

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Fuentes-Mateos, R.* Optimized Protocol for Isolation and Culture of Murine Neonatal Primary Lung Fibroblasts / R. Fuentes-Mateos, E. Santos, A. Fernández-Medarde // *Methods Protoc.* – 2023. – Vol. 24. – P. 14. doi: 10.3390/mps6010014. PMID: 36827501; PMCID: PMC9966303.
2. Elasticity mapping of living fibroblasts by AFM and immunofluorescence observation of the cytoskeleton / H. Haga [et al.] // *Ultramicroscopy.* – 2000. – Vol. 82. – P. 253–258. doi:10.1016/s0304-3991(99)00157-6
3. *Ford, A. J.* Measuring Cytoplasmic Stiffness of Fibroblasts as a Function of Location and Substrate Rigidity Using Atomic Force Microscopy / A. J. Ford, P. Rajagopalan // *ACS Biomater. Sci. Eng.* – 2018. – Vol. 4, № 12. – P. 3974–3982.

УДК 537.534.35: [576.385.5:576.52:53.096]:618.19-006.6

А. Н. Шклярова

Научный руководитель: д.б.н., доцент М. Н. Стародубцева

Государственное научное учреждение

«Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси»

г. Гомель, Республика Беларусь

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ПАРАМЕТРЫ ВЯЗКОУПРУГИХ СВОЙСТВ КЛЕТОК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЛИНИЙ BT-20 И ZR-75

Введение

Механические свойства играют важную роль в механизмах регуляции развития и метастазирования опухолей. В частности, опухоли представляют собой очень сложные патологические образования, формирование которых связано с множеством факторов, включая изменения в раковых клетках, тканях и органах, а также изменения их микроокружения [1]. В последнее время появились различные методы исследования механики опухолей, среди которых атомно-силовая микроскопия (АСМ) занимает важное место в связи с предоставляемой ею возможности одновременно исследовать механические и структурные изменения свойств живых биологических объектов.

Цель

Изучить механические свойства (вязкоупругие) двух клеточных линий рака молочной железы BT-20 (тройной негативный рак) и ZR-75 (люминальный А) при изменении окружающей среды в диапазоне температур 34–48 °С.

Материал и методы исследования

Культуры клеток линии BT-20 культивировали в среде DMEM/F12 (*Capricorn Scientific*) и ZR-75 в среде RPMI-1640 (*Capricorn Scientific*), содержащий 10% фетальной бычьей сыворотки (*Gibco*) и 1% раствор антибиотика-антимикотика (*Capricorn Scientific*) при 37 °С (5% CO₂). Подросшие клетки за день до эксперимента помещались на термощейкер (*Thermo Fisher*) при различных температурных условиях (34–48 °С) с 250 rpm в течение 30 минут. Перед началом эксперимента клетки промывались дважды сбалансированным солевым раствором HBSS (*Gibco*) с последующим добавлением 2 мл данного раствора. Сканирование клеточных линий проходило на АСМ Bruker BioScope Resolve в режиме картирования механических параметров прекалиброванной иглой PFQNM-LC-A-CAL (размер области сканирования – 10 мкм × 10 мкм, разрешение – 20 × 20 пикселей). В каждой температурной точке было исследовано 20–25 клеток. Анализ полученных данных проводили с использованием программы MATLAB [2]. По силовым кривым оценивали динамический модуль упругости ($G=G'+iG''$, где G' – модуль накопления, G'' – модуль потерь) и тангенс потерь ($h=G''/G'$).

Результаты исследования и их обсуждение

На рисунке 1, А представлены зависимости тангенса потерь (η) от частоты (f) при разных температурах для клеточной линии ВТ-20. Последующий тест Данна с использованием альфа-коэффициента Бонферрони, скорректированного на 0,0005, показал, что средние ранги следующих пар существенно различаются: 39 °С – 47 °С, 42 °С – 47 °С, 45 °С – 47 °С. Тангенсы потерь служат мерой относительного вклада вязкой и упругой составляющих. Его часто используют как индикатор наличия, положения и относительной величины фазовых переходов между различными физическими состояниями вещества. Небольшой тангенс потерь ($G''(\omega)/G'(\omega) < 1$) отражает доминирующее твердотельное упругое поведение, которое позволяет клеткам сохранять свою форму в ответ на деформацию.

