

А. Н. Шклярова<sup>1</sup>, Е. А. Моисеенко<sup>2</sup>, В. Н. Бондарь<sup>2</sup>

*Научный руководитель: д.б.н., профессор М. Н. Стародубцева<sup>2</sup>*

*<sup>1</sup>Государственное научное учреждение  
«Институт радиобиологии НАН Беларуси»,*

*<sup>2</sup>Учреждение образования  
«Гомельский государственный медицинский университет»  
г. Гомель, Республика Беларусь*

## **МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КУЛЬТУР КЕРАТИНОЦИТОВ ПРИ БЛОКИРОВАНИИ РЕЦЕПТОРОВ К ИММУНОГЛОБУЛИНАМ И CD109 РЕЦЕПТОРОВ**

### ***Введение***

В последние годы перспективным и быстроразвивающимся направлением научных исследований для восстановления утраченной структуры и функции повреждённых органов является использование клеточных культур и тканей. Культура кератиноцитов НАСАТ является удобной моделью для изучения пролиферации, апоптотической гибели клеток, культуру удобно использовать для разработки методических подходов лечения различных болезней, сопровождающихся воспалением, повреждением кожного покрова и др. заболеваний кожи [1]. В этой связи изучение морфофункциональных характеристик культур кератиноцитов в условиях их взаимодействия с антителами и различными молекулами, регулирующими процессы пролиферации, апоптоза и дифференцировки клеток представляют актуальную проблему современной биологии и медицины.

### ***Цель***

Изучить морфометрические показатели культуры кератиноцитов в условиях блокирования иммуноглобулиновых и CD109 рецепторов.

### ***Материал и методы исследования***

Культивирование кератиноцитов проводили с использованием базовой культуральной среды DMEM/F-12 с добавлением 10 % FBS и антибиотиков (penicillin/streptomycin/amphotericin B) в стандартных флаконах T-25 (25 см<sup>2</sup>) в CO<sub>2</sub>-инкубаторе при 37 °С. Замену среды и пересадку клеток проводили каждые 3–4 дня. При пересадке клеток использовали раствор 0,05 % trypsin and 0,5 mM EDTA. Для блокировки Fc-рецепторов клетки инкубировали с IgG (1 мкг IgG/106 клеток, Human IgG Fc antibody/monoclonar mouse IgG1, clone #97924, R&D Systems) в течение 15 минут при комнатной температуре. Затем клетки инкубировали с анти-CD109 антителами (Human/mouse CD109 PE-conjugated antibody/monoclonar mouse IgG2A, clone #496929, R&D System) в течение 30 минут при комнатной температуре в темноте в соответствии с инструкциями производителя. Клетки фиксировали 2% раствором глутарового альдегида, окрашивали по Романовскому-Гимзе и исследовали с микроскопа Nikon Eclipse 50i с цифровой фотокамерой DS-F1 при увеличении объектива ×40. Морфометрическое исследование проводили с использованием пакета прикладных программ анализа изображения Image G. Были рассчитаны площади клетки, ядра, органелл и ядерно-цитоплазматическое соотношение (ЯЦО). Статистическая обработка проводилась с использованием пакета статистических программ GrafPad Prism 8. Результаты исследования представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (Q<sup>1</sup>; Q<sup>3</sup>). Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### Результаты исследования и их обсуждение

Культура кератиноцитов НАСАТ была представлена монослоем клеток полигональной формы. Крупное ядро содержало от 3-х до 6-и ядрышек. Большая часть клеток имела мелкие цитоплазматические отростки, соединяющие клетки друг с другом.

Таблица 1 – Морфометрические показатели клеток кератиноцитов НАСАТ (мкм)

Показатель, мкм	Сроки наблюдения			p
	Контроль (1)	IG (2)	IG + CD109 (3)	
S клетки	14989,74 [13013,6; 17882,7]	14677,97 [9443,4; 18789,2]	14253,0 [12897,9; 16267,2]	–
S ядра	2679,2 [2320,2; 2994,0]	3632,500 [2726,1; 5035,2]	3050,172 [2529,6; 3626,7]	$p_{1,2} = 0,0001$ $p_{1,3} = 0,007$ $p_{2,3} = 0,0112$
S органелл	7360,4 [5180,0; 8626,5]	3665,9 [2486,121; 5362,9]	5038,9 [4001,0; 6737,1]	$p_{1,2} < 0,00001$ $p_{1,3} = 0,0002$ $p_{2,3} = 0,0008$
S цитоплазмы	12354,3 [10848,8; 15264,5]	10510,8 [6342,9; 13986,8]	11483,6 [9823,6; 13217,6]	–
ЯЦО	0,1946 [0,1533; 0,2422]	0,3818 [0,3039; 0,4888]	0,2691 [0,2179; 0,3238]	$p_{1,2} < 0,00001$ $p_{1,3} = 0,0694$ $p_{2,3} < 0,00001$

