

## **Выводы**

Таким образом, в современном мире решающим фактором развития общества становятся информационные технологии, что делает актуальной задачу профессиональной подготовки специалистов к будущей деятельности в информационном обществе. Информационные технологии, как составляющая современных инновационных образовательных технологий, делают образовательный процесс непривычным, усиливают мотивацию студентов к изучению предмета, и, являются еще одним средством подготовки высококвалифицированных специалистов.

## **ЛИТЕРАТУРА**

1. Патаркин, Е. Д. Творческое обучение в сети электронных коммуникаций / Е. Д. Патаркин // Теория коммуникации и прикладная коммуникация. Вестник Российской коммуникативной ассоциации; под общ. ред. И. Н. Розиной. — Ростов н/Д: ИУБиП, 2002. — Вып. 1. — С. 109–118.
3. Андресен, Б. Б. Мультимедиа в образовании: специализированный учебный курс / Б. Б. Андресен, К. Бринк. — М.: Дрофа, 2007. — 224 с.
3. Аминов, И. Б. Использование средств информационных технологий при организации научно-исследовательской работы студентов / И. Б. Аминов, Н. А. Шарапова // Молодой ученый. — 2016. — № 3 (107). — С. 769–771.

**УДК 611.018.74:537.534.35**

## **НАНОАРХИТЕКТОНИКА ПОВЕРХНОСТИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК HUVES ПО ДАННЫМ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ**

*Цуканова Е. В.<sup>1</sup>, Шклярова А. Н.<sup>1</sup>, Матвеевков М. В.<sup>1</sup>,  
Кондрачук А. Н.<sup>2</sup>, Недосейкина М. С.<sup>2</sup>, Стародубцева М. Н.<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup>Государственное научное учреждение

«Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси»,

<sup>2</sup>Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

г. Гомель, Республика Беларусь

## **Введение**

Механические свойства сосудов играют важную роль в патогенезе заболеваний и в возрастных изменениях функциональности сердечно-сосудистой системы. Эндотелий сосудов участвует в регуляции их тонуса, гемостаза, иммунного ответа, миграции клеток крови в сосудистую стенку, синтеза факторов воспаления и их ингибиторов, осуществляет барьерные функции. Эффективность выполнения эндотелием своих функций зависит, в том числе, и от свойств самих эндотелиальных клеток. Благодаря неоднородности структуры, эндотелиальная клетка формирует неоднородный по своим структурным и механическим свойствам внутренний слой капилляров. Клетки HUVES (Human umbilical vein endothelial cells) представляют собой первичную культуру клеток, полученных из пупочной вены человека. Они широко используются в качестве лабораторной модельной системы для изучения функции и патологии эндотелиальных клеток. Атомно-силовая микроскопия (АСМ) позволяет изучать параметры структурных и механических свойств поверхности отдельных клеток на наномасштабном уровне. С помощью АСМ можно определить параметры наноструктуры поверхности эндотелиальной клетки в разных частях ее объема: в области ядра, в приядерной и краевой областях.

## **Цель**

Оценка параметров структуры участков поверхности эндотелиальных клеток HUVES в трех разных частях клетки по данным АСМ.

## **Материал и методы исследования**

Эндотелиальные клетки пупочной вены человека были получены путем смыва клеток после ферментативной обработки внутренней поверхности сосуда. После промыва-

