

УДК 576.3.085.23:577.325

ПРОЦЕСИ АДГЕЗІЇ ТА ПРОЛІФЕРАЦІЇ КЛІТИН ЛІНІЇ СПЕВ ЗА ДІЇ НАНОЧАСТИНОК ОКСИДУ ЄВРОПІУ

О. В. Павлович
Н. О. Волкова
Л. В. Степанюк
О. І. Гончарук

Інститут проблем кріобіології та кріомедицини
НАН України, Харків

E-mail: lenapavlovich@gmail.com

Отримано 30.03.2012

У результаті вивчення процесів адгезії та проліферації клітин лінії СПЕВ за впливу наночастинок оксиду європію встановлено, що здатність клітин до адгезії перебуває у зворотній залежності від концентрації інкорпорованих наночастинок. Показано, що проліферативна активність клітин також знижується. Наночастинки оксиду європію в концентрації 6,8 мкг/мл не справляють істотного впливу на процеси адгезії та кількість клітин лінії СПЕВ. За низької концентрації наночастинок (17 і 34 мкг/мл) процес адгезії уповільнюється, наночастинки у високій концентрації (340 мкг/мл) необоротно впливають на процеси адгезії та проліферації і призводять до загибелі клітин. Вплив наночастинок оксиду європію в діапазоні концентрації 17–340 мкг/мл на клітини лінії СПЕВ зумовлює зниження кількості клітин. Дані, що їх отримано за допомогою методу проточної цитофлуориметрії, не дають підстави зробити висновок про включення процесів апоптозу як причини клітинної загибелі під дією досліджуваного агента.

Ключові слова: культура клітин, лінія СПЕВ, наночастинки оксиду європію, адгезія, проліферація, апоптоз.

Головною особливістю наночастинок (НЧ) металів є притаманна їм висока реакційна здатність, зумовлена підвищеною схильністю до іонного та атомного обміну, адсорбції на різних поверхнях, утворення поверхневих зв'язків. Токсичність НЧ визначається їхніми формою, структурою, розмірами та концентрацією [1, 2, 3]. Вочевидь, для повної характеристики наноматеріалів потрібна велика експериментальна база досліджень *in vitro* й *in vivo*. Важливо дослідити не лише взаємодію НЧ з клітинами за безпосереднього впливу наносполук на життєздатність останніх, але й довготривалу їх дію на адгезивно-проліферативні властивості клітин та процеси апоптозу. Обрані для роботи НЧ оксиду європію мають флуоресцентні властивості і можуть бути використані як наномітки за відсутності токсичної дії на клітини.

Адгезія клітин є необхідною умовою подальшого росту клітин у культурі й відображає їх функціональний стан. Це — активний процес, який має кілька стадій і залежить від цитоскелетних перебудов та формування контактів, необхідних для посилення прикріплення [4]. Провідна роль у міжклітинному впізнаванні та клітинній

адгезії належить поверхневим глікопротеїдам клітинної мембрани. За моношарового культивування адгезія завершується розпластуванням клітин і набуттям відповідної морфології [5].

Метою роботи було дослідження процесів адгезії і проліферації, апоптотичних змін клітин СПЕВ під впливом наночастинок оксиду європію.

Матеріали і методи

Лінію клітин нирки ембріона свині (СПЕВ), що підтримується *in vitro*, культивували в середовищі DMEM (Sigma, США) з 5% -ю сироваткою великої рогатої худоби (v/v) виробництва NuClone з додаванням пеніциліну/стрептоміцину (РАА, Австрія) та амфотерицину В (5 мкг/мл) (РАА, Австрія) згідно з [6]. Концентрацію клітин визначали в камері Горяєва загальноприйнятим способом [7]. Посівна концентрація становила $5 \cdot 10^4$ кл/см². Клітини вирощували в умовах стерильного боксового приміщення в інкубаторі Sanyo за температури +37 °С з 5% -м вмістом CO₂ у вологій атмосфері. Пасажування проводили після досягнення культурою 100% -ї конфлюентності.

Середовище культивування змінювали кожну другу добу. Життєздатність клітин визначали методом суправітального фарбування трипановим синім [7].

