

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ МОДИФИЦИРОВАННЫХ НАНОАЛМАЗОВ НА  
ФУНКЦИЮ ТРАНСПОРТА КСЕНОБИОТИКОВ ЛЕЙКОЦИТАМИ  
ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ**

**Гусейнова А.Г., Горбенко А.С.**

**научный руководитель канд. мед. наук А.В. Барон**

***Красноярский филиал ФГБУ Гематологический научный центр Минздра России,  
Сибирский федеральный университет  
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии***

В исследованиях последних лет широко обсуждаются возможности применения модифицированных наноалмазов (МНА) взрывного синтеза в области медицины. Создание высокоэффективных систем доставки лекарственных веществ (ЛВ) с использованием в качестве носителя наночастиц в настоящее время является важным направлением фармацевтической нанотехнологии. МНА предлагаются как перспективные носители адресной доставки ЛВ к определенным тканям или органам. Получение комплекса МНА-ЛВ может позволить изменять транспорт ЛВ через биобарьеры, включая гематоэнцефалический, и повышать биодоступность. Разработка многокомпонентных фармацевтических систем предполагает необходимость учета биологических эффектов каждой составной части комплекса. В связи с этим изучается влияние МНА в том числе и на функциональную активность клеток крови.

Важной функцией клеток является процесс противодействия токсическому влиянию ксенобиотиков. Один из механизмов такого противодействия заключается в активном выбросе ксенобиотиков из цитоплазмы клеток за счет функционирования специальных трансмембранных систем транспорта — АВС-транспортёров. Об эффективности работы этих транспортёров можно судить на основании различных функциональных тестов. Чаще всего принято использовать показатели накопления в клетках флуоресцирующих веществ. Полагают, что клетки, в которых транспортёры работают активнее, будут более эффективно противодействовать накоплению ксенобиотика в цитоплазме и соответственно уменьшать флуоресценцию.

Цель работы: оценить возможное влияние МНА на функцию АВС-транспортёров в лейкоцитах периферической крови человека.

Материалы и методы. В исследовании использовались пробы цельной крови 10 пациентов гематологического отделения краевой клинической больницы. Анализ функций клеток проводился на проточном цитометре BD FACS Canto II с использованием двух флуоресцентных красителей радомина и кальцина, а также флуоресцирующего цитостатика - данорубицина. В соответствии с разработанной методикой, исследования каждой пробы производилась в двух повторностях. Выделенные из крови после лизиса эритроцитов лейкоциты ресуспендировали в буферном растворе и разделяли на две части. К опытной пробе добавляли 0,5% МНА, при этом конечная концентрация составила 0,008%. Известно, что в данной концентрации МНА не оказывают влияние на количественный состав клеток периферической крови. В контрольную пробу добавляли аналогичный объем воды. После добавления МНА пробы инкубировали 15 мин при комнатной температуре. Измерение флуоресценции проводили на проточном лазерном цитофлуориметре. Перед измерением к суспензии лейкоцитов добавляли соответствующий краситель или данорубицин. По гистограммам прямого и бокового светорассеивания клеток выделяли отдельно гейты лимфоцитов и гранулоцитов. Статистическую обработку результатов проводили общепринятыми методами. Достоверность отличий оценивали используя

критерий Вилкоксона для связанных выборок пакета программ для статистического анализа Statistica 8.0.

Результаты:

Результаты измерения флуоресценции клеток представлены в таблице.

Полученные данные свидетельствуют, что в выбранной концентрации МНА, воздействует на лимфоциты и гранулоциты снижая максимальное накопление даунорубицина после 45 минут инкубации (max DR), но при этом существенно не изменяет накопление кальцеина и родамина. Отсюда следует что МНА оказывает частичное влияния на функцию транспорта ксенобиотиков, которое проявляется по разному при разных методах исследования.

Таблица

	Лимфоциты				Гранулоциты			
	DR (V)	DR (max)	Rho (max)	CAL	DR (V)	DR (max)	Rho (max)	CAL
Контроль	2,73 (1,14-3,13)	0,19* (0,18-0,51)	0,35 (0,32-0,52)	0,03 (0,02-0,48)	3,82 (1,69-4,63)	0,26* (0,21-0,43)	0,31 (0,26-0,45)	0,07 (0,04-0,42)
МНА	2,16 (0-3,2)	0,16* (0,15-0,17)	0,28 (0,25-0,36)	0,02 (0,01-0,03)	3,99 (2,56-4,57)	0,17* (0,14-0,19)	0,29 (0,26-0,33)	0,05 (0,04-0,06)

Примечание: Представлены значения медианы (Me), а также верхнего и нижнего квартиля выборки значений. DR — даунорубицин; V- скорость накопления; Rho — родамин 123; CAL — кальцеин.

\* -отличия статистически значимы при  $p < 0,05$

Вывод: Полученные результаты свидетельствуют, что МНА оказывают статистически значимое снижение интенсивности максимального накопления цитостатика даунорубицина в лимфоцитах и гранулоцитах, но существенно не влияют на широко используемые в экспериментальной биологии тесты накопления родамина и кальцетинулина. Вероятно, взаимодействие МНА с плазматическими мембранами клеток может стимулировать транспортные системы выброса даунорубицина из цитоплазмы снижая его токсическое действие. Использование родамина 123 и кальцеина очевидно, не всегда достаточно точно отражает динамику транспорта используемых в клинике цитотоксических препаратов.