

УДК 612.111-092.9:612.014.148]:537.534.35

**ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЭРИТРОЦИТОВ МЫШЕЙ
РАЗНЫХ ЛИНИЙ ПРИ ДЕЙСТВИИ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ
МЕТОДОМ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ**

Челнокова И. А.¹, Веялкина Н. Н.¹, Стародубцева М. Н.^{1,2}

¹Государственное научное учреждение
«Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси»,
Учреждение образования
«Гомельский государственный медицинский университет»
г. Гомель, Республика Беларусь

Введение

Рентгеновское излучение широко используется в современной медицине. Механизмы изменений свойств и функций клеток, индуцированные рентгеновским излучением, изучаются с момента открытия этих лучей и первого использования в медицине. Однако с началом эры нанотехнологий появились методы, позволяющие выявить радиационно-индуцированные изменения клеток на наномасштабном уровне. Одним из таких методов, позволяющих оценить структурные и механические свойства поверхностного слоя клеток на наномасштабном уровне, является атомно-силовая микроскопия (АСМ). АСМ позволяет получать изображения отдельных клеток и малых участков их поверхности с более высоким разрешением в сравнении с изображениями световой микроскопией, а так же позволяет измерить механические параметры поверхности клеток (сила адгезии, параметр диссипации механической энергии, модуль упругости и другое).

Лабораторные мыши являются основным видом экспериментальных животных, которые используются во многих медико-биологических исследованиях, в частности, в радиобиологических исследованиях, как при изучении механизмов радиационно-индуцированных изменений в живых организмах, так и при разработке радиопротекторных лекарственных средств. Сравнительно короткий период жизни лабораторных мышей позволяет проводить оценку отдаленных последствий радиационного влияния на организм.

Одна из наиболее известных линий мышей — BALB/c широко используется для моделирования заболеваний человека, связанных с хромосомной нестабильностью и дефектами репарации ДНК, а также, считается радиационно-чувствительной линией. Мыши BALB/c восприимчивы к развитию солидных опухолей после острого радиационного воздействия и демонстрируют повышение степени радиационного повреждения ДНК и геномной нестабильности в сравнении с мышами линии C57BL/6 и других линий. Линия C57BL/6 является более радиорезистентной в сравнении с линией BALB/c.

Цель

Выявить методом атомно-силовой микроскопии изменение механических свойств поверхности эритроцитов мышей различных по радиорезистентности линий после однократного действия рентгеновского излучения (0,5 Гр) на цельную кровь.

Материал и методы исследования

Мыши линий C57BL/6 и BALB/c содержались в стационарных условиях вивария Института радиобиологии на полноценном стандартном пищевом рационе и со свободным доступом к воде согласно установленным нормам. Все экспериментальные работы с лабораторными животными выполнялись в соответствии с общепринятыми нормами обращения с животными и правилами Директивы 2010 / 63 / EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях, от 22 сентября 2010 г. Смешенная артериально-венозная кровь мышей, полученная при декапитации на фоне глубокого эфирного наркоза, объемом по 0,5 мл помещалась

в пробирку с 3,2 % раствором 2-замещенного цитрата натрия в соотношении 9:1. Опытные образцы подвергались однократному действию рентгеновского облучения в дозе 0,5 Гр на установке биологического облучения X-RAD 320 (напряжение на трубке 320 кВ, программа № 5, фильтр № 2, расстояние 50 см, мощность 0,97 сГр/мин). Эритроциты осаждали центрифугированием в течение 10 мин. при 300g с последующей фиксацией раствором 1 % глутарового альдегида в течение 15 мин при 37 °С, отмывали фосфатно-солевым буфером и дистиллированной водой. Фиксированные эритроциты наносили на стекла с адгезивным покрытием и высушивали при комнатных условиях. Механические свойства изучали с помощью АСМ BioScope Resolve с инвертированным световым микроскопом Axio Observer 3. Эритроциты сканировали на воздухе при комнатной температуре (27 °С, $\phi = 76$) иглой зондом SCANASYST-AIR ($R = 2$ нм) в режиме записи PFQNM in Air. В каждой точке скана (250×250 нм, 256×256 пикселей, $f = 0,5$ Гц, $F(\text{пиковая}) = 500$ пН) автоматически проводилась запись силовой кривой, по параметрам которой в выбранной точке оценивалась сила адгезии. Обработка полученных сканов проводили с помощью программы Nano Scope Analysis 1.8. Данные представлены в виде медианы и границ интерквантильного интервала $Me(LQ;UQ)$. Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы «SPSS Statistics» 17.0.

Результаты исследования и их обсуждение

Полученные с помощью АСМ типичные карты сил адгезии малых участков поверхности эритроцитов мышей с разной уровнем радиорезистентности организма представлены на рисунке 1.

