

## ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ РЕДКОЗЕМЕЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ НА ОСМОТИЧЕСКУЮ АДАПТАЦИЮ ЭРИТРОЦИТОВ

О.К. Пакулова<sup>1</sup>, В.К. Клочков<sup>2</sup>, Н.С. Кавок<sup>2</sup>,  
И.А. Костина<sup>1</sup>, А.С. Сопотова<sup>1</sup>, В.А. Бондаренко<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, пл. Свободы 4, Харьков, 61022, Украина, e-mail: olga.pakulova@gmail.com

<sup>2</sup> Институт сцинтилляционных материалов НАН Украины, пр. Науки 60, Харьков, 61072, Украина

Поступила в редакцию 31 октября 2016 года

Принята 1 июня 2017 года

Уникальные характеристики наночастиц (НЧ) на основе редкоземельных элементов (РЗЭ) делают их перспективными для использования в молекулярной и клеточной биологии. Однако особенности их взаимодействия с биосистемами на разных структурных уровнях и влияние на функционирование живых клеток остаются мало изученными. В данной работе методом спектрофотометрии оценивали влияние НЧ на основе диэлектрических нанокристаллов диоксида церия и ортованадатов гадолиния и иттрия с различным форм-фактором, а также комплекса НЧ-холестерин на адаптацию эритроцитов человека к гипертоническому лизису в 4 М NaCl в различных условиях прединкубации. Показано, что изменение уровня повреждения клеток при осмотической нагрузке в присутствии НЧ зависит от геометрических параметров последних. Адаптации клеток к гипертоническому лизису способствуют как экстремальные (размером 2 нм), способные проникать сквозь плазматическую мембрану сферические НЧ CeO<sub>2</sub> и GdYVO<sub>4</sub>:Eu<sup>3+</sup>, так и более крупные (8×30 нм) зерноподобные НЧ GdVO<sub>4</sub>:Eu<sup>3+</sup>, адсорбируемые на поверхности мембраны, а также комплекс сферических НЧ GdYVO<sub>4</sub>:Eu<sup>3+</sup> с холестерином. Обнаружено также, что состав наночастиц определяет характер их стабилизирующего влияния на клетки. Так, при концентрации 0,1 г/л ортованадатные НЧ более эффективно защищают клетки от гемолиза при непродолжительной, а НЧ диоксида церия – при длительной прединкубации в сахарозно-солевой среде. Установлено, что НЧ способствуют адаптации клеток к осмотической нагрузке посредством различных механизмов – через стабилизацию мембраны при адсорбции на поверхности клеток и/или через проникновение в клетку.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** наночастицы, редкоземельные элементы, эритроциты, гипертонический лизис, осмотическая адаптация.

## ВПЛИВ НАНОЧАСТИНОК НА ОСНОВІ РІДКІСНОЗЕМЕЛЬНИХ ЕЛЕМЕНТІВ НА ОСМОТИЧНУ АДАПТАЦІЮ ЕРИТРОЦИТІВ

О.К. Пакулова<sup>1</sup>, В.К. Клочков<sup>2</sup>, Н.С. Кавок<sup>2</sup>, І.О. Костіна<sup>1</sup>, О.С. Сопотова<sup>1</sup>,  
В.А. Бондаренко<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, пл. Свободи 4, Харків, 61022, Україна

<sup>2</sup> Інститут сцинтиляційних матеріалів НАН України, пр. Науки 60, Харків, 61072, Україна

Унікальні характеристики наночастинок (НЧ) на основі рідкісноземельних елементів (РЗЕ) роблять їх перспективними для використання у молекулярній та клітинній біології. Однак особливості їх взаємодії з біосистемами на різних структурних рівнях та вплив на функціонування живих клітин лишаються мало вивченими. У даній роботі методом спектрофотометрії оцінювали вплив НЧ на основі діелектричних нанокристалів діоксиду церію та ортованадатів гадолінію та ітрію, з різним форм-фактором, а також комплексу НЧ-холестерин на адаптацію еритроцитів людини до гіпертонічного лізису в 4 М NaCl у різних умовах передінкубації. Показано, що зміна рівня ушкодження клітин при осмотичному навантаженні в присутності НЧ залежить від геометричних параметрів останніх. Адаптації до гіпертонічного лізису сприяють як екстремалі (розміром 2 нм) здатні проникати крізь плазматичну мембрану сферичні НЧ CeO<sub>2</sub> та GdYVO<sub>4</sub>:Eu<sup>3+</sup>, так і більші (8×30 нм) зерноподібні НЧ GdVO<sub>4</sub>:Eu<sup>3+</sup>, що адсорбуються на зовнішній поверхні мембрани, а також комплекс сферичних НЧ GdYVO<sub>4</sub>:Eu<sup>3+</sup> з холестерином. Виявлено також, що склад наночастинок визначає характер їх стабілізуючого впливу на клітини. Так, при концентрації 0,1 г/л ортованадатні НЧ більш ефективно захищають клітини від гемолізу при нетривалій, а НЧ діоксиду церію - при тривалій передінкубації в сахарозно-сольовому середовищі.

Встановлено, що НЧ сприяють адаптації клітин до осмотичного навантаження за допомогою різних механізмів - через стабілізацію мембрани при адсорбції на поверхні клітин і/або через проникнення в клітину.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** наночастинки, рідкоземельні елементи, еритроцити, гіпертонічний лізис, осмотична адаптація.

