

Заключение

Анализ приведенных выше данных показывает, что изменения физико-механических свойств поверхностного слоя мембраны эритроцитов, проявляющиеся в значимом снижении ее жесткости близки у пациентов с COVID-19 незначительно отличаются от таковых при бронхите пневмонии и респираторно-синцитиальной инфекции, что может быть связано с тем, что острые респираторные инфекции при их протекании запускают в организме каскад реакций, которые отличаются по степени проявления, но близки по своей природе. Однако, вопрос сохранения выявленных изменений после перенесенной инфекции требует проведения дополнительных исследований.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. WHO European health information at your fingertips. [Electronic resource]. – Mode of access: https://gateway.euro.who.int/en/indicators/hfa_290-1960-sdr-acute-respiratory-infections-pneumonia-and-influenza-under-5-years-per-100-000/. – Date of access: 25.09.2022.
2. Макарова, Е. С. Изучение взаимодействия вируса гриппа с единичными клетками эпителия и эритроцитами / Е. С. Макарова, И. В. Яминский // Медицина И Высокие Технологии. – 2016. – № 1. – С. 39–55.
3. Cavezzi, A. COVID-19: hemoglobin, iron, and hypoxia beyond inflammation. A narrative review / A. Cavezzi, E. Troiani, S. Corrao // Clinics and practice. – 2020. – Vol. 10, № 2. – P. сp.2020.1271.
4. АСМ-диагностика патологии эритроцитов на основе физико-механического образа клеточной поверхности / М. Н. Стародубцева [и др.] // Проблемы здоровья и экологии. – 2015. – № 2 (44). – С. 99–104.

УДК 616-003.215:577.121.7]-073.75-092.9

О. В. Шаховская¹, Е. А. Медведева¹, М. Н. Стародубцева^{1,2}

¹ Государственное научное учреждение

«Институт радиобиологии НАН Беларуси»

² Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

г. Гомель, Республика Беларусь

ЗАВИСИМОСТЬ ПАРАМЕТРОВ РЕДОКС-СВОЙСТВ ПЛАЗМЫ КРОВИ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА ОТ ДОЗЫ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Введение

Рентгеновское излучение стимулирует выработку активных форм кислорода (АФК) митохондриями в течение длительного времени после облучения. Рентгеновское излучение повреждает ДНК посредством прямой ионизации атомов химических элементов в составе молекулы ДНК или ионизации молекулы воды с образованием АФК, которые впоследствии реагируют с ДНК. Кроме того, рентгеновское излучение вызывает отсроченный клеточный окислительный стресс в течение от нескольких часов до нескольких дней после облучения. Радиационно-индуцированный окислительный стресс может вести к гибели клеток.

Окислительно-восстановительный гомеостаз крови хорошо отражает состояние организма и может быть использован в качестве диагностического маркера [1]. Повышенный уровень АФК активирует устойчивые к стрессу сигнальные пути и индуцирует механизмы повреждения биологических важных молекул, включая ДНК, белки и липиды. Эффективность путей передачи сигнала, активируемых окислительным стрессом, снижается с возрастом. Организмы человека и животных разного возраста по-разному могут реагировать на такие повреждающие факторы как рентгеновское излучение [2].

Цель

Сравнительный анализ редокс-свойств плазмы крови крыс разных возрастов (10 месяцев и 16 месяцев) после облучения цельной крови рентгеновским излучением *in vitro*.

Материал и методы исследования

Объектом исследования были модельные животные (в возрасте 10 и 16 мес. самцы крыс линии Wistar). До начала эксперимента было получено одобрение комитета по этике УО «Гомельский государственный медицинский университет» на проведение исследования (протокол № 2 от 24.03.2021 г). 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.

Кровь крыс отбирали из воротной вены печени на фоне глубокого эфирного наркоза и помещали в пробирки с раствором 3,2 % 2-замещённого цитрата натрия в соотношении 9:1.

