

УДК 531.714.7:[611.018.1:616-006]  
ГЕОМЕТРИЧЕСКИЕ И ФИЗИКО-МЕХАНИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ФИБРОБЛАСТОВ  
И РАКОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА ЛИНИЙ A549 и HEP-2c, ОЦЕНЕННЫЕ  
С ПОМОЩЬЮ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ

*М. Н. Стародубцева<sup>1</sup>, И. Е. Стародубцев<sup>1</sup>, Д. Р. Петренёв<sup>2</sup>, Н. И. Егоренков<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Гомельский государственный медицинский университет

<sup>2</sup>Институт радиобиологии НАН Беларуси, г. Гомель

С помощью атомно-силовой микроскопии (АСМ) изучены физико-механические параметры (параметры латеральных сил — локальных сил трения скольжения между острием АСМ-зонда и поверхностью клетки и фрактальная размерность карт латеральных сил) участков поверхностного слоя клеток и геометрические параметры (контуры, топография, диаметр, высота и др.) целых клеток для обработанных 0,5 % глутаровым альдегидом фибробластов и раковых эпителиальных клеток человека линий A549 (карцинома легкого) и HEP-2c (карцинома гортани). Установлены различия АСМ- параметров изученных клеток, свидетельствующие о различии состояния их кортикального цитоскелета.

Ключевые слова: клетки карциномы гортани (HEP-2c), клетки карциномы легкого (A459), фибробласты, атомно-силовая микроскопия, сила трения, фрактальная размерность.

THE GEOMETRICAL AND PHYSICAL AND MECHANICAL PARAMETERS  
OF HUMAN FIBROBLASTS AND A549 AND HEP-2c CANCER CELLS ESTIMATED  
WITH AN ATOMIC-FORCE MICROSCOPY

*M. N. Starodubtseva<sup>1</sup>, I. E. Starodubtsev<sup>1</sup>, D. R. Petrenyov<sup>2</sup>, N. I. Yegorenkov<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Gomel State Medical University

<sup>2</sup>Institute of Radiobiology NAS Belarus, Gomel

Using an atomic force microscopy we studied the physical and mechanical parameters of cell surface layer patches (the parameters of local sliding friction force between atomic force microscope tip and cell surface and the fractal dimension of lateral force maps) and geometrical parameters of whole cells (cell contour, topography, diameter, height and others) for treated with glutaraldehyde (0,5 %) human fibroblasts and cancer epithelial cells lines A549 (lung carcinoma) and HEP-2c (larynx carcinoma). The revealed differences in the studied parameters are indicative of the difference in the cortical cytoskeleton state of the cells.

Key words: human lung cancer cells (A549), human larynx carcinoma cells (HEP-2c), fibroblasts, atomic force microscopy, friction force, fractal dimension

### **Введение**

Структура и свойства опухолевых и нормальных клеток, включая их способность к адгезии и миграции, существенно отличаются. Ключевым моментом в образовании метастазов опухолей является способность раковых клеток к инвазии в окружающие ткани, их входу в кровеносную и лимфатическую системы и выходу из них. Эти процессы связаны с особенностями физико-механических свойств опухолевых клеток, обусловленными структурой и состоянием их цитоскелета [1–3].

Для клеточной диагностики рака перспективно использование атомно-силовой микроскопии (АСМ), иначе называемой силовой зондовой микроскопией (СЗМ), с ее уникальными возможностями оценки геометрических и физико-механических свойств клеток на микро- и наномасштабных уровнях. С помощью АСМ можно изучать топографию поверхности (карта вертикальных отклонений иглы-зонда), карты сил трения скольжения (карты латеральных сил — горизонтальных отклонений иглы-зонда при

его скольжении по поверхности), упругие характеристики поверхностного слоя (например, модуль упругости с помощью метода силовой спектроскопии — перпендикулярным к поверхности ее индентированием иглой-зондом) и т. д. Карты вертикальных и горизонтальных отклонений иглы-зонда при АСМ-сканировании поверхности клетки — это принципиально разные физико-механические образы поверхности клетки. АСМ-метод позволяет формировать обобщенный физико-механический образ поверхности клетки, включающий ее топографические карты, карты латеральных сил, локальные модули упругости и силы адгезии, включая распределение их значений по поверхности и др.

