

© С. Н. Плескова, С. З. Бобык, О. И. Фомичев, Р. Н. Крюков, 2019
УДК 611.018.5

С. Н. Плескова^{1, 2}, С. З. Бобык^{1, 2}, О. И. Фомичев^{1, 2}, Р. Н. Крюков¹

АЛЬТЕРАЦИЯ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ И ЛИМФОЦИТОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ КВАНТОВЫХ ТОЧЕК (ИССЛЕДОВАНИЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ)

¹ Научно-образовательный центр «Физика твердотельных наноструктур» (дир. — канд. физ.-мат. наук О. Н. Горшков), ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского» Минобрнауки России; ² кафедра «Нанотехнологии и биотехнологии» (зав. — д-р хим. наук проф. В. М. Воротынцев), ФГБОУ ВО «Нижегородский государственный технический университет им. Р. Е. Алексеева» Минобрнауки России, г. Нижний Новгород

Цель — анализ основных параметров нейтрофильных гранулоцитов и лимфоцитов для оценки степени их альтерации квантовыми точками с разным покрытием и исследование основных видов клеточной гибели при таком взаимодействии.

Материал и методы. Исследованы нейтрофильные гранулоциты и лимфоциты крови у 31 здорового донора обоего пола в возрасте от 20 до 47 лет после воздействия на них квантовых точек трех видов с разным покрытием. Методом атомно-силовой микроскопии оценены основные морфометрические характеристики и морфологические особенности разных вариантов клеточной гибели.

Результаты. Квантовые точки в CL_{50} вызывают альтерацию клеток лейкоцитарной фракции, которая выражается в увеличении высоты, уменьшении площади и коэффициента адгезии у нейтрофильных гранулоцитов, снижении высоты и увеличении площади адгезии у лимфоцитов.

Выводы. Под воздействием квантовых точек в независимости от типа их покрытия наблюдаются сходные механизмы гибели у нейтрофильных гранулоцитов и лимфоцитов: некроз, апоптоз, внеклеточные ловушки (ЕТоз), аутофагия. Кроме того, у нейтрофильных гранулоцитов обнаружен уникальный механизм гибели — мумификация.

Ключевые слова: нейтрофильный гранулоцит, лимфоцит, атомно-силовая микроскопия, гибель клеток, квантовые точки

Синтез большого числа новых классов наноматериалов и увеличение их экологической нагрузки, а также попытки их внедрения в медицинскую практику с целью терапии и диагностики делают особенно актуальной проблему исследования токсичности наночастиц (НЧ) [12]. При любом механизме введения НЧ неизбежно обнаруживаются в крови, где происходит их взаимодействие как с эритроцитами, так и с клетками лейкоцитарной фракции [2]. Поскольку лимфоциты (ЛФ) связывают на своей поверхности, а нейтрофильные гранулоциты (НГ) способны напрямую фагоцитировать агрегаты НЧ [10, 11], важно знать, к каким морфологическим изменениям клеток это приводит, и какие механизмы клеточной гибели могут запускаться в результате такого взаимодействия. В настоящее время Номенклатурный комитет по клеточной гибели (Nomenclature Committee on Cell Death) официально выделяет 12 типов смерти клеток на основании морфологических, биохимических, функцио-

нальных, генетических и фармакологических особенностей [6]. Механизм клеточной гибели может напрямую влиять на развитие физиологических и ряда патологических процессов [3]. Для морфологической идентификации разных вариантов альтерации клеток и их гибели необходимо использовать современные методы высокоразрешающей микроскопии. Наибольшими преимуществами обладает атомно-силовая микроскопия (АСМ), которая не требует сложной пробоподготовки и позволяет провести большое число морфометрических измерений [4].

Целью данной работы были анализ основных параметров НГ и ЛФ для оценки степени их альтерации квантовыми точками (КТ) с разным покрытием и описание основных видов клеточной гибели, развивающихся в результате такого взаимодействия.

