

Оригинальная статья / Original article

УДК 538.911

<https://doi.org/10.21869/2223-1528-2024-14-1-115-127>

Исследование окислительной реакции Фентона на культуре человеческих клеток фибробластов, инкубированных с аблированными частицами CeO_2

М. А. Пугачевский¹, А. А. Крюков², С. А. Додонова², Е. Б. Артюшкова²,
В. А. Мамонтов¹✉, В. В. Родионов¹

¹ Юго-Западный государственный университет
ул. 50 лет Октября, д. 94, г. Курск 305040, Российская Федерация

² Курский государственный медицинский университет Минздрава России
ул. К. Маркса, д. 3, г. Курск 305041, Российская Федерация

✉ e-mail: vladimir-mamontov2013@yandex.ru

Резюме

Цель. Исследование биопротекторных свойств аблированных наночастиц диоксида церия по отношению к иммортализованным фибробластам человека в условиях окислительного стресса, вызванного реакцией Фентона.

Методы. Методом лазерной абляции получены наночастицы диоксида церия. Выявлены средние предельные размеры аблированных частиц оксидированного церия с помощью метода атомно-силовой микроскопии. Спектрофотометрическим методом выявлено, что аблированные наночастицы диоксида церия проявляют антиоксидантные свойства и препятствуют деградации красителя метиленового синего в ходе реакции Фентона. Методом сканирующей электронной микроскопии с помощью энергодисперсионной приставки картированы образцы клеточных культур после их инкубации с аблированными наночастицами диоксида церия. Методом МТТ-анализа исследовано влияние аблированных наночастиц диоксида церия на выживаемость культуры клеток VJ TERT в реакции Фентона.

Результаты. Установлены средние предельные размеры аблированных наночастиц диоксида церия, значения которых составляют $(61,95 \pm 0,1)$ нм для нецентрифугированного водного раствора и $(56,59 \pm 0,1)$ нм для водного раствора, центрифугированного со скоростью 1000 об/мин. Выявлено, что в присутствии аблированных наночастиц диоксида церия степень окислительной деградации метиленового синего в ходе реакции Фентона снижалась. Из полученных СЭМ-изображений клеточных культур с аблированными наночастицами диоксида церия следует, что наночастицы захватываются клетками в процессе инкубации. Статистический анализ по результатам МТТ-анализа показал, что 6-часовая и 24-часовая инкубация с аблированными наночастицами диоксида церия оказывает выраженное защитное действие на клеточную линию VJ TERT.

Заключение. В данной работе показано, что в ходе реакции Фентона наночастицы диоксида церия предотвращают окислительную деградацию красителя метиленового синего. При инкубации иммортализованных фибробластов человека аблированные наночастицы оксида церия захватываются клетками и оказывают на них значительное защитное действие в окислительной реакции. Высокая антиоксидантная активность наночастиц определяется высоким содержанием функциональных дефектов на поверхности наночастиц, полученных в резко неравновесных условиях лазерной абляции.

Ключевые слова: диоксид церия; лазерная абляция; наносенсибилизатор; культуры фибробластов; антиоксидантная активность; реакция Фентона.

Финансирование: Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ и Министерства образования и науки Курской области (Соглашение № 23-29-10198, № 173).

© Пугачевский М. А., Крюков А. А., Додонова С. А., Артюшкова Е. Б., Мамонтов В. А., Родионов В. В., 2024

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

Для цитирования: Исследование окислительной реакции Фентона на культуре человеческих клеток фибробластов, инкубированных с аблированными частицами CeO_2 / М. А. Пугачевский, А. А. Крюков, С. А. Додонова, Е. Б. Артюшкова, В. А. Мамонтов, В. В. Родионов // Известия Юго-Западного государственного университета. Серия: Техника и технологии. 2024. Т. 14, № 1. С. 115–127. <https://doi.org/10.21869/2223-1528-2024-14-1-115-127>

Поступила в редакцию 18.01.2024

Подписана в печать 21.02.2024

Опубликована 26.03.2024

Study of the Fenton Oxidative Reaction on a Culture of Human Fibroblast Cells Incubated with Ablated CeO_2 Particles

Maksim A. Pugachevskii¹, Alexey A. Kryukov², Svetlana A. Dodonova²,
Elena B. Artyushkova², Vladimir A. Mamontov¹✉, Vladimir V. Rodionov¹

¹ Southwest State University
50 Let Oktyabrya Str. 94, Kursk 305040, Russian Federation

² Kursk State Medical University of the Ministry of Health of Russia
3 K. Marks Str., Kursk 305041, Russian Federation

✉ e-mail: vladimir-mamontov2013@yandex.ru

Abstract

Purpose. Study of the bioprotective properties of ablated cerium dioxide nanoparticles in relation to immortalized human fibroblasts under conditions of oxidative stress caused by the Fenton reaction.

Methods. Cerium dioxide nanoparticles with pronounced antioxidant properties were obtained using laser ablation. The average maximum sizes of ablated particles of oxidized cerium in non-centrifuged and centrifuged at a speed of 1000 rpm nanodispersed aqueous solutions were revealed using the method of atomic force microscopy. The spectrophotometric method revealed that ablated cerium dioxide nanoparticles exhibit antioxidant properties and prevent the degradation of the methylene blue dye during the Fenton reaction. Cell culture samples were mapped using scanning electron microscopy using an energy-dispersive attachment after their incubation with ablated cerium dioxide nanoparticles. Using MTT analysis, the effect of ablated cerium dioxide nanoparticles on the survival of BJ TERT cell culture in the Fenton reaction was studied. Non-centrifuged and centrifuged at a speed of 1000 rpm nanodispersed solutions of oxidized cerium were used. The antioxidant activity of cerium dioxide nanoparticles after 6- and 24-hour incubation was studied.

Results. The average limiting sizes of ablated cerium dioxide nanoparticles have been established, the values of which are $(61,95 \pm 0,1)$ nm for a non-centrifuged aqueous solution and $(56,59 \pm 0,1)$ nm for an aqueous solution centrifuged at a microcentrifuge speed of 1000 rpm. It was revealed that in the presence of ablated cerium dioxide nanoparticles, the degree of oxidative degradation of methylene blue during the Fenton reaction was significantly reduced. It was found that with an increase in the concentration of ablated cerium dioxide nanoparticles from 20 to 1000 mg/l, their antioxidant effect increased. From the obtained SEM images of cell cultures with ablated cerium dioxide nanoparticles, it follows that the nanoparticles are captured by cells during incubation and can have a significant effect on oxidative processes during the Fenton reaction. Statistical analysis based on the results of the MTT assay showed that 6-hour and 24-hour incubation with ablated cerium dioxide nanoparticles had a pronounced protective effect on the BJ TERT cell line.

