

Укажите на нехарактерный симптом при астматическом статусе II стадии:

1. Наличие острого легочного сердца.
2. Увеличение частоты дыхания.
3. Снижение интенсивности дыхательных шумов.
4. Отделение обильной мокроты.
5. Отсутствие эффекта адреномиметиков.

Выделите маловероятную причину внутригоспитальной пневмонии:

1. Стафилококк.
2. Пневмококк.
3. Синегнойная палочка.
4. Кишечная палочка.

Выделите нехарактерный признак первичной пневмонии:

1. Лихорадка.
2. Наличие сухих хрипов.
3. Крепитация.
4. Укорочение перкуторного звука.
5. Бронхиальное дыхание в области тупости.

Ответы, неоднородные по содержанию с другими, делают тестовое задание некорректным. Например:

Какое заболевание наиболее вероятно при наличии следующих симптомов: похудание и выраженная пигментация кожи, стойкая артериальная гипотензия, протеинурия и микрогематурия, горб в среднегрудном отделе позвоночника?

1. Склеродермия.
2. Анкилозирующий спондилоартрит (болезнь Бехтерева).
3. Туберкулез почек, надпочечников и позвоночника.
4. Миеломная болезнь.
5. Узелковый полиартериит.

Во втором ответе приводится название болезни по автору, что делает ответ по сравнению с другими неоднородным.

В содержании задания не рекомендуется использование понятий повседневного обихода. Например:

При какой степени отравления угарным газом пострадавших беспокоит головная боль, «стук в висках», головокружение, слабость, розовый оттенок кожных покровов?

1. Легкой.
2. Средней.
3. Тяжелой.

Понятия повседневного обихода — «стук в висках».

Некоторые задания лучше сформулировать с большим числом ответов. Например:

Заболевание крови, чаще диагностируемое в детском возрасте:

1. Острый лимфобластный лейкоз.
2. Острый миелобластный лейкоз.
3. Хронический лимфолейкоз.

Рекомендуется увеличить число ответов, добавив следующие заболевания:

4. Железодефицитная анемия.
5. Гемофилия.

После выполнения заданий тестовой формы подсчитывается сумма баллов за правильные ответы, составляющая «тестовый балл», по величине которого определяется рейтинг студента. Получение высокого балла, как правило, свидетельствует об использовании заданий невысокой трудности. Для повышения сложности рекомендуется тестовые задания других форм: с выбором нескольких правильных ответов, на установления соответствия, правильной последовательности. Преподавателем обязательно проводится анализ результатов тестирования, что позволяет не только определить объем усвоенного материала по изучаемой дисциплине, но и выделить недостаточно хорошо усвоенные разделы и разработать подходы для их более успешного изучения с целью повышения качества образовательного процесса в высшей школе.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Аванесов, В. С. Композиция тестовых заданий / В. С. Аванесов. — М.: Адепт, 1998. — 217 с.

Поступила 14.12.2007

НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В МЕДИЦИНЕ

УДК 616.43.083.3:57.083.32:614.876

АСМ ЭЛАСТОГРАФИЯ — НОВЫЙ МЕТОД БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Т. Г. Кузнецова, М. Н. Стародубцева

Гомельский государственный медицинский университет

В статье представлен обзор современных исследований в области изучения наномеханических свойств клеток методами атомно-силовой микроскопии. Определены перспективы развития клеточной эластографии и круг медико-биологических проблем, решаемых с ее использованием.

Ключевые слова: атомно-силовая микроскопия (АСМ), механические свойства клеток.

AFM ELASTOGRAPHY IN A NEW BIO-MEDICAL INVESTIGATION

T. G. Kuznetsova, M. N. Starodubtseva

Gomel State Medical University

The paper reviews recent atomic force microscopy findings in the area of cell nanomechanics and determines the perspectives of elastography as a new bio-medical technology.

Key words: atomic force microscopy (AFM), mechanical properties of the cells.

Введение

Развитие атомно-силовой микроскопии (АСМ) сделало возможным измерение локальных механических свойств клеток, а также картирование этих характеристик для клеточных поверхностей [1]. Благодаря этому начинает формироваться новое направление цитологии, которое можно определить термином «клеточная наномеханика» или «клеточная эластография» и которое открывает широкие перспективы для исследования различных сторон цитофизиологии.

