

© Коллектив авторов, 2018
УДК 546.824-31:611.018.5

Л. А. Шарафутдинова¹, Ю. С. Замула², З. Р. Хисматуллина¹,
М. Р. Даминов¹, В. В. Валиуллин³

СТРУКТУРНЫЕ И БИОМЕХАНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НЕЙТРОФИЛОВ КРОВИ НА ФОНЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ТИТАНА (ИССЛЕДОВАНИЕ С ПОМОЩЬЮ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ)

¹ Кафедра физиологии человека и общей биологии биологического факультета (зав. — проф. З. Р. Хисматуллина),

² лаборатория экспериментальных исследований, Центр микронаномасштабной динамики дисперсных систем (руков. — д-р физ.-мат. наук И. Ш. Ахатов), ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет»; ³ кафедра гистологии (зав. — проф. Ю. А. Чельшев), ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ

Цель работы — изучение структурных и биомеханических особенностей нейтрофилов в крови на фоне воздействия наночастиц диоксида титана.

Материал и методы. In vitro исследованы нейтрофилы в крови 20 условно здоровых доноров обоего пола в возрасте 20–22 лет до и после воздействия наночастиц диоксида титана. С помощью атомно-силовой микроскопии измеряли диаметр и высоту нейтрофилов, а также анализировали их биомеханические свойства (шероховатость и жесткость).

Результаты. После воздействия наночастиц диоксида титана наблюдали уменьшение диаметра, увеличение высоты, нарастание жесткости нейтрофилов, а также степени шероховатости их поверхности.

Выводы. Изменения структурно-биомеханических свойств нейтрофилов свидетельствуют о возможном цитотоксическом действии наночастиц диоксида титана.

Ключевые слова: нейтрофилы, атомно-силовая микроскопия, наночастицы, диоксид титана

Динамичное развитие нанотехнологий привело к разработке широкого спектра материалов, содержащих наночастицы (НЧ). Использование НЧ в различных целях растет с каждым годом в связи с тем, что в наноразмерном состоянии (<100 нм) любые вещества приобретают новые химические, физические и биологические свойства, улучшающие качество многих фармацевтических и медицинских изделий. Малый размер НЧ позволяет им вступать во взаимодействие с биологическими структурами, проникая внутрь клеток. Благодаря этому использование НЧ перспективно для создания новых медицинских технологий для диагностики заболеваний, биоимиджинга и адресной доставки лекарственных средств [9, 14].

В последнее десятилетие специалисты в области нанотехнологий и наномедицины объединены поиском средств для противораковой терапии. Усилия направлены не только на изыскание биоактивных веществ, но и на способ целенаправленной доставки химиотерапевтических средств в опухолевые клетки. В качестве перспективного инстру-

мента для лечения рака предлагаются НЧ диоксида титана (НЧ TiO_2), так как они могут выступать в качестве носителей лекарственных средств, а также потенциальных фото- или соносенситизаторов [2]. Последние представляют собой соединения, которые в результате их возбуждения электромагнитным излучением определенной длиной волны или активации ультразвуком генерируют образование активных форм кислорода [4]. Этот процесс может приводить к повреждениям ДНК и клеточных мембран раковых клеток, вызывая их гибель. Связывание лигандов или антител с НЧ улучшает их селективное попадание в орган или клетку, что повышает эффективность лечебного воздействия. Использование наноразмерных фотосенситизаторов легло в основу принципиально новой стратегии лечения онкологических заболеваний и представляет собой хорошую альтернативу химио- и лучевой терапии, так как сводит к минимуму побочные эффекты.

Несмотря на то, что НЧ TiO_2 способны легко проникать глубоко в опухолевые клетки, накапли-

Сведения об авторах:

Шарафутдинова Люция Ахтямовна (e-mail: sharafla@yandex.ru), Хисматуллина Зухра Рашидовна, Даминов Марсель Раилевич, кафедра физиологии и общей биологии биологического факультета; Замула Юрий Сергеевич, лаборатория экспериментальных исследований, Центр микронаномасштабной динамики дисперсных систем, ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет», 450076, г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32

Валиуллин Виктор Владимирович, кафедра гистологии, ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 420012, г. Казань, ул. Бутлерова, 49

ваться там и их разрушать, они также могут оказывать токсическое действие на здоровые клетки. Те же физико-химические свойства, которые делают НЧ TiO_2 перспективными для многих новых подходов лечения, одновременно с этим создают потенциальную опасность для различных органов и тканей человека. Воздействие НЧ TiO_2 вызывает усиление перекисного окисления липидов, повреждение ДНК, активацию ряда каспаз с последующей гибелью клеток посредством апоптоза [11].

