

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-300>

© ЧЕРНОРЫЖ Я.Ю., ЮРЛОВ К.И., ГРЕБЕННИКОВА Т.В., АНДРЕЕВ С.М., ШЕРШАКОВА Н.Н., ЛЕСНОВА Е.И., СИМОНОВ Р.А., ФЕДОРОВА Н.Е., КУЩ А.А., 2025



Устойчивость и восстановление чувствительности опухолевых клеток, инфицированных цитомегаловирусом человека, к доксорубину при сочетанном применении с дисперсным фуллереном dC₆₀

Чернорыж Я.Ю.^{1✉}, Юрлов К.И.¹, Гребенникова Т.В.¹, Андреев С.М.², Шершакова Н.Н.², Леснова Е.И.¹, Симонов Р.А.¹, Федорова Н.Е.¹, Куш А.А.¹

¹ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва, Россия;

²ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, 115522, г. Москва, Россия

Резюме

Введение. Цитомегаловирусная инфекция способна индуцировать развитие резистентности опухолевых клеток к химиотерапевтическим препаратам посредством модуляции апоптотических путей. В поиске альтернативных препаратов, направленных на преодоление вирус-ассоциированной резистентности, перспективным направлением является применение наноматериалов (дисперсной формы фуллерена dC₆₀). Возможность преодоления вирус-ассоциированной лекарственной устойчивости открывает новые возможности для разработки комбинированных терапевтических стратегий в лечении опухолей.

Цель – оценить влияние цитомегаловирусной инфекции на резистентность клеток гепатокарциномы и промиелоцитарного лейкоза к доксорубину, а также потенциал дисперсного фуллерена dC₆₀ в восстановлении чувствительности к химиотерапии доксорубином клеток моноцитарной лейкемии.

Материалы и методы. Исследовали клетки: гепатокарциномы (Huh 7.5), промиелоцитарного лейкоза (HL-60), моноцитарной лейкемии (THP-1); цитомегаловирус (штамм AD169). Экспериментальная часть включала общепринятые культуральные и вирусологические методы, иммуноцитохимию, иммуноблоттинг, полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени, полимеразную цепную реакцию с обратной транскрипцией, МТТ-тест.

Результаты. Цитомегаловирусная инфекция в клетках гепатокарциномы и промиелоцитарного лейкоза снижала цитотоксическое действие доксорубина на 30%. В клетках моноцитарной лейкемии сочетанное применение доксорубина с дисперсным фуллереном dC₆₀ приводило к восстановлению чувствительности инфицированных клеток к химиотерапии. При этом 93% гибель опухолевых клеток достигалась с применением доксорубина в 2 раза меньшей концентрации.

Заключение. Цитомегаловирусная инфекция формирует резистентность к доксорубину на гемопоэтических (клетки промиелоцитарного лейкоза и моноцитарной лейкемии) и солидных (клетки гепатокарциномы) опухолевых моделях. Примечательно, что сочетанное действие доксорубина с дисперсным фуллереном dC₆₀ не только позволяет преодолевать вирус-опосредованную лекарственную устойчивость в клетках моноцитарной лейкемии, но и позволяет достичь выраженного цитотоксического эффекта при сниженных концентрациях доксорубина, что открывает перспективы для разработки комбинированных терапевтических схем со сниженной токсичностью.

Ключевые слова: цитомегаловирус человека; дисперсный фуллерен dC₆₀; Huh 7.5; THP-1; HL-60; гепатокарцинома; лейкоз; лейкемия

Для цитирования: Чернорыж Я.Ю., Юрлов К.И., Гребенникова Т.В., Андреев С.М., Шершакова Н.Н., Леснова Е.И., Симонов Р.А., Федорова Н.Е., Куш А.А. Устойчивость и восстановление чувствительности опухолевых клеток, инфицированных цитомегаловирусом человека, к доксорубину при сочетанном применении с дисперсным фуллереном dC₆₀. *Вопросы вирусологии*. 2025; ONLINE FIRST. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-300> EDN: <https://elibrary.ru/cdagan>

Финансирование. Работа финансировалась за счет средств бюджета ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-300>

Resistance and chemosensitivity restoration in human cytomegalovirus-infected tumor cells to doxorubicin through combined treatment with aqueous fullerene dC₆₀

Yana Yu. Chernoryzh^{1✉}, Kirill I. Yurlov¹, Tatyana V. Grebennikova¹, Sergey M. Andreev², Nadezda N. Shershakova², Ekaterina I. Lesnova¹, Ruslan A. Simonov¹, Natalia E. Fedorova¹, Alla A. Kushch¹

¹National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, 123098, Moscow, Russia;

²National Research Center – Institute of Immunology Federal Medical-Biological Agency of Russia, 115522, Moscow, Russia

Abstract

Introduction. Human cytomegalovirus infection can induce tumor cell resistance to chemotherapeutic agents through modulation of apoptotic pathways. In the search for alternative approaches to overcome virus-associated drug resistance, the application of nanomaterials (aqueous fullerene dC₆₀) represents a promising strategy. The potential to overcome human cytomegalovirus mediated chemoresistance opens new avenues for developing combined therapeutic approaches in oncology.

Aim – to evaluate the impact of human cytomegalovirus infection on the resistance of hepatocellular carcinoma and promyelocytic leukemia cells to doxorubicin, as well as the potential of aqueous fullerene dC₆₀ to restore chemosensitivity in monocytic leukemia cells.

Materials and methods. Hepatocellular carcinoma cells (Huh 7.5), promyelocytic leukemia cells (HL-60), monocytic leukemia cells (THP-1), and HCMV AD169 were used. The experimental procedures included standard cell culture techniques, virological methods, immunocytochemistry, Western blotting, Real-Time Polymerase Chain Reaction, Quantitative Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction and MTT assay.

Results. Human cytomegalovirus infection reduced doxorubicin cytotoxicity by 30% in both hepatocellular carcinoma and promyelocytic leukemia cells. In monocytic leukemia cells, combined treatment with doxorubicin and dC₆₀ restored chemosensitivity to human cytomegalovirus infected cells, achieving 93% tumor cell death at half the standard doxorubicin concentration.

Conclusion. Human cytomegalovirus infection induces doxorubicin resistance in both hematopoietic (promyelocytic leukemia, monocytic leukemia) and solid (hepatocellular carcinoma) tumor models. Importantly, combined treatment doxorubicin with aqueous fullerene dC₆₀ not only overcomes virus-mediated drug resistance in monocytic leukemia cells but also enhances cytotoxicity at reduced doxorubicin concentrations, offering prospects for developing less toxic combined therapeutic regimens.

Keywords: *human cytomegalovirus; aqueous fullerene C₆₀ (dC₆₀); Huh 7.5; THP-1; HL-60; hepatocellular carcinoma; leukemia*

For citation: Chernoryzh Ya.Yu., Yurlov K.I., Grebennikova T.V., Andreev S.M., Shershakova N.N., Lesnova E.I., Simonov R.A., Fedorova N.E., Kushch A.A. Resistance and chemosensitivity restoration in human cytomegalovirus-infected tumor cells to doxorubicin through combined treatment with aqueous fullerene dC₆₀. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2025; ONLINE FIRST.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-300> EDN: <https://elibrary.ru/cdagan>

Funding. This work was supported by intramural funding from the N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology of the Ministry of Health of the Russian Federation.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Введение

В последние десятилетия накапливаются данные, свидетельствующие о важной роли инфекционных агентов в развитии онкологических заболеваний [1]. Цитомегаловирус (ЦМВ) (семейство *Herpesviridae*) не является классическим онкогенным вирусом, несмотря на экспериментальные данные, указывающие на его способность трансформировать фибробласты [2], гепатоциты и клетки НерG2 [3]. Однако

результаты многочисленных исследований подтверждают онкомодулирующее действие ЦМВ [4], при этом вирусные ДНК и/или белки обнаруживаются у 90–100% пациентов с различными типами опухолей [5], что делает актуальным изучение его роли в патогенезе злокачественных новообразований.