Известно, что низкие показатели ЯЦО и, соответственно, площади ядер соматических клеток определяются в дифференцированных клетках, которые активно функционируют. В нашем исследовании мы наблюдали подобные изменения в контрольной серии эксперимента, где площадь ядра была минимальной и составила 2679,2 [2320,2; 2994,0] мкм. Такие же минимальные значения мы наблюдали для ЯЦО, где этот показатель составил 0,1946 [0,1533; 0,2422] мкм. В многих ранее выполненных исследованиях показано, что переход клетки в менее дифференцированное состояние сопровождается снижением ее функциональной активности, увеличением площади ядра клеток и ЯЦО, а также снижением площади органелл. Такие изменения наблюдаются при снижении степени дифференцировки клеток и показаны в стволовых клетках и клетках злокачественных опухолей. В нашем эксперименте подобные изменения были установлены во 2-й экспериментальной группе, где было проведено блокирование Fc-рецепторов. При этом площадь ядра составила 3632,5 [2726,1; 5035,2] мкм и была статистически значимо выше в сравнении с контролем ( $p = 0,0001$ ). ЯЦО увеличивалось до 0,3818 [0,3039; 0,4888], что почти в 2 раза превышало контрольные значения ( $p < 0,0001$ ). В соответствии с изменениями, характерными для низкой степени дифференцировки клеток, площадь органелл значительно снижалась и составила 3665,9 [2486,1; 5362,9] мкм ( $p < 0,0001$ ). Следует отметить, что показатели площади клетки и площади цитоплазмы статистически значимо не отличались друг от друга при сравнении двух указанных групп.

В 3-й экспериментальной группе, где было проведено блокирование Fc-рецепторов и CD109-рецепторов были получены результаты, указывающие на снижение дифференцировки клеток, однако, данные параметры снижения дифференцировки были не столь выражены в сравнении со 2-й экспериментальной группой. Так, площадь ядра составила 3050,2 [2529,6; 3626,7] мкм, что было статистически значимо в сравнении с контролем  $p = 0,007$ , но несколько ниже показателя 2-й экспериментальной группы ( $p = 0,0112$ ). ЯЦО статистически значимо не отличалось от контрольных показателей. Однако площадь органелл составила 5038,9 [4001,0; 6737,1] мкм, что было значительно ниже контрольных

значений ( $p = 0,0002$ ). При этом они были выше аналогичного показателя 2 серии эксперимента ( $p = 0,0008$ ).

Результаты исследования показали, что блокирование Fc-рецепторов на поверхности кератиноцитов вызывает снижение дифференцировки клеток, что проявлялось в виде увеличения площади ядра, органелл и ЯЦО. При дополнительном блокировании рецепторов CD109 данные показатели имели тенденцию к снижению, что, по-видимому, отражало увеличение степени дифференцировки клеток, но при этом основные морфометрические показатели были выше в сравнении с контролем. Принимая во внимание что антиген CD109 является ингибитором TGF- $\beta$  сигнального пути, можно предположить, что активация TGF- $\beta$  приводит к торможению пролиферации и индуцирует дифференцировку кератиноцитов [2, 3].

### **Выводы**

Полученные новые данные об изменении морфофункциональных характеристик кератиноцитов при блокировании иммуноглобулиновых- и CD109-рецепторов являются фундаментальной основой для дальнейших экспериментальных исследований по изучению патогенеза и разработки методов лечения воспалительных и опухолевых заболеваний кожи.

### **СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ**

1. ROCK inhibitor reduces Myc-induced apoptosis and mediates immortalization of human keratinocytes / A. Dakic [ et al] // Oncotarget. – 2016. – V. 7. – P. 66740–66753.
2. Vander Ark A. TGF- $\beta$  receptors: In and beyond TGF- $\beta$  signaling / A. Vander Ark, J. Cao, X. Li // Cell Signal. – 2018. – № 52. – P. 112–120.
3. CD109 and squamous cell carcinoma / Qi Ruixia [at al.] // J Transl Med. – 2018. – № 88. – Open Access, Published: 06 April 2018.

**УДК 611.817.1-018:611.13**

**А. Ю. Шпаковский<sup>1</sup>, М. Ю. Шпаковская<sup>2</sup>**

*Научный руководитель: заведующий кафедрой, к.м.н., доцент И. Л. Кравцова*

*<sup>1</sup>Учреждение образования*

*«Белорусский государственный медицинский университет»*

*г. Минск, Республика Беларусь*

*<sup>2</sup>Учреждение образования*

*«Гомельский государственный медицинский университет»*

*г. Гомель, Республика Беларусь*

### **МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕЙРОНОВ И СОСУДОВ КОРЫ МОЗЖЕЧКА КРЫСЫ**

#### **Введение**

Изучение внутримозговых сосудов и особенно вокруг сосудистых пространств головного мозга человека остается актуальной проблемой морфологии, что связано не только с ростом нарушений мозгового кровообращения у лиц трудоспособного возраста, но и увеличением различных патологических состояний сосудистого генеза. Особенно опасными считаются острые нарушения мозгового кровообращения вертебрально-базиллярного бассейна. В этом случае патологический процесс затрагивает отделы ствола, мозжечка и базальных ядер головного мозга. Последствия нарушений мозгового кровоснабжения, даже небольшие, локальные, но в жизненно важных зонах приводят к тяжелым последствиям: инвалидизации и летальному исходу. Лабораторные животные, особенно