

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 618.19-006.6:57.085.23]-097.1

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-2-168-176>

Поступила в редакцию 16.02.2024

Received 16.02.2024

А. Н. Шклярва¹, И. А. Челнокова¹, Э. А. Надыров², Ю. А. Крылов³, М. Н. Стародубцева²¹*Институт радиобиологии НАН Беларуси, Гомель, Республика Беларусь*²*Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Республика Беларусь*³*Институт повышения квалификации и переподготовки кадров Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь, Минск, Республика Беларусь*

МЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КЛЕТОК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ РАЗНЫХ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ПОДТИПОВ В РЕАКЦИИ С АНТИТЕЛАМИ ПРОТИВ CD109 АНТИГЕНА

Аннотация. Цитоскелет принимает участие в ключевых событиях в клетках при онкогенезе и реакции раковых клеток на терапевтические факторы. Состояние и структура актинового цитоскелета оказывают существенное влияние на механическое поведение раковых клеток, формируя основные черты их механического фенотипа.

С помощью методов атомно-силовой и флуоресцентной микроскопии нами изучены структура актинового цитоскелета и механические свойства клеток рака молочной железы разных молекулярно-биологических подтипов (гормон-чувствительного, линия ZR-75, и тройного негативного, линия BT-20) при взаимодействии клеток с антигеном CD109 – ингибитором TGF- β -сигнального пути. Установлено, что использование антител для иммобилизации антигена CD109 вызывает значительные изменения пространственной организации актинового цитоскелета, жесткости и адгезионных свойств поверхности клеток обеих клеточных линий. Из-за различий в структуре актинового цитоскелета изменение параметров механических свойств клеток разных молекулярно-биологических подтипов рака и реализация механизмов TGF- β -сигнального пути в них при связывании с антителами против антигена CD109 происходит по-разному. Полученные данные открывают новые перспективы для разработки и оценки эффективности противораковых средств.

Ключевые слова: клетки рака молочной железы, клеточная линия BT-20, клеточная линия ZR-75, CD109, механические свойства, атомно-силовая микроскопия, актиновый цитоскелет

Для цитирования: Механические свойства клеток рака молочной железы разных молекулярно-биологических подтипов в реакции с антителами против CD109 антигена / А. Н. Шклярва [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2024. – Т. 21, № 2. – С. 168–176. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-2-168-176>

Nastassia M. Shkliarava¹, Irina A. Chelnokova¹, Eldar A. Nadyrov², Andrey Yu. Krylov³, Maria N. Starodubtseva²¹*Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Gomel, Republic of Belarus*²*Gomel State Medical University, Gomel, Republic of Belarus*³*State Forensic Examination Committee of the Republic of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

MECHANICAL PROPERTIES OF BREAST CANCER CELLS OF DIFFERENT MOLECULAR BIOLOGICAL SUBTYPES IN REACTION WITH ANTIBODIES AGAINST CD109 ANTIGEN

Abstract. The cytoskeleton is a participant in key cell events in oncogenesis and the reaction of cancer cells to therapeutic factors. The state and structure of the actin cytoskeleton contributes significantly to the mechanical behavior of cancer cells, forming the main features of their mechanical phenotype.

In the work, using atomic-force microscopy and fluorescent microscopy, we studied the changes in the structure of the actin cytoskeleton and parameters of the mechanical properties of breast cancer cells of different molecular biological subtypes (hormone-sensitive, line ZR-75, and triple-negative, BT-20 line, subtypes) when cells interact with the CD109 antigen, a TGF- β signaling pathway inhibitor. The use of antibodies for immobilizing the CD109 antigen has been shown to cause significant changes in the spatial organization of the actin cytoskeleton, stiffness and adhesive properties of the cell surface of both cell lines. Because of differences in the structure of the actin cytoskeleton, changes in the mechanical properties of the cells of different molecular biological breast cancer subtypes and the implementation of the TGF- β signaling pathway in these cells when binding to antibodies against the CD109 antigen occur in different ways. The obtained data open new perspectives for the development and evaluation of the effectiveness of anticancer drugs.

Keywords: breast cancer cells, BT-20 cell line, ZR-75 cell line, CD109, mechanical properties, atomic force microscopy, actin cytoskeleton

For citation: Shkliarava N. M., Chelnokova I. A., Nadyrov E. A., Krylov A. Yu., Starodubtseva M. N. Mechanical properties of breast cancer cells of different molecular biological subtypes in reaction with antibodies against CD109 antigen. *Vesti Natsyonal'noi akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2024, vol. 21, no. 2, pp. 168–176 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-2-168-176>

Введение. Рак молочной железы (PMЖ) занимает ведущее место в структуре онкологической заболеваемости среди женского населения во всех экономически развитых странах. Несмотря на совершенствование подходов к диагностике и лечению, в 2020 г. во всем мире зарегистрировано более 2,26 млн случаев PMЖ, что составляет 11,7 % от всех случаев злокачественных новообразований у лиц обоего пола [1].

Молекулярно-генетическая классификация PMЖ свидетельствует о том, что разные его подтипы характеризуются специфической биологией, прогнозом, а также предусматривают индивидуальный подбор терапии. Пациентки с люминальным подтипом опухоли А имеют самую высокую общую выживаемость, тройной-негативный и HER-2-позитивный подтипы характеризуются плохим прогнозом и наименьшей выживаемостью, люминальный подтип опухоли В занимает промежуточное место [2].