Conclusion. This work shows that during the Fenton reaction, cerium dioxide nanoparticles prevent the oxidative degradation of the methylene blue dye. When immortalized human fibroblasts are incubated, ablated cerium oxide nanoparticles are taken up by the cells and have a significant protective effect on them in the oxidative reaction. The high antioxidant activity of nanoparticles is determined by the high content of functional defects on the surface of nanoparticles obtained under sharply nonequilibrium conditions of laser ablation.

Keywords: cerium dioxide; laser ablation; nanosensitizer; fibroblast cultures; antioxidant activity; Fenton reaction.

Funding: The study was financially supported by the Russian Science Foundation and the Ministry of Education and Science of the Kursk Region (Agreement No. 23-29-10198, No. 173).

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

For citation: Pugachevskii M. A., Kryukov A. A., Dodonova S. A., Artyushkova E. B., Mamontov V. A., Rodionov V. V. Study of the Fenton Oxidative Reaction on a Culture of Human Fibroblast Cells Incubated with Ablated CeO₂ Particles. *Izvestiya Yugo-Zapadnogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Tekhnika i tekhnologii = Proceedings of the Southwest State University. Series: Engineering and Technologies*. 2024; 14(1): 115–127. (In Russ.) <https://doi.org/10.21869/2223-1528-2024-14-1-115-127>

Received 18.01.2024

Accepted 21.02.2024

Published 26.03.2024

Введение

Структурные дефекты во многом определяют физико-химические свойства каталитических и антиоксидантных наноматериалов, повышая их биохимическую активность, термоупругие свойства, устойчивость к полиморфным фазовым превращениям и т. д. [1] В связи с этим лазерная абляция может стать перспективным способом получения наноматериалов [2]. Этот метод за счет структурирования вещества в резко неравновесных условиях с большим градиентом изменения температуры и концентрации позволяет получать наночастицы с поверхностными атомными слоями, обогащенными структурными дефектами [3].

В живых системах большое значение имеют антиоксидантные процессы, нейтрализующие химически активные радикалы, такие как активные формы кислорода и азота [4]. Антиоксиданты способны повышать устойчивость биологических форм к окислительному стрессу, вызванному как внутренними процессами, так и внешними физико-химическими воздействиями [5]. Оксид церия является перспективным антиоксидантом, обладающим рядом уникальных характеристик [6]. Благодаря способности наночастиц диоксида церия активно взаимодействовать с кислородом на поверхности реализуется антиоксидантный цикл, который способен нейтрализовать опасные радикалы активных форм кислорода (АФК), таких как короткоживущий гидроксид-

радикал ОН*, супероксид-анион O²⁻ и т. д. [7] Наночастицы оксида церия, полученные методом лазерной абляции, характеризуются более высокой биохимической активностью по сравнению с частицами, синтезированными в более равновесных условиях, например, при сольвотермическом синтезе [8]. В наших работах [9] было показано, что аблированные наночастицы оксида церия проявляют высокую антиоксидантную активность в фотокаталитическом процессе деградации метиленового синего под действием ультрафиолетового облучения. Кроме того, было обнаружено, что антиоксидантная активность наночастиц CeO₂ возрастает с увеличением рН среды [10].

Можно предположить, что аблированные наночастицы оксида церия из-за большого количества поверхностных структурных дефектов будут обладать высокой антиоксидантной активностью в окислительной реакции Фентона, предотвращая как деградацию органического красителя метиленового синего, так и гибель клеточных культур в ходе их реакции взаимодействия с АФК [11]. В данной работе для подтверждения биозащитных свойств аблированных наночастиц CeO₂ по отношению к культурным биологическим объектам мы представляем результаты исследования антиоксидантной активности этих частиц в отношении иммortalized фибробластов человека в условиях окислительного стресса, вызванного реакцией Фентона.

Материалы и методы

Наночастицы диоксида церия были получены методом лазерной абляции с использованием волоконно-оптического импульсного иттербиевого лазера IPG Photonics с опцией «Высокий контраст» на длине волны 1,06 мкм. Интенсивность излучения составляла 10^9 Вт/м², длительность импульса 200 мкс, частота следования до 1 кГц [9]. В результате воздействия сфокусированного лазерного излучения на цилиндрическую мишень из диоксида церия аблированные наночастицы распылялись на предметные стекла, расположенные на расстоянии 10 мм от мишени. В дальнейшем подложки с нанесенными на них наночастицами диоксида церия диспергировались ультразвуком в деионизированной воде с целью формирования нанодисперсных коллоидных растворов.

Размерный состав аблированных наночастиц диоксида церия изучали с помощью атомно-силового микроскопа СЗМ SmartSPM™-1000. Элементный состав охарактеризовали с помощью сканирующего электронного микроскопа JEOL 6610LV, оснащенного приставкой для энергодисперсионного анализа. Оптические характеристики изучали на спектрофотометре СФ-2000.

Для изучения защитных свойств наночастиц CeO₂ был проведен ряд этапов. Сначала были приготовлены растворы аблированных наночастиц оксида церия в ионизированной воде для определения антиоксидантной активности в реакции Фентона с органическим красителем метиленовым синим. Затем готовили растворы аблированных наночастиц оксида церия в среде для культивирования клеток, в которой впоследствии инкубировали культуральные клетки для экспериментов. Реакцию Фентона проводили на клеточных культурах, инкубированных

как с частицами, так и без них. На последнем этапе проводили анализ выживаемости клеток МТТ [12], сравнивая результаты с контрольными образцами без облучения.