Цель представленной работы — обобщить и систематизировать экспериментальные результаты, полученные в этой области, а также определить границы нового методологического подхода и перспективы его развития. В статье перечисляется круг проблем, при решении которых успешно используется измерение цитомеханических свойств.

Функциональная механика эндотелиальных клеток

Сосудистый эндотелий — одна из наиболее интересных систем для изучения клеточной механики, поскольку находится в исключительно динамичной среде. Эти клетки быстро адаптируются к значительным изменениям давления крови, давления сдвига и давления, связанного с дыхательным циклом, и т. д.

В первых АСМ-работах на живых клетках было исследовано воздействие давления сдвига на культуральный монослой эндотелиальных клеток аорты быка [2] и выявлены структурные факторы, влияющие на механический ответ клетки [3]. В покое эти клетки имели многоугольную форму и гладкую поверхность, и их жесткость была выше в периферийных областях, чем над ядром. Под давлением тока жидкости жесткость клеток возрастала. Через 6 часов она была выше в той части клетки, которая подвергалась механическому стрессу, но через 24 часа уравнивалась во всех частях клетки.

Установлено, что подобные изменения жесткости клеток сопровождаются перераспределением элементов цитоскелета или так называемых волокон натяжения [4]. Локальные модули упругости эндотелиоцитов в потоке возрастали от 0,87 до 1,75 кПа, что сопровождалось вытягиванием клеток вдоль тока жидкости и

уменьшением их высоты [5]. Модули упругости, полученные для эндотелия легочной артерии быка, имеют близкие значения — 0,2–2 кПа [6].

Выявлены различия, связанные с анатомическим расположением, а следовательно, реологическим статусом сосудов. АСМ-анализ показал, что клетки медиальной выстилки аортальной бифуркации кролика более жесткие по сравнению с латеральной стенкой или брюшной аортой [7].

Активация тромбоцитов

Контакт тромбоцитов с поверхностью подложки или с острием зонда, неизбежный в ходе АСМ-сканирования, инициирует их активацию, которая приводит к коренной перестройке цитоскелетных структур и значительным изменениям в форме клеток [8, 9].

В работе Рэдмачера [10] было сделано одновременное картирование топографической и эластической неоднородности живых активированных тромбоцитов, а также измерены модули их упругости, которые варьировали от 1 до 50 кПа. Различия в локальных эластических свойствах коррелировали с ультраструктурными особенностями тромбоцитов.

Клеточная миграция

Крайне мало известно о динамике механических свойств клеток, а также отдельных клеточных участков в ходе миграционного процесса. По нашему мнению, наноиндентирование является именно тем методом, который позволяет восполнить этот пробел.

На живых фибробластах выполнен ряд АСМ-работ, в которых изучались временные изменения как структуры, так и механических свойств культуральных клеток в процессе их клеточной миграции [11–13]. В частности, была установлена связь между такими изменениями и цитолокомотией для фибробластов мышей [11]. Работа интересна тем, что в процессе сканирования отдельные клетки сохраняли свою способность к сокращению и изменению жесткости в течение нескольких часов. Эти результаты подтверждают, что используемые АСМ-методы не оказывают заметного влияния на динамику механических свойств клеток.

Научной группой Нагайама [12] также была продемонстрирована отчетливая корреляция

между локомоторным статусом фибробластов и динамикой их локальных модулей упругости. Модули оставались стабильными у неподвижных клеток, но как только клетка начинала перемещаться, жесткость клетки в надъядерной области резко снижалась.

Для глубокого понимания механизмов клеточной локомоции наибольшей информативной ценностью обладают показатели механических свойств ведущего края мигрирующей клетки, так называемых ламеллоподий. В работе Хага с соавторами [13] были проанализированы АСМ-изображения топографии фибробластов, полученные через каждые 10 минут в процессе выпячивания и удлинения ламеллоподий. Оказалось, что стабильная часть клеток, не подверженная морфологическим изменениям, была более жесткой по сравнению с формирующимися ламеллоподиями. Авторы объясняют это уплотнением сети актиновых микрофиламентов, что приводит к снижению цитоскелетной активности.