Биофизические исследования раковых клеток помогают установить связь между механикой клеток и особенностями их биологических свойств. Атомно-силовая микроскопия (АСМ) является одним из эффективных биофизических методов изучения структурных и механических свойств раковых клеток [3–8]. Методы картирования наномеханических свойств поверхности объекта, например режим Bruker Tapping PeakForce QNM, позволяют измерить структурные, упругие и адгезионные свойства поверхностного слоя клеток и на основании этого определить их биологический потенциал (способность к инвазии, метастазированию и др.). Цитоскелет является основным компонентом клетки, определяющим ее механическую устойчивость и деформацию в ответ на внешние раздражители. Цитоскелет состоит из микрофиламентов, микротрубочек и промежуточных филаментов. Актиновый цитоскелет является важным участником различных клеточных событий: клеточной мобильности, клеточной дифференцировки, везикулярного транспорта, клеточной пролиферации и гибели клеток. Перестройки актинового цитоскелета сопровождают эпителиально-мезенхимальный переход в раковых клетках, характерный для малигнизации опухоли [9].

Согласно данным, полученным в результате мета-анализа последних исследований, антиген CD109 (гликозилфосфатидилинозитол-заякоренный белок поверхности клетки) может быть полезным в качестве прогностического биомаркера у больных раком. CD109 является потенциальным регулятором многих сигнальных путей, включая TGF- β , YAP/TAZ, EGFR/AKT/mTOR, EGFR и STAT сигнальные пути. Повышенная экспрессия антигена CD109 имеет место при многих видах рака. CD109 является как белком, выделяемым клетками, так и маркером поверхности клетки. Уровни CD109 в культивируемых плоскоклеточных раковых клетках имеют обратную корреляцию с активацией TGF- β сигнализации, эпителиально-мезенхимальным переходом, миграцией и инвазией. Известно, что CD109 антиген экспрессируется в высоких концентрациях при одном из агрессивных подтипов тройного негативного PMЖ, что считается потенциальным биомаркером для прогрессирования PMЖ [10, 11].

Клеточная линия ZR-75 является одним из подтипов PMЖ, характеризующегося наличием на клеточной поверхности рецепторов эстрогена (прогестерона) и отсутствием рецепторов к HER2. Эти клетки отличаются хорошо развитой структурой цитоскелета и плотными межклеточными соединениями. Клеточная линия BT-20 является репрезентативной для тройного негативного PMЖ подтипа А, так как не имеет рецепторов ни для одного из вышеуказанных соединений. Эти клетки обогащены базальными маркерами, в том числе цитокератинами, и не имеют виментинового цитоскелета [12]. Сравнительный анализ механических параметров раковых клеток разных молекулярно-биологических подтипов дает возможность лучше понять особенности их клеточного взаимодействия, миграции и метастазирования, что в перспективе позволит дополнить стратегии лечения PMЖ.

Целью исследования являлось выявление различий в механических свойствах клеток рака молочной железы разных молекулярно-биологических подтипов при связывании клеток с антителами против антигена CD109.

Материалы и методы исследования. Клеточные линии PMЖ ZR-75 и BT-20 получены из Республиканского научно-практического центра онкологии и медицинской радиологии имени Н. Н. Александрова. Для культивирования клеток использовали среду RPMI-1640 (Capricorn

Scientific, Германия), содержащую 10 % бычьей фетальной сыворотки и 1%-ный раствор антибиотика/антимикотика (Carbicorn Scientific, Германия) для линии ZR-75, и среду DMEM/Ham-F-12 (Carbicorn Scientific, Германия), содержащую 10 % бычьей фетальной сыворотки со смесью антибиотиков – пенициллина, стрептомицина и амфотерицина В (Carbicorn Scientific, Германия) для линии BT-20. Клетки высаживали в чашки Петри в количестве 50 тыс. с дальнейшей инкубацией 24 ч в инкубаторе.

Для иммунофлуоресценции клетки в нативном состоянии фиксировали раствором 3,7%-ного формальдегида, приготовленным в фосфатно-солевом буфере в течение 10 мин при комнатной температуре, а затем двукратно отмывали фосфатно-солевым буфером. Для пермеабилзации использовали раствор клеточного детергента (0,1%-ный Triton) в течение 5 мин и дважды отмывали раствором фосфатно-солевого буфера. Для окраски F-актина клетки инкубировали с фаллоидином, конъюгированным с флуоресцентным красителем Alexa Fluor 488 (Thermo Fisher Scientific, США) (1 : 40), в течение 20 мин при комнатной температуре и дважды промывали фосфатно-солевым буфером. Для окраски виментина использовали первичные антитела против виментина человека (1 : 50) (Abcam, Великобритания), инкубировали в течение суток при 4 °C и дважды промывали фосфатно-солевым буфером. В качестве вторичного антитела использовали козий антикроличий IgG (H + L) с перекрестно адсорбированным вторичным антителом Alexa Fluor 488 (Thermo Fisher Scientific, США), с которым клетки инкубировали 3 ч (1 : 500) при 4 °C, а затем промывали фосфатно-солевым буфером. Ядра клеток окрашивали монтирующей средой с 4',6-диамидино-2-фенилиндолом (DAPI, Abcam, Великобритания). Иммунофлуоресценцию регистрировали с помощью инвертированного светового микроскопа (Axio Observer 3, Zeiss, Германия) с 40-кратным увеличением объектива, используя светодиодный источник света Colibri 3 для многоканальной флуоресценции ($\lambda_{ex} = 353$ нм и $\lambda_{em} = 465$ нм для DAPI; $\lambda_{ex} = 493$ нм и $\lambda_{em} = 517$ нм для AF488). Для записи изображений использовали программу Zen Blue.