АСМ-метод силовой спектроскопии уже широко используется для изучения упругих свойств некоторых линий раковых клеток человека и животных [1, 4, 5, 7–20]. При этом отмечается, что раковые клетки являются менее упругими (жесткими) в сравнении с нормальными клетками [4, 5, 7, 8]. Обнаружено различие значений упругих характеристик кле-

ток для разных степеней развития рака: предраковые, начальной стадии рака и метастазирующие [9]. Следует отметить, что в ряде опытов различия не являлись статистически значимыми [9], что может быть обусловлено как факторами клеточной природы, так и факторами, определяемыми используемыми аппаратными и аналитическими средствами [10]. Установлено, что раковые клетки могут быть и более жесткими в сравнении с нормальными клетками [11, 12]. Rother с соавторами на основе изучения упругих характеристик (динамические модули упругости и потерь при сдвиге —  $G'$ ,  $G''$ , тангенс угла механических потерь —  $G''/G'$ , комплексная вязкость и др.) раковых клеток 9 клеточных линий было установлено, что раковые клетки являлись более мягкими в сравнении с фибробластами и эпителиальными клетками одного организма или органа, а при сравнении характеристик раковых и нормальных клеток разных тканей или организмов различия между ними могут быть разными по характеру [13]. В литературных источниках имеются также сведения об увеличении степени неоднородности физико-механических свойств раковых клеток в сравнении с нормальными клетками [10, 14]. Так, авторы исследования [14] отмечают увеличение значений фрактальной размерности карт сил неспецифической адгезии участков раковых клеток в сравнении со значениями фрактальной размерности для нормальных клеток. Различия выявлено также в значениях сил неспецифической адгезии между поверхностью клетки и поверхностью АСМ-зонда, оцененной с помощью силовой спектроскопии, для раковых и нормальных клеток. Однако различия имели разнонаправленный характер для разных типов клеток [15, 16]. Различия в механических свойствах раковых клеток и клеток нормальных тканей выявляются не только методом АСМ, но и другими методами. Например, методом пропускания клеток через узкие поры и методом магнитного пинцета установлено изменение деформируемости клеток и их фрикционных свойств при изменении потенциала метастазирования раковых клеток [1, 6].

Клетки карциномы легкого человека линии А549 (эпителиальные клетки) характеризуются высокой степенью нитрования структурного белка актина и важнейших ферментов-белков гликолиза — глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы и альдолазы А [17] даже в отсутствии стимулирующего клетки фактора. При стимуляции цитокинами благодаря экспрессии iNOS уровень нитрит- и нитрат-ионов в среде культивирования клеток линии А549 увеличивается на третьи сутки в 5 раз [17]. Пероксид водорода и SIN-1 концентрационноза-

висимо стимулируют экспрессию и увеличивают активность nNOS в клетках линии А549 [18]. Согласно данным литературных источников модуль упругости клеток линии А549 меньше модуля упругости фибробластов человека и клеток лимфобластоидной линии лейкоцитарного происхождения L41 [7, 16].

Для клеток карциномы гортани человека линии НЕР-2с (эпителиальные клетки) характерно нарушение механизмов регулирования динамики структуры цитоскелета. Так, клетки этой линии устойчивы к TRAIL-индуцированному апоптозу. Активация TRAIL «рецепторов смерти» на мембране клеток ведет к активации регуляторов апоптоза из семейства Bcl-2 белков, что стимулирует полимеризацию актина и сборку актиновых элементов цитоскелета. Полимеризация актина способствует увеличению жесткости клеток (увеличению модуля упругости) [19]. Согласно данным АСМ, увеличение или уменьшение модуля упругости клеток сопровождается соответственно изменением силы неспецифической адгезии, возникающей между АСМ-зондом и поверхностью клетки [15, 19].

#### **Цель работы**

Установить различие геометрических и физико-механических параметров фибробластов и раковых эпителиальных клеток линий А549 и НЕР-2 с человека на основе данных топографии и карт латеральных сил их поверхности, полученных с помощью атомно-силовой микроскопии.