НЧ оксиду європію, синтезовані методом гарячих координуючих розчинників [8], було надано Інститутом сцинтиляційних матеріалів ГНУ НТК «Інститут монокристалів» НАНУ. В основу цього методу покладено пряме осадження оксиду рідкісноземельного елемента у висококиплячому багатоатомному спирту, наприклад у діетиленгліколі (2,2'-дигідроксидіетиловий ефір — $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, $T_{\text{кип}} = 245,8^\circ\text{C}$). Колоїдний розчин НЧ оксиду європію готували шляхом змішування хлориду європію $\text{EuCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ($c = 0,1$ моль/л), дистильованої води ($c = 1$ моль/л), гідроксиду натрію NaOH ($c = 0,1$ моль/л) у діетиленгліколі. Для зменшення розміру наночастинок та дисперсії застосовували нагрів за допомогою хвиль СВЧ-діапазону. Такий підхід дав змогу отримувати прозорі колоїдні розчини НЧ Eu_2O_3 , але з меншим розміром та дисперсією (18 ± 2 нм) (рис. 1). На жаль, відсутність досліджень з використанням динамічного розсіяння світла не дає можливості чітко диференціювати, чи взаємодіє з біооточенням поодинокі НЧ, чи кластер. Одержані за допомогою методу гарячих координуючих розчинників колоїдні розчини НЧ оксиду європію залишались прозорими й стабільними упродовж багатьох місяців.

Базовий колоїдний розчин НЧ містив 3,4 мг/мл наночастинок Eu_2O_3 . Діапазон досліджених концентрацій становив 6,8–340 мкг/мл [9]. Розчин НЧ зберігали в умовах гіпотермії без доступу світла протягом щонайменше 3 місяців. Для дослідів

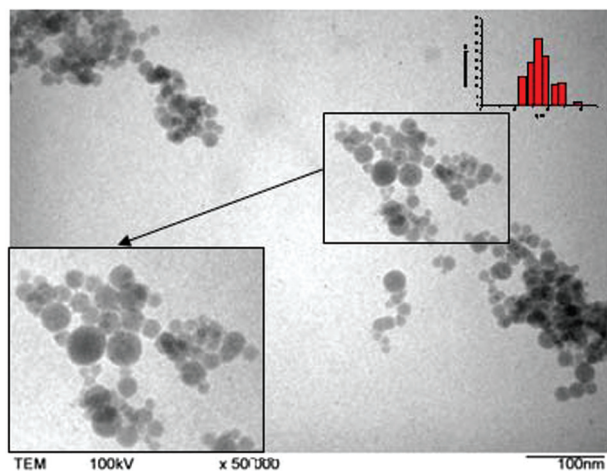


Рис. 1. Електронно-мікроскопічний знімок наночастинок Eu_2O_3 , синтезованих із застосуванням мікрохвильового нагріву

використовували розчин наночастинок після озвучування за допомогою ультразвукового приладу Mini Ultrasonic cleaner, 220 V, 50 Гц упродовж 30 хв за потужності 50 W безпосередньо перед уведенням у клітини СПЕВ.

Для переведення клітин у суспензійний стан моношар обробляли сумішшю 0,02% -го розчину Версена (ГУП ІПВЕ ім. М. П. Чумакова РАМН) і 0,25% -го розчину трипсину (ГУП ІПВЕ ім. М. П. Чумакова РАМН) у співвідношенні 4:1. Після оброблення клітин НЧ їх інкубували за температури $+37^\circ\text{C}$ в атмосфері вологого повітря з 5% CO_2 в інкубаторі (Sanyo, Японія). У зразках, що знаходилися в умовах $+37^\circ\text{C}$ в атмосфері повітря з 5% CO_2 в інкубаторі, визначали кількість прикріплених і розпластаних клітин через 1, 2, 3, 24 год для дослідження їхніх адгезивних характеристик. Адгезивні властивості клітин оцінювали візуально в інвертованому мікроскопі, підраховуючи кількість прикріплених і розпластаних клітин на площі $1,5 \text{ мм}^2$ (площа поля зору за збільшення в 150 разів) [10].