Антиоксидантные свойства аблированных наночастиц оксида церия были изучены в реакции Фентона [13] на примере деградации красителя метиленового синего. В этой реакции перекись водорода взаимодействует с ионами двухвалентного железа, в результате чего образуются активные радикалы, приводящие к разрушению и люминесценции органического красителя [13]. Краситель метиленовый синий содержит как мономерную форму, характеризующуюся светопоглощением с максимумом при длине волны $\lambda_{\text{макс}} = 668$ нм, так и димерную форму с максимумом при $\lambda_{\text{макс}} = 612$ нм. Остаточную концентрацию красителя измеряли фотометрическим методом на спектрофотометре СФ-2000. В эксперименте концентрация FeSO₄ в растворе составляла 0,48 г/л; концентрация H₂O₂ устанавливалась в диапазоне от 0,88 мг/л до 13,2 мг/л. Изучены антиоксидантные свойства наночастиц диоксида церия в зависимости от их концентрации в растворах в диапазоне от 20 до 1000 мг/л.

Иммортиализованные фибробласты человека (BJ TERT), полученные из Американской коллекции культур (ATCC), культивировали в соответствии со стандартным протоколом. В частности, BJ TERT выращивали в среде DMEM с 10% фетальной бычьей сыворотки, 1% антибиотика (5000 ед/мл пенициллина, 5 мг/мл стрептомицина) и 1% добавки Gibco™ GlutaMAX™ в CO₂-инкубаторе с 5% атмосферой при 37°C и относительной влажности 96%. Культуральную среду меняли каждые 3 дня.

Наночастицы оксида церия, полученные методом лазерной абляции, диспергировали в среде культуры клеток с помощью ультразвуковой ванны (мощность не более 30 Вт) и центрифугировали с помощью высокоскоростной центрифуги со скоростью 10 об/мин до установления предельного размера частиц не более чем 50 нм.

Иммортиализованные фибробласты человека высевали в 24-луночные планшеты при концентрации клеток в суспензии $1 \cdot 10^5$ /мл и инкубировали в стандартных контролируемых условиях в течение 48 часов. Затем культуральную среду удаляли и добавляли среду, содержащую наночастицы диоксида церия. Клетки продолжали инкубировать еще 24 часа. Отдельно клетки высевали в 24-луночные планшеты на 66 часов, затем культуральную среду заменяли средой, содержащей наночастицы диоксида церия. Инкубацию продолжали еще 6 часов.

После инкубации клеток с наночастицами среду полностью удаляли из лунок, затем к клеткам добавляли по 1 мл водного раствора хлорида натрия 0,9%, содержащего наночастицы. Далее для проведения реакции Фентона в лунки добавляли по 20 мкл 3%-ной H_2O_2 и 40 мкл $FeSO_4$ и инкубировали в течение 30 мин при температуре $37^\circ C$. В контрольные лунки добавляли по 1 мл водного раствора хлорида натрия 0,9%. Для оценивания жизнеспособности фибробластов использовали МТТ-анализ.

МТТ-анализ проводили по стандартному протоколу после инкубации клеток с наночастицами. Соль МТТ растворяли в PBS (маточный раствор; 5 мг/мл). После инкубации с наночастицами реакцию среду удаляли, МТТ растворяли в культуральной среде (рабочий раствор: 0,5 мг/мл) и добавляли в каждую лунку для инкубации в течение 30 мин. Затем раствор ММТ удаляли и добавляли ДМСО

на 5 мин. Наконец, раствор переносили на 96-луночный планшет и регистрировали поглощение на спектрофотометре (Multiscan, Labsystems, Финляндия), установленном при $\lambda = 540$ нм.

Для анализа нормальности распределения данных использовался тест Шапиро – Уилка. Для анализа параметрических данных использовался однофакторный тест ANOVA. Тест Даннета использовался в качестве апостериорного анализа. Критическое значение значимости (p-значение) было принято равным 0,05.

Результаты и их обсуждение

Исследования с помощью атомно-силовой микроскопии (СЗМ SmartSPM™-1000) показали (рис. 1), что средний предельный размер исходных аблированных наночастиц составляет $(61,95 \pm 0,1)$ нм. Ультразвуковое диспергирование и последующее центрифугирование позволяют снизить средний предельный размер частиц в коллоидной системе до значения $(56,59 \pm 0,1)$ нм [14].

На рисунке 2 представлены совмещённые гистограммы распределения по размерам нанодисперсных водных растворов диоксида церия, нецентрифугируемых и центрифугируемых со скоростью 1000 об/мин после процесса ультразвукового диспергирования. Согласно результатам средний предельный размер частиц после процесса центрифугирования уменьшается до $(56,59 \pm 0,1)$ нм.

Кристаллическая решетка аблированных наночастиц, как по данным электронной, так и рентгеновской дифракции, соответствует кубической структуре SeO_2 [9]. Однако фазы SeO_{2-x} с дифракционными пиками обнаруживаются и в аблированных наночастицах. Эти фазы являются производными SeO_2 , сильно обогащенными кислородными вакансиями [15].

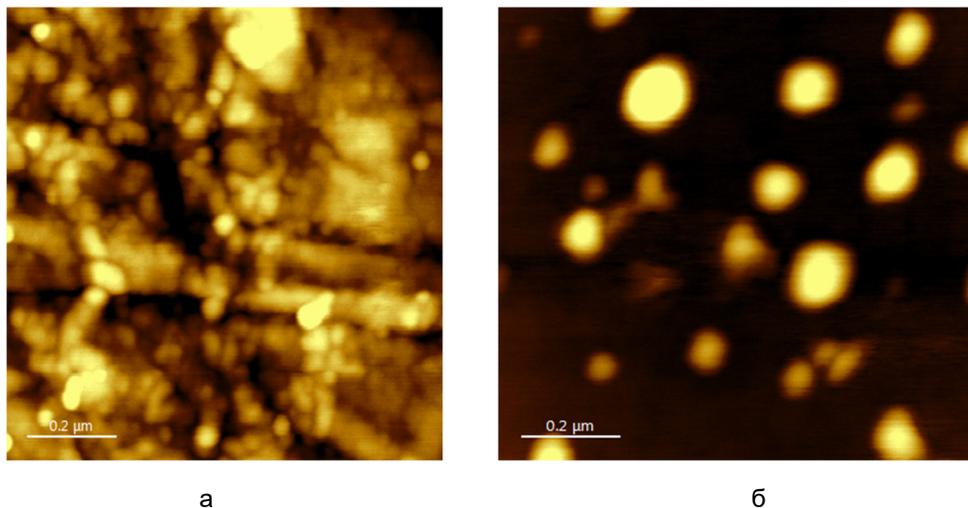


Рис. 1. АСМ-изображения аблированных наночастиц CeO_2 , а – нецентрифугированных; б – центрифугированных со скоростью 1000 об/мин

