



Оригинальная статья

Применение метода интерференционной микроскопии для изучения структурных характеристик дермальных фибробластов в культуре

Нефедова И.Ф.¹ • Россинская В.В.¹

Нефедова Ирина Феликсовна – науч. сотр. Института экспериментальной медицины и биотехнологий¹
✉ 443079, г. Самара, ул. Гагарина, 20, Российская Федерация.
Тел.: +7 (927) 264 61 21.
E-mail: bobrovka2012@yandex.ru

Россинская Виктория Викторовна – канд. мед. наук, доцент, вед. науч. сотр. Института экспериментальной медицины и биотехнологий¹

Актуальность. Применение методов электронной, атомно-силовой и конфокальной микроскопии для скрининга биологически активных соединений, изделий медицинского назначения и экспресс-диагностики ряда заболеваний на клеточном уровне связано с трудоемкой и длительной пробоподготовкой, которая не исключает возможность погрешностей измерений и возникновения артефактов. Этим недостатком лишен метод модуляционной интерференционной микроскопии, позволяющий осуществлять неинвазивные исследования клеточной структуры, получать изображение с нанометровым разрешением и проводить анализ оптических свойств объекта. **Цель** – оценить возможность использования метода интерференционной микроскопии при изучении морфофункциональных характеристик ядер клеток в культуре на примере дермальных фибробластов при воздействии митомицином *in vitro*. **Материал и методы.** Нативную культуру дермальных фибробластов человека 6-го пассажа, выращенную на стекле с зеркальным напылением в лаборатории культуры клеток Института экспериментальной медицины и биотехнологий ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, исследовали при помощи модуляционного интерференционного микроскопа МИМ-340 (АО «ПО «УОМЗ», Россия). Оценивали динамику структурных характеристик ядер дермальных фибробластов при воздействии митомицином в условиях *in vitro*. Контрольную группу составила культура фибробластов, культивируемая в аналогичных условиях на стеклах с зеркальным покрытием без добавления митомицина. Исследования на МИМ-340 проводили через 3 часа, 1 сутки и 4 суток после воздействия цитостатиком. Контрольную

группу исследовали в те же сроки. **Результаты.** Показано, что культура клеток, выращенная на диэлектрических стеклах, по морфофункциональным характеристикам не отличается от культуры, выращенной на культуральном пластике. Тем самым доказана возможность изучения адгезивной культуры в нативном состоянии с использованием интерференционной микроскопии. Установлено, что на однократное воздействие митомицином 0,04% клетки отвечают изменением формы на шаровидную и резким увеличением фазовой толщины ядер (217,8 против 142,18 нм в контрольной группе, $p \leq 0,05$). В последующие сроки происходит восстановление морфофункциональных характеристик клеток, что подтверждается динамикой изменений плотности культуры, формы и размеров клеток, а также фазовой толщины ядра. **Заключение.** Полученные результаты позволяют рекомендовать метод модуляционной интерференционной микроскопии для изучения токсичности и биосовместимости лекарственных средств, а также изделий медицинского назначения и физических факторов, используемых для диагностики и лечения.

Ключевые слова: адгезивная культура, модуляционный интерференционный микроскоп, фазовая толщина, пролиферация

Для цитирования: Нефедова ИФ, Россинская ВВ. Применение метода интерференционной микроскопии для изучения структурных характеристик дермальных фибробластов в культуре. Альманах клинической медицины. 2018;46(8):778–83. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-8-778-783.

Поступила 17.04.2018;
принята к публикации 04.12.2018

¹ ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России; 443099, г. Самара, ул. Чапаевская, 89, Российская Федерация



В последние годы широкое распространение в медико-биологических исследованиях получили методы электронной, атомно-силовой и конфокальной микроскопии. Среди важных приложений таких методов следует отметить скрининг биологически активных соединений, изделий медицинского назначения и экспресс-диагностику ряда заболеваний на клеточном уровне. Однако их применение связано с трудоемкой и длительной пробоподготовкой, которая, тем не менее, не исключает возможность погрешностей измерений и возникновения артефактов.