Динаміку проліферації клітин СПЕВ вивчали протягом 1–4 діб за кількістю клітин.

Методом проточної цитофлуориметрії досліджували процеси апоптозу в клітинах СПЕВ під дією НЧ, а також вплив НЧ в концентрації 34 мкг/мл. Вивчення процесів некрозу-апоптозу проводили за допомогою барвників: 7AAD (Sigma), 5,5',6,6'-тетрахлоро-1,1',3,3'-тетраетилбензимидазолкарбоціаніну йодиду (JC-1) (наданий НТК «Інститут монокристалів» НАНУ, Харків), анексіну карбофлуоресцеїндіацетату (AnnCy3/6-CFDA) (Sigma) на проточному цитофлуориметрі FACS Calibur Becton-Dickinson. JC-1 має здатність накопичуватись у мітохондріях. У разі зміни мембранного потенціалу його флуоресценція зворотно змінюється, що зумовлено оборотним утворенням J-агрегатів. Цей флуорофор використовують для аналізу апоптотичних процесів, пов'язаних з мітохондріальним апаратом. Проникний барвник 7-аміноактиноміцин D (7-AAD), що зв'язується з нуклеїновими кислотами, було використано для вилучення мертвих клітин. 7-AAD притаманна флуоресценція в червоному діапазоні спектра. Анексин зв'язується з фосфатидилсерином, присутність якого в зовнішньому шарі плазматичної мембрани клітин свідчить про запуск процесу апоптозу. Під час зв'язування спостерігається світіння в червоній ділянці спектра. 6-CFDA застосовують для визначення життєздатних клітин. Коли цей компонент

потрапляє в живі клітини, присутні в клітинах естерази гідролізують його і переводять в компонент 6-карбофлуоресцеїн (6-CFDA), що світиться. Це проявляється як світіння в зеленій ділянці спектра.

Фарбування проводили згідно зі стандартною для кожного зонда методикою [11, 12]. Результати аналізували за допомогою програми Win MDI v.2.8.

Статистичну обробку результатів дослідження здійснювали за допомогою програми Microsoft Office Excel 2007.

Результати та обговорення

Результати дослідження адгезивних властивостей клітин наведено на рис. 2. У контрольних зразках упродовж 3 год спостереження кількість адгезованих клітин вірогідно не змінювалась. На 4-ту год було відзначено вірогідне збільшення цього показника в 1,5 раза. Аналогічна динаміка прикріплення клітин спостерігалась у присутності НЧ в концентраціях 6,8; 17; 34 мкг/мл. При цьому показник кількості адгезованих клітин в усіх досліджених випадках застосування НЧ значень контролю не досягав. Так, на 1 год спостереження зменшувалась кількість клітин, які прикріпилися, на 1 см²: при 6,8 і 17 мкг/мл в 1,4 і 1,5 раза ($P \leq 0,05$), 34 мкг/мл — в 1,8 раза ($P \leq 0,05$), 340 мкг/мл — в 4,5 раза ($P \leq 0,05$) відносно контрольних зразків. Було відзначено істотне уповільнення розпластування клітин у разі застосування НЧ в концентраціях 17 і 34 мкг/мл в 3,1 і 4,1 раза відповідно порівняно з контролем. За концентрації НЧ 340 мкг/мл розпластування клітин не спостерігалось (рис. 3).

Морфологія клітин за концентрацій НЧ 6,8 і 17 мкг/мл не відрізнялася від контролю. За дії НЧ в концентрації 34 мкг/мл відзначено тенденцію до агрегації клітин з інкорпорованими НЧ, що може бути наслідком зміни мембранного потенціалу клітин. За концентрації НЧ 340 мкг/мл від-

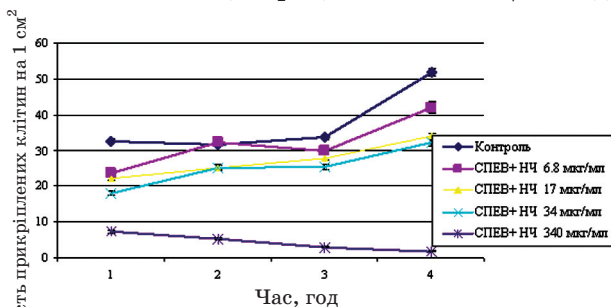


Рис. 2. Динаміка адгезії клітин після впливу наночастинок у використаних концентраціях

бувалося зменшення кількості клітин, при цьому були наявні фрагменти зруйнованих клітин (клітинний дебрис).