Облучение цельной крови животных проводилось с использованием рентгеновском аппарата биологического назначения X-RAD 320 Precision X-ray Inc (напряжение на трубке — 320 кВ, сила тока — 12,5 мА, средняя мощность дозы — 98,8 сГр/мин, фильтр № 2 (1,5 мм Al, 0,25 мм Cu, 0,75 мм Sn), расстояние до объекта — 50 см). Цельную кровь крыс в возрасте 10 месяцев облучали 0,5, 1, 10, 50, 100, 200 Гр; цельную кровь крыс в возрасте 16 месяцев облучали дозами 1, 25, 50, 100 Гр. Контрольные образцы выдерживались при таких же условиях, исключая воздействие рентгеновского излучения. Плазму получали путём центрифугирования цельной крови при условиях: 3000 об/мин, 20 мин, 4 °С.

Для оценки редокс-параметров плазмы крови использовали методику, основанную на люминол-зависимой хемилюминесценции системы с генератором свободных радикалов - органическим азосоединением АБАП [3] с небольшими изменениями. Кинетику хемилюминесценции записывали с помощью многофункционального планшетного ридера Tecan Infinite M200. Все измерения проводили при температуре 37 °С. Были использованы следующие реагенты: люминол, 2,2'-азобис (2-амидинопропан) дигидрохлорид (АБАП), натрий-фосфатный буфер (PBS). Кинетическую кривую хемилюминесценции описывали с помощью логистической функции:

$$y = A_0 + \frac{A_1 - A_2}{1 + \left(\frac{x}{x_0}\right)^p} \quad (1)$$

где A_1 — начальное значение интенсивности; A_2 — (максимальное) значение интенсивности; x_0 — точка перегиба кривой; p — степень. Пример, показывающий смысл входящих в формулу постоянных, представлен на рисунке 1.

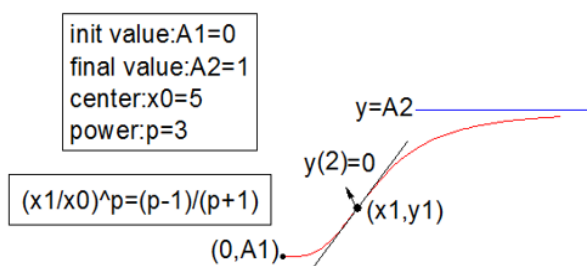


Рисунок 1 — Пример анализа S-образной экспериментальной кривой кинетики хемилюминесценции с помощью логистической функции

Для анализа кинетики хемиллюминесценции в системе АБАП + люминол + плазма крови использовали 3 параметра: A_2 , связанный с максимальным производством АФК в системе; x_0 , зависящий как от антиоксидантных, так и прооксидантных свойств системы; p , связанный со способностью системы продуцировать АФК.

Статистический анализ данных проводили с помощью программ Microsoft Office Excel 2016, GraphPad Prism 8. Оценивали нормальность распределения признака методами Шапиро-Уилка и Колмогорова-Смирнова. Данные статистического анализа представлены в виде медианы и границ интерквартильного интервала: Me (Q1;Q3). Сравнение выборочных параметров проводили с использованием критерия Манна-Уитни.

Результаты исследования и их обсуждение

При проведении сравнительного анализа редокс-свойств плазмы крови крыс 10 месяцев и плазмы крови крыс 16 месяцев, облучённой рентгеновским излучением *in vitro*, были выявлены важные закономерности.

На рисунке 2 А представлено изменение параметра A_2 , показывающего максимальную скорость производства АФК в изучаемой системе с плазмой крови 10 и 16 месячных крыс. С увеличением поглощённой дозы значение параметра увеличивается после достижения порогового значения поглощённой дозы. Для более старых крыс порог поглощённой дозы значительно ниже значения, характерного для более молодых крыс.