ЦМВ – полигистiotропный вирус, персистирует в организме после первичной инфекции, периодически реактивируясь. Клетки крови служат основным резервуаром латентной инфекции. Ранее нами было

показано, что инфекция ЦМВ клеточной линии моноцитарной лейкемии ТНР-1 индуцирует устойчивость к доксорубину (ДОКС) [6]. Примечательно, что противовирусная терапия ганцикловиром не восстанавливает чувствительность к химиотерапии [7], что указывает на необходимость поиска новых подходов для преодоления вирус-опосредованной резистентности.

ДОКС – один из наиболее эффективных противоопухолевых препаратов, широко применяемых в терапии разных злокачественных новообразований. Однако клиническое использование ДОКС ограничено его выраженной кардио- и нефротоксичностью. Актуальной проблемой многих исследований является преодоление устойчивости опухолевых клеток к химиотерапии при одновременном снижении токсического воздействия ДОКС. Показано, что ресвератрол повышает цитотоксическую активность ДОКС в отношении клеток рака молочной железы человека при одновременном применении или за 24 ч до применения ДОКС [8] и усиливает цитотоксический эффект ДОКС в клетках карциномы толстой кишки [9]. Другие стратегии включают использование комбинаций, таких как AICAR и ДОКС, в составе наночастиц для преодоления проблемы токсичности при таргетной терапии, при этом сохраняются

мощные противораковые эффекты в клетках карциномы легких, карциномы толстой кишки, аденокарциномы шейки матки, острой Т-клеточной лейкемии и карциномы поджелудочной железы [10], а также применение мицелл на основе TPGS1000 и куркумина для преодоления резистентности в клетках рака легких [11]. Кроме того, олигонуклеотид DT01 показал потенциал в усилении эффекта ДОКС при гепатоцеллюлярной карциноме [12].

Дисперсный фуллерен dC_{60} является перспективным средством в биологии и медицине, публикации о химических и биологических свойствах этого вещества свидетельствуют о его малой токсичности, антиоксидантной и противовоспалительной активности, ранозаживляющих свойствах [13, 14]. Согласно данным литературы, наноформы фуллерена C_{60} , обладающие гидрофильными свойствами, демонстрируют выраженную противовирусную активность против широкого спектра патогенов, включая ВИЧ, вирус Эбола, разные штаммы вируса гриппа (H1N1, H3N2, H5N1), аденовирусы и респираторно-синцитиальный вирус [15–17], вирус простого герпеса 1-го типа и ЦМВ [18].

Поэтому **целью** исследования было изучение влияния цитомегаловирусной инфекции (ЦМВИ) на формирование резистентности к ДОКС в клеточных линиях гепатокарциномы и промиелоцитарного лейкоза и оценка способности нанодисперсного фуллерена dC_{60} преодолевать химиорезистентность в ЦМВ-инфицированных клетках моноцитарной лейкемии при сочетанном применении с ДОКС.

Материалы и методы

Клетки. В работе использованы: клеточная линия фибробластов легкого эмбриона человека (ФЛЭЧ),

клетки гепатокарциномы Huh 7.5, клетки промиелоцитарного лейкоза HL-60 и клетки моноцитарной лейкемии ТНР-1, полученные из банка клеточных культур ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (Москва). Для поддержания клеточных культур ФЛЭЧ и Huh 7.5 использовали питательную среду DMEM, а линии HL-60 и ТНР-1 культивировали в среде RPMI-1640. В состав питательных сред входили следующие компоненты: L-глутамин (2 мМ), гентамицин (50 мкг/мл), фетальная бычья сыворотка (10%). Все реагенты были приобретены у отечественного поставщика (ООО «ПанЭко», Россия). Контроль качества подтвердил отсутствие микробной контаминации (как внеклеточной, так и внутриклеточной) в используемых клеточных культурах.

Вир. В исследовании применяли лабораторный штамм ЦМВ AD169, предоставленный вирусной коллекцией НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи. Вирусный материал пассировали на культуре клеток ФЛЭЧ с последующим определением инфекционного титра методом бляшкообразования. Титр *de novo* полученного вируса составлял 1×10^5 БОЕ/мл (бляшкообразующих единиц на 1 мл).

Дисперсный фуллерен dC_{60} был предоставлен ФГБУ ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России. Морфологический анализ проводили на сканирующем электронном микроскопе TESCAN MIRA 3 LMN (режим вторичных электронов, ускоряющее напряжение 5 кВ, ток пучка 130 пА). Образцы готовили методом воздушной сушки без металлического напыления.

МТТ-тест. Для определения жизнеспособности клеток после воздействия ДОКС и фуллерена dC_{60} применяли стандартный МТТ-тест. Клеточные культуры инкубировали с тетразолиевым красителем (МТТ, 1 мг/мл) в течение 2 ч при 37 °С. Образованный формазан экстрагировали 0,04 М раствором соляной кислоты в изопропанол. Количественную оценку проводили методом спектрофотометрии на планшетном ридере TECAN при 570 нм с коррекцией фонового сигнала на 620 нм.

Иммуноцитохимия. Для детекции ЦМВ-инфицированных клеток использовали иммунопероксидазный метод с первичными антителами против вирусных белков IE1-p72 и pp65 (Abcam, Великобритания). Препараты визуализировали с использованием микроскопа AxioCam MRc5 (Carl Zeiss, Германия) с 400-кратным увеличением и цифровой регистрацией изображений.

Иммуноблотинг. Трансфер на нитроцеллюлозные мембраны проводили после предварительного электрофоретического разделения белков в 12% полиакриламидном геле. Визуализацию проводили методом хемилюминесценции (система Bio-Rad, США) с последующей количественной оценкой цифровых изображений в программе ImageJ (версия 1.52, NIH, США). Для нормализации данных использовали белок β -актин.

Полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР). Тотальную РНК экстрагировали с использованием реагента тризол (Thermo

Fisher Scientific, США) по стандартному протоколу. Синтез комплементарной ДНК осуществляли при помощи 1 мкг тотальной РНК и коммерческого набора обратной транскриптазы MultiScribe (Applied Biosystems, США). Праймеры для амплификации проектировали на основе последовательностей генома штамма ЦМВ AD169 с использованием: программы Vector NTI Advance 11, алгоритма термодинамического прогнозирования (Thermfold Web Server) и инструмента Primer-BLAST (NCBI). В качестве эндогенного контроля служил ген *GAPDH*.

Полимеразная цепная реакция с детекцией результатов в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Для выделения геномной ДНК применяли коммерческий набор «ДНК-сорб-В» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия) согласно стандартному протоколу экстракции нуклеиновых кислот. Количественное определение ЦМВ ДНК выполняли методом ПЦР-РВ с использованием специализированного набора реагентов (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия). Амплификацию проводили в термоциклере с детекцией флуоресцентного сигнала на каждом цикле.

Статистический анализ выполняли с применением программного обеспечения Prism 9.1.1 (GraphPad Software, США) и SPSS Statistics 27 (IBM, США). Обработку данных проводили в строгом соответствии с актуальными методическими рекомендациями.

Результаты

Приготовление и характеристика dC_{60} . Фуллерен dC_{60} получали по модифицированной методике диалфильтрации, в которой стандартный диализ заменили тангенциальной ультрафильтрацией в соответствии с ранее опубликованным протоколом [18]. Полученные образцы представляли собой агломераты размером около 100 нм, сформированные из более мелких частиц диаметром 15–30 нм.

Цитотоксическое действие ДОКС на клетки Huh 7.5 и HL-60. Для определения цитотоксического действия ДОКС клеточные линии Huh 7.5 и HL-60 инкубировали в присутствии разных концентраций

антибиотика: 0,1–10 мкг/мл для Huh 7.5 (рис. 1 а) и 0,3–3 мкг/мл для HL-60 (рис. 1 б). Установлено, что 50% цитотоксическая доза (CD_{50}) ДОКС для клеток Huh 7.5 составила 2,6 мкг/мл, тогда как для HL-60 данный показатель был значительно ниже – 0,05 мкг/мл.

