

Порівняльне дослідження функціональної активності мононуклеарних клітин крові за продукцією цитокінів під впливом наночастинок діоксиду титану з різним вмістом сірки *in vitro*

О. П. Яворовський^{1,A,E,F}, А. І. Курченко^{1,A,E,F}, В. М. Рябовол^{1,B,C,D,E},
В. С. Савченко^{2,B,C}, О. О. Яворовська^{3,C,E}

¹Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна, ²ДУ «Інститут урології імені академіка О. Ф. Возіанова НАМН України», м. Київ, ³Національний університет охорони здоров'я імені П. Л. Шупика, м. Київ, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Мета роботи – вивчити вплив наночастинок TiO₂ (анатазу) з різним вмістом сірки на функціональну активність мононуклеарних клітин периферичної крові здорових донорів в умовах *in vitro* за продукцією цитокінів IL-1β, IL-4, IL-6, TNF-α.

Матеріали і методи. Об'єктами дослідження слугували нанопорошок діоксиду титану кристалічної форми – анатаз, розміром 21-28 нм з різним вмістом сірки (0,04 %, 0,16 %, 0,83 %), розроблений Інститутом проблем матеріалознавства імені І.М. Францевича. Мононуклеарні клітини периферичної крові донорів-добровольців (n = 30) *in vitro* інкубували в умовах відсутності стимулюючого агента, при стимуляції мітогеном ФГА та при стимуляції суспензій наночастинок TiO₂ по 10 мкл в концентраціях 0,3 мг/мл, 3 мг/мл і 30 мг/мл. Імуноферментним методом (ELISA) в супернатантах мононуклеарних клітин визначали концентрацію цитокінів (IL-1β, IL-6, IL-4, TNF-α), тестування проводилося за допомогою імуноферментного аналізатора «Stat Fax-303 Plus».

Результати. Дослідження *in vitro* показали, що наноматеріал у концентраціях, починаючи з 0,3 мкг/мл для нано-TiO₂ з 0,16 % і 0,83 % вмістом сірки здатен пригнічувати функціональну активність мононуклеарних клітин периферичної крові з достовірним зменшенням продукції цитокінів IL-1β, IL-6, TNF-α, IL-4 у донорів (p < 0,05), що може порушувати функціональний стан імунної системи. Під впливом нано-TiO₂ з 0,04 % вмістом сірки у концентрації 30 мкг/мл на мононуклеарні клітини периферичної крові спостерігалось статистично значиме зменшення продукції TNF-α (p < 0,05), а продукція IL-6, IL-1, IL-4 достовірно не змінювалась у порівнянні зі спонтанною продукцією. Також демонструють, що дія наночастинок TiO₂ на імунокомпетентні клітини тісно залежить від вмісту сірки в їх складі: чим вищою є концентрація сірки, тим більш вираженим є пригнічення продукції ключових цитокінів (IL-1β, IL-6, TNF-α, IL-4). Це свідчить про здатність наночастинок з модифікованим сірковмісним профілем чинити диференційований вплив на імунну відповідь, що варіює від нейтрального до потенційно імуноотоксичного.

Висновки. Функціональна активність мононуклеарних клітин периферичної крові пригнічується за продукцією цитокінів (IL-1, IL-6, TNF-α, IL-4) під впливом досліджуваних наночастинок TiO₂ у відповідних концентраціях у ряді нано-TiO₂ (0,04 % S), нано-TiO₂ (0,83 % S), нано-TiO₂ (0,16 % S). Вміст сірки 0,16 % і більше в наночастинках TiO₂ вказує на їхню більшу імуноотоксичність. Дія наночастинок TiO₂ на продукцію цитокінів мононуклеарними клітинами периферичної крові варіює залежно від вмісту сірки, що вказує на прямий зв'язок між хімічним складом наноматеріалу та його потенційною імуноотоксичністю.

Ключові слова:

анатаз, наночастинок діоксиду титану, модифікація сіркою, наноматеріали, мононуклеарні клітини периферичної крові, продукція цитокінів, імуноотоксичність, дослідження *in vitro*, ІФА, імунна відповідь.

Патологія. 2025.
Т. 22, № 3(65).
С. 213-219

Comparative study of the functional activity of blood mononuclear cells by cytokine production under the influence of titanium dioxide nanoparticles with different sulfur content *in vitro*

O. P. Yavorovsky, A. I. Kurchenko, V. M. Riabovol, V. S. Savchenko, O. O. Yavorovska

Aim. To investigate the effect of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles (anatase form) with varying sulfur content on the functional activity of peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) from healthy donors *in vitro*, based on the production of cytokines IL-1β, IL-4, IL-6, and TNF-α.

Materials and methods. The objects of the study were titanium dioxide (TiO₂) nanopowders of the anatase crystalline form, with a particle size of 21-28 nm and varying sulfur content (0.04 %, 0.16 % and 0.83 %), developed at the I. M. Frantsevich Institute for Problems of Materials Science. Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) from healthy volunteer donors (n = 30) were incubated *in vitro* either without a stimulating agent, with the mitogen phytohemagglutinin (PHA), or in the presence of TiO₂ nanoparticle suspensions (10 μL) at concentrations of 0.3 mg/mL, 3 mg/mL, and 30 mg/mL. Cytokine concentrations (IL-1β, IL-6, IL-4, and TNF-α) in the PBMC supernatants were measured using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The tests were performed using a Stat Fax-303 Plus ELISA reader.