Рядом исследователей на различных моделях обнаружено, что НЧ провоцируют развитие пневмонии, при этом преобладающим типом клеток в легких и бронхоальвеолярном лаваже после ингаляции или интрахеальном введении НЧ являются нейтрофилы [8]. Нейтрофилы (НФ) в периферической крови человека — наиболее чувствительные к различным воздействиям и мобильные элементы системы неспецифической резистентности организма. В ходе миграции к месту инфекции и воспаления НФ непрерывно подвергаются адгезии к эндотелию сосудов, расширению и сжатию, деформации и восстановлению. Время, необходимое НФ для деформации в микрокапиллярах, имеющих меньший диаметр, чем диаметр самих НФ, определяется их реологическими свойствами. Упругие свойства нейтрофилов тесно связаны с их иммунной функцией. Поэтому исследование реологических свойств (вязкоупругих характеристик) НФ имеет решающее значение для понимания механизмов патологических изменений, инициированных ими в органах и тканях в ответ на воздействие НЧ. Тем не менее сведений о непосредственном воздействии НЧ TiO_2 на нейтрофилы недостаточно. Кроме того, поскольку НЧ TiO_2 уже используются в различных областях промышленности и входят в состав самых разных изделий, велика вероятность их попадания в организм и взаимодействия с иммунокомпетентными клетками.

Современные автоматизированные методы оценки морфофункционального статуса клеток организма в подавляющем большинстве случаев предполагают фиксацию и применение реактивов для выявления объектов. Одним из перспективных методов для изучения клеток является атомно-силовая микроскопия (АСМ). Она является мощным инструментом в различных биомедицинских исследованиях, поскольку позволяет комплексно рассмотреть структурные и вязкоупругие особенности любых клеток, включая нейтрофилы, без использования жестких методов фиксации и, тем самым, сводя к минимуму повреждение клеток. С помощью АСМ изучены

адгезионные и механические характеристики клеток крови при различных патологиях [1, 7, 15]. Однако о том, как изменяются характеристики нейтрофилов при прямом воздействии на них НЧ TiO_2 , пока не известно.

Цель настоящего исследования — изучение структурно-биомеханических характеристик нейтрофилов крови на фоне воздействия наночастиц диоксида титана с помощью высокоразрешающей АСМ.

Материал и методы. Были изучены НФ, полученные из крови 20 условно здоровых доноров обоего пола в возрасте 20–22 лет. Структурно-биомеханические характеристики НФ оценивали в эксперименте до и после воздействия НЧ TiO_2 . Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБУН «Институт биохимии и генетики» Уфимского научного центра РАН (протокол № 2 от 25.04.2016 г.). Для выполнения работы было получено добровольное информированное согласие пациентов на участие в проведенном исследовании. В работе использовали дисперсию диоксида титана (рутильная форма), полученную разведением порошка TiO_2 в дистиллированной воде. Конечная концентрация TiO_2 составила 0,75 мг/мл. Агрегацию наночастиц предотвращали обработкой суспензии нанодисперсного TiO_2 в ультразвуковой ванне. Распределение частиц TiO_2 по размерам определяли на анализаторе размеров частиц Shimadzu SALD-7101 (Shimadzu, Япония): спектральное разрешение 1 нм, диапазон от 10 нм до 300 мкм, метод — лазерная дифракция с применением УФ-лазера (Shimadzu, Япония) с длиной волны излучения 375 нм. Средний размер НЧ TiO_2 составил 40–60 нм.

