

Медико-биологические проблемы жизнедеятельности

Научно-практический рецензируемый журнал

№ 2(26)

2021 г.

Учредитель

Государственное учреждение
«Республиканский научно-
практический центр
радиационной медицины
и экологии человека»

Журнал включен в Перечень научных изданий Республики Беларусь для опубликования диссертационных исследований по медицинской и биологической отраслям науки (31.12.2009, протокол 25/1)

Журнал зарегистрирован Министерством информации Республики Беларусь, Свид. № 762 от 6.11.2009

Подписано в печать 30.09.21
Формат 60×90/8. Бумага мелованная.
Гарнитура «Times New Roman».
Печать цифровая. Тираж 130 экз.
Усл. печ. л. 21,75. Уч.-изд. л. 13,99.
Зак. 81.

Издатель ГУ «Республиканский
научно-практический центр
радиационной медицины и
экологии человека»
Свидетельство N 1/410 от 14.08.2014

Отпечатано в КУП
«Редакция газеты
«Гомельская праўда»
г. Гомель, ул. Полесская, 17а

ISSN 2074-2088

Главный редактор, председатель редакционной коллегии

А.В. Рожко (д.м.н., доцент)

Редакционная коллегия

В.С. Аверин (д.б.н., профессор, зам. гл. редактора), В.В. Аничкин (д.м.н., профессор), В.Н. Беляковский (д.м.н., профессор), К.Н. Буздакин (к.т.н., доцент), Н.Г. Власова (д.б.н., профессор, научный редактор), А.В. Величко (к.м.н., доцент), И.В. Веякин (к.б.н., доцент), А.В. Воропаева (к.б.н., доцент), Д.И. Гавриленко (к.м.н.), А.В. Жарикова (к.м.н.), С.В. Зыблева (к.м.н., отв. секретарь), С.А. Игумнов (д.м.н., профессор), А.В. Коротаев (к.м.н., доцент), А.Н. Лызилов (д.м.н., профессор), А.В. Макарич (к.м.н., доцент), С.Б. Мельнов (д.б.н., профессор), В.М. Мицура (д.м.н., доцент), Я.Л. Навменова (к.м.н., доцент), Э.А. Надыров (к.м.н., доцент), И.А. Новикова (д.м.н., профессор), Э.Н. Платошкин (к.м.н., доцент), Э.А. Повелица (к.м.н.), А.С. Подгорная (к.м.н.), Ю.И. Рожко (к.м.н., доцент), И.П. Ромашевская (к.м.н.), М.Г. Русаленко (к.м.н., доцент), А.П. Саливончик (к.б.н.), А.Е. Силян (к.б.н., доцент), А.Н. Стожаров (д.б.н., профессор), И.О. Стома (д.м.н., доцент), Н.И. Шевченко (к.б.н., доцент), Ю.И. Ярец (к.м.н., доцент)

Редакционный совет

Е.Л. Богдан (МЗ РБ, Минск), А.В. Аклеев (д.м.н., профессор, Челябинск), О.В. Алейникова (д.м.н., чл.-кор. НАН РБ, Минск), С.С. Алексанин (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Д.А. Базыка (д.м.н., профессор, Киев), А.П. Бирюков (д.м.н., профессор, Москва), Л.А. Бокерия (д.м.н., академик РАН и РАМН, Москва), А.Ю. Бушманов (д.м.н., профессор, Москва), И.И. Дедов (д.м.н., академик РАМН, Москва), В.И. Жарко (Минск), М.П. Захарченко (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Л.А. Ильин (д.м.н., академик РАМН, Москва), К.В. Котенко (д.м.н., профессор, Москва), В.Ю. Кравцов (д.б.н., профессор, Санкт-Петербург), Н.Г. Кручинский (д.м.н., профессор, Пинск), Т.В. Мохорт (д.м.н., профессор, Минск), Д.Л. Пиневиц (МЗ РБ, Минск), В.Ю. Рыбников (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Н.Д. Тронько (д.м.н., чл.-кор. НАН, акад. НАМН Украины, Киев), А.Л. Усс (д.м.н., профессор, Минск), В.А. Филонюк (к.м.н., доцент, Минск), Р.А. Часнойть (к.э.н., Минск), В.Д. Шило (Минск)

Технический редактор

С.Н. Никонович

Адрес редакции 246040 г. Гомель, ул. Ильича, д. 290,
ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ», редакция журнала
тел (0232) 38-95-00, факс (0232) 37-80-97
<http://www.mbp.rcrm.by> e-mail: mbp@rcrm.by

© Государственное учреждение
«Республиканский научно-практический центр
радиационной медицины и экологии человека», 2021

№ 2(26)

2021

Medical and Biological Problems of Life Activity

Scientific and Practical Journal

Founder

Republican Research Centre
for Radiation Medicine
and Human Ecology

Journal registration
by the Ministry of information
of Republic of Belarus

Certificate № 762 of 6.11.2009

© Republican Research Centre
for Radiation Medicine
and Human Ecology

ISSN 2074-2088

Обзоры и проблемные статьи

- А.В. Величко, С.Л. Ачинович, Ю.В. Бондарева**
Морфологические аспекты в диагностике аденомы и гиперплазии паращитовидных желез (обзор литературы) 6
- Б.О. Кабешев**
Серебро и нанотехнологии при профилактике развития инфекции области хирургического вмешательства 13
- В.М. Мицура**
Последствия перенесенной инфекции COVID-19 и возможности реабилитации пациентов с пост-ковидным синдромом 22
- Е.В. Молчанова, Л.М. Габдрахманов, Ю.И. Рожко, А.В. Куроедов, И.Р. Газизова, Н.А. Бакунина, Ю.П. Сотникова**
Сахарный диабет и глаукома: взаимосвязи патогенетических механизмов развития заболеваний 28