ния полости вены фосфатным буфером, сосуд канюлировали и заполняли раствором Хенкса (HBSS без фенолового красного, с ионами  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$ ), содержащий 0,1 % коллагеназы I типа. Инкубировали в течение 15 минут при температуре 37 °С. Смыть внутренней полости вены центрифугировали при 300 g в течение 5 мин. Клеточный осадок ресуспендировали в питательной среде и помещали в культуральный флакон площадью 75 см<sup>2</sup> с повышенной адгезией (TC Flask T75, Cell+, Sarstedt: 83.3911.302) и инкубировали в течение 24 часов в стандартных условиях культивирования (5% CO<sub>2</sub>, 95 % влажность, 37 °С), после проводили замену среды с целью удаления не прикрепившихся клеток. Использовали стандартную питательную среду DMEM/F12, содержащей 20 % фетальной бычьей сыворотки и смесь антибиотиков: 100 Ед/мл пенициллин; 100 мкг/мл стрептомицин; 0,25 мкг/мл амфотерицин В. Трижды в неделю заменяли среду. По достижении 75 % конfluence культуры клеток осуществляли пассаж раствором 0,05 % трипсина и 0,5 мМ ЭДТА в фосфатном буфере. Посев клеток для анализа на АСМ осуществляли в чашки Петри, покрытые поли-L-лизин. Полученный монослой клеток фиксировали 2 % глутаровым альдегидом, отмывали фосфатным буфером и дистиллированной водой и высушивали при комнатной температуре в условиях ламинарного бокса. Для изучения структурных и механических свойств поверхности клеток использовали АСМ AFM Bruker BioScope Resolve (Bruker). Сканирование проводили на воздухе с использованием иглы-зонда Scan Asyst-Air (Bruker, k = 0,4 N/m, R = 2 нм) в режиме MIROView. Сканировали целые клетки (размер скана — 100 × 100 мкм, скорость — 0,1 Гц, разрешение — 256 × 256 пикселей) и малые участки ее поверхности в 3-х типичных областях (рисунок 1): над ядром (ядерная область), приядерная (переходная) область и краевая область (размер скана — 1 × 1 мкм, скорость — 0,3 Гц, разрешение 256 × 256 пикселей). Статистический анализ опытных данных проводили с помощью программ «RStudio» и «Excel». Значения представлены как границы 95 % доверительного интервала. Для сравнения параметров выборок использовали тесты ANOVA и критерий Стьюдента.

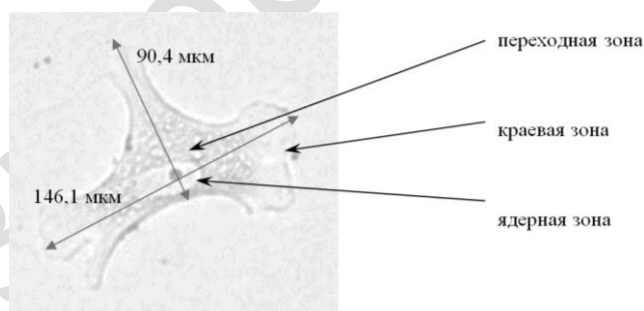
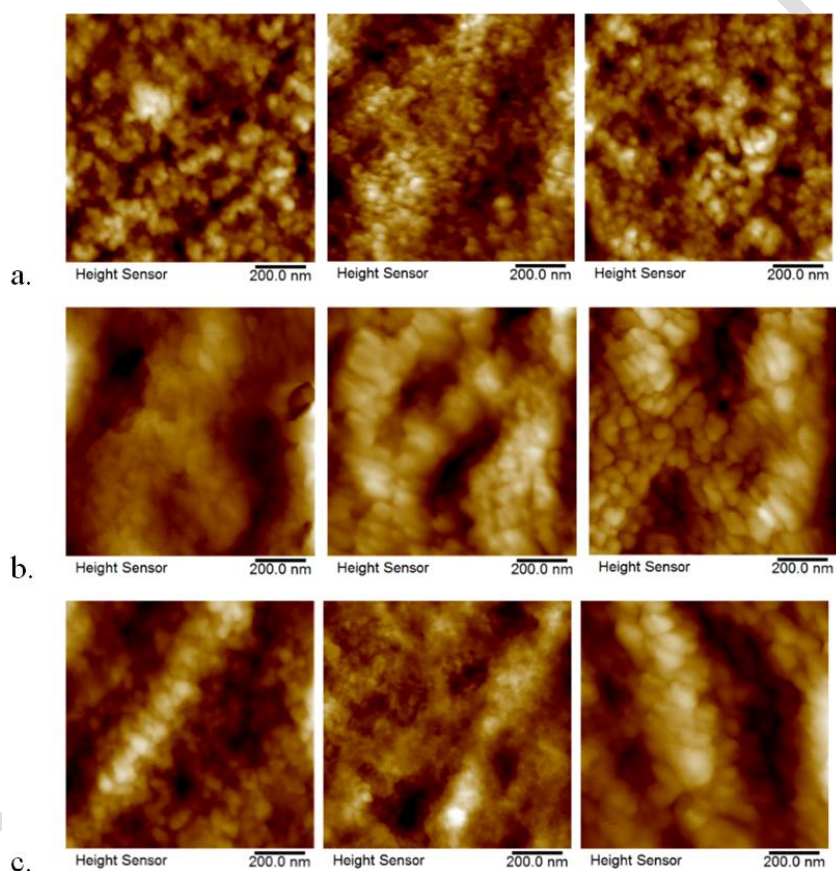


