

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-140

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ГРАФЕНА НА ПРОДУКЦИЮ ЦИТОКИНОВ МОНОЦИТАМИ ЧЕЛОВЕКА И КЛЕТКАМИ ЛИНИИ THP-1\*****COMPARATIVE ANALYSIS OF THE EFFECTS OF GRAPHENE OXIDE NANOPARTICLES ON CYTOKINE PRODUCTION BY HUMAN'S MONOCYTES AND THP-1 CELL LINE**Д. И. Усанина<sup>1,2</sup>, М. С. Бочкова<sup>1,2</sup>, К. Ю. Шардина<sup>1</sup>, С. А. Заморина<sup>1,2</sup><sup>1</sup>Институт экологии и генетики микроорганизмов — филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь<sup>2</sup>Пермский государственный университетD.I. Usanina<sup>1,2</sup>, M.S. Bochkova<sup>1,2</sup>, K. Yu. Shardina<sup>1</sup>, S.A. Zamorina<sup>1,2</sup><sup>1</sup>Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms — branch of the PFRC UB RAS, Perm<sup>2</sup>Perm State University

✉ usanina\_d@mail.ru

**Аннотация**

Оксид графена — перспективный материал для различных биомедицинских применений. Изучали влияние наночастиц с различными параметрами на цитокиновый профиль здоровых и опухолевых моноцитов (THP-1) при 72-часовой инкубации. Установлено, что здоровые клетки были в большей степени подвержены влиянию частиц. Наибольшим эффектом обладали частицы размером 100–200 нм, покрытые линейным (для моноцитов) или разветвленным (для THP-1) полиэтиленгликолем.

**Abstract**

Graphene oxide is a promising material for various biomedical applications. The study investigated the effects of nanoparticles with different parameters on the cytokine profile of healthy and tumor monocytes (THP-1) during 72-hour incubation. It was found that healthy cells were more susceptible to the influence of the particles. The greatest effects were observed with 100–200 nm particles coated with linear (monocytes) or branched polyethylene glycol (THP-1).

Изучали влияние наночастиц пегилированного оксида графена на продукцию цитокинов моноцитами периферической крови здоровых доноров и клетками линии THP-1 (острый моноцитарный лейкоз).

Исследование проводили в соответствии с Хельсинской Декларацией ВМА 2000 г. и протоколом Конвенции Совета Европы о правах человека и биомедицине 1999 г., на работу с образцами периферической крови было получено разрешение этического комитета ИЭГМ УрО РАН (IRB00010009) от 30.08.2019. У всех добровольцев ( $N = 4$ ,  $22 \pm 2$  года) было получено информированное согласие.

Мононуклеарные клетки выделяли из цельной гепаринизированной крови центрифугированием в градиенте плотности Диаколл-1077 (плотность  $1,077 \text{ г/см}^3$ ) (ДиаМ, Россия). CD14<sup>+</sup>-клетки выделяли при помощи иммуномагнитной сепарации (частицы MicroBeads, human (Miltenyi Biotec, Германия)).

Использовали наночастицы оксида графена (ОГ) размером 100–200 нм (П-ОГм) и 1–5 мкм (П-ОГб) (Ossila Ltd., Шеффилд, Великобритания), покрытые линейным (П-ОГ) и 8-разветвленным (рП-ОГ) полиэтиленгликолем (ПЭГ). Модификация и характеристики наночастиц описаны ранее [1].

Моноциты ( $1 \cdot 10^6$  кл/мл) и клетки линии THP-1 культивировали 72 ч ( $5 \cdot 10^4$  кл/мл) в 96-луночных планшетах в полной питательной среде (RPMI-1640 (Gibco, США) с добавлением 2 мМ L-глутамина, 100 Ед пенициллина, 0,1 мг/мл стрептомицина, 2,5 мкг/мл амфотерицина В и 10 % инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки) с наночастицами ОГ в CO<sub>2</sub>-инкубаторе (37 °С, 5 % CO<sub>2</sub>). Наночастицы вносили до конечных концентраций 5 и 25 мкг/мл. После культивирования супернатанты клеточных культур собирали и замораживали.

Количественное определение цитокинов в супернатантах производили в проточном флуоресцентном анализаторе MAGPIX (BioRad, США) с использованием коммерческого набора Bio-Plex Pro™ Human Cytokine Screening 48-plex.

