

Для выявления предикторов наджелудочковой экстрасистолии (НЖЭС) были проанализированы данные пациентов с СОАС (60 человек). На первом этапе отобраны факторы, имеющие достоверную корреляцию с НЖЭС (использовался коэффициент ранговой корреляции Спирмена). Далее, с помощью процедуры пошаговой регрессии отобраны наиболее значимые параметры (таблица 3).

Таблица 3 — Предикторы развития наджелудочковой экстрасистолии у пациентов с СОАС

Предикторы	Beta	Std.Err. — of Beta	B	Std.Err. — of B	t(39)	p-level
Коэффициент	—	—	-9001,37	2888,435	-3,114	0,003
ИАГ	0,404	0,131	69,02	22,961	3,006	0,058
норметанефрин	0,372	0,134	61,14	22,091	2,763	0,005
ЗСЛЖ диаст	0,908	0,027	0,148	0,00683	21,771	0,258
ИММЛЖ	-0,893	0,029	-0,007	0,00037	-19,931	0,648
Обхват шеи	0,493	0,128	87,011	12,556	1,634	0,006
КДОsimps	0,276	0,018	0,006	0,0005	13,637	0,102

Для того, чтобы оценить влияние на нарушения ритма, в частности на НЖЭС, и найти наиболее ценные и значимые предикторы, строились модели с разными наборами из показателей, представленных в таблице 3. Полученные уравнения проверялись на адекватность с помощью функции правдоподобия $-2\log$. Таким образом, отобраны два предиктора «обхват шеи» и «норметанефрин». Для предикторов построена ROC-кривая. Площадь под кривой для обхвата шеи — 0,68. Точка отсечения (пороговое значение) — 45 см (чувствительность — 76,2 %, специфичность — 62,5 %). Площадь под кривой для норметанефрина — 0,82. Точка отсечения (пороговое значение) — 300,25 пг/мл (чувствительность — 81,2 %, специфичность — 71,7 %).

Выводы

Предикторами нарушений ритма у пациентов с ишемической болезнью сердца и обструктивным апноэ являются: уровень мелатонина $\leq 5,95$ пг/мл (чувствительность — 70 %, специфичность — 69 %), уровень лептина $\geq 23,35$ пг/мл (чувствительность — 69 %, специфичность — 50 %), значение ИАГ $\geq 36,3/ч$ (чувствительность — 62 %, специфичность — 71 %), уровень метанефрина $\geq 135,1$ пг/мл (чувствительность — 85 %, специфичность — 89 %), уровень норметанефрина $\geq 300,25$ пг/мл (чувствительность — 81,2 %, специфичность — 71,7 %), обхват шеи ≥ 45 см (чувствительность — 76,2 %, специфичность — 62,5 %).

ЛИТЕРАТУРА

1. Increased prevalence of sleep-disordered breathing in adults / P. E. Peppard [et al.] // Am. J. of Epidemiol. — 2013. — Vol. 177, № 9. — P. 1006–1014.
2. Triggering of nocturnal arrhythmias by sleep-disordered breathing events / K. Monahan [et al.] // J. of the Am. Coll. of Cardiol. — 2009. — Vol. 54, № 19. — P. 1797–1804.
3. Obstructive sleep apnea, obesity, and the risk of incident atrial fibrillation / A. S. Gami [et al.] // J. of the Am. Coll. of Cardiol. — 2007. — Vol. 49, № 5. — P. 565–571.
4. Characterizing the phenotypes of obstructive sleep apnea: clinical, sleep, and autonomic features of obstructive sleep apnea with and without hypoxia / J. A. Palma [et al.] // Clin. Neurophysiol. — 2014. — Vol. 125, № 9. — P. 1783–1791.

УДК 576.3:611.018.7:611.33]:577.16.086

МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ НАНОМЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КЛЕТОК ЭПИТЕЛИЯ ЖЕЛУДКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ

Шафрост А. С.¹, Воронаев Е. В.¹, Стародубцева М. Н.¹, Ачинович С. Л.²

¹Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»,

²«Гомельский областной клинический онкологический диспансер»

г. Гомель, Республика Беларусь

Введение

Заболевания желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) являются одними из наиболее распространенных среди населения планеты – от них страдает около 50 % населения.