Fig. 1. AFM images of ablated CeO_2 nanoparticles: а – non-centrifuged; б – centrifuged at a speed of 1000 rpm

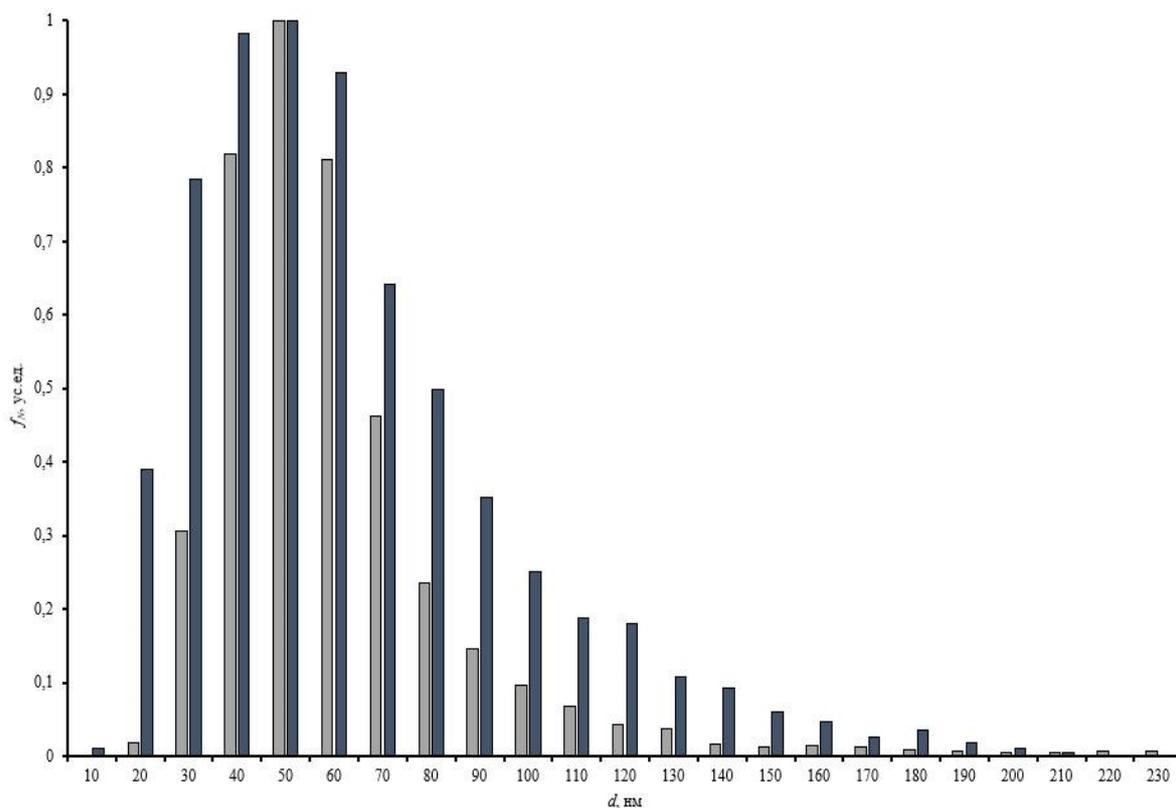


Рис. 2. Совмещённая гранулометрия аблированных наночастиц оксидированного церия по АСМ-изображениям: серый цвет – нецентрифугированных; чёрный цвет – центрифугированных со скоростью 1000 об/мин

Fig. 2. Combined granulometry of ablated oxidized cerium nanoparticles according to AFM images: gray color – non-centrifuged; black color – centrifuged at 1000 rpm

В экспериментах по окислительной деструкции органического красителя метиленового синего в ходе реакции Фентона установлено, что остаточная концентрация красителя снижается с увеличением содержания окислителя H_2O_2 (рис. 3). При этом наблюдался гипохромный (длинноволновый) сдвиг в максимумах пиков поглощения.

При добавлении в раствор наночастиц диоксида церия степень окислительной деструкции метиленового синего существенно снижалась (рис. 3). Также можно отметить, что с увеличением содержания наночастиц диоксида церия от 20 до 1000 мг/л антиоксидантный эффект возрастал.