#### **Материалы и методы**

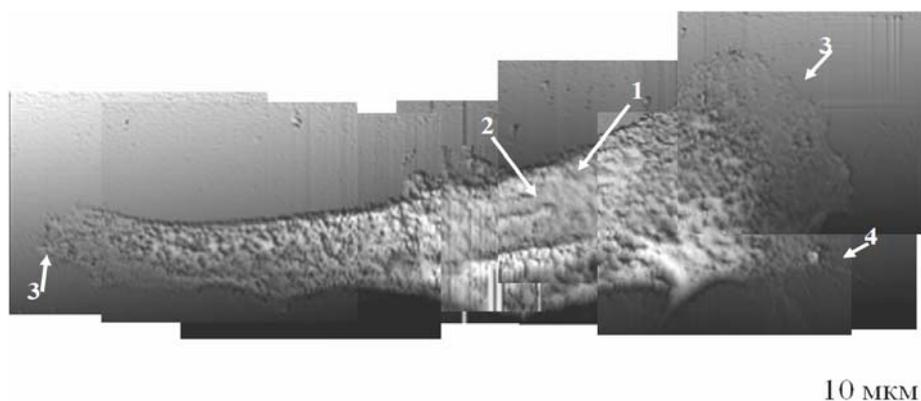
В работе использованы культуры первичных фибробластов кожи человека (hFB), полученные из лабораторий УО «Гомельский государственный медицинский университет» и ГНУ «Институт радиобиологии НАН РБ» при выполнении заданий ГПНИ 1.3.59 и 5.3.09. Культура эпителиальных клеток карциномы легкого (А549) была предоставлена заведующим кафедрой микробиологии биологического факультета БГУ Прокулевичем В.А. Культура клеток карциномы гортани (НЕР-2с) получена из коллекции РНПЦ эпидемиологии и микробиологии МЗ РБ. Для приготовления образцов клеток для АСМ-исследования на специально подготовленные стеклянные пластины, помещенные в чашки Петри, вносили суспензию клеток в питательной среде и инкубировали в течение 24 ч при 37 °С и 5 % CO<sub>2</sub>, затем клетки фиксировали в 0,5 % солевом буферном растворе глутарового альдегида (15 или 30 мин), трижды отмывали препараты клеток деионизированной водой и высушивали в вертикально-наклонном положении (75–85°) в ламинарном потоке воздуха (0,42 м/с) при комнатной температуре. АСМ-исследования клеток проводили на атомно-силовом микроскопе «НТ-206» («МикроТестМашины», Беларусь) в контакт-

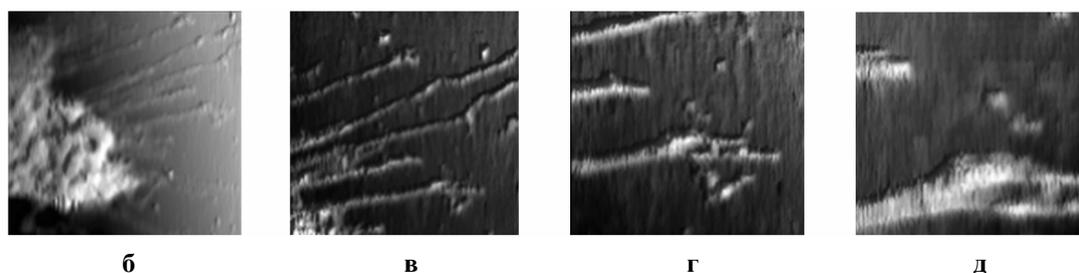
ном режиме сканирования с использованием игл-зондов CSC38 («MikroMasch», Эстония): уровень В, коэффициент жесткости 0,01-0,08 Н/м. Сканирование проводили при температурах  $22 \pm 5$  °С и влажности  $55 \pm 10$  %. Термостатирование образцов клеток во время АСМ-сканирования осуществляли с помощью термоплатформы ТТ-01. Силы трения рассчитывали как полуразность латеральных сил, полученных при сканировании поверхности в двух противоположных направлениях для участка поверхности клетки размером  $2,5 \times 2,5$  мкм (разрешение  $256 \times 256$  пикселей). Оценивали среднее значение сил трения на микромасштабных участках поверхности клеток ( $F_{тр}$ ) и среднеквадратическое отклонение от среднего для сил трения на микромасштабных участках поверхности клеток ( $\sigma_{тр}$ ). Обработку АСМ-данных осуществляли с помощью программы «Surface Explorer 1.3.11» («МикроТестМашины», Беларусь). Фрактальную размерность карт латеральных сил (DF) оценивали с помощью специально разработанного программного комплекса, расчет фрактальной размерности в котором основан на методе подсчета кубов. Сначала область пространства, включающая исследуемую поверхность, разбивается кубической решеткой. Затем подсчитывается количество кубов решетки, в которых есть точки поверхности, и ребро куба решетки уменьшается в 2 раза, после чего процесс повторяется до тех пор, пока длина ребра куба не станет меньше шага сканирования. Тангенс угла наклона на линейном участке зависимости логарифма количества кубов и логарифма величины, обратной размеру ребра куба, является фрактальной размерностью исследуемой поверхности. Оценку среднего значения фрактальной размерности для участка поверхности клетки размером  $2,5 \times 2,5$  мкм (разрешение  $256 \times 256$  пикселей) осуществляли с помощью разбивки участка на 8 участков одинаковой площади, оценки средних значений фрактальной размерности для каждого из участков и расчета среднего значения и границ 95 % доверительного интервала для целой выборки.