Медико-биологические проблемы

- О.Е. Клементьева, А.С. Лунёв, К.А. Лунёва, Г.Г. Шимчук**
Дифференциальная визуализация злокачественных и доброкачественных процессов с использованием фторированного тимидина у лабораторных животных 38
- В.А. Лемеш, В.Н. Кипень, М.В. Богданова, А.А. Буракова, А.Г. Булгак, А.В. Байда, О.В. Зотова, М.А. Кругликова, О.И. Добыш, В.И. Сакович**
Метилирование ДНК в образцах буккального эпителия человека в связи с определением возраста 44
- В.П. Невзоров, Т.М. Буланова, В.В. Пырву**
Математическая модель изменения состояния здоровья населения и демографии в едином территориально-временном пространстве 53
- Е.С. Пашинская**
Экспрессия сурвивина (*BIRC5*), эпидермального фактора роста (*ErbB-2/HER2-Neu*), фактора роста эндотелия сосудов (*VEGF*) и антионкогена *TP53* при токсоплазмозе во время развития экспериментальной глиомы 63

Reviews and problem articles

- A.V. Velichko, S.L. Achinovich, Y.V. Bondareva**
Morphological aspects in the diagnosis of adenoma and parathyroid hyperplasia (literature review) 6
- B. Kabeshev**
Silver and nanotechnologies in modification of suture material for prevention of surgical site infection 13
- V.M. Mitsura**
Long-term consequences of COVID-19 infection and the rehabilitation options for patients with post-covid syndrome 22
- E.V. Molchanova, L.M. Gabdrakhmanov, Yu.I. Razhko, A.V. Kuroyedov, I.R. Gazizova, N.A. Bakunina, Yu.P. Sotnikova**
Diabetes mellitus and glaucoma: interrelations of pathogenetic mechanisms of disease development 28

Medical-biological problems

- O.E. Klement'eva, A.S. Lunev, K.A. Luneva, G.G. Shimchuk**
Differential visualization of malignant and benign processes using fluorinated thymidine in laboratory animals 38
- V.A. Lemesh, V.N. Kipen, M.V. Bahdanava, A.A. Burakova, A.G. Bulgak, A.V. Bayda, O.V. Zotova, M.A. Kruglikova, O.I. Dobysh, V.I. Sakovich**
DNA methylation in human buccal epithelium samples in determining age 44
- V.P. Nevzorov, T.M. Bulanova, V.V. Pyrvu**
Mathematical model of change of a state of health of the population and demography in uniform territorial and time space 53
- E.S. Pashinskaya**
Expression of survivin (*BIRC5*), epidermal growth factor (*ErbB-2/HER2-Neu*), vascular endothelial growth factor (*VEGF*) and anti-oncogene *TP53* in toxoplasmosis during the development of experimental glioma 63

| | | | |
|--|-----|---|--|
| Н.Л. Проскурякова, А.В. Симаков, Т.М. Алферова К вопросу сочетанного действия ионизирующей радиации и вредных факторов на организм человека | 70 | N.L. Proskuryakova, A.V. Simakov, T.M. Alferova To the question of the combined effect of ionizing radiation and harmful factors on the human body | |
| М.Н. Стародубцева, И.А. Челнокова, А.Н. Шклярора, Е.В. Цуканова, О.В. Шаховская, Н.И. Егоренков, Н.Н. Веялкина Наноархитектоника и наномеханические свойства поверхности эритроцитов человека и мыши линии BALB/c после облучения цельной крови рентгеновским излучением в дозе 0,5 Гр | 77 | M.N. Starodubtseva, I.A. Chelnokova, A.N. Shklyarova, A.U. Tsukanava, O.V. Shakhovskaya, N.I. Yegorenkov, N.N. Veyalkina Nanoarchitectonics and nanomechanical properties of the surface of human and mouse erythrocytes of the BALB/c line after irradiation of whole blood with x-ray radiation at a dose of 0,5 Gy | |
| Д.А. Чечетин Динамика антропометрических показателей позвоночника и стоп в процессе реабилитационных мероприятий при нарушениях осанки у детей | 85 | D.A. Chechetin Dynamics of anthropometric indicators of spine and feet during the process of rehabilitation measures for children posture disorders | |
| Клиническая медицина | | Clinical medicine | |
| О.Н. Василькова, И.Ю. Пчелин, В.К. Байрашева, Я.А. Боровец, Ю.И. Ярец, Я.Л. Навменова, Е.П. Науменко, Т.В. Мохорт Кардиопротективные эффекты эмпаглифлозина и вилдаглиптина: клинико-инструментальная оценка структурно-функциональных показателей сердца и сердечных маркеров у пациентов с СД 2 типа | 91 | V.N. Vasilkova, I.Yu. Pchelin, V.K. Bayrasheva, Ya.A. Borovets, Yu.I. Yarets, Ya.L. Navmenova, E.P. Naumenka, T.V. Mokhort Cardioprotective effects of empagliflozin and vildagliptin: clinical and instrumental assessment of structural and functional parameters of the heart and cardiac markers in patients with diabetes type 2 | |
| В.В. Гарькавенко Клинико-демографическая характеристика пациентов с первичной открытоугольной глаукомой и эффективность их хирургического лечения в Красноярском крае | 99 | V.V. Gar'kavenko Clinical and demographic characteristics of patients with primary open-angle glaucoma and the efficiency of their surgical treatment in Krasnoyarsk region | |
| С.Л.Зыблев, С.В.Зыблева, Л.Е.Коротаева Цитокиновый профиль реципиентов почечного трансплантата в раннем послеоперационном периоде | 105 | S. Zyblev, S. Zybleva, L. Korotaeva Cytokine profile in kidney transplant recipients in the early postoperative period | |
| Н.А. Метляева, А.Ю. Бушманов, И.А. Галстян, А.А. Давтян, В.В. Кореньков, О.В. Щербатых Психофизиологическая адаптация двух пациентов с острой лучевой болезнью и лейкозом, пострадавших в аварии на ЧАЭС | 111 | N.A. Metlyaeva, A.Yu. Bushmanov, I.A. Galstyan, A.A. Davtyan, V.V. Korenykov, O.V. Shcherbatykh Psychophysiological adaptation of two patients with acute radiation sickness and leukemia affected in the accident at Chernobyl NPP | |

