

Заключение

Отмеченные изменения уровня эндогенного дыхания препаратов тонкого кишечника после однократного внешнего γ -облучения в дозе 0,5 Гр подтверждают высокую чувствительность кишечной слизистой к радиационному воздействию в малых дозах. Обнаруженные морфометрические и биохимические особенности слизистой кишечника могут возникать в результате радиационно-индуцированного изменения агрегатного состояния, проницаемости клеточных и митохондриальных мембран. Можно предположить, что острое действие ионизирующей радиации высокой мощности поглощенной дозы приводит к изменению концентрации эндогенных субстратов в митохондриальном компартменте энтероцитов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Морфометрическое исследование тонкой кишки крыс при хронической интоксикации ацетатом свинца / П. А. Елясин [и др.] // Вестник ВолгГМУ. — 2018. — № 3. — С. 69–71.
2. Пространственное распределение дыхания и окислительного фосфорилирования митохондрий по длине тонкой кишки у крыс разного возраста / Б. З. Запиров [и др.] // Физиол. журн. СССР. — 1992. — № 9. — С. 98–105.
3. Влияние ионизирующего излучения низкой мощности на состояние цепи переноса электронов митохондрий энтероцитов тонкой кишки крыс / Л. В. Грубская [и др.] // Укр. біохім. журн. — 2012. — Т. 84, № 1. — С. 45–52.
4. Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом / Г. М. Франк [и др.]; под общ. ред. Г. М. Франка. — М.: Наука, 1973. — 196 с.
5. Современные проблемы биохимии. Методы исследований: учеб. пособие / Е. В. Барковский [и др.]; под ред. проф. А. А. Чиркина. — Минск: Выш. шк., 2013. — 491 с.

УДК 547.963:[591.111.1:599.323.4]-073.75

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЛИПОПРОТЕИНОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ КРЫС, ВЫЗВАННЫЕ ДЕЙСТВИЕМ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

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

¹Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»,

²Государственное научное учреждение

«Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси»

г. Гомель, Республика Беларусь

Введение

Циркулируя в плазме крови, липопротеины обеспечивают клетки периферических тканей жирными кислотами, необходимыми, в первую очередь, для получения энергии, и холестерином, важным участником процессов синтеза клеточных мембран и стероидных гормонов. В сосудистой системе различные типы липопротеиновых частиц взаимодействуют между собой, клетками крови, особенно макрофагами и моноцитами, и клетками эндотелия сосудов. Метаболизм липопротеиновых частиц регулируется скоростью различных ферментативных реакций и может быть нарушен при действии патологических факторов. Подвергшись такому воздействию, липопротеины модифицируются и приобретают способность выступать посредниками окислительного стресса, индуцируя эндотелиальную дисфункцию, развитие атеросклеротических поражений, и способствовать повышению риска развития сердечно-сосудистых заболеваний. К факторам, вызывающим изменения в структуре белков и липидов липопротеиновых частиц, относятся действие рентгеновских лучей и других видов ионизирующего излучения. Кроме этого, изменения в липопротеиновых частицах могут быть обусловлены особенностями диеты, уровнем физической активности, а также генетически обусловленным уровнем активности ключевых ферментов их метаболизма [1, 2].

Анализ морфологических изменений липопротеинов, вызванных действием рентгеновского излучения на фоне диеты с высоким содержанием холестерина, позволит лучше понять механизмы, лежащие в основе нарушений липидного обмена, вызванных действием окислительного стресса.

Цель

Изучить морфологические параметры липопротеинов плазмы крови крыс после воздействия рентгеновского излучения в дозе 1 и 100 Гр.

Материал и методы исследования

Белые лабораторные крысы линии Wistar содержались в стационарных условиях вивария Института радиобиологии НАН Беларуси на полноценном стандартном пищевом рационе и свободным доступом к воде, 12/12-часовом режиме освещения и темноты, 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. Перед проведением эксперимента в течение двух месяцев крыс переводили на гиперхолестериновую диету: к основному стандартному пищевому рациону добавляли ежедневно 10 г жира свиного перетопленного и желток одного куриного яйца.