Материал и методы. Исследовали 31 образец венозной крови здоровых доноров обоего пола в возрасте 20–47 лет, полученных из «Нижегородского областного центра

Сведения об авторах:

Плескова Светлана Николаевна (e-mail: pleskova@mail.ru), Бобык Сергей Зенонович, Фомичев Олег Игоревич, Крюков Руслан Николаевич, Научно-образовательный центр «Физика твердотельных наноструктур», ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского» Минобрнауки России, 603950, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23; кафедра «Нанотехнологии и биотехнологии», ФГБОУ ВО «Нижегородский государственный технический университет им. Р. Е. Алексеева» Минобрнауки России, 603950, г. Нижний Новгород, ул. Минина, 24

крови им. Н. Я. Климовой». Исследование одобрено комиссией по биоэтике ННГУ им. Н. И. Лобачевского (созданной 11.11.2016 г., приказ о создании № 497-ОД), протокол № 9 от 17.07.2017 г. Кровь разводили забуференным изотоническим раствором NaCl (ЗИР), содержащим 0,137M NaCl и 0,0027M KCl, pH 7,35 (200 г, 3 мин) в соотношении 1:1. Для выделения нейтрофильной и лимфоцитарной фракции использовали двойной градиент фиколла-урографина ($\rho=1,077$ г/мл, $\rho=1,117$ г/мл, 200 г, 40 мин). Полученные фракции отдельно отмывали ЗИР (200 г, 3 мин) и использовали в конечной концентрации $1 \cdot 10^6$ кл/мл. Клетки брали в эксперимент сразу после выделения, жизнеспособность по тесту с трипановым синим составляла не менее 99%.

Клетки инкубировали (30 мин, 37 °C) с КТ трех видов: CdSe/ZnS-MPA (КТ-MPA), CdSe/CdZnS/ZnS-PTVP (КТ-PTVP) и CdSe/CdZnS/ZnS-APS (КТ-APS). КТ (Нанотех-Дубна, Россия) перед экспериментами взбалтывали в перемешивающем устройстве Vortex (ELMI Ltd., Латвия) 1 мин, диспергировали в ультразвуковой ванне (РЭЛТЭК, Москва) в течение 20 мин, добиваясь однородности, после чего использовали для инкубации с клетками лейкоцитарной фракции в конечной концентрации CL_{50} . Определение CL_{50} и описание основных физико-химических характеристик КТ подробно приведено в [2, 10].

После инкубации клетки переносили на поверхность предметных стекол, фиксировали глутаровым альдегидом (2,5%, 20 мин, 24 °C), четырежды отмывали, высушивали на воздухе (24 °C) и сканировали в полуконтактном режиме на воздухе с помощью АСМ микроскопа NTegra (NT-MDT, Россия). Для обработки результатов сканирования использовался программный пакет Gwyddion (факультет нанометрологии Чешского метрологического института, Чехия). Использовали зонды DNP (Bruker, США) с радиусом закругления кончика 20 нм, углом при вершине 15°, резонансной частотой около 65 кГц, константой жёсткости 0,35 Н/м.

Определяли границы нормального распределения количественных показателей выборок с использованием критерия Шапиро—Уилка. В случае нормального распределения для сравнения дисперсий средних значений контроля и эксперимента использовали t-критерий Стьюдента для независимых выборок (параметрическая статистика), в случае ненормального распределения использовали двухвыборочный критерий Вилкоксона (непараметрическая статистика). Различия между двумя выборками считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Для статистического анализа использовали программу Origin Pro 8 (OriginLab Corporation, США).

Результаты исследования. Для оценки степени альтерации НГ и ЛФ использовали следующие морфометрические параметры: площадь адгезии клетки, как параметр, отражающий степень развитости адгезионных контактов; площадь неадгезированной поверхности; объем клеток; среднюю высоту клеток; их максимальную высоту как критерий степени неоднородности клеточной поверхности. Кроме того, рассчитывали коэффициент адгезии, как отношение площади адгезии клетки к неадгезированной поверхности. Результаты измерений приведены в *таблице*.