Results. *In vitro* studies demonstrated that the nanomaterial at concentrations starting from 0.3 μg/mL, specifically TiO₂ nanoparticles with 0.16 % and 0.83 % sulfur content, suppressed the functional activity of peripheral blood mononuclear cells, as

Keywords:

anatase, titanium dioxide nanoparticles, sulfur modification, nanomaterials, peripheral blood mononuclear cells, cytokine production, immunotoxicity, *in vitro* study, *in vitro*, ELISA, immune response.

Pathologia.
2025;22(3):213-219

evidenced by a statistically significant decrease in the production of cytokines IL-1 β , IL-6, TNF- α , and IL-4 in donor samples ($p < 0.05$). This suggests a potential disruption of immune system function. In contrast, exposure to TiO₂ nanoparticles containing 0.04 % sulfur at a concentration of 30 $\mu\text{g/mL}$ resulted in a statistically significant reduction only in TNF- α production ($p < 0.05$), while IL-6, IL-1 β , and IL-4 levels did not significantly differ from spontaneous cytokine production. Moreover, the data indicate that the immunomodulatory effect of TiO₂ nanoparticles is closely related to their sulfur content: the higher the sulfur concentration, the more pronounced the suppression of key cytokine production (IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-4). Overall, these results highlight the ability of sulfur-modified nanoparticles to exert differential effects on the immune response, ranging from neutral to potentially immunotoxic outcomes.

Conclusions. The functional activity of peripheral blood mononuclear cells, in terms of cytokine production (IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-4), is suppressed by the tested TiO₂ nanoparticles at specific concentrations, following the order: nano-TiO₂ (0.04 % S) < nano-TiO₂ (0.83 % S) < nano-TiO₂ (0.16 % S). A sulfur content of 0.16 % or higher in TiO₂ nanoparticles is associated with increased immunotoxicity. These findings suggest that the effect of TiO₂ nanoparticles on cytokine production by peripheral blood mononuclear cells varies depending on the sulfur content, indicating a direct relationship between the chemical composition of the nanomaterial and its potential immunotoxicity.

Наночастинки металів, їх оксидів та інших сполук мають унікальні властивості, які роблять їх корисними в різних сферах застосування, включаючи біологію і медицину. Асортимент і обсяги їх використання зростають з кожним роком. Збільшення використання наноматеріалів викликає стурбованість через можливий негативний вплив на працівників у сфері їх виробництва та застосування. Натурні гігієнічні та експериментальні дослідження *in vivo* та *in vitro* свідчать, що наноматеріали можуть спричинити виникнення виробничо обумовлених і професійних захворювань [1,2].

Металовмісні наночастинки можуть впливати на імунну систему через запалення, окислювальний стрес і модуляцію рівня цитокінів. Ці ефекти можуть призвести до імуносупресії, знижуючи здатність імунної системи реагувати на патогени або імуностимуляції, що потенційно може призвести до реакцій гіперчутливості [3,4,5]. Металовмісні наночастинки можуть взаємодіяти з білками плазми крові та іншими біомолекулами, змінюючи їхню біоактивність, що, у свою чергу, викликати певні зміни організму [5,6].

Застосування наночастинок *in vivo* для медичних цілей часто обмежується декількома труднощами, включаючи запальні реакції та клітинну токсичність, неочікуваний розподіл і виведення з організму, а також недостатню доставку до конкретної мішені. Ці несприятливі явища можуть бути значною мірою пов'язані з взаємодією системи білок-наночастинка *in vivo* з утворенням білкової корони. Шар адсорбованих білків на поверхні наночастинок впливає на біологічну поведінку наночастинок і змінює їхню функціональність, час від часу призводячи до втрати або посилення функції [7,8].

У дослідженні [3] оцінено вплив суміші наночастинок металів (Ag, Cu, Fe та MnO₂) в дозі 4,0 мг/кг при пероральному введенні щурам протягом 90 діб. Авторами встановлено, зокрема, що наночастинки металів можуть призвести до імуносупресії, окислювального стресу, цитоплітичного пошкодження мембран гепатоцитів і підвищення рівня активності ферментів.

Наночастинки, отримані під час 3D-друку з порошку з нержавіючої сталі, демонстрували значні імуносупресивні ефекти, що проявлялися пригніченням проліферативної функції Т-лімфоцитів і Т-залежних В-клітин, з помірною стимуляцією фагоцитарної активності моноцитів на моделі крові людини, а продукція цитокінів характеризувалась збільшенням рівня TNF- α

і пригніченням рівня IL-8 та частково рівня IL-6 [9].

Механізми імуноотоксичної дії наночастинок металів і їх сполук до кінця не розкриті [8]. Зокрема, не вивченим залишається вплив наноматеріалів на основі діоксиду титану з різним вмістом сірки на імунну систему при тому, що вони набувають все ширшого використання в біології та медицині.

Мета роботи

Вивчення впливу наночастинок TiO₂ (анатазу) з різним вмістом сірки на функціональну активність мононуклеарних клітин периферичної крові здорових донорів в умовах *in vitro* за продукцією цитокінів IL-1 β , IL-4, IL-6, TNF- α .

Матеріали і методи дослідження

Об'єктами дослідження слугували три нанопорошки діоксиду титану, кристалічної форми – анатаз, розміром 21-28 нм з різним вмістом сірки (0,04 %, 0,16 %, 0,83 %) розроблені Інститутом проблем матеріалознавства імені І. М. Францевича НАН України.

У дослідженні взяли участь 30 здорових донорів-добровольців, у яких після інформованої згоди була взята периферична кров для дослідження *in vitro*. Дослідження проведені з дотриманням принципів біоетики, викладеними у Гельсінській декларації Всесвітньої медичної асоціації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людини у якості об'єкта дослідження», протокол засідання Комісії з питань біоетичної експертизи та етики наукових досліджень Національного медичного університету імені О. О. Богомольця (протокол від 23.06.2025 року № 196).