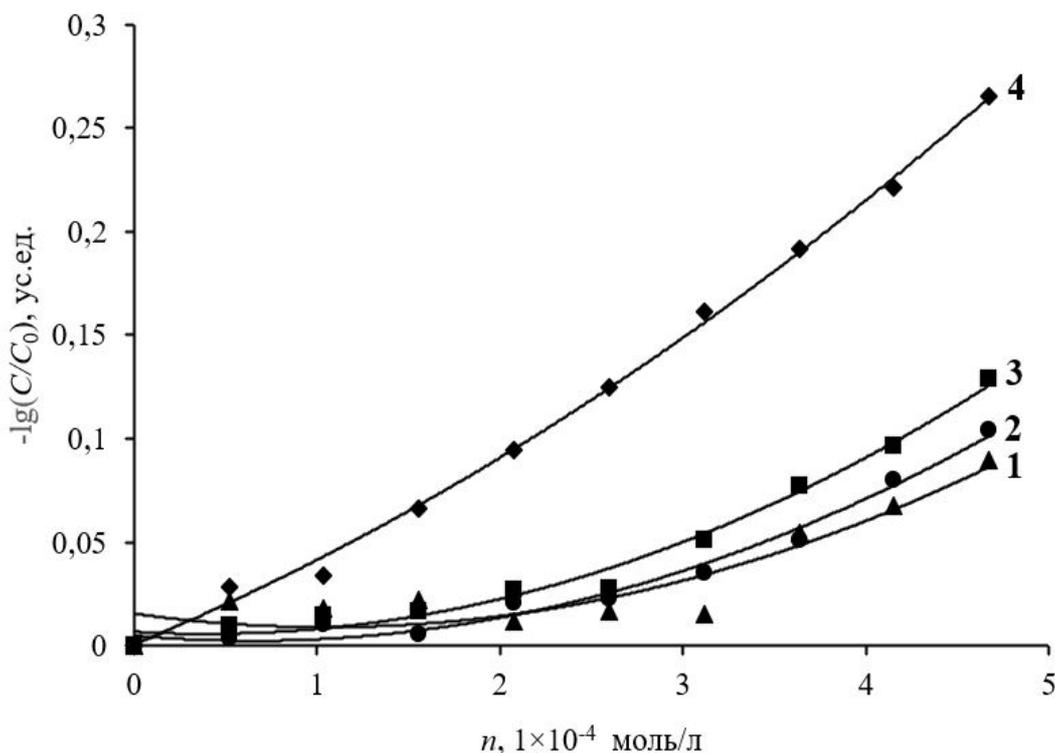


Рис. 3. Зависимость отрицательного логарифма остаточной концентрации раствора метиленового синего от содержания перекиси водорода в присутствии наночастиц CeO_2 с концентрацией: 1 – 400 мг/л; 2 – 40 мг/л; 3 – 20 мг/л; 4 – без наночастиц CeO_2 ; сплошные линии – аппроксимирующие кривые

Fig. 3. Dependence of the residual concentration of the methylene blue solution on the content of hydrogen peroxide in the presence of CeO_2 nanoparticles with a concentration of: 1 – 400 mg/L; 2 – 40 mg/L; 3 – 20 mg/L; 4, without CeO_2 nanoparticles; solid lines are approximating curves

С помощью энергодисперсионной приставки сканирующего электронного микроскопа картировали образцы клеточных культур после их инкубации с наночастицами оксида церия (рис. 4). На рисунке 4 представлено составное изображение, состоящее из СЭМ-изображения иммортализованного фибробласта (рис. 4, а)

и карты распределения элементов Се по поверхности образца с разрешением 100×100 пикселей (рис. 4, б). Из рисунка видно, что аблированные наночастицы оксида церия захватываются клетками в процессе инкубации и могут оказывать существенное влияние на окислительные процессы в ходе реакции Фентона.

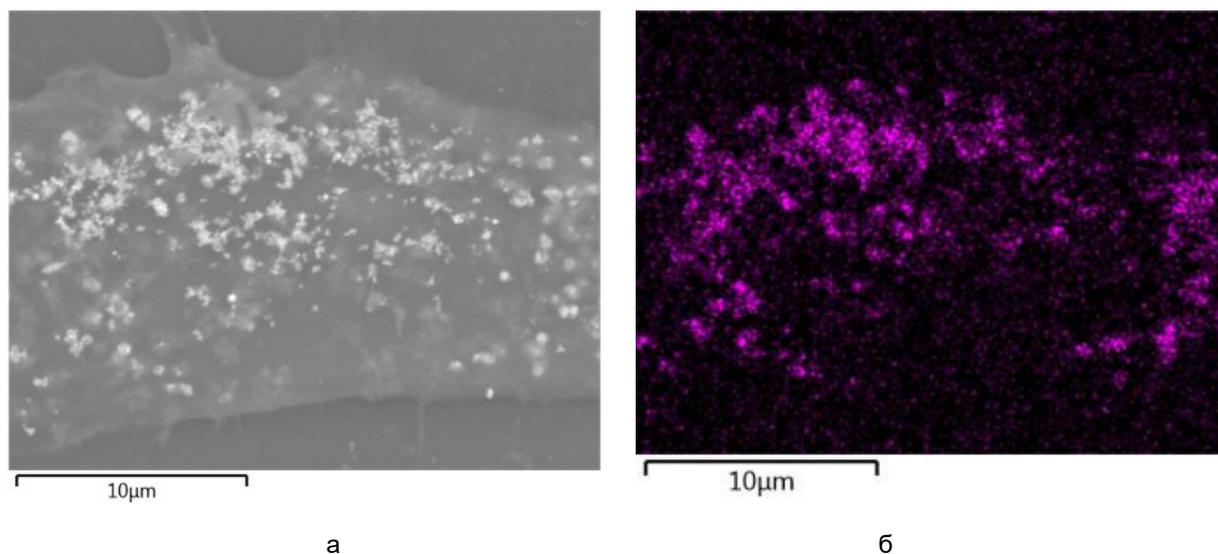


Рис. 4. СЭМ-изображения фибробластов BJ TERT (а) и EDX-картирование фибробластов, инкубированных с удаленными наночастицами CeO₂ (б)

Fig. 4. SEM images of BJ TERT fibroblast cells (a) and EDX mapping fibroblast cells incubated with ablated CeO₂ nanoparticles (б)

В ходе эксперимента изучали влияние наносенсибилизатора диоксида церия на выживаемость культуры клеток BJ TERT в условиях реакции Фентона. Наночастицы диоксида церия использовали без центрифугирования и после центрифугирования со скоростью 1000 об/мин. Изучена антиоксидантная активность наночастиц диоксида церия после 6-часовой и 24-часовой инкубации. По результатам

однофакторного дисперсионного анализа выявлены статистически значимые различия между средними значениями в исследуемых группах $F(7, 39) = 10,8$; $p = 0,0000$.

Статистический анализ по результатам МТТ-анализа показывает, что 6-часовая и 24-часовая инкубация с наночастицами диоксида церия оказывает выраженное защитное действие на клеточную линию BJ TERT (табл. 1).

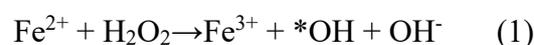
Таблица 1. Результаты МТТ-теста клеточной линии BJ TERT с наночастицами CeO₂ после реакции Фентона

Table 1. Results of the MTT test for the BJ TERT cell line with CeO₂ nanoparticles after Fenton

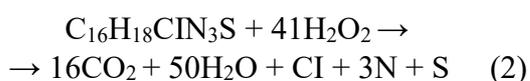
Образцы	МТТ тест
Контроль	100±5%
Фентон	76±5%
Фентон + CeO ₂ (0 об/мин; 6 часов)	77±5%
Фентон + CeO ₂ (1000 об/мин; 6 часов)	76±5%
Фентон + CeO ₂ (0 об/мин; 24 часа)	83±5%
Фентон + CeO ₂ (1000 об/мин; 24 часа)	85±5%

Поясняя полученные результаты, можно отметить следующее. В ходе реакции Фентона образуется высокореактивный короткоживущий гидроксильный радикал OH^{*}, который является одним из