Весьма перспективным в этом контексте оказывается метод интерференционной лазерной микроскопии, разработанный на основе быстродействующих оптических профилометров нового поколения [1, 2]. Его уникальная особенность – принципиально новый алгоритм вычисления фазы отраженного от объекта волнового фронта, сочетающий в себе быстродействие методов фазовых шагов [3] и сверхразрешение фазометрических методов (метод временных интервалов) [4, 5]. Такой подход позволяет осуществлять неинвазивные исследования клеточной структуры, получать изображение с нанометровым разрешением и проводить анализ оптических свойств объекта [3, 6], максимально исключая погрешности и присутствие артефактов. Модуляционная интерференционная микроскопия уже используется в изучении таких объектов, как клетки крови, опухольевые клетки, нейрон-глиальная сеть, а также бактерии и споры микроорганизмов [7–11].

Скрининг лекарственных препаратов, материалов, физических факторов диагностики и лечения часто проводится на адгезивных клетках. Для проведения таких тестирований разработано и используется большое количество разнообразных протоколов. Расширение комплекса методов, применяемых в этих протоколах, позволяет полнее оценить результаты тестирования. При этом предпочтение следует отдавать тем методам, которые не требуют трудоемкого подготовительного этапа. В этой связи модуляционная интерференционная микроскопия представляет большой интерес с точки зрения возможности изучать нативную культуру без использования дополнительных окрашиваний.

Цель – оценить возможность использования метода интерференционной микроскопии при изучении морфофункциональных характеристик ядер клеток в культуре на примере

дермальных фибробластов при воздействии митомицином *in vitro*.

Материал и методы

Разработанный АО «ПО «УОМЗ» (Россия) модуляционный интерференционный микроскоп МИМ-340 был передан Институту экспериментальной медицины и биотехнологий (ИЭМБ) ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России в рамках договора о временном безвозмездном пользовании в целях адаптации данного прибора для проведения медико-биологических исследований (Договор № А0104 от 04.05.2015).

Предметом исследования была культура дермальных фибробластов человека 6-го пассажа, выращенная в лаборатории культуры клеток Института экспериментальной медицины и биотехнологий ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. Лаборатория соответствует требованиям GMP и GLP, оснащена комплексом «чистых помещений» класса Б, в которых размещено необходимое оборудование, позволяющее создавать зоны чистоты класса А согласно ГОСТ Р ИСО 14644.

Первичный материал получали у доноров с соблюдением всех требований биоэтики после подписания информированного согласия и одобрения исследования Комитетом по биоэтике ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России (протокол № 184 от 03.05.2017). Фибробласты высевали в дозе 5×10^4 кл/стекло на стерильные диэлектрические стекла (25×76 мм) с зеркальным покрытием, которые помещали в стерильные чашки Петри и заливали полной ростовой средой (среда 199 – 90%, эмбриональная телячья сыворотка – 10% (среда и сыворотка – ООО «БиолоТ», Россия), гентамицин – 40 мкг/мл). Культивирование проводили в условиях CO_2 -инкубатора (Sanyo – Incubator, MCO-18AC, Япония) при температуре 37 °C, 5% CO_2 и постоянной влажности. Через 1 сутки после посева, когда клетки сформировали на стеклах диффузный монослой небольшой плотности, из чашек Петри удаляли ростовую среду и заменяли ее ростовой средой с содержанием митомицина 0,04%. Через 2 минуты среду с митомицином удаляли, стекла однократно промывали раствором Хенкса и заливали полной ростовой средой. Контрольную группу составила культура фибробластов, культивированная в аналогичных условиях на стеклах с зеркальным покрытием без добавления митомицина. Далее препараты обеих групп инкубировали в указанных выше условиях.

Исследования на МИМ-340 проводили через 3 часа, 1 сутки и 4 суток после воздействия цитостатиком. Контрольную группу исследовали в те же сроки. При помощи камеры белого света оценивали строение и характер роста фибробластов. С помощью лазера измеряли поперечные размеры ядер фибробластов и их фазовую толщину.

В эксперименте было задействовано по 12 стекол в опытной и контрольной группах (по 4 стекла на каждый срок). В каждом препарате (стекле) измеряли не менее 20 ядер фибробластов.

