

Вывод

Таким образом, факультативный курс «Экологическая паразитология» на кафедре биологии с курсами нормальной и патологической физиологии является составляющей частью учебного процесса и направлен на углубление знаний и формирование профессиональных компетенций будущих врачей в новых социально-экономических условиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Перспективы использования активных методов обучения на кафедре нормальной физиологии медицинского вуза / Е. В. Дорохов [и др.] // Вестник Авиценны. — 2014. — № 2 (59). — С. 140–144.
2. Плотникова, И. Е. Проблемы и перспективы гуманизации высшего медицинского образования / И. Е. Плотникова, А. А. Филозоф, Л. В. Бут // Современная педагогика. — 2014. — № 2 (15). — С. 3.
3. Погорелов, Ю. В. Медицинская направленность гистологии для студентов педиатров. Опыт учебно-методической и воспитательной работы со студентами педиатрического факультета / Ю. В. Погорелов, С. Ю. Виноградов, Л. А. Томилина. — Иваново: Медицинский институт, 1995. — 53 с.

УДК 537.534.35:[547.022.1/4:616.831-006.484-018.1-092.9]

НАНОКАРТИРОВАНИЕ МЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПОВЕРХНОСТИ КЛЕТОК ГЛИОМЫ КРЫСЫ ЛИНИИ С6 ПРИ ИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С ОДНОСТЕННЫМИ УГЛЕРОДНЫМИ НАНОТРУБКАМИ

*Челнокова И. А.¹, Голубева Е. Н.^{3,4}, Стародубцева М. Н.^{1,2}, Кулагова Т. А.^{3,4},
Куницкая Ю. Н.³, Булай П. М.³, Стародубцев И. Е.⁵, Шуба М. В.⁴, Егоренков Н. И.²*

¹Государственное научное учреждение

«Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси»,

²Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

г. Гомель, Республика Беларусь,

³Учреждение образования

«Белорусский государственный университет»,

⁴Научно-исследовательское учреждение

«Институт ядерных проблем» Белорусского государственного университета,

⁵Учреждение Белорусского государственного университета

«Научно-исследовательский институт

прикладных проблем математики и информатики»

г. Минск, Республика Беларусь

Введение

Углеродные нанотрубки, относящиеся к наноматериалам, считаются перспективными для применения в медицинских целях. Углеродные нанотрубки используются при создании новых биосовместимых материалов и тканей, визуализации клеточных и субклеточных структур, создании новых типов биосенсоров, в качестве носителей лекарственных препаратов для их таргетной доставки в организм [1]. Углеродные нанотрубки эффективно поглощают инфракрасное излучение и превращают его в тепло, что позволяет рассматривать их в качестве агентов для нового неинвазивного метода теплового разрушения опухолевых тканей [2]. Для развития этого метода терапии рака необходимо детально прояснить механизмы взаимодействия клеток с углеродными нанотрубками.

Цель

Выявление изменений структурных и механических свойств поверхности клеток глиомы крысы линии С6 при их взаимодействии с комплексами одностенных углеродных нанотрубок с ДНК (ОУНТ-ДНК) методом атомно-силовой микроскопии.

Материал и методы исследования

Клетки глиомы крысы линии С6 высевали на стекла. Через 8 ч после их прикрепления добавляли ОУНТ-ДНК в концентрации 4,5 мкг/мл. В контрольных образцах ис-

пользовали физиологический раствор в соответствующем объеме. Образцы клеток инкубировали с нанотрубками в течение 1, 2, 18 и 24 ч, фиксировали 1 % глутаровым альдегидом, промывали дистиллированной водой и высушивали на воздухе. Исследование проводили на атомно-силовом микроскопе NT-206 («Микротестмашины», Беларусь) в контактном режиме сканирования иглой-зондом CSC38 (MicroMasch, Эстония): уровень В, коэффициент жесткости 0,03 Н/м. Сканировали участки размером $2,5 \times 2,5$ мкм с разрешением 256×256 пикселей. Обработка данных осуществлялась при помощи программы Surface Explorer («Микротестмашины», Беларусь) и разработанного авторами программного комплекса с использованием библиотеки fftw. Статистическая классификация проводилась в среде «Statistica».

Результаты исследования и их обсуждение

На поверхности клеток, обработанных ОУНТ-ДНК в течение 1 ч, были обнаружены инвагинации, соответствующие по размерам исследуемым нанотрубкам и свидетельствующие о процессах взаимодействия поверхности клеток с нанотрубками по механизму эндоцитоза. С увеличением времени инкубации клеток с нанотрубками (18 ч) инвагинации исчезают. При инкубации клеток с ОУНТ-ДНК в течение 2 ч и более на АСМ-изображениях (топографических изображениях и картах латеральных сил), а также на окрашенных по-Романовскому световых микрофотографиях были обнаружены сферические мембранные образования с относительно мягким содержимым, которые соответствуют поздним эндосомам.