Через 2 год культивування за концентрації НЧ 6,8 мкг/мл кількість прикріплених клітин вірогідно не відрізнялась від контролю. У разі концентрацій НЧ 17 і 34 мкг/мл кількість прикріплених клітин вірогідно не відрізнялась, але в 1,3 раза (статистично вірогідно $P \leq 0,05$) була нижчою порівняно з контролем. За концентрації НЧ 340 мкг/мл кількість клітин становила $5,2 \pm 0,3$ клітин на 1 см², що в 6 разів менше, ніж у контролі. Процес розпластування за концентрацій НЧ 17 і 34 мкг/мл сповільнювався в 1,9 і 2,5 раза відповідно (статистично вірогідно $P \leq 0,05$) порівняно з контролем (рис. 2, 3).

Після 3 год культивування кількість клітин, які прикріпились у контролі й у 3 дослідних зразках (концентрації НЧ — 6,8, 17 і 34 мкг/мл) вірогідно не змінювалась порівняно з показниками за часу культивування 2 год. Однак відносно контролю вірогідні зміни показника прикріплення клітин було відзначено за концентрацій НЧ 17 і 34 мкг/мл, тимчасом як унаслідок дії НЧ в концентрації 6,8 мкг/мл цей показник вірогідно не відрізнявся від контролю (рис. 2, 3). Таким чином, зі зростанням концентрації НЧ спостерігалось вірогідне зниження здатності до адгезії досліджених клітин.

Процес розпластування за концентрацій НЧ 17 і 34 мкг/мл уповільнювався в 2,3 і 2,7 раза відповідно порівняно з контролем ($P \leq 0,05$). Унаслідок дії НЧ в концентрації 340 мкг/мл кількість прикріплених клітин продовжувала зменшуватися: цей показник становив $3,1 \pm 0,3$, що в 1,7 раза менше, ніж через 2 год культивування, і в 2,4 раза порівняно з 1 год культивування (статистично вірогідно $P \leq 0,05$). У присутності в клітинах НЧ в цій концентрації починаючи з 1 год культивування відзначено процеси відкріплення клітин і відсутність розпласту-

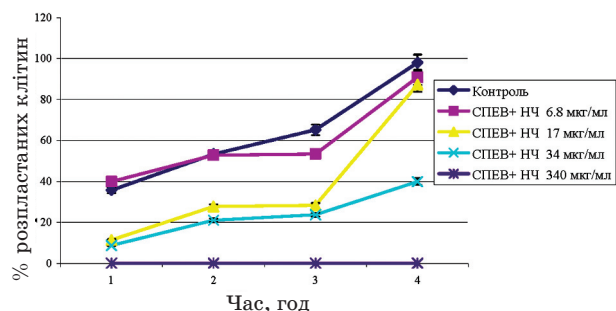


Рис. 3. Динаміка розпластування клітин після впливу наночастинок у використаних концентраціях

вання. Через 1 добу культивування процеси адгезії і розпластування було завершено, у контрольних зразках і в дослідних з концентрацією НЧ 6,8, 17 і 34 мкг/мл спостерігали поділ клітин. За концентрації НЧ 6,8 мкг/мл кількість клітин була на 19% менше, ніж у контролі, за 17 і 34 мкг/мл – на 35 і 39% відповідно ($P \leq 0,05$). У разі дії НЧ в концентрації 340 мкг/мл кількість клітин на 1 см^2 становила $1,9 \pm 0,2$, що на 63,3% менше, ніж у контролі ($P \leq 0,05$).

