

УДК 618.19-006.6:576.3

*А. Н. Шклярова,<sup>1</sup> И. А. Челнокова<sup>1</sup>, А. Ю. Крылов<sup>2</sup>, М. Н. Стародубцева<sup>1,3</sup>*

<sup>1</sup>Государственное научное учреждение  
«Институт радиобиологии НАН Беларуси»  
г. Гомель, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Государственное учреждение образования  
«Институт повышения квалификации и переподготовки кадров Государственного  
комитета судебных экспертиз Республики Беларусь»  
г. Минск, Республика Беларусь

<sup>3</sup> Учреждение образования  
«Гомельский государственный медицинский университет»  
г. Гомель, Республика Беларусь

## МЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КЛЕТОК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ BT-20 ПОСЛЕ КРАТКОВРЕМЕННОЙ ИХ ИНКУБАЦИИ ПРИ ПИРЕТИЧЕСКИХ И ГИПЕРПИРЕТИЧЕСКИХ ТЕМПЕРАТУРАХ

### *Введение*

Гипертермия (повышение температуры опухоли до 42–45 °С) используется в клинической практике многих стран для лечения рецидивов рака молочной железы. Поверхностная гипертермия в сочетании с лучевой терапией или химиотерапией является более эффективной стратегией лечения в сравнении с отдельно лучевой или химиотерапией [1]. Параметры гипертермии опухоли критически влияют на клинический результат лечения. Среди подтипов рака молочной железы тройной негативный рак отличается крайне неблагоприятным прогнозом и устойчивостью к терапевтическим средствам. Использование комбинированной терапии совместно с гипертермией, возможно, повысит эффективность лечения этого агрессивного типа рака.

Механические свойства являются одними из основных свойств биологических клеток и тканей. Параметры механических свойств раковых клеток и клеток нормальных тканей отличаются и, согласно последним исследованиям, могут считаться одними из биомаркеров рака. Механические свойства клеток тройного негативного рака молочной железы при гипертермии до сих пор не изучались.

### *Цель*

Оценка с помощью атомно-силовой микроскопии в режиме Force Volume (FV) параметров механических свойств клеток рака молочной железы (линии BT-20) после кратковременной их инкубации при пиретических и гиперпиретических температурах.

### *Материалы и методы исследования*

Линия BT-20 культивировалась в среде DMEM/F12 с содержанием L-глутамин (Sigma, США) с добавлением 10 % фетальной бычьей сыворотки (FBS, Life Technologies, США), 10 мМ NEPEP (Life Technologies, США) и антибиотиков. Клетки инкубировали в течение 30 мин на термошейкере при температурах 37, 41, 42 и 44 °С, после чего были помещены на 24 ч в инкубатор с 5 % CO<sub>2</sub> при 37 °С. Сканирование в режиме Force Volume (FV) проводилось на АСМ Bruker BioScope Resolve в жидкости с использованием пре-калиброванного зонда PFQNM-LC-A-CAL (R = 70 нм, k = 0,1 Н/м). Запись карт механических свойств и силовых кривых проводилась над ядром клетки (размер скана —

10 мкм × 10 мкм, скорость — 8,14 мкм/с). Оценивали силы адгезии и модуль упругости с использованием модели Герца [2].

### *Результаты исследования и их обсуждение*

При записи силовых кривых в режиме FV регистрируются силы, действующие на острие АСМ зонда, когда он приближается или удаляется от выбранной точки (наноразмерной области) поверхности образца. При достижении силы определённого порогового значения система АСМ записывает данные о положении пьезосканера (высота Z) и АСМ зонд автоматически отводится. В режиме FV запись силовых кривых осуществляется для каждого пикселя будущей карты распределения параметров механических свойств (модуля упругости и силы адгезии) поверхности клетки [3]. На рисунке 1 представлены типичные карты механических параметров поверхности клеток ВТ-20 в области его ядра после кратковременной инкубации образцов клеток при разной температуре.