#### EFFECT OF RARE-EARTH-BASED NANOPARTICLES ON THE ERYTHROCYTE OSMOTIC ADAPTATION

O.K. Pakulova<sup>1</sup>, V.K. Klochkov<sup>2</sup>, N.S. Kavok<sup>2</sup>, I.A. Kostina<sup>1</sup>, A.S. Sopotova<sup>1</sup>,  
V.A. Bondarenko<sup>1</sup>

<sup>1</sup> V.N. Karazin Kharkiv National University, 4 Svobody Sq., Kharkiv, 61022, Ukraine

<sup>2</sup> Institute for Scintillation Materials NAS of Ukraine, 60 Nauky Ave., Kharkov, 61072, Ukraine

Rare-earth-based nanoparticles (REB NPs) have been employed in molecular and cell biology due to their unique features. However, their interaction with biosystems and the influence on cell functioning are poorly understood. In this study effect of REB NPs (composed of dielectric nanocrystals of cerium dioxide and orthovanadates of gadolinium and yttrium) with different form-factor as well as REB NPs-cholesterol complexes on the adaptation of human erythrocytes to hypertonic lysis (4 M NaCl) has been evaluated spectrophotometrically. It appeared that the degree of cell damage in the presence of REP NPs under hyperosmotic conditions varied with geometric parameters of REB NPs. Specifically: i) ultra-small (2 nm) spherical CeO<sub>2</sub> or GdYVO<sub>4</sub>:Eu<sup>3+</sup> NPs, penetrating through the plasma membrane, ii) grain-like (8×30 nm) GdVO<sub>4</sub>:Eu<sup>3+</sup> NPs, adsorbed on the membrane surface, iii) and spherical GdYVO<sub>4</sub>:Eu<sup>3+</sup> NPs-cholesterol complexes promoted cell adaptation to hypertonic lysis. Furthermore, the composition of nanoparticles affected their stabilizing effect on the cells. E.g., orthovanadate NPs at 0.1 g/l had the highest antihemolytic activity after short preincubation, while cerium dioxide NPs showed the same effect after prolonged preincubation. In conclusion, REB NPs promoted hyperosmotic cell adaptation by the two different mechanisms, viz. membrane stabilization by the adsorption on the cell surface and/or penetration into the cell.

**KEY WORDS:** nanoparticles, rare-earth elements, erythrocytes, hypertonic lysis, osmotic adaptation.

Будущее молекулярной и клеточной биологии во многом зависит от эффективности методов визуализации клеточного ответа с пространственным и временным разрешением [1]. Новые перспективы в этих областях, как и во многих других, открылись благодаря обнаружению у наноразмерных объектов необычных физических и химических свойств, связанных с проявлением «квантовых размерных эффектов» [2]. В частности, были разработаны стабильные нанолуминофоры с низкой цитотоксичностью на основе диэлектрических нанокристаллов редкоземельных элементов (РЗЭ) [3]. Помимо оптических эффектов [4] эти НЧ обладают магнитными свойствами [5] и редоксактивностью благодаря присутствию ионов с переменной валентностью [6, 7, 8].

Известно также [9], что управление жизнедеятельностью клетки тесно связано с функционированием плазматической мембраны, в том числе осмотическими механизмами, реализуемыми с ее участием. Удобным модельным объектом для изучения осмотических эффектов благодаря простоте структуры и доступности являются эритроциты. Достаточно хорошо изучены закономерности поведения эритроцитов человека при гипертоническом стрессе, которому эти клетки подвергаются при замораживании вследствие вымораживания воды и концентрирования внеклеточного раствора, а также в физиологических условиях при почечной фильтрации крови.

Моделированием гипертонического стресса эритроцитов человека при замораживании традиционно является их перенос в 4 М раствор хлористого натрия. Эта концентрация является оптимальной, так как при большей проконтролировать концентрацию NaCl сложно из-за перенасыщения раствора, а при меньшей (3,5 М) из клеток происходит выход воды, которая разбавляет раствор NaCl, что также делает

неконтролируемыми условия эксперимента. Уровень осмотического повреждения эритроцитов в гипертонических растворах 4 М NaCl зависит от многих факторов. Особый интерес представляет возможность изменять устойчивость клеток модуляцией условий прединкубации, когда гемолиз эритроцитов имеет нелинейную зависимость от тоничности раствора [10].

С другой стороны известно, что биоактивность нанообъектов зависит от их структуры и геометрических размеров [11]. Они определяют их способность проникать через мембрану [4, 12, 13] и влиять на структуру липидного бислоя [14, 15]. Поэтому было высказано предположение, что НЧ на основе РЗЭ различного состава, размера и формы могут оказаться эффективными для регуляции осмотического поведения эритроцитов.

Устойчивость эритроцитов к резким изменениям температуры, количественного состава среды, к механическим воздействиям связана с повышенным относительно других клеток содержанием холестерина. Мы предположили, что в комплексе с холестерином [16] НЧ будут повышать резистентность эритроцитов к гипертоническому гемолизу.

