

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-31

СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПРОЦЕССА ПОГЛОЩЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ КЛЕТКАМИ***STATISTICAL ANALYSIS OF NANOPARTICLE UPTAKE BY CELLS**М. А. Никишина¹, С. П. Федотов², Е. В. Маковеева¹, В. Шолохов¹¹Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б. Н. Ельцина, Екатеринбург²Манчестерский университет, ВеликобританияM. A. Nikishina¹, S. P. Fedotov², E. V. Makoveeva¹, V. Sholokhov¹¹Ural Federal University named after the First President of Russia B. N. Yeltsin, Yekaterinburg²The University of Manchester, United Kingdom

✉ margarita.a.nikishina@gmail.com

Аннотация

Проанализированы экспериментальные данные по поглощению наночастиц альвеолярным макрофагом крысы. Был проведен статистический анализ распределения ямок на поверхности одного макрофага на основе ограниченной выборки из 100 и 200 субрегионов. Показано, что отрицательное биномиальное распределение обеспечивает более точную модель для экспериментально наблюдаемых ямок на поверхности одной клетки.

Abstract

Experimental data on nanoparticle uptake by rat alveolar macrophages were analyzed. The distribution of pits on the surface of a single macrophage was statistically analyzed based on a limited sample of 100 and 200 subregions. It was shown that the negative binomial distribution provides a more accurate model for experimentally observed pits on the surface of a single cell.

Понимание механизмов поглощения клетками наночастиц необходимо для обеспечения безопасного и эффективного применения этих частиц в медицине [1]. В ряде экспериментов по изучению поглощения наночастиц [2] было установлено, что на клеточное поглощение влияет целый ряд факторов, таких как размер и форма наночастиц, характеристики мембраны и т. д. [3]. Предсказать поведение популяции наночастиц возможно с помощью обычных статистических распределений. Казалось бы, стохастическая генерация везикул, нагруженных наночастицами (NLVs), будет следовать распределению Пуассона, но Саммерс и его коллеги [4] обнаружили, что значение дисперсии выше значения математического ожидания. Они стали рассматривать модель распределения вероятностей с чрезмерной дисперсией. Риз и др. [5] также статистически проанализировали распределение наночастиц в клетках и обнаружили, что отрицательное биномиальное распределение является наилучшей моделью кривой, соответствующей эмпирическому распределению NLVs. Они предложили вероятностную модель, в которой образование эндосом на клеточной мембране может быть описано пространственно-временным пуассоновским процессом, зависящим от площади клеток, и обнаружили, что площадь клеток в популяции имеет гамма-распределение, что приводит к отрицательному биномиальному распределению для везикул, нагруженных наночастицами.

На основе этих данных был проведен статистический анализ экспериментальных данных, полученных во время изучения фагоцитарной активности легочных макрофагов и нейтрофильных лейкоцитов крысы [6]. Для изучения реакции нижних дыхательных путей на наночастицы использовалась интратрахеальная инстиляция водной суспензии, содержащей наночастицы. Был проведен анализ ультраструктурных повреждений клеток, вызванных наночастицами. Топология клеточных поверхностей макрофагов была исследована с помощью полуконтактной атомно-силовой микроскопии. На поверхности альвеолярных макрофагов наблюдались множественные ямки (рис. 1). Размер этих ямок увеличивается с ростом размера наночастиц. Кроме того, наночастицы меньшего размера приводили к более высокой концентрации ямок на поверхности. Предполагается, что эти ямки являются результатом начальной стадии активного эндоцитоза, а не просто «следами», оставленными частицами, пассивно проникающими через клеточную мембрану и образующими отверстие.

* Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (соглашение № 075-15-2021-677).

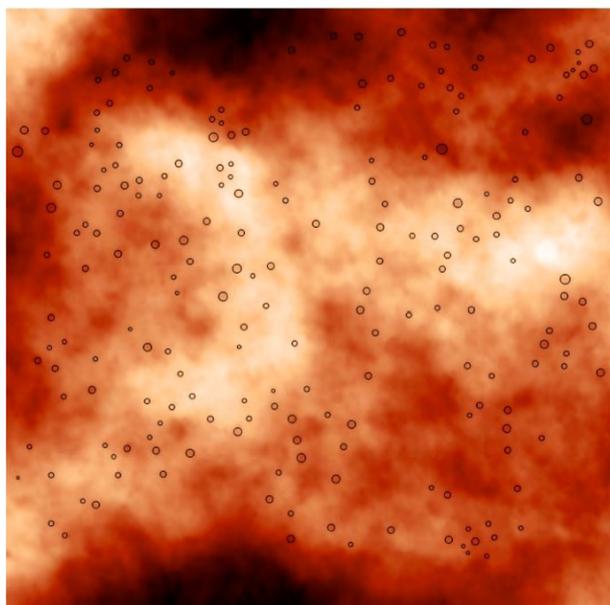


Рис. 1. Обработанное изображение поверхности макрофага площадью 4 мкм^2 с наночастицами оксида меди со средним диаметром 20 нм. Ямки на поверхности альвеолярного макрофага обведены для лучшей визуализации [6]