Е.А. Полякова, С.А. Берестень, М.В. Стёганцева, И.Е. Гурьянова, Д.В. Луцкович, М.В. Белевцев

Оценка влияния перинатальных и интранатальных факторов на количество копий ТРЭК/КРЕК у недоношенных новорожденных

121

В.В. Татчихин

Клинические результаты хирургического лечения пациентов при раке оррофарингеальной области

128

Ю.И. Ярец, Н.И. Шевченко, В.Н. Мартинков
Биологические свойства *Staphylococcus aureus*-продуцентов биопленки, выделенных из раневого отделяемого пациентов

134

Обмен опытом

Н.А. Бакунина, Ю.П. Сотникова, Ю.И. Рожко, А.В. Куроедов, И.Р. Газизова, Е.В. Молчанова, Л.М. Габдрахманов

Современный взгляд на эпидемиологию, классификацию и генетику закрытоугольной глаукомы

144

А.Ю. Бушманов, Н.А. Богданенко, В.А. Ратников

Метрологическое обеспечение и стандартизация основных направлений деятельности ФГБУ «ГНЦ РФ – ФМБЦ им. А.И. Бурназяна» ФМБА России в области радиобиологии, радиационной и химической защиты и безопасности, радиационного и дозиметрического контроля, медико-биологической безопасности неионизирующих излучений

153

Л.П. Зайцева, В.Н. Беляковский, Д.М. Лось, В.В. Похожай

Способы стандартизации цитологического исследования клеточного осадка мочи

159

Ю.И. Рожко, И.А. Глушнёв, Н.А. Ребенок, А.В. Куроедов, А.Ю. Брежнев

Оригинальные авторские идеи в сфере лечения глаукомы (обзор изобретений по базам патентов)

165

E.A. Polyakova, S.A. Beresten, M. V. Stegantseva, I.E. Guryanova, D.V. Lutsckovich, M.V. Belevtsev

Assessment of the Influence of Perinatal and Intranatal Factors on the Number of TREC/KREC Copies in Premature Infants

V.V. Tatchikhin

Clinical results of surgical treatment of patients with oropharyngeal cancer

Y.I. Yarets, N.I. Shevchenko, V.N. Martinkov

Biological properties of *Staphylococcus aureus* – biofilm producers isolated from wound swabs from patients

Experience exchange

N.A. Bakunina, Yu.P. Sotnikova, Yu.I. Razhko, A.V. Kuroyedov, I.R. Gazizova, E.V. Molchanova, L.M. Gabdrakhmanov

Modern aspects of epidemiology, classification and genetics of angle-closure glaucoma

A.Yu. Bushmanov, N.A. Bogdanenko, V.A. Ratnikov

Metrological support and standardization of the main activities of State research center Burnasyan Federal medical biophysical center of Federal medical biological agency in the field of radiobiology, radiation and chemical protection and safety, radiation and dosimetric control, medical and biological safety of non-ionizing radiation

L.P. Zaitsava, V.N. Belyakovski, D.M. Los, V.V. Pohozhay

Ways to standardize the cytological examination of urine cell sludge

Yu.I. Razhko, I.A. Glushnev, N.A. Rebenok, A.V. Kuroyedov, A.Yu. Brezhnev

Original author's ideas in field of glaucoma treatment (review of inventions from patent databases)

**НАНОАРХИТЕКТОНИКА И НАНОМЕХАНИЧЕСКИЕ
СВОЙСТВА ПОВЕРХНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА
И МЫШИ ЛИНИИ BALB/c ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ ЦЕЛЬНОЙ
КРОВИ РЕНТГЕНОВСКИМ ИЗЛУЧЕНИЕМ В ДОЗЕ 0,5 Гр**¹УО «Гомельский государственный медицинский университет», г. Гомель, Беларусь,²Институт радиобиологии НАН Беларуси, г. Гомель, Беларусь

Несмотря на то, что эритроциты считаются относительно резистентными к действию ионизирующего излучения элементами крови, данные литературы последних лет свидетельствуют об изменении их свойств, выявляемыми современными методами при облучении клеток в относительно малых дозах. Целью работы являлся сравнительный анализ изменений параметров структурных и наномеханических свойств поверхности эритроцитов человека и мыши линии BALB/c при облучении цельной крови *in vitro* рентгеновским излучением в дозе 0,5 Гр с помощью метода атомно-силовой микроскопии (PeakForce QNM). Не выявлено существенных различий параметра шероховатости рельефа и карт сил адгезии для участков поверхности эритроцитов размером 250 нм × 250 нм для человека и мыши, а также его изменения после действия рентгеновского излучения. Установлено увеличение средних значений силы адгезии и пространственного периода, соответствующего среднему размеру ячейки сети мембранного скелета эритроцитов, после облучения крови рентгеновским излучением. Полученные данные свидетельствуют о радиационно-индуцированных изменениях параметров адгезионных свойств и наноархитектоники клеточной поверхности, связанных с изменениями пространственной структуры мембранного скелета эритроцитов при облучении крови *in vitro* в дозе 0,5 Гр.

Ключевые слова: Атомно-силовая микроскопия, эритроциты, рентгеновское излучение, человек, мышь, наномеханические свойства

Введение

Облучение компонентов крови является общепринятой процедурой для предотвращения посттрансфузионной реакции «трансплантат против хозяина» [1]. Стандартная доза процедуры составляет 25 Гр для гамма- или рентгеновского излучений [2]. Эритроциты в сравнении с другими форменными элементами крови считаются относительно резистентными к действию ионизирующего излучения. Данные многолетних исследований указывают на отсутствие значительных изменений параметров морфологии эритроцитов при облучении ионизирующим излучением с дозой до

200 Гр [3]. В последние годы появились работы, в которых выявлены изменения формы эритроцитов (повышении процентного содержания эхиноцитов в популяции эритроцитов), параметров ионного транспорта, состава белков мембранного скелета, параметров осмотической устойчивости при облучении *in vitro* в дозе до 12 Гр [4-7].