Мононуклеарні клітини периферичної крові (Т-лімфоцити, В-лімфоцити, NK-клітини, моноцити і дендритні клітини) виділяли із застосуванням градієнта щільності фіколла-верографіну (1,076-1,078) і поміщали в культуральне середовище RPMI-1640, що містить, 10 % ембріональної телячої сироватки, 40 мг/мл гентаміцину, 5x10M 2-меркаптоетанол і 3 % L-глутаміну. Клітинну суспензію в концентрації 1,5 x 10⁶ кл/мл інкубували 24 годин в CO₂-інкубаторі при 37°C без стимулюючого агента, при стимуляції мітогеном ФГА, в концентрації 30 мг/мл, а також при стимуляції нано-TiO₂ по 10 мкл суспензій наночастинок в концентраціях 0,3 мг/мл, 3 мг/мл і 30 мг/мл.

1

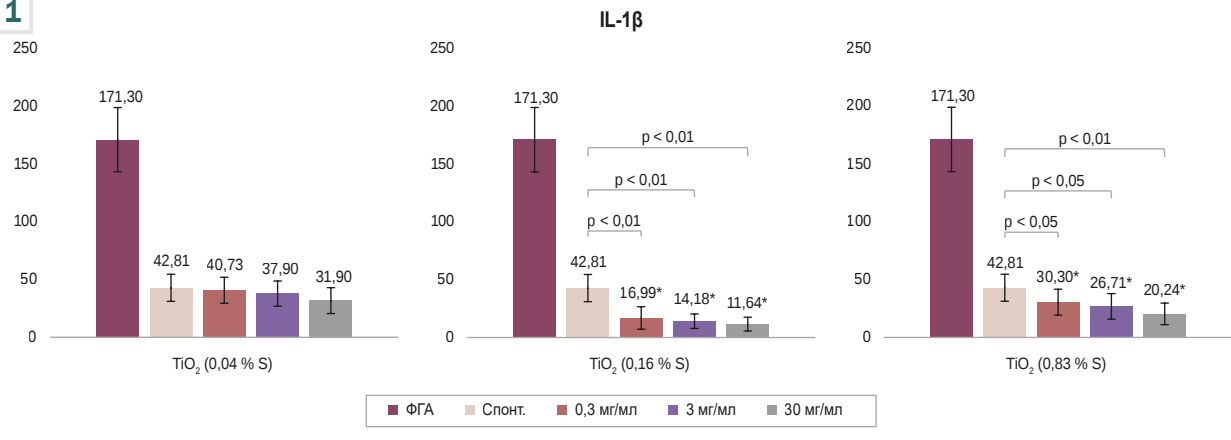


Рис. 1. Порівняльна продукція IL-1 β мононуклеарними клітинами периферичної крові *in vitro* у донорів під впливом наночастинок анатазу з різним вмістом сірки, пг/мл.

2

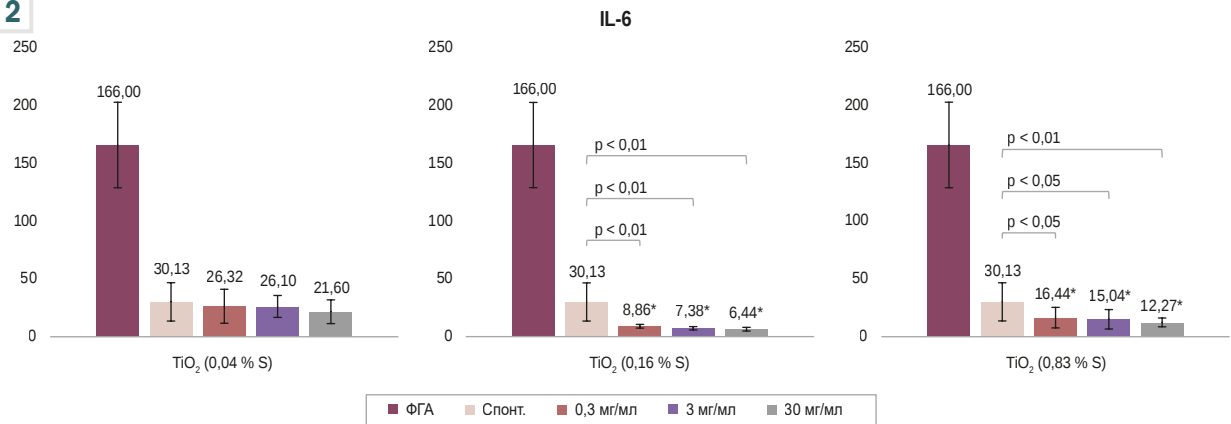


Рис. 2. Порівняльна продукція IL-6 мононуклеарними клітинами периферичної крові *in vitro* у донорів під впливом наночастинок анатазу з різним вмістом сірки, пг/мл.

Імуноферментним методом (ELISA) в супернатантах мононуклеарних клітин визначали концентрацію цитокінів (IL-1 β , IL-6, IL-4, TNF- α), тестування проводилося за допомогою імуноферментного аналізатора «Stat Fax-303 Plus».