Слід зазначити, що НЧ у концентрації 340 мкг/мл впливають на клітини необоротно і спричиняють їх загибель. За концентрації 17 і 34 мкг/мл адгезивні властивості клітин зберігаються, однак ці процеси відбуваються повільніше, що згодом призводить і до уповільнення поділу.

Досліджували дію НЧ оксиду европію на проліферацію в діапазоні концентрацій 6,8–102 мкг/мл у популяціях клітин СПЕВ. Упродовж 4 днів культивування вивчали динаміку проліферації прикріплених клітин, підраховуючи кількість клітин, що діляться. Через 1 добу спостереження культури в присутності НЧ в концентрації 6,8 мкг/мл кількість клітин на площі 1 см^2 вірогідно не відрізнялась від контролю (рис. 4).

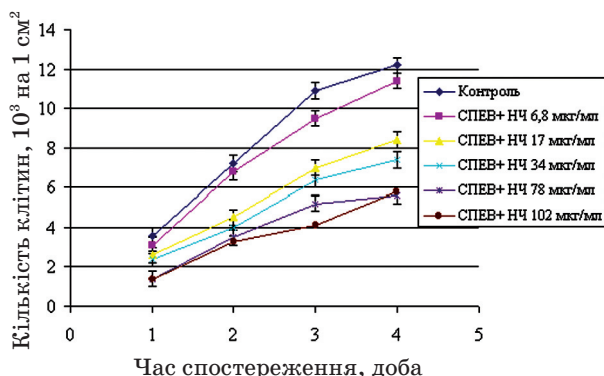


Рис. 4. Динаміка росту культури СПЕВ після впливу наночастинок у використаних концентраціях

У процесі культивування клітин СПЕВ у присутності НЧ в концентраціях 17, 34, 78 і 102 мкг/мл вже через 1 добу спостереження зменшувалась кількість клітин на 1 см^2 порівняно з контролем. Зі зростанням концентрації НЧ кількість клітин знижувалась порівняно з контролем: за 17 і 34 мкг/мл — в 1,4 й 1,5 раза відповідно ($P \leq 0,05$), 78 і 102 мкг/мл — у 2,6 раза ($P \leq 0,05$) (рис. 4). За концентрації НЧ 6,8 мкг/мл кількість клітин вірогідно не відрізнялась від контролю.

У разі культивування протягом 2 днів кількість клітин на 1 см^2 зменшувалась

порівняно з контролем: за концентрації НЧ 17 і 34 мкг/мл — в 1,6 і 1,8 раза ($P \leq 0,05$), 78 мкг/мл і 102 мкг/мл — в 2,1 і 2,2 раза відповідно порівняно з контролем ($P \leq 0,05$). За концентрації НЧ 6,8 мкг/мл істотного уповільнення зростання кількості клітин протягом 2 днів спостереження відзначено не було.

Після культивування протягом 3 днів за концентрації НЧ 17 і 34 мкг/мл кількість клітин становила $7,0 \pm 0,2 \cdot 10^3$ і $6,4 \pm 0,2 \cdot 10^3$ на 1 см^2 , що в 1,6 та 1,7 раза нижче порівняно з контролем ($P \leq 0,05$). За концентрації НЧ 78 і 102 мкг/мл, кількість клітин дорівнювала $5,2 \pm 0,2 \cdot 10^3$ і $4,1 \pm 0,2 \cdot 10^3$ на 1 см^2 , що відповідно у 2,1 та 2,7 раза менше, ніж у контролі.

Через 4 доби вірогідно зменшувалася кількість клітин: за концентрації НЧ 17 мкг/мл і 34 мкг/мл — в 1,45 і 1,7 раза відповідно порівняно з контролем, 78 мкг/мл і 102 мкг/мл — у 2,2 і 2,1 раза відповідно порівняно з контролем. Таким чином, НЧ пригнічують проліферативну активність клітин СПЕВ протягом усього часу спостереження.

Слід зазначити, що НЧ оксиду европію в концентрації 6,8 мкг/мл істотно не впливають на досліджувані процеси. У присутності НЧ оксиду европію в концентрації 17, 34, 78 та 102 мкг/мл проліферативні властивості клітин зберігаються, але ці процеси відбуваються повільніше. Зі зростанням концентрації НЧ оксиду европію спостерігається зростання інгібіторної дії НЧ на процеси проліферації клітин.