Статистическую обработку данных проводили с использованием GraphPad Prism 8.0.1. Для анализа использовали тест Фридмана и post-hoc тест Данна для множественных сравнений. Уровень значимости принимали 0,05. Результаты исследования представлены в таблице.

\* Исследование выполнено в рамках государственного задания № 124021900006-5.

© Д. И. Усанина, М. С. Бочкова, К. Ю. Шардина, С. А. Заморина, 2025

**Влияние наночастиц пегилированного оксида графена на продукцию цитокинов моноцитами периферической крови здоровых доноров и клетками линии THP-1**

Тип наночастиц	Моноциты	THP-1
П-ОГм	25 мкг/мл: ↑ MIP-1α, G-CSF, TNF-β, IL-9, IL-1α, IL-1ra, IL-1β, IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-10, IL-12 (p70), IL-16, IL-17, IFN-α2, IFN-γ, MCP-1, MCP-3, MIG, LIF, SCF, TRAIL, CTACK, Basic FGF, GRO-α, MIP-1β, TNF-α, Eotaxin, PDGF-BB	5 мкг/мл: ↓ HGF; 25 мкг/мл: ↑ MIP-1α, G-CSF; ↓ SCGF-β
рП-ОГм	–	5 мкг/мл: ↓ HGF; 25 мкг/мл: ↑ MIP-1α, G-CSF; ↓ HGF, SCGF-β, RANTES, TNF-β, IL-9
П-ОГб	5 мкг/мл: ↑ M-CSF; 25 мкг/мл: ↑ IL-18, MCP-1, MCP-3, M-CSF	25 мкг/мл: ↑ MIP-1α, G-CSF; ↓ SCGF-β
рП-ОГб	25 мкг/мл: ↑ MIP-1α, G-CSF, TNF-β, IL-9, IL-1α, IL-1ra, IL-1β, IL-4, IL-6, IL-7, IL-10, IL-17, IFN-α2, MIG, MIP-1β, MCP-3, LIF, SCF, CTACK, Basic FGF, TNF-α, Eotaxin	25 мкг/мл: ↓ RANTES
Нет эффекта	MIF, VEGF, IP-10, IL-8, IL-2Rα, SDF-1α, IL-12 (p40), GM-CSF, IL-13, IL-3, SCGF-β, RANTES, HGF	MIF, VEGF, IP-10, IL-8, IL-5, MIP-1β, TNF-α, Eotaxin, PDGF-BB
Уровень ниже порога детекции	IL-5, IL-15, β-NGF	IL-1α, IL-1ra, IL-1β, IL-2, IL-2Rα, IL-3, IL-4, IL-6, IL-7, IL-10, IL-12 (p40), IL-12 (p70), IL-13, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, β-NGF, SDF-1α, GM-CSF, MCP-1, MCP-3, MIG, IFN-α2, IFN-γ, LIF, SCF, TRAIL, M-CSF, CTACK, Basic FGF, GRO-α

Установлено, что моноциты из крови здоровых доноров в большей степени подвержены влиянию наночастиц оксида графена: обнаружены 45 цитокинов, в то время как в супернатантах клеток линии THP-1 — 16. Интересно, что наночастицы рП-ОГм не оказывали никаких эффектов на здоровые моноциты, при этом клетки линии THP-1, напротив, продуцировали наибольшее количество цитокинов. На моноциты же наибольший эффект оказали частицы П-ОГм (30 цитокинов). Стоит также отметить, что практически все отмеченные эффекты наблюдались при добавлении наночастиц в концентрациях 25 мкг/мл, в то время как низкие дозы оказывали влияние лишь на 2 цитокина (M-CSF и HGF).

Схожие эффекты наночастиц ОГ на клетки наблюдались в случае 2 цитокинов: частицы в концентрации 25 мкг/мл повышали секрецию MIP-1α и G-CSF. В отношении 2 цитокинов эффекты были противоположны: секреции TNF-β и IL-9 повышалась в супернатантах моноцитов, но снижалась в супернатантах клеток линии THP-1 (но эффекты оказывали наночастицы разных типов).

Таким образом, наночастицы пегилированного оксида графена оказывают разные эффекты на здоровые и опухолевые моноциты, зависящие от концентрации, размера, функционализации частиц.

### Литература

1. Khrantsov P., Bochkova M., Timganova V. et al. Interaction of graphene oxide modified with linear and branched PEG with monocytes isolated from human blood//Nanomaterials. 2021. Vol. 12, No. 126. URL: <https://www.mdpi.com/2079-4991/12/1/126> (date of access: 18.07.2025).