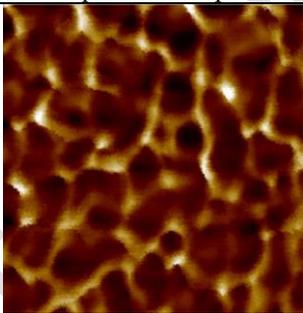
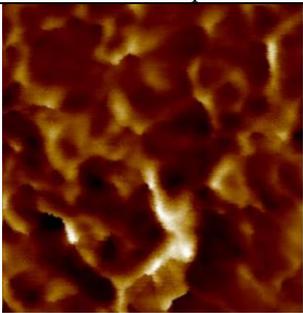
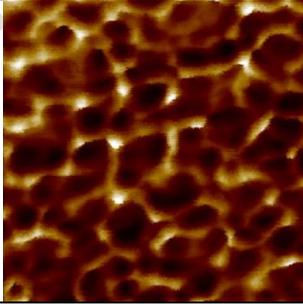
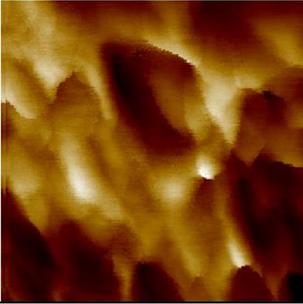
Линия	контрольный образец	опытный образец
BALB/c		
C57BL/6		

Рисунок 1 — Карты сил адгезии для участков поверхности эритроцитов мышей (линии BALB/c и C57BL/6) в норме и после однократного облучения цельной крови рентгеновским излучением в дозе 0,5 Гр

Анализируя карты сил адгезии (рисунок), которые соотносятся со структурой мембранного скелета эритроцитов, представляющего в норме двумерную сеть из филаментов спектрина и актина, можно отметить, что карты контрольных образцов более структурно однородны, с четко выраженной периодической структурой в сравнении с параметрами распределения сил адгезии на участках поверхности эритроцитов мышей

после действия рентгеновского излучения. Количественно были оценены параметры сил адгезии между острием АСМ-зонда и поверхностью эритроцитов в пределах наномасштабных участков его поверхности (таблица 1).

Таблица 1 — Средние значения силы адгезии для участка поверхности (250 × 250 нм) мышей разных линий и разных экспериментальных условий

Линия мыши	Контроль	Опыт
BALB/c	4,8(2,50;5,78)	5,57(5,55;6,75)*
C57BL/6	5,90(4,57;7,91)	5,79(4,12;8,31)**

Примечание. * — Различия являются статистически значимыми по сравнению с контрольной группой ($p < 0,03$, критерий Манна — Уитни); ** — статистических различий не выявлено ($p > 0,05$, критерий Манна — Уитни).

Различие в средних значения силы адгезии между контрольными образцами клеток и образцами клеток из крови, облученной рентгеновским излучением в дозе 0,5 Гр, имеет место только для животных линии BALB/c. Изменения параметров силы адгезии на наномасштабных участках поверхности эритроцитов для радиорезистентной линии мышей (C57BL/6) при однократном облучении цельной крови рентгеновским излучением в дозе 0,5 Гр не обнаружены.

Заключение

С помощью АСМ установлена зависимость радиационно-индуцированных изменений адгезионных свойств наномасштабных участков поверхности эритроцитов мышей от степени радиочувствительности организма. Действие рентгеновского излучения на цельную кровь в дозе 0,5 Гр вызывает существенное увеличение среднего значения силы адгезии между острием АСМ-зонда и поверхностью эритроцитов мыши линии BALB/c, и практически не влияет на этот параметр для эритроцитов мыши линии C57BL/6.

Работа выполнена в рамках Государственной программы научных исследований «Природапользование и экология, подпрограмма «Радиация и природные системы».

УДК 615.262.55:616.5-001

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТОВ НЕКОТОРЫХ РЕГУЛЯТОРНЫХ ПЕПТИДОВ НА АКТИВНОСТЬ КАТАЛАЗЫ КРОВИ ПРИ РАЗНЫХ СПОСОБАХ ВВЕДЕНИЯ ПРИ ТРАВМАХ

*Чуланова А. А., Смахтина А. М., Маль Г. С.,
Смахтин М. Ю., Фурман Ю. В.*

**Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Курский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
г. Курск, Российская Федерация**

Введение

Травматизм является неотъемлемой частью жизни человека и встречается во всех сферах деятельности. В силу этого в структуре заболеваемости травматизм занимает одно из ведущих мест, при этом также являясь основной причиной первичной инвалидности и смертности не только взрослого населения, но и детей [1]. Поэтому по-прежнему актуален факт изучения эффектов препаратов, активизирующих регенерацию костной ткани. В настоящее время активно исследуются препараты пептидной