Основные морфометрические параметры нейтрофильных гранулоцитов и лимфоцитов и их изменения под воздействием квантовых точек ($\bar{x} \pm s_x$)

Морфометрический параметр	Контроль		КТ-MPA		КТ-PTVP		КТ-APS	
	НГ, n=15	ЛФ, n=16	НГ, n=15	ЛФ, n=16	НГ, n=15	ЛФ, n=16	НГ, n=15	ЛФ, n=16
Максимальная высота, мкм	1,87±0,57	3,05±0,18	2,38±0,93 (t=-1,68)	2,76±0,18* (t=9,95)	3,67±0,34* (t=-9,36)	3,08±0,06 (t=-0,68)	2,25±1,13 (t=-1,29)	2,98±0,15* (t=5,20)
Средняя высота, мкм	0,56±0,15	1,86±0,16	1,02±0,62 (W=28, Z=-1,78)	1,67±0,16* (t=18,37)	1,95±0,32* (t=15,04)	1,89±0,13* (t=-3,07)	1,21±0,61* (t=-3,57)	1,73±0,18* (W=136; Z=3,49)
Площадь адгезии, мкм ²	229,25±35,47	30,73±1,8	140,63±68,13* (t=4,31)	28,5±2,48* (W=133; Z=3,34)	63,82±19,06* (t=17,15)	33,47±1,61* (t=-17,38)	47,32±10,19* (t=17,60)	31,97±2,82* (t=-3,59)
Площадь неадгезированной поверхности, мкм ²	252,99±34,65	54,68±3,78	172,79±58,32* (t=4,26)	49,33±2,49* (t=14,73)	129,72±29,37* (t=10,64)	56,05±4,23* (t=-6,034)	76,83±28,72* (t=13,14)	55,21±3,25 (W=37; Z=-1,58)
Коэффициент адгезии	0,9±0,02	0,56±0,02	0,76±0,16* (W=-109; Z=-2,75)	0,58±0,05 (t=-1,25)	0,49±0,07* (W=-120; Z=-3,37)	0,6±0,03* (t=-3,58)	0,64±0,15* (t=-6,61)	0,58±0,04 (W=51; Z=-0,85)
Объем клетки, мкм ³	128,09±37,64	56,83±6,45	107,66±19,78 (W=84; Z=1,13)	47,57±4,44* (t=15,733)	122,07±29,83 (W=65; Z=0,25)	63,43±4,95* (t=-9,39)	58,77±37,48* (W=112; Z=2,92)	56,55±3,78 (t=0,26)

Примечание. n — количество замеров; * — различия между контролем и опытом значимы при $p < 0,05$; t — критерий Стьюдента; W, Z — критерий Вилкоксона.

Очевидно, что в отношении НГ и ЛФ альтерирующая активность КТ проявляется неодинаково. В частности, у НГ увеличивается максимальная и средняя высота под воздействием КТ-РТVP, и только средняя высота под воздействием КТ-APS. В то же время, у ЛФ, напротив, уменьшается максимальная высота под действием КТ-МРА и КТ-APS. Средняя высота ЛФ показывает разнонаправленную реакцию в зависимости от типа КТ: под действием КТ-МРА и КТ-APS она снижается, а КТ-РТVP вызывает рост среднего значения высоты ЛФ. Для определения альтерирующего влияния КТ на фокальные адгезионные контакты клеток с поверхностью мы предлагаем использовать коэффициент адгезии, который рассчитывается как отношение площади адгезии к неадгезированной поверхности. Анализ коэффициента адгезии показывает, что в случае НГ увеличение высоты напрямую связано с потерей клеткой способности полноценно адгезироваться на поверхности, что, по всей вероятности, обусловлено прямой альтерацией КТ адгезионных

рецепторов НГ. В случае ЛФ наблюдается обратная реакция: тенденция к увеличению коэффициента адгезии, что, по всей вероятности, и обуславливает снижение максимальной и средней высоты клеток. КТ вызывают незначительное снижение объема НГ (кроме КТ-APS, под влиянием которых объем падает статистически значимо), тогда как для ЛФ вновь наблюдаются разнонаправленные реакции объема клеток на разные типы КТ: под воздействием КТ-МРА — объем снижается, КТ-РТVP — увеличивается, а КТ-APS — не изменяется.

Поскольку не все морфометрические критерии оказались достаточно чувствительными для оценки альтерации клеток лейкоцитарной фракции КТ были дополнительно проанализированы разные варианты клеточной гибели на основе структурно-морфологических особенностей. Результаты представлены на *рис. 1* для НГ и на *рис. 2* для ЛФ.

