

Полученные результаты позволили выявить наиболее информативные показатели общего анализа крови, характеризующие процессы, происходящие в организме пациента под действием SARS-CoV-2. Мониторингирование этих параметров может быть использовано для доступной и быстрой оценки тяжести течения COVID-19 и эффективности лечения в клинической практике.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Беляков, Н. А.* Коронавирусная инфекция Covid-19. Природа вируса, патогенез, клинические проявления / Н. А. Беляков, В. В. Рассохин, Е. Б. Ястребова // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2020. – С. 7–21.
2. Клиническая характеристика пациентов с COVID-19, поступающих в отделение интенсивной терапии. Предикторы тяжелого течения. Клиническая практика / Т. В. Клыпа [и др.]. – 2020. – № 11(2). – С. 6–20.
3. Clinical and biochemical indexes from 2019-nCoV infected patients linked to viral loads and lung injury / Y. Liu [et al.] // Sci China Life Sci. – 2020.
4. *Liu, W.* COVID-19: Attacks the I-Beta Chain of Hemoglobin and Captures the Porphyrin to Inhibit Human Heme Metabolism / W. Liu, H. Li // ChemRxiv. – 2020.
5. *Lippi, G.* Thrombocytopenia is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infections: A meta-analysis / G. Lippi, M. Plebani, B. M. Henry // Clin Chim Acta. – 2020. – Vol. 506. – P. 145–8.

УДК 616-006.327-073.75

Т. Д. Матвеевкова¹, С. Л. Ачинович², М. Н. Стародубцева^{1,3}

¹ Государственное научное учреждение
«Институт радиобиологии НАН Беларуси»,

² Учреждение

«Гомельский областной клинический онкологический диспансер»,

³ Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

г. Гомель, Республика Беларусь

ИНДУЦИРОВАННЫЕ РЕНТГЕНОВСКИМ ИЗЛУЧЕНИЕМ ИЗМЕНЕНИЯ МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ И КОЛЛАГЕН-ПРОДУЦИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ФИБРОБЛАСТОВ

Введение

В соединительной ткани ионизирующее излучение инициирует сложный многоступенчатый процесс, охватывающий цитологический и гистологический уровни организации и известный в научной литературе как радиационный фиброз. Описаны три гистопатологические фазы радиационного фиброза: предфиброзная фаза, фаза активного фиброза, фиброатрофическая фаза. Важным звеном в данном процессе является инициация воспаления, при котором происходит трансформация фибробластов в миофибробласты. При этом имеет место пролиферация клеток и гиперпродукция коллагена и других компонентов внеклеточного матрикса, что усугубляется снижением ремоделирующих ферментов (металлпротеиназ) [1–2]. Коллаген типа IV является одним из основных компонентов базальных мембран, которые функционируют как селективный фильтрационный барьер для макромолекул, а также отделяют внеклеточный матрикс от слоёв эпителиальных или эндотелиальных клеток. Экспрессия коллагена типа IV повышена при фиброзе [3]. Из-

учение продукции коллагена фибробластами является важным аспектом в понимании механизмов радиационно-индуцированных изменений соединительной ткани [4].

Цель

Оценить изменения морфометрических параметров и коллаген-продуцирующей активности фибробластов, вызванные облучением клеточной культуры рентгеновским излучением *in vitro*.

Материал и методы исследования

В работе использована культура первичных фибробластов кожи, выделенная из кожи крысы-самца линии Wistar (возраст — 6 мес.) методом первичных эксплантов с предварительной ферментативной обработкой. Режим культивирования был стандартным: 37 °С, 90 % влажности воздуха с 5 % содержанием CO₂, коэффициент субкультивирования 1/5. Состав среды: DMEM/F-12; 100 Ед/мл пенициллин; 100 мкг/мл стрептомицин; 0,25 мкг/мл амфотерицин-В; 10 % инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки. В экспериментальных целях клетки высевали с плотностью 100 000 клеток/чашка в чашки Петри для культур тканей (Sarstedt) и выращивали в среде DMEM, содержащей 10 % инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки, в течение 24 ч. Облучение клеток рентгеновским излучением проводили с использованием установки X-RAD 320 Precision X-ray Inc (напряжение на трубке — 320 кВ, сила тока — 12,5 мА, средняя мощность дозы — 5 Гр/мин, фильтр (2 мм Al), расстояние до объекта — 40 см) с поглощёнными дозами 1 и 100 Гр. Контрольный образец выдерживался при таких же условиях, исключая воздействие рентгеновского излучения. После 24-часовой инкубации после облучения клетки фиксировали с помощью 2 % раствора глутарового альдегида в фосфатном буфере (30 мин), трижды отмывали деионизированной водой и высушивали в ламинарном потоке воздуха (0,42 м/с) при комнатной температуре.