НФ выделяли по методу И. С. Подосинникова и соавт. (1981) из гепаринизированной (20 ЕД/мл) венозной крови по стандартной методике в градиенте плотности фиколюрографа. После центрифугирования кольцо НФ собирали с помощью пипетки Пастера и разбавляли равным объемом забуференного раствора NaCl (0,45 %). Для поддержания нормальной осмолярности клетки дважды суспендировали в фосфатно-солевом буфере PBS, центрифугировали в течение 10 мин и снова суспендировали в солевом растворе Хенкса (HBSS). Жизнеспособность клеток по тесту с трипановым синим составила 95–100 %. НФ ($2 \cdot 10^6$ клеток/мл) инкубировали с НЧ TiO_2 (0,75 мг/мл) в течение 30 мин при 37 °С.

Для измерения морфометрических параметров НФ контрольной группы (интактные) и НФ, подвергнутые воздействию НЧ TiO_2 (опытная группа), фиксировали на твердой подложке (стекло) с использованием глутарового альдегида (1,5 %). Сканирование поверхности от 10 до 12 клеток каждого образца крови проводили в полуконтактном режиме на воздухе, используя кремниевые зонды PPP-CONTR (Nanosensors, Switzerland) с жесткостью 43 Н/м и резонансной частотой 185 кГц. Для визуализации сканируемых объектов использовали программу PicoView 1.20. Из полученных топографий поверхностей НФ были сформированы их трехмерные изображения, на которых четко выявлялись контуры ядра и цитоплазмы. Для оценки морфометрических параметров и структурных особенностей клеточной поверхности НФ были построены кривые профилей сечения поверхности, на которых определяли диаметр и высоту клетки относительно подложки (мкм). Для оценки степени шероховатости была определена глубина инвагинации (мкм) путем вычисления

разности между минимальной и максимальной высотой клетки относительно подложки.

Исследование упругих свойств поверхности НФ производили на АСМ в режиме силовой спектроскопии. Для этого снимали кривые подвода зонда к поверхности («силовые кривые»), демонстрирующие зависимость величины изгиба балки, а следовательно, и силы взаимодействия зонда с поверхностью, от расстояния сближения зонда и образца. Исследования поверхности нативных клеток интактной и опытной групп проводили в жидкостной ячейке при комнатной температуре на АСМ Agilent 5500AFM с использованием кремниевых зондов PPP-CONTPt (Nanosensors, Switzerland) и коллоидных V-образных зондов CP-PNPL-SiO-C (Nanosensors, Switzerland) с прикрепленной сферой (диаметр 6,62 мкм). Для оценки упругих свойств НФ определяли эффективный модуль Юнга в рамках принятой модели контактной механики Герца. Все измерения исследуемых клеток проводили в течение 1 ч. В серии экспериментов сравнивали показатели упругости НФ, полученных из крови доноров до и после воздействия НЧ TiO_2 . Для этого проводили обзорное сканирование поля размером 60×60 мкм и выбирали для измерения не менее 10–15 клеток.

Статистическую обработку данных производили в пакете прикладных программ Statistica 7.0 (StatsoftInc, США). Статистическая обработка данных включала вычисление среднеарифметического значения и его стандартной ошибки. О значимости различий судили по величине t-критерия Стьюдента и считали их значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования. В контрольных образцах крови присутствовали НФ округлой формы с ровными краями, преимущественно имеющие сегментированное ядро, расположенное асимметрично (рис. 1). Поверхность НФ имела незначительные инвагинации.

НФ, подвергнутые воздействию НЧ, имели неровные контуры, просматривались псевдоподии (рис. 2, а).

Результаты оценки морфометрических показателей представлены в таблице, из данных которой видно, что средний диаметр клеток на фоне НЧ TiO_2 незначительно уменьшался ($p > 0,05$).

Воздействие НЧ TiO_2 вызывало увеличение средней высоты клеток ($p < 0,05$). Наглядно средняя высота клеток продемонстрирована на кривой бокового профиля клеток (см. рис. 1, в).