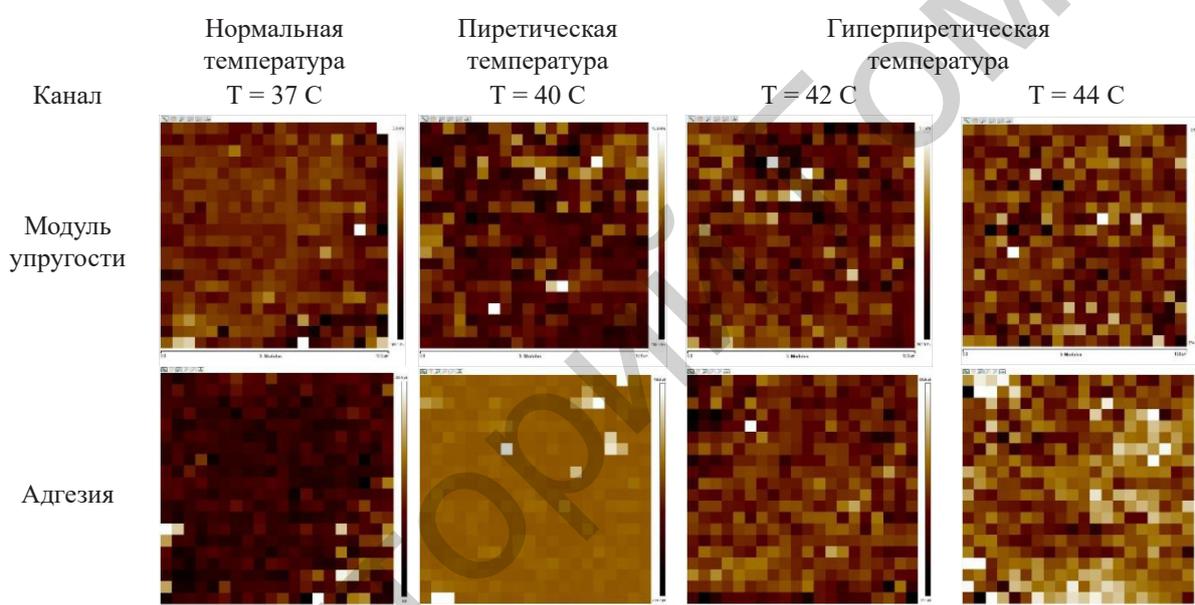


Рисунок 1 — Карты модуля упругости и адгезии участков поверхности живых клеток линии ВТ-20, полученные в режиме Force Volume

Примечание: размер скана — 10 × 10 мкм, разрешение — 20 × 20 пикселей

Количественный анализ распределения значений параметров механических свойств по поверхности клеток показал их нелинейную зависимость от температуры кратковременной инкубации клеток. С увеличением температуры имеет место следующее изменение среднего значения модуля Юнга поверхности клеток в диапазоне температур 37–44 °C:  $E_{37} = 2,1$  (1,91; 2,34) кПа;  $E_{40} = 2,4$  (1,95; 3,08) кПа;  $E_{42} = 2,5$  (2,1; 2,95) кПа;  $E_{44} = 4,1$  (3,04; 5,48) кПа. Жёсткость поверхности клеток резко увеличивается при гиперпиретической температуре. Среднее значение модуля Юнга для поверхности живых ВТ-20 клеток после их инкубации при этой температуре в 2 раза больше жёсткости контрольного образца клеток, инкубированных при 37 °C (2,1кПа). Анализ распределения значений силы неспецифической адгезии на участках поверхности живых клеток показал, что для большинства образцов сила адгезии не превышает примерно 0,3 нН с основным пиком при 0,2 нН. С увеличением температуры опыта в распределении значений силы адгезии появляется и растёт с температурой дополнительный пик при 0,05 нН. Это свидетельствует

наличие на поверхности стимулированных гипертермией клеток двух разных по адгезионным свойствам типов наноразмерных участков. Причём, гипертермия способствует появлению участков с малой адгезией. На рисунке 2 представлен графический результат анализа взаимосвязи двух параметров (модуля упругости и силы адгезии) для изучаемых клеточных образцов температурного интервала 37–44 °С. С увеличением температуры происходит ослабление адгезионных свойств и усиление упругих свойств поверхности клеток.

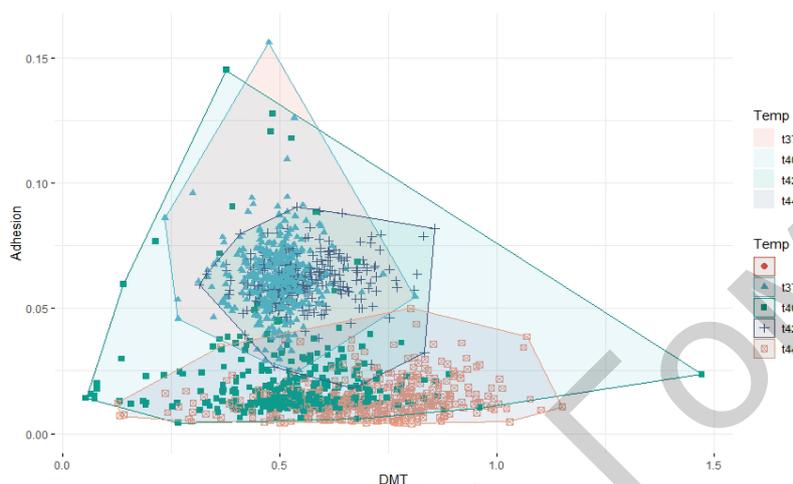


Рисунок 2 – Взаимосвязь модуля упругости и силы адгезии для микромасштабных участков ядерной области поверхности клеток рака молочной железы линии BT-20 в диапазоне температур от 37 °С до 44 °С

С увеличением температуры кратковременной инкубации раковых клеток наблюдается также и изменение их морфологии. На рисунке 3 представлены микроскопические изображения клеток для температуры 37 и 44 °С. При гиперпиретической температуре 44°С клетка значительно теряет контакт с поверхностью (площадь адгезированной к подложке клетки уменьшается (рисунок 3, 44°С).