Характеристика ЦМВИ в клетках Huh 7.5 и HL-60. В ходе исследования методом количественной ПЦР-РВ оценивали содержание вирусной ДНК в клеточных линиях Huh 7.5 и HL-60 в течение 14 сут после инфицирования. Анализ полученных данных (рис. 2 а) выявил снижение количества вирусной ДНК в расчете на одну клетку в обеих исследуемых линиях. В клетках HL-60 содержание вирусного генома уменьшилось с $1,22 \pm 0,01$ lg (1 сут после инфицирования) до $0,78 \pm 0,02$ lg (14 сут после инфицирования). Аналогичная динамика наблюдалась в линии Huh 7.5, где показатель снизился с $1,86 \pm 0,03$ lg в 1-е сутки до $1,22 \pm 0,06$ lg к концу экспериментального периода.

Для характеристики течения ЦМВИ в клеточных линиях Huh 7.5 и HL-60 проводили анализ вирусспецифических белков, соответствующих сверхранней (IE) и ранней (E) стадиям инфекционного процесса. Клетки заражали ЦМВ при множественности инфицирования 2 БОЕ/клетку с последующим мониторингом содержания IE1-p72 и pp65 в течение 14 сут.

Наибольшее количество клеток, содержащих белки IE1-p72 и pp65, зафиксировано в линии HL-60 на 1-е сутки ($37,7 \pm 2,3\%$), тогда как в культуре Huh 7.5 максимальный уровень инфицированных клеток отмечен на 2-е сутки ($42 \pm 6,5\%$). К 14 сут в обеих клеточных линиях наблюдалось статистически значимое ($p < 0,05$) уменьшение числа клеток, позитивных по IE1-p72 и pp65 ($1,5 \pm 0,9$ и $1,6 \pm 0,9$ соответственно), что указывает на завершение литической вирусной репликации (рис. 2 б).

Результаты исследования выявили динамическое уменьшение концентрации вирусной ДНК и сокращение популяции клеток, экспрессирующих IE- и E-антигены ЦМВ, в течение 2-недельного пери-

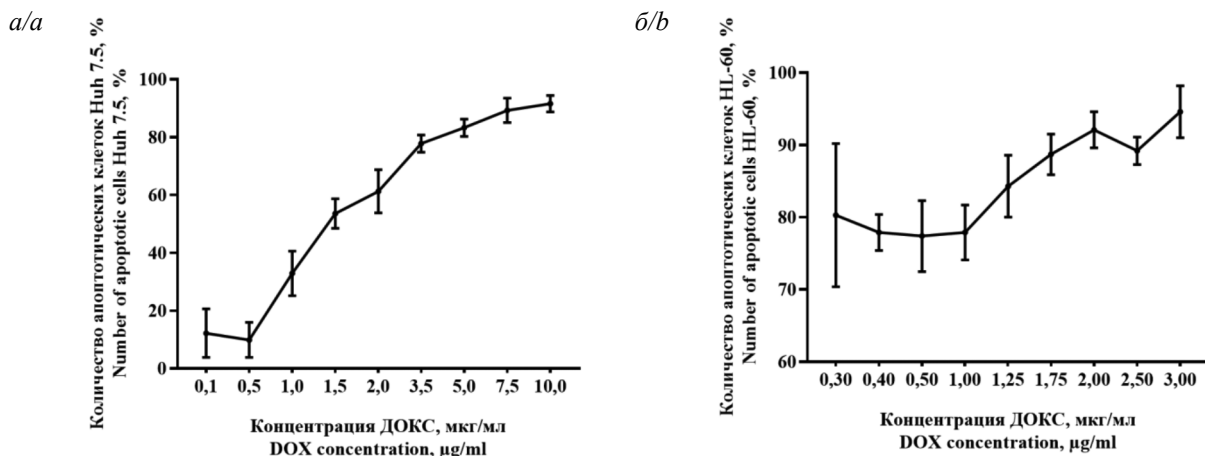


Рис. 1. Цитотоксическое действие ДОКС на клетки Huh 7.5 (а) и HL-60 (б).

Fig. 1. Evaluation of doxorubicin-induced cytotoxicity in Huh 7.5 (a) hepatocarcinoma and HL-60 promyelocytic leukemia cells (b).

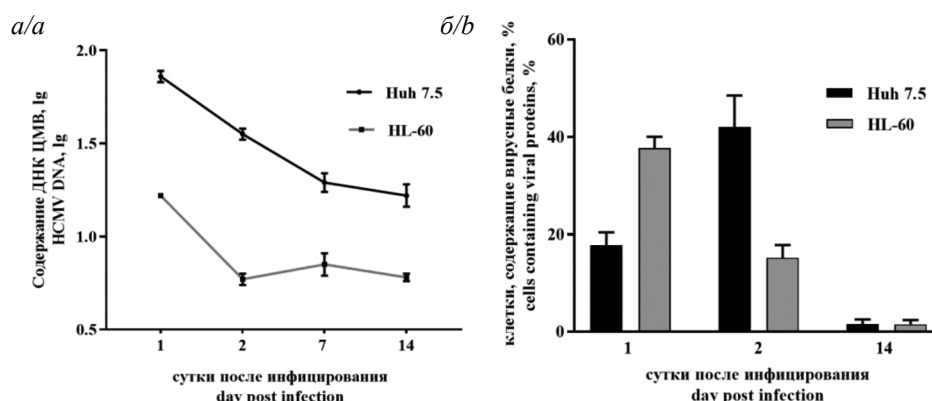


Рис. 2. Динамика содержания ДНК ЦМВ (а) и вирусных белков IE1-p72 и pp65 (б) в клетках Huh 7.5 и HL-60 с 1-х по 14-е сутки после инфицирования.

Fig. 2. Longitudinal monitoring of CMV DNA content (a) and IE1-p72/pp65 viral protein expression (b) in Huh 7.5 and HL-60 cell lines during 14 days post-infection.

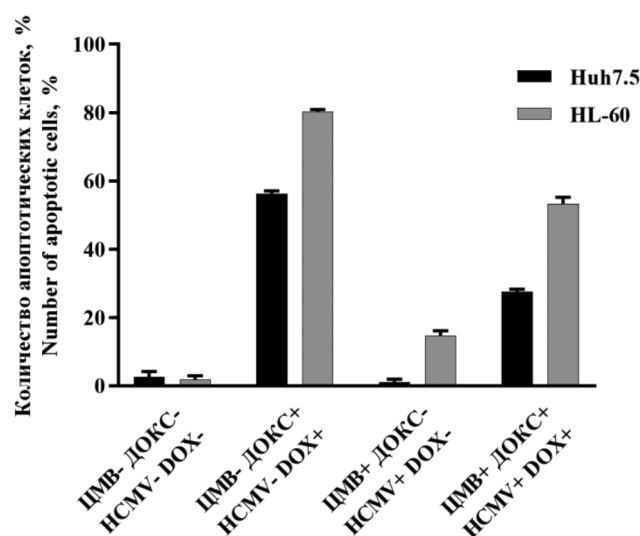


Рис. 3. Цитотоксическое действие ДОКС на клетки Huh 7.5 и HL-60, инфицированные ЦМВ.

Fig. 3. Doxorubicin-induced cytotoxicity in cytomegalovirus infected Huh 7.5 hepatocarcinoma and HL-60 promyelocytic leukemia cell lines.

ода наблюдения. Наблюдаемая динамика указывает на эволюцию инфекционного процесса от активной репликационной стадии к латентной персистенции вируса в обеих изученных клеточных моделях.

Цитотоксическое действие ДОКС на клетки Huh 7.5 и HL-60, инфицированные ЦМВ. На основании анализа дозозависимой цитотоксичности были выбраны субтоксические концентрации ДОКС: 6 мкг/мл для клеточной линии Huh 7.5 и 0,6 мкг/мл для HL-60.

