

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η αξιοποίηση της μικροσκοπίας ατομικής δύναμης στη μελέτη κάποιων από τα πιο ενδιαφέροντα νανοσωματίδια που απαντώνται στον άνθρωπο, των λιποπρωτεϊνών, αποτελεί μία ερευνητική πρόκληση. Η παρούσα μελέτη σχεδιάστηκε με σκοπό: 1. να απεικονισθεί το σωματίδιο της LDL με το AFM χωρίς ειδική προετοιμασία του βιολογικού υλικού και 2. να μελετηθεί η αλληλεπίδρασή του με επιφάνειες υλικών. Στη μελέτη περιελήφθησαν τέσσερα υγιή νορμολιπιδαιμικά άτομα (μ.ό.ηλικίας $29,7 \pm 5,5$ έτη). Το κλάσμα των LDL απομονώθηκε κατόπιν υπερφυγοκέντρωσης του πλάσματος των συμμετεχόντων. Για τη μελέτη της αλληλεπίδρασης με επιφάνειες εξετάστηκαν: 1. δύο διαφορετικά υποστρώματα με λείες, καθαρές επιφάνειες, διαφορετικής υδροφοβικότητας [HOPG, c-Si(100)], 2. διαφορετικές συγκεντρώσεις του διαλύματος των LDL (5, 15, 50 $\mu\text{g/ml}$), 3. διαφορετικοί χρόνοι εμβάπτισης (1h, 2h, 12h). Επομένως, έγινε έλεγχος τριών παραμέτρων και για να γίνουν κάθε φορά οι αναγκαίες συγκρίσεις οι δύο διατηρούνταν σταθερές. Οι εικόνες ελήφθησαν με την τεχνική της ταλαντούμενης ακίδας στον ατμοσφαιρικό αέρα. Χρησιμοποιήθηκε το Solver P47H Pro (NT-MDT). Με τη χρήση του HOPG κατέστη δυνατή η απεικόνιση των LDL και προσδιορίστηκαν οι διαστάσεις δομών που αποδόθηκαν σε μεμονωμένα LDL σωματίδια. Η διάμετρός τους μετρήθηκε περίπου 60-65 nm και το ύψος τους 10-12 nm. Διαπιστώθηκε επίσης η δημιουργία συσσωματωμάτων ορισμένα από τα οποία είχαν ιδιαίτερη μορφολογία (τετραμερή). Τα προσροφηθέντα σωματίδια κατέλειπαν μη επικαλυμμένες περιοχές πάνω στο υπόστρωμα και συσσωρεύονταν κυρίως στις θέσεις των steps. Το μέγεθος της προσρόφησης παρουσίασε θετική συσχέτιση με τη συγκέντρωση του διαλύματος που χρησιμοποιήθηκε, ενώ δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές σε σχέση με τους χρόνους που επιλέχθηκαν. Στο πυρίτιο διαπιστώνεται πλήρης κάλυψη του υποστρώματος μετά από 1h και 2h εμβάπτισης. Δημιουργούνται συσσωματώματα ποικίλου σχήματος και μεγέθους, που διασπείρονται σε όλη την επιφάνεια και δεν δείχνουν προτίμηση σχηματισμού σε κάποιες περιοχές. Με την αύξηση της συγκέντρωσης του διαλύματος αυξάνεται το μέγεθος των συσσωματωμάτων. Μετά από 12h εμβάπτισης παρατηρείται μείωση του μεγέθους των συσσωματωμάτων και ύπαρξη μικρών ακάλυπτων περιοχών. Το φαινόμενο αυτό μπορεί να οφείλεται στην επεξεργασία που υφίστανται τα δείγματα πριν την απεικόνισή τους, με αποτέλεσμα η έκπλυση και η ξήρανσή τους να προκαλούν την κατακρήμνιση του στρώματος των λιποπρωτεϊνών που σχηματίζεται. Σε όλες της περιπτώσεις παρατηρήθηκε μετατόπιση των προσροφημένων σωματιδίων από την επίδραση της ακίδας κατά τη σάρωση, ένδειξη της ασθενούς αλληλεπίδρασης των LDL με τα μελετούμενα

υποστρώματα. Με την τεχνική AFM, την επιλογή κατάλληλης συγκέντρωσης διαλύματος και υποστρώματος και μια απλή διαδικασία προετοιμασίας των δειγμάτων, είναι δυνατή η απεικόνιση των σωματιδίων της LDL. Τα μεγέθη των διαστάσεων τους φαίνεται να είναι υπερτιμημένα και το σχήμα τους αλλοιωμένο, πιθανότατα λόγω των δυνάμεων που ασκεί η ακίδα στα σωματίδια κατά τη σάρωση της επιφάνειας. Από τη μελέτη της αλληλεπίδρασης με επιφάνειες παρατηρείται διαφορετική συμπεριφορά σε υποστρώματα διαφορετικής υδροφοβικότητας. Σε όλες τις περιπτώσεις σχηματίζονται συσσωματώματα των LDL. Σημαντικό ρόλο στην προσρόφηση του βιολογικού υλικού φαίνεται να παίζουν η συγκέντρωση του διαλύματος και τα τοπογραφικά χαρακτηριστικά του υποστρώματος. Περαιτέρω έρευνα απαιτείται προκειμένου να μελετηθεί η επίδραση του χρόνου εμβάπτισης, των συνθηκών σάρωσης (γεωμετρία ακίδας, ασκούμενη δύναμη, μετρήσεις σε υγρό μέσο ή ατμοσφαιρικό αέρα) και διαφόρων παθολογικών καταστάσεων στο σχήμα, το μέγεθος και τη συμπεριφορά των σωματιδίων της LDL.