### Результаты

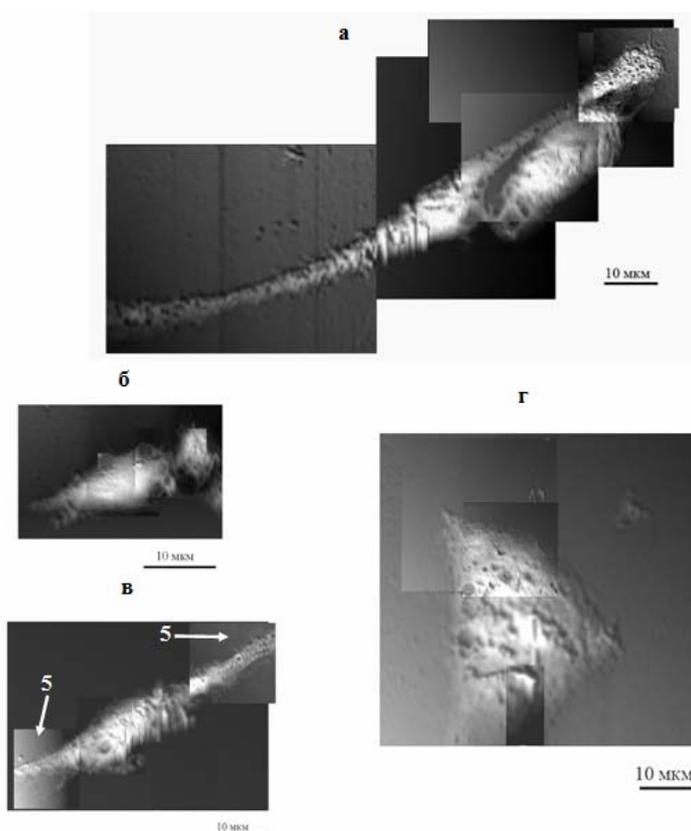
С помощью АСМ изучены геометрические параметры адгезированных к стеклянным пластинам и фиксированных в растворе глутарового альдегида фибробластов и раковых эпителиальных клеток человека линий А549 и НЕР-2с.

На рисунках 1–3 представлены изображения поверхности (топография) этих типов клеток, реконструированные с использованием отдельных АСМ-сканов участков поверхности клеток. Фибробласты в отличие от клеток раковых линий имеют развитый цитоскелет. Клетки хорошо распластаны по поверхности стеклянных пластин, заметны отдельные элементы (филоподии, ламеллоподии, стрессовые волокна) структуры цитоскелета (например, филоподии и ламеллоподии, рисунок 1, элементы 4 и 3), а также ядра и ядрышки (рисунок 1, элементы 1 и 2). Клетки обеих раковых линий, подготовленные для исследования в таких же условиях, как и фибробласты, имеют более выпуклую (куполо- или колоколообразную) форму с многочисленными микроворсинками (рисунки 2 и 3) и неровностями поверхности. Раковые эпителиальные клетки, адгезированные к поверхности стекла и не контактирующие с другими клетками, имеют меньшую в сравнении с фибробластами площадь контакта со стеклянными пластинами (таблица 1). Структуры цитоскелета и ядра для этих клеток в основном отчетливо не выражены (рисунки 2 и 3). Наблюдается также различие геометрических параметров клеток и между клетками линии А549 и линии НЕР-2с (таблица 1). Более того, оказалось, что популяция клеток линии А549 существенно неоднородна. В популяции присутствуют в основном два типа клеток. Клетки первого типа характеризуются большими размерами и большей площадью контакта со стеклянными пластинами, они имеют либо веретенообразную форму, либо треугольную (рисунок 2, б, таблица 1). Клетки второго типа значительно меньше по размерам, без выраженных структурных элементов (рисунок 2, в и г, таблица 1).

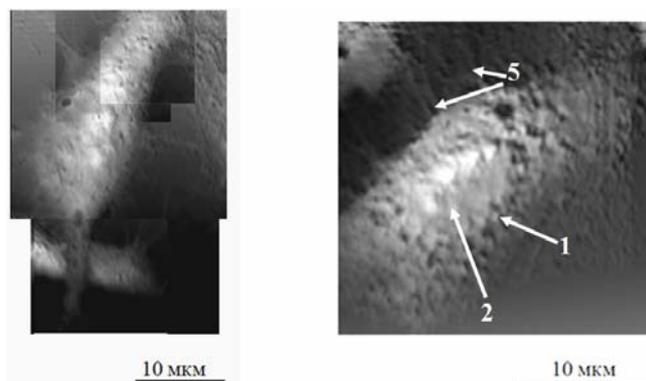




**Рисунок 1 — АСМ-изображения фибробластов:**  
 а — реконструированные топографические изображения фибробласта (1 — ядро; 2 — ядрышко; 3 — ламеллоподия; 4 — филоподии);  
 б-д — изображения лидирующего края фибробласта с филоподиями (б) и филоподии с различным увеличением (в-д).  
 Размеры области сканирования: 15×15 мкм (б), 10×10 мкм (в), 5×5 мкм (г), 2,5×2,5 мкм (д)