В ходе эксперимента кровь самцов крыс линии Wistar (возрастом 9 мес., средняя масса животных — 500 г) объемом по 5 мл отбирали натошак из воротной вены печени на фоне глубокого эфирного наркоза и помещали в пробирки с 3,2 % раствором 2-замещенного цитрата натрия в соотношении 9:1. Опытный образец объемом 2 мл облучали рентгеновским излучением на рентгеновском аппарате биологического назначения X-Rad 320 Precision X-ray Inc (напряжение на трубке — 320 кВ, мощность дозы — 98,8 сГр/мин, фильтр № 1 (2 мм Al) расстояние до объекта — 40 см) в дозах 1 и 100 Гр. Выделение липопротеинов проводили методом ультрацентрифугирования в градиенте плотности бромида калия (XЧ, плотностью раствора 1,063 г/мл) на центрифуге Sorvall Discovery 90 SE в течении 24 ч при 23200 об/мин при 4 °С согласно [3].

Оценку морфологических параметров проводили с помощью атомно-силового микроскопа BioScope Resolve в режиме записи PeakForceQNM in Fluid. Иммобилизацию частиц производили на пластинки свежесколотой слюды, предварительно модифицированной 0,01 % поли — L лизином. Сканирование проводили в фосфатно-солевом буфере иглой-зондом SCANASYST-FLUID+ с радиусом закругления 2 нм, пиковой нагрузкой 250 пН, со скоростью 0,9 Гц, 256 × 256 пикселей и размером 500 × 500 нм. Обработка полученных сканов проводилась в программе NanoScope Analysis 1.9. Объем частиц оценивали с использованием средней высоты (h) и радиуса (R) по формуле объема сферического сегмента:

$$V = \pi h^2 \left(R - \frac{h}{3} \right) \quad (I)$$

Диаметр частиц в суспензии оценивали по формуле:

$$D_{\text{susp.}} = 2 \left(\frac{3V}{4\pi} \right)^{1/3}. \quad (II)$$

Статистическая обработка данных включала проверку на соответствие нормальному распределению методом Шапиро — Уилка. Данные представлены медианой и границами интерквартильного интервала (Me (LQ; UQ)). Для проверки значимости различия между двумя независимыми выборками использовали U-критерий Манна — Уитни. Различия признавались значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Кривая распределения липопротеиновых частиц по диаметру (рисунок 1) дает основание предположить неоднородность выделенной фракции. Кроме основной фракции с преимущественным диаметром 70–90 мкм проявляются фракции со средним диаметром 50 мкм и 120–130 мкм. Дальнейшему анализу подвергались липопротеины с диаметром до 100 нм.

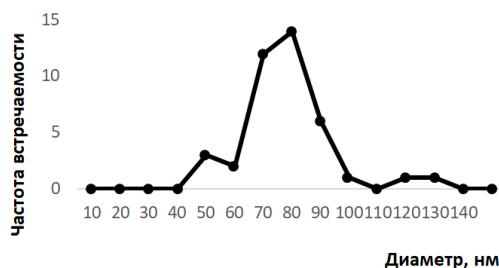


Рисунок 1 — Распределение по диаметрам липопротеиновых частиц адгезированных на стекле по данным АСМ-микроскопии

Основные морфологические характеристики липопротеиновых частиц, исследованных с помощью АСМ-микроскопии приведены в таблице 1.

Таблица 1 — Морфологические параметры липопротеиновых частиц плазмы крови крыс по данным АСМ-микроскопии

Параметр	Липопротеины		
	контроль	1 Гр	100 Гр
Диаметр частиц, адгезированных на стекле, нм	<u>70,1</u> 62,1–77,2	<u>77,9</u> 70,5–83,9*,**	<u>63,4</u> 55,5–79,1
Высота частиц, нм	<u>8,9</u> 6,7–11,4	<u>11,4</u> 9,4–14,8*	<u>11,4</u> 9,4–14,8*
Объем частиц, нм ³	<u>8002</u> –4349–12662	<u>17734</u> 9850–28922*	<u>12854</u> 8128–16009*
Диаметр частиц в жидкости, нм	<u>30,0</u> 24,5–35,0	<u>39,2</u> 32,2–46,1*	<u>35,2</u> 30,2–37,8

Примечание. Над чертой медиана, под чертой — (нижний квартиль — верхний квартиль); * — Различия статистически значимы в сравнении с соответствующим параметром в контроле, критерий Манна — Уитни ($p < 0,05$); ** — Различия статистически значимы в сравнении с соответствующим параметром в группе с другой дозой облучения, критерий Манна — Уитни ($p < 0,05$).

