

## **ПРИМЕНЕНИЕ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПРОФИЛЕЙ КЛЕТОК**

*Сладкова Е.А., Заболотная С.В., Михайлик Т.А.  
Белгородский государственный национальный исследовательский  
университет, Россия, Белгород*

*Использование атомно-силовой микроскопии (АСМ) в качестве наномеханического сенсора для изучения микрорельефа и морфометрии клеток, позволяет получать объективнее данные и применять их в прогнозе течения функциональных нарушений и развития патологических процессов. В результате выполненного исследования экспериментально воспроизведена модель гормонозависимых опухолей яичников половозрелых самок крыс. Установлены особенности морфологии форменных элементов крови, питающих опухоль.*

**Ключевые слова:** *атомно-силовая микроскопия; морфометрия; клетка.*

## **APPLICATION OF ATOMIC FORCE MICROSCOPY TO STUDY MORPHOLOGICAL PROFILES OF CELLS**

*Sladkova E.A., Zabolothaia S.V., Mihailik T.A.  
Belgorod State National Research University,  
Russia, Belgorod*

*The use of atomic force microscopy (AFM) as a nanomechanical sensor for studying the microrelief and morphometry of cells allows us to obtain more objective data and apply them in predicting the course of functional disorders and the development of pathological processes. As a result of the performed study, a model of hormone-dependent ovarian tumors of sexually mature female rats was experimentally reproduced. Features in the morphology of the shaped blood elements feeding the tumor.*

**Key words:** *atomic force microscopy; morphometry; cell.*

Широкое распространение в биологических исследованиях технологий АСМ-сканирования, в качестве наномеханического сенсора, позволяет изучать объемную морфологию клеток [1]. Результаты АСМ-сканирования интегрируют морфологические изображения клеток с механическими свойствами клеточной поверхности, такими как клеточная эластичность в 2D-разрешении, силу клеточно-поверхностного или клеточно-клеточного взаимодействия. Получение профилей нативных клеток позволит расширить арсенал средств диагностики патологических процессов в организме. Оценка структурных особенностей клеточной поверхности представляет интерес с точки зрения исследования клеток при клеточной миграции, в процессе

дифференцировки и пролиферации, при метастазировании опухолевых популяций клеток.

**Цель работы** - изучить морфологические профили нативных клеток крови, полученных в режиме полуконтактной АСМ.

**Материалы и методы исследования.** Изучали морфологию клеток крови и особенности их цитоархитектоники при развитии экспериментальных опухолей яичников у беспородных лабораторных половозрелых самок крыс. Для создания экспериментальных опухолей яичников использовали раствор эстрогена, 1 мл которого содержал в пересчете на 100% сухого вещества 1 мг эстра-1,3,5-(10) триен-17-он. Гормон вводили животным опытной группы внутримышечно в концентрации 60 мкг/день в течение 14 дней. Параллельно контрольной группе животных вводили 1 мл физ. раствора. Забор материала проводили путем декапитации наркотизированных животных с соблюдением всех норм и правил Хельсинской декларации по гуманному обращению с лабораторными животными.

Исследования выполняли на атомно-силовом микроскопе ИНТЕГРА Вита (конфигурация на базе инвертированного оптического микроскопа Olympus IX-71). Сканирование нативных клеток производили в полуконтактном режиме с частотой развертки 0,6-0,8 Нз, используя кантилевер серии NSG 03, с жесткостью 1,1 Н/м и радиусом закругления 10 нм.

**Результаты исследований и их обсуждение.** По результатам АСМ-сканирования зафиксированы структурные неоднородности поверхности микрорельефа клеток крови в условиях развития опухолей. АСМ-сканирование эритроцитов показало наличие в них при развитии опухоли шероховатостей поверхности и выступов в области центрального углубления пэлора. Кроме того, среди эритроцитарной популяции, взятой из сосудов, омывающих опухоль, наблюдалась утрата центрального просветления и наличие эхиоцитарной формы клеток. Эритроциты контрольной группы животных имели форму двояковогнутых дисков с просветлением в центре. Специфических особенностей в микрорельефе поверхности у них не обнаружено.

Морфометрические параметры эритроцитов между опытной и контрольной группами находились в пределах недостоверных различий (табл.1).