На рис. 2 представлены две выборки разного размера. В обоих случаях мы наблюдаем заметную дисперсию. Поскольку известное распределение Пуассона имеет среднее значение, равное дисперсии, то оно не подходит для наших данных. Видно, что отрицательное биномиальное распределение (синие кружки) для $N = 200$ хорошо согласуется с эмпирическим распределением и что увеличение размера выборки приводит к более точной подгонке отрицательного биномиального распределения к эмпирическим данным, особенно для меньших значений количества ямок, таких как $k = 0, 1, 2$. Очевидно, что распределение Пуассона (красные треугольники) плохо подходит для наших данных.

Литература

- Hillaireau H., Couvreur P. Nanocarriers' entry into the cell: relevance to drug delivery // Cellular and Molecular Life Sciences. 2009. Vol. 66. P. 2873–2896.
- Shin H. J., Kwak M., Joo S., Lee J. Y. Quantifying fluorescent nanoparticle uptake in mammalian cells using a plate reader // Scientific Reports. 2022. Vol. 12. P. 20146.
- Lesniak A et al. Nanoparticle Adhesion to the Cell Membrane and Its Effect on Nanoparticle Uptake Efficiency // Journal of the American Chemical Society. 2013. Vol. 135. P. 1438–1444.
- Summers H. D. et al. Statistical analysis of nanoparticle dosing in a dynamic cellular system // Nature Nanotechnology. 2011. Vol. 6. P. 170–174.
- Rees P., Wills J. W., Brown M. R. et al. The origin of heterogeneous nanoparticle uptake by cells // Nature Communications. 2019. Vol. 10. P. 2341.
- Katsnelson B. A. et al. Uptake of Some Metallic Nanoparticles by, and their Impact on Pulmonary Macrophages in Vivo as Viewed by Optical, Atomic Force, and Transmission Electron Microscopy // Nanomedicine & Nanotechnology. 2012. Vol. 3. P. 1.

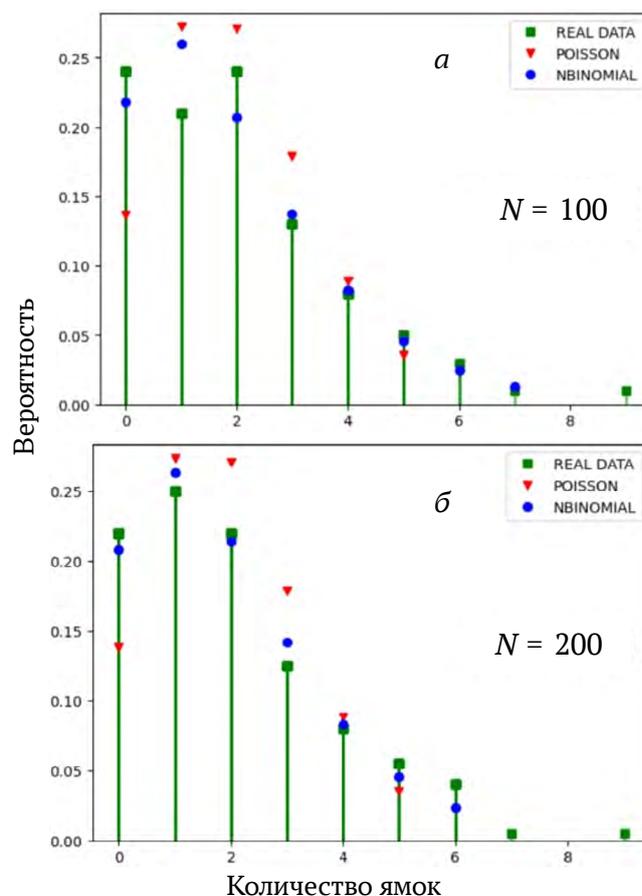


Рис. 2. а) $N = 100$. Эмпирическое распределение (зеленый), пуассоновское (красные треугольники) и отрицательное биномиальное распределение (синие кружки) для числа ямок на поверхности клетки с площадью $S = 0,04 \text{ мкм}^2$.

Эмпирические среднее и дисперсия составляют 1,99 и 3,32. Для отрицательного биномиального распределения значение логарифмического правдоподобия равно $-185,1$, а для распределения Пуассона оно равно $-192,42$; а) $a = 2,97$ и $p = 0,59$; б) $N = 200$. Эмпирические среднее и дисперсия равны 1,98 и 3,10. Для отрицательного биномиального распределения с $a = 3,51$ и $p = 0,63$ значение логарифмического правдоподобия равно $-366,91$, а для распределения Пуассона оно равно $-378,26$