Техника АСМ-картирования была также использована для исследования динамики пространственной организации и механических свойств мобильного и неподвижного клеточных краев в культуре NIH 3T3 фибробластов [14]. Сканирование клеток выявило значительные региональные различия и позволило рассчитать локальные модули упругости. Жесткость ламеллоподий не превышала 3–5 кПа, а стабильные, более толстые края клетки имели модуль упругости равный 12 кПа. То, что ведущий край оказался более мягким, подтверждает предположение, что выпячивания клеточной поверхности формируются преимущественно в зонах со слабым цитоскелетным натяжением. Для этих же мигрирующих клеток были измерены модули упругости вдоль отдельных ламеллоподий [15]. Модули снижались в направлении от проксимального участка (1,6 кПа) к дистальному краю (0,6 кПа).

Локомоция клеток — сложный процесс, требующий различных теоретических моделей. Крайне усложненное миграционное поведение фибробластов, которое складывается из разных, порой противоположных изменений их формы (формирование выростов, выпячивания, складок и т. д.), затрудняет анализ полученных результатов и формулировку однозначных выводов. С этой точки зрения эпидермальные кератиноциты с их постоянной формой и стабильным перемещением являются идеальной модельной системой. АСМ-анализ мигрирующих кератиноцитов показал, что хотя толщина различных участков ламеллоподий меняется незначительно, жесткость в начальной части

выроста гораздо ниже (10 кПа) по сравнению с фронтальным краем (55 кПа) [16]. Интересно, что величины, измеренные для кератиноцитов и фибробластов, заметно различаются.

Клеточная адгезия

АСМ-эластография используется и для изучения механизмов клеточной адгезии, в частности, адгезивных свойств клеток костной ткани [17, 18], в том числе и для тестирования имплантных материалов [19]. Так, были определены модули упругости остеобластов, культивируемых на двух субстратах, один из которых обеспечивал слабую, а второй — сильную клеточную адгезию [18]. В зависимости от адгезионного статуса клетки, а также используемых методологических подходов параметры жесткости остеобластов изменялись от 0,3 до 200 кПа. Хотя эти величины рассматриваются как относительные, авторы считают, что они отражают динамику цитоскелетной организации и адгезионных взаимодействий между клеткой и субстратом.

Научной группой Такаи [17] были рассчитаны модули упругости для остеобластоподобных MC3T3-E1 клеток, адгезированных к нескольким разным поверхностям. Авторы установили, что модули упругости клеток, адгезированных к белкам межклеточного матрикса, которые связывают клетки посредством интегринов, выше по сравнению с клетками на стекле или полилизине, когда адгезия обусловлена неспецифическими связями. Полученные результаты позволяют предположить, что изменение жесткости клеток, обусловленное прикреплением к разным субстратам, влияет на трансдукцию механосигналов внутри остеобластов.

Были также изучены эластические свойства остеобластов при их адгезии к различным металлическим поверхностям. Для оценки биосовместимости имплантных материалов эти параметры сравнивались с результатами, полученными для остеобластов, культивированных на стекле, или для клеток тканевой культуры, выращенной на полистероле [19].

Методы силовой спектроскопии оказались информативны и при изучении адгезии фибробластических ламеллоподий. Их крайне малая толщина (< 1000 нм) потребовала специальных теоретических расчетов для описания упруговязких свойств. Махаффи [15] были предложены оригинальные модели, позволяющие рассчитывать модули упругости для закрепленных на подложке и незакрепленных участков клетки, в том числе и очень тонких. Модули упругости для проксимальных (закрепленных) участков ламеллоподий составили 1,6 кПа. Адгезия дистальных участков ламеллоподий снижалась одновременно с модулями упругости (до 0,6 кПа).