В целом анализ основных вариантов клеточной гибели показывает, что и НГ, и ЛФ под дей-

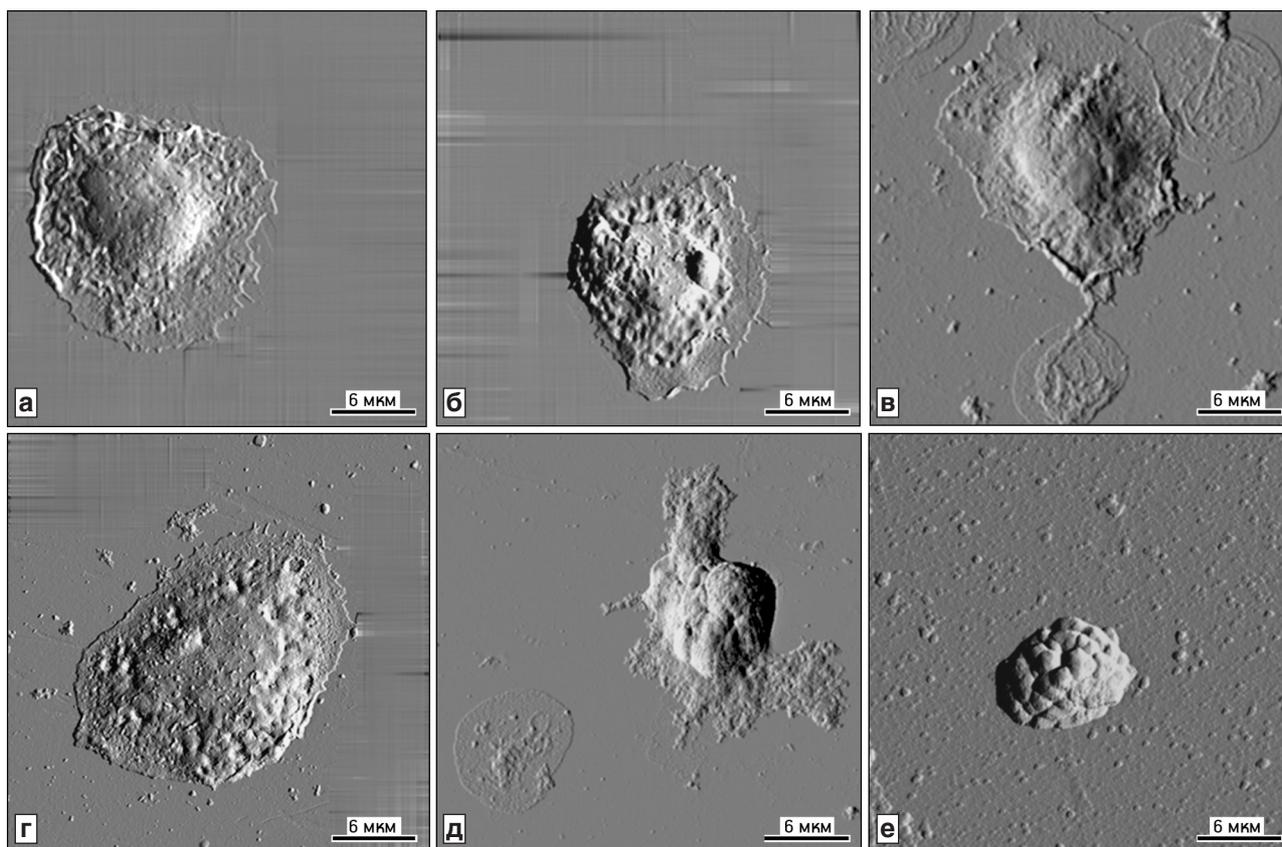


Рис. 1. Морфологические особенности разных вариантов гибели нейтрофилов под воздействием квантовых точек с разным покрытием.