Для проведения АСМ клетки фиксировали 2%-ным раствором глутарового альдегида, приготовленным на фосфатно-солевом буфере в течение 20 мин, а затем отмывали фосфатно-солевым буфером (pH = 7,4) и дистиллированной водой. Образцы высушивали ламинарным потоком воздуха в комнатных условиях. Сканирование образцов в воздушной среде проводили с помощью атомно-силового микроскопа BioScope Resolve (Bruker, США) в режиме записи MIROview Peak Force QNM Air иглой-зондом SCANASYST AIR, изготовленной из нитрида кремния (SiN) (резонансная частота 70 кГц, радиус закругления острия 2 нм, жесткость консоли 0,4 Н/м). Запись малых участков поверхности клеток над ядром размером 1×1 мкм² проводили с разрешением 256×256 пикселей, скоростью 0,3 Гц, частотой 0,5 кГц и пиковой нагрузкой 290 нН. Структурные и механические свойства клеток оценивали по полученным АСМ-изображениям, используя программу Nanoscope Analysis 1.8. Для оценки силы адгезии (F_{ad}) использовали канал Adhesion, а для модуля упругости (E) – канал DMT-Modulus.

Статистическую обработку полученных данных и построение графиков осуществляли с помощью программы OriginPro, version 2019b, и статистического онлайн-калькулятора Statistics Kingdom (Мельбурн, Австралия). При статистическом анализе данных были использованы: тест Шапиро–Уилка на нормальность распределения и U -критерий Манна–Уитни для сравнительного анализа.

Результаты и их обсуждение. По данным, представленным на сайте (<https://www.proteinatlas.org/>), у двух изучаемых линий имеются поверхностные антигены CD109, экспрессируемые в клетках с невысоким в сравнении с некоторыми другими клеточными линиями РМЖ уровнем. Антиген CD109 является ингибитором TGF- β -сигнального пути, который рассматривается в качестве основного механизма эпителиально-мезенхимального перехода, характерного для агрессивных типов рака. Согласно полученным нами данным, клетки обеих линий существенно меняют свои морфологические, механические характеристики и пространственное распределение структур кортикального актинового цитоскелета в ответ на введение антител против антигена CD109. На рис. 1 представлены двухмерные топографические АСМ-изображения целых клеток клеточных линий двух молекулярно-биологических подтипов РМЖ.

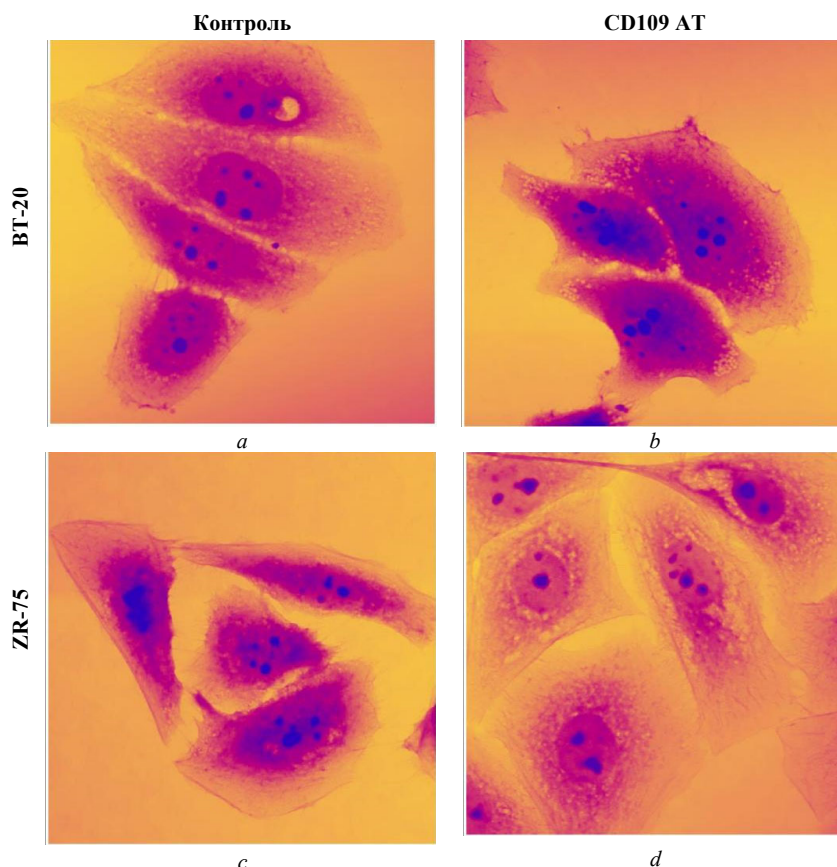


Рис. 1. Топографические АСМ-изображения клеток РМЖ разных молекулярно-биологических подтипов контрольных образцов и образцов после взаимодействия с антителами против антигена CD109 (*a–d*). Размеры области сканирования $94,7 \times 94,7$ мкм², разрешение 512×512 пикселей. Изображения искусственно окрашены с помощью фильтров изображения для лучшей визуализации морфологии клеток

Fig. 1. Topographic AFM images of breast cancer cells of different molecular biological subtypes of control samples and samples after interacting with antibodies against the CD109 antigen (*a–d*). The scan size is 94.7×94.7 μm^2 , the resolution is 512×512 pixels. Images are artificially colored using image filters to better visualize the cell morphology

При введении антител против антигена CD109 поверхностный слой клеток становится значительно жестче (рис. 2, *a*). Так, для клеток линии ZR-75 поверхностный слой увеличил жесткость в 1,26 (1,16; 1,42) раза, а для клеток линии BT-20 – в 1,15 (1,09; 1,20) раза (различия между линиями статистически значимо, $p < 10^{-6}$, *U*-критерий Манна–Уитни).