Был выполнен сравнительный анализ цитотоксического действия ДОКС на клеточные линии HL-60 и Huh 7.5 при наличии и отсутствии ЦМВИ. Клетки линии HL-60 обрабатывали ДОКС в концентрации 0,6 мкг/мл через 24 ч после вирусного заражения. Для клеточной культуры Huh 7.5 применяли более высокую концентрацию препарата (6 мкг/мл),

которую вносили через 48 ч после инфицирования. Такой дифференцированный подход позволил оценить влияние вирусной инфекции на эффективность химиотерапевтического агента в разных клеточных системах. Анализ цитотоксического эффекта проводили после 24-часовой инкубации с антибиотиком. Результаты представлены на **рис. 3**.

В клетках HL-60 наблюдалось достоверное ($p < 0,05$) снижение цитотоксического эффекта антибиотика — количество нежизнеспособных клеток уменьшилось с $80,3 \pm 0,6\%$ в неинфицированной культуре до $53,3 \pm 1,9\%$ в инфицированной. Аналогичный протективный эффект ЦМВИ был зарегистрирован в клетках Huh 7.5: показатели клеточной гибели снизились с $56,3 \pm 0,8$ до $27,6 \pm 0,7\%$ ($p < 0,05$). Полученные результаты свидетельствуют о выраженном модулирующем действии ЦМВИ, снижающем цитотоксическую эффективность ДОКС примерно на 30% в обеих исследуемых клеточных линиях, что может быть обусловлено вирус-индуцированными изменениями клеточного метаболизма или активацией защитных механизмов в инфицированных клетках.

Противовирусное действие фуллерена dC_{60} на клетках THP-1. Ранее была показана дозозависимая противовирусная активность dC_{60} в отношении ЦМВИ на клетках ФЛЭЧ [10]. В настоящем исследовании изучали влияние dC_{60} на содержание вирусной ДНК методом ПЦР-РВ, экспрессию генов *UL123* (сверхранний белок IE1-p72) и *UL54* (ДНК-полимераза) методом ОТ-ПЦР и вирусных белков (IE1-p72 и pp65) методом «вестерн-блот» в ЦМВ-инфицированных клетках THP-1. Полученные результаты представлены в **табл. 1**.

Результаты исследования демонстрируют значимое воздействие дисперсного фуллерена dC_{60} на молекулярные маркеры ЦМВИ в клетках THP-1. Отмечалось достоверное снижение экспрессии гена *UL54* на 57% ($p < 0,05$), уменьшение уровня белка IE1-p72 на 28% ($p < 0,05$) и значимое снижение вирусной нагрузки ($p < 0,05$). При этом увеличение экспрессии гена *UL123* не было статистически значимым ($p > 0,05$), а содержание белка pp65 сохранялось на низком уровне ($p > 0,05$).

Таблица 1. Влияние дисперсного фуллерена dC_{60} на течение цитомегаловирусной инфекции в клетках THP-1**Table 1.** Quantitative analysis of aqueous fullerene dC_{60} nanoparticles impact on human cytomegalovirus replication kinetics and infectivity in THP-1 cells

Параметр Parameter	UL54, усл. ед. /CU	UL123, усл. ед. /CU	IE1-p72, усл. ед. /CU	pp65, усл. ед. /CU	ДНК, копий/мл (lg) DNA copies/ml (lg)
dC_{60} –	$1,01 \pm 0,16$	$1,01 \pm 0,19$	$1,02 \pm 0,1$	$0,04 \pm 0,02$	$6,0 \pm 0,6$
dC_{60} +	$0,43 \pm 0,08^*$	$1,52 \pm 0,45$	$0,73 \pm 0,08^*$	$0,02 \pm 0,02$	$2,0 \pm 0,7^*$

Примечание. * – статистически значимые различия ($p < 0,05$).**Note.** * – statistically significant differences ($p < 0.05$).

Полученные данные свидетельствуют о селективном ингибирующем действии дисперсного фуллерена dC_{60} на определенные этапы вирусной репликации, что проявляется в уменьшении уровня сверххраненного белка (IE1-p72), снижении экспрессии поздних вирусных генов и уменьшении вирусной нагрузки.

Сочетанное действие дисперсного фуллерена dC_{60} и ДОКС на ЦМВ-инфицированные клетки THP-1. С целью изучения потенциального синергического взаимодействия исследовали комбинированное воздействие дисперсного фуллерена dC_{60} и ДОКС на клеточную линию THP-1, инфицированную ЦМВ. В работе использовали следующие концентрационные диапазоны: дисперсного фуллерена dC_{60} – 12,5–100 мкг/мл; ДОКС – 1,25–5 мкг/мл. Экспериментальный дизайн предусматривал систематическую оценку цитотоксических эффектов всех возможных комбинаций указанных соединений для выявления потенциально синергических взаимодействий между изучаемыми агентами. Для оценки синергического эффекта было проведено комплексное исследование комбинированного действия дисперсного фуллерена dC_{60} в концентрациях 12,5, 25,0, 50,0 и 100,0 мкг/мл и ДОКС в концентрациях 1,25, 2,50 и 5,00 мкг/мл на ЦМВ-инфицированные клетки THP-1. Результаты исследования демонстрируют выраженный синергический эффект комбинации дисперсного фуллерена dC_{60} с ДОКС, проявляющийся в значительном повышении цитотоксической активности против ЦМВ-инфицированных клеток THP-1. Выявлено достоверное снижение количества нежизнеспособных клеток при всех исследованных концентрациях ДОКС, при этом в инфицированной культуре цитотоксический эффект был почти в 2,5 раза менее выражен по сравнению с неинфицированными клетками. Результаты исследования свидетельствуют о значительном потенцировании цитотоксического действия ДОКС при его сочетанном применении с нанодисперсным фуллереном dC_{60} в отношении ЦМВ-инфицированных клеток линии THP-1. Полученные экспериментальные данные выявили четкую дозозависимую синергию изучаемых соединений: применение минимальных эффективных концентраций (1,25 мкг/мл ДОКС в комбинации с 12,5 мкг/мл dC_{60}) достоверно повышало чувствительность инфицированных клеток к химиотерапевтическому воздействию ($p < 0,05$). При этом максимального цитотоксического эффекта, характеризующегося гибелью $93,0 \pm 2,5\%$ клеточной популяции, достигали

при использовании оптимального сочетания концентраций – 2,5 мкг/мл ДОКС и 50 мкг/мл нанодисперсного фуллерена dC_{60} (рис. 4). Полученные результаты демонстрируют перспективность использования дисперсного фуллерена dC_{60} для потенцирования цитотоксической терапии при ЦМВ-ассоциированных онкогематологических заболеваниях.

Проведенный факторный анализ данных с применением метода главных компонент с последующим варимакс-вращением позволил выделить два доминирующих фактора эффективности химиотерапии, основные параметры которых систематизированы в табл. 2. Данные компоненты объясняют наибольшую долю дисперсии в исследуемой выборке и могут рассматриваться как ключевые факторы, определяющие наблюдаемые закономерности.

Результаты факторного анализа выявили значимый вклад ключевых компонент в общую вариабельность эффективности химиотерапевтического воздействия. Первый фактор объяснял 49,3% наблюдаемой дисперсии, второй – 38,5%, демонстрируя выраженную доминантную роль этих компонент. Совокупный вклад двух факторов достигал 87,9%, что указывает на их определяющее значение в формировании вариабельности химиотерапевтического ответа.

Для количественной оценки взаимосвязей между исследуемыми параметрами и выделенными факторами был проведен анализ факторных нагрузок. В табл. 3 представлена соответствующая матрица, где наиболее значимые корреляции (с максимальными значениями нагрузок выделены для наглядности).

