

Эффекты оксида графена на выживаемость эмбриональных фибробластов легкого человека

Мухеев И.В.¹, Проскурнина Е.В.², Ершова Е.С.³, Костюк С.В.^{2,3}, Проскурнин М.А.¹

Proskurnin@gmail.com

¹ ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», химический факультет, Ленинские горы, д. 1, стр. 3, г. Москва, 119234, РФ

² ФГБУН «Институт общей и неорганической химии имени Н.С. Курнакова РАН» Ленинский просп., д. 31, г. Москва, 119991, РФ

³ Государственный научный центр Российской Федерации ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Институт биологии старения и медицины здорового долголетия с клиникой превентивной медицины, ул. Цюрупы, д.3, г. Москва, 117418, РФ

Оксид графена активно изучается как платформа для доставки лекарств, контрастных агентов и создания биосенсоров, однако вопросы биобезопасности изучены далеко не полностью. Целью работы являлось изучение выживаемости клеток человека при помощи стандартного 24-часового теста с метилтетразолием на модели эмбриональных фибробластов легких при инкубации с образцами оксида графена, синтезированного различными методами.

В качестве клеток для исследования токсичности соединений использовали эмбриональные фибробласты легкого человека 4-го пассажа. В качестве объектов исследования использовали коллоидные растворы оксида графена: 1) MFGO, синтезирован при помощи методики Хаммерса с применением очистки с помощью диализа в течение 30 дней, 2) rGO, синтезирован за счет восстановления аскорбиновой кислотой оксида графита синтезированного по методу Хаммерса, 3) HGO, синтезирован по методу Хаммерса (окислительная смесь для графита: KMnO_4 , H_2SO_4 , H_3PO_4), 4) BGO, синтезирован по методу Броди (окислительная смесь для графита: KClO_3 , HNO_3), 5) GO Sigma, порошок коммерчески доступного образца (хлопья, 15–20 листов) (Sigma Aldrich). Характеристики наноматериалов и результаты МТТ-теста приведены в таблице.

Таблица. Характеристики наноматериалов оксида графена и результаты МТТ-теста

Образец	pH	Размер частиц, нм	Электрокинетический потенциал, мВ	Индекс полидисперсности	IC ₂₀ , ppm
MFGO	2.94	2250 ± 200	-27.4 ± 1.2	0.341	0.920
rGO	3.65	530 ± 80	-39.9 ± 1.4	0.477	0.049
HGO	4.32	303 ± 20	-35.2 ± 1.0	0.595	0.0006
BGO	4.30	553 ± 30	-37.6 ± 2.0	0.991	0.920
GO Sigma	5.14	282 ± 20	-45.5 ± 1.8	0.286	0.0026

Для определения токсичности соединений в отношении культур клеток проводили МТТ-тест с детекцией на планшетном ридере. МТТ-тест – колориметрический тест для оценки метаболической активности клеток, основанный на способности NADPH-оксидазы митохондрий восстанавливать 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолиум бромид до пурпурных гранул формазана. Реакция происходит только в живых клетках с активными митохондриальными ферментами. Значение концентрации, вызывающее 20% ингибирование роста популяции клеток (IC₂₀), определяли на основе дозозависимых кривых. Максимальные значения выживаемости были получены для очищенного диализом оксида графена MFGO (0.92 ppm), а также для образца, синтезированного по методу Броди. Самым токсичными оказались образцы, синтезированные по методу Хаммерса (HGO, IC₂₀ = 0.0006) и коммерчески доступные образцы GO Sigma (IC₂₀ = 0.0026). Выживаемость клеток при воздействии оксида графена, восстановленного при помощи аскорбиновой кислоты составила IC₂₀ = 0.049.

Таким образом, очистка наноматериала при помощи диализа существенно улучшает его биобезопасность, как и восстановление аскорбиновой кислотой. Полученные результаты являются основой дальнейших экспериментов по изучению эффектов оксида графена на гены человека. Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (проект № 24-73-10012).