Статистична обробка інформації проведена за допомогою пакету програм «MedStat V.5.2.». Математична обробка отриманих результатів здійснювалась з урахуванням перевірки показників на нормальний розподіл за критерієм-W Шапіро-Уїлка. Для статистичної обробки використовувалися параметричні критерії статистики: критерій Стюдента, дисперсійний аналіз, метод множинних порівнянь Шеффе; непараметричні: W-критерій Вілкоксона, ранговий однофакторний аналіз Крускала-Уолліса, множинні порівняння за критерієм Данна. Відмінність вважали статистично значимою при $p < 0,05$. Результати описували як середнє (M) $\pm$ середнє квадратичне відхилення (SD).

Результати

Оцінка функціональної активності мононуклеарних клітин периферичної крові за продукцією IL-1 β під

впливом наноматеріалів у донорів в умовах *in vitro*.

IL-1 β є прозапальним цитокіном, який відіграє вирішальну роль у різних фізіологічних і патологічних процесах, включаючи імунну відповідь, запалення та прогресування захворювання. Він бере участь у багатьох захворюваннях, від раку до діабету та серцево-судинних захворювань. Регулювання активності IL-1 β є складним і включає такі механізми, як убіквітіляція, яка обмежує його розщеплення каспазою-1 і націлює його на деградацію. Це тонке налаштування має вирішальне значення для збалансування антимікробних реакцій і запобігання надмірному запаленню [10].

Кількість цитокіну IL-1 β , що виділяється мононуклеарними клітинами периферичної крові *in vitro* при додаванні мітогена фітогемогліутиніна (ФГА), при спонтанній продукції (Спонт.) та при впливі наночастинок анатазу з різним вмістом сірки представлені на *рисунку 1*.

Як видно з *рисунку 1*, при стимуляції мононуклеарних клітин периферичної крові (МКПК) суспензіями наночастинок TiO₂ (0,04 % S) в концентраціях 0,3 мг/мл, 3 мг/мл і 30 мг/мл не викликало достовірних змін проти спонтанної продукції IL-1 β . При впливі суспензії НЧ TiO₂ (0,16 % S) в концентраціях 0,3 мг/мл, 3 мг/мл і 30

3

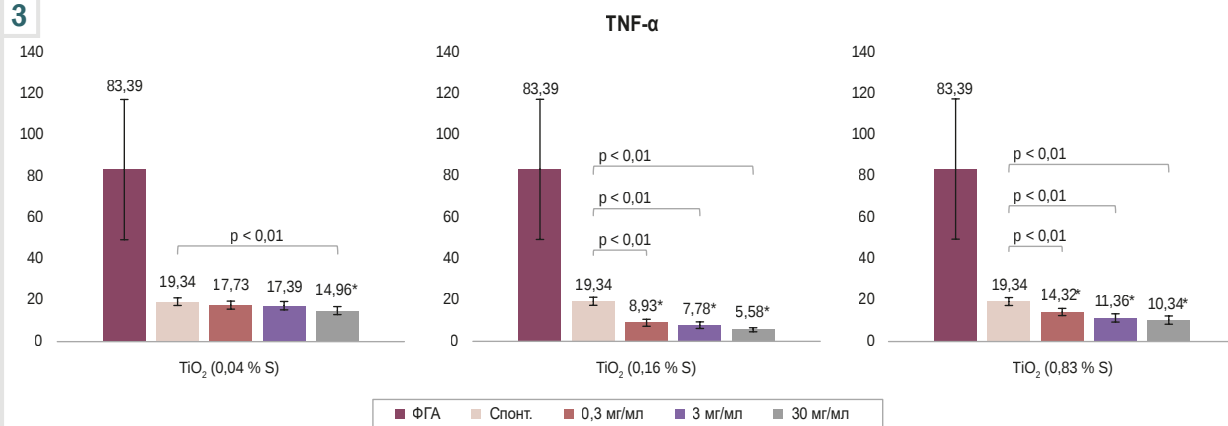


Рис. 3. Порівняльна продукція TNF-α мононуклеарними клітинами периферичної крові *in vitro* у донорів під впливом наночастинок анатазу з різним вмістом сірки, пкг/мл.

4

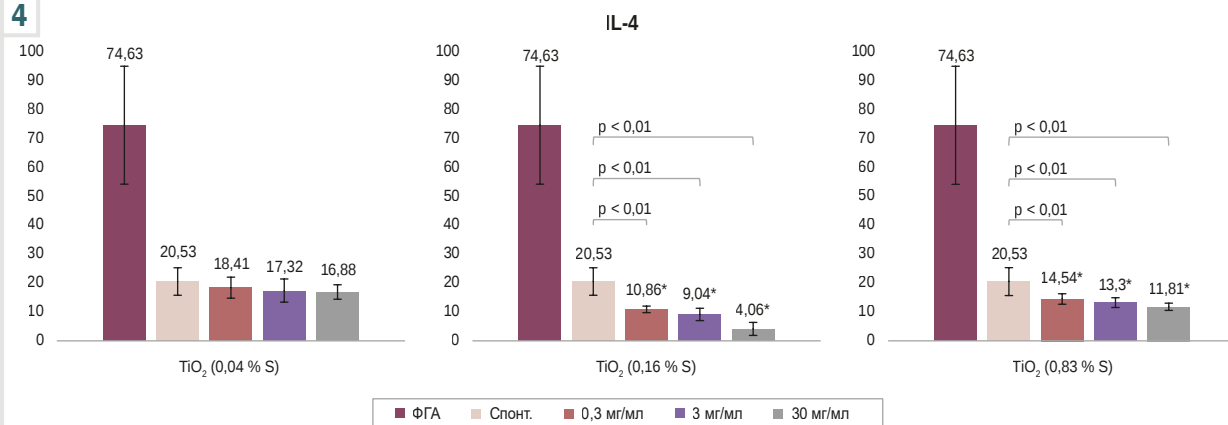


Рис. 4. Порівняльна продукція IL-4 мононуклеарними клітинами периферичної крові *in vitro* у донорів під впливом наночастинок анатазу з різним вмістом сірки, пкг/мл.

