

DOI: 10.17117/na.2016.01.02.486

<http://ucom.ru/doc/na.2016.01.02.486.pdf>

Поступила (Received): 24.01.2016

Присный А.А.
Микрорельеф гемоцитов виноградной улитки
***Helix pomatia* в условиях осмотической нагрузки**

Prisny A.A.
The effect of the osmotic stress on microrelief
of *Helix pomatia* hemocytes

Описаны изменения топографии поверхности гемоцитов при контактных взаимодействиях с твердым субстратом и при воздействии сред, отличных от физиологически нормальной
Ключевые слова: гемоциты, 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: hemocytes, microrelief of cell surface; hypo- and hyperosmotic stress

Присный Андрей Андреевич

Кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник

Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко

г. Белгород, ул. Курская, 4

Prisny Andrey Andreevich

Candidate of Biology Science, Associate Professor, Senior researcher

All-Russian research institute for experimental veterinary medicine named Ya.R. Kovalenko
Belgorod, Kurskaya st., 4

Топография, или рельеф поверхности клеточной мембраны, является очень мобильной характеристикой: этот показатель меняется в зависимости от функционального состояния клетки [2, 6, 8]. Шероховатость поверхности, в свою очередь, представляет собой совокупность неровностей, образующих микрорельеф [7]. Количественная оценка шероховатости поверхности клеточных мембран имеет важное практическое значение, поскольку позволяет установить влияние гомогенности или гетерогенности поверхности на осуществление захвата инородных объектов при фагоцитозе и устойчивость к гипо- гиперосмотическим нагрузкам [9, 10].

Материалы и методы исследования. Объектами исследования служили гемоциты *Helix pomatia*, предварительно классифицированные по морфофункциональным особенностям на 4 типа [1]. Полученную гемолимфу делили на три части, к каждой части гемолимфы добавляли 10 мкл раствора NaCl определенной концентрации (гипотонический – 0,2 % NaCl, изотонический раствор – 0,4 % NaCl, гипертонический – 0,8 %). 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 амплитудных 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; sz – 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) sds ($1/\mu m^2$). Данный показатель демонстрирует количество вершин на единицу площади [4, 5, 9].

Результаты исследования и их обсуждение. Использование изображений, полученных при помощи атомно-силового микроскопа, позволило оценить характер изменения микрорельефа поверхности гемоцитов *H. pomatia* после инкубации в растворах различной концентрации.

Снижение осмотического давления вело к увеличению высоты больших амебоцитов и частичному расправлению мембраны. В изотонических условиях на поверхности клеток наблюдаются многочисленные гребни, на периферии присутствуют складки ламеллоплазмы. На сканограммах отчетливо видно резкое возрастание высоты клетки на графике. Показатели шероховатости достоверных изменений в условиях осмотической нагрузки не претерпевают.

Малые амебоциты в гипотонической среде не демонстрируют существенных изменений высоты, но их мембрана расправляется практически полностью, в то время как у нативных клеток на поверхности присутствуют небольшие складки мембраны.

Гранулоциты, при повышении осмолярности раствора, несколько увеличиваются в высоту, их поверхность остается умеренно складчатой. Для этого типа характерно преобладание ламеллоподий.

В условиях гипотонии высота прогемоцитов увеличивается, мембрана несколько расправляется, исчезают гребни. В гипертоническом растворе клетки не претерпевают достоверных изменений.

Заключение

В гипотонических условиях отмечали уменьшение значений показателей рельефа у всех типов гемоцитов. На поверхности клеток отсутствуют крупные возвышения и понижения. Выпячивания структур цитоскелета не отмечены, гребни и борозды отсутствуют. В условиях повышенного осмотического давления установлено сглаживание выпячиваний структур клеточной мембраны амебоцитов. Мембрана гемоцитов, не способных к активному передвижению,

увеличивает складчатость микрорельефа. Поверхность гранулоцитов и прогеоцитов демонстрирует рост значений шероховатости поверхности по сравнению с изотоническими условиями.

Список используемых источников:

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, том 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*. Выпуск 1 (7). *Электромагнитные поля и излучения в биологии и медицине*. Н. Новгород: Изд-во 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. Applications of atomic force microscopy in biophysical chemistry of cells / Z. Deng, V. Lulevich, F.T. Liu, G.Y. Liu // *The journal of physical chemistry*. B. 2010. Vol.114. No.18. P.5971-5982.
9. Hörber J.K. Investigation of living cells in the nanometer regime with the scanning force microscope / J.K. Hörber, W. Hiiberle, F. Ohnesorge, G. Binnig, H.G. Liebich, C.P. Czerny, H. Mahnel, and A. Mayr // *Scanning Microsc*. 1992. Vol.6. P.919-929.
10. Ushiki T. Atomic force microscopy in histology and cytology / T. Ushiki, J. Hitomi, S. Ogura, T. Umemoto, M. Shigeno // *Archives of histology and cytology*. 1996. Vol.59. No.5. P.421-423.

© 2016, Присный А.А.

Микрорельеф гемоцитов виноградной улитки *Helix pomatia* в условиях осмотической нагрузки

© 2016, Prisny A.A.

The effect of the osmotic stress on microrelief of *Helix pomatia* hemocytes