Таким образом, цель нашего исследования состояла в определении влияния НЧ на основе диэлектрических нанокристаллов диоксида церия и ортованадатов гадолия и иттрия с различным форм-фактором, а также комплекса НЧ-холестерин на адаптацию эритроцитов человека к гипертоническому лизису в 4 М NaCl в различных условиях прединкубации. Объектом служила биологическая активность НЧ РЗЭ в отношении осмотического поведения эритроцитов, что определяет возможность использования первых в качестве криозащитных агентов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эритроциты получали из крови группы А (II) здоровых мужчин доноров, которая хранилась в течение 4 дней в цитратном стабилизаторе при температуре +5°C. Непосредственно перед использованием клетки трехкратно отмывали 0,15 М раствором NaCl (в 10 мМ фосфатном буфере, pH 7,4) и центрифугировали два раза в течение 3 мин, и один раз в течение 10 мин на центрифуге ОПн-3 (Украина) при 3000 об/мин с последующей аспирацией супернатанта и лейкоцитарной пленки с помощью водоструйного насоса. Полученный плотный осадок эритроцитов разбавляли в 2 раза физиологическим раствором NaCl. Полученная 40 % суспензия клеток использовалась в течение 2 часов и хранилась при 0°C.

Прединкубация клеток проводилась в изотонической сахарозно-солевой среде (7% сахарозы и 0,3% NaCl), содержащей один из видов исследуемых НЧ в концентрации 0,01, 0,05 и 0,1 г/л или в изотонической сахарозной среде (0,3 М сахарозы) с концентрацией НЧ 0,1 г/л. НЧ на основе редкоземельных элементов (рис. 1) были представлены следующими видами: сферическими НЧ  $GdYVO_4:Eu^{3+}$  размером 2 нм; зерноподобными  $GdVO_4:Eu^{3+}$  размером 8×30 нм; стержневидными  $LaVO_4:Eu^{3+}$  размером 6×40 нм; сферическими  $SeO_2$  размером 2 и 9 нм. Размеры и морфологию наночастиц твердой фазы гидрозолей оценивали с помощью просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) на электронном микроскопе ПЭМ 125K (Selmi, Украина) при ускоряющем напряжении 100 кВ (увеличение до ×100000).

Длительность экспозиции клеток с НЧ составляла 30, 60, 90 и 120 мин при температуре 37°C. Затем аликвоты суспензии эритроцитов переносили на 10 мин в 4 М раствор NaCl при 37°C. Выход гемоглобина из разрушенных клеток определяли в супернатанте методом спектрофотометрии на спектрофотометре СФ-4А с проточной кюветой при  $\lambda=543$  нм. За 100% принимали поглощение пробы с добавлением 0,1 %

детергента Тритон X-100.

Статистический анализ результатов, полученных в 6 повторениях при 2-х параллельных пробах в каждом, проводили с использованием непараметрического критерия Уилкоксона-Манна-Уитни ( $p < 0,05$ ).