Морфометрические параметры, модуль Юнга нейтрофилов в крови до и на фоне воздействия наночастиц TiO_2 ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Параметры	Контроль	НЧ TiO_2
Диаметр, мкм	16,30±1,01	14,08±1,06
Средняя высота клетки относительно подложки, мкм	0,57±0,06	0,89±0,05*
Минимальная высота, мкм	0,39±0,02	0,46±0,02*
Максимальная высота, мкм	1,05±0,03	1,29±0,03*
Максимальный перепад высот, мкм	0,66±0,03	0,83±0,02*
Модуль Юнга, кПа	5,44±1,78	12,03±2,37*

* Статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

При сравнении степени шероховатости поверхности оказалось, что минимальная и максимальная высоты интактных НФ были значительно больше, чем у НФ опытной группы. Максимальный перепад высот был выше у НФ на фоне воздействия НЧ TiO_2 , что указывает на то, что поверхность клеток опытной группы отличалась большей шероховатостью по сравнению с интактными НФ, при этом топография поверхности клетки имела «пенистый» вид (см. рис. 2, а).

При изучении биомеханических свойств (жесткости) поверхности НФ было установлено, что присутствие НЧ TiO_2 ведет к увеличению жесткости поверхности НФ на 121 % ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Результаты силовой спектроскопии представлены на рис. 3.

На графике изображены две кривые подвода зонда к поверхности НФ. Отчетливо видно, что силовая кривая НФ в опытной группе имеет более крутой наклон, что свидетельствует о том, что жесткость клеток значительно выше, чем у интактных НФ.

Обсуждение полученных данных. Исследования показали, что НФ в периферической крови после воздействия НЧ TiO_2 претерпевают структурные преобразования, заключающиеся в уменьшении диаметра клетки, увеличении ее высоты и степени шероховатости поверхности.

Сложилось представление о том, что уровень функциональной активности клетки связан с такими характеристиками ядра, как его величина и площадь. Поскольку высота ядра определяется конформационным состоянием ядерных белков и степенью деконденсации хроматина, то изменение этого параметра в сторону увеличения косвенно может свидетельствовать об уменьшении функциональной активности клетки либо об угасании синтетических процессов в клетке. В своей работе мы оценивали величину высоты клетки, которая коррелирует с размерами ядра НФ. Обнаруженное нами увеличение высоты клеток,

расположенных на подложке, указывает на снижение их функциональной активности по сравнению с интактными НФ, что, по-видимому, вызвано воздействием НЧ TiO_2 . Это хорошо согласуется с результатами, полученными М. Ногие и соавт. [5], которые на другой модели обнаружили, что НЧ TiO_2 вызывают снижение жизнеспособности и пролиферации кератиноцитов человека.

Результаты наших исследований показали, что, наряду с изменением морфометрических параметров