Для определения морфометрических показателей клеток препараты окрашивали с помощью красителя Романовский-Гимза и фотографировали в 5 полях зрения (объектив 40×) при помощи цифровой камеры. Оценку морфометрических параметров клеток проводили с помощью программного пакета ImageJ. Для определения уровня экспрессии коллагена IV типа проводили иммуногистохимическое окрашивание клеток с использованием первичных моноклональных антител корпорации Biocare Medical (USA) к коллагену IV. В качестве хромогена применялся диаминобензидин. Оценку экспрессии уровня экспрессии коллагена IV типа проводили с использованием программы для морфометрии Aperio Image Scope [5]. Рассчитывали общий индекс интенсивности окрашивания хромогена (диаминобензидин) (I_{avg}) и индекс интенсивности в иммунопозитивных участках (I_{wavg}). Статистический анализ проводился с использованием программы GraphPad Prism.

Результаты исследования и их обсуждение

После облучения рентгеновским излучением фибробластов наблюдалось изменение морфологии клеток, что выражалось в потере типичной веретенообразной формы и приобретении полигональной формы, а также увеличении размера клеток (рисунок 1). С увеличением поглощённой дозы наблюдались изменения в организации стрессовых фибрилл в клетках: в контроле и при облучении в дозе 1 Гр фибриллы преимущественно ориентированы параллельно длинной оси клетки; при облучении в дозе 100 Гр – направленность волокон становится менее регулярной.

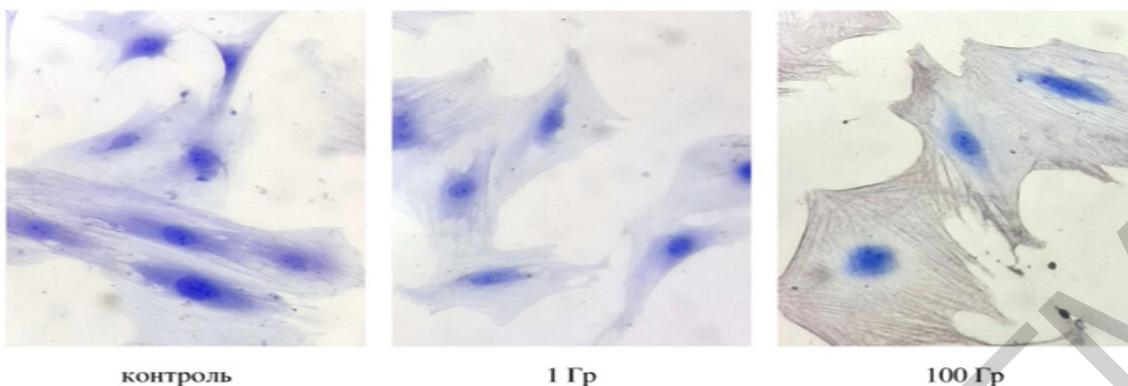


Рисунок 1 — Микрофотографии контрольных и облучённых фибробластов

Примечание: клетки окрашены моноклональными антителами против коллагена IV типа с контрокраской по Романовскому-Гимзе. Размер изображений $5\,023,2 \times 6\,703,2 \mu\text{m}^2$ с разрешением 1196×1596 пикселей

Анализ средней площади, занимаемой одной клеткой на поверхности, выявил достоверное её увеличение примерно в 1,6 раз при облучении образцов клеток рентгеновским излучением, как в дозах 1, так и 100 Гр (рисунок 2). При этом достоверных различий в площади клеток после действия рентгеновского излучения с поглощённой дозой 1 и 100 Гр не наблюдалось (рисунок 2).

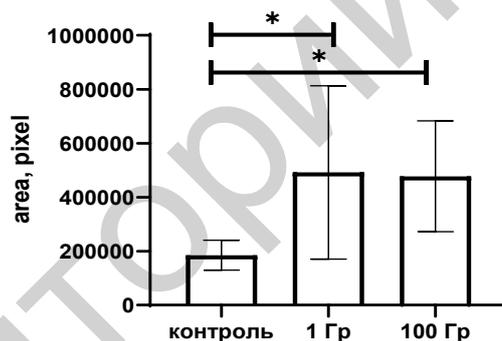


Рисунок 2 — Средняя площадь клеток в контрольных и опытных образцах фибробластов

Примечание: * $p < 0,05$; ANOVA с множественным сравнением (t-критерий Шидака)