Адгезионные свойства клеточной поверхности усилились также после реакции клеток с антителами против антигена CD109. Так, для клеток линии ZR-75 сила адгезии увеличилась в 1,89 (1,33; 2,22) раза, а для клеток линии BT-20 – в 1,26 (1,1; 1,64) раза (различия между линиями статистически значимы, $p < 10^{-6}$, *U*-критерий Манна–Уитни). При этом имеются различия в механических параметрах, оцененных для контрольных клеток РМЖ разных молекулярно-биологических подтипов. Так, в контрольных выборках (без обработки клеток антителами) показатели модуля упругости и силы адгезии, характерные для поверхности клеток линии BT-20, существенно превышают их значения для клеток линии ZR-75 (рис. 2).

Как установлено нами ранее, клетки линии BT-20, в отличие от клеток линии ZR-75, имеют узкий и плотный слой кортикального актинового цитоскелета, что делает их похожими на мягкий объект с жестким поверхностным слоем [8]. После реакции клеток линии BT-20 с антителами против антигена CD109 имеет место реорганизация структуры актинового цитоскелета с формированием зоны повышенной плотности в очень узком примембранном слое (рис. 3). Для клеток линии ZR-75 характерно более равномерное распределение структур актинового цитоскелета. Помимо этого, клетки в перинуклеарной области имеют хорошо развитый виментиновый

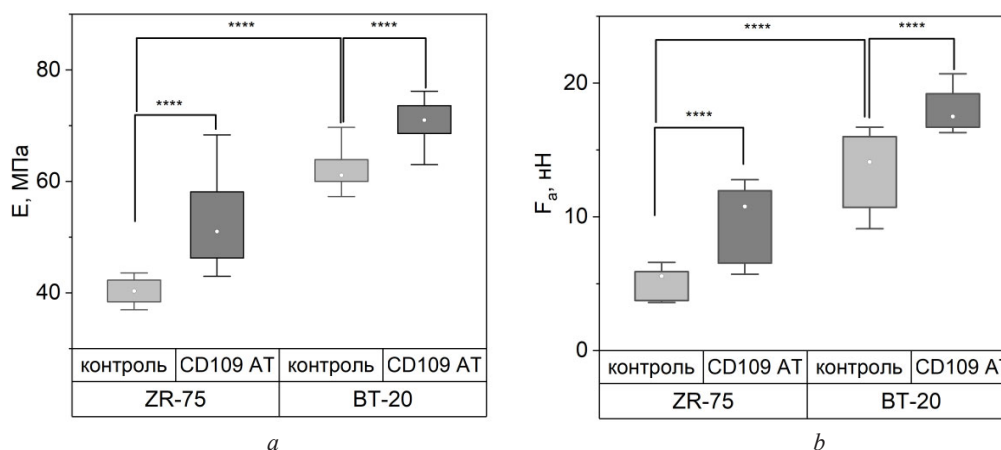


Рис. 2. Влияние антител против антигена CD109 на механические параметры (*a*, *b*) участков поверхности клеток разных молекулярно-биологических подтипов РМЖ. Данные представлены в виде медианы, интерквартильного интервала, максимального и минимального значений. **** – $p < 10^{-6}$, *U*-критерий Манна–Уитни

Fig. 2. Effect of anti-CD109 antibodies on the mechanical parameters (*a*, *b*) of cell surface areas of different molecular biological subtypes of breast cancer. Data are presented as median, interquartile range, maximum and minimum values. **** – $p < 10^{-6}$, Mann–Whitney *U* test

цитоскелет. При реакции клеток линии ZR-75 с антителами против антигена CD109 актиновый цитоскелет претерпевает изменения в более глубоких областях и затрагивает более объемную область клеток (рис. 3).

Ядрышки клеток, как известно из данных литературы, одними из первых реагируют на сигналы стресса, связанные с факторами роста [13]. При этом клетки наращивают способность синтезировать белки, чтобы удовлетворить повышенные потребности в белках во время роста и пролиферации. Таким образом, по размеру и числу ядрышек можно судить об опухолевой активности. Нами изучены структуры ядер контрольных образцов клеток РМЖ и после их взаимодействия с антителами против антигена CD109. На рис. 4 представлены АСМ-изображения участков поверхности клеток двух изучаемых клеточных линий над ядром.

В отличие от клеток линии BT-20, в клетках линии ZR-75 обнаружено изменение размеров ядрышек после взаимодействия клеток с антителами против антигена CD109 (рис. 4, *i*, *j*). На гистограмме распределения диаметра ядрышек заметно появление дополнительного пика в области больших значений (рис. 4, *i*). Ядрышки клеток ZR-75 становятся неоднородными по размеру после активации TGF- β -сигнального пути при использовании антител против антигена CD109.

По данным литературы, роль сигнального пути с участием TGF- β в развитии рака не однозначна. На раннем этапе малигнизации этот путь способствует подавлению пролиферации клеток, в то время как на более поздних стадиях он стимулирует эпителиально-мезенхимальный переход в клетках. Полагают, что механизмы TGF- β -зависимой клеточной сигнализации могут являться ключевым фактором в устойчивости рака к химио- и иммунотерапии.

TGF- β -зависимая клеточная сигнализация вызывает изменение структур актинового цитоскелета и клеточных контактов, что способствует разрыванию клетками карциномы эпителиального слоя и их миграции в окружающие ткани. TGF- β может быстро индуцировать полимеризацию актина в примембранных областях клеток. Вследствие TGF- β -индуцированной перестройки (ремоделирования) цитоскелета в раковых клетках образуются стрессовые волокна, влияющие на форму и функцию клеток и способствующие инвазии раковых клеток и увеличению их жесткости [14].