Результаты были представлены в виде среднего арифметического значения (M) и стандартного отклонения (σ). Для определения равнозначности сравниваемых групп использовали t -критерий Стьюдента. Статистически значимыми считали различия при вероятности ошибки первого рода менее 0,05 ($p < 0,05$). Статистический анализ проводили с использованием программы Excel 2010 (Microsoft corp., США).

Результаты и обсуждение

Для проведения исследований на МИМ-340 образцы должны быть размещены на диэлектрическом стекле с зеркальным напылением. Нативные клетки крови можно наблюдать в препарате, приготовленном методом «раздавленной капли». При этом их морфологические характеристики не изменяются, чего нельзя сказать об адгезивной культуре. Наш опыт показал, что если приготовить такой препарат из суспензии фибробластов, при микроскопии визуализируются «ошаренные» клетки (рис. 1А). В препарате мы наблюдаем выпуклые клетки округлой формы с трудноразличимым ядром и оптически однородной цитоплазмой. Такая картина не характерна для нормальной адгезивной культуры. Фибробласты в культуре растут прикрепленными к субстрату, по которому распластываются и образуют монослой. При снятии с субстрата в суспензии адгезивные клетки, в том числе фибробласты, принимают компактную функциональную форму для временного приспособления к неблагоприятным условиям.

Для того чтобы получить возможность изучать нативную культуру в естественном состоянии с помощью МИМ-340, было принято решение вырастить клетки непосредственно на стекле с зеркальным напылением. Поскольку клетки *in vitro* культивируются только в стерильных условиях, а стекла поставляются

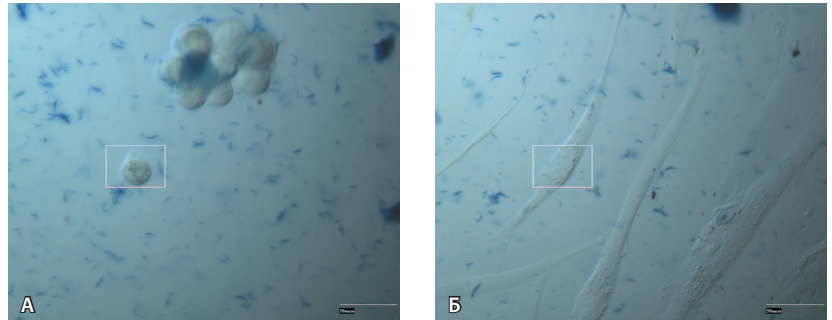


Рис. 1. Адгезивная культура фибробластов: А – в суспензии (без посева); Б – на диэлектрическом стекле, 24 часа после посадки. Камера белого света. Окраска трипановым синим

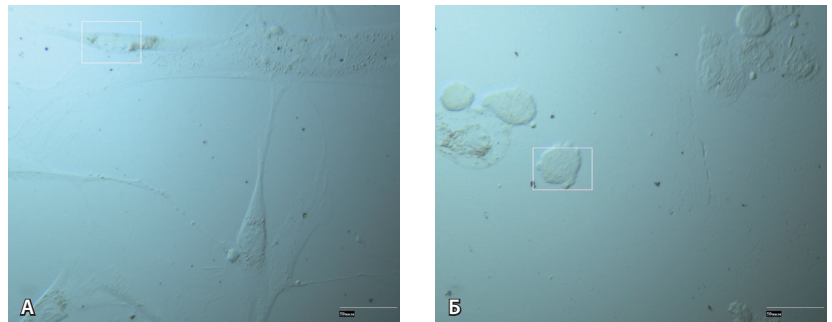


Рис. 2. Нативные фибробласты (время наблюдения – 3 часа): А – контрольная группа; Б – опытная группа (после однократного воздействия митомицином)

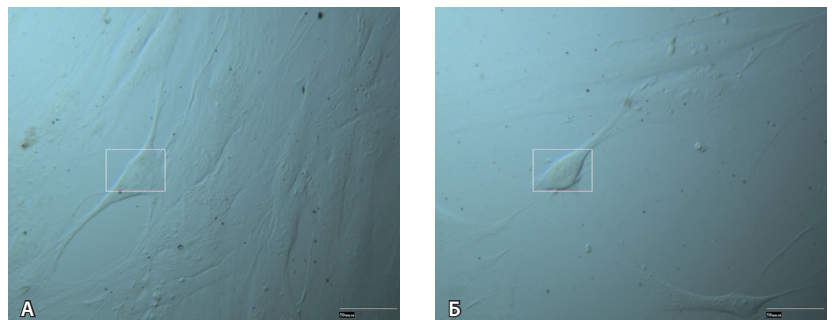


Рис. 3. Нативные фибробласты (время наблюдения – 1 сутки): А – контрольная группа; Б – опытная группа (после однократного воздействия митомицином)

нестерильными, нами был разработан метод их стерилизации [12].