На рисунке 2 Б показано изменение параметра x_0 . Этот параметр, зависит как от антиоксидантных свойств систем — он увеличивается с увеличением начальной лаг-фазы, связанной с антиоксидантной ёмкостью плазмы крови, так и прооксидантных свойств системы — параметр уменьшается с увеличением скорости нарастания производства АФК в системе. Для более старых крыс наблюдается значительное снижение значений параметра после облучения рентгеновским излучением в диапазоне поглощённой дозы от 0,5 и до 100 Гр, что свидетельствует, в первую очередь, об значительном ослаблении антиоксидантных свойств плазмы крови. Для более молодых крыс существенное уменьшение параметра имеет место при высоких, более 25 Гр и выше, значениях поглощённой дозы. При высоких поглощённых дозах значение параметра для более молодых крыс значительно больше значения параметра для более старых крыс.

На рисунке 2 В представлены зависимости параметра p от поглощённой дозы для плазмы крови животных 10 и 16 мес. возраста. В диапазоне поглощённой дозы от 1 до 100 Гр для более молодых крыс и 50 Гр для более старых крыс имеет место снижение значения параметра вне зависимости от возраста крыс. При большей дозе параметр увеличивается.

Выводы

С помощью метода люминол-зависимой хемиллюминесценции системы с АБАП показана зависимость параметров хемиллюминесценции, характеризующих антиоксидантные и прооксидантные свойства плазмы крови, от возраста крыс и поглощённой дозы рентгеновского излучения при облучения цельной крови крыс *in vitro*.

Работа выполнена в рамках задания «Разработать критерии оценки радиационно-индуцированных изменений ткани внутренней среды, основанной на анализе структуры и механических свойств клеточного компонента на моделях *in vitro* и *in vivo*» «Природные ресурсы и окружающая среда 3.01» ГПНИ «Природные ресурсы и окружающая среда», подпрограмма 3 «Радиация и биологические системы» на 2021–2025 год.