**Рисунок 2 — Реконструированные топографические АСМ-изображения раковых эпителиальных клеток линии А549:** а — изображения двух соседних клеток разных типов; б — клетка типа 2 (5 — микроворсинки), в и г — клетки типа 1



**Рисунок 3 — Реконструированные топографические изображения раковых эпителиальных клеток линии НЕР-2С:** 1 — ядро; 2 — ядрышко; 5 — микроворсинки

Таблица 1 — Геометрические параметры клеток разных типов

Клетки	D <sub>1</sub> , мкм	D <sub>2</sub> , мкм	h, мкм	D <sub>2</sub> /D <sub>1</sub>	D <sub>1</sub> /h	D <sub>2</sub> /h
Фибробласты	60,4 ± 26,6	22,3 ± 6,9	1,5 ± 0,3	0,39 ± 0,15	40,7 ± 12,8	16,3 ± 8,7
HEp-2c	28,1 ± 2,4*	11,1 ± 2,5*	1,0 ± 0,3*	0,40 ± 0,08	30,0 ± 9,0	12,0 ± 4,1
A549 1тип	33,5 ± 4,2* <sup>#</sup>	16,1 ± 2,7*	1,6 ± 0,1 <sup>#</sup>	0,52 ± 0,13	20,9 ± 3,2* <sup>#</sup>	10,5 ± 2,5*
A549 2 тип	16,4 ± 2,1*** <sup>#</sup>	8,1 ± 1,7*** <sup>#</sup>	1,8 ± 0,1** <sup>#</sup>	0,50 ± 0,11	9,4 ± 1,3*** <sup>#</sup>	4,7 ± 0,9*** <sup>#</sup>

*Примечание.* D<sub>1</sub> и D<sub>2</sub> — наибольший и наименьший размеры адгезированной к поверхности стекла клетки, измеренные в взаимно перпендикулярных в плоскости ее контакта со стеклом направлениях, h — максимальное значение высоты клетки, D<sub>2</sub>/D<sub>1</sub> — параметр, показывающий степень поляризации (анизотропии формы) клетки, D<sub>1</sub>/h и D<sub>2</sub>/h — параметры, показывающие степень распластанности клеток. Данные представлены как границы 95 % доверительного интервала, n = 7–13.

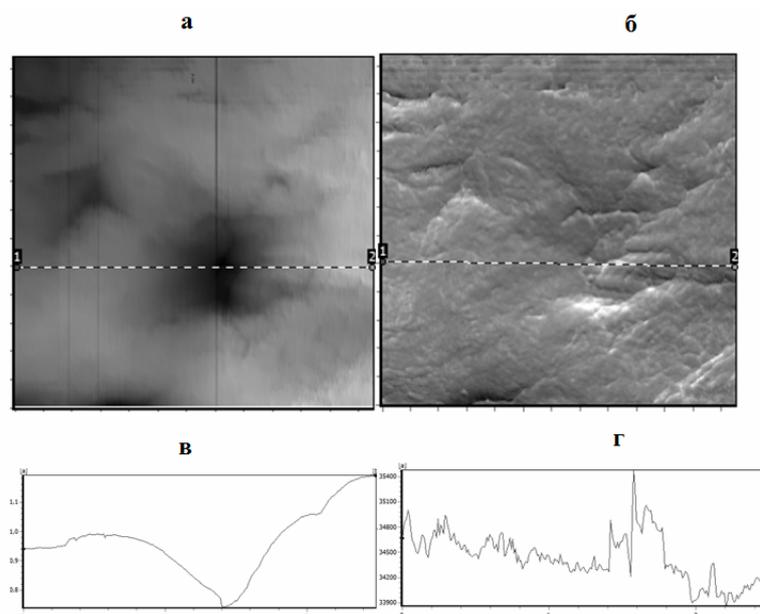
\*p < 0,05 в сравнении со значениями параметра для фибробластов; \*\*p < 0,05 в сравнении со значениями параметра для A549 клеток 1 типа; <sup>#</sup>p < 0,05 в сравнении со значениями параметра для HEp-2c клеток (t-критерий)