наиболее опасных компонентов активных форм кислорода (АФК) [16]:



Этот радикал окисляет многие органические вещества, что приводит, в частности, к обесцвечиванию органических красителей, таких как метиленовый синий. По остаточной интенсивности окраски метиленового синего можно судить о его деградации и, соответственно, о количестве и активности АФК [17]. Уравнение реакции окислительной деградации красителя метиленового синего перекисью водорода выглядит следующим образом:



Таким образом, наночастицы оксида церия могут служить мощным антиоксидантом окислительных процессов, предотвращая деградацию органических соединений. В результате окислительно-восстановительных реакций степень окисления церия в CeO_2 варьируется от Ce^{3+} до Ce^{4+} , что сопровождается генерацией кислородных вакансий на поверхности и в объеме материала [18]. Как было отмечено, эффективность окислительно-восстановительных циклов возрастает с увеличением числа кислородных вакансий на поверхности CeO_2 . На основе обратимого перехода между CeO_2 и Ce_2O_3 на поверхности наночастиц диоксида церия реализуется антиоксидантный цикл, эффективно устраняющий вредные для живых организмов активные формы кислорода (АФК), такие как супероксид O_2^- , перекись водорода H_2O_2 [19], а также высокореактивный короткоживущий гидроксильный радикал OH^* [20].

Представленные результаты наглядно демонстрируют, что наночастицы CeO_2 , полученные методом лазерной абляции, обладают хорошими антиоксидантными свойствами. Высокая антиоксидантная активность аблированных наночастиц оксида церия определяется высоким содержанием функциональных дефектов на поверхности наноразмерных частиц. С

уменьшением размера частиц диоксида церия в них существенно возрастает концентрация структурных дефектов, в частности кислородных вакансий. Поскольку при центрифугировании со скоростью 1000 об/мин средний размер частиц CeO_2 в водных растворах уменьшается до 25 нм, полученные частицы должны содержать большее количество структурных дефектов, что в конечном итоге и определяет их отличительные антиоксидантные свойства. Кроме того, резко неравновесные условия лазерной абляции, в которых происходит образование аблированных наночастиц, способствуют их повышенному обогащению поверхностными структурными дефектами [10]. Полученные результаты могут иметь большое значение для разработки новых перспективных антиоксидантных препаратов.

Выводы

1. С помощью лазерной абляции получены наночастицы диоксида церия, проявляющие антиоксидантные свойства в процессах окислительной деградации органического красителя метиленового синего по реакции Фентона. С увеличением содержания наночастиц диоксида церия в водном растворе от 20 до 1000 мг/л интенсивность антиоксидантного процесса возрастает.

2. В процессе инкубации аблированные наночастицы оксида церия захватываются клетками и могут оказывать существенное влияние на окислительные процессы.

3. Инкубация в течение 6 и 24 часов с наночастицами диоксида церия оказывает выраженное защитное действие на иммортализованные фибробласты человека в ходе реакции Фентона.

4. Высокая антиоксидантная активность наночастиц определяется высоким содержанием функциональных дефектов на поверхности наночастиц, полученных в резко неравновесных условиях лазерной абляции.

Список литературы

1. Luo Y., Wu Y. Defect engineering of nanomaterials for catalysis // *Nanomaterials*. 2023. Vol. 13, no. 6. P. 1116. <https://doi.org/10.3390/nano13061116>.
2. Nanoparticles engineering by pulsed laser ablation in liquids: Concepts and applications / E. Fazio, B. Gökce, F. De Giacomo [et al.] // *Nanomaterials*. 2020. Vol. 10, no. 11. P. 2317. <https://doi.org/10.3390/nano10112317>.
3. The role of laser ablation technique parameters in synthesis of nanoparticles from different target types / H. Naser, M. A. Alghoul, M. K. Hossain [et al.] // *Journal of Nanoparticle Research*. 2019. Vol. 21. P. 1–28. <https://doi.org/10.1007/s11051-019-4690-3>.
4. Antioxidant functionalized nanoparticles: A combat against oxidative stress / H. Kumar, K. Bhardwaj, E. Nepovimova [et al.] // *Nanomaterials*. 2020. Vol. 10, no. 7. P. 1334. <https://doi.org/10.3390/nano10071334>.
5. Ali R. D., Sih B. T., Omran D. G. Effect of nanoparticles and ionization radiation on some oxidant and antioxidant enzymes // *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology*. 2021. Vol. 15, no. 4. P. 3084–3089.
6. Matussin S. N., Harunsani M. H., Khan M. M. CeO₂ and CeO₂-based nanomaterials for photocatalytic, antioxidant and antimicrobial activities // *Journal of Rare Earths*. 2023. Vol. 41, no. 2. P. 167–181. <https://doi.org/10.1016/j.jre.2022.09.003>.
7. Cerium oxide nanoparticles: Synthesis and characterization for biosafe applications / P. P. Tumkur, N. K. Gunasekaran, R. Lamani [et al.] // *Nanomanufacturing*. 2021. Vol. 1, no. 3. P. 176–189. <https://doi.org/10.3390/nanomanufacturing1030013>.
8. Walton R. I. Solvothermal synthesis of cerium oxides // *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials*. 2011. Vol. 57, no. 4. P. 93–108. <https://doi.org/10.1016/j.pcrysgrow.2011.10.002>.
9. Antioxidant properties of stabilized CeO₂ nanoparticles / M. A. Pugachevskii, A. N. Chibisov, V. A. Mamontov, A. P. Kuzmenko // *Physica status solidi (a)*. 2021. Vol. 218, no. 20. P. 2100355. <https://doi.org/10.1002/pssa.202100355>.
10. Effect of pH on antioxidant properties of ablated CeO₂ nanoparticles in photocatalytic process / M. A. Pugachevskii, V. A. Mamontov, A. V. Siy, A. P. Kuzmenko // *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 2022. Vol. 106. P. 74–76.
11. Effect of morphology and size on the thermodynamic stability of cerium oxide nanoparticles: Experiment and molecular dynamics calculation / A. N. Chibisov, M. A. Pugachevskii, Myo Min Tan, A. I. Kartsev, A. P. Kuzmenko // *Nanotechnology Reviews*. 2022. Vol. 11, no. 1. P. 620–624. <https://doi.org/10.1515/ntrev-2022-0038>.
12. The MTT assay: utility, limitations, pitfalls, and interpretation in bulk and single-cell analysis / M. Ghasemi, T. Turnbull, S. Sebastian, I. Kempson [et al.] // *International journal of molecular sciences*. 2021. Vol. 22, no. 23. P. 12827. <https://doi.org/10.3390/ijms222312827>.
13. Fenton reaction—unique but still mysterious / F. Kastanek, M. Spacilova, P. Krystynik [et al.] // *Processes*. 2023. Vol. 11, no. 2. P. 432. <https://doi.org/10.3390/pr11020432>.
14. Антиоксидантная активность аблированных наночастиц диоксида церия в окислительной фотокаталитической реакции / В. А. Мамонтов, В. В. Родионов, А. Ю. Рыженкова, И. В. Егельский, В. И. Каленчук, М. А. Пугачевский // *Известия Юго-Западного государственного университета. Серия: Техника и технологии*. 2023. Т. 13, № 3. С. 199–210. <https://doi.org/10.21869/2223-1528-2023-13-3-199-210>.
15. Oxygen-vacancy engineering of cerium-oxide nanoparticles for antioxidant activity / C. Gu-nanwan, M. S. Lord, E. Lovell [et al.] // *ACS omega*. 2019. Vol. 4, no. 5. P. 9473–9479. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b00521>.
16. Towards reliable quantification of hydroxyl radicals in the Fenton reaction using chemical probes / R. Burgos Castillo, J.-M. Fontmorin, W. Z. Tang [et al.] // *RSC advances*. 2018. Vol. 8, no. 10. P. 5321–5330. <https://doi.org/10.1039/C7RA13209C>.