а — контроль; б — апоптоз с формированием характерных апоптотных телец под воздействием КТ-МПА (0,025 мг/мл); в — быстрый нетоз с формированием небольшого выброса ДНК под воздействием КТ-МПА (0,025 мг/мл); г — аутофагия с внутриклеточными вакуолями разного диаметра под воздействием КТ-МПА (0,025 мг/мл); д — некроз с выраженным повреждением мембраны цитоплазматической части клетки и частично сохранившимся ядром под воздействием КТ-МПА (0,025 мг/мл); е — мумификация под воздействием КТ-APS (0,485 мг/мл)

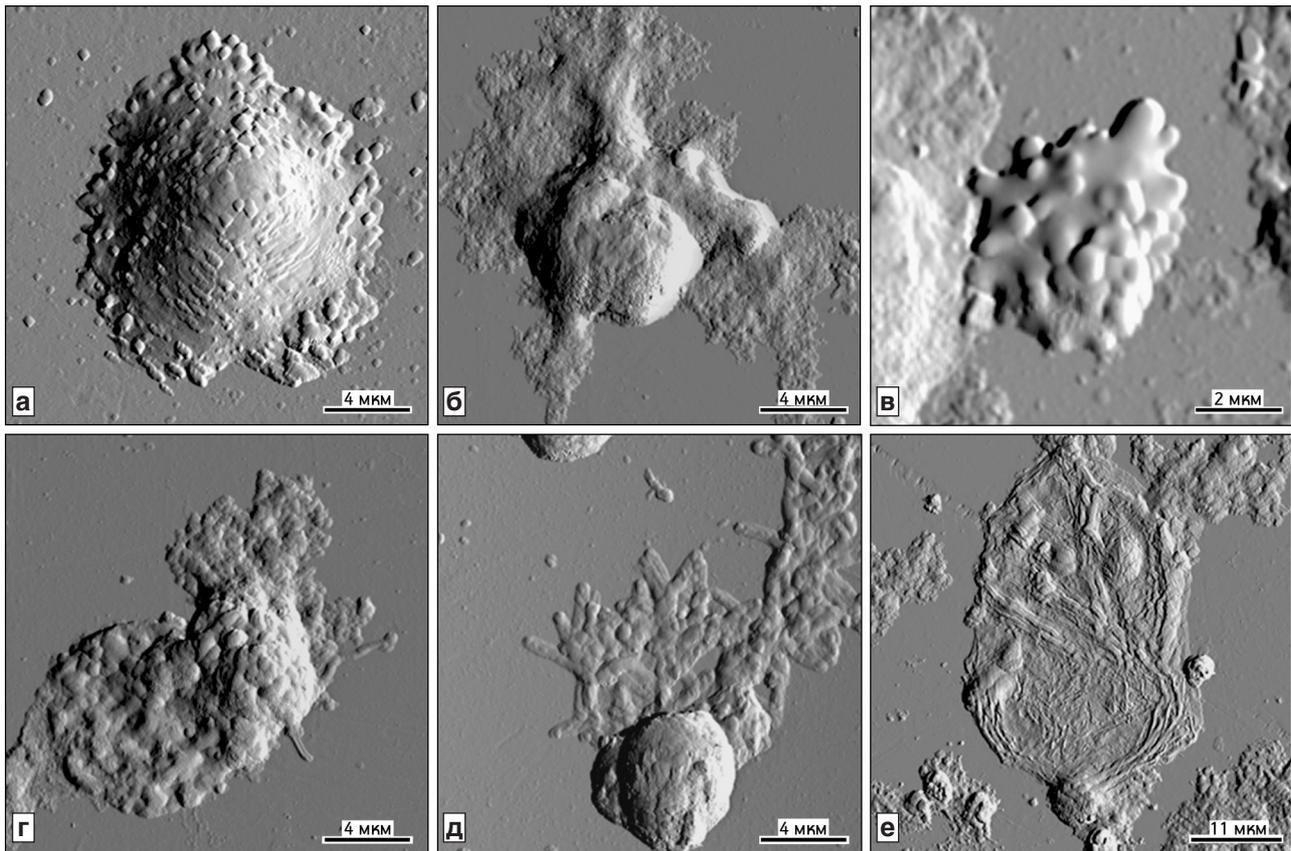


Рис. 2. Морфологические особенности разных вариантов гибели лимфоцитов под воздействием квантовых точек с разным покрытием.