Первой компоненте соответствовали высокие значения концентрации ДОКС (0,801) и большее количество нежизнеспособных клеток (0,916), что позволяет обозначить ее как компонента «Цитотоксическое действие ДОКС». Вторая компонента (0,968) имела наиболее выраженные корреляции с концентрациями дисперсного фуллерена dC_{60} , поэтому была интерпретирована как компонента «Концентрация dC_{60} ». Интерпретация результатов факторного анализа подтверждает его валидность, т.к. выделенные компоненты имеют четкое содержательное объяснение, что свидетельствует об адекватности примененного аналитического подхода. Проверка исходных предпосылок с использованием теста сферичности Бартлетта показала статистически значимый результат ($p < 0,001$), что обосновывает правомерность применения факторного анализа к исследуемым данным.

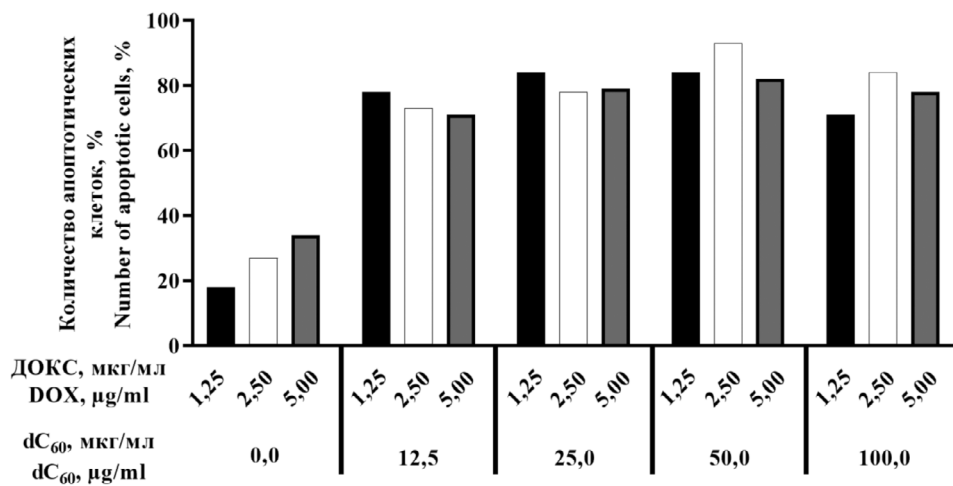


Рис. 4. Сочетанное действие ДОКС и дисперсного фуллерена dC₆₀ на клетки THP-1, инфицированные ЦМВ.
Fig. 4. Evaluation of combination treatment with doxorubicin (DOX) and aqueous fullerene dC₆₀ nanoparticles in cytomegalovirus infected THP-1 cells.

Таблица 2. Характеристики компонент
Table 2. Characteristics of Key Components

№	Компонента Key Components	Собственные значения Eigenvalues	Удельный вклад в дисперсию, % Rotation Sums of Squared Loadings, %	
			каждой компоненты variance	накопленный cumulative
1	Цитотоксическое действие ДОКС DOX-induced cytotoxicity	1,480	49,3	49,3
2	Концентрация dC ₆₀ dC ₆₀ concentration	1,156	38,5	87,9

Таблица 3. Матрица факторных нагрузок для показателей, влияющих на эффективность химиотерапии
Table 3. Factor loading matrix for parameters influencing chemotherapy efficacy

Показатель Parameter	Компонента Components	
	1	2
Нежизнеспособные клетки Non-viability cells	0,801	0,433
Концентрация ДОКС Concentration DOX	0,916	–0,180
Концентрация dC ₆₀ Concentration dC ₆₀	0,015	0,968

Полученное значение *p*-уровня указывает на наличие значимых взаимосвязей между переменными, достаточных для проведения данного вида многомерного анализа.

Корреляционная связь полученных компонент с эффективностью химиотерапии оценивали с помощью коэффициента корреляции Спирмена (*ρ*). Были установлены статистически значимая прямая корреляционная связь заметной тесноты компоненты 1 «Цитотоксическое действие ДОКС» с количеством нежизнеспособных ЦМВ-инфицированных клеток (*ρ* = 0,641; *p* = 0,003) и статистически значимая прямая корреляционная связь заметной тесноты компоненты 2 «Концентрация dC₆₀» с количеством нежизнеспособных

ЦМВ-инфицированных клеток (*ρ* = 0,595; *p* = 0,007).

Обсуждение

Согласно данным современных исследований, около 20% случаев злокачественных опухолей у человека имеют вирусную этиологию. На сегодняшний день доказана онкогенная роль нескольких вирусов, таких как вирус Эпштейна–Барр, вирусы гепатита В и С, Т-лимфотропный вирус человека 1-го типа, вирус папилломы человека, герпесвирус 8-го типа и полиомавирус клеток Меркеля. Эпидемиологические и молекулярно-биологические исследования подтверждают их значимую роль в развитии лимфопролиферативных заболеваний, гепатоцеллюлярной карциномы,

рака шейки матки и других злокачественных новообразований [19, 20].

ЦМВ – широко распространенный оппортунистический патоген в человеческой популяции. Результаты многочисленных исследований подтверждают высокую частоту обнаружения вирусных ДНК и специфических белков ЦМВ в тканях разных злокачественных новообразований [21]. Особую клиническую значимость представляет установленная взаимосвязь между врожденной формой ЦМВИ и повышенным риском развития острого лимфобластного лейкоза [22].

Проведенные исследования выявили комплексное взаимодействие между ЦМВИ и цитотоксическим действием ДОКС в разных опухолевых клеточных линиях, таких как ТНР-1 (острая моноцитарная лейкемия) [6, 7, 23, 24], HL-60 (острый промиелоцитарный лейкоз) и Huh 7.5 (гепатокарцинома). Результаты, полученные в настоящем исследовании, свидетельствуют о выраженной разнице в чувствительности клеточных линий Huh 7.5 и HL-60 к ДОКС, что подтверждается значительным различием значений IC_{50} (2,6 мкг/мл против 0,05 мкг/мл соответственно). Это может быть связано с особенностями клеточного метаболизма в разных типах опухолевых клеток, что требует дальнейшего изучения на молекулярном уровне. Динамика ЦМВИ в исследуемых клеточных линиях характеризовалась постепенным снижением содержания вирусной ДНК и уменьшением количества клеток, содержащих сверххраненный (IE1-p72) и ранний (pp65) вирусные белки, что указывает на переход от литической к персистирующей фазе инфекции. Примечательно, что максимальная экспрессия вирусных белков наблюдалась в разные сроки: в клетках HL-60 – на 1-е сутки, тогда как в Huh 7.5 – на 2-е сутки после инфицирования. Эти различия могут отражать особенности внутриклеточных процессов в разных типах клеток при ЦМВИ. Таким образом, мы предполагаем, что ЦМВ не может продуктивно заражать раковые клеточные линии, экспрессирующие онкогенные аллели. Это согласуется с результатами других исследователей, которые показали, что определенные онкогенные аллели, включая антиген Т (Tag), ингибируют ЦМВИ [25].

Особого внимания заслуживает выявленный эффект снижения цитотоксического действия ДОКС на 30% в обеих клеточных линиях после ЦМВ-инфицирования. Этот феномен может быть обусловлен вирус-индуцированными изменениями клеточного метаболизма и/или активацией защитных механизмов, что открывает новые направления для изучения механизмов лекарственной резистентности при вирус-ассоциированных опухолях.

Современная противовирусная терапия ЦМВИ, основанная преимущественно на ингибиторах вирусной ДНК-полимеразы (ганцикловир и его аналоги), демонстрирует ограниченную эффективность, воздействуя исключительно на литическую стадию инфекционного цикла и не оказывая влияния на латентные

формы вируса. В наших предыдущих исследованиях было установлено, что комбинация ганцикловира с ДОКС не позволяет преодолеть сниженную чувствительность ЦМВ-инфицированных клеток ТНР-1 к химиотерапии [7]. Проведенный углубленный анализ молекулярных механизмов вирус-опосредованной лекарственной устойчивости позволил идентифицировать новые классы соединений, обладающих потенциалом для восстановления химиочувствительности ЦМВ-инфицированных клеток [6, 26, 27].