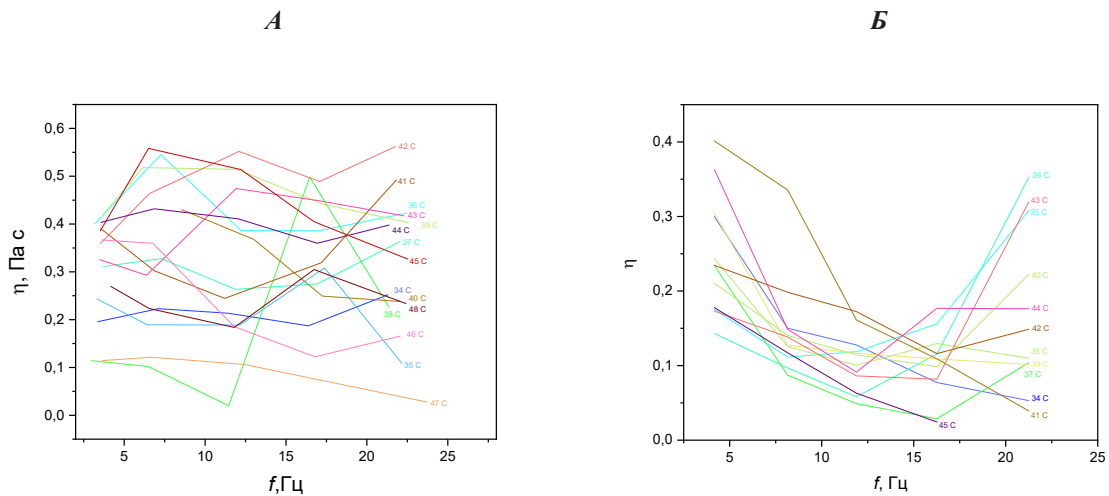


Рисунок 1 – Зависимости тангенса потерь от частоты при разных температурах для клеток ВТ-20 (А) и ZR-75 (Б)

При температуре 42–43 °С тангенс потерь составляет почти 0,5 Па с, что намного выше, чем η при всех других температурах. Большой тангенс потерь указывает на поведение тела, более похожее на вязкое (жидкое) тело. Зависимость тангенса потерь от температуры, наблюдаемая для ВТ-20 клеток, была проанализирована в двух температурных интервалах: до 43 °С и после 43 °С. В таблице 2 представлены среднее значение η для каждой температуры.

Таблица 1 – Тангенс потерь для клеточной линии ВТ-20 в температурном диапазоне 34–48 °С

$t, ^\circ\text{C}$	34 °С	35 °С	36 °С	37 °С	38 °С
η	0,21(0,196;0,223)	0,19(0,189;0,243)	0,40(0,386;0,423)	0,31(0,275;0,328)	0,11(0,102;0,226)
$t, ^\circ\text{C}$	39 °С	40 °С	41 °С	42 °С	43 °С
η	0,44(0,421;0,514)	0,31(0,246;0,383)	0,32(0,302;0,390)	0,49(0,464;0,552)	0,42(0,325;0,449)
$t, ^\circ\text{C}$	44 °С	45 °С	46 °С	47 °С	48 °С
η	0,40(0,398;0,411)	0,41(0,386;0,514)	0,19(0,166;0,360)	0,11(0,087;0,116)	0,23(0,223;0,270)

В отличие от клеток линии ВТ-20 раковые клетки линии ZR-75 не имеют выраженной зависимости вязкоупругих свойств от температуры в исследованном диапазоне температур (таблица 2).

Однако, для клеток рака молочной железы линии ZR-75 при анализе частотной зависимости тангенса потерь выявлено, что имеется зависящая от температуры тенденция

к снижению этого параметра при частотах 10–15 Гц (рисунок 1, Б). При этих частотах увеличивается вклад упругого компонента в механические свойства клеток, следовательно, поведение клеток более становится похожим на поведение твердого тела.

Таблица 2 – Тангенс потерь для клеточной линии ZR-75 в температурном диапазоне 34–45 °С

t, °C	34	35	36	37
η	0,13(0,077;0,150)	0,16(0,119;0,175)	0,12(0,097;0,143)	0,09(0,049;0,104)
t, °C	38	39	40	41
η	0,13(0,110;0,130)	0,12(0,109;0,127)	0,14(0,115;0,210)	0,16(0,109;0,335)
t, °C	42	43	44	45
η	0,17(0,149;0,198)	0,14(0,086;0,173)	0,18(0,149;0,177)	0,09(0,053;0,132)

Выводы

Полученные данные показывают, что в отличие от клеток линии BT-20 клетки линии ZR-75 характеризуются особой чувствительностью к механическим вибрациям в инфразвуковом интервале, при частотах 10–15 Гц вклад упругого компонента в вязкоупругие свойства увеличен. Это предполагает, что колебания в разных частях клетке согласуются и увеличиваются по амплитуде, что может способствовать нарушению структуры мембран и цитоскелета и приводить к гибели клеток. В отличие от клеток линии ZR-75 клетки линии BT-20 характеризуются особой чувствительностью параметров вязкоупругих свойств к изменению температуры. Установленные особенности вязкоупругого поведения клеток разных клеточных линий важны для понимания механизмов регуляции онкогенеза разных молекулярно-биологических подтипов рака молочной железы.

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

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Cell stiffness predicts cancer cell sensitivity to ultrasound as a selective superficial cancer therapy / E. Bergman [et al.] // Bioengineering & Translational Medicine. – 2021. – Vol. 6. – e:10226.
2. Measuring nanoscale viscoelastic parameters of cells directly from AFM force-displacement curves / Y. M. Efremov [et al.] // Sci. Rep. – 2017. – Vol. 7. – e:1541.

УДК 576.311.346.7

A. M. Alali, G. M. Alali

Scientific supervisor: PhD, Associate professor A. N. Koval

Educational Establishment

“Gomel State Medical University”

Gomel, Republic of Belarus

ENERGY DEPRIVATION INFLUENCE ON MITOCHONDRIAL ACTIVITY

Introduction

Any dysfunction in mitochondria can result in an abnormal or pathological development in cells, there are various types of mitochondria (Mt) in cells, can be classified according to their age, size, health and physiological activity. Mt can generate harmful byproducts (reactive oxygen species or ROS) during energy production, which might damage mitochondrial components and affect the life of mitochondria and the cell (e.g. aging). Chaperones, proteasomes