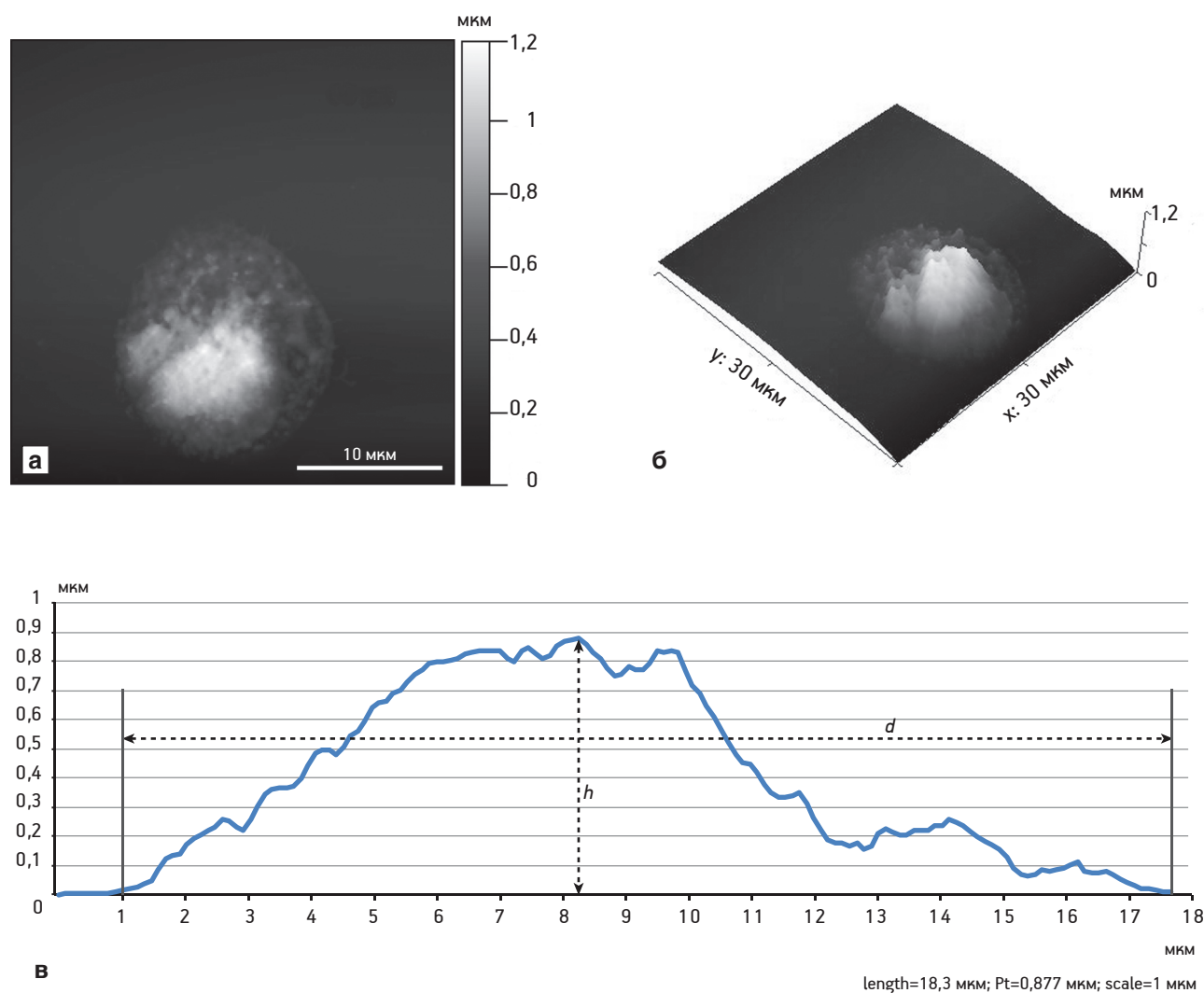
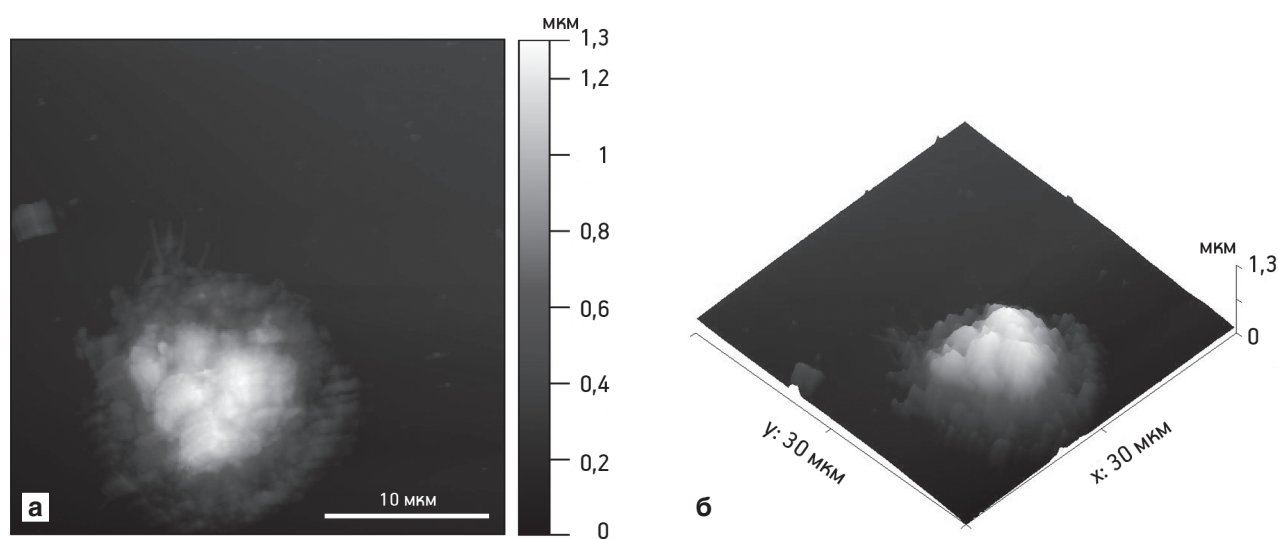


Рис. 1. Нейтрофил в контрольной группе.

