

*Челнокова И.А.¹, Голубева Е.Н.², Кулагова Т.А.², Шуба М.В.³,
Поддубская О.Г.³, Стародубцева М.Н.^{1,4}*

Влияние одностенных углеродных нанотрубок на физико-механический образ поверхности глиальных клеток крыс

¹ГНУ «Институт радиобиологии НАН Беларуси», г. Гомель, Беларусь

²Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь

³НИУ «Институт ядерных проблем» Белорусского государственного университета, г. Минск, Беларусь

⁴УО «Гомельский государственный медицинский университет»,
г. Гомель, Беларусь

Благодаря своим физико-химическим свойствам нанотрубки являются уникальными наноразмерными структурами, взаимодействующими с организмом на молекулярно-клеточном уровне. В настоящее время ведётся активная работа по разработке методов применения нанотрубок в медицине, в связи с чем возникает необходимость детального исследования влияния нанотрубок на биологические объекты.

Целью работы являлась оценка влияния одностенных углеродных нанотрубок (ОУНТ) на структурные и механические свойства поверхности глиальных клеток методом атомно-силовой микроскопии (АСМ). Клетки глиомы крысы линии С6 высевали на стёкла, после прикрепления через 8 часов добавляли одностенные углеродные нанотрубки в комплексах с ДНК в концентрации 4,5 мкг/мл. В контрольных об-

разцах использовался физиологический раствор. Образцы выдерживались 1, 2, 18 и 24 часа. Исследование проводили на атомно-силовом микроскопе NT-206 («Микротестмашины», Беларусь) в контактном режиме сканирования иглой-зондом CSC38 (MicroMasch, Эстония): уровень В, коэффициент жёсткости 0,03 Н/м. Сканировали участки размером 2,5 мкм × 2,5 мкм с разрешением 256 × 256 пикселей. Обработка АСМ-данных осуществлялась при помощи программы SurfaceExplorer («Микротестмашины», Беларусь).

На начальных этапах взаимодействия клеток глиомы с ОУНТ на АСМ-изображениях их поверхности имеются многочисленные инвагинации и структуры по геометрическим параметрам схожие с нанотрубками. В этом временном интервале на световых микрофотографиях, окрашенных по-Романовскому, выявляется интенсивное образование микропузырьков. Шероховатость мембраны обработанных ОУНТ клеток в течение 1 часа существенно меньше шероховатости мембран контрольных клеток ($p=0,005$, критерий Манн-Уитни). При дальнейшей инкубации клеток с нанотрубками существенных отличий в параметрах шероховатости их мембран от соответствующего параметра для контрольных клеток не наблюдалось. При этом фрактальная размерность поверхности обработанных ОУНТ клеток была существенно меньше фрактальной размерности поверхности контрольных образцов для временных точек 2-24 часа.

Параметры карт (средние значение сил трения и шероховатость карт) механических свойств (карт сил трения-скольжения) для клеток глиомы на начальных этапах (1 час инкубации) их взаимодействия с ОУНТ были существенно меньше соответствующих параметров для контрольных клеток ($p<0,001$, критерий Манн-Уитни). С увеличением времени инкубации клеток с ОУНТ параметры сил трения увеличиваются и становятся больше значений параметров, характерных для контрольных клеток (для 24 часов инкубации $p=0,004$, критерий Манн-Уитни). На световых микрофотографиях клетки глиомы, обработанные ОУНТ в течении 18-24 часов, характеризуются более развитыми цитоскелетными структурами периферии клеток.

Анализ структурных и механических свойств поверхности клеток глиомы после их взаимодействия с ОУНТ выявил активацию структур кортикального цитоскелета в течение длительного интервала времени (2-24 часа).