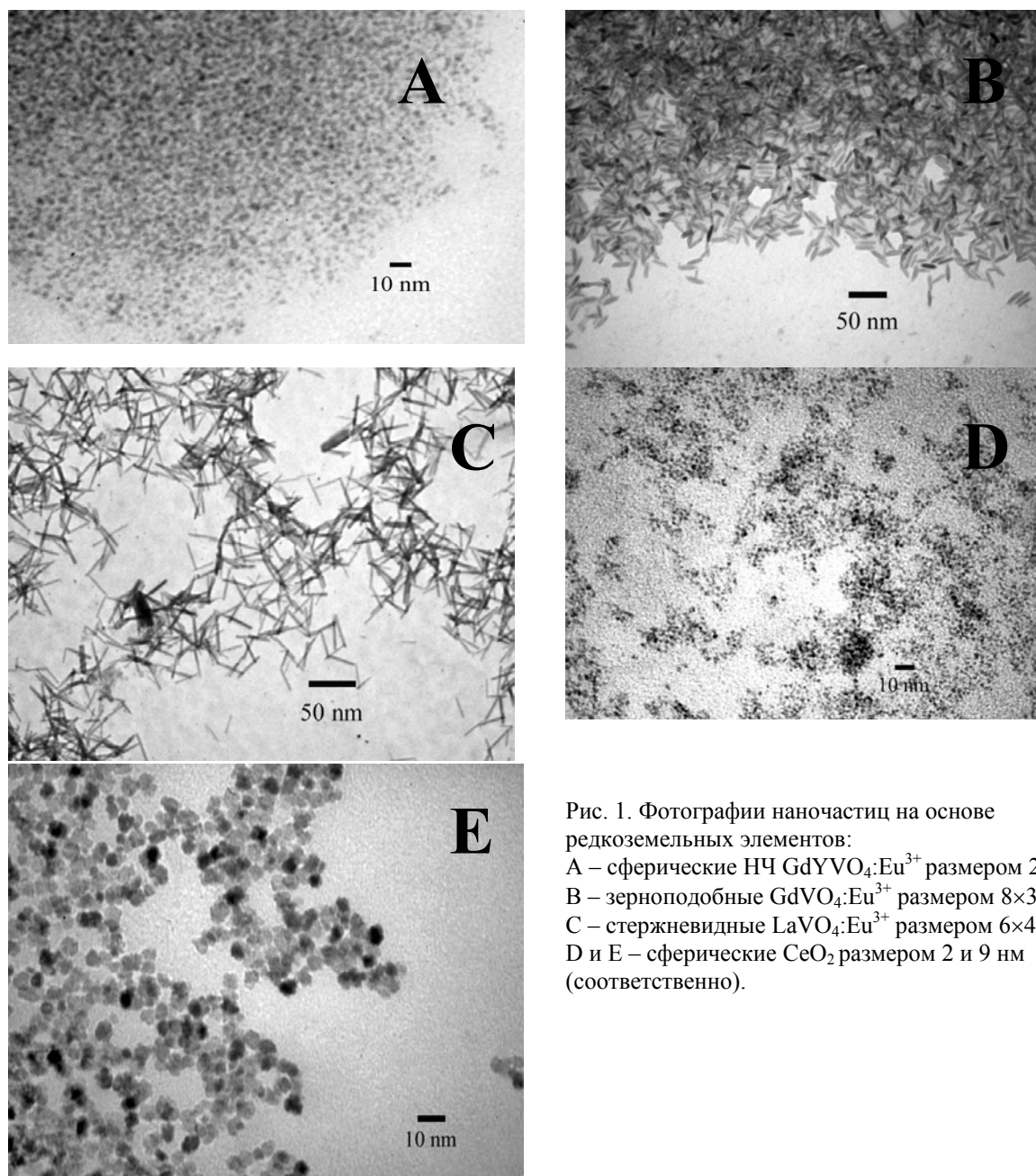


Рис. 1. Фотографии наночастиц на основе редкоземельных элементов:  
 А – сферические НЧ  $GdYVO_4:Eu^{3+}$  размером 2 нм;  
 В – зерноподобные  $GdVO_4:Eu^{3+}$  размером  $8 \times 30$  нм;  
 С – стержневидные  $LaVO_4:Eu^{3+}$  размером  $6 \times 40$  нм;  
 D и E – сферические  $CeO_2$  размером 2 и 9 нм (соответственно).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 2 представлены зависимости гемолиза эритроцитов в 4 М NaCl от времени предварительной инкубации в присутствии ортованадатных НЧ в разной концентрации: мелких сферических НЧ  $GdYVO_4:Eu^{3+}$  (рис. 2 А), зерноподобных  $GdVO_4:Eu^{3+}$  (рис. 2 В) и стержневидных  $LaVO_4:Eu^{3+}$  (рис. 2 С). Из кривых следует, что сферические размером 2 нм (рис. 2 А) и зерноподобные размером  $8 \times 30$  нм (рис. 2 В) НЧ способствуют адаптации эритроцитов к гипертоническому гемолизу при малом времени экспозиции – 30 и 30-60 мин (соответственно) только в сахарозно-солевой среде. Это проявляется в

достоверном снижении процента гемолизировавших клеток при концентрации 0,1 г/л мелких сферических  $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$  (кривая 4 на рис. 2 А) и 0,05 г/л зерноподобных  $\text{GdVO}_4:\text{Eu}^{3+}$  НЧ (кривая 3 на рис. 2 В) по сравнению с контролем (кривые 1 на рис. 2 А и В). В присутствии стержневидных НЧ (рис. 2 С) кривые гемолиза достоверно не отличаются от контроля, что свидетельствует об отсутствии их влияния на адаптацию эритроцитов к осмотическому повреждению независимо от состава среды.