Физико-механические свойства клеток, а точнее их поверхностного слоя, оцениваемые с помощью АСМ, в наибольшей степени определяются организацией и динамикой кортикального цитоскелета, и по карте латеральных сил участков поверхности клеток можно судить о структуре кортикального цитоскелета [21]. На визуальных АСМ-изображениях (топографии и полутоновых картах латеральных сил), а также профилях-сечениях рельефа топографической карты и карты латеральных сил микромасштабных участков поверхности отдельной клетки качественно и количественно видно различие между параметрами топографии и карты латеральных сил (рисунок 4). Для характеристики степени неоднородности структуры поверхностного слоя клеток нами использована фрактальная размерность его карт латеральных сил (D<sub>F</sub>) — сил трения скольжения иглы-индентора по поверхности клетки. Она позволяет оценить степень развитости (сложности) структуры кортикального цитоскелета. Фрактальные размерности карт латеральных сил для раковых клеток и фибробластов, как видно из данных таблицы 2, различаются. Так, раковые клетки линий A549 и HEp-2c характеризуются меньшими значениями D<sub>F</sub> карт латеральных сил микромасштабных участков их поверхности в сравнении со значением D<sub>F</sub> для фибробластов, что указывает на уменьшение степени сложности структуры кортикального цитоскелета у этих клеток. Значения D<sub>F</sub> карт латеральных сил для микромасштабных участков поверхности разных типов раковых эпителиальных клеток (линий A549 и HEp-2c) также различаются.

Сравнительная оценка полученных нами значений параметров сил трения скольжения (средних значений сил трения и их среднеквадратического отклонения на микромасштабных участках клеточной поверхности) для изученных типов клеток показывает, что значения сил трения в диапазоне исследованных

температур (25 ± 5 °C) для клеток изменяются незначительно, но значения сил трения для разных типов клеток (фибробластов и раковых клеток) существенно различаются. Для раковых клеток линии A549 характерно уменьшение среднего значения сил трения (для клеток типа 2 и фибробластов различия статистически достоверны). Для раковых клеток линий HEp-2c и A549 (тип 2) имеет место также и увеличение разброса значений сил трения на микромасштабных участках клеточной поверхности в сравнении с этим показателем для фибробластов (таблица 2), что свидетельствует об увеличении степени неоднородности распределения физико-механических свойств по поверхности клетки, то есть об увеличении степени неоднородности структуры кортикального цитоскелета. По значениям сил трения и D<sub>F</sub> их карт латеральных сил раковые клетки линии A549 типа 1 ближе к фибробластам в сравнении с параметрами для клеток линий A549 типа 2 и HEp-2c (таблица 2). Наши данные подтверждают полученные методом цейтраферной киносъемки данные о функциональной неоднородности культуры A549 клеток, в которой присутствуют как клетки «фибробластоидного» типа с высокой степенью подвижности, так и неподвижные клетки «эпителиоидного» типа [22].

Таким образом, полученные с помощью АСМ значения физико-механических параметров (силы трения-скольжения, фрактальная размерность карт латеральных сил) поверхностного слоя и геометрические характеристики изученных клеток указывают на различие в структурном состоянии кортикального цитоскелета нормальных фибробластов кожи, раковых эпителиальных клеток линий A549 и HEp-2c. При этом АСМ-параметры чувствительны не только к смене типа клеток (раковые эпителиальные клетки нормальные фибробласты), но и к смене подтипа клеток одной клеточной линии (типы 1 и 2 клеток A549).



**Рисунок 4 — АСМ-изображения и профили микромасштабного участка поверхности раковой эпителиальной клетки человека линии А549, тип 2: а и б — топография (а) и карта латеральных сил (б) участка поверхности; в и г — профили по линии 1-2 топографии (в, вертикальная ось в мкм) и карты латеральных сил (г, вертикальная ось в усл. ед.) участка поверхности. Размер области сканирования — 2,5×2,5 мкм**

Таблица 2 — Физико-механические параметры поверхностного слоя клеток

Клетки	АСМ-параметры		
	$F_{тр}/F_{тр-фб}$ , отн. ед.	$\sigma_{тр}/\sigma_{тр-фб}$ , отн. ед.	$D_F / D_{Fфб}$ , отн. ед.
Фибробласты	$1,00 \pm 0,22$	$1,00 \pm 0,24$	$1,00 \pm 0,01$
HEp-2с	$1,02 \pm 0,20$	$2,72 \pm 0,73^*$	$0,92 \pm 0,01^*$
A549 1 тип	$0,83 \pm 0,20$	$0,98 \pm 0,20^\#$	$0,96 \pm 0,01^{*;\#}$
A549 2 тип	$0,62 \pm 0,24^*$	$1,63 \pm 0,59^{*,**}$	$0,95 \pm 0,01^{*;\#}$

*Примечание.*  $F_{тр}/F_{тр-фб}$  — средняя сила трения ( $F_{тр}$ ) на микромасштабном участке поверхности раковых клеток, рассчитанная относительно средней силы трения для фибробластов ( $F_{тр-фб}$ ),  $\sigma_{тр}/\sigma_{тр-фб}$  — средний разброс силы трения ( $\sigma_{тр}$ ) для раковых клеток, рассчитанный относительно среднего разброса силы трения для фибробластов ( $\sigma_{тр-фб}$ ),  $D_F/D_{Fфб}$  — средняя фрактальная размерность карт латеральных сил ( $D_F$ ) на микромасштабном участке поверхности раковых клеток, рассчитанная относительно средней фрактальной размерности для фибробластов ( $D_{Fфб}$ ).  $D_{Fфб} = 2,449$  (шаг сканирования  $-9,8$  нм);  $F_{тр-фб} = 620$  усл. ед.;  $\sigma_{тр-фб} = 400$  усл. ед. Данные представлены как границы 95 % доверительного интервала,  $n = 16-84$ .