После посадки непосредственно на диэлектрическое стекло клетки вели себя в принципе так же, как при посеве на культуральный пластик. В положенный срок они прикреплялись к диэлектрическим стеклам, распластывались по поверхности, устанавливали контакты между отростками, тем самым формируя монослой (рис. 1Б). Ввиду более слабого сцепления клеток



с зеркальной поверхностью такие показатели, как индекс адгезии и время удвоения (отражает пролиферативную активность культуры), были несколько ниже, чем при росте клеток на культуральном пластике. Индекс адгезии составил 85 и 96% соответственно, время удвоения через 2 суток после посева – $35,39 \pm 1,17$ и $31,35 \pm 0,61$ ч. Время удвоения было стабильным на всем протяжении эксперимента, что обеспечило прогрессивное увеличение плотности монослоя. При этом до конца эксперимента соотношение живых и мертвых клеток в монослое на разных поверхностях практически не различалось и составило $95,53 \pm 1,57\%$ на зеркале и $97,61 \pm 2,14\%$ на пластике [1]. Следовательно, требования к условиям работы на МИМ-340 не являются препятствием для изучения адгезивных культур клеток в нативном состоянии.

Клетки контрольной группы практически не отличались от выращенных на культуральном пластике: они имели веретенообразную форму (рис. 2А), четко визуализирующееся ядро, от 1 до 3 отростков, характер роста тоже соответствовал нормальной культуре.

Уже через 3 часа после однократного воздействия митомицином большая часть фибробластов теряла отростки и приобретала округлую форму. Целостность монослоя нарушалась, клетки на стеклах располагались поодиночке или небольшими группами, во многих фибробластах не удавалось визуализировать ядро и цитоплазму. У ряда фибробластов наблюдалось выпячивание клеточной мембраны (рис. 2Б) с последующим образованием экзосом ($37,4 \pm 1,8\%$), в контрольной группе такие явления определялись значительно реже ($1,7 \pm 0,2\%$).

В контрольной группе в последующие наблюдаемые сроки морфофункциональные характеристики культуры фибробластов соответствовали таковым, выращенным на культуральном пластике (рис. 3А).

В опытной группе через сутки после воздействия митомицином уменьшалось количество ошаренных клеток (рис. 3Б). Клетки начинали расплываться и приобретать характерную для фибробластов форму.

Через 4 суток в опытной группе клетки имели характерную веретенообразную форму с 2–3 анастомозирующими между собой отростками, но в отличие от контрольной культуры характер роста был хаотичный. Зарост был менее плотный, чем в контроле. Встречалось большое количество фрагментов погибших клеток. Количество ошаренных клеток в 3 раза

Фазовая толщина ядер дермальных фибробластов при воздействии митомицином, $M \pm \sigma$, нм

Время эксперимента	Контроль	Опытная группа
3 часа	$142,18 \pm 41,86$	$217,8 \pm 78,28^*$
1 сутки	$173,56 \pm 67,99$	$186,56 \pm 61,72$
4 суток	$167,78 \pm 63,45$	$235,45 \pm 73,90^*$

* $p \leq 0,05$

превышало аналогичный показатель в контрольной группе.

Фазовая толщина ядер фибробластов через 3 часа после воздействия митомицином в опытной группе значимо увеличивалась (на 53%) по отношению к контрольной (таблица). Это вызвано изменением формы клеток и значительным уменьшением площади прикрепления их к поверхности стекла. Здесь следует обратить внимание на несоответствие терминов «геометрическая толщина» и «фазовая толщина» объекта. Если первый описывает реальную толщину объекта и выражается величинами порядка мкм, то второй зависит от оптических свойств объекта и иммерсионной среды и имеет порядок десятков нм [13]. Через сутки этот показатель уменьшался на 17% и практически выравнивался с контрольным, что связано с расплыванием клеток и, следовательно, увеличением их площади. Через 4 суток фазовая толщина ядер фибробластов в опытной группе возросла по сравнению с предыдущим сроком на 26% и превышала показатель контрольной группы на 40%.