а — контроль; б — некроз под воздействием КТ-МПА (0,025 мг/мл); в — ранний апоптоз с формированием характерных апоптотических телец под воздействием КТ-АПС (0,485 мг/мл); г — поздний апоптоз с отпочковыванием апоптотических телец под воздействием КТ-МПА (0,025 мг/мл); д — ранний ЕТоз под воздействием КТ-РТВП (0,04 мг/мл); е — выраженный ЕТоз с формированием развитой сети ДНК под воздействием КТ-МПА (0,025 мг/мл)

ствием КТ реализуют в целом сходные программы гибели, но у НГ спектр механизмов несколько шире. В частности, для НГ зафиксированы: апоптоз с формированием характерных апоптотических телец (см. рис. 1, б), быстрый нетоз (NET — neutrophil extracellular traps) (см. рис. 1, в), аутофагия, регистрируемая по характерным вакуолям разного размера (см. рис. 1, г), некроз с выраженным разрушением цитоплазматической части мембраны (см. рис. 1, д), мумификация (см. рис. 1, е).

При инкубации КТ с ЛФ выявлены: некроз (см. рис. 2, б), первичный (см. рис. 2, в) и вторичный (см. рис. 2, г) апоптоз с формированием характерных апоптотических телец. Самым интересным результатом явилось обнаружение ЕТоза (ЕТosis — extracellular traps) у ЛФ под влиянием КТ (см. рис. 1, д, е). До этого высвобождение ядерной ДНК с образованием внеклеточных сетей лимфоцитами описано только в одном источнике [13].

Обсуждение полученных данных. Морфометрический анализ прямо указывает на то,

что страдает не только структура, но и функции клеток лейкоцитарной фракции. В частности, перед трансэндотелиальной миграцией НГ после перехода в маргинальный пул подвергаются роллингу и докингу, после чего наблюдается выраженная адгезия клеток к эндотелиоцитам сосудов. Именно поэтому у НГ экспрессируются большое число рецепторов, принимающих участие в реализации одной из основных функций — адгезии. К ним относятся E-, P- и L-селектины, ICAM-1, VCAM-1, CD11a/CD18, CD11b/CD18, $\alpha_v\beta_2$ -интегрины [1]. Очевидно, что в случае воздействия КТ всех трех типов на НГ наблюдается альтерация адгезионной функции, которая проявляется в уменьшении площади адгезии, коэффициента адгезии, а также увеличении средней и максимальной высоты НГ. Однако с учетом того факта, что КТ в основном не связываются, а фагоцитируются НГ [10, 11], нельзя исключить срыв фокальной адгезии НГ в результате воздействия КТ не только на трансмембранные белки (тетраспанины), но и на белки цитоскелета (талин, α -актин,

тенсин, паксиллин, филамин, винкуллин) [1]. Для ЛФ, напротив, адгезионная функция основной не является, а молекулы, принимающие участие в адгезии, представлены семейством L-селектинов (CD62L, LAM-1, LECAM). Вместе с тем, для ЛФ отмечена тенденция к увеличению адгезионных контактов, которая сопровождается выраженным морфологическим сглаживанием рецепторных полей. У ЛФ, по всей вероятности, нарушаются именно мембран-ассоциированные молекулы, поскольку для ЛФ отмечена возможность только мембранного связывания КТ [10, 11]. Может наблюдаться выраженная потеря цитоплазматического содержимого клетки: у НГ объем резко уменьшается под воздействием КТ-APS, у ЛФ — под воздействием КТ-МРА.