мг/мл спостерігалось достовірне зменшення продукції IL-1β у 2,52 рази, 3,02 рази і 3,68 рази відповідно. При впливі суспензії НЧ TiO₂ (0,83 % S) в концентраціях 0,3 мг/мл, 3 мг/мл і 30 мг/мл спостерігалось достовірне зменшення продукції IL-1β у 1,41 рази, 1,6 рази і 2,12 рази відповідно.

Оцінка функціональної активності мононуклеарних клітин периферичної крові за продукцією IL-6 під впливом нанокompatивних матеріалів у донорів в умовах *in vitro*. IL-6, який спочатку був визначений як фактор диференціації В-клітин, є багатфункціональним цитокіном, який регулює імунну відповідь, гемопоєз, відповідь гострої фази та запалення. IL-6 має вирішальне значення для імунного гомеостазу, впливаючи як на вроджений, так і на адаптивний імунітет. Він підтримує імунокомпетентність, тобто здатність господаря реагувати на інфекції, і бере участь у відповіді в гострій фазі та механізмах імунного захисту [11].

Рівень секреції цитокіну IL-6 мононуклеарними клітинами периферичної крові *in vitro* за умов стимуляції мітогеном фітогемаглютиніном (ФГА), при спонтанній продукції (Спонт.) та під впливом наночастинок анатазу з різним вмістом сірки подано на *рисунку 2*.

Як показано на *рисунку 2*, при стимуляції мононуклеарних клітин периферичної крові суспензіями наночастинок TiO₂ (0,04 % S) не викликало достовірних змін проти спонтанної продукції IL-6. При впливі суспензії НЧ TiO₂ (0,16 % S) в концентраціях 0,3 мг/мл, 3 мг/мл і 30 мг/мл спостерігалось достовірне зменшення продукції IL-6 у 3,4 рази, 4,08 рази і 4,68 рази відповідно. При впливі суспензії НЧ TiO₂ (0,83 % S) в концентраціях 0,3 мг/мл, 3 мг/мл і 30 мг/мл спостерігалось достовірне зменшення продукції IL-6 у 1,83 рази, 2,0 рази і 2,46 рази відповідно.

Оцінка функціональної активності мононуклеарних клітин периферичної крові за продукцією TNF-α під впливом наноматеріалів у донорів в умовах *in vitro*. TNF-α є трансмембранним білком типу II, який має мембранозв'язану або розчинну форму і є прототипом представника надродини TNF. TNF-α є плейотропним цитокіном, пов'язаним із регуляцією системного запалення та захистом організму [12].

Продукцію цитокіну TNF-α мононуклеарними клітинами периферичної крові *in vitro* за умов стимуляції фітогемаглютиніном (ФГА), при спонтанній секреції (Спонт.) та під впливом наночастинок анатазу з різним вмістом сірки подано на *рисунку 3*.

Як видно з *рисунку 3*, при стимуляції мононуклеарних клітин периферичної крові суспензіями наночастинок TiO_2 (0,04 % S) в концентраціях 0,3 мг/мл і 3,0 мг/мл не викликало достовірних змін проти спонтанної продукції TNF- α , а в концентрації 30 мг/мл спостерігалось достовірне зменшення продукції TNF- α у 1,29 рази. При впливі суспензії НЧ TiO_2 (0,16 % S) в концентраціях 0,3 мг/мл, 3 мг/мл і 30 мг/мл спостерігалось достовірне зменшення продукції TNF- α у 2,17 рази, 2,49 рази і 3,47 рази відповідно. При впливі суспензії НЧ TiO_2 (0,83 % S) в концентраціях 0,3 мг/мл, 3 мг/мл і 30 мг/мл спостерігалось достовірне зменшення продукції TNF- α у 1,35 рази, 1,7 рази і 1,87 рази відповідно.

Визначення функціональної активності мононуклеарних клітин периферичної крові за продукцією IL-4 під впливом наноматеріалів у донорів *in vitro*. IL-4 має вирішальне значення для диференціації наївних Т-клітин CD4 у клітини Th2, які характеризуються секрецією IL-4 та IL-5. Ця диференціація є важливою для розвитку Th2-подібних допоміжних ефекторів, які важливі для імунної відповіді на певні патогени та при алергічних реакціях. У В-клітинах IL-4 керує перемиканням класу імуноглобулінів (Ig) на IgG1 та IgE. Крім того, IL-4 необхідний для генерації та підтримки відповідей IgE, які є критичними при реакціях гіперчутливості негайного типу. Алергічні захворювання можуть виникати через порушення регуляції імунної системи, що спричинене активацією CD4+ Т-хелперів другого типу та підвищеною секрецією цитокінів, зокрема IL-4. Цей цитокін стимулює синтез IgE, активацію тучних клітин і еозинофілів, що зрештою призводить до розвитку алергічного запалення та формування таких алергічних хвороб, як бронхіальна астма, алергічний риніт і дерматит [13].

Отримані нами результати визначення функціональної активності мононуклеарів периферичної крові по продукції IL-4 при стимуляції фітогемаглютиніном (ФГА), при спонтанній продукції (Спонт.) та під впливом наночастинок анатазу з різним вмістом сірки наведено на *рисунку 4*.

