneous gammaH2AX Foci in Human Solid Tumor-Derived Cell Lines in Relation to p21WAF1 and WIP1 Expression. *International journal of molecular sciences*. 2015;16(5):11609-28. doi: 10.3390/ijms160511609.
15. Merkher Y, Kontareva E, Bogdan E, Achkasov K, Maximova K, Grolman JM, et al. Encapsulation and adhesion of nanoparticles as a potential biomarker for TNBC cells metastatic propensity. *Sci Rep*. 2023;13(1):12289. doi: 10.1038/s41598-023-33540-1.
16. Thompson EA, Graham E, MacNeill CM, Young M, Donati G, Wailes EM, et al. Differential response of MCF7, MDA-MB-231, and MCF 10A cells to hyperthermia, silver nanoparticles and silver nanoparticle-induced photothermal therapy. *International Journal of Hyperthermia*. 2014;30(5):312-23. doi: 10.3109/02656736.2014.936051.
17. Nosrati H, Salehiabar M, Charmi J, Yaray K, Ghaffarlou M, Balcioglu E, et al. Enhanced In Vivo Radiotherapy of Breast Cancer Using Gadolinium Oxide and Gold Hybrid Nanoparticles. *ACS Applied Bio Materials*. 2023;6(2):784-92. doi: 10.1021/acsabm.2c00965.

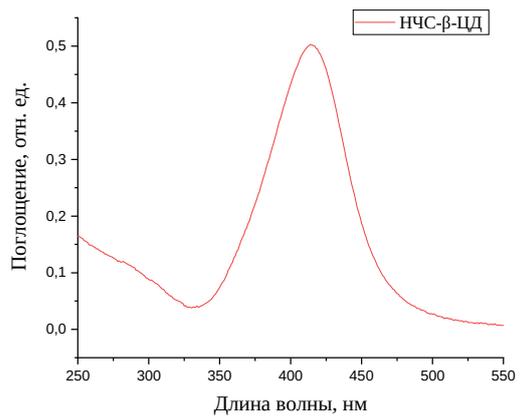
Подписи к рисункам

Рисунок 1. Характеризация наночастиц серебра (НЧС- β -ЦД), стабилизированных β -циклодекстрином. Спектр поглощения НЧС- β -ЦД в УФ-видимой области (а). Микрофотография НЧС- β -ЦД, полученная методом просвечивающей электронной микроскопии. Шкала 50 нм (б).

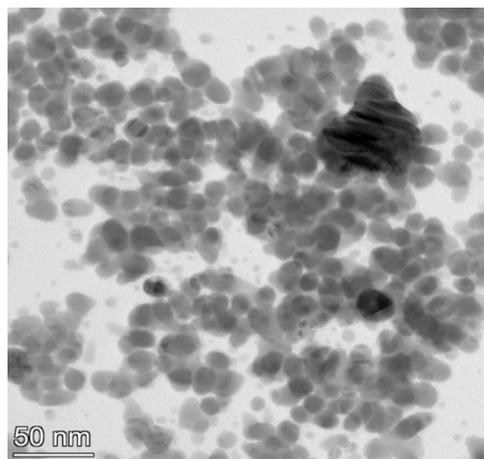
Рисунок 2. Характеризация наночастиц золота (НЧЗ- β -ЦД), стабилизированных β -циклодекстрином. Спектр поглощения НЧЗ- β -ЦД в УФ-видимой области (а). Микрофотография НЧЗ- β -ЦД, полученная методом сканирующей электронной микроскопии. Шкала 200 нм (б).

Рисунок 3. Изменение числа фокусов γ H2AX в клетках РМЖ MCF7, инкубированных с наночастицами серебра (НЧС- β -ЦД) и золота (НЧЗ- β -ЦД). Число фокусов в клетках MCF7 через 1 ч (а) и 24 ч (б) после облучения в дозе 2 Гр.

Рисунок 4. Изменение числа фокусов γ H2AX в клетках РМЖ MDA-MB-231, инкубированных с наночастицами серебра (НЧС- β -ЦД) и золота (НЧЗ- β -ЦД). Число фокусов в клетках MDA-MB-231 через 1 ч (а) и 24 ч (б) после облучения в дозе 2 Гр.

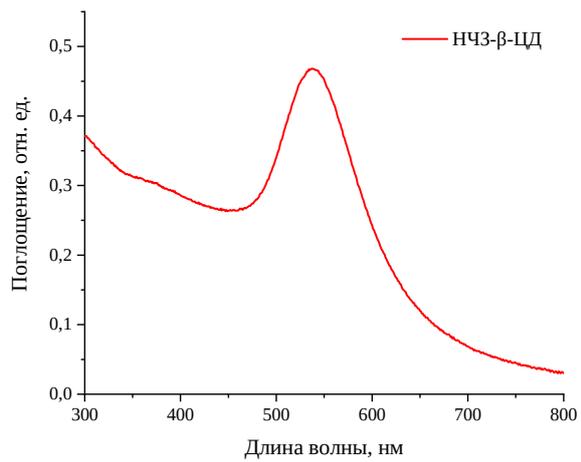


(a)

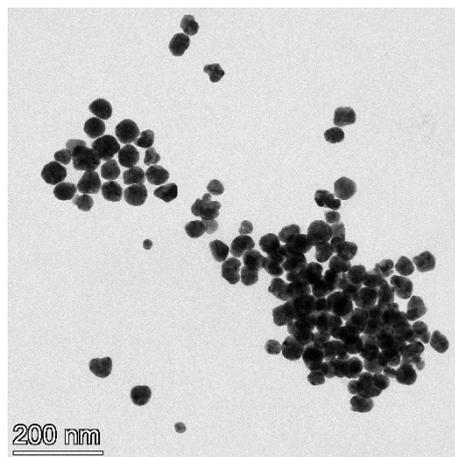


(б)

Рисунок 1.