Механизм клеточной гибели не зависит от типа покрытия КТ и четко визуализируется по морфологическим признакам. В частности, для некроза отмечаются прямое разрушение клеточной мембраны и потеря клеткой цитоплазматического содержимого. В зависимости от степени выраженности некроза ядро имеет разную степень альтерации. Четко определяется апоптоз по формированию характерных апоптозных телец, а также аутофагия по образованию в цитоплазме везикул разного размера. Наиболее интересными механизмами гибели, возникающими под воздействием КТ разного состава, являются быстрый нетоз, изученный ранее у НГ под воздействием золотистого стафилококка [7] и ЕТоз, описанный до этого только в одной работе у ЛФ [13] под влиянием форболмеристатацетата, иономицина и в крови у больных с системной красной волчанкой. Характерной чертой этих вариантов клеточной гибели является формирование развитой внеклеточной ловушки, образованной ДНК, цитруллированными гистонами, ферментами клеток и активными формами кислорода [5]. У НГ также зафиксирован уникальный механизм клеточной гибели — мумификация, ранее обнаруженный у них под воздействием пероксида водорода и ап-конверсионных наночастиц [8, 9]. Мумифицированные клетки характеризуются грубыми выпячиваниями на поверхности, не связанными ни с гранулами, ни с вакуолями, ни с апоптозными телами. Особой чертой мумифицированных клеток является их чрезвычайно высокая ригидность.

Таким образом, вне зависимости от типа покрытия КТ вызывают выраженную альтерацию как НГ, так и ЛФ, однако эта альтерация имеет разнонаправленный характер, поскольку основные морфометрические критерии клеток лейкоци-

тарной фракции изменяются по-разному. Для НГ отмечено нарушение фокальной адгезии, для ЛФ, напротив, наблюдалась тенденция к ее увеличению. В то же время, механизмы клеточной гибели, возникающие под действием КТ в CL_{50} , у НГ и ЛФ практически не отличаются и могут быть легко идентифицированы по характерным морфологическим особенностям методом АСМ.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда, проект № 16-14-10179.

Вклад авторов:

Концепция и дизайн исследования: С. Н. П., Р. Н. К.

Сбор и обработка материала: С. З. Б., О. И. Ф., Р. Н. К.

Статистическая обработка данных: С. Н. П., С. З. Б., О. И. Ф., Р. Н. К.

Анализ и интерпретация данных: С. Н. П., С. З. Б., О. И. Ф.

Написание текста: С. Н. П.

Авторы сообщают об отсутствии в статье конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белоцкий С.М., Авталион Р.Р. Воспаление. Мобилизация клеток и клинические эффекты. М.: БИНОМ, 2008. 240 с. [Belotski S.M., Avtalion R.R. Inflammation. Cell mobilization and clinical effects. M.: BINOM, 2008. 240 p. In Russ.]
2. Плескова С.Н. Наноматериалы и их гемотоксические свойства: монография. Нижний Новгород: Стимул-СТ, 2018 [Pleskova S.N. Nanomaterials and their hemotoxic properties: monograph. Nizhnii Novgorod: Stimul-ST, 2018. In Russ.]
3. Плескова С.Н., Крюков Р.Н. Провоспалительные механизмы гибели нейтрофильных гранулоцитов // Цитология. 2019. Т. 61, № 5. С. 1–13 [Pleskova S.N., Kryukov R.N. Proinflammatory mechanisms of neutrophil granulocyte death // Tsitologiya. 2019. Vol. 61, № 5. P. 1–13. In Russ.]. doi: 10.1134/S0041377119050031
4. Плескова С.Н., Крюков Р.Н., Зубков С.Ю. Изменение строения и фрактальной размерности эритроцитов под влиянием наночастиц магнетита (исследование с использованием атомно-силовой микроскопии) // Морфология. 2018. Т. 153, вып. 2. С. 42–46 [Pleskova S.N., Kryukov R.N., Zubkov S.Yu. Changes in the structure and fractal dimension of erythrocytes exposed to magnetite nanoparticles (an atomic force microscopic study) // Morfologiya. 2018. Vol. 153, № 2. P. 42–46. In Russ.]
5. Brinkmann V., Reichard U., Goosmann C., Fauler B., Uhlemann Y., Weiss D.S., Weinrauch Y., Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps kill bacteria // Science. 2004. Vol. 303, № 5663. P. 1532–1535. doi: 10.1126/science.1092385
6. Galluzzi L., Vitale I., Aaronson S.A., Abrams J.M., Adam D., Agostinis P., Alnemri E.S., Altucci L., Amelio I., Andrews D.W. et al. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death // Cell Death Differ. 2018. Vol. 25, № 3. P. 486–541. doi: 10.1038/s41418-017-0012-4
7. Pilsczek F.H., Salina D., Poon K.K.H., Fahey C., Yipp B.G., Sibley C.D., Robbins S.M., Green F.H.Y., Surette M.G., Sugai M., Bowden M.G., Hussain M., Zhang K., Kuberski P. A novel mechanism of rapid nuclear neutrophil extracellular trap

