

## Abstrakt

Bezpečnostní rizika, která vyplývají z cytotoxického působení nanočástic (NPs) v komplexním biologickém prostředí, zůstávají hlavním problémem, který limituje využití NPs v biomedicíně. V této studii byla vyšetřována cytotoxicita NPs odlišného složení, tvaru a velikosti, jmenovitě SiO<sub>2</sub> NPs (SiNPs, 7-14 nm), superparamagnetických NPs oxidů železa (SPIONs, 8 nm) a karboxylovaných mnohvrstevných uhlíkových nanotub (CNTCOOHs, průměr: 60-100 nm, délka: 1-2 μm). Cytotoxicita byla vyhodnocena pomocí nově navržené screeningové eseye schopné současně stanovit aktivitu buněčných dehydrogenáz, aktivitu laktát dehydrogenázy (LDH) uvolněné z buněk do okolí a počet intaktních buněčných jader a apoptotických tělísek v kultuře lidských endotelových buněk izolovaných z pupečnickové žíly (HUVEC) rostoucích v jedné jamce 96-jamkové destičky. Zmíněné znaky byly následně využity k získání informace o životaschopnosti buněk a nekrotických a apoptotických aspektech buněčné smrti. Výsledky z této “tři v jednom” screeningové eseye buněčné smrti (CDS) ukázaly, že SiNPs a CNTCOOHs vyvolávaly výrazné cytotoxické působení projevující se poklesem životaschopnosti buněk a rozvojem tvorby apoptotických tělísek. Naproti tomu SPIONs navozovaly pouze mírnou cytotoxicitu. SiNPs navíc narušovaly buněčnou membránu vedoucí ke zvýšenému uvolňování LDH (nekrotický typ působení) mírně pozorovanému také po aplikaci SPIONs. V případě CNTCOOHs nemohly být tyto nekrotické změny stanoveny kvůli pozoruhodně silné interferenci CNTCOOHs s komponentami LDH eseye jako vnitřní součástí CDS eseye. V navazujícím výzkumu jsme se soustředili na vliv složení proteinového obalu (tzv. proteinové korony) na buněčnou toxicitu CNTCOOHs. Výsledky z CDS eseye naznačily, že předem formovaný proteinový obal z imunoglobulinu G (IgG) podporoval cytotoxické působení CNTCOOHs navozující sníženou aktivitu buněčných dehydrogenáz, zatímco proteinový obal z lidského sérového albuminu (HSA) měl spíše protektivní účinky projevující se zvýšenou přítomností intaktních buněčných jader a zároveň sníženou tvorbou apoptotických tělísek. Cytotoxické působení CNTCOOHs bez proteinové korony vedoucí k akumulaci autofagických vezikulů u buněk HUVEC bylo také významně zmírněno, a to stimulací autofagického toku  $\leq 1$  nM makrolidovým antibiotikem bafilomycinem A1. Ve shrnutí naše výsledky naznačují, že použití vhodné proteinové korony v kombinaci s farmakologickou stimulací autofagického toku by v budoucnu mohlo být jedním ze slibných přístupů umožňujících minimalizaci cytotoxického působení alespoň některých druhů NPs.