

DOI: 10.17117/na.2015.07.986

Поступило в редакцию: 20.07.2015

<http://ucom.ru/doc/na.2015.07.986.pdf>

**Присный А.А.**  
**Микрорельеф целомоцитов представителей**  
***Eisenia rosea* в условиях осмотической нагрузки**

**Prisny A.A.**  
**The effect of the osmotic stress on microrelief**  
**of *Eisenia rosea* coelomocytes**

*Описаны изменения топографии поверхности целомоцитов при контактных взаимодействиях с твердым субстратом и при воздействии сред, отличных от физиологически нормальной*  
**Ключевые слова:** целомоциты, микрорельеф поверхности, гипо- и гиперосмотическая нагрузка

*The article describes the variation of the cell surface topography during the interaction with substrate and under the action of medium that differs from physiological solution*

**Key words:** coelomocytes, microrelief of cell surface, hypo- and hyperosmotic stress

**Присный Андрей Андреевич**

Кандидат биологических наук, доцент  
Белгородский государственный национальный  
исследовательский университет  
г. Белгород, ул. Победы, 85

**Prisny Andrey Andreevich**

Candidate of Biology Science, Associate Professor  
Belgorod state national research university  
Belgorod, Pobedy st., 85

Рельеф, или топография клеточной поверхности, является весьма мобильной характеристикой: она изменяется в зависимости от функционального состояния клетки [2, 6, 8]. Шероховатость поверхности представляет собой совокупность неровностей, образующих микрорельеф [7]. Количественная оценка шероховатости поверхности мембран имеет важное практическое значение, так как позволяет выявить влияние гомогенности или гетерогенности поверхности на процессы захвата инородных объектов и устойчивость к гипо-гиперосмотическим нагрузкам [9, 10].

Материалы и методы исследования. Объектами исследования служили целомоциты *Eisenia rosea*, предварительно классифицированные по морфофункциональным особенностям на 5 типов [1]. Полученную гемолимфу делили на три части, к каждой части гемолимфы добавляли 10 мкл раствора NaCl определенной концентрации (гипотонический – 0,4 % NaCl, изотонический раствор – 0,8 % NaCl, гипертонический – 1,2 %). Инкубацию проводили в течение 1 минуты. Исследования проведены с использованием сканирующего зондового микроскопа Интегра Вита NT-MDT в режиме атомно-силовой спектроскопии при наложении нагрузки в 25 локальных участках клеточной поверхности. Обработку полученных АСМ-изображений осуществляли с помощью программного обеспечения Image analysis 3.5 [3]. Проведен анализ амплитуд-

ных среднестатистических параметров шероховатости поверхности в соответствии с международными стандартами: средняя квадратическая шероховатость  $S_q$  (nm); высота самого высокого пика  $S_p$  (nm); глубина самой глубокой впадины  $S_v$  (nm); асимметрия  $S_{sk}$  – характеризует скошенность распределения профиля, когда один спад крутой, а другой – пологий; эксцесс  $S_{ku}$  характеризует протяженность распределения профиля;  $\gamma_z$  – параметр, характеризующий толщину поверхностного, возмущенного слоя, не полностью заполненного материалом, в котором происходит изменение рельефа. Так же были определены значения одного из функциональных параметров, характеризующих рельеф в локальной области и степень гладкости поверхности – плотность вершин (пиков)  $\gamma_{ds}$  ( $1/\mu m^2$ ). Данный показатель демонстрирует количество вершин на единицу площади [4, 5, 9].

Результаты исследования и их обсуждение. Микрорельеф целомацитов *E. rosea* в изотонических условиях имеет однородный характер, обусловленный выпячиванием фибрилл цитоскелета. Можно отметить значительное развитие субмембранного комплекса, поддерживающего необходимую форму клетки и её функционирование.

Большие амебоциты имеют крупные инвагинации мембраны в периферической области, что объясняется присутствием гранул и вакуолей в цитоплазме клеток этого типа. В целом, микрорельеф больших амебоцитов отличается наибольшим разнообразием, что отразилось в показателях шероховатости у этого клеточного типа.

Средние амебоциты имеют однородный микрорельеф, образованный выпячиванием фибрилл субмембранной части цитоскелета. Поверхность клетки равномерно покрывают отдельные борозды, длина которых колеблется от 0,51 до 1,22  $\mu m$ . Среди структур микрорельефа этого типа клеток отметили широкий диапазон изменения линейных размеров возвышений и углублений поверхности.