Як показано на *рисунку 4*, при стимуляції мононуклеарних клітин периферичної крові суспензіями наночастинок TiO_2 (0,04 % S) не викликало достовірних змін проти спонтанної продукції IL-4. При впливі суспензії НЧ TiO_2 (0,16 % S) в концентраціях 0,3 мг/мл, 3 мг/мл і 30 мг/мл спостерігалось достовірне зменшення продукції IL-4 у 1,89 рази, 2,27 рази і 5,06 рази відповідно. При впливі суспензії НЧ TiO_2 (0,83 % S) в концентраціях 0,3 мг/мл, 3 мг/мл і 30 мг/мл спостерігалось достовірне зменшення продукції IL-4 у 1,42 рази, 1,54 рази і 1,74 рази відповідно проти спонтанної продукції IL-4.

Обговорення

Отримані результати нашого дослідження свідчать про виражений імуносупресивний ефект наночастинок TiO_2 (анатаз), модифікованих різним вмістом сірки, щодо мононуклеарних клітин периферичної крові здорових донорів. При впливі наночастинок з підвищеною концентрацією сірки спостерігалось достовірне пригнічення продукції ключових цитокінів

— IL-1 β , IL-6, TNF- α та IL-4. Оскільки саме ці цитокіни є провідними медіаторами міжклітинної взаємодії імунокомпетентних клітин, зниження їхньої секреції може свідчити про потенційне формування імунодефіцитних станів у разі тривалого контакту організму з подібними наноматеріалами. Відомо, що IL-1 β та TNF- α відіграють провідну роль у запуску запальної відповіді, тоді як IL-6 забезпечує як системні ефекти гострої фази, так і активацію адаптивного імунітету, а IL-4 визначає диференціацію Т-хелперів другого типу та синтез IgE [10,11,12,13]. Таким чином, комплексне пригнічення секреції цих цитокінів можна розглядати як ознаку системної імуносупресії.

Подібні результати отримані і в інших експериментальних роботах. Так, у дослідженнях субгострого інгаляційного впливу наночастинок TiO_2 у мишей було показано значне зниження рівнів IL-4, IL-18 та помірне пригнічення продукції IL-2, IL-10, IL-17A, IFN- γ , IL-6 і TNF- α [14]. Це демонструє, що імуносупресивна дія TiO_2 є відтворюваним явищем і поширюється на різні моделі. Разом із тим, результати нашого дослідження не повністю збігаються з даними, отриманими Luca Di Giampaolo та співавт. [15], які показали, що вплив наночастинок TiO_2 на мононуклеарні клітини людини супроводжувався підвищенням рівня TNF- α , IL-10 та IL-4 при відсутності значущих змін IL-6 та IL-1 β . Ці відмінності, на нашу думку, зумовлені не лише різними методами синтезу наночастинок, а й відмінностями у кристалічній формі (анатаз, рутит чи брукіт), домішковому складі та поверхневих властивостях, які визначають здатність до утворення білкової корони. Відомо, що саме білкова корона, формуючись на поверхні наночастинок у біологічних середовищах, визначає їхню біологічну ідентичність і може суттєво змінювати імунологічні властивості наноматеріалів [16,17].

Наші дані також демонструють чітку залежність між вмістом сірки в складі наночастинок діоксиду титану та ступенем пригнічення цитокінової продукції. Найбільш виражений імуносупресивний ефект спостерігався при використанні зразків із середнім вмістом сірки (0,16 %), тоді як мінімальна концентрація (0,04 %) не призводила до достовірних змін. Це може пояснюватись особливостями поверхневої хімії наночастинок та їхньою взаємодією з білками плазми й клітинними рецепторами. Сірковмісні модифікації TiO_2 здатні змінювати електростатичні характеристики поверхні та формування білкової корони, що прямо впливає на біоактивність наночастинок. У цьому контексті результати нашої роботи узгоджуються з сучасними уявленнями про «protein corona-driven bioactivity» наноматеріалів, згідно з якими саме поверхневі властивості, а не лише хімічний склад чи розмір частинок, визначають спектр їхньої біологічної дії [16].

З практичної точки зору виявлені ефекти можна інтерпретувати двояко. З одного боку, здатність наночастинок TiO_2 із сірковмісними домішками пригнічувати секрецію прозапальних цитокінів може бути використана як потенційний протизапальний або імуносупресивний інструмент у біомедичних технологіях, наприклад при лікуванні аутоімунних та алергічних захворювань. З іншого боку, системне пригнічення IL-1 β , IL-6 і TNF- α може становити серйозну небезпеку для організму,

знижуючи його здатність до протимікробного та протипухлинного захисту. Це створює ризики виникнення інфекційних ускладнень або хронізації запального процесу при тривалому професійному контакті з наноматеріалами [1,2].

Необхідно також зазначити, що наше дослідження має певні обмеження. По-перше, воно проведене в умовах *in vitro*, що не відображає всієї складності імунних реакцій в організмі. По-друге, ми аналізували обмежену кількість цитокінів, тоді як для комплексної оцінки імунотоксичності доцільним було б дослідження ширшого спектру медіаторів, включно з IL-10, IFN- γ , IL-17 та IL-23. По-третє, вивчалася лише короткочасна експозиція наночастинок, тоді як у реальних умовах людина може піддаватися тривалому впливу низьких концентрацій наноматеріалів. У майбутніх дослідженнях доцільно оцінити як довготривалу дію, так і вплив наночастинок на інші клітинні популяції — NK-клітини, дендритні клітини, макрофаги — а також проаналізувати молекулярні механізми, включно з епігенетичними змінами.