Таким образом, увеличение фазовой толщины ядер через 3 часа после воздействия митомицином является ответной реакцией фибробластов на данный препарат. Через 1 сутки уменьшение средней фазовой толщины ядер связано с преобладанием в препарате распластанных клеток, находящихся предположительно в премитотической фазе. Изучение препаратов при помощи камеры белого света в последующие сроки показало активную пролиферацию фибробластов в опытной группе, что подтверждалось высоким показателем фазовой толщины через 4 суток.

Определенную зависимость фазовой толщины от этапа жизненного цикла выявила группа ученых при исследовании стадий прорастания спор. Споры, прорастая, растворяют наружную оболочку и принимают «распластанную форму» [10]. Фибробласты, напротив, готовясь к митозу, подбиают отростки и приобретают округлую форму.



Заключение

Наши исследования убедительно продемонстрировали возможность использования метода интерференционной микроскопии для изучения нативных клеток в монослое. Преимущество такого методического подхода – в отсутствии длительной и трудоемкой пробоподготовки.

Выявленная зависимость фазовой толщины ядер дермальных фибробластов от морфофункционального состояния клеток обосновывает информативность данного показателя при изучении адгезивной культуры *in vitro*.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Финансирование

Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц.

Полученные результаты дают основание предполагать перспективность практического применения метода модуляционной интерференционной микроскопии при изучении токсичности и биосовместимости лекарственных средств, изделий медицинского назначения, а также физических факторов, используемых для диагностики и лечения. При этом дополнительное оснащение МИМ-340 стерильным термостатом позволит проводить тестирование на одних и тех же культурах в динамике, что еще больше повысит информативность метода. ☺

Литература

1. Нефедова ИФ, Россинская ВВ, Волова ЛТ, Болтовская ВВ, Кулагина ЛН. Использование возможностей интерференционной микроскопии для изучения культуры адгезивных клеток. Современные проблемы науки и образования. 2017;(5) [Электронный ресурс]. Доступно на: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=26800> (дата обращения: 29.09.2017).
2. Popescu G, Park Y. Quantitative phase imaging in biomedicine. *J Biomed Opt.* 2015;20(11): 111201. doi: 10.1117/1.JBO.20.11.111201.
3. Лопарев АВ, Игнатъев ПС, Индукаев КВ, Осипов ПА, Мазалов ИН, Козырев АВ. Высокоскоростной модуляционный интерференционный микроскоп для медико-биологических исследований. Измерительная техника. 2009;(11):60–4.
4. Бункин НФ, Суязов НВ, Шкирин АВ, Игнатъев ПС, Индукаев КВ. Определение микроструктуры газовых пузырьков в глубоко очищенной воде по измерениям элементов матрицы рассеяния лазерного излучения. *Квантовая электроника.* 2009;39(4):367–81. doi: 10.1070/QE2009v039n04ABEH013892.
5. Yang SA, Yoon J, Kim K, Park Y. Measurements of morphological and biophysical alterations in individual neuron cells associated with early neurotoxic effects in Parkinson's disease. *Cytometry A.* 2017;91(5):510–8. doi: 10.1002/cyto.a.23110.
6. Василенко ИА, Кардашова ЗЗ, Тychинский ВП, Вишенская ТВ, Лифенко РА, Валов АЛ, Иванюта ИВ, Агаджанян БЯ. Клеточная диагностика: возможности витальной компьютерной микроскопии. *Вестник последиplomного медицинского образования.* 2009;(3–4):64–8.
7. Иванова ЕВ, Щербаклова ЭГ, Рабинович ОФ, Барсуков АА, Ежова ЕГ, Василенко ИА. Современные подходы к патогенетической терапии плоского лишая слизистой оболочки рта. *Стоматология.* 2005;84(5):28–31.
8. Evans AA, Bhaduri B, Popescu G, Levine AJ. Geometric localization of thermal fluctuations in red blood cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2017;114(11):2865–70. doi: 10.1073/pnas.1613204114.
9. Арсениук АЮ, Павлова ИБ, Игнатъев ПС. Исследование процесса L-трансформации в популяции сальмонелл методами электронной лазерной интерференционной микроскопии. *Сельскохозяйственная биология.* 2013;48(6):55–60. doi: 10.15389/agrobiology.2013.6.55rus.
10. Тychинский ВП, Николаев ЮА, Лисовский ВВ, Кретушев АВ, Вышенская ТВ, Мулюкин АЛ, Сузина НА, Дуда ВИ, Эль-Регистан ГИ. Исследования ранних стадий прорастания спор *Bacillus licheniformis* методом динамической фазовой микроскопии. *Микробиология.* 2007;76(2):191–9.
11. Власова ЕА, Василенко ИА, Суслов ВП, Пашкин ИН. Динамика морфометрических показателей тромбоцитов периферической крови как критерий оценки тромбогенности диализных мембран. *Урология.* 2011;(2): 36–41.
12. Кулагина ЛН, Болтовская ВВ, Долгушкин ДА, Нефедова ИФ, Россинская ВВ, авторы; ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, патентообладатель. Способ обработки предметных стекол с зеркальным покрытием. Пат. 2639768 Рос. Федерация. Опубл. 22.12.2017.
13. Tychinsky V, Kretushev AV, Klemyashov IV, Zverzhkhovskiy VD, Vyshenskaya TV, Shtil AA. Quantitative phase imaging of living cells: application of the phase volume and area functions to the analysis of "nucleolar stress". *J Biomed Opt.* 2013;18(11):111413. doi: 10.1117/1.JBO.18.11.111413.

