

*Онищенко А.И.¹, Прокопюк В.Ю.¹, Ефимова С.Л.², Максимчук П.О.²,
Ткаченко А.С.¹*

Наночастицы ортованадата гадолиния-итрия ингибируют липополисахарид-индуцированную генерацию активных форм кислорода

¹Харьковский национальный медицинский университет, Харьков,
Украина

²Институт сцинтилляционных материалов НАН Украины, Харьков,
Украина

Окислительный стресс характеризуется дисбалансом между продукцией активных форм кислорода (АФК) и их элиминацией с помощью антиоксидантной системы. Окислительный стресс и сопутствующее повреждение макромолекул свободными радикалами вовлечены в патогенез множества заболеваний (аутоиммунная патология, нейродегенеративные заболевания, атеросклероз, сахарный диабет и т.д.). Для борьбы с окислительным стрессом используются молекулы-антиоксиданты, которые способны связывать свободные радикалы и АФК. В то же время, использование как встречающихся в природе,

так и синтетических антиоксидантов лимитируется плохой всасываемостью, трудностями при прохождении через клеточные мембраны и проблемами таргетной доставки, что снижает их биодоступность. Таким образом, актуальным вопросом является оценка возможности использования наночастиц с антиоксидантными свойствами. Примером подобного рода наноматериалов являются наночастицы ортованадатов гадолиния-иттрия ($GdYVO_4:Eu^{3+}$), антиоксидантные свойства которых уже были продемонстрированы в бесклеточных системах.

Целью работы явилось изучение способности наночастиц $GdYVO_4:Eu^{3+}$ влиять на липополисахарид (ЛПС)-индуцированную генерацию АФК в лейкоцитах.

Материалы и методы. Эксперимент проводили на 9 половозрелых крысах популяции WAG в соответствии с действующим законодательством, регулирующим правила проведения исследований с участием лабораторных животных. Кровь животных, которую собирали в ЭДТА-содержащие вакутейнеры, инкубировали в течение 2 часов с натрий-фосфатным буфером (контроль), наночастицами $GdYVO_4:Eu^{3+}$, синтезированными в Институте сцинтилляционных материалов НАН Украины (г.Харьков, Украина) в конечной концентрации 20 мкг/мл (группа 1), ЛПС, полученным из *Escherichia coli* O111:B4 (Sigma Aldrich, Израиль), в концентрации 2 мкг/мл (группа 2) и наночастицами + ЛПС в вышеуказанных концентрациях (группа 3). Образцы контрольной группы не содержали наночастиц и ЛПС. После инкубации кровь использовалась для получения суспензии лейкоцитов при помощи лизирующего буфера BD Pharm Lyse™ (Becton Dickinson, США). Интенсивность генерации АФК в лейкоцитах определяли с помощью метода проточной цитометрии с использованием АФК-чувствительного красителя 2',7'-дихлордигидрофлуоресцеин диацетата (H2DCFDA, Invitrogen™, США), антител к панлейкоцитарному маркеру CD45, меченных APC-Cy™ 7 (BD Pharmingen, США), и 7-аминоактиномицина D (7-AAD, BD Pharmingen, США). Интенсивность флуоресценции дихлорфлуоресцеина, который образуется в клетках из H2DCFDA под действием АФК, регистрировали на проточном цитометре BD FACSCanto™ II (Becton Dickinson, США). Для статистической обработки данных использовали критерий Краскела-Уоллиса и апостериорный критерий Данна.

Результаты. Выделяли регион $CD45^+$ клеток, т.е. лейкоцитов. Затем в данном регионе гейтировали популяцию 7-AAD⁻ клеток, т.е. жизнеспособных лейкоцитов, в которых оценивали значения средней интенсивности флуоресценции (MFI) дихлорфлуоресцеина. Установлено, что инкубация клеток с наночастицами не приводит к статистически

достоверному увеличению значений MFI в жизнеспособных лейкоцитах по сравнению с контролем ($p > 0,05$). В то же время воздействие ЛПС на клетки сопровождалось статистически достоверным увеличением генерации АФК более чем в два раза ($p < 0,0001$). Совместная инкубация крови с наночастицами $GdYVO_4:Eu^{3+}$ и ЛПС приводила к статистически достоверному снижению интенсивности генерации АФК (приблизительно на 25%) лейкоцитами по сравнению с образцами второй группы ($p < 0,0001$), не достигая однако значений контрольной группы.

Выводы. Наночастицы $GdYVO_4:Eu^{3+}$ ингибируют ЛПС-индуцированную генерацию АФК в лейкоцитах в эксперименте *in vitro*.