17. Photocatalytic degradation of tetracycline in aqueous medium using ZnWO₄/Bi₂MoO₆ nanocomposites under natural sunlight / G. Kumar, I. Mukherjee, M. Dubey [et al.] // *International Journal of Environmental Science and Technology*. 2023. Vol. 20, no. 3. P. 2903–2918. <https://doi.org/10.15406/japlr.2023.12.00421>.

18. Mechanism and dynamics of fast redox cycling in cerium oxide nanoparticles at high oxidant concentration / V. Seminko, P. Maksimchuk, G. Grygorova [et al.] // *The Journal of Physical Chemistry C*. 2021. Vol. 125, no. 8. P. 4743–4749. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.1c00382>.

19. Antioxidant cerium oxide nanoparticles in biology and medicine / B. C. Nelson, M. E. Johnson, M. L. Walker [et al.] // *Antioxidants*. 2016. Vol. 5, no. 2. P. 15.

20. Functionalized cerium oxide nanoparticles mitigate the oxidative stress and pro-inflammatory activity associated to the portal vein endothelium of cirrhotic rats / J. Ribera, J. Rodrigues-Vita, B. Cordoba [et al.] // *PLoS One*. 2019. Vol. 14, no. 6. P. e0218716. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218716>.

References

1. Luo Y., Wu Y. Defect engineering of nanomaterials for catalysis. *Nanomaterials*, 2023, vol. 13, no. 6, pp. 1116. <https://doi.org/10.3390/nano13061116>

2. Fazio E., Gökce B., F. De Giacomo, eds. Nanoparticles engineering by pulsed laser ablation in liquids: Concepts and applications. *Nanomaterials*, 2020, vol. 10, no. 11, pp. 2317. <https://doi.org/10.3390/nano10112317>

3. Naser H., Alghoul M. A., Hossain M. K., eds. The role of laser ablation technique parameters in synthesis of nanoparticles from different target types. *Journal of Nanoparticle Research*, 2019, vol. 21, pp. 1–28. <https://doi.org/10.1007/s11051-019-4690-3>

4. Kumar H., Bhardwaj K., Nepovimova E., eds. Antioxidant functionalized nanoparticles: A combat against oxidative stress. *Nanomaterials*, 2020, vol. 10, no. 7, pp. 1334. <https://doi.org/10.3390/nano10071334>

5. Ali R. D., Sih B. T., Omran D. G. Effect of nanoparticles and ionization radiation on some oxidant and antioxidant enzymes. *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology*, 2021, vol. 15, no. 4, pp. 3084–3089.

6. Matussin S. N., Harunsani M. H., Khan M. M. CeO₂ and CeO₂-based nanomaterials for photocatalytic, antioxidant and antimicrobial activities. *Journal of Rare Earths*, 2023, vol. 41, no. 2, pp. 167–181. <https://doi.org/10.1016/j.jre.2022.09.003>

7. Tumkur P. P., Gunasekaran N. K., Lamani R., eds. Cerium oxide nanoparticles: Synthesis and characterization for biosafe applications. *Nanomanufacturing*, 2021, vol. 1, no. 3, pp. 176–189. <https://doi.org/10.3390/nanomanufacturing1030013>

8. Walton R. I. Solvothermal synthesis of cerium oxides. *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials*, 2011, vol. 57, no. 4, pp. 93–108. <https://doi.org/10.1016/j.pcrysgrow.2011.10.002>

9. Pugachevskii M. A., Chibisov A. N., Mamontov V. A., Kuzmenko A. P. Antioxidant properties of stabilized CeO₂ nanoparticles. *Physica status solidi (a)*, 2021, vol. 218, no. 20, pp. 2100355. <https://doi.org/10.1002/pssa.202100355>

10. Pugachevskii M. A., Mamontov V. A., Siy A. V., Kuzmenko A. P. Effect of pH on antioxidant properties of ablated CeO₂ nanoparticles in photocatalytic process. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 2022, vol. 106, pp. 74–76.