а — изображение, полученное с помощью атомно-силовой микроскопии; б — 3D-изображение; в — линейные параметры, определяемые на кривой бокового профиля: h — высота клетки относительно подложки, d — диаметр клетки

Рис. 2. Нейтрофил в опытной группе после воздействия наночастиц TiO_2 .

а — изображение, полученное с помощью атомно-силовой микроскопии; б — 3D-изображение

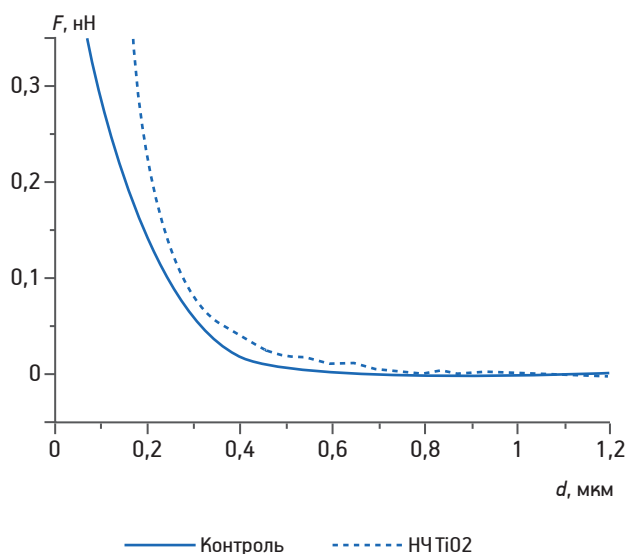


Рис. 3. Силовые кривые подвода зонда атомно-силовой микроскопии к поверхности нейтрофилов.

По оси абсцисс — расстояние зонд—поверхность, мкм;
по оси ординат — сила, нН

клеток на фоне воздействия НЧ TiO_2 , происходит и изменение особенностей поверхности НФ, и в частности увеличение степени их шероховатости. АСМ-сканирование клеток выявило, что на поверхности НФ, обработанных НЧ TiO_2 , определяются многочисленные инвагинации. Визуальный анализ был подтвержден и измерениями максимальной глубины инвагинаций. Известно, что при осуществлении фагоцитоза происходит плотный контакт между клеткой и фагоцитируемым материалом с формированием эндосомы, что меняет топографию поверхности НФ, приводя к появлению инвагинаций.

Результаты наших исследований согласуются с имеющимися в литературе данными об увеличении степени механической неоднородности поверхности НФ в результате воздействия НЧ. Так, в экспериментах с НЧ Fe_3O_4 было показано, что размер инвагинаций напрямую зависит от размера частиц и является следствием повышения фагоцитарной активности клетки [6]. Эта обратная зависимость размера частиц от фагоцитарной активности продемонстрирована и на других НЧ (оксида железа, серебра и золота), а также подтверждена биохимическими исследованиями, свидетельствующими об увеличении концентрации лизосомальных ферментов в ответ на воздействие НЧ. По мнению некоторых авторов, увеличение шероховатости НФ является маркером их фагоцитарной активности [12]. Исследования, посвященные изучению строения (средняя высота, диаметр клетки), а также биофизических (шероховатость) и биомеханических (жесткость) свойств других клеток до и после

воздействия НЧ малочисленны. Однако известно, что НЧ серебра повышают шероховатость и высоту альвеолярных эпителиальных клеток, фибробластов, а НЧ диоксида кремния взаимодействуют с мембраной мезенхимных стволовых клеток, вызывая их структурные изменения [10].

