

*Гармаза Ю. М., Тамашевский А. В.*

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ДЕЙСТВИЯ НАНОСТЕРЖНЕЙ И НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ЦИНКА НА ЛИМФОЦИТЫ ЧЕЛОВЕКА

*Научный руководитель д-р биол. наук, проф., чл.-кор. нац.акад. Слобожанина Е. И.*

*Лаборатория медицинской биофизики*

*ГНУ “Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, г. Минск”*

**Актуальность.** В последнее десятилетие появились данные о широком спектре применения наноструктурированного оксида цинка в секторе биовизуализации и адресной доставки лекарственных средств, а также при создании иммуносенсоров. Все это стало возможным благодаря его уникальным химическим и физическим свойствам – большой площади поверхности и химической стабильности, а также хорошей совместимости с биобъектами. При этом проведенные исследования продемонстрировали, что в сравнении с другими металл-содержащими наноматериалами ZnO-наноструктуры при попадании в организм человека проявляют значительную цитотоксичность из-за более низкого заряда их катиона. Более того, оказалось, что в целом цитотоксичность наноматериалов значительно варьирует в зависимости от размера частицы и их формы.

**Цель:** сравнительный анализ молекулярно-мембранных эффектов действия наностержней (ZnO NRs) и наночастиц (ZnO NPs) оксида цинка на лимфоциты периферической крови человека и выявление механизмов их цитотоксичного действия.

**Материалы и методы.** Лимфоциты изолировали в градиенте плотности гистопака-1077. Процент жизнеспособных клеток оценивали по тесту FITC-аннексин V / 7-AAD (BC). Содержание активных форм кислорода в клетках изучали с помощью флуоресцентного зонда H<sub>2</sub>DCFDA, а изменение уровня внутриклеточного лабильного пула цинка – с помощью FluoZin-3 AM (Invitrogen). Изучение модификации компонентов клеточной мембраны проводили по параметрам флуоресценции специализированных зондов: TMA-ДФГ, лаурдан, N-(1-пирен)-малеимид и флуорескамин (Sigma). Все исследования были выполнены на проточном цитофлуориметре CytoFLEX (Beckman Coulter) и спектрофлуориметре CM2203 (Solar).

**Результаты и их обсуждение.** Проведен сравнительный анализ молекулярно-мембранных эффектов, оказываемых наноструктурированным оксидом цинка разной формы (стержни и частицы), а также хлоридом цинка (ZnCl<sub>2</sub>), как источника свободных ионов, на лимфоциты человека. Выявлено снижение процента жизнеспособных клеток при инкубации их с наноструктурами ZnO и хлоридом цинка в концентрациях 10–100 мкг/мл в течение 3, 18 и 40 ч за счет увеличения внутриклеточной концентрации лабильного пула Zn<sup>2+</sup>. Обнаружено, что наименьшей цитотоксичностью обладают ZnO NRs, а наибольшей ZnCl<sub>2</sub>. Показано, что возможным механизмом цитотоксичного действия ZnO NPs и ZnCl<sub>2</sub> выступает Zn-опосредованная активация свободнорадикальных процессов в клетке – увеличение накопления активных форм кислорода и снижение концентрации восстановленного глутатиона в модифицированных клетках. Изучение структурного состояния мембранных белков (уровень NH<sub>2</sub>-групп и SH-групп, триптофановая флуоресценция) и физического состояния липидного бислоя (микровязкость) мембран лимфоцитов после их экспозиции с наноструктурированным оксидом цинка выявило разнонаправленное действие частиц и стержней, при этом более выраженный мембранотропный эффект наблюдаются именно для ZnO NRs.

**Выводы.** Таким образом, продемонстрировано, что форма наноматериала и его способность “отдавать” ионы цинка вносят основной вклад в обнаруженные молекулярно-мембранные эффекты на лимфоцитах человека *in vitro*.

*Авторы выражают благодарность ст.н.с. Института атомной физики и спектроскопии Латвийского Университета (г. Рига, Латвия), к.ф.-м.н. Витеру Р.В. за предоставленные образцы наноструктурированного оксида цинка. Работа поддержана грантом БРФФИ Б17-128 и грантом № 778157 в рамках программы ЕС Горизонт 2020 (H2020-MSCA-RISE).*