Одним из наиболее тяжелых патологий ЖКТ является рак желудка. По данным К. М. Brawner с коллегами, данная патология занимает 4-е место по распространенности среди всех типов злокачественных новообразований [1]. По данным Всемирной организации здравоохранения, в 2018 г. зафиксировано 783 тыс. случаев смерти от рака желудка [2]. Следует отметить, что в 80 % случаев выявление рака желудка происходит на IV стадии, когда вероятность успешного лечения крайне мала. Использование общепринятых диагностических методов далеко не всегда позволяет определить наличие опухоли на ранних этапах ее развития. Для усиления диагностических возможностей раннего выявления рака и предраковых состояний слизистой оболочки желудка (СОЖ) в современной медицинской практике находят применение новые методы и подходы.

Одним из таких методов является изучение возможностей использования атомно-силовой микроскопии (АСМ). Диагностические подходы, основанные на принципах АСМ, используются в оценке состояния клеток СОЖ при различных патологических процессах относительно недавно [3]. Разработка методики, позволяющей проводить оценку состояния клеток желудка и их дальнейший анализ с помощью АСМ, даст возможность использовать дополнительные критерии расширяющие диагностический потенциал современного исследователя.

Цель

Разработка и апробация методики подготовки образцов клеток для исследования структурных и механических свойств клеток эпителия желудка методом АСМ.

Материал и методы исследования

Работа выполнялась на атомно-силовом микроскопе NT-206 производства ОДО «Микротестмашины» (г. Гомель). Объектом исследования являлись клетки эпителия СОЖ, полученные из операционного материала, пациентов, находившихся на лечении в Гомельском областном клиническом онкологическом диспансере. Биоптаты СОЖ использовали для получения мазков-отпечатков. Химическую фиксацию клеточных структур, прикрепленных к поверхности предварительно обработанной стеклянной подложки, проводили в течение 20 мин с помощью 1 % раствора глутарового альдегида в однократном фосфатно-солевом буфере (1x PBS, pH = 7,4). После этого образцы высушивали при комнатной температуре.

Измерение проводили в контактном режиме на воздухе с использованием зонда CSC-38 (зонд В, MicroMash, Эстония) с разрешением 128×128 пикселей (размер области сканирования 36×36, 20×20, 10×10, 5×5 мкм²) или 256×256 пикселей (размер области сканирования 2,5×2,5 мкм²). Для получения количественных характеристик клеток использовали изображение размером 2,5×2,5 мкм². Анализ полученных результатов проводили с помощью программы SurfaceXplorer 1.3.1.1 и модуля «Анализ данных» Excel 2010.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате выполнения работ были получены АСМ-изображения клеток СОЖ в контактном режиме, которые приведены на рисунке 1.

Клетка 1 овальной формы с выступом верхней части, имеет максимальные размеры 14,4×15,9×2,0 мкм и характеризуется наличием рельефных элементов поверхности длиной 1,5–2,5 мкм. Края клетки характеризуются высокой крутизной. Объемные структуры рядом с клеткой, возможно, являются частицами слизи или тканевой жидкости. Клетка 2 имеет овальную форму, ее края четко очерчены и характеризуются незначительным перепадом высот по отношению к окружающей поверхности. Максимальные размеры 8,5×10×1,6 мкм. В центральной части хорошо различимы две крупные куполообразные структуры.

Помимо этого, выполнены измерения других параметров клеток СОЖ на участках размером 2,5×2,5 мкм. Полученные значения представлены в таблице 1.