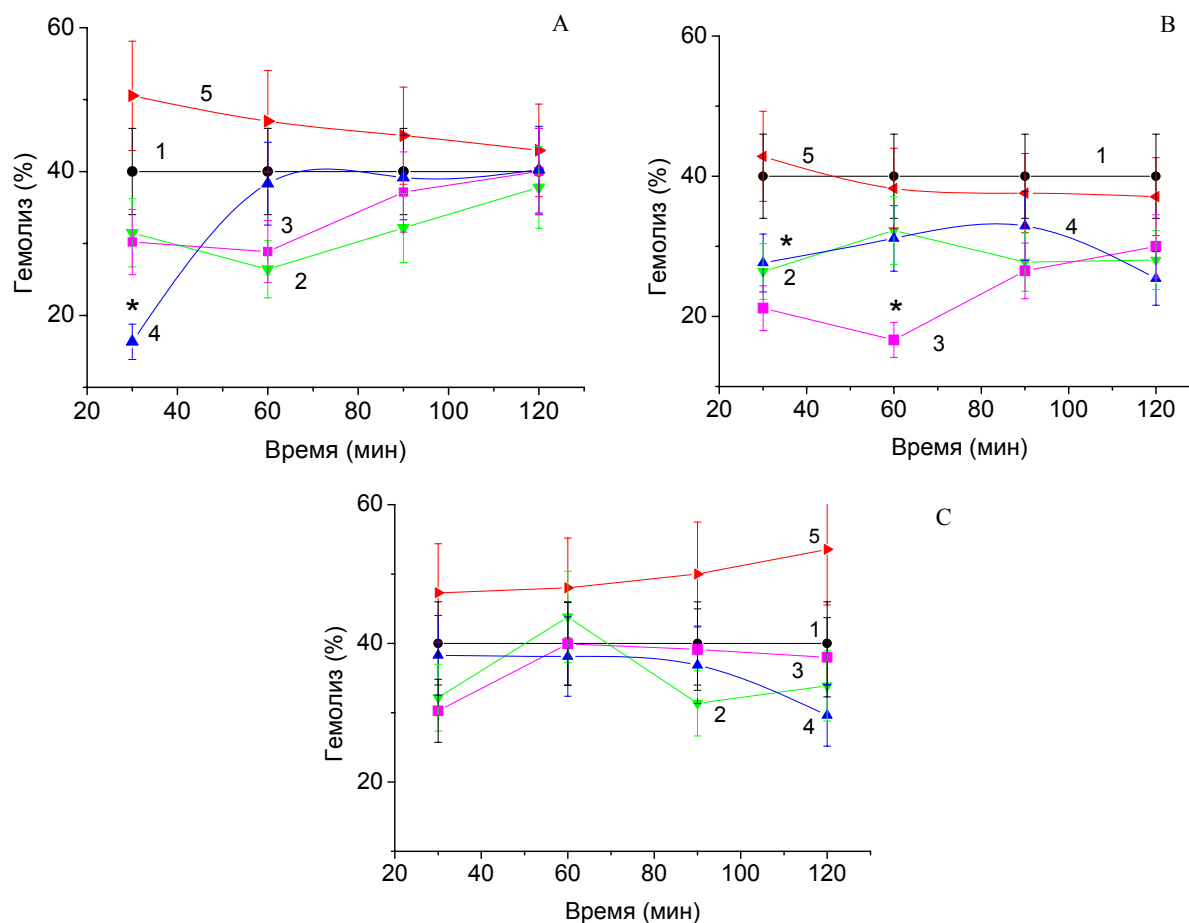


Рис. 2. Зависимость гемолиза эритроцитов в 4 М NaCl от времени предварительной инкубации в присутствии ортованадатных НЧ: А – сферических диаметром 2 нм  $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ ; В – зерноподобных размером 8×30 нм  $\text{GdVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ ; С – стержневидных размером 6×40 нм  $\text{LaVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ . Кривые 1-4 демонстрируют гемолиз в изотонической сахарозно-солевой среде с концентрацией НЧ 0 г/л (контроль), 0,01 г/л, 0,05 г/л, и 0,1 г/л, соответственно. Кривая 5 показывает гемолиз в изотонической сахарозной среде при концентрации НЧ 0,1 г/л. Представлены средние значения  $\pm$  стандартные отклонения.

Протекторный эффект мелких сферических НЧ  $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$  и зерноподобных  $\text{GdVO}_4:\text{Eu}^{3+}$  вероятно связан с уменьшением осмотической нагрузки на мембране, из-за их способности проникать в клетку [17]. В первом случае этот процесс может происходить быстрее (30 мин), во втором – медленнее (до 60 мин), по-видимому, благодаря большему размеру частиц. В пользу осмотического механизма говорит факт отсутствия защитного эффекта в чисто сахарозной среде и в случае присутствия в среде прединкубации непроникающих в клетки [17] стержневидных НЧ.

Время экспозиции с НЧ и их концентрация также оказывают влияние. Защитный эффект снимается при длительной экспозиции в присутствии 2 нм НЧ  $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$

независимо от концентрации и имеет тенденцию к увеличению со временем при концентрации 0,1 г/л для обоих видов крупных НЧ на основе  $\text{VO}_4$ . Последнее может свидетельствовать о включении более медленного защитного механизма другой природы, не связанного с проникновением НЧ в клетку. Ранее было показано, что зерноподобные  $\text{GdVO}_4:\text{Eu}^{3+}$  НЧ адсорбируются на поверхности клеточной мембраны [17], что может повлечь изменение структуры липидного бислоя. Вероятно, вследствие этого их эффекты не ограничиваются защитой при гипертоническом гемолизе. Они также значительно тормозят рост опухолевых клеток в опытах *in vitro*. Аналогичным, но менее выраженным эффектом обладали стержневидные НЧ [17].

Можно сделать вывод, что как размер, так и форма ортованадатных НЧ влияют на адаптацию эритроцитов к гипертоническому гемолизу. Вероятно, это обусловлено различными механизмами их взаимодействия с эритроцитами, которые проявляются по-разному в зависимости от условий. Предположительно, быстрые протекторные эффекты (характерные для мелких НЧ) связаны со способностью и скоростью проникновения НЧ через мембрану, поздние (проявляющиеся у крупных НЧ) - с изменением состояния мембраны, вероятно опосредованного модификацией ее водного окружения [14, 15].

Представляло интерес выяснить роль изменения состояния липидного бислоя во влиянии НЧ на гипертонический лизис эритроцитов. Для этого мы проводили предобработку клеток в растворе комплекса мелких сферических  $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$  НЧ с холестерином. Данные отражены на рис. 3.

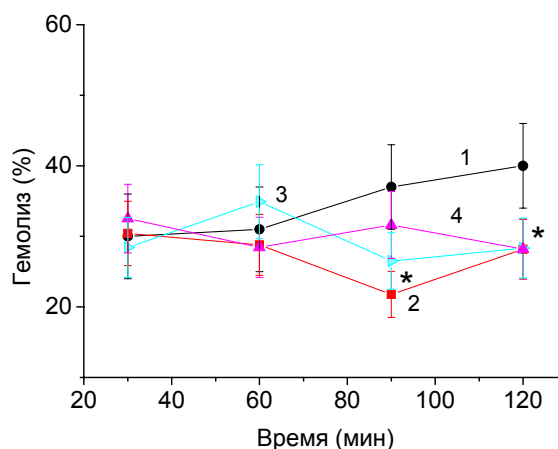


Рис. 3. Зависимость гемолиза эритроцитов в 4 М NaCl от времени предварительной инкубации в присутствии комплекса сферических НЧ  $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$  размером 2 нм в концентрации 0,05 г/л с холестерином: 1 – 0 г/л (контроль); 2 – 0,011 г/л; 3 – 0,012 г/л; 4 – 0,1 г/л холестерина. Представлены средние значения  $\pm$  стандартные отклонения.