Среди инновационных противовирусных препаратов особый интерес представляют углеродные наночастицы, в частности водная дисперсия фуллерена C_{60} (dC_{60}), проявляющие выраженную активность в отношении герпесвирусов, в том числе ЦМВ [13–18]. Одним из преимуществ dC_{60} является возможность его промышленного производства с использованием стандартной технологии ультрафильтрации, что обеспечивает стабильное получение высококонцентрированных растворов с воспроизводимыми характеристиками. Данная технология отличается высокой экономической эффективностью и легко масштабируется до производственных объемов. Наряду с благоприятным профилем безопасности и выраженной противовирусной активностью это делает дисперсный фуллерен dC_{60} перспективным кандидатом для разработки новых терапевтических средств, особенно актуальных в условиях роста резистентности к традиционным противовирусным препаратам, и для терапии персистирующих вирусных инфекций.

Исследование противовирусной активности дисперсного фуллерена dC_{60} выявило его селективное действие на разные этапы вирусной репликации в клетках ТНР-1, инфицированных ЦМВ. Наиболее выраженным было ингибирующее влияние на экспрессию гена *UL54* (ДНК-полимеразы), уровень сверххраненного белка IE1-p72 и содержание ДНК ЦМВ.

Настоящее исследование выявило принципиально важный феномен синергического взаимодействия между противоопухолевым препаратом ДОКС и наночастицей фуллерена C_{60} в выбранном диапазоне концентраций, при котором отсутствовал цитотоксический эффект (до 100 мкг/мл). Полученные данные демонстрируют два ключевых аспекта: во-первых, комбинированное применение указанных соединений даже в минимальных концентрациях способствовало преодолению вирус-индуцированной резистентности опухолевых клеток; во-вторых, оптимальный цитотоксический эффект, характеризующийся гибелью более 90% клеточной популяции, достигался при сочетанном использовании ДОКС в концентрации 2,5 мкг/мл и нанодисперсного фуллерена в дозе 50 мкг/мл. Проведенный факторный анализ подтвердил значимость обоих компонентов (ДОКС и dC_{60}) для эффективности терапии, причем их совместный вклад объяснял 87,9% вариативности результатов.

Результаты проведенного исследования открывают новые возможности для разработки терапевтических стратегий при онкологических заболеваниях, ассоциированных с ЦМВИ, включая как гематологиче-

ские, так и солидные опухоли. Полученные данные обосновывают необходимость дальнейшего изучения использования дисперсного фуллерена C_{60} для потенцирования химиотерапии при ЦМВ-ассоциированных онкологических заболеваниях.

Заключение

ЦМВИ формирует резистентность к ДОКС на гемопозитических (промиелоцитарный лейкоз, моноцитарная лейкемия) и солидных (гепатокарцинома) опухолевых моделях. Примечательно, что сочетанное действие ДОКС с дисперсным фуллереном C_{60} позволяет не только преодолевать вирус-опосредованную лекарственную устойчивость в клетках моноцитарной лейкемии, но и достичь выраженного цитотоксического эффекта при сниженных концентрациях ДОКС, что открывает перспективы для разработки комбинированных терапевтических схем со сниженной токсичностью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Cao J., Li D. Searching for human oncoviruses: Histories, challenges, and opportunities. *J. Cell. Biochem.* 2018; 119(6): 4897–906. <https://doi.org/10.1002/jcb.26717>
2. de Wit R.H., Mujić-Delić A., van Senten J.R., Fraile-Ramos A., Siderius M., Smit M.J. Human cytomegalovirus encoded chemokine receptor US28 activates the HIF-1 α /PKM2 axis in glioblastoma cells. *Oncotarget.* 2016; 7(42): 67966–85. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.11817>
3. Lepiller Q., Abbas W., Kumar A., Tripathy M.K., Herbein G. HCMV activates the IL-6-JAK-STAT3 axis in HepG2 cells and primary human hepatocytes. *PLoS One.* 2013; 8(3): e59591. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059591>
4. El Baba R., Herbein G. Immune landscape of CMV infection in cancer patients: from “canonical” diseases toward virus-elicited oncomodulation. *Front. Immunol.* 2021; 12: 730765. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.730765>
5. Herbein G. Tumors and cytomegalovirus: an intimate interplay. *Viruses.* 2022; 14(4): 812. <https://doi.org/10.3390/v14040812>
6. Fedorova N.E., Chernoryzh Y.Y., Vinogradskaya G.R., Emelianova S.S., Zavalysheva L.E., Yurlov K.I., et al. Inhibitor of polyamine catabolism MDL72.527 restores the sensitivity to doxorubicin of monocytic leukemia THP-1 cells infected with human cytomegalovirus. *Biochimie.* 2019; 158: 82–9. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2018.12.012>
7. Чернорыж Я.Ю., Юрлов К.И., Симонов Р.А., Федорова Н.Е., Куш А.А. Сверхнагрузка белки цитомегаловируса участвуют в установлении резистентности к противоопухолевому антибиотику доксорубину инфицированных клеток лейкемии THP-1. *Актуальная биотехнология.* 2019; (3): 385–8. <https://elibrary.ru/xabsiq>
8. Osman A.M., Bayoumi H.M., Al-Harthi S.E., Damanhour Z.A., Elshal M.F. Modulation of doxorubicin cytotoxicity by resveratrol in a human breast cancer cell line. *Cancer Cell Int.* 2012; 12(1): 47. <https://doi.org/10.1186/1475-2867-12-47>
9. Schroeter A., Marko D. Resveratrol modulates the topoisomerase inhibitory potential of doxorubicin in human colon carcinoma cells. *Molecules.* 2014; 19(12): 20054–72. <https://doi.org/10.3390/molecules191220054>
10. Daglioglu C., Okutucu B. Therapeutic effects of AICAR and DOX conjugated multifunctional nanoparticles in sensitization and elimination of cancer cells via survivin targeting. *Pharm. Res.* 2017; 34(1): 175–84. <https://doi.org/10.1007/s11095-016-2053-7>
11. Gu Y., Li J., Li Y., Song L., Li D., Peng L., et al. Nanomicelles loaded with doxorubicin and curcumin for alleviating multidrug resistance in lung cancer. *Int. J. Nanomedicine.* 2016; 11: 5757–70. <https://doi.org/10.2147/ijn.s118568>
12. Herath N.I., Devun F., Herbet A., Lienafa M.C., Chouteau P., Sun J.S., et al. Potentiation of doxorubicin efficacy in hepatocellular carcinoma by the DNA repair inhibitor DT01 in preclinical models. 2017; 27(10): 4435–44. <https://doi.org/10.1007/s00330-017-4792-1>