\*  $p < 0,05$  в сравнении со значениями параметра для фибробластов; \*\* $p < 0,05$  в сравнении со значениями параметра для A549 клеток 1 типа;  $^\#p < 0,05$  в сравнении со значениями параметра для HEp-2склеток (t-критерий)

### Заключение

С помощью АСМ изучены геометрические и физико-механические свойства поверхностного слоя раковых эпителиальных клеток линий А549, HEp-2с и фибробластов человека, адгезированных к стеклянной поверхности и обработанных 0,5 % раствором глутарового альдегида. Исследованные клетки различаются как значениями геометрических параметров для целых клеток, так и значениями физико-механических параметров (сил трения скольжения между острием АСМ-зонда и поверхностью клеток, фрактальной размерности карт латеральных сил (карт сил трения)) для микромасштабных участков их поверхности. По-

лученные результаты указывают на то, что исследованные эпителиальные клетки раковых линий являются более мягкими в сравнении с фибробластами кожи, а их кортикальный цитоскелет более лабилен. Сравнительный анализ получаемых с помощью АСМ геометрических и физико-механических параметров клеток помогает также дифференцировать популяцию клеток на разные подтипы, если таковые содержатся в ней (например, для популяции клеток линии А549). Следовательно, получаемые с помощью АСМ параметры клеток могут быть полезны для контроля однородности культур клеток и разработки методов анализа патологии клеток.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Characterizing deformability and surface friction of cancer cells / S. Byun [et al.]. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2013. — Vol. 110, № 19. — P. 7580–7585.
2. Popov, A. Actin-cytoskeleton and  $\beta$ -actin expression in correlation with higher invasiveness of selected hepatoma Morris 5123 cells / A. Popov, D. Nowak, M. Malicka-Błaszkiwicz // J. Physiol. Pharmacol. — 2006. — Vol. 57, Suppl. 7. — P. 111–123.
3. Stevenson, R. P. Actin-bundling proteins in cancer progression at a glance / R. P. Stevenson, D. Veltman, L. M. Machesky // J. Cell Science. — 2012. — Vol. 125, № 5. — P. 1073–1079.
4. Characterization of cell elasticity correlated with cell morphology by atomic force microscope. / Q. Guo [et al.]. // J. Biomech. — 2012. — Vol. 45, № 2. — P. 304–309.
5. Cancer cell detection in tissue sections using AFM / M. Lekka [et al.]. // Arch. Biochem. Biophys. — 2012. — Vol. 518, № 2. — P. 151–156.
6. Physical labeling of papillomavirus-infected, immortal, and cancerous cervical epithelial cells reveal surface changes at immortal stage / I. K. Swaminathan [et al.]. // Cell Biochem. Biophys. — 2012. — Vol. 63, № 2. — P. 109–116.
7. Диагностика живых клеток в атомно-силовом микроскопе, используя субмикронный сферический зонд калиброванного радиуса кривизны / И. А. Няпшаев [и др.] // Журнал технической физики. — 2012. — Т. 82, № 10. — С. 109–116.
8. A physical sciences network characterization of non-tumorigenic and metastatic cells / D. B. Agus [et al.]. // Sci. Rep. UK. — 2013. — Vol. 3. — P. 1449.
9. The effects of cancer progression on the viscoelasticity of ovarian cell cytoskeleton structures / A. N. Ketene [et al.]. // Nanomedicine. — 2012. — Vol. 8, № 1. — P. 93–102.
10. On averaging force curves over heterogeneous surfaces in atomic force microscopy / I. Sokolov [et al.]. // Ultramicroscopy. — 2012. — Vol. 121. — P. 16–24.
11. Rosenbluth, M. J. Force microscopy of nonadherent cells: a comparison of leukemia cell deformability / M. J. Rosenbluth, W. A. Lam, D. A. Fletcher // Biophys. J. — Vol. 200690. — P. 2994–3003.
12. Mechanical properties of hepatocellular carcinoma cells / G. Zhang [et al.]. // World J. Gastroenterol. — 2002. — Vol. 8. — P. 243–246.
13. Atomic force microscopy based microrheology reveals significant differences in the viscoelastic response between malignant and benign cell lines / J. Rother [et al.]. // Open Biol. — 2014. — Vol. 4. — P. 140046.
14. Cell surface as a fractal: normal and cancerous cervical cells demonstrate different fractal behavior of surface adhesion maps at the nanoscale / M. E. Dokukin [et al.]. // Phys. Rev. Lett. — 2011. — Vol. 107, № 2. — P. 028101.
15. AFM-based analysis of human metastatic cancer cells / S. E. Cross [et al.]. // Nanotechnology. — 2008. — Vol. 19. — P. 384003.
16. Дрозд, Е. С. Экспериментальная оценка локальных упругих характеристик биологических клеток методами контактной механики: автореф. дис. ... канд. физ.-мат. наук: 01.02.08 / Е. С. Дрозд; Белорус. нац. тех. ун-т. — Минск, 2011. — 24 с.
17. Dynamics of protein nitration in cells and mitochondria / K. S. Aulak [et al.]. // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. — 2004. — Vol. 286, № 1. — P. H30–H38.
18. Nitric oxide synthase isoenzyme expression and activity in peripheral lung tissue of patients with chronic obstructive pulmonary disease / C. Brindicci [et al.]. // Am. J. Respir. Crit. Care Med. — 2010. — Vol. 181, № 1. — P. 21–30.
19. Adhesion and mechanical properties of RSV infected human epithelial cells / A. Pfendt [et al.]. // J. Adhes. Sci. Technol. — 2011. — Vol. 25. — P. 521–535.
20. AFM stiffness nanotomography of normal, metaplastic and dysplastic human esophageal cells / A. Fuhrmann [et al.]. // Phys. Biol. — 2011. — Vol. 8, № 1. — P. 015007.
21. Starodubtseva, M. N. Thermo-mechanical properties of the cell surface assessed by atomic force microscopy / M. N. Starodubtseva, N. I. Yegorenkov, I. A. Nikitina // Micron. — 2012. — Vol. 43, № 12. — P. 1232–1238.
22. Functional heterogeneity of non-small lung adenocarcinoma cell sub-populations / I. Bechyne [et al.]. // Cell Biol. Int. — 2012. — Vol. 36. — P. 99–103.