Проведенное нами исследование упругих свойств поверхности НФ свидетельствует о том, что расчетные показатели значения их жесткости сопоставимы с показателями таких клеток человека, как фибробласты, лимфоциты, мезенхимальные стволовые клетки, остеобласты и эндотелиальные клетки. Показано, что механические свойства мембраны НФ после воздействия НЧ TiO_2 изменяются, а именно, модуль упругости клеток значительно повышается, что свидетельствует об увеличении жесткости НФ. Механизм таких изменений до сих пор остается неясным. Предполагается, что это может быть связано со структурной реорганизацией сократительных белков цитоскелета, в частности с изменением соотношения F-актина/G-актина [15]. Другой возможной причиной повышения жесткости поверхности НФ является усиленная генерация активных форм кислорода на фоне воздействия НЧ, которая может способствовать окислительным модификациям собственных клеточных компонентов. Увеличение окислительного стресса приводит к повышению микровязкости поверхностных мембран лейкоцитов крови, указывающему на приобретение мембранами клеток менее пластичных свойств.

В последнее время появились много работ, свидетельствующих о том, что биофизические свойства ряда клеток крови могут служить диагностическим критерием различных патологий. Так, при исследовании механических свойств НФ у людей с хронической обструктивной болезнью легких выявлено, что жесткость мембраны НФ значительно выше, чем у здоровых некурящих людей [1, 13]. При изучении пойкилоцитов у пациентов с наследственными сфероцитозом, талассемией и анизоцитозом I. Dulinska и соавт. [3] установлено, что жесткость клеток была значительно выше по сравнению с нормальными клетками. М. Lekka и соавт. [7] сравнивали жесткость эритроцитов у пациентов с ишемической болезнью, гипертонией, сахарным диабетом, обнаружив увеличение модуля Юнга в клетках у этой категории больных.

Механические свойства НФ и те изменения, которые сопровождают их во время активации, играют ключевую роль в определении их реакции на воспалительные раздражители. Действительно, возрастание жесткости НФ приводит к уменьшению скорости движения, задержке и агрега-

ции в микрокапиллярах, последующей их адгезии к эндотелию в крупных кровеносных сосудах, снижению миграции в участок воспаления и, тем самым, ослаблению противоинфекционной защиты. В свете этих представлений возрастает диагностическая ценность показателей нарушения подвижности НФ крови, а знание их реологии необходимо для лучшего понимания патофизиологических последствий изменения механических характеристик НФ. Таким образом, обнаруженные изменения биофизических свойств поверхности НФ в результате взаимодействия с НЧ могут служить одним из самых ранних маркеров их цитотоксического действия.

Вклад авторов:

Концепция и дизайн исследования: В. В. В.

Сбор и обработка материала: Л. А. Ш., Ю. С. З.

Статистическая обработка данных: Л. А. Ш., М. Р. Д.

Анализ и интерпретация данных: Л. А. Ш., З. Р. Х., В. В. В.

Написание текста: Л. А. Ш., В. В. В.