Несмотря на то что обе клеточные линии характеризуются небольшим уровнем экспрессии антигена CD109, введение антител против этого антигена вызывает значительные изменения пространственной организации актинового цитоскелета, жесткости и адгезионных свойств поверхности клеток. Это указывает на важность TGF- β -сигнального пути в качестве мишени для модулирования состояния клеток РМЖ данных молекулярно-биологических подтипов. Из-за различий в структуре актинового цитоскелета в разных подтипах клеток РМЖ изменение их

свойств при связывании с антителами против антигена CD109 и реализация механизмов TGF- β -сигнального пути в этих клетках происходят по-разному. В связи с аномальной структурой актинового цитоскелета клеток линии BT-20 проведение TGF- β -сигнала к ядру клеток в глубоких слоях может быть нарушено, в то время как хорошо развитые структуры их кортикального цитоскелета способствуют более выраженному формированию структур края клеток (инвадоподий)

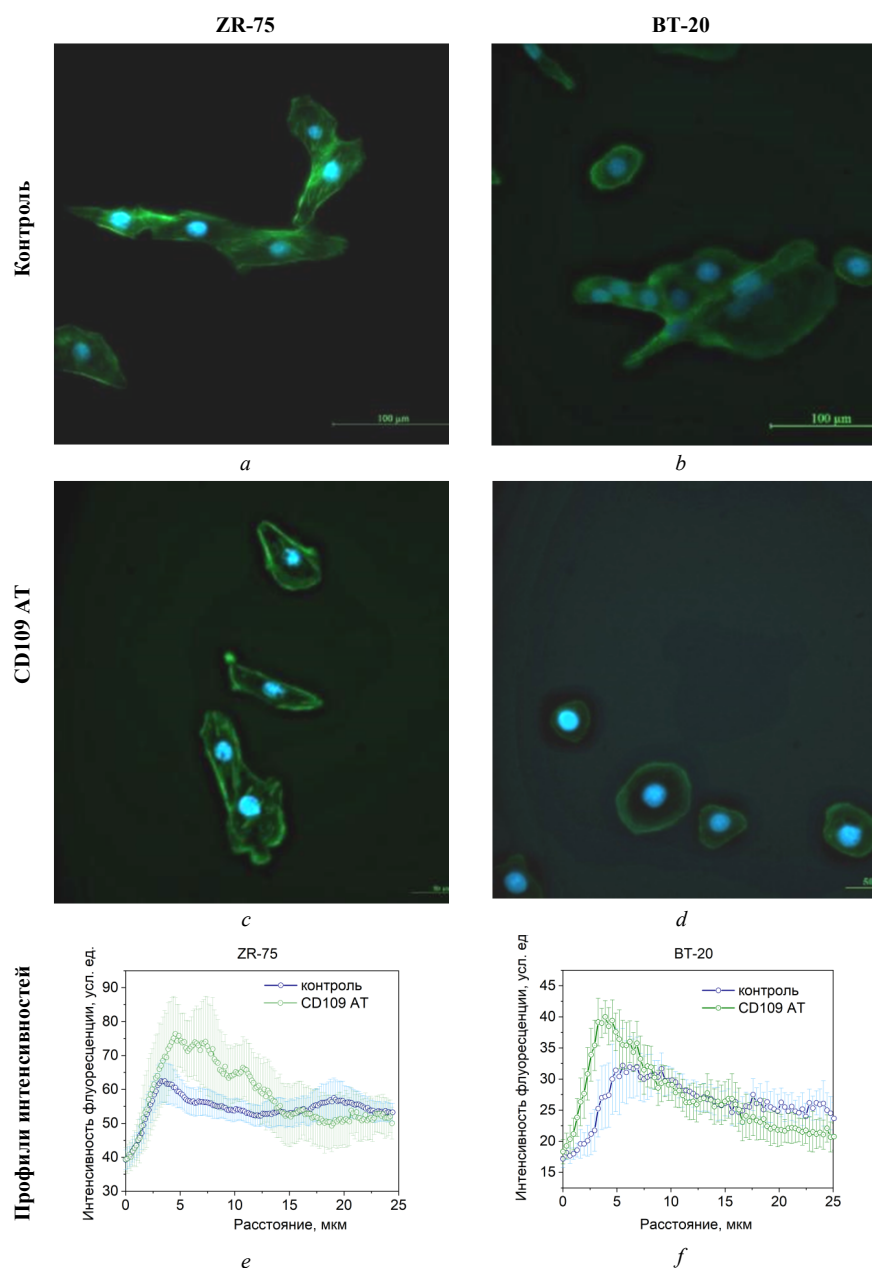


Рис. 3. Влияние антител против антигена CD109 на пространственную структуру актинового цитоскелета клеток РМЖ разных молекулярно-биологических подтипов (a–d). Флуоресцентные изображения клеток линий ZR-75 и BT-20 без и с инкубацией с антителами против антигена CD109 с использованием красителей AlexaFluor 488 Phalloidin и DAPI (e, f). Профили интенсивности флуоресценции красителя AlexaFluor 488 Phalloidin в направлении от края клетки к ядру для клеток двух клеточных линий контрольных образцов и после обработки антителами против антигена CD109. Данные представлены как $M \pm SD$

Fig. 3. Effect of anti-CD109 antibodies on the spatial structure of the actin cytoskeleton of breast cancer cells of different molecular biological subtypes (a–d). Fluorescent images of cells of the ZR-75 and BT-20 lines without and with incubation with anti-CD109 antibodies using AlexaFluor 488 Phalloidin and DAPI dyes. (e, f). The profiles of the AlexaFluor 488 Phalloidin fluorescence intensity in the direction from the cell edge to the nucleus for cells of two cell lines of control samples and after treatment with anti-CD109 antibodies. Data are presented as $M \pm SD$