С целью прояснения процессов, происходящих с кортикальным цитоскелетом клеток при их взаимодействии с ОУНТ-ДНК, были исследованы микромасштабные участки клеточной поверхности в режимах АСМ-сканирования: топография (физический рельеф поверхности) и карты латеральных сил (карты распределения механических свойств). Для топографических карт поверхности клеток различие между шероховатостью поверхности клеток контрольных образцов и клеток, обработанных нанотрубками, было обнаружено только для начального периода взаимодействия глиальных клеток с нанотрубками (1 ч инкубации): $R_q = 69$ (51; 81) нм и $R_q = 43$ (31; 53) нм соответственно ($p = 0,005$, Манн-Уитни критерий) (таблица 1). В случае карт механических свойств шероховатость для клеток после 1 ч инкубации с ОУНТ-ДНК была снижена в сравнении с шероховатостью карт для контрольных образцов ($R_q = 493$ (427; 537) усл. ед. и $R_q = 789$ (633; 844) усл. ед. соответственно). При более длительном времени инкубирования клеток с нанотрубками шероховатость карт механических свойств стала больше значения этого параметра для контрольных клеток ($R_q = 691$ (613; 750) усл. ед. и $R_q = 431$ (394; 571) усл. ед. соответственно для 24 ч инкубации) (таблица 1), что может свидетельствовать о значительно большей степени активности цитоскелета в обработанных нанотрубками клетках.

Таблица 1 — Шероховатость (R_q) АСМ-изображений поверхности клеток глиомы крыс линии С6, обработанных ОУНТ-ДНК, и контрольных образцов

Время инкубации, ч	R_q для топографии поверхности, нм		R_q для карт латеральных сил, усл. ед.	
	ОУНТ-ДНК	контроль	ОУНТ-ДНК	контроль
1	43 (31; 53)	69 (51; 81)	493 (427; 537)	789 (633; 844)
2	97 (55; 128)	104 (85; 163)	1038 (470; 1627)	867 (688; 1297)
18	76 (57; 142)	111 (107; 116)	691 (613; 750)	431 (394; 571)
24	60 (39; 92)	70 (47; 95)	971 (685; 1174)	589 (472; 762)

Примечание. Данные представлены в виде Me(LQ;UQ).

Для более детального изучения изменения пространственной структуры поверхности клеток и цитоскелета были проведены фрактальный и пространственно-спектральный

анализы структуры АСМ-изображений микромасштабных участков клеточной поверхности. Фрактальная размерность участков поверхности клеток, обработанных ОУНТ-ДНК, была меньше фрактальной размерности контрольных клеток (таблица 2). В это же время фрактальная размерность карт латеральных сил для поверхности клеток, обработанных ОУНТ-ДНК, была снижена только в начальном периоде инкубации клеток с нанотрубками (1 ч), а с увеличением времени инкубации клеток с нанотрубками фрактальная размерность увеличивалась и стала выше значения фрактальной размерности, характерной для контрольных образцов клеток (таблица 2).

Таблица 2 — Фрактальная размерность (D_F) АСМ-изображений поверхности клеток глиомы крыс линии С6, обработанных ОУНТ-ДНК, и контрольных образцов

Время инкубации, ч	D_F для топографии поверхности, нм		D_F для карт латеральных сил, усл. ед.	
	ОУНТ-ДНК	контроль	ОУНТ-ДНК	контроль
1	2,54 (2,34; 2,84)	2,56 (2,45; 2,7)	2,18 (2,07; 2,25)	2,24 (2,14; 2,3)
2	2,51 (2,23; 2,8)	2,62 (2,5; 2,73)	2,18 (2,10; 2,24)	2,12 (2,02; 2,14)
18	2,51 (2,26; 2,8)	2,67 (2,53; 2,78)	2,22 (2,15; 2,28)	2,2 (2,17; 2,26)
24	2,34 (2,21; 2,4)	2,46 (2,27; 2,82)	2,24 (2,13; 2,29)	2,18 (2,14; 2,23)

Примечание. Для расчета D_F топографических изображений использовали алгоритм, основанный на соотношении площади и периметра, для расчета D_F карт латеральных сил — алгоритм подсчета кубов. Данные представлены в виде $Me(LQ; UQ)$.

Полученные данные указывают на протекание многостадийного процесса эндоцитоза в глиальных клетках С6, инициированного введением в среду нанотрубок: образование первичных эндосом на ранних стадиях процесса и формирование поздних эндосом на более поздних этапах.