Видно, что во всех вариантах концентраций холестерина в исследуемом комплексе с НЧ и состава сред (данные по сахарозной среде не приведены) при 90 мин инкубации клетки имели меньший уровень повреждения, чем в контроле, а при 120 мин эта разница была статистически достоверной. Лучше всего защищали клетки те растворы, в которых концентрация была наименьшей. Так, в варианте с содержанием холестерина 0,011 г/л гемолиз достоверно ниже контрольного при 90 мин прединкубации (кривая 2 на рис. 3).

В отличие от самих 2 нм ортованадатных НЧ их комплекс с холестерином сохранял пониженный уровень гипертонического гемолиза эритроцитов. Однако существенного снижения повреждения, характерного для свободных НЧ в концентрации 0,1 г/л при

30 мин инкубации (рис. 2 А, кривая 4), также не зафиксировано. Такие данные можно интерпретировать следующим образом: присутствие холестерина повышает стабильность мембраны, способствуя сохранению высокого уровня адаптации клеток. Для осуществления такого эффекта достаточно минимальных концентрации холестерина (0,011 г/л) и времени инкубации (30 мин). НЧ при этом служат для доставки холестерина к мембранам независимо от состава среды.

Считается, что механизм гипертонического лизиса эритроцитов начинается с быстрой утечки воды, затем нарушается баланс ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ , что приводит к изменению мембранного потенциала и внутриклеточного рН, дезорганизации липидного бислоя и цитоскелетной белковой сети, что заканчивается образованием гемолитических пор в мембране [10, 18]. Было показано, что ключевую роль в этом процессе играет структурное состояние мембраны [10]. Можно предположить, что зерноподобные НЧ и мелкие сферические НЧ в комплексе с холестерином оказывают влияние на осмотическую адаптацию клеток через их взаимодействие с бислоем, приводящее к изменению структуры мембраны [14, 15].

На следующем этапе исследования предстояло прояснить роль в исследуемом феномене состава НЧ. На рис. 4 представлены результаты осмотического лизиса эритроцитов после прединкубации с малыми - 2 нм (рис. 3 А) и большими - 9 нм (рис. 3 В) сферическими НЧ диоксида церия. Видно, что эти частицы сохраняли клетки только при длительной экспозиции (90-120 мин) и в максимальной концентрации (0,1 г/л). Т.о., несмотря на одинаковый форм-фактор НЧ разного состава существенно отличаются по влиянию на осмотическое поведение клеток. Механизмы такого различия нуждаются в исследовании.

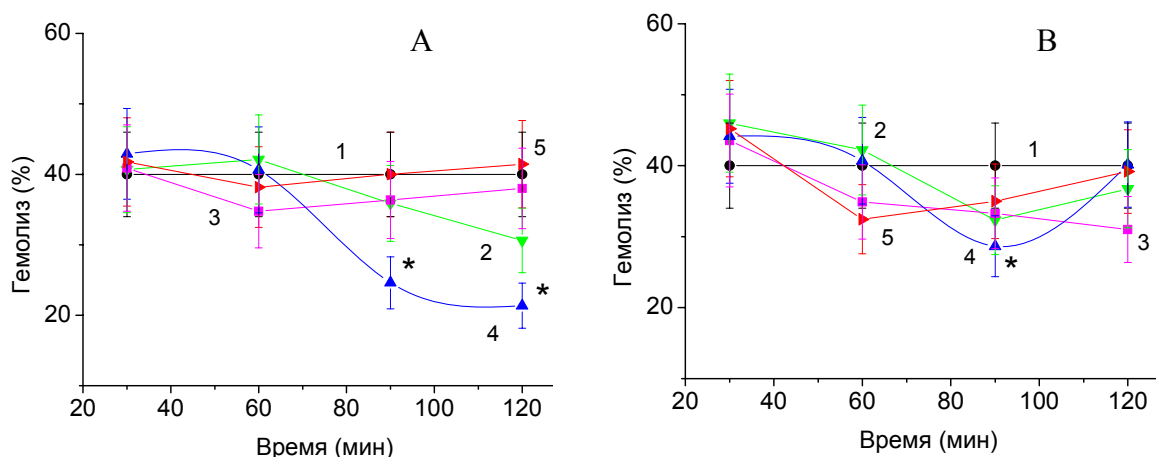


Рис. 4. Зависимость гемолиза эритроцитов в 4 NaCl от времени предварительной инкубации в присутствии сферических НЧ диоксида церия размером: А – 2 нм, В – 9 нм). Концентрации НЧ в изотонической сахарозно-солевой среде составляла: 0 г/л (кривая 1, контроль); 0,01 г/л (кривая 2); 0,05 г/л (кривая 3), 0,1 г/л (кривая 4), а в изотонической сахарозной среде – 0,1 г/л (кривая 5). Представлены средние значения  $\pm$  стандартные отклонения.