Атомно-силовая микроскопия (АСМ) является методом, позволяющим оценить параметры структуры и механических свойств поверхности объектов на микро- и наномасштабных уровнях. Незначительные ранние изменения структуры и механических свойств поверхности объектов биологической природы, которые вызваны

действием ионизирующего излучения в малых дозах, не обнаруживаются на уровне целых клеток, но могут быть обнаружены при исследовании параметров свойств поверхности на микро- и наномасштабе с помощью АСМ. Так, Spyratou с соавторами обнаружили увеличение шероховатости поверхности эритроцитов человека, оцененной на микромасштабных участках поверхности эритроцитов, при облучении рентгеновским излучением в дозах 0,1-2 Гр. Кроме того, эти авторы выявили уменьшение модуля упругости эритроцитов человека, измеренное с помощью силовой микроскопии, одной из опций АСМ, с 20 кПа до 7 кПа для поверхности эритроцитов с увеличением дозы рентгеновского излучения до 2 Гр [8]. В модельном эксперименте с хомячками при облучении *in vivo* рентгеновским излучением в дозе 2-12 Гр Zang с соавторами также обнаружили уменьшение жёсткости эритроцитов крови с 12 кПа до 4 кПа и уменьшение процентного содержания в них цитоскелетного белка – альфа-спектрина [9].

Эритроциты являются основными по численности, но не единственными компонентами цельной крови. Действие ионизирующего излучения при облучении крови как *in vitro*, так и *in vivo* будет включать в себя эффекты прямого воздействия излучения на эритроциты, так и эффекты, вызванные другими факторами, возникшими после реакции других компонентов крови с ионизирующим излучением. В модели на крысах было показано, что рентгеновское излучение в дозах от 0,1 до 1 Гр вызывает изменение числа форменных элементов крови (эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов). При дозе облучения 0,5 Гр авторы отмечают наибольшие изменения в клеточном составе крови [10].

Разные организмы отличаются разной чувствительностью органов, тканей и клеток к действию ионизирующего излучения. Различие ответов этих биологических объектов становится существенным при действии ионизирующего излучения в малых дозах. Среди разных линий мышей ли-

ния BALB/c мышей известна повышенной радиочувствительностью и генетической предрасположенностью к повышенной радиационно-индуцированной геномной нестабильности за счет снижения активности ДНК-РКс [11, 12].

Целью работы являлся сравнительный анализ изменений параметров структурных и наномеханических свойств поверхности эритроцитов человека и мыши линии BALB/c при облучении цельной крови *in vitro* рентгеновским излучением в дозе 0,5 Гр с помощью метода атомно-силовой микроскопии (PeakForce QNM).

Материал и методы исследования

Образцы эритроцитов

До начала проведения экспериментальных работ было получено одобрение на проведение исследований комитетом по этике Гомельского государственного медицинского университета. Образцы крови человека были взяты у здорового добровольца женского пола (возраст 25 лет), который дал письменное информированное согласие.

Для получения образцов плазмы крови лабораторной мыши были использованы мыши линии BALB/c, самцы в возрасте 2,5-3 месяца. Животных содержали в условиях стационарного вивария Государственного научного учреждения «Институт радиобиологии НАН Беларуси» на полноценном стандартном пищевом рационе и свободным доступом к воде, 12/12-часовом режиме освещения и темноты, согласно установленным нормам. Эксперименты выполнялись в соответствии с международными рекомендациями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» [13]. Кровь отбирали путём декапитации на фоне глубокого эфирного наркоза. Венозную кровь помещали в пробирку с 3,2% раствором цитрата натрия в соотношении 9:1. Далее образцы разделялись на опытный и контрольный в равных объёмах. Опытные образцы, объёмом 0,5 мл облучали рентгеновским излу-

чением в дозе 0,5 Гр с помощью рентгеновского аппарата биологического назначения X-Rad 320 Precision X-ray Inc (напряжение на трубке 320 кВ, мощность дозы 98,8 сГр/мин, фильтр №2 (1,5 мм Al + 0,5 мм Cu + 0,8 мм Sn) расстояние до объекта 50 см). Эритроциты осаждали центрифугированием в течение 10 мин при 300 g с последующей фиксацией 1% глутаровым альдегидом в течение 15 минут при 37°C, с последующей двукратной отмывкой фосфатно-солевым буфером и дистиллированной водой. Высушивали образцы эритроцитов при комнатных условиях на стёклах с повышенной адгезивностью.

Атомно-силовая микроскопия

Оценку адгезионных свойств поверхностного слоя клеток проводили с помощью атомно-силового микроскопа BioScope Resolve в режиме записи PeakForce QNM на воздухе иглой-зондом SCANASYST-AIR с радиусом закругления 2 нм с пиковой нагрузкой 500 пН. В каждой точке скана (250 нм × 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.

Анализ данных

Обработку полученных АСМ-изображений проводили с помощью программы NanoScopeAnalysis 1.8. Определяли шероховатость (R_q) АСМ-изображений, полученных по каналам Height sensor, Adhesion. Перед расчётом шероховатости корректировали наклон участков с помощью функции Flatten. Пространственный период (T) оценивали с помощью построения кривых спектральной плотности (опция Power Spectral Density) для карт сил адгезии, по кривым определяли частоту, соответствующую её максимуму, которую затем переводили в пространственный период (в нм).

