

Souhrn

Karbonové nanomateriály (CNMs) disponují unikátními fyzikálně-chemickými vlastnostmi, díky kterým nachází potenciální uplatnění v průmyslu i medicíně. Společně s produkcí však rostou obavy o jejich působení na lidský organismus. Z toho důvodu jsou CNMs častým tématem toxikologických studií. Klíčovým krokem v objasnění jejich bezpečnosti je hodnocení vzájemné interakce se složkami imunitního systému, konkrétně schopnosti vyvolat zánět. U některých alotropů, např. nemodifikovaných derivátů grafenu, podstatné výsledky stále chybí nebo nejsou kompletní. Z těchto důvodů se tato disertační práce zabývá hodnocením prozánětlivého účinku dvou typů nemodifikovaných grafenových plátek (GPs), které obvykle vznikají jako meziprodukt při zpracování dalších grafenových derivátů a do organismu mohou pronikat např. vdechnutím. Pro srovnání práce zahrnuje hodnocení prozánětlivého účinku mnohostěnných karbonových nanotrubic (MWCNTs).

Profesionální fagocyty, především monocyty a makrofágy představují klíčové buňky ve zpracování a odstraňování cizorodých i tělu vlastních poškozených či abnormálních elementů. Vzhledem k tomu, že se zároveň jedná o hlavní mediátory zánětu, byly pro vlastní testování CNMs zvoleny buněčné modely založené na lidských primárních monocyttech a lidské monocytární linii THP-1 diferencované na makrofágy. U obou modelů byla pomocí transmisní elektronové mikroskopie potvrzena rychlá endocytóza všech CNMs. Životnost buněk byla hodnocena měřením úniku laktát dehydrogenázy (LDH) a HMGB1 (High-Mobility Group Box 1). Přímý prozánětlivý účinek byl hodnocen na základě aktivity inflamazomu NLRP3 a produkce IL-1 β . Aktivace NLRP3 kanonickou i alternativní cestou byla pozorována pouze v případě MWCNTs. Jako možný mechanismus byl mikroskopicky potvrzen únik katepsinu B nastalý v důsledku poškození lyzozomů. V případě GPs nebylo detekováno žádné narušení buněčné integrity ani akutní prozánětlivá aktivita. Potenciální inhibice zánětu byla vyvrácena souběžnou expozicí GPs s reprezentativním prozánětlivým stimulem. Naopak byla pozorována zesílená reaktivita, na jejímž základě byl dále hodnocen nepřímý prozánětlivý účinek pomocí stanovení modulační ve formě měření buněčné reaktivity vůči vybraným bakteriím. U předem exponovaných monocytů i THP-1 makrofágů CNMs byla hodnocena následná fagocytární aktivita pomocí mikroskopie a průtokové cytometrie a produkce IL-6, TNF- α a IL-10 pomocí ELISA metody nebo biologické eseje založené na reportérových buňkách. Součástí práce bylo též mikroskopické a cytometrické sledování vlivu CNMs na diferenciaci primárních monocytů. Výsledky práce potvrdily imunomodulační účinek u všech tří testovaných CNMs.