

стоящей работы также очевидно, что ригидность апоптотных тел со временем может изменяться. Ранее при длительных наблюдениях нами был зарегистрирован феномен осцилляции ригидности нейтрофильных гранулоцитов перед отпочковыванием апоптотных тел (Pleskova, 2010), тогда как в настоящем исследовании на более коротком временном отрезке мы наблюдали феномен плавного нарастания ригидности эндотелиоцита перед отпочковыванием апоптотных тел и плавное снижение ригидности самих апоптотных тел, за исключением момента их сморщивания, когда эти тенденции резко менялись местами.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают искреннюю благодарность С.А. Селькову и Д.И. Соколову (НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург) за предоставление клеточной линии EA.hy926.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 23-74-00004).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В работе не использовали животных или людей в качестве объектов исследования.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Gorn M.M., Хейтц У.И., Сверинген П.Л., Вебер К.С. 1999. Водно-электролитный и кислотно-основной баланс. СПб.—М.: Невский Диалект, БИНОМ. (Gorn M.M., Heitz W.I., Swearingen P.L., Weber K.S. 1999. Water-electrolyte and acid-base balance. SPb.—M.: Nevsky Dialect, BINOM) (Horne M.M., Heitz U.E., Swearingen P.L. 1991. Fluid, electrolyte, and acid-base balance: a case study approach. St. Louis: Mosby Inc.)
- Плескова С.Н. 2011. Атомно-силовая микроскопия в биологических и медицинских исследованиях. Долгопрудный: Интеллект. (Pleskova S.N. 2011. Atomic-force microscopy in biology and medicine. Dolgoprudny: Intellect.)
- Bai M., Grieshaber-Bouyer R., Wang J., Schmider A.B., Wilson Z.S., Zeng L., Halyabar O., Godin M.D., Nguyen H.N., Levescot A., Cunin P., Lefort C.T., Soberman R.J., Nigrovic P.A. 2017. CD177 modulates human neutrophil migration through activation-mediated integrin and chemoreceptor regulation. *Blood*. V. 130. P. 2092.
- Glasser L., Fiederlein R.L., Huestis D.W. 1985. Liquid preservation of human neutrophils stored in synthetic media at 22 degrees C: controlled observations on storage variables. *Blood*. V. 66. P. 267.
- Grzelak K., Łaszcz J., Polkowski J., Mastalski P., Kluczyński J., Łuszczek J., Torzewski J., Szachogłuchowicz I., Szymaniuk R.

2021. Additive manufacturing of plastics used for protection against COVID19 – the influence of chemical disinfection by alcohol on the properties of ABS and PETG polymers. *Materials (Basel)*. V. 14. P. 4823.
- Helms H.C., Abbott N.J., Burek M., Cecchelli R., Couraud P.O., Deli M.A., Förster C., Galla H.J., Romero I.A., Shusta E.V., Stebbins M.J., Vandenhoute E., Weksler B., Brodin B. 2016. *In vitro* models of the blood-brain barrier: An overview of commonly used brain endothelial cell culture models and guidelines for their use. *J. Cereb. Blood Flow. Metab.* V. 36. P. 862.
- Kérouédan O., Bourget J.M., Rémy M., Crauste-Manciet S., Kalisky J., Catros S., Thébaud N.B., Devillard R. 2019. Micropatterning of endothelial cells to create a capillary-like network with defined architecture by laser-assisted bio-printing. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* V. 30. P. 28. <https://doi.org/10.1007/s10856-019-6230-1>
- Kosheleva N.V., Efremov Y.M., Koteneva P.I., Ilina I.V., Zurina I.M., Bikmulina P.Y., Shpichka A.I., Timashev P.S. 2022. Building a tissue: mesenchymal and epithelial cell spheroids mechanical properties at micro- and nanoscale. *Acta Biomater.* V. 2022. S1742-7061(22)00621-3. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2022.09.051>
- Marin V., Kaplanski G., Grès S., Farnarier C., Bongrand P. 2001. Endothelial cell culture: protocol to obtain and cultivate human umbilical endothelial cells. *J. Immunol. Methods*. V. 254. P. 183.
- Pleskova S.N. 2010. Behavior of the living neutrophil granulocytes under a lipopolisaccharide condition observed in real time by atomic force microscopy. In: *Handbook of granulocytes. Classification, toxic materials produced and pathology*. N.Y.: Nova Science Publishers. P. 289.
- Pleskova S.N., Bobyk S.Z., Kriukov R.N., Gorshkova E.N., Novikov D.V., Vasilchikov P.I., Bezrukov N.A., Novikov V.V. 2021. *S. aureus* and *E. coli* change the force and work of adhesion between P- and E-selectins of endothelial cells and ligands of neutrophil granulocytes. *Micron*. V. 150. 103139. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2021.103139>
- Rodriguez-Quijada C., Dahl J.B. 2020. Non-contact microfluidic mechanical property measurements of single apoptotic bodies. *Biochim. Biophys. Acta. Gen. Subj.* V. 1865. P. 129657. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2020.129657>
- Roux F., Couraud P.O. 2005. Rat brain endothelial cell lines for the study of blood-brain barrier permeability and transport functions. *Cell. Mol. Neurobiol.* V. 25. P. 41.
- Shah Mohammadi M., Buchen J.T., Pasquina P.F., Niklason L.E., Alvarez L.M., Jariwala S.H. 2021. Critical considerations for regeneration of vascularized composite tissues. *Tissue Eng. B. Rev.* V. 27. P. 366.
- Watanabe S., Lehmann M., Hujber E., Fetter R.D., Richards J., Söhl-Kielczynski B., Felies A., Rosenmund C., Schmoranzler J., Jorgensen E.M. 2014. Nanometer-resolution fluorescence electron microscopy (nano-EM) in cultured cells. *Methods Mol. Biol.* V. 1117. P. 503.

Study of EA.hy926 Endothelial Cells by Atomic Force and Scanning Ion-Conductance Microscopy

S. N. Pleskova^{a, b, *}, N. A. Bezrukov^a, E. N. Gorshkova^a, S. Z. Bobyk^a, and E. V. Lazarenko^{a, b}

^aLobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Scanning Probe Microscopy Laboratory, Nizhny Novgorod, 603950 Russia

^bNizhny Novgorod State Technical University, Department of Nanotechnology and Biotechnology, Nizhny Novgorod, 603115 Russia

*e-mail: pleskova@mail.ru

A two-section analytical system was developed and tested to study the culture of EA.hy926 endothelial cells in real time with high resolution imaging. Scanning ion-conductance microscopy was shown as more relevant method because it didn't cause mechanical damage of cell, and made possible scanning on the membranes, when endothelial cells were surrounded by nutrient medium. The method allowed not only to analyze changes in the cells morphology, but also to identify extracellular (microfilaments) and intracellular (nucleolus) structures. The rigidity mapping showed that the rigidity of the endotheliocyte membrane varied from 357 to 796 Pa. After 240 min from the beginning of the observation, the formation of endothelial cells apoptotic bodies has begun, and the rigidity of the cell gradually increased, while rigidity of the apoptotic bodies decreased.

Keywords: endotheliocytes, apoptosis, membrane rigidity, cell morphology, microstructures, two-section analytical chamber, scanning ion-conductance microscopy, atomic force microscopy