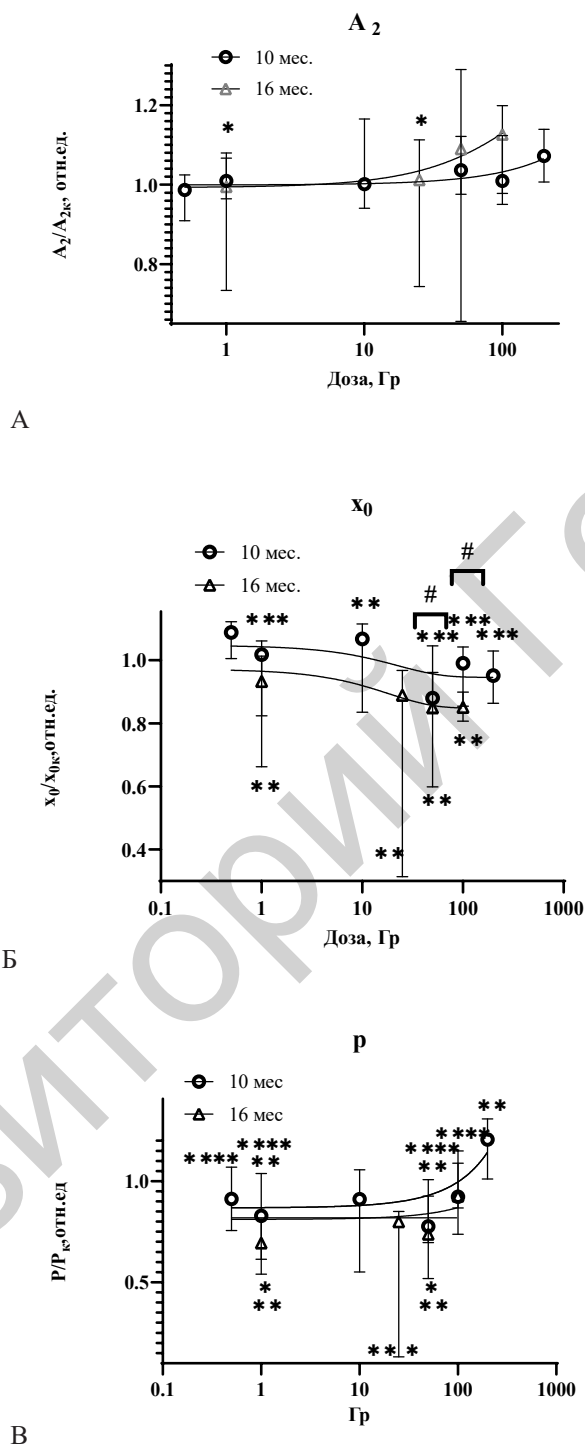


Рисунок 2 — Зависимость параметров кинетики хемилуминесценции от поглощённой дозы для плазмы крыс разного возраста

Примечание: $p < 0,05$; критерий Манн — Уитни: * в сравнении с 100 Гр, ** в сравнении с контролем, *** в сравнении с 0,5 Гр, **** в сравнении с 200 Гр, # в сравнении с параметрами выборок для 10 и 16 мес. животных

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Dose-dependent decrease in antioxidant capacity of whole blood after irradiation: A novel potential marker for biodosimetry / L. Sun [et al.] // Scientific Reports. – 2018. – Vol. 8. – 7425.1 – 7425.8
2. Miura, Y. Oxidative stress, radiation-adaptive responses, and aging / Y. Miura // J. Radiat. Res. – 2004. – Vol. 45. – P. 357–372.
3. Изменения в кинетике хемиллюминесценции плазмы как мера системного окислительного стресса в организме человека / М. М. Созарукова [и др.] // Биофизика. – 2016 – Т. 61, № 2 – С. 337–344.

УДК 618.19-006.6:576.3

*А. Н. Шклярова¹, И. А. Челнокова¹, А. Ю. Крылов²,
Э. А. Надьров³, М. Н. Стародубцева³*

¹Государственное научное учреждение

«Институт радиобиологии НАН Беларуси»

г. Гомель, Республика Беларусь

²Государственное учреждение образования

«Институт повышения квалификации и переподготовки кадров Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь»

г. Минск, Республика Беларусь

³ Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

г. Гомель, Республика Беларусь

**CD109-ЗАВИСИМЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ АДГЕЗИОННЫХ И УПРУГИХ СВОЙСТВ
ПОВЕРХНОСТИ КЛЕТОК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЛИНИИ BT-20**

Введение

Множественная лекарственная устойчивость является серьёзной проблемой в терапии рака. TGF- β -зависимый путь передачи клеточных сигналов может быть ключевым фактором устойчивости рака к химиотерапии, таргетной терапии и иммунотерапии. Сигнальный путь с участием трансформирующего фактора роста β (TGF- β) может ингибировать клеточную пролиферацию на ранних стадиях онкогенеза и способствовать эпителиально-мезенхимальному переходу и инвазии в кровеносные и лимфатические сосуды на более поздних стадиях онкогенеза [1]. Антиген CD109 является ингибитором TGF- β путей внутриклеточной сигнализации. Исследования последних лет показывают, что высокие уровни экспрессии антигена CD109 имеют место в клетках многих злокачественных опухолей, включая тройной негативный рак молочной железы, что позволяет рассматривать и антиген CD109 как бимаркер прогрессирования онкологического заболевания. CD109, гликозилфосфатидилинозитол-заякоренный белок, является корцептором TGF- β и эффективным ингибитором передачи сигналов с участием TGF- β . На всех этапах онкогенеза механические свойства клеток играют ключевую роль, ингибируя или стимулируя биологическую агрессивность опухолевых клеток в зависимости от клинического течения злокачественного новообразования. Влияние антигена CD109 на механические свойства клеток тройного негативного рака молочной железы не изучалось.

Цель

Установление с помощью атомно-силовой микроскопии в режиме PeakForce QNM CD109-зависимых изменений параметров механических свойств клеток рака молочной железы линии BT-20.