и более плотным межклеточным контактам. Структура примембранного актинового цитоскелета клеток линии ВТ-20 значительно более чувствительна к химическим соединениям, разрушающим этот цитоскелет (например, к цитохалазину D), в сравнении со структурой актинового цитоскелета клеток линии ZR-75 [8]. Хорошо развитый цитоскелетный аппарат клеток линии ZR-75 позволяет этим клеткам эффективнее реагировать на запуск сигнальных путей с их поверхности

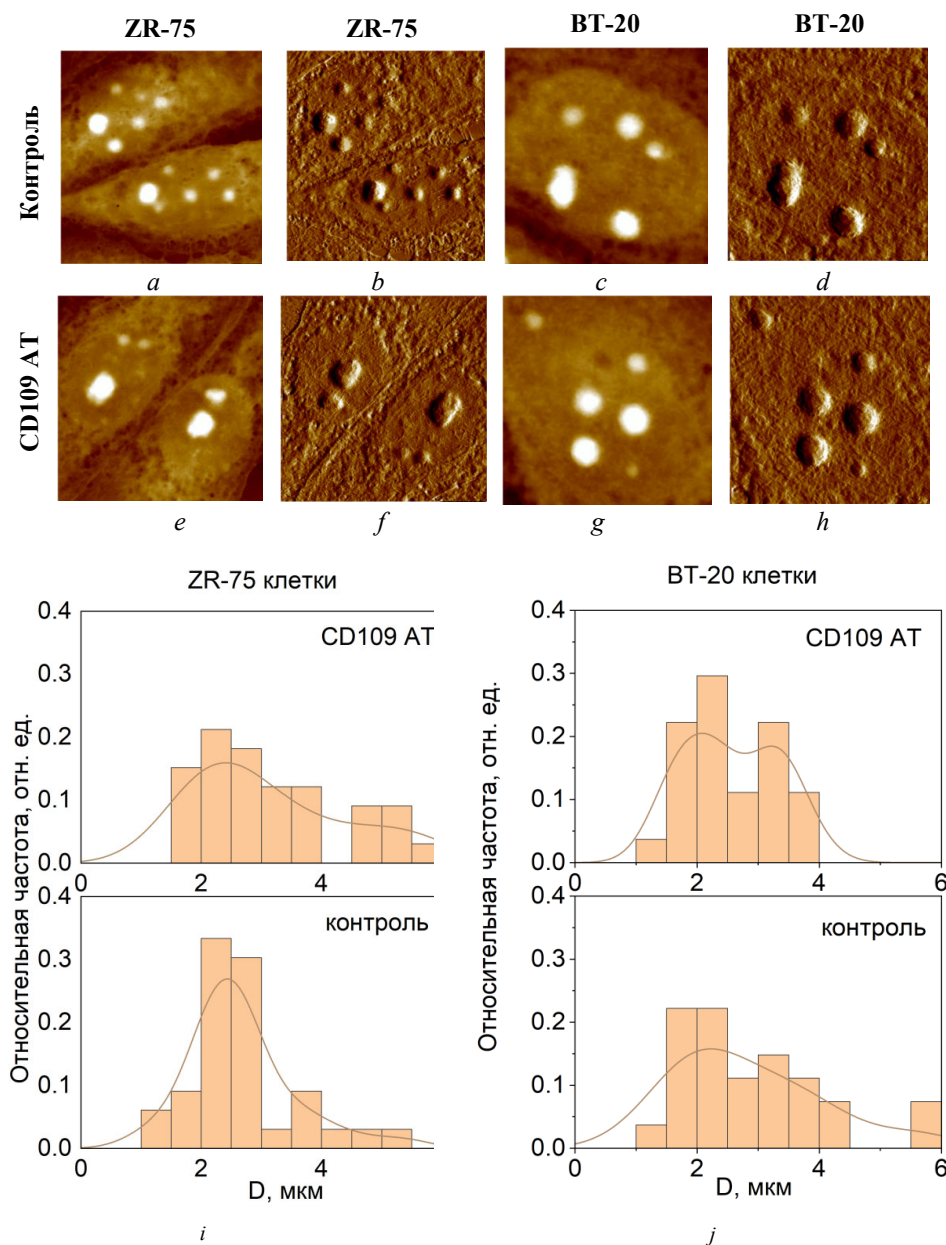


Рис. 4. АСМ-изображения участков поверхности клеток двух клеточных линий РМЖ контрольных образцов (*a–d*) и после взаимодействия с антителами против CD109 антигена (*e–h*). Топографические изображения (*a, c, e, g*), карты пиковой силы (Peak Force) (*b, d, f, h*). Размер области сканирования: $4 \times 4 \text{ мкм}^2$ (*a, b, e, f*), $6 \times 6 \text{ мкм}^2$ (*c, d*), $7 \times 7 \text{ мкм}^2$ (*g, h*), разрешение – 256×256 пикселей (*i, j*). Распределение диаметров ядрышек клеток РМЖ разных клеточных линий и изменение этого распределения после взаимодействия клеток с антителами против антигена CD109

Fig. 4. AFM images of cell surface areas of two breast cancer cell lines of the control samples (*a–d*) and after interacting with the anti-CD109 antibodies (*e–h*). Topographic images (*a, c, e, g*), Peak Force maps (*b, d, f, h*). The scan sizes are $4 \times 4 \text{ }\mu\text{m}^2$ (*a, b, e, f*), $6 \times 6 \text{ }\mu\text{m}^2$ (*c, d*), $7 \times 7 \text{ }\mu\text{m}^2$ (*g, h*), the resolution is 256×256 pixels (*i, j*). Distribution of the nucleolar diameters of breast cancer cells of different cell lines and its changes caused by the interaction of cells with anti-CD109 antibodies

(включая TGF- β -сигнальный путь), что может отражаться как на эффективности трансформации клеток при онкогенезе, так и на их чувствительности к химиотерапии.