Таким чином, наше дослідження підтверджує, що модифіковані сіркою наночастинок TiO_2 чинять виражений імуносупресивний вплив на продукцію цитокінів мононуклеарними клітинами периферичної крові. Виявлений ефект залежить від вмісту сірки, що свідчить про можливість цілеспрямованої модифікації наночастинок для регуляції їхньої біоактивності. Водночас, отримані результати підкреслюють необхідність ретельного токсикологічного контролю та оцінки безпеки при зростаючому застосуванні наноматеріалів у біології та медицині. Із зазначеного випливає, що вивчення *in vitro* впливу наноматеріалів на імунокомпетентні клітини є одним з ключових параметрів при визначенні їх імуноспецифічної активності і може слугувати основою для оптимізації подальших профілактичних заходів.

Висновки

1. Дослідження *in vitro* показали, що наноматеріали у концентраціях від 0,3 мкг/мл для нано- TiO_2 з 0,16 % і 0,83 % вмістом сірки здатні пригнічувати функціональну активність мононуклеарних клітин периферичної крові з достовірним зменшенням продукції цитокінів IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-4 у донорів ($p < 0,05$), що може порушувати функціональний стан імунної системи.

2. Під впливом нано- TiO_2 з 0,04 % вмістом сірки у концентрації 30 мкг/мл на мононуклеарні клітини периферичної крові спостерігалось статистично значиме зменшення продукції TNF- α ($p < 0,05$), а продукція IL-6, IL-1 β , IL-4 достовірно не змінювалась у порівнянні зі спонтанною продукцією.

3. Функціональна активність мононуклеарних клітин периферичної крові пригнічується за продукцією цитокінів (IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-4) під впливом досліджуваних наночастинок TiO_2 у відповідних концентраціях у ряді нано- TiO_2 (0,04 % S), нано- TiO_2 (0,83 % S), нано- TiO_2 (0,16 % S). Наявність сірки більше 0,16 % в наночастинках TiO_2 вказує на їхню більшу імунотоксичність.

4. Встановлено, що дія наночастинок TiO_2 на продукцію цитокінів мононуклеарними клітинами периферичної крові варіює залежно від вмісту сірки, що вказує на прямий зв'язок між хімічним складом наноматеріалу та його потенційною імунотоксичністю.

5. Для розробки державних медико-санітарних нормативів вмісту в різних об'єктах довкілля металовмісних наночастинок, крім загальнотоксичного ефекту, потрібно враховувати імунотоксичний вплив, який може виходити лімітуючим показником у встановленні гранично допустимих концентрацій.

Фінансування

Дослідження є фрагментом ініціативно-пошукової науково-дослідної роботи Національного медичного університету імені О. О. Богомольця «Порівняльна токсиколого-гігієнічна оцінка модифікованих наночастинок діоксиду церію, діоксиду титану та сульфіді кадмію», державний реєстраційний № 0125U003847 (2025-2027 рр).

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 02.06.2025

Після доопрацювання / Revised: 19.08.2025

Схвалено до друку / Accepted: 24.09.2025

Відомості про авторів:

Яворовський О. П., д-р мед. наук, професор, зав. каф. гігієни, безпеки праці та професійного здоров'я, Навчально-науковий інститут громадського здоров'я та профілактичної медицини, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ; академік НАМН України.

ORCID ID: 0000-0002-4573-8039

Курченко А. І., д-р мед. наук, професор, зав. каф. клінічної та лабораторної імунології, алергології та медичної генетики, Навчально-науковий інститут громадського здоров'я та профілактичної медицини, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна.

ORCID ID: 0000-0001-6858-2025

Рябовол В. М., PhD, асистент каф. гігієни, безпеки праці та професійного здоров'я, Навчально-науковий інститут громадського здоров'я та профілактичної медицини, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-1582-7188

Савченко В. С., канд. біол. наук, старший науковий співробітник, лабораторія імунології, ДУ «Інститут урології імені академіка О. Ф. Возіанова НАМН України», м. Київ.

ORCID ID: 0009-0009-2863-5853

Яворовська О. О., канд. мед. наук, асистент каф. дерматовенерології, алергології, клінічної та лабораторної імунології, Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика, м. Київ.

ORCID ID: 0009-0000-4155-9810

Information about the authors:

Yavorovsky O. P., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Hygiene, Occupational Safety and Health, Educational and Research Institute of Public Health and Preventive Medicine, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine; Academician of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine

Kurchenko A. I., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Clinical and Laboratory Immunology, Allergology and Medical Genetics, Educational and Research Institute of Public Health and Preventive Medicine, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine.

Riabovol V. M., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Hygiene, Occupational Safety and Health, Educational and Research Institute of Public Health and Preventive Medicine, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine.

Savchenko V. S., PhD, Senior Researcher, Laboratory of Immunology, SI "Academician O. F. Vozianov Institute of Urology of NAMS of Ukraine", Kyiv.
Yavorovska O. O., PhD, Associate Professor of the Department Dermatovenereology, Allergology, Clinical and Laboratory Immunology, Shupyk National University of Health of Ukraine, Kyiv.