Пространственно-спектральный анализ карт механических свойств участков поверхности клеток после их инкубации с ОУНТ-ДНК подтверждает многостадийный характер поглощения нанотрубок клетками глии. В течение первого часа инкубации клеток с нанотрубками характерными структурами на картах механических свойств являются элементы с размерами 130–250 нм (нанотрубки), а при увеличении времени инкубации до 18–24 ч — около 0,3 мкм (поздние эндосомы). При этом с увеличением времени инкубации клеток с нанотрубками наблюдается увеличение доли наноразмерных структурных элементов, соответствующих структуре цитоскелета. Ранее нами методом спектроскопии комбинационного рассеяния показано, что ОУНТ-ДНК накапливаются и визуализируются в клетках линии С6, через 18 ч кривая накопления выходит на стационарный уровень [3].

ОУНТ-ДНК-индуцированные изменения структуры цитоскелета глиальных клеток привели к изменению фрикционных свойств поверхности этих клеток. Силы трения скольжения между острием АСМ-зонда и поверхностью клеток увеличивались со временем инкубирования клеток с нанотрубками и к 24 ч силы трения у обработанных нанотрубками клеток стали значительно больше значений, характерных для контрольных образцов: $F_f = 1526$ (989; 1908) усл. ед. и $F_f = 708$ (576; 1007) усл. ед. соответственно, $p = 0,004$, Манн-Уитни критерий.

Выявленные изменения структурных и механических свойств поверхности глиальных клеток при их взаимодействии с нанотрубками, отражающие стадии эндоцитоза, явны и позволяют различать стадии (состояния клеток, а именно, состояния поверхностного слоя клеток) по анализу микромасштабных карт механических свойств поверхности взаимодействующих с нанотрубками клеток. Так, используя алгоритм деревьев решений, была осуществлена классификация АСМ-изображений участков поверхности клеток глиомы крысы линии С6 при их взаимодействии с ОУНТ-ДНК (таблица 3).

АСМ-изображения были классифицированы с точностью 80 % (1 ч) и 100 % (24 ч) для начальной и поздней стадий эндоцитоза нанотрубок клетками глиомы крысы.

Таблица 3 — Точность классификации состояний клеток глиомы крыс линии С6, обработанных ОУНТ-ДНК, и контрольных образцов

Сравнение выборок	Выборка 1	Выборка 2
1 ч, ОУНТ-ДНК и контроль	ОУНТ-ДНК	Контроль
	93,33 %	75 %
24 ч, ОУНТ-ДНК и контроль	ОУНТ-ДНК	Контроль
	72,73 %	92,31 %
ОУНТ-ДНК, 1 ч и 24 ч	1 ч	24 ч
	80 %	100 %

Заключение

Полученные данные подтверждают гипотезу об эндоцитарном механизме поступления нанотрубок в глиальные клетки. Инициирование процесса эндоцитоза вызывает активацию цитоскелета глиальных клеток, что приводит к изменению механических свойств поверхности клеток. Изменения структуры и механических свойств поверхности клеток на нано- и микромасштабах могут быть использованы для определения стадии взаимодействия клеток с нанотрубками.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Igielska-Kalwat, J.* Prospects for the use of carbon nanotubes in medicine / J. Igielska-Kalwat // J. Biotechnol. — 2018. — № 3. — P. 74–79.
2. Spatial and temporal confined photothermolysis of cancer cells mediated by hollow gold nanospheres targeted to epidermal growth factor receptors / G. Ku [et al.] // ACS Omega. — 2018. — № 3. — P. 5888–5895.
3. Application of raman spectroscopy for analysis of carbon nanotube distribution in living cells / L. N. Golubewa [et al.] // J. Appl. Spectrosc. — 2019. — Vol. 85. — P. 1121.

УДК [54:378]:616-084

ПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ НАПРАВЛЕННОСТЬ ПРЕПОДАВАНИЯ ХИМИЧЕСКИХ ДИСЦИПЛИН У СТУДЕНТОВ МЕДИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА

Чернышева Л. В.

Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

г. Гомель, Республика Беларусь

Введение

Лабораторное обследование пациента имеет большое значение в постановке диагноза, наблюдении за процессом лечения и эффективностью терапии. Клиническая диагностика обеспечивает практическому здравоохранению около 80 % объема объективной информации. Без него невозможна деятельность клинических, биохимических, микробиологических, патологоанатомических, судебно-медицинских и других лабораторий. Поэтому современное здравоохранение предъявляет высокие требования к профессиональной подготовке врача диагностического профиля [1].

В ходе обучения в медицинском вуз будущий врач-диагност должен овладеть не только полными систематизированными знаниям в области клинических дисциплин, но и:

- овладеть навыками проведения медико-химических процедур диагностического характера;
- научиться выбирать оптимальные лабораторные методы исследования в зависимости от основного заболевания;