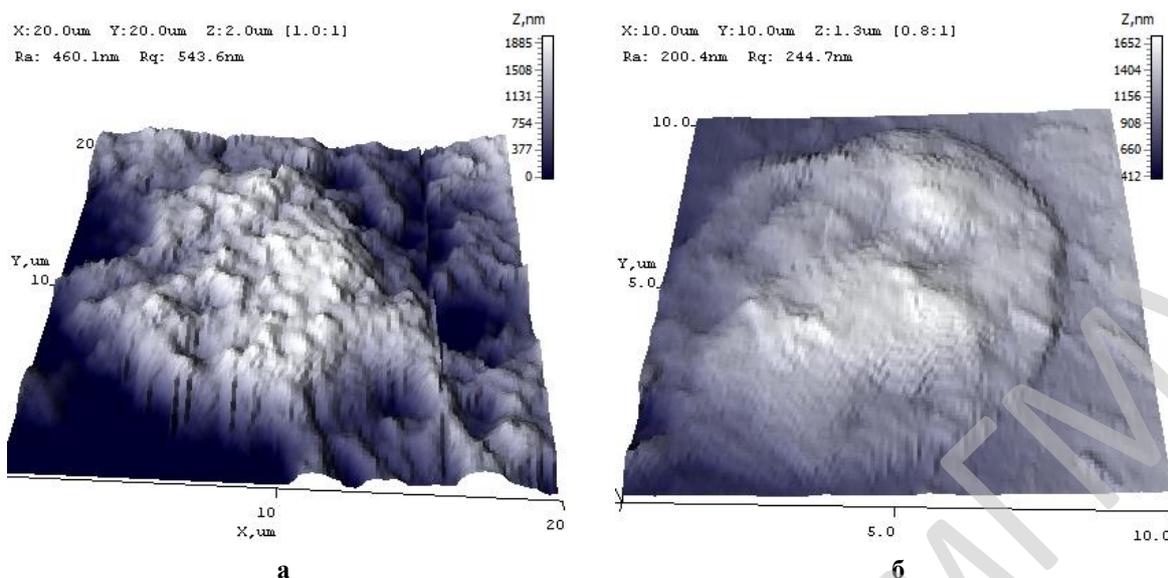


Рисунок 1 — Топография клеток СОЖ пациента без патологии желудка:
а — клетка 1 (область 20×20 мкм); б — клетка 2 (область 10×10 мкм), разрешение 128×128 точек)

Таблица 1 — Структурные и механические свойства клеток СОЖ пациента без патологии желудка в образце-отпечатке

Режим	Топография		Карта латеральных сил		Фрактальная размерность (D_F)	
	Величина	Z_{mean} , нм	R_q , нм	F_l , усл. ед.		R_q , усл. ед.
Клетка 1		$196,4 \pm 4,3$	$90,1 \pm 2,6$	$985,6 \pm 98,8$	$689,6 \pm 19,1$	$2,12 \pm 0,015$
Клетка 2		$255,8 \pm 6,9$	$106,9 \pm 5$	$8146 \pm 183,8$	$2984,2 \pm 77,8$	$2,77 \pm 0,05$

Режим «топография» предназначен для получения данных о форме клеток и рельефе их поверхности. Параметр средняя высота (Z_{mean}) участка отсканированной поверхности не несет в себе важной информации, так как зависит от конкретного места на клеточной поверхности. Величина R_q — шероховатость представляет собой среднее квадратическое отклонение профиля поверхности от среднего по участку и является важной характеристикой степени развитости поверхности клетки. Для клетки 2 значение параметра R_q составляет $106,9 \pm 5,0$ нм, что на 15,8 нм больше, чем для клетки 1 ($p < 0,05$). Обе клетки имеют развитую поверхность (на участке размером $2,5 \times 2,5$ мкм² профиль клеток изменяется примерно на 100 нм в обе стороны от средней линии).