11. Chibisov A. N., Pugachevskii M. A., Myo Min Tan, Kartsev A. I., Kuzmenko A. P. Effect of morphology and size on the thermodynamic stability of cerium oxide nanoparticles: Experiment and molecular dynamics calculation. *Nanotechnology Reviews*, 2022, vol. 11, no. 1, pp. 620–624. <https://doi.org/10.1515/ntrev-2022-0038>

12. Ghasemi M., Turnbull T., Sebastian S., Kempson I., eds. The MTT assay: utility, limitations, pitfalls, and interpretation in bulk and single-cell analysis. *International journal of molecular sciences*, 2021, vol. 22, no. 23, pp. 12827. <https://doi.org/10.3390/ijms222312827>

13. Kastanek F., Spacilova M., Krystynik P., eds. Fenton reaction—unique but still mysterious. *Processes*, 2023, vol. 11, no. 2, pp. 432. <https://doi.org/10.3390/pr11020432>
14. Mamontov V. A., Rodionov V. V., Ryzhenkova A. Yu., Egel'skii I. V., Kalenchuk V. I., Pugachevskii M. A. Antioksidantnaya aktivnost' ablirovannykh nanochastits dioksida tseriya v okislitel'noi fotokataliticheskoi reaktsii [Antioxidant activity of ablated cerium dioxide nanoparticles in the oxidative photocatalytic reaction]. *Izvestiya Yugo-Zapadnogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Tekhnika i tekhnologii = Proceedings of the Southwest State University. Series: Engineering and Technologies*, 2023, vol. 13, no. 3, pp. 199–210. <https://doi.org/10.21869/2223-1528-2023-13-3-199-210>
15. Gunawan C., Lord M. S., Lovell E., eds. Oxygen-vacancy engineering of cerium-oxide nanoparticles for antioxidant activity. *ACS omega*, 2019, vol. 4, no. 5, pp. 9473–9479. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b00521>
16. Burgos Castillo R., Fontmorin J.-M., Tang W. Z., eds. Towards reliable quantification of hydroxyl radicals in the Fenton reaction using chemical probes. *RSC advances*, 2018, vol. 8, no. 10, pp. 5321–5330. <https://doi.org/10.1039/C7RA13209C>
17. Kumar G., Mukherjee I., Dubey M., eds. Photocatalytic degradation of tetracycline in aqueous medium using ZnWO₄/Bi₂MoO₆ nanocomposites under natural sunlight. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2023, vol. 20, no. 3, pp. 2903–2918. <https://doi.org/10.15406/japlr.2023.12.00421>
18. Seminko V., Maksimchuk P., Grygorova G., eds. Mechanism and dynamics of fast redox cycling in cerium oxide nanoparticles at high oxidant concentration. *The Journal of Physical Chemistry C*. 2021, vol. 125, no. 8, pp. 4743–4749. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.1c00382>.
19. Nelson B. C., Johnson M. E., Walker M. L., eds. Antioxidant cerium oxide nanoparticles in biology and medicine. *Antioxidants*, 2016, vol. 5, no. 2, pp. 15.
20. Ribera J., Rodrigues-Vita J., Cordoba B., eds. Functionalized cerium oxide nanoparticles mitigate the oxidative stress and pro-inflammatory activity associated to the portal vein endothelium of cirrhotic rats. *PLoS One*, 2019, vol. 14, no. 6, pp. e0218716. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218716>

Информация об авторах / Information about the Authors

Пугачевский Максим Александрович, доктор физико-математических наук, профессор кафедры нанотехнологий, микроэлектроники, общей и прикладной физики, директор Регионального центра нанотехнологий, Юго-Западный государственный университет, г. Курск, Российская Федерация, e-mail: pmaximal@mail.ru, ORCID: 0000-0002-5004-0823

Maksim A. Pugachevskii, Doctor of Sciences (Physics and Mathematics), Professor at the Department of Nanotechnology, Microelectronics and Engineering Physics, Director of the Regional Center of Nanotechnology, Southwest State University, Kursk, Russian Federation, e-mail: pmaximal@mail.ru, ORCID: 0000-0002-5004-0823

Крюков Алексей Анатольевич, кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической физиологии, заведующий лабораторией НИИ экспериментальной медицины, Курский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Курск, Российская Федерация, e-mail: KrukovAA@kursksmu.net, ORCID: 0000-0002-3181-7828

Alexey A. Kryukov, Candidate of Sciences (Medicine), Associate Professor of the Department of Pathological Physiology, Head of the Laboratory of the Research Institute of Experimental Medicine, Kursk State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Kursk, Russian Federation, e-mail: KrukovAA@kursksmu.net, ORCID: 0000-0002-3181-7828

Додонова Светлана Александровна, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры патологической физиологии, заместитель декана факультетов стоматологического, медико-профилактического дела и ВСО, младший научный сотрудник НИИ общей патологии, Курский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Курск, Российская Федерация, e-mail: dodonovasveta@mail.ru, ORCID: 0000-0001-8491-3082

Svetlana A. Dodonova, Candidate of Sciences (Medicine), Assistant of the Department of Pathological Physiology, Deputy Dean of the Faculties of Dentistry, medical-Preventive Care and VSO, Research Assistant of the Research Institute of General Pathology, Kursk State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Kursk, Russian Federation, e-mail: dodonovasveta@mail.ru, ORCID: 0000-0001-8491-3082

Артюшкова Елена Борисовна, доктор биологических наук, доцент, директор НИИ экспериментальной медицины, профессор кафедры фармакологии, Курский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Курск, Российская Федерация, e-mail: eartyushkova@mail.ru, ORCID: 0000-0003-3777-6622

Elena B. Artyushkova, Doctor of Sciences (Biology), Associate Professor, Director of the Research Institute of Experimental Medicine, Professor of the Department of Pharmacology, Kursk State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Kursk, Russian Federation, e-mail: eartyushkova@mail.ru, ORCID: 0000-0003-3777-6622

Мамонтов Владимир Александрович, аспирант кафедры нанотехнологий, микроэлектроники, общей и прикладной физики, Юго-Западный государственный университет, г. Курск, Российская Федерация, e-mail: vladimir-mamontov2013@yandex.ru, ORCID: 000-0003-0592-3851

Vladimir A. Mamontov, Post-Graduate Student at the Department of Nanotechnology, Microelectronics and Engineering Physics, Southwest State University, Kursk, Russian Federation, e-mail: vladimir-mamontov2013@yandex.ru, ORCID: 0000-0003-0592-3851

Родионов Владимир Викторович, кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник Регионального центра нанотехнологий, Юго-Западный государственный университет, г. Курск, Российская Федерация, e-mail: vovarodionov2009@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-1893-1941

Vladimir V. Rodionov, Candidate of Sciences (Physics and Mathematics), Senior Researcher of the Regional Center of Nanotechnology, Southwest State University, Kursk, Russian Federation, e-mail: vovarodionov2009@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-1893-1941