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы SPSS Statistics 17.0, Microsoft Excel и программы свободного доступа Statistical Kingdom. Нормальность распределения оценивали

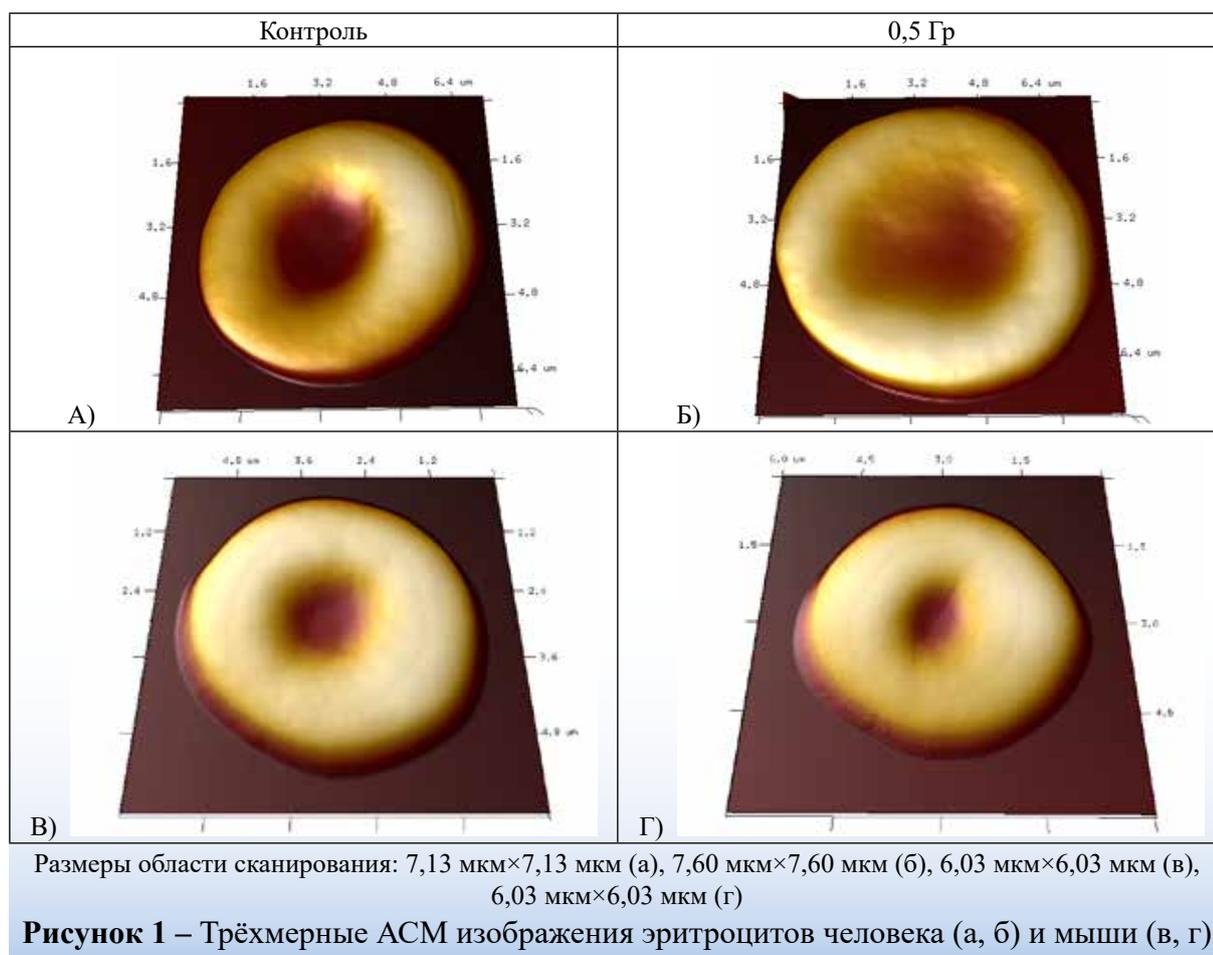
методами Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка. Результаты статистического анализа представлены в виде медианы и границ интерквартильного интервала: $Me (Q_1; Q_3)$ или среднего выборочного и границ 95% доверительного интервала ($M \pm DI$). Сравнение выборочных параметров проводили с использованием t-критерия Стьюдента, критерия Манна-Уитни, критерия Крускала-Уоллиса с поправкой Бонферрони.

Результаты исследования

На рисунке 1 представлены трехмерные АСМ-изображения эритроцитов контрольной и опытной выборок для человека и мыши.

В литературе отмечается, что при воздействии ионизирующего излучения в относительно низких дозах могут иметь место такие изменения морфологии эритроцитов, как эхиноцитоз и анизоцитоз. Так, авторы работы [5] после облучения крови в дозах 3-12 Гр отмечают уменьшение радиуса клеток и увеличение процентного содержания в крови эхиноцитов с 3 до 60%. В наших опытах при облучении крови человека и мыши в дозе 0,5 Гр не обнаружено статистически значимого различия в диаметре эритроцитов и процентном содержании эхиноцитов в крови. Диаметры эритроцитов контрольной и опытной выборок оцененные по АСМ-данным были для человека $6,54 \pm 0,28$ мкм и $6,83 \pm 0,24$ мкм, для мыши $4,92 \pm 0,07$ мкм и $5,00 \pm 0,06$ мкм ($p > 0,05$, критерий Стьюдента), соответственно. Для дальнейшего анализа параметров наноархитектоники и наномеханических свойств поверхности эритроцитов в нашей работе были выбраны дискоциты.