Авторы сообщают об отсутствии в статье конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гайнитдинова В.В., Шарафутдинова Л.А., Камалтдинов И.М., Авдеев С.Н. АСМ-исследование структурно-функциональных особенностей нейтрофилов у больных хронической обструктивной болезнью легких в фазе обострения // Клиническая лабораторная диагностика. 2015. Т. 60, № 5. С. 17–22 [Gaynitdinova V.V., Sharafutdinova L.A., Kamaltdinov I.M., Avdeev S.N. Atomic-Force microscopy study of neutrophils structural and functional features in patients with chronic obstructive pulmonary disease in the exacerbation phase // Klinicheskaya Laboratornaya diagnostika. 2015. Vol. 60, № 5. P. 17–22. In Russ.].
2. Bogdan J., Pławińska-Czarnak J., Zarzyńska J. Nanoparticles of titanium and zinc oxides as novel agents in tumor treatment: a review // Nanoscale Res. Lett. 2017. Vol. 12, № 1. P. 225.
3. Dulinska I., Targosz M., Strojny W. et al. Stiffness of normal and pathological erythrocyte studied by means of atomic force microscopy // J. Biochem. Biophys. Methods. 2006. Vol. 9, № 1–3. P. 1–11.
4. Fröhlich E. Cellular targets and mechanisms in the cytotoxic action of non-biodegradable engineered nanoparticles // Curr. Drug. Metab. 2013. Vol. 14, № 9. P. 976–988.
5. Horie M., Nishio K., Fujita K. et al. Protein adsorption of ultra-fine metal oxide and its influence on cytotoxicity toward cultured cells // Chem. Res. Toxicol. 2009. Vol. 22, № 3. P. 543–553.
6. Katsnelson B., Privalova L., Degtyareva T. et al. Experimental estimates of the toxicity of iron oxide Fe_3O_4 (magnetite) nanoparticles // Cent. Eur. J. Occup. Environ. Med. 2010. Vol. 16. P. 47–63.
7. Lekka M., Fornal M., Pyka-Fosciak G. et al. Erythrocyte stiffness probed using atomic force microscope // Biorheology. 2005. Vol. 9, № 4. P. 307–317.
8. Ma-Hock L., Burkhardt S., Strauss V. et al. Development of a short-term inhalation test in the rat using nano-titanium dioxide as a model substance // Inhal. Toxicol. 2009. Vol. 21, № 2. P. 102–118.
9. Nogueira D.R., Rolim B., Vinardell M. Mechanisms underlying cytotoxicity induced by engineered nanomaterials: a review of in vitro studies // Nanomaterials (Basel). 2014. Vol. 4, № 2. P. 454–484.
10. Ogneva I., Buravkov S., Shubenkov A., Buravkova L. Mechanical characteristics of mesenchymal stem cells under impact of silica-based nanoparticles // Nanoscale Res. Lett. 2014. Vol. 9. P. 28410.
11. Park E., Yi J., Chung K. et al. Oxidative stress and apoptosis induced by titanium dioxide nanoparticles in cultured BEAS-2B cells // Toxicol. Lett. 2008. Vol. 180. P. 222–229.
12. Privalova L., Katsnelson B., Loginova N. et al. Some characteristics of free cell population in the airways of rats after intratracheal instillation of copper-containing nano-scale particles // Int. J. Mol. Sci. 2014. Vol. 5, № 11. P. 21 538–21 553.
13. Roca-Cusachs P., Almendros I., Sunyer R. et al. Rheology of passive and adhesion-activated neutrophils probed by atomic force microscopy // Biophys J. 2006. Vol. 91. № 9. P. 3508–3518.
14. Wang Q., Huang J., Li H., Zhao A. et al. Recent advances on smart TiO_2 nanotube platforms for sustainable drug delivery applications // J. Nanomedicine. 2016. Vol. 12. P. 151–165.
15. Zheng Y., Wen J., Nguyen J. et al. Decreased deformability of lymphocytes in chronic lymphocytic leukemia // Sci. Rep. 2015. Vol. 5. P. 7613.

Поступила в редакцию 13.10.2017
Получена после доработки 15.11.2017

STRUCTURAL AND BIOMECHANICAL CHARACTERISTICS OF BLOOD NEUTROPHILS IN RATS EXPOSED TO TITANIUM DIOXIDE NANOPARTICLES (ATOMIC FORCE MICROSCOPIC STUDY)

L. A. Sharafutdinova¹, Yu. S. Zamula²,
Z. R. Khismatullina¹, M. R. Daminov¹, V. V. Valiullin³

Objective — to study the structural and biomechanical characteristics of blood neutrophils after exposure to titanium dioxide (TiO_2) nanoparticles.

Materials and methods. Blood neutrophils obtained from 20 healthy donors of both sexes aged 20 to 22 years were studied in vitro before and after exposure to TiO_2 nanoparticles. Using atomic force microscopy, structural and biomechanical characteristics of neutrophils (diameter, cell height, roughness, stiffness) were examined.

Results. The structural changes of neutrophils after exposure to TiO_2 nanoparticles were observed which consisted of decline of cell diameter and an increase of neutrophil height, rigidity and degree of roughness of their surface.

Conclusion. The changes in the structural and biomechanical properties of neutrophils observed indicate the possible cytotoxic effect of TiO_2 nanoparticles.

Key words: neutrophils, atomic force microscopy, nanoparticles, titanium dioxide

¹ Department of Human Physiology and General Biology,

² Laboratory of Experimental Research of the Center for Micro-nanoscale Dynamics of Dispersed Systems, Bashkir State University, 32 Zaki Validi Str., Ufa 450076; ³ Department of Histology, Kazan' State Medical University, 49 Butlerova Str., Kazan' 420012