Воздействие рентгеновского излучения в дозе 1 и 100 Гр вызывает изменение ряда морфологических параметров липопротеинов (таблица 1). Так, при облучении в дозе 1 Гр увеличивается диаметр адгезированных частиц с 70 до 77 мкм (таблица 1) и высота с 9 до 11 мкм. Облучение в дозе 100 Гр вызывает увеличение высоты частиц, но не меняет их диаметр.

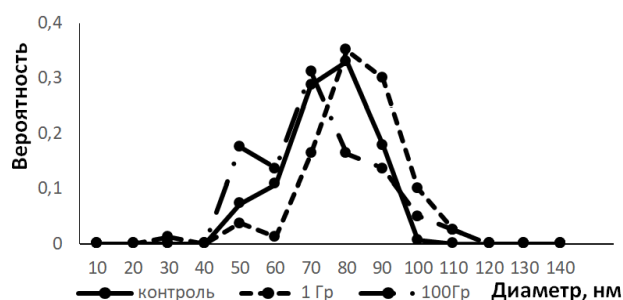


Рисунок 2 — Распределение по диаметрам адгезированных на стекле липопротеиновых частиц после воздействия рентгеновского излучения (по данным АСМ-микроскопии)

Уменьшение рассчитанного коэффициента, показывающего отношение диаметра частицы к ее высоте, (рисунок 3) указывает на изменение формы липопротеинов после облучения. Частицы становятся более округлыми.

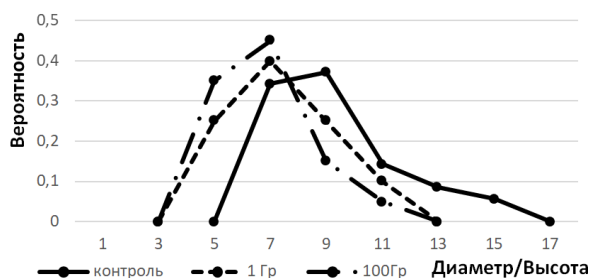


Рисунок 3 — Распределение по соотношению диаметра к высоте адгезированных на стекле липопротеиновых частиц после воздействия рентгеновского излучения (по данным АСМ-микроскопии)

Рассчитанные показатели диаметра и высоты липопротеиновых частиц позволили нам рассчитать объем этих частиц (таблица 1) и проанализировать изменение данного показателя в образцах, подвергнутых действию рентгеновского облучения (рисунок 4).

Действие рентгеновского облучения приводит к увеличению среднего объема липопротеинов после воздействия рентгеновского облучения в дозе 1 и 100 Гр. При этом диаметр большинства частиц увеличивается незначительно, но появляются липопротеины с диаметром многократно превышающим контрольные показатели.

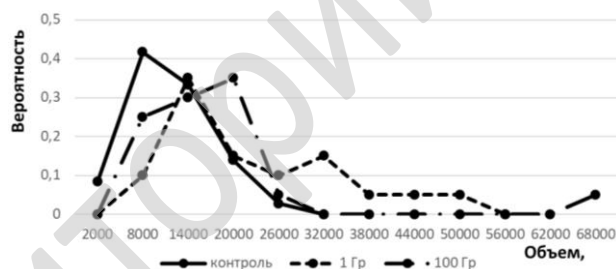


Рисунок 4 — Распределение по объему липопротеиновых частиц после воздействия рентгеновского излучения

Средний диаметр липопротеинов в жидкости составляет 30 нм (таблица 1). Анализ распределение внутри фракции (рисунок 5) дает основание предполагать наличие двух групп липопротеинов диаметром около 25 и 35 нм. Использование литературных данных [4] позволяет предположить, что данные группы соответствуют ЛПВП и ЛПНП соответственно.