Мы записали и изучили параметры АСМ-изображений (карт различных свойств) микромасштабных участков поверхности эритроцитов размером 250 нм × 250 нм (рисунок 2). Такие малые участки поверхности клеток имеют размеры, сравнимые с пределом разрешения светового микроскопа, и не видны с помощью классических методов световой микроскопии. Одной из характеристик структуры поверх-

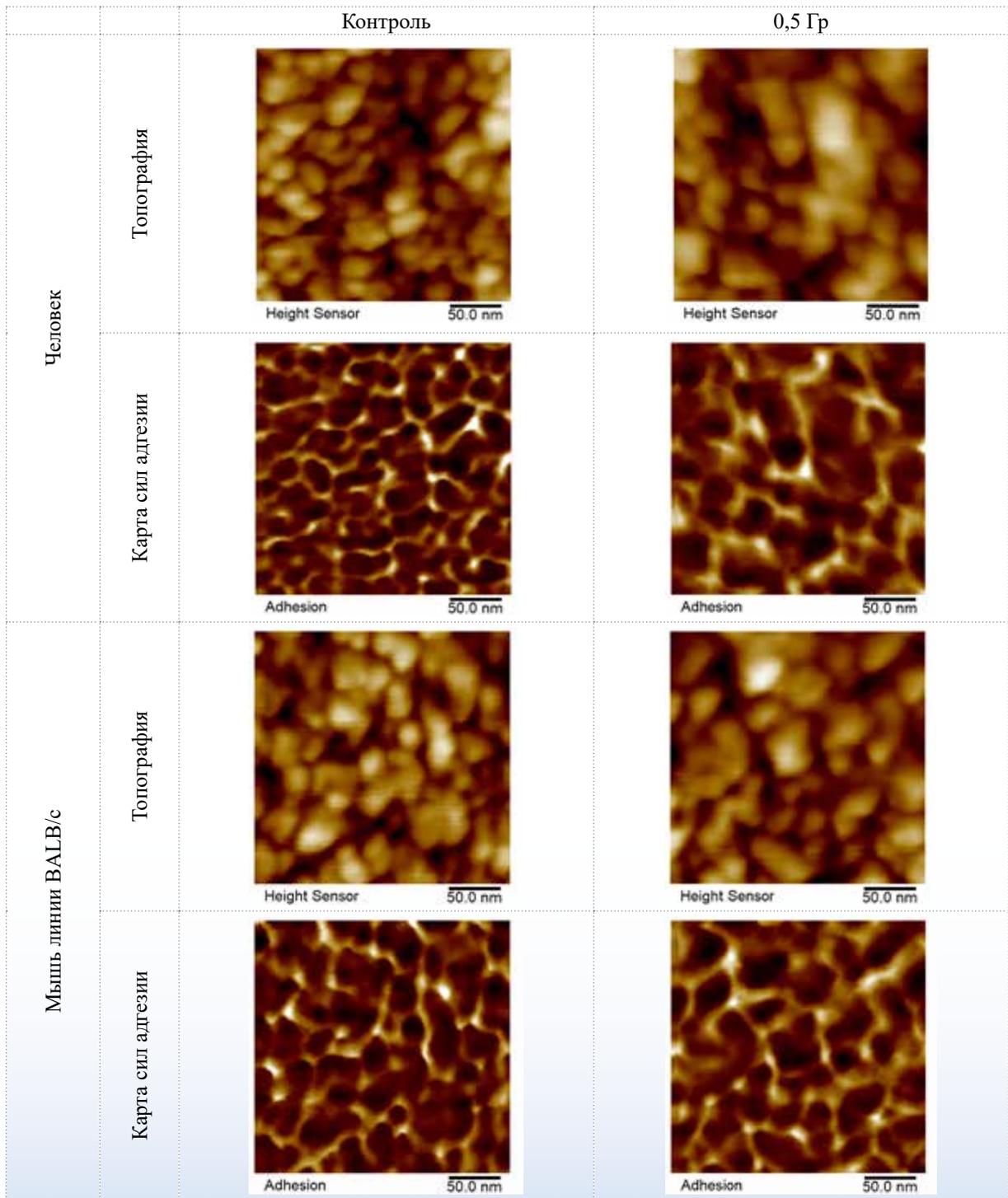


ности является параметр шероховатости, который зависит от масштаба, т.е. от размеров анализируемого участка поверхности. С увеличением размеров участка поверхности, как правило, шероховатость увеличивается. Для участков поверхности размером 250 нм × 250 нм шероховатость (R_q) топографических карт примерно одинакова как для эритроцитов человека, так и эритроцитов мыши (1,9-2,4 нм). Нами не выявлено существенных изменений шероховатости топографии эритроцитов обоих типов организмов после действия рентгеновского излучения в дозе 0,5 Гр (таблица 1).

Шероховатость карт силы адгезии участков поверхности эритроцитов такого же размера также не зависит от типа организма и примерно равняется 1,6-1,7 нН. Как и в случае топографии, рентгеновское излучение в дозе 0,5 Гр не оказывает существенного влияния на этот параметр (таблица 1).

В упомянутом выше исследовании [11] шероховатость была для контрольных образ-

цов около 15 нм, это означает, что, хотя авторы работы и не указывали размеры участков, для которых анализировали шероховатость, но величина параметра свидетельствует, что участки были размера значительно большего, чем используемый нами в исследовании размер. Авторы цитируемой выше работы обнаружили увеличение параметра шероховатости для топографических изображений поверхности эритроцитов человека после облучения. С учётом того факта, что авторы работы указывают также увеличение процентного соотношения кренированных форм эритроцитов в крови после облучения, следовательно, установленная ими тенденция может быть следствием искривления формы поверхности эритроцитов на микромасштабном уровне при их кренировании. В нашей работе были проанализированы наномасштабные участки поверхности, для которых шероховатость практически не изменялась после облучения крови рентгеновским излучением в дозе 0,5 Гр.