Заклучение. Полученные в работе данные подтверждают важность TGF- β -сигнального пути в качестве мишени для терапевтического воздействия на клетки РМЖ. Разработка лекарственных средств, направленных на подавление TGF- β -сигнального пути, в том числе с участием антигена CD109, может стать одним из приоритетных направлений разработки новых стратегий для таргетной терапии РМЖ. В то же время полученные данные о различиях в структуре актинового цитоскелета в клетках разных молекулярно-биологических подтипов РМЖ и разных механизмах ответа ядрышек клеток на блокирование антигена CD109 позволяют предложить новые направления терапевтических мероприятий и разработать дифференцированные подходы к моделям оценки эффективности противоопухолевых лекарственных средств.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ (проект № M22-048 от 04.05.2022 г.).

Acknowledgements. The work was sponsored by the BRFFR (project No. M22-048 dated of 05.04.2022).

Список использованных источников

1. World Health Organization. Global Cancer Observatory [Electronic resource]. – Mode of access: <https://gco.iarc.fr>. – Date of access: 20.01.2024.
2. Клинический протокол «Алгоритмы диагностики и лечения злокачественных новообразований» [Электронный ресурс] // Национальный правовой Интернет-портал Республики Беларусь. – Режим доступа: <https://minzdrav.gov.by/upload/dadvfiles/9660.pdf>. – Дата доступа: 22.10.2023.
3. Lekka, M. Applicability of applicability of atomic force microscopy to determine cancer-related changes in cells / M. Lekka // *Phil. Trans. R. Soc. A*. – 2022. – Vol. 380, art. 20210346. <https://doi.org/10.1098/rsta.2021.0346>
4. Samani, A. Elastic moduli of normal and pathological human breast tissues: An inversion-technique-based investigation of 169 samples / A. Samani, J. Zubovits, D. Plewes // *Phys. Med. Biol.* – 2007. – Vol. 52, N 6. – P. 1565–1576. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/52/6/002>
5. Mohammadalipour, A. Deformability of breast cancer cells in correlation with surface markers and cell rolling / A. Mohammadalipour, M. M. Burdick, D. F. J. Tees // *FASEB J.* – 2018. – Vol. 32, N 4. – P. 1806–1817. <https://doi.org/10.1096/fj.201700762R>
6. An investigation of the viscoelastic properties and the actin cytoskeletal structure of triple negative breast cancer cells / J. Hu [et al.] // *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* – 2018. – Vol. 86. – P. 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2018.05.038>
7. Biophysical properties of human breast cancer cells measured using silicon MEMS resonators and atomic force microscopy / E. A. Corbin [et al.] // *Lab. Chip.* – 2015. – Vol. 15, N 3. – P. 839–847. <https://doi.org/10.1039/c4lc01179a>
8. Mechanical properties and nanomotion of BT-20 and ZR-75 breast cancer cells studied by atomic force microscopy and optical nanomotion detection method / M. N. Starodubtseva [et al.] // *Cells.* – 2023. – Vol. 12, N 19, art. 2362. <https://doi.org/10.3390/cells12192362>
9. Cytoskeletal dynamics in epithelial-mesenchymal transition: insights into therapeutic targets for cancer metastasis / A. Datta [et al.] // *Cancers (Basel)*. – 2021. – Vol. 13, N 8, art. 1882. <https://doi.org/10.3390/cancers13081882>
10. Koh, H. Usefulness of CD109 expression as a prognostic biomarker in patients with cancer: A systematic review and meta-analysis / H. M. Koh, H. J. Lee, D. C. Kim // *Medicine (Baltimore)*. – 2021. – Vol. 100, N 11, art. e25006. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000025006>
11. CD109 is a potential target for triple-negative breast cancer / J. Tao [et al.] // *Tumor Biol.* – 2014. – Vol. 35, N 12. – P. 12083–12090. <https://doi.org/10.1007/s13277-014-2509-5>
12. Breast cancer cell line classification and its relevance with breast tumor subtyping / X. Dai [et al.] // *J. Cancer.* – 2017. – Vol. 8, N 16. – P. 3131–3141. <https://doi.org/10.7150/jca.18457>
13. Bahadori, M. New insights into connection of nucleolar functions and cancer / M. Bahadori // *Tanaffos.* – 2019. – Vol. 18, N 3. – P. 173–179.
14. Transforming growth factor-beta (TGF- β) signaling in cancer-A betrayal within / A. B. Baba [et al.] // *Front Pharmacol.* – 2022. – Vol. 13, art. 791272. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.791272>

References

1. World Health Organization. Global Cancer Observatory. Available at: <https://gco.iarc.fr> (accessed 20.01.2024).
2. Clinical protocol “Algorithms for the diagnosis and treatment of malignant neoplasms”. *National legal Internet portal of the Republic of Belarus*. Available at: <https://minzdrav.gov.by/upload/dadvfiles/9660.pdf> (accessed 22.10.2023) (in Russian).
3. Lekka M. Applicability of applicability of atomic force microscopy to determine cancer-related changes in cells. *Philosophical Transactions of the Royal Society, A*, 2022, vol. 380, art. 20210346. <https://doi.org/10.1098/rsta.2021.0346>