Таким образом, можно заключить, что НЧ на основе РЗЭ оказывают влияние на осмотическое поведение эритроцитов в зависимости от своих геометрических параметров, размера и состава. Защитный эффект проявили экстремальные сферические частицы (2 нм) обоих типов ( $\text{CeO}_2$  и  $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ ), а также зерноподобные ортованадатные НЧ. Сферические же НЧ диоксида церия (9 нм) и стержневидные ортованадатные НЧ не оказали заметного влияния на осмотический гемолиз. Интересно отметить, что непроникающие в клетку, близкие по размерам зерноподобные

ортованадатные НЧ и НЧ диоксида церия (9 нм) различаются по эффектам. Решающими факторами здесь выступают форма и состав НЧ. Защитное влияние всех исследованных НЧ сильнее проявлялось в сахарозно-солевой среде и нарастало с увеличением их концентрации до 0,1 г/л.

На снижение гемолиза эритроцитов в гипертонической среде в случае экстремальных сферических НЧ разного состава влияла длительность инкубации. Так, ортованадатные НЧ проявляли защитный эффект на малых сроках инкубации (30 мин). Тогда как НЧ диоксида церия (2 нм) способствовали сохранности клеток при более длительной экспозиции (90-120 мин).

Важность состояния плазмалеммы для выживания клеток при гипертоническом гемолизе подтверждается значительным повышением уровня осмотической адаптации клеток в присутствии взаимодействующих с поверхностью мембраны зерноподобных НЧ, а также комплекса НЧ с холестерином.

О механизмах влияния исследованных НЧ можно сказать, что производимые эффекты могут быть частично обусловлены изменениями структуры клеточной мембраны в присутствии НЧ. Исследование структурных и функциональных ее изменений заслуживает отдельного внимания исследователей. Проникающие экстремальные сферические частицы могут защищать эритроциты от гемолиза посредством иных механизмов. Возможно, находясь внутри клетки, они способствуют поддержанию структуры внутриклеточного матрикса и задерживают выход воды. То, что защитные эффекты проявляются только в сахарозно-солевой среде и не воспроизводятся в изотонической сахарозной среде, свидетельствует о важной роли ионного баланса, обеспечиваемого буферными свойствами НЧ.

### ВЫВОДЫ

НЧ на основе РЗЭ способствуют адаптации эритроцитов к гипертоническому лизису в 4 NaCl. Стабилизирующее влияние НЧ на эритроциты зависело от их геометрических параметров, и в первую очередь размеров. Последние определяют особенности взаимодействия НЧ с мембраной, влияние на ее структуру, условия проникновения в клетку или адсорбцию НЧ на мембране. Оптимальными условиями прединкубации являются: концентрация НЧ на основе РЗЭ 0,1 г/л, изотоническая сахарозно-солевая среда и экспозиция от 30 до 60 мин для НЧ на основе ортованадатов или от 90 до 120 мин для 2 нм частиц диоксида церия.

Протекторные эффекты, наблюдаемые в присутствии комплекса ортованадатных НЧ размером 2 нм с холестерином, могут иметь практическое применение, как при исследовании гипертонического стресса эритроцитов, так и для нивелирования влияния факторов повреждения различной природы.

Таким образом, НЧ на основе РЗЭ могут применяться в качестве защитных агентов от факторов криоповреждения, связанных с повышением тоничности среды, и как носители холестерина. Широкую перспективу предоставляет возможность сочетанного использования этих НЧ как криопротекторов и с диагностической/лечебной целью.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bouzigues C. Biological applications of rare-earth based nanoparticles / Cedric Bouzigues, Thierry Gacoïn, Antigoni Alexandrou // ACS Nano. – 2011. – V. 5 (11). – P. 8488-8505.
2. Магнитные наночастицы: методы получения, строение и свойства / С. П. Губин, Ю. А. Кокшаров, Г. Б. Хомутов, Г. Ю. Юрков // Успехи химии. - 2005. - Т. - 74. - С. 539–574. / Magnitnye nanochasticy: metody polucheniya, stroenie i svojstva /S. P. Gubin, Ju. A. Koksharov, G. B. Homutov, G. Ju. Jurkov // Uspehi himii. - 2005. - Т. - 74. - С. 539–574. /
3. Клочков В. Водные коллоидные растворы наноломинофоров  $n\text{ReVO}_4:\text{Eu}^{3+}$  (Re-Y, Gd, La) / В. Клочков // Наноструктурное материаловедение. – 2009. - № 2. – С. 3-8. / Klochkov V. Vodnye kolloidnye rastvory