Размер области сканирования – 250 нм×250 нм, разрешение 256×256 пикселей

Рисунок 2 – АСМ-изображения малых участков поверхности эритроцитов контрольной и опытной выборок для крови человека и мыши линии BALB/c

Таблица 1 – Шероховатость топографических изображений и карт силы адгезии для наномасштабных участков поверхности эритроцитов человека и мыши контрольных и облучённых образцов крови ($Me(Q_1; Q_3)$)

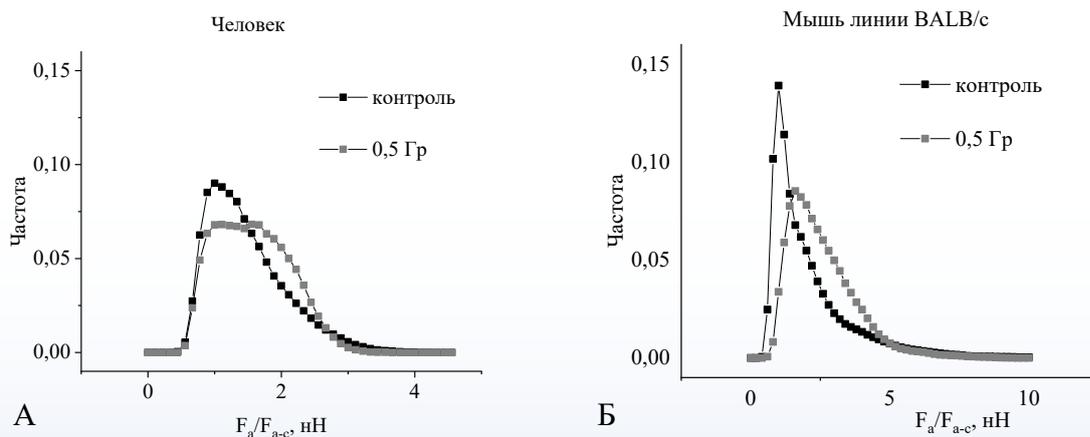
| Объект исследования | R_q (топография), нм | | R_a (карты сил адгезии), нН | |
|------------------------------|------------------------|---------------|-------------------------------|---------------|
| | Контроль | 0,5 Гр | Контроль | 0,5 Гр |
| Эритроциты человека | 2,4 (1,9;3,1) | 1,9 (1,8;2,3) | 1,7 (1,3;2,4) | 1,6 (1,3;1,6) |
| Эритроциты мыши линии BALB/c | 2,4 (2,2;2,6) | 2,1 (1,9;2,3) | 1,7 (1,5;1,8) | 1,7 (1,5;1,9) |

При химической фиксации структуры эритроцитов раствором глutarового альдегида происходит образование поперечных сшивок между белками-элементами мембранного скелета эритроцитов, приводящее к увеличению жёсткости мембранного скелета эритроцитов и изменению топографии поверхности. В местах прикрепления мембранного скелета к плазмалемме поверхность эритроцитов при фиксировании и высушивании образцов клеток втягивается вглубь пространства клетки, образуя парашют-подобные структуры, контуры которых характеризуют пространственные структуры мембранного скелета эритроцитов. Эта ячеистая сеть хорошо определяется на картах сил адгезии (рисунок 2). Различие пространственной структуры мембранного скелета эритроцитов можно заметить визуально, сравнивая карты сил адгезии для участков поверхности эритроцитов крови обоих изученных организмов до и после облучения рентгеновским излучением в дозе 0,5 Гр (рисунок 2).

Проведя статистический анализ карт сил адгезии для более 30 участков поверхности клетки для контрольных и облучённых образцов, было выявлено изменение формы распределения значений сил адгезии, вызванное действием рентгеновского излучения в дозе 0,5 Гр (рисунок 3).

Кривая плотности вероятности распределения параметра для облученных эритроцитов (как для человека, так и для мыши) смещена в сторону больших значений в сравнении с положением кривой контрольных выборок для соответствующих организмов (рисунок 3). Вследствие отсутствия различий параметра шероховатости карт сил адгезии (характеризующего «вертикальную» (перпендикулярную плоскости мембраны) структуру поверхности эритроцитов) для контрольных и опытных выборок различие средних значений сил адгезии на этих участках поверхности эритроцитов может быть обусловлено изменением параметра, характеризующего «латеральную» (в плоскости мембраны) структуру поверхности эритроцитов.

Пространственную структуру двумерной сети мембранного скелета эритроцитов можно охарактеризовать средним размером ячеек этой сети. Оценить этот параметр можно с использованием преобразования Фурье, определив основную частоту (гармонику) в полученном спектре, которую затем можно перевести в пространственный период, значение которого и является средним размером ячеек мембранного скелета эритроцитов. Оцененный таким образом пространственный период карт сил адгезии



F_{a-c} (человека) = 4,5 нН, F_{a-c} (мыши) = 2,5 нН

Рисунок 3 – Плотность вероятности распределения средней силы адгезии (в отн. ед.), оцененной для малых участков поверхности эритроцитов контрольной и опытной выборок для крови человека (а) и мыши линии BALB/c (б) относительно медианных значений контрольных выборок

для участков поверхности изучаемых выборок представлен в таблице 2. По данным Nans с соавторами среднее расстояние между точками прикрепления актин-спектриновой сети к мембране эритроцитов в норме приблизительно равно $46,0 \pm 16,0$ нм [14]. Это значение совпадает с нашими данными как для эритроцитов человека, так и эритроцитов мыши контрольных образцов.

Полученные данные указывают на существенное увеличение размеров ячейки сети мембранного скелета эритроцитов после облучения рентгеновским излучением в дозе 0,5 Гр для изученных типов организмов. Этот факт может свидетельствовать о радиационно-индуцированном изменении структуры мембранного скелета (уменьшение её плотности), что может способствовать или сопровождаться изменением проницаемости плазмалеммы и активности мембранных ферментов. Например, в литературе имеются данные об значительном снижении скорости пассивного транспорта глюкозы и активного транспорта ионов кальция при облучении эритроцитов рентгеновским излучением *in vitro* [15].

Заключение

Впервые проведено сравнительное изучение и установлен схожий характер изменения параметров наноархитектоники и наномеханических свойств поверхности эритроцитов человека и мыши линии BALB/c после облучения цельной крови рентгеновским излучением в малой дозе (0,5 Гр). Полученные данные свидетельствуют об изменении наномеханических свойств поверхности эритроцитов обоих организмов, связанных с изменениями пространственной структуры мембранного скелета эритроцитов. Результаты работы также указывают на преимущество использования мышей радиочувствительной линии BALB/c в модельных исследованиях по изучению действия радиации с перспективой экстраполяции данных на человека в сравнении с мышами широко используемых, но более устойчивых к действию радиации, линий, например, линии C57BL/6 (B6).