- formation in response to *Staphylococcus aureus* // *J. Immunol.* 2010. Vol. 185, № 12. P. 7413–7425. doi: 10.4049/jimmunol.1000675
8. Pleskova S.N. The use of the light microscopy and the atomic force microscopy for studying cell death under hydrogen peroxide influence. in book «Current microscopy contributions to advances in science and technology». Editor: Méndez-Vilas A. // *Form. Res. Center.* 2012. Vol. 1. P. 602–609.
9. Pleskova S.N., Gorshkova E.N., Novikov V.V., Solioz M. Treatment by serum up-conversion nanoparticles in the fluoride matrix changes the mechanism of cell death and the elasticity of the membrane // *Micron.* 2016. Vol. 90. P. 23–32. doi: 10.1016/j.micron.2016.08.005
10. Pleskova S.N., Kriukov R.N., Gorshkova E.N., Boryakov A.V. Characteristics of quantum dots phagocytosis by neutrophil granulocytes // *Heliyon.* 2019. Vol. 5. P. e01439. doi: 10.1016/j.heliyon.2019. e01439
11. Pleskova S.N., Mikheeva E.R., Gornostaeva E.E. The Interaction between Human Blood Neutrophil Granulocytes and Quantum Dots // *Micron.* 2018. Vol. 105. P. 82–92. doi: 10.1016/j.micron.2017.11.011
12. Radomska A., Leszczyszyn J., Radomski M.W. The Nanopharmacology and Nanotoxicology of Nanomaterials: New Opportunities and Challenges // *Adv. Clin. Exp. Med.* 2016. Vol. 25, № 1. P. 151–162. doi: 10.17219/acem/60879
13. Rocha Arrieta Y.C., Rojas M., Vasquez G., Lopez J. The Lymphocytes Stimulation Induced DNA Release, a Phenomenon Similar to NETosis // *Scand. J. Immunol.* 2017. Vol. 86, № 4. P. 229–238. doi: 10.1111/sji.12592

Поступила в редакцию 22.05.2019
Получена после доработки 21.06.2019

ALTERATION OF NEUTROPHILIC GRANULOCYTES AND LYMPHOCYTES UNDER THE INFLUENCE OF QUANTUM DOTS (AN ATOMIC FORCE MICROSCOPIC STUDY)

S. N. Pleskova^{1, 2}, *S. Z. Bobyk*^{1, 2}, *O. I. Fomichev*^{1, 2}, *R. N. Kryukov*¹

Objective — to analyze the main parameters of neutrophilic granulocytes and lymphocytes to assess the extent of their alteration by quantum dots with different coatings and to study the main types of cell death during this interaction.

Material and methods. Neutrophilic granulocytes and lymphocytes from blood of 31 healthy donors of both sexes aged from 20 to 47 years were studied after exposure to three types of quantum dots with different coating. The main morphometric characteristics and morphological features of different types of cell death were assessed by atomic force microscopy.

Results. The quantum dots in the CL₅₀ cause alteration of leukocytes fraction, which results in an increase in height, a decrease in the adhesion area and coefficient in neutrophilic granulocytes, a decrease in height and an increase in the area of adhesion in lymphocytes.

Conclusion: Under the influence of quantum dots, regardless of the type of their coating, similar mechanisms of death in neutrophilic granulocytes and lymphocytes were observed: necrosis, apoptosis, ETosis, autophagy. In addition, a unique death mechanism, mummification, was found in neutrophilic granulocytes.

Key words: *neutrophilic granulocyte, lymphocyte, atomic force microscopy, cell death, quantum dots*

¹ Research and Education Center «Physics of Solid State Nanostructures», N. I. Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, 23 Gagarina av., Nizhny Novgorod 3603950; ² Department of Nanotechnology and Biotechnology, R. E. Alekseev Nizhny Novgorod State Technical University, 24 Minina St., Nizhny Novgorod 1603950