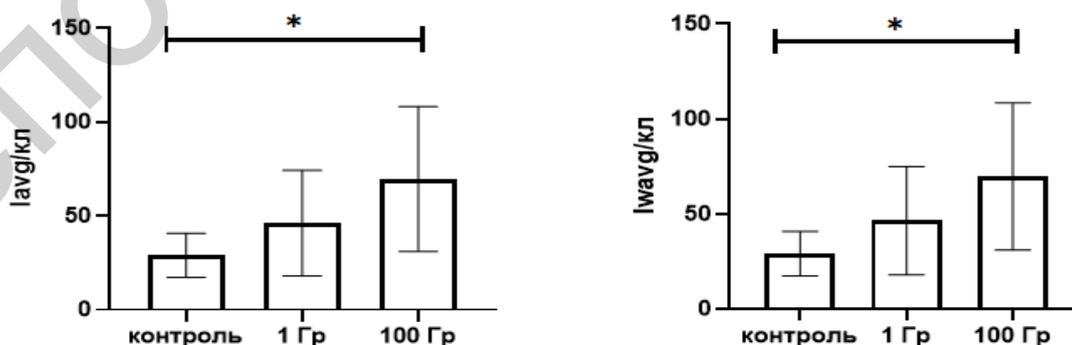


Рисунок 3 — Производство коллагена IV типа в клетках контрольных и опытных образцах фибробластов

Примечание: * $p < 0,05$; ANOVA с множественным сравнением (t-критерий Шидака)

При облучении в дозе 100 Гр параметры, характеризующие производство клетками коллагена IV типа, были в 1,4 раза выше параметра клеток контрольного образца ($p = 0,0180$ для параметра Iavg Col IV и $p = 0,0184$ для параметра Iwavg Col IV). Различия между соответствующими параметрами клеток контрольного образца и образца после облучения в дозе 1 Гр статистически не значимы ($p = 0,4287$ для Iavg Col IV и $p = 0,4232$ для Iwavg Col IV). (рисунок 3).

В литературе подобные наблюдаемым в нашем эксперименте изменения описаны как характерные для миофибробластической дифференцировки клеток. Однако, выраженность эффекта существенно не меняется при стократном увеличении поглощенной дозы. Вероятно, для полной реализации механизма радиационно-индуцированного изменения фибробластов необходимо присутствие клеточного окружения, которое невозможно воспроизвести в условиях культур изолированных фибробластов.

Заключение

В работе с использованием первичной культуры фибробластов из кожи крысы выявлено, что рентгеновское излучение в дозах 1 и 100 Гр вызывает увеличение размеров клеток и продукции ими коллагена IV типа.

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.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. TGF-beta and fibrosis in different organs - molecular pathway imprints / D. Pohlers [et al.] // Biochim Biophys Acta. – 2009. – Vol. 1792, № 8. – P. 746–756.
2. Radiation-induced fibrosis: mechanisms and implications for therapy / J. M. Straub [et al.] // Journal of Cancer Research and Clinical Oncology. – 2015. – Vol. 141, № 11. – P. 1985–1994.
3. Usefulness of collagen type IV in the detection of significant liver fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease / J.T. Stefano [et al.] // Annals of Hepatology. – 2021. – Vol. 20. – P. 100253.
4. Glanville, R. W. Type IV Collagen / R.W. Glanville // Structure and function of Collagen types / R. Mayne, R. E. Burgeson. – London, 2012. – Ch. 2. – P. 43–80.
5. Юрковский, А. М. Иммуногистохимическая оценка выраженности дистрофических изменений подвздошно-поясничных, задних длинных крестцово-подвздошных и крестцово-бугорных связок: возможности метода / А. М. Юрковский, И. В. Назаренко, С. Л. Ачинович // Проблемы здоровья и экологии. – 2017. – № 2 (52). – С. 26–30.

УДК 611.018.5:[796.42+797.122]

С. Н. Мельник¹, Л. А. Белая¹, Е. С. Хаустова²

¹Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

² Учреждение здравоохранения

«Гомельский областной диспансер спортивной медицины»

г. Гомель, Республика Беларусь

ОСОБЕННОСТИ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ У СПОРТСМЕНОВ, ЗАНИМАЮЩИХСЯ ЛЕГКОЙ АТЛЕТИКОЙ И ГРЕБЛЕЙ

Введение

В настоящее время в научной литературе открытым остается вопрос о возможности и границах использования показателей периферической крови для оценки влияния физи-