Таблица 2 – Средний пространственный период (в нм) карт сил адгезии участков поверхности эритроцитов человека и мыши линии BALB/c контрольных и опытных выборок ($Me (Q_1; Q_3)$)

| Объект исследования | Контроль | 0,5 Гр |
|------------------------------|-------------------|--------------------|
| Эритроциты человека | 45,9 (28,7; 50,0) | 50,0 (45,9; 62,5)* |
| Эритроциты мыши линии BALB/c | 35,7 (35,7; 52,1) | 50,0 (42,7; 62,5)* |

* $p < 0,0125$ множественное сравнение с использованием критерия Круаскал-Уоллиса ($N=16,70$, $p=0,0008$) с поправкой Бонферрони

*Работа выполнена в рамках задания ГПНИ 3.01.2 «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*» (№ГР 20210231 от 15.03.2021).*

Библиографический список

1. Carboxylated nanodiamonds inhibit γ -irradiation damage of human red blood cells / K. Santacruz-Gomez [et al.] // *Nanoscale*. – 2016. – Vol. 8, Iss. 13. – P. 7189-7196.
2. Manduzio, P. Transfusion-associated graft-versus-host disease: a concise review / P. Manduzio // *Hematol Rep*. – 2018. – Vol. 10, Iss. 4. – P. 7724.
3. Effects of ionizing radiation on blood and blood components: A survey / Iaea-tecdoc-934. – 1997. – Vol. 28, Iss. 13. – 42 p.
4. The effects of x-ray on the radii of red blood cells / R.S. Algareb [et al.] // *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.* – 2020. – Vol. 928, Iss. 7. – P. 072131.
5. Effects of high doses of x-ray on hematological parameters and morphology of red blood cells in human blood / A.H. Taqi [et al.] // *Iran. J. Medical Phys.* – 2019. – Vol. 16. – P. 112-119.
6. Erythrocyte stiffness during morphological remodeling induced by carbon ion radiation / B. Zhang [et al.] // *PLoS ONE*. – 2014. – Vol. 9, Iss. 11. – P. 112624.
7. The effects of medical diagnostic low dose x-rays after *in vitro* exposure of human red blood cells: hemolysis and osmotic fragility / M. Tungjai [et al.] // *Toxicol Environ Health Sci.* – 2019. – Vol. 11, Iss. 3. – P. 237-243.
8. Probing the effects of ionizing radiation on young's modulus of human erythrocytes cytoskeleton using atomic force microscopy / E. Spyratou [et al.] // *J. Med. Phys.* – 2019. – Vol. 44, Iss. 2. – P. 113-117.
9. Erythrocyte stiffness during morphological remodeling induced by carbon ion radiation / B. Zhang

[et al.] // PLoS ONE. – 2014. – Vol. 9, Iss. 11. – P. e112624.

10. El-Shanshoury, H. Evaluation of low dose ionizing radiation effect on some blood components in animal model / H. El-Shanshoury, G. El-Shanshoury, A. Abaza // J. Radiat. Res. Appl. Sci. – 2016. – Vol. 9, Iss. 3. – P. 282–293.

11. Ponnaiya, B. Radiation-induced chromosomal instability in BALB/c and C57BL/6 mice: the difference is as clear as black and white / B. Ponnaiya, M.N. Cornforth, R.L. Ullrich // Radiat. Res. – 1997. – Vol. 147, Iss. 2. – P. 121–125.

12. A deficiency in DNA repair and DNA-PKcs expression in the radiosensitive BALB/c mouse / R. Okayasu [et al.] // Cancer Res. – 2000. – Vol. 60,

Iss. 16. – P. 4342–4345.

13. European Union. 2010. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Official Journal of the European Union L276/33.

14. Nans, A. Native ultrastructure of the red cell cytoskeleton by cryo-electron tomography / A. Nans, N. Mohandas, D.L. Stokes // Biophys. J. – 2011. – Vol. 101, Iss. 10. – P. 2341–2350.

15. Azhari, The effects of X-rays radiation on active and passive transport of erythrocytes membrane / Azhari, S. Diba // J. Int. Dent. Medical Res. – 2018. – Vol. 11, Iss. 1. – P. 261–264.

**M.N. Starodubtseva, I.A. Chelnokova, A.N. Shklyarova, A.U. Tsukanava,
O.V. Shakhovskaya, N.I. Yegorenkov, N.N. Veyalkina**

**NANOARCHITECTONICS AND NANOMECHANICAL PROPERTIES
OF THE SURFACE OF HUMAN AND MOUSE ERYTHROCYTES
OF THE BALB/c LINE AFTER IRRADIATION OF WHOLE
BLOOD WITH X-RAY RADIATION AT A DOSE OF 0,5 Gy**

Despite the fact that erythrocytes are considered relatively resistant to the action of ionizing radiation, the recent literature data have indicated a presence of changes in their properties, detected by modern methods when the cell are irradiated at relatively low doses. The aim of the work was a comparative analysis of changes in the parameters of structural and nanomechanical properties of the surface of human and Balb/c line mouse erythrocytes when whole blood was irradiated in vitro with X-ray radiation at a dose of 0,5 Gy using the atomic force microscopy in PeakForce QNM mode. There were no significant differences in the roughness of the topographic images and the adhesion force maps of the areas of the erythrocyte surface with a size of 250 nm × 250 nm for humans and mice, as well as its changes after the action of X-ray radiation. For nanoscale areas of the cell surface, an increase in the average values of the adhesion force and the spatial period corresponding to the average cell size of the membrane skeleton network of erythrocytes after the X-ray irradiation of blood was found. The obtained data indicate low-dose radiation-induced changes in the parameters of the adhesive properties and nanoarchitectonics of the cell surface that are associated with changes in the spatial structure of the membrane skeleton of erythrocytes.

Key words: *Atomic force microscopy, red blood cells, X-ray radiation, human, mouse, nanomechanical properties*

Поступила 13.07.21