Аналіз мічених 7AAD клітин СПЕВ методом проточної цитофлуориметрії показав, що кількість живих клітин (зона R1) у пробах з інкорпорованими НЧ (концентрація 34 мкг/мл) на $7,6 \pm 1,0\%$ менша, ніж у контрольних зразках ($P \leq 0,05$) (рис. 5).

Одним із завдань цього дослідження було вивчення процесів апоптозу в клітинах з НЧ оксиду европію. За даними літератури

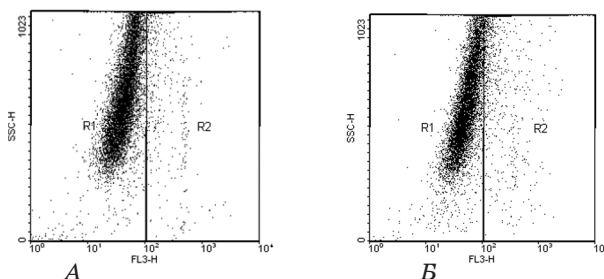


Рис. 5. Розподіл клітин, пофарбованих 7AAD. Проточна цитофлуориметрія:

А — контрольні клітини; Б — клітини з наночастинками у концентрації 34 мкг/мл

[13–15], НЧ металів спричиняють апоптоз у клітинах, що культивуються. НЧ діоксиду титану та оксиду заліза призводять до загибелі клітин унаслідок генерації пероксидних реакцій та подальшого апоптозу за активації каспази-3 [14, 15].

Як показано на рис. 6, клітинам культури СПЕВ, пофарбованим мітохондріальним потенціалзалежним зондом JC-1, притаманна флуоресценція у помаранчевій ділянці спектра ($\lambda = 585 \pm 20$ нм). Розподіл клітин у регіонах R1 і R2 в контролі та досліді (у присутності НЧ) вірогідно не відрізняється (рис. 6).

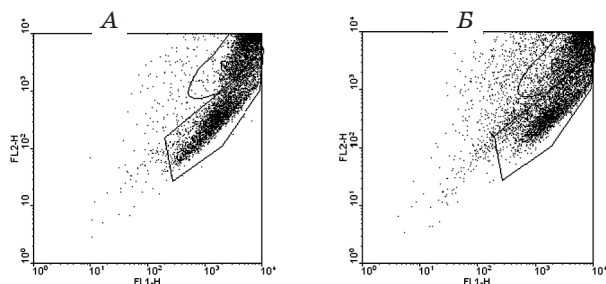


Рис. 6. Розподіл клітин, пофарбованих JC-1. Проточна цитофлуориметрія:

А — контрольні клітини; Б — клітини з наночастинками в концентрації 34 мкг/мл

На ранній стадії апоптозу цілісність клітинної мембрани зберігається, проте відбувається перебудова її фосфоліпідів, і на поверхні клітини з'являється фосфатидилсерин. Анексин V — протеїн, який має високу спорідненість до фосфатидилсерину і зв'язується з клітинами, що містять його тільки на зовнішній поверхні мембрани. Одночасне фарбування анексином V і 6-CFDA дає змогу зробити розділення на загиблі клітини та клітини, які щойно вступили на шлях апоптозу. Як видно з рис. 6, кількість живих клітин у випадку клітин, що містять НЧ оксиду європію, нижче на $8,6 \pm 1,0\%$ (статистично вірогідно, $P \leq 0,05$), ніж у контролі, що корелює з даними, отриманими за допомогою 7AAD. Кількість клітин, які перебувають на ранній і пізній стадіях апоптозу, вірогідно не відрізняється від контролю.