4. Samani A., Zubovits J., Plewes D. Elastic moduli of normal and pathological human breast tissues: An inversion-technique-based investigation of 169 samples. *Physics in Medicine and Biology*, 2007, vol. 52, no. 6, pp. 1565–1576. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/52/6/002>
5. Mohammadalipour A., Burdick M. M., Tees D. F. J. Deformability of breast cancer cells in correlation with surface markers and cell rolling. *FASEB Journal*, 2018, vol. 32, no. 4, pp. 1806–1817. <https://doi.org/10.1096/fj.201700762R>
6. Hu J., Zhou Y., Obayemi J. D., Du J., Soboyejo W. O. An investigation of the viscoelastic properties and the actin cytoskeletal structure of triple negative breast cancer cells. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 2018, vol. 86, pp. 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.jmbm.2018.05.038>
7. Corbin E. A., Kong F., Lim C. T., King W. P., Bashir R. Biophysical properties of human breast cancer cells measured using silicon MEMS resonators and atomic force microscopy. *Lab on a Chip*, 2015, vol. 15, no. 3, pp. 839–847. <https://doi.org/10.1039/c4lc01179a>
8. Starodubtseva M. N., Shkliarava N. M., Chelnokova I. A., Villalba M. I., Krylov A. Y., Nadyrov E. A., Kasas S. Mechanical properties and nanomotion of BT-20 and ZR-75 breast cancer cells studied by atomic force microscopy and optical nanomotion detection method. *Cells*, 2023, vol. 12, no. 19, art. 2362. <https://doi.org/10.3390/cells12192362>
9. Datta A., Deng S., Gopal V., Yap K. C., Halim C. E., Lye M. L. [et al.]. Cytoskeletal dynamics in epithelial-mesenchymal transition: insights into therapeutic targets for cancer metastasis. *Cancers (Basel)*, 2021, vol. 13, no. 8, art. 1882. <https://doi.org/10.3390/cancers13081882>
10. Koh H. M., Lee H. J., Kim D. C. Usefulness of CD109 expression as a prognostic biomarker in patients with cancer: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*, 2021, vol. 100, no. 11, art. e25006. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000025006>
11. Tao J., Li H., Li Q., Yang Y. CD109 is a potential target for triple-negative breast cancer. *Tumor Biology*, 2014, vol. 35, no. 12, pp. 12083–12090. <https://doi.org/10.1007/s13277-014-2509-5>
12. Dai X., Cheng H., Bai Z., Li J. Breast cancer cell line classification and its relevance with breast tumor subtyping. *Journal of Cancer*, 2017, vol. 8, no. 16, pp. 3131–3141. <https://doi.org/10.7150/jca.18457>
13. Bahadori M. New insights into connection of nucleolar functions and cancer. *Tanaffos*, 2019, vol. 18, no. 3, pp. 173–179.
14. Baba A. B., Rah B., Bhat G. R., Mushtaq I., Parveen S., Hassan R., Hameed Zargar M., Afroze D. Transforming growth factor-beta (TGF- β) signaling in cancer-A betrayal within. *Frontiers in Pharmacology*, 2022, vol. 13, art. 791272. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.791272>

Информация об авторах

Шклярва Анастасия Николаевна – мл. науч. сотрудник. Институт радиобиологии НАН Беларуси (ул. Федюнинского, 4, 246007, г. Гомель, Республика Беларусь). <http://orcid.org/0000-0002-6365-3856>. E-mail: nastenassa@mail.ru

Челнокова Ирина Александровна – науч. сотрудник. Институт радиобиологии НАН Беларуси (ул. Федюнинского, 4, 246007, г. Гомель, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0002-6812-753X>. E-mail: irenachelnokova@gmail.com

Надыров Эльдар Аркадьевич – канд. мед. наук, доцент. Гомельский государственный медицинский университет (ул. Ланге, 5, 246000, г. Гомель, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0002-0896-5611>. E-mail: nadyrov19621@gmail.com

Крылов Андрей Юрьевич – канд. мед. наук, доцент, заведующий кафедрой. Институт повышения квалификации и переподготовки кадров Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь (пр-т Партизанский, 2/5-3, 220033, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: andrei.krilou@gmail.com

Стародубцева Мария Николаевна – д-р биол. наук, доцент. Гомельский государственный медицинский университет (ул. Ланге, 5, 246000, г. Гомель, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0002-6956-9014>. E-mail: maria.n.starodubtseva@gmail.com

Information about the authors

Nastassia M. Shkliarava – Junior Researcher. Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus (4, Fedyuninski Str., 246007, Gomel, Republic of Belarus). <http://orcid.org/0000-0002-6365-3856>. E-mail: anshklarava@gmail.com

Irina A. Chelnokova – Researcher. Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus (4, Fedyuninski Str., 246007, Gomel, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0002-6812-753X>. E-mail: irenachelnokova@gmail.com

Eldar A. Nadyrov – Ph. D. (Med.), Associate Professor. Gomel State Medical University (5, Lange Str., 246000, Gomel, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0002-0896-5611>. E-mail: nadyrov19621@gmail.com

Andrey Yu. Krylov – Ph. D. (Med.), Associate Professor, Head of the Department. State Forensic Examination Committee of the Republic of Belarus (2/5-3, Partizanskii Ave., 220033, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: andrei.krilou@gmail.com

Maria N. Starodubtseva – D. Sc. (Biol.), Associate Professor. Gomel State Medical University (4, Fedyuninski Str., 246007, Gomel, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0002-6956-9014>. E-mail: maria.n.starodubtseva@gmail.com