

*Кулагова Т.А.¹, Голубева Е.Н.¹, Борисов К.Н.¹, Екимчик В.В.²,
Соболевская Е.М.², Коваленко Е.И.²*

Графеновые квантовые точки как перспективные наноструктуры для исследования окислительно-восстановительных процессов в нейтрофилах

¹НИИ Ядерных проблем Белорусского государственного университета, Минск, Республика Беларусь

²Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

Одним из перспективных наноматериалов для разработки лекарственных форм препаратов являются графеновые квантовые точки (ГКТ), состоящие из нескольких (до 10) sp²-гибридизированных листов графена, с латеральным размером от нескольких до 10 нм. Край ГКТ может быть функционализирован различными группами (например, гидроксильными, карбонильными, карбоксильными). Показано, что ГКТ обладают высокой стабильностью, низкой токсичностью, хорошей биосовместимостью, флуоресценцией, зависящей от размера и модификации ГКТ. Функционализированные ГКТ водорастворимы и имеют большую стабильность в физиологических средах, чем оксид графена. ГКТ исследуют на применимость для визуализации клеток и тканей, адресной доставки лекарств, биосенсоров, в качестве фотосенсибилизаторов для фотодинамической терапии. Помимо этого, ГКТ могут действовать как доноры и акцепторы электронов, что указывает на их антиоксидантный потенциал.

Целью данной работы было исследовать механизмы взаимодействия ГКТ с нейтрофилами крови – клетками, которые в процессе активации генерируют активные формы кислорода и хлора.

Нейтрофилы изолировали из гепаринизированной крови доноров и ресуспендировали (1 млн/мл) в среде Эрла при $pH=7,3$. К клеткам добавляли ГКТ в концентрации 50 мкг/мл и инкубировали в течение 30-90 мин при температуре 37 °С. Цитотоксичность исследовали методом световой микроскопии и флуориметрии с использованием иодида пропидиума. Деформацию клеток определяли по анализу индикатрис малоуглового светорассеяния методом нефелометрии. Визуализацию внутриклеточных ГКТ, фибриллярного актина, миелопероксидазы проводили методом флуоресцентной микроскопии с использованием F-актин Cytopainter и FITS-MPO.

Установлено, что при инкубировании нейтрофилов с ГКТ клетки накапливают данные нанообъекты. При этом ГКТ не оказывают цитотоксического действия на фагоциты, однако форма нейтрофилов после взаимодействия меняется, то есть клетки активируются. Методом флуоресцентной микроскопии зарегистрировано достаточно равномерное накопление и распределение ГКТ в цитоплазме нейтрофилов после 30 мин взаимодействия. Следует отметить, что в присутствии ГКТ происходит более выраженная активация нейтрофилов при адгезии, чем в контрольных образцах. Это проявляется в большем распластывании клеток, в модификации их актинового цитоскелета, распределении флуоресцирующих антител к миелопероксидазе, формировании структур, подобных нейтрофильным внеклеточным ловушкам.

Было установлено, что интенсивность флуоресценции ГКТ в нейтрофилах через 30 мин адгезии клеток в три раза выше, чем через 90 мин адгезии. Это свидетельствует о разрушении и/или нарушении структуры ГКТ после проникновения в нейтрофилы. В качестве основных, разрушающих ГКТ веществ можно выделить активные формы кислорода и хлора: супероксидные анион-радикалы, пероксид водорода и гипохлорит-ионы. Проведя оценку спектров флуоресценции ГКТ в модельных системах в присутствии пероксида водорода и гипохлорита натрия, было установлено, что именно гипохлорит-ионы вызывают модификацию структуры ГКТ, значительно снижая интенсивность флуоресценции нанообъектов.

Таким образом, установлено, что при взаимодействии с нейтрофилами ГКТ проникают в клетки, происходит активация клеток и, вероятно, формирование нейтрофильных внеклеточных ловушек. Структура графеновых квантовых точек нарушается при взаимодействии с гипохлорит-ионами, что приводит к снижению флуоресценции этих нано-

объектов. Следовательно, метаболиты хлорноватистой кислоты являются индукторами биодegradации ГКТ, а по изменению интенсивности флуоресценции ГКТ в процессе взаимодействия с клетками можно судить об интенсивности внутриклеточных окислительно-восстановительных процессов.