

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ФИБРОБЛАСТОВ ЛЁГКОГО КРЫСЫ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ ИХ ПЕРВИЧНЫХ КУЛЬТУР С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СРЕД DMEM И DMEM/F12

А. Н. Шклярова¹, А. Е. Сусленкова¹, М. Н. Стародубцева²

¹*Институт радиобиологии НАН Беларуси, г. Гомель, Беларусь*

²*Гомельский государственный медицинский университет, г. Гомель, Беларусь*

Фибробласты являются основными клеточными элементами собственно соединительной ткани организма и выполняют важные функции в процессах развития и поддержания функционирования тканей, заживления ран и другое. Культуры фибробластов считаются эффективной биологической моделью для оценки действия различных факторов (новых лекарственных агентов, факторов внешней среды). При культивировании культур фибробластов используются среды с разным составом, присутствие или отсутствие определенных веществ в них оказывают влияние на состояние фибробластов, их функциональные возможности в планируемых в дальнейшем экспериментах. Целью работы было выявление различия механических свойств фибробластов лёгкого крысы при использовании сред DMEM и DMEM/F12. Культура первичных фибробластов была получена из лёгкого 3-х мес. крысы линии Wistar. Выращивали клетки на двух различных средах DMEM и DMEM-F12 с добавлением 10% бычьей сыворотки и 1% антимикотика (пенициллин, стрептомицин, амфотерицин В). Кусочки лёгкого помещали в чашку Петри (35 мм) до достижения конfluence вышедших клеток 75% (1 x фосфатно-солевой буфер с добавлением раствора Хэнса). Механические параметры поверхности клеток 0 пассажа изучали с помощью атомно-силового микроскопа Bruker BioScope Resolve. Сканирование проводили с использованием прекалиброванной иглы PFQNM-LC-A-CAL в режиме ForceVolume.

Скорость пролиферации клеток существенно отличалась для образцов фибробластов, культивированных с использованием различных сред. Наиболее быстрый выход фибробластов наблюдали для среды DMEM/F12. Состояние клеток, а именно, их цитоскелета различалось, о чем свидетельствовали результаты оценки упругих свойств клеточной поверхности. Модуль упругости фибробластов, культивированных в разных средах, различался примерно в 6,5 раз. $E=11,86(8,63;14,86)$ кПа для среды DMEM и $1,81(1,43;3,33)$ кПа для среды DMEM/F12 ($p<0,05$, критерий Манна-Уитни). Характеристика распределения упругих свойств в глубину клетки (зависимость модуля упругости от глубины индентирования) показывает пространственное распределение областей с повышенной плотностью цитоскелета. Эта зависимость более крутая для фибробластов в среде DMEM, чем для клеток в среде DMEM/F12, что указывает на формирование у фибробластов в среде DMEM дополнительных актиновых структур, таких как, например, стрессовые фибриллы. Из-за отсутствия в среде DMEM фактора Nam-12, клетки подвергались большему стрессу, что вызвало повышенную активность цитоскелета и усиление механических свойств клеток. Культивирование фибробластов в среде DMEM/F12 способствует меньшей активации клеток, включая случай их активации при взаимодействии с подложками. Фибробласты в этой среде проявляют вязкоупругие свойства, в то время как при культивировании фибробластов в среде DMEM из-за активации актинового цитоскелета клетки, в большей степени, проявляют механические свойства, характерные для упругого объекта.

Работа выполнена в рамках темы задания 3.01.2 ГПНИ «Природные ресурсы и окружающая среда» (№ГР 20210231 от 15.03.2021).