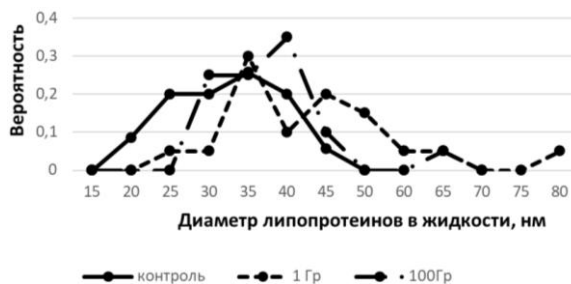


Рисунок 5 — Распределение по диаметру липопротеиновых частиц плазмы крови крыс после воздействия рентгеновского излучения

Воздействие рентгеновского излучения увеличивает неоднородность изучаемой фракции липопротеинов и вызывает увеличение диаметра частиц при воздействии в дозе 1 Гр, не вызывая изменение этого показателя при воздействии в дозе 100 Гр (таблица 1). Увеличение среднего диаметра липопротеинов после облучения в дозе 1 Гр обусловлено, в первую очередь, появлением группы частиц с диаметром около 45 нм (рисунок 5).

Заключение

При облучении цельной крови рентгеновским излучением *in vitro* меняются морфологические параметры липопротеинов, относящихся к липопротеинам высокой и низкой плотности. Облучение в дозе 1 Гр приводит к увеличению высоты и диаметра при адгезии, объема и диаметра в жидкости липопротеиновых частиц. Изменение морфологических показателей липопротеиновых частиц после облучения крови в дозе 100 Гр имеет место, но менее выражено в сравнении с показателями контрольных образцов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Harold, E. Obesity, adiposity, and dyslipidemia: A consensus statement from the National Lipid Association / E. Harold // J. of Clinical Lipidology. — 2013. — № 7. — P. 304–383.
2. Сравнительная характеристика *in vivo* моделей гиперлипидемии у крыс линии Вистар и мышей линии C57Bl/6 / С. А. Апятин // Вопросы питания. — 2016. — Т. 85, № 6. — С. 14–23.
3. Isolation of Plasma Lipoproteins as a Source of Extracellular RNA / K. Li [et al.] // Methods in Molecular Biology. — 2018. — Vol. 1740. — P. 139–153.
4. Anomalous lipoproteins in obese Zucker rats / M. Blay [et al.] // Diabetes, Obesity & Metabolism. — 2001. — Vol. 3, № 4. — P. 259–270.

УДК 543.242:616-003.215+616-008.851]-073.75-092.4-092.6

ПАРАМЕТРЫ РЕДОКС-СОСТОЯНИЯ ПЛАЗМЫ КРОВИ И НАНОАРХИТЕКТониКИ ПОВЕРХНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ОБЛУЧЕНИИ ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ КРЫС РЕНТГЕНОВСКИМ ИЗЛУЧЕНИЕМ *IN VITRO*

**Стародубцева М. Н.^{1,2}, Челнокова И. А.², Шклярова А. Н.,
Шаховская О. Н.², Цуканова Е. В.², Егоренков Н. И.¹**

¹Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»,

²Государственное научное учреждение

«Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси»

г. Гомель, Республика Беларусь

Введение

Окислительно-восстановительные процессы (редокс-сигнализация, редокс-регуляция и др.) играют важную роль в формировании ответа клеток на действие ионизирующего излучения. Параметры текущего редокс-состояния клеток и их микроокружения связаны со свойствами клеток, их жизнедеятельностью и способностью к выполнению их функций. Устойчивость к механическому стрессу и высокая степень деформируемости являются важными чертами эритроцитов крови. Ионизирующее излучение вызывает образование свободных радикалов, активных форм кислорода и азота, изменяет структуру низкомолекулярных антиоксидантов и функции ферментов антиокислительной системы, что инициирует каскады реакций, приводящих к изменению мембранного скелета и механических свойств эритроцитов.

Цель

Сравнительный анализ характера зависимости параметров редокс-состояния плазмы крови и структурных свойств поверхности эритроцитов при облучении цельной крови крыс рентгеновским излучением *in vitro* с дозами от 0,5 до 200 Гр.