Изучение поверхности клеток в режиме «карта латеральных сил» позволяет получить информацию о распределении (картировании наномеханических свойств) латеральных сил на исследуемом участке поверхности. Одной из величин, характеризующих структуру поверхности является R_q — шероховатость карты механических свойств поверхности клетки. Согласно данным, приведенным в таблице 1, поверхность клетки 2 характеризуется большей шероховатостью. Однако следует также отметить, что для указанной клетки большее значение имеет и величина F_l — латеральная сила, оцененная при отклонении зонда в горизонтальной плоскости (кручении) при сканировании и характеризующая силы трения, возникающие при движении острия зонда по исследуемой поверхности. Клетка 2 характеризуется значительно большей силой трения и шероховатостью латеральных сил, чем клетка 1, что свидетельствует о более плотной структуре кортикального цитоскелета клетки 2.

Помимо описанных выше результатов с использованием программы «Surface Explorer 1.3.1.1» были получены данные о фрактальной размерности исследованных участков эпителиальных клеток желудка. Фрактальная размерность была оценена по

алгоритму «озер и гор» с разбиением поверхности на 50 слоев. Согласно приведенным данным фрагмент поверхности клетки 1 имеет уплощенную структуру, что видно из величины $D_F = 2,12 \pm 0,015$. В отличие от него участок поверхности клетки 2 характеризуется большей объемностью, что подтверждается значением D_F равным $2,77 \pm 0,050$. Полученные данные соответствуют таковым для биологических объектов, для которых значение D_F лежит в интервале от 2 до 3 [4].

Заключение

Разработана методика подготовки проб клеток СОЖ человека для исследования методом АСМ. Получены данные об особенностях морфологии и механических свойствах клеток в образце-отпечатке СОЖ человека. Полученные результаты являются основой для дальнейших исследований структурных и механических свойств клеток СОЖ человека на наноуровне с помощью АСМ при различной патологии желудка.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Brawner, K. M.* Gastric Microbiome and Gastric Cancer / K. M. Brawner, C. D. Morrow, P. D. Smith // *Cancer J.* — 2014. — Vol. 20, № 3. — P. 211–216
2. Рак желудка 2018 [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/cancer>. — Дата доступа: 02.05.2019.
3. Physical properties of gastrointestinal stromal tumors based on atomic force microscope analysis / Y. Zhao [et al.] // *Genet. Mol. Res.* — 2013. — Vol. 12, № 4. — P. 5774–5785.
4. *Стародубцева, М. Н.* Параметры архитектоники АСМ-карт поверхности эпителиальных клеток карциномы молочной железы MCF-7 / М. Н. Стародубцева // *Проблемы здоровья и экологии.* — 2017. — № 4 (54). — С. 60–65.

УДК 612.79:611.018.21

ИММУНОФЕНОТИП ФИБРОБЛАСТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ЗДОРОВОЙ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА

Ярец Ю. И., Кривенчук В. А.

**Государственное учреждение
«Республиканский научно-практический центр
радиационной медицины и экологии человека»
г. Гомель, Республика Беларусь**

Введение

Фибробласты — клетки функционально ведущего гистогенетического ряда рыхлой и плотной волокнистых соединительных тканей — представляют собой объект многочисленных научных исследований. Фибробласты являются удобным модельным объектом для обоснования патогенеза нарушений репаративной регенерации, в том числе в условиях инфекции. Это связано с тем, что в основе нарушения процессов репарации лежат фундаментальные изменения, ассоциированные с фибробластами, — их количеством, морфологией, пролиферативным потенциалом, функциональной активностью. В свою очередь, профиль экспрессии различных маркеров и биологически активных веществ фибробластами определяется действием различных патологических факторов [1, 2, 3]. Так, в условиях хронического воспаления, обусловленного колонизацией раневого дефекта бактериями-продуцентами биопленки, пролиферативный потенциал фибробластов снижается, нарушен ответ на действие регуляторных сигналов, изменяется биохимическая и секреторная активность.

Метод проточной цитометрии рекомендован для количественной и качественной оценки популяции клеток в культурах. Данное исследование позволяет получить интегральные данные совокупности маркеров на поверхности клеток, а также дать оценку состояния клеток и биологической активности [4, 5]. Актуальным представляется определение уровня экспрессии поверхностных маркеров фибробластов, полученных из