References

1. Nefedova IF, Rossinskaya VV, Volova LT, Boltovskaya VV, Kulagina LN. Use of phase microscopy possibilities for studying the culture of adhesive cells. *Modern Problems of Science and Education.* 2017;(5) [Internet]. Available from: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=26800> (accessed 29 September 2017). Russian.
2. Popescu G, Park Y. Quantitative phase imaging in biomedicine. *J Biomed Opt.* 2015;20(11): 111201. doi: 10.1117/1.JBO.20.11.111201.
3. Loparev AV, Ignat'ev PS, Indukaev KV, Osipov PA, Mazalov IN, Kozыrev AV. A high-speed modulation interference microscope for biomedical studies. *Meas Tech.* 2009;52(11):1229–35. doi: 10.1007/s11018-010-9426-9.
4. Bunkin NF, Suyazov NV, Shkirin AV, Ignatiev PS, Indukaev KV. Determination of the microstructure of gas bubbles in highly purified water by measuring the elements of the laser radiation scattering matrix. *Quantum Electronics.* 2009;39(4):367–81. Russian. doi: 10.1070/QE2009v039n04ABEH013892.
5. Yang SA, Yoon J, Kim K, Park Y. Measurements of morphological and biophysical alterations in individual neuron cells associated with early neurotoxic effects in Parkinson's disease. *Cytometry A.* 2017;91(5):510–8. doi: 10.1002/cyto.a.23110.
6. Vasilenko IA, Kardashova ZZ, Tychinskiy VP, Vishenskaya TV, Lifenko RA, Valov AL, Ivanyuta IV, Agadzhanian BYa. Cellular diagnostics: the possibilities of vital computer microscopy. *Journal of Postgraduate Medical Education.* 2009;(3–4):64–8. Russian.
7. Ivanova EV, Shcherbakova EG, Rabinovich OF, Barsukov AA, Ezhova EG, Vasilenko IA. Modern approaches to pathogenetic therapy of flat lichen mucosa of the mouth. *Stomatologiya.* 2005;84(5):28–31. Russian.