Таблица 1

*Морфометрические параметры форменных элементов крови крыс, полученные методом АСМ*

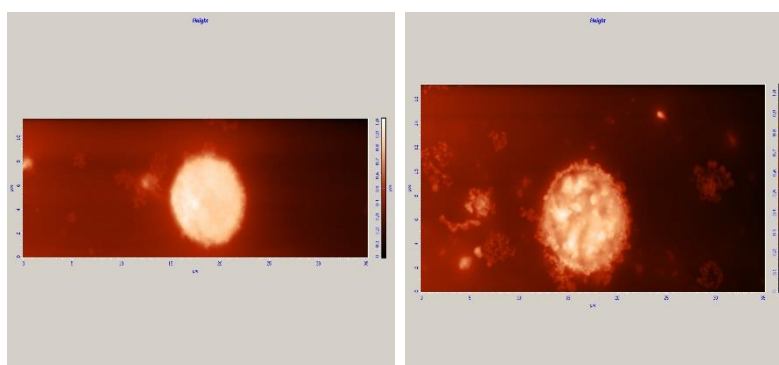
Группы	D, мкм	H, мкм	V, мкм <sup>3</sup>	S, мкм <sup>2</sup>
<b>эритроциты</b>				

Контроль	5,67 ± 0,05	0,58 ± 0,01	20,96 ± 0,70	39,54 ± 1,53
Опыт	5,67 ± 0,08	0,58 ± 0,01	20,97 ± 0,65	43,48 ± 1,32
<b>нейтрофилы</b>				
Контроль	10,15 ± 0,25	0,69 ± 0,05	61,34 ± 9,32	99,37 ± 9,4
Опыт	9,49 ± 0,22	0,60 ± 0,07	39,21 ± 4,81*	107,88 ± 7,13
<b>лимфоциты</b>				
Контроль	6,89 ± 0,08	0,86 ± 0,04	27,20 ± 1,55	54,94 ± 3,07
Опыт	7,70 ± 0,24*	0,75 ± 0,01*	39,07 ± 2,21*	53,81 ± 2,17

Примечание: *D* – диаметр; *H* – высота; *V* – объем; *S* – площадь поверхности.

\* Статистическая значимость достоверности различий клеток крови в опытной группе животных по сравнению с данными в контрольной группе при  $p \leq 0,05$

В нейтрофилах при развитии опухолей яичников отмечалось сглаживание поверхности и уменьшение числа гранул (рис. 1, а). Объем ядра также уменьшался по сравнению с контролем.



а) б)

Рис. 1. АСМ-изображение нейтрофила:  
а) опыт; б) контроль

Нейтрофилы контрольной группы животных характеризовались наличием большого ядра, ярко выраженными гранулами, покрывающими в виде неровностей всю поверхность клетки (рис.1 б). Анализируя морфометрические параметры нейтрофилов в опытной группе животных, можно отметить тенденцию к уменьшению диаметра и высоты клетки по сравнению с контролем. При этом объем нейтрофилов снижался на 36,0 % ( $p < 0,05$ ), а площадь поверхности возрастала.

На сканах лимфоцитов не обнаружено различий в микрорельефе поверхности клеток между опытной и контрольной группами. Лимфоцитам свойственна округлая форма с преобладанием ядра по объему над цитоплазмой. В условиях развития опухоли установлено изменение геометрического профиля лимфоцитов. В опытной группе диаметр лимфоцитов увеличивался на 10,51 % ( $p < 0,05$ ) при этом высота клеток снижалась на 12,79 % ( $p < 0,05$ ), а площадь поверхности возрастала на 30,38% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем. Несмотря на отсутствие особенностей в микрорельефе лимфоцитов при развитии опухолей, установлена ярко выраженная реакция их распластывания, что вероятно связано с дефектами в структуре цитоскелета [2].

Таким образом, по данным объемной морфометрии клеток крови функционально ведущими популяциями, отражающими развитие неопластических процессов, являются лейкоциты. Морфологические преобразования их клеточной поверхности направлены на усиление распластывания и сглаживания микрорельефа поверхности.

### **Список литературы**

1. Дедков, В.Г. Контактная атомно-силовая микроскопия биологических тканей / В.Г. Дедков // Письма в ЖТФ. – 2010. – Т. 36. Вып. 3. – С. 76-81.
2. Takahiro, S. The Relationship Between Actin Cytoskeleton and Membran Transporters in Cisplatin Resistance of Cancer Cells / S. Takahiro // Front. Cell Dev. Biol. – 2020. – V. 10. – P. 1115-1139.