Поступила 18.12.2015

УДК 616.36-003.93:[612.35:612.6.03]

ПОСТРЕЗЕКЦИОННАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ ПЕЧЕНИ  
при РЕТРОРСИН-ИНДУЦИРОВАННОМ ПОРАЖЕНИИА. Г. Скуратов<sup>1</sup>, А. Н. Лызиков<sup>1</sup>, Д. Р. Петренев<sup>2</sup>, Б. Б. Осипов<sup>1</sup>, С. Л. Ачинович<sup>3</sup><sup>1</sup>Гомельский государственный медицинский университет<sup>2</sup>Институт радиобиологии НАН Беларуси, г. Гомель<sup>3</sup>Гомельский областной клинический онкологический диспансер

**Цель:** исследовать процессы регенерации печени, пораженной ретрорсином, после ее резекции и оценить репаративную роль мезенхимальных стволовых клеток при их трансплантации в эксперименте.

**Материалы и методы.** Лабораторные крысы линии Вистар; мезенхимальные стволовые клетки из жировой ткани (выделение, культивирование); экспериментальная модель ретрорсин-индуцированного гепатита; резекция печени; интрапортальное введение мезенхимальных стволовых клеток; световая микроскопия, морфометрия.

**Результаты.** На моделях печеночной недостаточности (резекция печени, токсический гепатит) показана регенерация печени, в механизме которой участвуют зрелые гепатоциты (усиление митотической активности, увеличение ядерного аппарата клеток) и пролиферирующие клетки протокового эпителия желчных путей.

**Заключение.** Интрапортальное введение аутологических МСК животным, получавшим ретрорсином, способствовало усилению регенераторных процессов в перипортальных зонах печени после ее резекции по сравнению с контролем.

**Ключевые слова:** регенерация печени, экспериментальная модель хронического гепатита, ретрорсин, мезенхимальные стволовые клетки, резекция печени.

POST-RESECTION REGENERATION OF THE LIVER IN CASE  
OF RETRORSIN-INDUCED LESIONA. G. Skuratov<sup>1</sup>, A. N. Lyzikov<sup>1</sup>, D. R. Petrenyov<sup>2</sup>, B. B. Osipov<sup>1</sup>, S. L. Achinovich<sup>3</sup><sup>1</sup>Gomel State Medical University<sup>2</sup>Institute of Radiobiology, National Academy of Sciences of Belarus, Gomel<sup>3</sup>Gomel Regional Clinical Oncology Center

**Objective:** to study the regenerative processes of the liver affected by retrorsin after its resection and to assess the reparative role of mesenchymal stem cell transplantation in experiment.