Василь Рябовол (Vasyl Riabovol)
riabovol1@ukr.net

References

1. Forest V, Pourchez J, Pélissier C, Audignon Durand S, Vergnon JM, Fontana L. Relationship between occupational exposure to airborne nanoparticles, nanoparticle lung burden and lung diseases. *Toxics*. 2021;9(9):204. doi: [10.3390/toxics9090204](https://doi.org/10.3390/toxics9090204)
2. Simova Z, Sima M, Pelclova D, Klusackova P, Zdimal V, Schwarz J, et al. Transcriptomics insight into occupational exposure to engineered nanoparticles. *Nanomedicine (Lond)*. 2025;20(14):1713-27. doi: [10.1080/17435889.2025.2527020](https://doi.org/10.1080/17435889.2025.2527020)
3. Romanko M, Orobchenko O, Palliy A, Ushkalov V, Paliy A, Chechui H. Evaluation of biochemical markers in the blood plasma of rats exposed to chronic administration of a mixture of metal nanoparticles. *Veterinarska Stanica*. 2023;54(1):69-85. doi: [10.46419/vs.54.1.10](https://doi.org/10.46419/vs.54.1.10)
4. Barik P, Mondal S. Immunomodulatory effects of metal nanoparticles: current trends and future prospects. *Nanoscale*. 2025;17(17):10433-61. doi: [10.1039/d5nr01030f](https://doi.org/10.1039/d5nr01030f)
5. Aljabali AA, Obeid MA, Bashatwah RM, Serrano-Aroca Á, Mishra V, Mishra Y, et al. Nanomaterials and their impact on the immune system. *Int J Mol Sci*. 2023;24(3):2008. doi: [10.3390/ijms24032008](https://doi.org/10.3390/ijms24032008)
6. Barbir R, Capjak I, Crnković T, Debeljak Ž, Domazet Jurašin D, Čurlin M, et al. Interaction of silver nanoparticles with plasma transport proteins: A systematic study on impacts of particle size, shape and surface functionalization. *Chem Biol Interact*. 2021;335:109364. doi: [10.1016/j.cbi.2020.109364](https://doi.org/10.1016/j.cbi.2020.109364)
7. Park SJ. Protein-nanoparticle interaction: corona formation and conformational changes in proteins on nanoparticles. *Int J Nanomedicine*. 2020;15:5783-802. doi: [10.2147/IJN.S254808](https://doi.org/10.2147/IJN.S254808)
8. Ray P, Haideri N, Haque I, Mohammed O, Chakraborty S, Banerjee S, et al. The impact of nanoparticles on the immune system: a gray zone of nanomedicine. *Int J Nanomedicine*. 2021;5(1):19-33. doi: [10.29245/2578-3009/2021/1.1206](https://doi.org/10.29245/2578-3009/2021/1.1206)
9. Olšovská E, Mikušová M, Tulinská J, Rollerová E, Vilamová Z, Liskova A, et al. Immunotoxicity of stainless-steel nanoparticles obtained after 3D printing. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2024;272:116088. doi: [10.1016/j.ecoenv.2024.116088](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2024.116088)
10. Vijayaraj S, Feltham R, Rashidi M, Frank D, Liu Z, Simpson D, et al. The ubiquitylation of IL-1 β limits its cleavage by caspase-1 and targets it for proteasomal degradation. *Nat Commun*. 2021;12:22979. doi: [10.1038/s41467-021-22979-3](https://doi.org/10.1038/s41467-021-22979-3)
11. Said EA, Al-Reesi I, Al-Shizawi N, Jaju S, Al-Balushi MS, Koh CY, et al. Defining IL-6 levels in healthy individuals: A meta-analysis. *J Med Virol*. 2021;93(6):3915-24. doi: [10.1002/jmv.26654](https://doi.org/10.1002/jmv.26654)
12. Lu M, Lee Y, Lillehoj H. Unveiling the immunological attributes of chicken tumor necrosis factor- α (TNF- α) using new sets of monoclonal antibodies specific for poultry TNF- α . *J Immunol*. 2021. doi: [10.4049/jimmunol.206.supp.19.16](https://doi.org/10.4049/jimmunol.206.supp.19.16)
13. Alathary RA, Abass RA, Al-Muhtaser ST, Al-Fahham AA. Biochemistry, pathophysiology and clinical importance of IL-4: a review article. *Int J Health Med Res*. 2025;4(1):44-7. doi: [10.58806/ijhmr.2025.v4i1n09](https://doi.org/10.58806/ijhmr.2025.v4i1n09)
14. Lehotska Mikusova M, Busova M, Tulinska J, Masanova V, Liskova A, Uhnakova I, et al. Titanium Dioxide Nanoparticles Modulate Systemic Immune Response and Increase Levels of Reduced Glutathione in Mice after Seven-Week Inhalation. *Nanomaterials (Basel)*. 2023;13(4):767. doi: [10.3390/nano13040767](https://doi.org/10.3390/nano13040767)
15. Di Giampaolo L, Zaccariello G, Benedetti A, Vecchiotti G, Caposano F, Sabbioni E, et al. Genotoxicity and Immunotoxicity of Titanium Dioxide-Embedded Mesoporous Silica Nanoparticles (TiO₂@MSN) in Primary Peripheral Human Blood Mononuclear Cells (PBMC). *Nanomaterials (Basel)*. 2021;11(2):270. doi: [10.3390/nano11020270](https://doi.org/10.3390/nano11020270)
16. Monopoli MP, Aberg C, Salvati A, Dawson KA. Biomolecular coronas provide the biological identity of nanosized materials. *Nat Nanotechnol*. 2020;15(7):618-29. doi: [10.1021/9780429399039](https://doi.org/10.1021/9780429399039)
17. Fadeel B, Farcal L, Hardy B, Vázquez-Campos S, Hristozov D, Marcomini A, et al. Advanced tools for the safety assessment of nanomaterials. *Nat Nanotechnol*. 2022;17(6):611-22. doi: [10.1038/s41565-018-0185-0](https://doi.org/10.1038/s41565-018-0185-0)