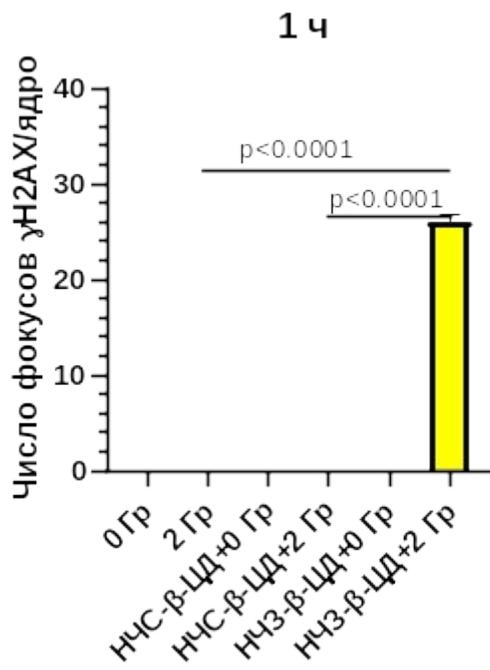


(a)

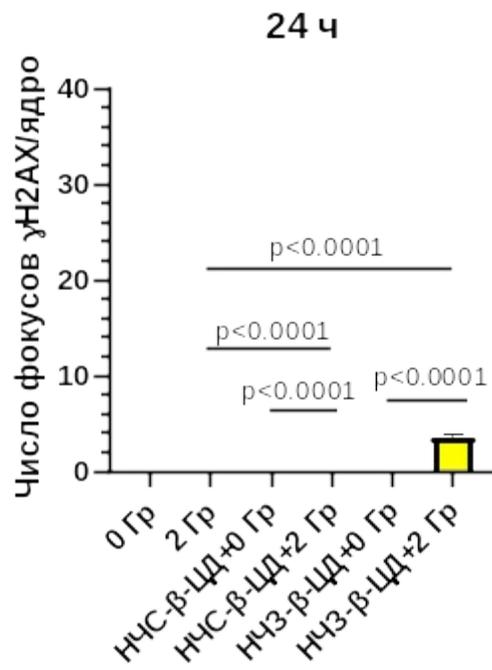


(б)

Рисунок 2.

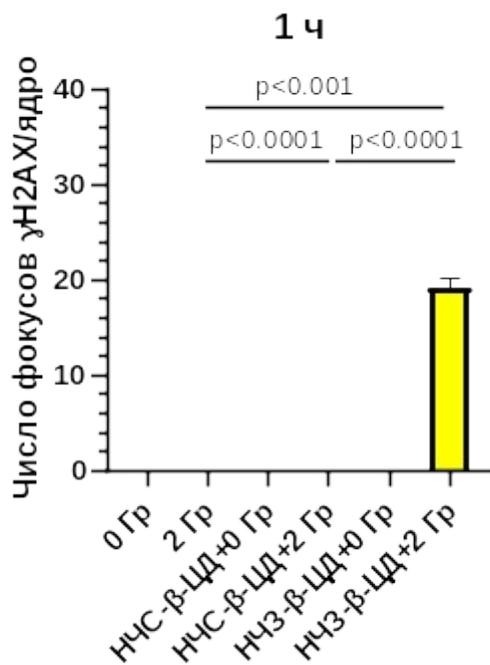


(а)

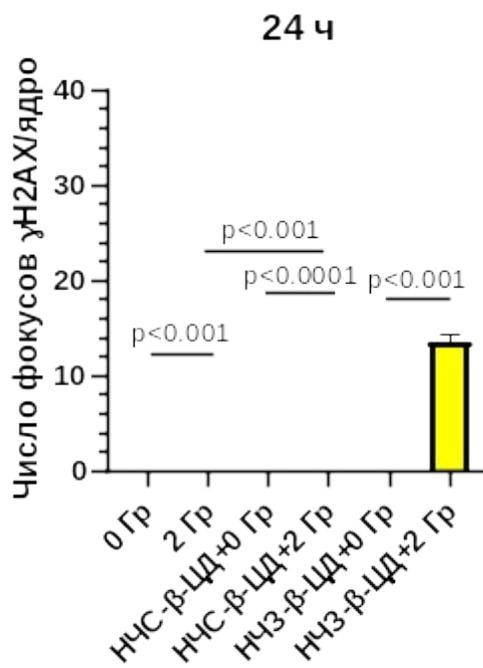


(б)

Рисунок 3.



(а)



(б)

Рисунок 4.