13. Goodarzi S., Ros T.D., Conde J., Sefat F., Mozafari M. Fullerene: Biomedical engineers get to revisit an old friend. *Materials Today.* 2017; 20(8): 460–80. <https://doi.org/10.1016/j.mattod.2017.03.017>
14. Shershakova N.N., Andreev S.M., Tomchuk A.A., Makarova E.A., Nikonova A.A., Turetskiy E.A., et al. Wound healing activity of aqueous dispersion of fullerene C_{60} produced by “green technology”. *Nanomedicine.* 2023; 47: 102619. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2022.102619>
15. Xu P.Y., Li X.Q., Chen W.G., Deng L.L., Tan Y.Z., Zhang Q., et al. Progress in antiviral fullerene research. *Nanomaterials (Basel).* 2022; 12(15): 2547. <https://doi.org/10.3390/nano12152547>
16. Sinigubova E.O., Kraevaya O.A., Volobueva A.S., Zhilenkov A.V., Shestakov A.F., Baykov S.V., et al. Water-soluble fullerene C_{60} derivatives are effective inhibitors of influenza virus replication. *Microorganisms.* 2023; 11(3): 681. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030681>
17. Mashino T. Development of bio-active fullerene derivatives suitable for drug. *Yakugaku Zasshi.* 2022; 142(2): 165–79. <https://doi.org/10.1248/yakushi.21-00188> (in Japanese)
18. Klimova R., Andreev S., Momotyuk E., Demidova N., Fedorova N., Chernoryzh Y., et al. Aqueous fullerene C_{60} solution suppresses herpes simplex virus and cytomegalovirus infections. *Fuller. Nanotub. Carbon Nanostructures.* 2020; 28(6): 487–99. <https://doi.org/10.1080/1536383X.2019.1706495>
19. Schiller J.T., Lowy D.R. An introduction to virus infections and human cancer. *Recent Results Cancer Res.* 2021; 217: 1–11. https://doi.org/10.1007/978-3-030-57362-1_1
20. Chen C.J., You S.L., Hsu W.L., Yang H.I., Lee M.H., Chen H.C., et al. Epidemiology of virus infection and human cancer. *Recent Results Cancer Res.* 2021; 217: 13–45. https://doi.org/10.1007/978-3-030-57362-1_2
21. Herbein G. High-risk oncogenic human cytomegalovirus. *Viruses.* 2022; 14(11): 2462. <https://doi.org/10.3390/v14112462>
22. Francis S.S., Wallace A.D., Wendt G.A., Li L., Liu F., Riley L.W., et al. In utero cytomegalovirus infection and development of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2017; 129(12): 1680–4. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-07-723148>
23. Чернорыж Я.Ю., Федорова Н.Е., Юрлов К.И., Симонов Р.А., Корнев А.Б., Карпов Д.С. и др. Резистентность клеток лейкемии THP-1, инфицированных цитомегаловирусом, к противоопухолевому антибиотику доксорубину и восстановление чувствительности ингибиторами молекулярного пути PI3K/AKT/mTOR. *Доклады Академии наук.* 2019; 489(4): 433–7. <https://doi.org/10.31857/S0869-56524894433-437> <https://elibrary.ru/cbjgwc>
24. Емельянова С.С., Чернорыж Я.Ю., Юрлов К.И., Закирова Н.Ф., Виноградская Г.Р., Вербенко В.Н. Цитомегаловирус индуцирует устойчивость опухолевых клеток THP-1 к химиотерапии, влияя на метаболизм полиаминов. *Актуальная биотехнология.* 2019; (3): 585–8. <https://elibrary.ru/ivwogg>
25. Xu S., Schafer X., Munger J. Expression of oncogenic alleles induces multiple blocks to human cytomegalovirus infection. *J. Virol.* 2016; 90(9): 4346–56. <https://doi.org/10.1128/jvi.00179-16>
26. Чернорыж Я.Ю., Федорова Н.Е., Юрлов К.И., Иванов А.В., Куш А.А. Сочетанное применение противоопухолевого антибиотика доксорубина и ингибитора mTOR-рапамицина восстанавливает чувствительность клеток лейкемии THP-1, инфицированных цитомегаловирусом, и снижает цитотоксичность доксорубина. *Гены и клетки.* 2019; 14(3): 70–1. <https://elibrary.ru/yrchfk>
27. Чернорыж Я.Ю., Федорова Н.Е., Корнев А.Б., Иванов А.В., Куш А.А. Ингибиторы mTOR снимают блок апоптоза, вызванный ЦМВ инфекцией опухолевых клеток THP-1, обработанных доксорубином. *Вестник Биомедицины и социологии.* 2018; 3(4): 45–8. <https://elibrary.ru/vqfxea>

REFERENCES

1. Cao J., Li D. Searching for human oncoviruses: Histories, challenges, and opportunities. *J. Cell. Biochem.* 2018; 119(6): 4897–906. <https://doi.org/10.1002/jcb.26717>
2. de Wit R.H., Mujić-Delić A., van Senten J.R., Fraile-Ramos A., Siderius M., Smit M.J. Human cytomegalovirus encoded chemokine receptor US28 activates the HIF-1 α /PKM2 axis in glioblastoma cells. *Oncotarget.* 2016; 7(42): 67966–85. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.11817>

- oncotarget.11817
3. Lepiller Q., Abbas W., Kumar A., Tripathy M.K., Herbein G. HCMV activates the IL-6-JAK-STAT3 axis in HepG2 cells and primary human hepatocytes. *PLoS One*. 2013; 8(3): e59591. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059591>
 4. El Baba R., Herbein G. Immune landscape of CMV infection in cancer patients: from “canonical” diseases toward virus-elicited oncomodulation. *Front. Immunol.* 2021; 12: 730765. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.730765>
 5. Herbein G. Tumors and cytomegalovirus: an intimate interplay. *Viruses*. 2022; 14(4): 812. <https://doi.org/10.3390/v14040812>
 6. Fedorova N.E., Chernoryzh Y.Y., Vinogradskaya G.R., Emelianova S.S., Zavalyshina L.E., Yurlov K.I., et al. Inhibitor of polyamine catabolism MDL72.527 restores the sensitivity to doxorubicin of monocytic leukemia THP-1 cells infected with human cytomegalovirus. *Biochimie*. 2019; 158: 82–9. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2018.12.012>
 7. Chernoryzh Y.A.YU., Yurlov K.I., Simonov R.A., Fedorova N.E., Kushch A.A. Cytomegalovirus immediate-early proteins mediate doxorubicin resistance in THP-1 leukemia cells. *Aktual'naya biotekhnologiya*. 2019; (3): 385–8. <https://elibrary.ru/xabsiq> (in Russian)
 8. Osman A.M., Bayoumi H.M., Al-Harthi S.E., Damanhour Z.A., Elshal M.F. Modulation of doxorubicin cytotoxicity by resveratrol in a human breast cancer cell line. *Cancer Cell Int.* 2012; 12(1): 47. <https://doi.org/10.1186/1475-2867-12-47>
 9. Schroeter A., Marko D. Resveratrol modulates the topoisomerase inhibitory potential of doxorubicin in human colon carcinoma cells. *Molecules*. 2014; 19(12): 20054–72. <https://doi.org/10.3390/molecules191220054>
 10. Daglioglu C., Okutucu B. Therapeutic effects of AICAR and DOX conjugated multifunctional nanoparticles in sensitization and elimination of cancer cells via survivin targeting. *Pharm. Res.* 2017; 34(1): 175–84. <https://doi.org/10.1007/s11095-016-2053-7>
 11. Gu Y., Li J., Li Y., Song L., Li D., Peng L., et al. Nanomicelles loaded with doxorubicin and curcumin for alleviating multidrug resistance in lung cancer. *Int. J. Nanomedicine*. 2016; 11: 5757–70. <https://doi.org/10.2147/ijn.s118568>
 12. Herath N.I., Devun F., Herbet A., Lienafa M.C., Chouteau P., Sun J.S., et al. Potentiation of doxorubicin efficacy in hepatocellular carcinoma by the DNA repair inhibitor DT01 in preclinical models. 2017; 27(10): 4435–44. <https://doi.org/10.1007/s00330-017-4792-1>
 13. Goodarzi S., Ros T.D., Conde J., Sefat F., Mozafari M. Fullerene: Biomedical engineers get to revisit an old friend. *Materials Today*. 2017; 20(8): 460–80. <https://doi.org/10.1016/j.mattod.2017.03.017>
 14. Shershakova N.N., Andreev S.M., Tomchuk A.A., Makarova E.A., Nikonova A.A., Turetskiy E.A., et al. Wound healing activity of aqueous dispersion of fullerene C₆₀ produced by “green technology”. *Nanomedicine*. 2023; 47: 102619. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2022.102619>
 15. Xu P.Y., Li X.Q., Chen W.G., Deng L.L., Tan Y.Z., Zhang Q., et al. Progress in antiviral fullerene research. *Nanomaterials (Basel)*. 2022; 12(15): 2547. <https://doi.org/10.3390/nano12152547>
 16. Sinegubova E.O., Kraevaya O.A., Volobueva A.S., Zhilenkov A.V., Shestakov A.F., Baykov S.V., et al. Water-soluble fullerene C₆₀ derivatives are effective inhibitors of influenza virus replication. *Microorganisms*. 2023; 11(3): 681. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030681>
 17. Mashino T. Development of bio-active fullerene derivatives suitable for drug. *Yakugaku Zasshi*. 2022; 142(2): 165–79. <https://doi.org/10.1248/yakushi.21-00188> (in Japanese)
 18. Klimova R., Andreev S., Momotyuk E., Demidova N., Fedorova N., Chernoryzh Y., et al. Aqueous fullerene C₆₀ solution suppresses herpes simplex virus and cytomegalovirus infections. *Fuller. Nanotub. Carbon Nanostructures*. 2020; 28(6): 487–99. <https://doi.org/10.1080/1536383X.2019.1706495>
 19. Schiller J.T., Lowy D.R. An introduction to virus infections and human cancer. *Recent Results Cancer Res.* 2021; 217: 1–11. https://doi.org/10.1007/978-3-030-57362-1_1
 20. Chen C.J., You S.L., Hsu W.L., Yang H.I., Lee M.H., Chen H.C., et al. Epidemiology of virus infection and human cancer. *Recent Results Cancer Res.* 2021; 217: 13–45. https://doi.org/10.1007/978-3-030-57362-1_2
 21. Herbein G. High-risk oncogenic human cytomegalovirus. *Viruses*. 2022; 14(11): 2462. <https://doi.org/10.3390/v14112462>
 22. Francis S.S., Wallace A.D., Wendt G.A., Li L., Liu F., Riley L.W., et al. In utero cytomegalovirus infection and development of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2017; 129(12): 1680–4. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-07-723148>
 23. Chernoryzh Y.Y., Fedorova N.E., Yurlov K.I., Simonov R.A., Kushch A.A., Gintsburg A.L., et al. Resistance of THP-1 leukemia cells infected with cytomegalovirus to anti-tumor antibiotic doxorubicin and restoration of the sensitivity by inhibitors of the PI3K/Akt/mTOR molecular pathway. *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 2019; 489(1): 388–91. <https://doi.org/10.1134/S1607672919060073> <https://elibrary.ru/atorde>
 24. Emel'yanova S.S., Chernoryzh Y.A.YU., Yurlov K.I., Zakirova N.F., Vinogradskaya G.R., Verbenko V.N. Cytomegalovirus induces chemoresistance in THP-1 tumor cells by modulating polyamine metabolism. *Aktual'naya biotekhnologiya*. 2019; (3): 585–8. <https://elibrary.ru/ivwogg> (in Russian)
 25. Xu S., Schafer X., Munger J. Expression of oncogenic alleles induces multiple blocks to human cytomegalovirus infection. *J. Virol.* 2016; 90(9): 4346–56. <https://doi.org/10.1128/jvi.00179-16>
 26. Chernorizh Ya.Yu., Fedorova N.E., Yurlov K.I., Ivanov A.V., Kushch A.A. Combined application of anti-tumor antibiotic doxorubicin and inhibitor mTOR-rapamicine restores the sensitivity of leukemia cells THP-1 infected with human cytomegalovirus. *Geny i kletki*. 2019; 14(3): 70–1. <https://elibrary.ru/yrcfhk> (in Russian)
 27. Chernoryzh Y.A.YU., Fedorova N.E., Kornev A.B., Ivanov A.V., Kushch A.A. mTOR inhibitors reverse HCMV-induced apoptosis blockade in doxorubicin-treated THP-1 tumor cells. *Vestnik Biomeditsina i sotsiologiya*. 2018; 3(4): 45–8. <https://elibrary.ru/vqfxea> (in Russian)

