

Изучение цитотоксичности углеродных наночастиц

Научный руководитель – Пирутин Сергей Константинович

Шанк М.А.¹, Жа С.²

1 - Университет МГУ-ППИ в Шэньчжэне, Шэньчжэнь, Китай, E-mail: mikhailshank@gmail.com;

2 - Университет МГУ-ППИ в Шэньчжэне, Шэньчжэнь, Китай, E-mail: d.shunchao@yandex.ru

Изучение наноструктур и создание искусственных наночастиц открывают широкие возможности их применения в различных сферах, включая биологию и медицину. Однако, взаимодействие углеродных наночастиц с живыми клетками может вызывать нежелательные последствия, например, окислительный стресс. Следовательно, проведение исследований на модельных системах на основе клеточных препаратов, таких как макрофаги, является крайне важным. Эти исследования помогут лучше понять влияние наночастиц на живые организмы и оценить их потенциальные преимущества и риски.

Целью настоящей работы было изучение цитотоксического действия углеродных наночастиц (УНЧ) на клеточных препаратах на основе перитонеальных мышинных макрофагов.

Объектом исследования были перитонеальные макрофаги беспородных белых мышей самцов. Для выделения макрофагов использовался стандартный метод цервикальной дислокации для дальнейшего получения клеток из брюшной полости мышей. В брюшную полость вводился раствор Хэнкса в объеме 1,2 мл, содержащего 10 моль/л HEPES (pH 7.2) на две минуты, а затем извлекался уже с макрофагами. После выделения, макрофаги были прикреплены к поверхности покровного стекла путем 45-ти минутной инкубации при 20°C, после чего были помещены в малые чашки Петри с раствором Хэнкса и HEPES в объеме 2мл. Клетки находились в этом растворе в течение всего эксперимента.

В исследовании применялся микрофлуориметрический анализ (МА) клеток и метод их перекрестной окраски флуоресцентными зондами, такими как флуоресцеиндиацетат (ФДА) и бромид этидия (БЭ) (концентрация 5 мкг/мл). После 15-ти минутной темновой инкубации клеток с зондами, удаляли красители и подсчитывали количество клеток с поврежденной мембраной. Зеленая флуоресценция при МА обозначала целостность клеток, а оранжевая или красная указывала на повреждение мембраны. При повреждении мембраны, флуоресцеин покидал клетку, а БЭ связывался с ДНК и РНК клеток, проникая через дефекты мембраны.

Результаты экспериментов показали, что мембраны начинают значительно повреждаться через 90 минут инкубации при концентрациях УНЧ от 0,0009 до 0,0225мкг/мл при 20°C, достигая максимального уровня через 210 минут. Увеличение концентрации наночастиц в исследуемом диапазоне не приводит к значительному увеличению повреждения. При изучении повреждающего воздействия УНЧ на плазматические мембраны макрофагов при температуре 37°C в течение 60 минут, наблюдалось резкое увеличение числа клеток с поврежденной мембраной уже через 15 минут совместной инкубации. При повышении концентрации эффект повреждения проявляется ещё более явно на 15-й минуте инкубации, но не так сильно на более поздних этапах. Повреждение мембран перитонеальных макрофагов обусловлено увеличением генерации активных форм кислорода и интенсивности процесса перекисного окисления липидов, что приводит к повреждению липидного бислоя плазматической мембраны.