8. Evans AA, Bhaduri B, Popescu G, Levine AJ. Geometric localization of thermal fluctuations in red blood cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017;114(11):2865–70. doi: 10.1073/pnas.1613204114.
9. Arsenyuk AYu, Pavlova IB, Ignat'ev PS. Examination of L-transformation in Salmonella by electron and laser interference microscopy. *Agricultural Biology*. 2013;48(6):55–60. doi: 10.15389/agrobiol.2013.6.55rus. Russian.
10. Tychinskii VP, Nikolaev YuA, Lisovskii VV, Kretushev AV, Vyshenskaya TV, Mulyukin AL, Suzina NE, Duda VI, El'-Registan GI. Research on the early stages of spore germination in *Bacillus licheniformis* using dynamic phase microscopy. *Microbiology*. 2007;76(2):164–71. doi: 10.1134/S0026261707020063.
11. Vlasova EA, Vasilenko IA, Suslov VP, Pashkin IN. Dynamics of morphometric parameters of peripheral blood platelets as a criterion in assessing thrombogenicity of dialysis membranes. *Urologiia*. 2011;(2):36–41. Russian.
12. Kulagina LN, Boltovskaya VV, Dolgushkin DA, Nefedova IF, Rossinskaya VV, inventors; Samara State Medical University, assignee. The method of processing of slide glasses with a mirror coating. Russian Federation patent 2639768. 2017 Dec 22.
13. Tychinsky V, Kretushev AV, Klemyashov IV, Zverzhkhovskiy VD, Vyshenskaya TV, Shtil AA. Quantitative phase imaging of living cells: application of the phase volume and area functions to the analysis of "nucleolar stress". *J Biomed Opt*. 2013;18(11):111413. doi: 10.1117/1.JBO.18.11.111413.

The use of the interference microscopy to study structural characteristics of cultured dermal fibroblasts

I.F. Nefedova¹ • V.V. Rossinskaya¹

Rationale: The use of electron, nuclear power and confocal microscopy for the screening of biologically active compounds, medical products and express diagnostics of some diseases at the cell level is associated with labor- and time-consuming sample preparation, which cannot exclude potential measurement errors and artifacts. The modulation interference microscopy does not have these disadvantages; it allows for non-invasive studies of cell structures, imaging with nanometer resolution and analysis of the optical properties of an object.

Aim: To assess the potential of the interference microscopy in the evaluation of morphofunctional characteristics of *in vitro* mitomycin conditioned cultured cell nuclei (dermal fibroblasts taken as a model). **Materials and methods:** Native culture of human dermal fibroblasts of the 6th passage, grown on glass with mirror coating in the cell culture laboratory of the Institute of Experimental Medicine and Biotechnology of Samara State Medical University (Russia), was examined with a modulation interference microscope MIM-340 (JSC PA UOMZ, Russia). Changes over time in the structural characteristics of dermal fibroblast nuclei conditioned with mitomycin were evaluated. The control group included fibroblasts cultured in the same conditions on glass with mirror coating without mitomycin. Imaging with MIM-340 was done at three hours, one and four days after adding the cytostatic. The control group was assessed at the same time points. **Results:** We have

shown that the cell culture grown on dielectric glasses does not differ in its morphofunctional characteristics from the culture grown on culture plastics. This proves the possibility to study the adhesive native culture using interference microscopy. We have found that the cells respond to a single mitomycin 0.04% exposure with a change to a globular shape and a sharp increase in the nuclear phase thickness (217.8 vs. 142.18 nm in the control group, $p \leq 0.05$). Thereafter, the morphofunctional characteristics of the cells are restored, which is confirmed by the changes over time in the culture density, cell shape and size, and the phase thickness of the nucleus. **Conclusion:** The results obtained make it possible to recommend the method of modulation interference microscopy for evaluation of toxicity and biocompatibility of drugs, medical products and physical factors for diagnosis and treatment.

Key words: adhesive culture, modulation interference microscope, phase thickness, proliferation

For citation: Nefedova IF, Rossinskaya VV. The use of the interference microscopy to study structural characteristics of cultured dermal fibroblasts. *Almanac of Clinical Medicine*. 2018;46(8):778–83. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-8-778-783.

Received 17 April 2018;
accepted 04 December 2018

Irina F. Nefedova – Research Fellow, Institute of Experimental Medicine and Biotechnology¹
✉ 20 Gagarina ul., Samara, 443079, Russian Federation. Tel.: +7 (927) 264 61 21.
E-mail: bobrovka2012@yandex.ru

Viktoriya V. Rossinskaya – MD, PhD, Associate Professor, Leading Research Fellow, Institute of Experimental Medicine and Biotechnology¹

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests.

¹Samara State Medical University; 89 Chapayevskaya ul., Samara, 443099, Russian Federation