Рельеф поверхности малого амебоцита отличается полярностью. Часть клетки, где происходит формирование филоподий, имеет многочисленные дискретные выпячивания и обширные понижения рельефа. Остальная поверхность содержит инвагинации в виде борозд длиной до 3  $\mu m$ , направленных от периферии к центру. Согласно показателям шероховатости, малый амебоцит содержит наименьшее количество микроструктур среди всех амебоцитов, но наибольшую площадь их распределения и кривизну.

Поверхность не амебоцитов имеет однородный характер, представленный отдельными пикообразными возвышениями. У клеток этого типа отметили высокие показатели шероховатости поверхности, но показатель кривизны отдельных пиков зафиксирован наименьший среди всей популяции целомацитов.

Хлорогенные клетки имеют наиболее гладкую мембрану среди всех типов целомацитов *E. rosea*. На сканограммах наблюдали клетки сферической формы, мембрана которых находится в натяжении. Сквозь неё слабо выпячиваются хлорогенные гранулы, поверхность мембраны была практически ровной.

### Заключение

В гипотонических условиях отмечали уменьшение всех показателей рельефа у всех типов целомоцитов. На поверхности клеток отсутствуют крупные возвышения и понижения. Не отмечали выпячивания структур цитоскелета, гребни и борозды отсутствуют. В условиях повышенного осмотического давления отмечали сглаживание выпячиваний структур мембраны амебоцитов. Наблюдали снижение всех показателей шероховатости поверхности у амебоцитов. Целомоциты, не способные к активному передвижению, увеличивают складчатость микрорельефа. Поверхность не амебоцитов и хлорогеновых клеток демонстрирует увеличение шероховатости поверхности даже по сравнению с изотоническими условиями.

### Список литературы:

1. Присный А.А. Исследование элементов клеточного иммунитета беспозвоночных животных. *Аллергология и иммунология*. 2014. Т. 15. №3. С. 225.
2. Гущина Ю.Ю., Плескова С.Н., Звонкова М.Б. Исследование различий морфологических параметров клеток крови человека методом Сканирующей Зондовой Микроскопии. *Поверхность. Рентгеновские, синхротронные и нейтронные исследования*. 2005. 1. 48-53.
3. Миронов В.Л. Основы сканирующей зондовой микроскопии М.: Техносфера, 2004.
4. Новак А.В., Новак В.Р. Шероховатость пленок аморфного, поликристаллического кремния и поликристаллического кремния с полусферическими зернами. *Письма в ЖТФ*. 2013. Т. 39. Вып. 19. С. 32-40.
5. Плескова С.Н., Гущина Ю.Ю., Звонкова М.Б. Использование метода сканирующей зондовой микроскопии в биомедицинских исследованиях // *Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. Серия Биология*. Выпуск 1 (7). Электромагнитные поля и излучения в биологии и медицине. Н. Новгород: ННГУ. 2004. С. 127-134.
6. Bagge U., Amundson B, Lauritzen C. Blood cell deformability and plugging of skeletal muscle capillaries in hemorrhagic shock // *Acta Physiol Scand*. 1980. V. 108(2). Pp. 159-163.
7. Bagge U., Skalak R., Attefors R. Granulocyte rheology. Experimental studies in an in vitro microflow system // *Adv Microcirc*. 1977. Pp. 29-48.
8. Deng Z., Lulevich V., Liu F.T., Liu G.Y. Applications of atomic force microscopy in biophysical chemistry of cells // *The journal of physical chemistry*. B. 2010. Vol.114. №18. Pp. 5971-5982.
9. Hörber J.K., Hüblerle W., Ohnesorge F., Binnig G., Liebich H.G., Czerny C.P., Mahnel H., Mayr A. Investigation of living cells in the nanometer regime with the scanning force microscope // *Scanning Microsc*. 1992. Vol. 6. Pp. 919-929.
10. Ushiki T., Hitomi J., Ogura S., Umemoto T., Shigeno M. Atomic force microscopy in histology and cytology // *Archives of histology and cytology*. 1996. Vol. 59. №5. Pp. 421-423.

© 2015, Присный А.А.

Микрорельеф целомоцитов представителей  
*Eisenia rosea* в условиях осмотической нагрузки

© 2015, Prisny A.A.

The effect of the osmotic stress on microrelief of  
*Eisenia rosea* coelomocytes