Информация об авторах:

Чернорыж Яна Юрьевна ✉ – канд. мед. наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: revengeful_w@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-9848-8515>

Юрлов Кирилл Иванович – научный сотрудник лаборатории клеточной инженерии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: kir34292@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-4694-2445>.

Гребенникова Татьяна Владимировна – д-р биол. наук, профессор, чл.-корр. РАН, заместитель директора по научной работе подразделения Института вирусологии им. Д.И. Иванова, руководитель Испытательного центра ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: t_grebennikova@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6141-9361>

Андреев Сергей Михайлович – канд. хим. наук, зав. лаб. пептидных иммуногенов ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Россия. E-mail: andsergej@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8297-579X>

Шершакова Надежда Николаевна – д-р биол. наук, и.о. зав. лаб. адаптивного иммунитета ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Россия. E-mail: nn.shershakova@ncii.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6444-6499>

Леснова Екатерина Ивановна – научный сотрудник лаборатории клеточной инженерии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: wolf252006@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2801-6843>

Симонов Руслан Александрович – лаборант-исследователь лаборатории клеточной инженерии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: simonoff.ra@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7706-8228>

Федорова Наталья Евгеньевна – канд. биол. наук, ведущий научный сотр. лаборатории клеточной инженерии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: ninani@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8466-7993>

Куц Алла Александровна – д-р биол. наук, проф., ведущий научный сотр. лаборатории клеточной инженерии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: vitalku@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-3396-5533>

Участие авторов: Чернорыж Я.Ю. – концепция и дизайн исследования, проведение экспериментов, анализ и статистическая обработка полученных результатов, подготовка текста; Юрлов К.И. – проведение экспериментов, анализ и интерпретация данных, подготовка текста; Гребенникова Т.В. – анализ и интерпретация данных, подготовка текста, одобрение окончательного варианта статьи для публикации; Андреев С.М., Шершак Н.Н. – синтез и характеристика дисперсного фуллерена dC_{60} ; Леснова Е.И., Симонов Р.А. – проведение экспериментов; Федорова Н.Е. – проведение пилотных исследований; Куц А.А. – разработка гипотезы исследования, организационно-методическая работа по дизайну исследования.

Поступила 24.04.2025
Принята в печать 14.08.2025
Опубликована онлайн 26.09.2025

Information about the authors:

Yana Yu. Chernoryzh✉ – PhD, Candidate of Medical Sciences, Researcher, laboratory of molecular diagnostics, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russia. E-mail: revengeful_w@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-9848-8515>

Kirill I. Yurlov, Researcher at the Laboratory of Cellular Engineering, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamalei, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: kir34292@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-4694-2445>

Tatyana V. Grebennikova – Doctor of Biological Sciences, Professor, Corresponding Member RAS, deputy Director for Science of the Division of the Ivanovsky Virology Institute Head of the Control Center of National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russia. E-mail: t_grebennikova@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6141-9361>

Sergey M. Andreev – PhD, Head of the of the Peptide Immunogens Lab., NRC Institute of Immunology, FMBA of Russia, Moscow, Russia. E-mail: andsergej@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8297-579X>

Nadezda N. Shershakova – Dr. Sci., Acting Head of Adaptive Immunity Lab., NRC Institute of Immunology, FMBA of Russia, Moscow, Russia. E-mail: nn.shershakova@nrcii.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6444-6499>

Ekaterina I. Lesnova – Researcher, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamalei, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: wolf252006@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2801-6843>

Ruslan A. Simonov – Laboratory Research Assistant, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamalei, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: simonoff.ra@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7706-8228>

Natalia E. Fedorova – PhD, Senior Researcher, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamalei, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: ninani@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8466-7993>

Alla A. Kushch – Professor, Dr. Sci. (Biology), Leading Researcher, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamalei, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia. E-mail: vitalku@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-3396-5533>

Contribution: Chernoryzh Ya.Yu – concept and design of research, performing the experiments, analysis and statistical processing of the obtained results, text preparation; Yurlov K.I. – performing the experiments, analysis and interpretation of data, text preparation. Grebennikova T.V. – analysis and interpretation of data, preparation of the text, approval of the final version of the article for publication; Andreev S.M., Shershakova N.N. – synthesis and characterization of aqueous fullerene dC_{60} ; Lesnova E.I., Simonov R.A. – performing the experiments; Fedorova N.E. – pilot study execution; Kushch A.A. – research hypothesis development, organizational and methodological work on study design.

Received 24 April 2025
Accepted 14 August 2025
Published online 26 September 2025