РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ФИБРОБЛАСТОВ КРЫСЫ

Шаховская О.В.¹, Матвеенкова Т.Д.¹, Стародубцева М.Н.^{1,2}

¹Институт радиобиологии НАН Беларуси, Гомель, Беларусь ²Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь

В сложной системе регуляции многообразных функций клетки в физиологических условиях и в условиях воздействия на клетку патогенных факторов, включая ионизирующее излучение, активное участие принимают активные формы кислорода (АФК). АФК вместе с антиоксидантной системой клетки образуют единую равновесную регуляторную систему, призванную модулировать основные функции клетки. Знание патофизиологических и патобиохимических процессов, индуцируемых АФК в клетках, позволяет проводить коррекцию метаболических и функциональных изменений, предупреждая развитие органных и системных нарушений и, как следствие, развитие многих заболеваний. Синтез коллагена является важной функциональной особенностью фибробластов. Нарушения в синтезе коллагена как в сторону гипо-, так и гиперпродукции является важным звеном в дистрофическом изменении тканей (ухудшение эстетического вида кожи, дистрофия мышечной ткани, нарушение работы суставов и т. д.). Целью исследования было установление закономерностей влияния рентгеновского излучения на синтез коллагена в фибробластах и изменения окислительно-восстановительных свойств (редокс-свойств) их окружения. Объектом исследования были фибробласты, выделенные из кожи крысы-самца линии Wistar, возрастом 6 месяцев, методом первичных эксплантов с предварительной ферментативной обработкой. Облучение клеток рентгеновским излучением проводилось в дозах 1 Гр и 100 Гр (параметры облучения: мощность дозы 5 Гр/м, напряжение на трубке 320 кВ, сила тока 12,5 мА, фильтр: 2 мм Al, расстояние до объекта 40 см), контрольный образец выдерживался при таких же условиях, исключая воздействие рентгеновского излучения. Оценку свойств клеток и межклеточной среды проводили через сутки после облучения. Оценивали уровень экспрессии клетками коллагена IV и параметры редокссвойсв межклеточной среды. Редокс-свойства межклеточной среды характеризовали, анализируя кинетику люминол-зависимой хемилюминесценции с помощью 3 параметров функции Гомпертца (x_c , a и κ). Для проверки достоверности различий средних выборочных использовали t-критерий Стьюдента. Количественная оценка уровня коллагена IV выполнялась с помощью окрашивания образцов клеток антителами коллагену IV и анализа их цифрового микроскопического изображения с использованием программы Aperio Image Scope. Рассчитывали общий индекс интенсивности окрашивания хромогена (диаминобензидин) (Iavg) и индекс интенсивности в иммунопозитивных участках (Iwavg). Статистический анализ проводился с помощью программы GraphPad Prism. Облучение фибробластов in vitro вызывало дозозависимые изменения редокс-свойств межклеточной среды: антиоксидантная способность культуральной среды уменьшалась (параметр x_c), а прооксидантная способность увеличивалась (параметры a и κ), что свидетельствует об изменении её состава в результате изменения функционирования клеток. Облучение также вызывало дозозависимое увеличение уровня экспрессии коллагена IV в фибробластах: при облучении клеток в дозе 100 Гр параметры Iavg и Iwavg были увеличены в 1,4 раза в сравнении с контрольными образцами. При этом различий между параметрами, оцененными для клеток после облучения в дозе 1 Гр и контрольной выборки, не выявлено. Полученные данные важны для разработки новых диагностических критериев радиационноиндуцированной изменений соединительной ткани.

Работа выполнена в рамках задания 3.1.2 темы ГПНИ «Природные ресурсы и окружающая среда», подпрограмма 3 «Радиация и биологические системы».