Таким чином, встановлено, що здатність клітин до адгезії перебуває в зворотній залежності від концентрації інкорпорованих

Таблиця. Розподіл клітин, пофарбованих анексином V-CY3 (проточна цитофлуориметрія)

Region	Популяція клітин	% вмісту	
		A	B
Анексин V(-), 6-CFDA (-)	Непофарбовані клітини, дебрис	4,2±1,0	11,3±1,0
Анексин V(+), 6-CFDA (-)	Пізнні стадії апоптозу/мертві клітини	0,2±0,1	0,4±0,2
Анексин V(-), 6-CFDA (+)	Живі клітини	91,8±2,0	83,8±2,0
Анексин V(+), 6-CFDA (+)	Клітини в ранній стадії апоптозу	3,7±1,0	4,4±1,0

Примітка. А — контрольні клітини; Б — клітини з НЧ в концентрації 34 мкг/мл; FL1 — 6-CFDA; FL2 — анексин V.

них НЧ оксиду європію. За концентрації НЧ, що становила 17 і 34 мкг/мл, процес адгезії уповільнюється, що згодом призводить і до пригнічення процесів поділу. Показано, що НЧ у концентрації 340 мкг/мл необоротно впливають на процеси адгезії, проліферації і спричиняють загибель клітин.

НЧ в концентрації 6,8 мкг/мл не справляють істотного впливу на процеси адгезії і проліферації клітин СПЕВ. За концентрації НЧ 17, 34, 78 і 102 мкг/мл проліферативні властивості клітин знижуються. Цей ефект посилюється зі зростанням концентрації НЧ.

Отримані результати свідчать про те, що в разі взаємодії НЧ з клітинами культури СПЕВ спостерігається зниження кількості останніх. Ці дані не дають підстави зробити висновок про посилення процесів апоптозу під дією НЧ оксиду європію у концентрації 34 мкг/мл.

Роботу виконано в рамках наукового проекту 103/10-Н цільової комплексної програми фундаментальних досліджень НАН України «Фундаментальні проблеми наноструктурних систем, наноматеріалів, нанотехнологій».

Автори висловлюють подяку проф. Малюкіну Ю. В., ІСМА (Інститут сцинтиляційних матеріалів) НТК «Інститут монокристалів» НАНУ, за плідну співпрацю та консультації.

ЛІТЕРАТУРА

1. Van Sprang P. A., Janssen C. R. Toxicity identification of metals: development of toxicity identification fingerprints // Environm. Toxicol. Chem. — 2001. — V. 20, Iss. 11. — P. 2604–2610.
2. Прилуцька С. В., Кічмаренко Ю. М., Богоцька К. І., Прилуцький Ю. І. Фулерен C₆₀ та

- його похідні як протипухлинні агенти: проблеми і перспективи // Біотехнологія. — 2012. — Т. 5, №3. — С. 9–17.
3. Прилуцька С. В., Ротко Д. М., Прилуцький Ю. І., Рибальченко В. К. Токсичність вуглецевих наноструктур у системах *in vitro* та *in vivo*. Совр. пробл. токсикол. — 2012. — №3–4. — С. 3–20.

4. Дьяконов Л. П. Живая клетка в культуре. Методы и применение в биотехнологии. — М.: , 2000 — 355 с.
5. Pavalco F. M., Otey C. A. Role of adhesion molecule cytoplasmic domains in mediating interactions with the cytoskeleton // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. — 1994. — V. 205, N 4. — P. 282–293.
6. Фрешни Р. Культура животных клеток. Методы. — М.: Мир, 1989. — 333 с.
7. Бургер М. О. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования. — М.: Медицина, 1982. — 462 с.
8. Bazzia R., Flores-Gonzalez M. A. Synthesis and luminescent properties of sub-5-nm lanthanide oxides nanoparticles // J. Luminesc. — 2003. — V. 102, Iss. 103. — P. 445–450.
9. Pavlovich E. V., Ganina I. I., Volkova N. A. Study of europium oxide nanoparticle interaction with cell cultures // Meth. Appl. Fluor. 11. Book of Abstracts. Budapest, 6–9 September 2009. — P. 67.
10. Davis J. M. Basic Cell Culture. Practical approach. Second edition. — Oxford: University Press, 2001. — 381 p.
11. Kim K., Lee M., Park H. Cell-permeable and biocompatible polymeric nanoparticles for apoptosis imaging. // J. Am. Chem. Soc. — 2006. — V. 128, N 11. — P. 3490–3491.
12. Gopinath P., Gogoi S. K., Chattopadhyay A. Implications of silver nanoparticle induced cell apoptosis for in vitro gene therapy // Nanotechnology. — 2008. — V. 19, N 7. — doi:10.1088/0957-4484/19/7/075104
13. Mukherjee P., Bhattacharya R., Bone N. Potential therapeutic application of gold nanoparticles in B-chronic lymphocytic leukemia (BCLL): enhancing apoptosis // J. Nanobiotechnol. — 2007. — V. 5, N 4. — Doi:10.1186/1477-3155-5-4.
14. Park E., Yi J., Chung K. Oxidative stress and apoptosis induced by titanium dioxide nanoparticles in cultured BEAS-2B cells // The FASEB J. — 2008. — V. 22. — P. 3358–3369.
15. Zhu M. T., Wang Y., Feng W. Y. Oxidative stress and apoptosis induced by iron oxide nanoparticles in cultured human umbilical endothelial cells // J. Nanosci. Nanotechnol. — 2010. — V. 10, N 12. — P. 8584–8590.