Рисунок 1 — Световая микрофотография адгезированной эндотелиальной клетки HUVEC (световой микроскоп Axio Observer 3, программа ZenBlue)

### **Результаты исследования и их обсуждение**

Эпителиальные клетки, адгезированные к стеклянной поверхности, покрытой слоем поли-L-лизина, имеют вид несимметричных, хорошо распластанных клеток с выраженными структурными элементами (ядро, ядрышко, структуры лидирующего края клетки — ламеллоподии, филоподии, стресс-фибриллы). Три области поверхности эндотелиальных клеток (ядерная, переходная и краевая) значительно различаются по структуре на наномасштабном уровне (рисунок 2). Переходная область содержит основные неядерные органеллы клетки. Из-за распластывания клетки по подложке и последующей фиксации структуры, а также ее высушивания поверхность клетки в этой области характеризуется значительными перепадами высот. Шероховатость участка

поверхности переходной области микронного размера равна  $15,14 \pm 4,27$  нм. Модуль упругости поверхности в этой части клетки равен  $993 \pm 132$  МПа. Ядерная область клетки характеризуется значительно более гладкой поверхностью. Шероховатость этой области равна  $7,11 \pm 4,89$  нм ( $p = 0,002$  в сравнении с шероховатостью для переходной области). Поверхность этой части существенно более жесткая ( $E = 1206 \pm 148$  МПа,  $p = 0,03$ ). В краевой области клетки находятся структуры кортикального цитоскелета, хорошо заметные на топографических изображениях микронного размера (рисунок 2с). Шероховатость ( $9,16 \pm 2,46$  нм) этой области статистически не отличается от шероховатости ядерной области, но меньше шероховатости переходной области ( $p = 0,02$ ). По упругим свойствам краевая область также существенно отличается от переходной области,  $E = 1278 \pm 167$  МПа,  $p = 0,008$  в сравнении с  $E$  для переходной области и  $p = 0,49$  в сравнении с  $E$  для ядерной области).



**Рисунок 2** — Типичные топографические изображения поверхности HUVEC клеток (ядерная (а), переходная (b), краевая (с) области поверхности,  $1 \times 1$  мкм,  $256 \times 256$  пикселей)

### **Заключение**

Проведено изучение архитектоники поверхности эндотелиальных клеток HUVEC, адгезированных к поверхности обработанного поли-L-лизинном стекла и фиксированных глутаровым альдегидом, по данным АСМ-изображений микронного размера. Оценены шероховатость топографических изображений и модули упругости трех типов микромасштабных участков поверхности клеток. Выявлено существенное увеличение шероховатости и уменьшение жесткости поверхности клеток в ее переходной области, между ядром и краем.

Работа выполнена в рамках проекта БРФФИ (М20КИ-026 «CD109-регулируемые механические свойства эндотелиальных клеток», 2020–2021 гг.)