- nanoluminoforov nReVO<sub>4</sub>:Eu<sup>3+</sup> (Re — Y, Gd, La) / V. Klochkov // Nanostrukturnoe materialovedenie. – 2009. - №2. – S. 3-8. /
4. Эффект специфического взаимодействия нанокристаллов GdYVO<sub>4</sub>:Eu<sup>3+</sup> с ядрами клеток / В.К. Клочков, Н.С. Кавок, Ю.В. Малюкин, В. П. Семиноженко // Доповіді Національної академії наук України. – 2010. – № 10. – С. 81-86. / Jeffect specificheskogo vzaimodejstvija nanokristallov GdYVO<sub>4</sub>:Eu<sup>3+</sup> s jadrami kletok / V. K. Klochkov, N. S. Kavok, Ju.V. Maljukin, V. P. Seminozhenko // Doporovidi Nacional'noї akademії nauk Ukraїni. – 2010. – № 10. – S. 81-86. /
  5. Ferrari M. Cancer nanotechnology: opportunities and challenges / M. Ferrari // Nat. Rev. Cancer. – 2005. – V. – 5 (3). – P. 161-171.
  6. Multifunctional rare-Earth vanadate nanoparticles: luminescent labels, oxidant sensors, and MRI contrast agents / M. Abdesselem, M. Schoeffel, I. Maurin, [et al] // ASC Nano. – 2014. – V. 8 (11). – P. 11126-11137.
  7. Mitochondrial potential ( $\Delta\Psi$ m) changes in single rat hepatocytes: The effect of orthovanadate nanoparticles doped with rare-earth elements / N.S. Kavok, K.A. Averchenko, V.K. Klochkov, [et al] // European Physical Journal: E Soft Matter and Biological Physics. – 2014. – V. 37 (12). – P. 127.
  8. Single europium-doped nanoparticles measure temporal pattern of reactive oxygen species production inside cells / D. Casanova, C. Bouzigues, T. Nguyen, [et al] // Nat Nanotechnol. – 2009. – V. 4. – P. 581-585.
  9. Геннис Р. Биомембраны: Молекулярная структура и функции / Р. Геннис ; пер с англ. – М.: Изд-во «Мир», 1997. – 624 с./Hennys R. Byomembrany: Molekulyarnaya struktura y funktsyy / R. Hennys ; per s anhl. – М.: Yzd-vo «Myr», 1997. – 624 s./
  10. Поздняков В. В. Влияние состава и осмолярности среды на устойчивость эритроцитов к осмотическому и температурному шоку : автореф. дис. на соискание научн. степени канд. биол. наук: спец. 03.00.22 "Криобиология" / Владимир Владимирович Поздняков ; НАН Украины. - Харьков, 1989. - 16 с. / Vlijanie sostava i osmoljarnosti sredy na ustojchivost' jeritroцитов k osmoticheskomu i temperaturnomu shoku: avtoref. dis. na soiskanie nauchn. stepeni kand. biol. nauk: spec. 03.00.22 "Kriobiologija" / Vladimir Vladimirovich Pozdnjakov. - Har'kov, 1989. - 16 s. /
  11. Inorganic phosphate nanorods are a novel fluorescent label in cell biology/ C. Patra, R. Bhattacharya, S. Patra [et al.] // J. Nanobiotechnology. – 2006. – V. 4. – P. 11.
  12. Frhlich E. Cellular targets and mechanisms in the cytotoxic action of non-biodegradable engineered nanoparticles /E. Frhlich // Curr Drug Metab. – 2013 – V. – 14 (9). – P. 976-988.
  13. Tongtao Yue. Molecular modeling of membrane responses to the adsorption of rotating nanoparticles: promoted cell uptake and mechanical membrane rupture / Y. Tongtao , Z. Xianren, H. Fang // Soft Matter. – 2015. – V. – 11. – P. 456-465.
  14. Apatite nanoparticles strongly improve red blood cell cryopreservation by mediating trehalose delivery via enhanced membrane permeation./ M. Stefanic, K. Ward, H. Tawfik [et al.] // Biomaterials. – 2017. – V. -140. – P.138-149.
  15. Wrapping of nanoparticles by membranes. / A. Bahrami, M. Raatz, J. Agudo-Canalejo [et al.] // Adv Colloid Interface Sci. – 2014. – V. – 208. – P.214-224.
  16. Пат. 108011 Україна, МПК А61К 9/10, А61К 47/02, С07J9/00. Спосіб отримання водної дисперсії холестерину / В. К. Клочков : власник Інститут сцинтиляційних матеріалів НАН України. - № 2013 08642 : заявл. 09.07.2013 : опубл. 10.03.2015, Бюл. № 5. / Pat. 108011 Ukraina, МПК А61К 9/10, А61К 47/02, S07J9/00. Sposib otrymannia vodnoi dyspersii kholesterynu / V. K. Klochkov : vlasnyk Instytut stsyntyliatsiinykh materialiv NAN Ukrainy. - № 2013 08642 : zaiavl. 09.07.2013 : opubl. 10.03.2015, Biul. № 5.
  17. Способность наночастиц на основе ортованадатов к идентификации in vitro и инактивации in vivo ствольных раковых клеток. / А. Н. Гольцев, Н. Н. Бабенко, Ю. А. Гаевская [и др.] // Наносистемы, наноматериалы, нанотехнологии. – 2013. - Т. 11., № 4. - С. 729–739. – Резюме рус., укр., англ. – Библиогр.: с. 738. /Sposobnost' nanochastic na osnove ortovanadatov k identifikacii in vitro i inaktivacii in vivo stvolovykh rakovykh kletok. A. N. Gol'cev, N. N. Babenko, Yu. A. Gaevskaaya [i dr.] // Nanosistemi, nanomateriali, nanotexnologii. – 2013. -T. 11., № 4. - S. 729–739. Rezjume rus., ukr., angl. – Bibliogr. : s. 738. /
  18. Белоус А. Механизмы развития холодового повреждения мембран клеток / Аполлон Белоус, Валерий Бондаренко // Криобиология и криомедицина. - 1981. - № 9. - С. 3-17. / Belous A. Mehanizmy razvitija holodovogo povrezhdenija membran kletok / Apollon Belous, Valerij Bondarenko // Kriobiologija i kriomedicina. - 1981. - № 9. - P. 3-17. /