

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; γ_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) γ_{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 μm . 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 μm , 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