ПРОЦЕССЫ АДГЕЗИИ И ПРОЛИФЕРАЦИИ КЛЕТОК ЛИНИИ СПЭВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ЕВРОПИЯ

*Е. В. Павлович, Н. А. Волкова,
Л. В. Степанюк, Е. И. Гончарук*

Институт проблем криобиологии и
криомедицины НАН Украины, Харьков

E-mail: lenapavlovich@gmail.com

В результате изучения процессов адгезии и пролиферации клеток линии СПЭВ под воздействием наночастиц оксида европия установлено, что клеточная способность к адгезии находится в обратной зависимости от концентрации инкорпорированных наночастиц. Показано, что пролиферативная активность клеток также снижается. Наночастицы оксида европия в концентрации 6,8 мкг/мл не оказывают существенного влияния на процессы адгезии и пролиферации клеток СПЭВ. При низкой концентрации наночастиц (17 и 34 мкг/мл) процесс адгезии замедляется, наночастицы в высокой концентрации (340 мкг/мл) необратимо влияют на процессы адгезии и пролиферации и приводят к гибели клеток. При воздействии наночастиц оксида европия в диапазоне концентрации 17–340 мкг/мл на клетки культуры СПЭВ наблюдается снижение жизнеспособности клеток. Данные, полученные с помощью метода проточной цитофлуориметрии, не дают основания сделать вывод о включении процессов апоптоза как причины клеточной гибели под действием исследованного агента.

Ключевые слова: культура клеток, линия СПЭВ, наночастицы оксида европия, адгезия, пролиферация, апоптоз.

ADHESION AND PROLIFERATION PROCESSES IN SPEV CELL LINE UNDER THE INFLUENCE OF EUROPIUM OXIDE NANOPARTICLES

*E. V. Pavlovich, N. A. Volkova,
L. V. Stepanuk, E. I. Goncharuk*

Institute for Problems of Cryobiology
and Cryomedicine of National Academy
of Sciences of Ukraine, Kharkiv

E-mail: lenapavlovich@gmail.com

Study of the adhesion and proliferation processes of SPEV cell line with exposed europium oxide nanoparticles revealed that the cell adhesion ability was inversely proportional to the concentration of incorporated nanoparticles. It is shown that the quantity of cells in 1 cm² is also reduced. The europium oxide nanoparticles at 6.8 µg/ml concentration doesn't significantly affect on adhesion and quantity of SPEV cells in a culture. At low concentrations of nanoscale particles (17 and 34 µg/ml) the adhesion process slowed down. The nanoparticles at a high concentration (340 µg/ml) irreversibly affect the processes of adhesion and proliferation and lead to a cell death. Influence of europium oxide nanoparticles in the range 17–340 µg/ml on SPEV cell culture decreases quantity of the cells. The data obtained by flow cytometry method did not rise to suggest the apoptosis triggering cell death under the influence of the nanoparticles.

Key words: cell culture, SPEV cell line, europium oxide nanoparticles, adhesion, proliferation, apoptosis.