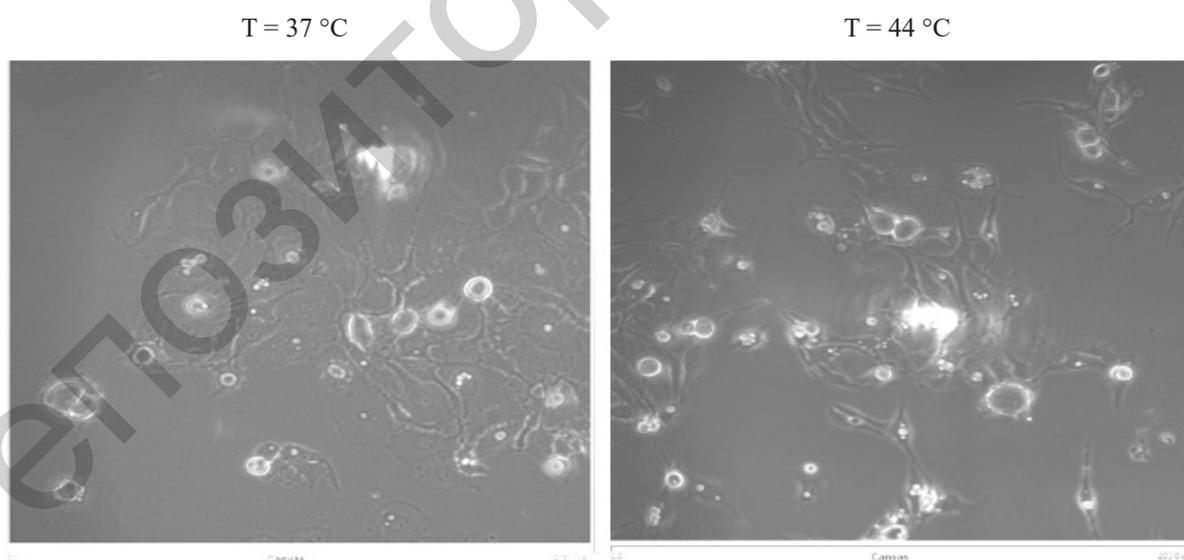


Рисунок 3 — Микроскопические изображения образцов клеток BT-20, полученные при исследовании клеток на приборном комплексе Bioscope Resolve ACM со световым микроскопом Axio Observer 3 в режиме MIRO

Примечание: Яркое световое пятно на каждом изображении соответствует отражённому лучу лазерного излучения от консоли ACM. Размер окна — 333 мкм × 333 мкм.

Наблюдаемые изменения структурных и механических свойств клеток свидетельствуют об изменении состояния их цитоскелета, вызванного гипертермией. Клетки реорганизуют актиновые цитоскелетные структуры и микротрубочки при изменении внеклеточной среды. Взаимодействия клетки с матриксом опосредованы рецепторами адгезии и приводят к образованию комплексов адгезии, которые взаимодействуют с актиновым цитоскелетом внутри клетки.

Гиперпиретическая температура способствует изменению состояния цитоскелета, что вызывает уменьшение адгезионных свойств клеток и увеличение упругих свойств клеток, а также приводит к изменению морфологии клеток ВТ-20.

### **Заключение**

Впервые изучено влияние кратковременной инкубации при пиретических и гиперпиретических температурах клеток тройного негативного рака молочной железы линии ВТ-20 на параметры механических свойств их поверхности. Выявлено, что с увеличением температуры опыта происходит изменение состояния цитоскелета, приводящее к ослаблению адгезионных и усилению упругих свойств поверхности клеток ВТ-20.

Работа выполнена в рамках проекта БРФФИ Б22М-087 «Определить с помощью атомно-силовой микроскопии закономерности влияния температуры на механические свойства поверхности клеток рака молочной железы»

### **СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Улащик, В. С. Локальная гипертермия в онкологии: использование магнитного поля, лазерного излучения, ультразвука. / В. С. Улащик // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. – 2014. – Т. 91(2). – С. 48–57.
2. Hertz, H. Über die Berührung Fester Elastischer Körper / H. Hertz // J. für die Reine u. Angew. Math. – 1881. – № 92. – P. 156–171.
3. Шклярова, А. Н. Биомеханические параметры поверхности клеток рака молочной железы, оцениваемые по данным атомно-силовой микроскопии в режиме FORCE VOLUME / А. Н. Шклярова, М. Н. Стародубцева // Актуальные вопросы физики и техники [Электронный ресурс] : XI Республиканская научная конференция студентов, магистрантов и аспирантов, посвященная 100-летию со дня рождения академика Белого Владимира Алексеевича (Гомель, 21 апреля 2022 г.) : сборник материалов в 2 ч. Ч. 1 / М-во образования Республики Беларусь, Гомельский гос. ун-т им. Ф. Скорины ; редкол. : Д. Л. Коваленко (гл. ред.). – 2022. – С. 144–147.