Физиология сенсорных клеток

Механические свойства являются важным компонентом физиологии сенсорных клеток. Известно, что звуковая рецепция формируется за счет смещений отдельных частей улитки, прежде всего, базальной мембраны с расположенными на ней волосковыми клетками. Установлено, что при звуковой стимуляции длина этих клеток меняется в соответствии с изменениями мембранного потенциала и, следовательно, влияет на динамическое поведение улитки. Доказано, что клеточная электропроводимость определяется конформационными изменениями «белковых моторов» — молекул в составе боковых клеточных мембран. В то же время силы, генерируемые клеточной электропроводимостью, находятся в зависимости и от механических свойств латеральных мембран, определяемых их цитоскелетом [20, 21].

Для наружных волосковых клеток морской свинки были установлены значительные региональные различия. Модуль упругости апикальной части приблизительно в три раза превышал значения, полученные для средних и базальных отделов клетки, которые между собой различались незначительно [22]. Эти результаты подтверждаются и другими исследователями. Выявленная в работе Вада [23] высокая жесткость апикальной части боковых мембран объясняется уплотнением круговых актиновых микрофиламентов.

Установлена взаимосвязь между эластическими свойствами и клеточной высотой. Оказалось, что модуль упругости уменьшается по мере удлинения наружных слуховых клеток. Для средней части улитки, где волосковые клетки высокие, модуль упругости составил $2,0 \pm 0,81$ кПа, а для коротких клеток нижнего витка улитки — $3,7 \pm 0,96$ кПа [22]. Модули упругости внутренних волосковых клеток оказались заметно меньше — $0,29 \pm 0,20$ кПа [24] и не зависели от отдела улиткового канала. Интересно, что видовые различия этих параметров для одинаковых типов волосковых клеток незначительны. Модуль упругости наружных волосковых клеток в апикальном завитке улитки мыши составил $2,1 \pm 0,5$ кПа [20]. Были также измерены эластические свойства вспомогательных клеток кортиева органа морской свинки — клеток Гензена ($0,69 \pm 0,45$ кПа). Клетки-столбы имели более высокую жесткость [24].

Роль цитоскелета в формировании механических свойств клеток

Уникальным достоинством АСМ является возможность одновременно определять механические свойства и визуализировать такие важные внутриклеточные структуры как цитоскелет, которому отводится значительная роль в механизмах самых различных клеточных функций. Быстрый прогресс в исследовании цитоске-

лета обеспечивается сочетанным использованием АСМ-анализа, конфокальной флуоресцентной микроскопии и агентов, избирательно разрушающих отдельные компоненты цитоскелета. Обзор результатов, полученных в этой области, ясно демонстрирует, что механические свойства клеток в наибольшей степени определяются организацией актиновых микрофиламентов. Так, Песен и Хох [6] описали микромеханическую неоднородность кортикального слоя эндотелиальных клеток, хорошо совпадающую с двумя уровнями его структурной организации. Крупные ячейки размером в несколько микрон выявлялись одновременно с тонкой перекрывающейся сетью, где грани составляли всего несколько нанометров. Оказалось, что эти две сети частично состоят из актина и виментина.

Анализ флуоресцентных изображений и карт эластичности позволили выявить неоднородность локальных эластических свойств клеточной поверхности, которая коррелирует с цитоскелетной гетерогенностью активированных тромбоцитов [10] и кардиомиоцитов [25], а также то, что резкое возрастание модулей упругости эндотелиальных клеток при давлении сдвига происходит благодаря ремоделированию цитоскелетных структур [5].

Роль элементов цитоскелета в формировании механических свойств клеток была изучена на культуре печеночных макрофагов крыс [26]. Установлено, что модуль упругости семикратно уменьшается после обработки клеток цитохалазином В-агентом, который вызывает химическую диссоциацию актиновой сети. Сходным образом цитохалазин В снижает модули упругости живых кардиомиоцитов цыпленка [27] и фибробластов линии L929 [28].

Коллинсуорсом [29] установлено, что структурной базой для изменения модулей упругости развивающихся миоцитов являются актин и миозин, а состояние микротрубочек не влияет на эти параметры. В то же время ни один из элементов цитоскелета не оказывает существенного влияния на вязкостные свойства миоцитов. В этой работе одновременно с АСМ-эластографией оценивался уровень экспрессии миозина, а также использовалась обработка клеток колхицином и цитохалазином D.

Латрукулин-индуцированное разрушение цитоскелетной сети в фибробластах кожи вызывало двукратное уменьшение модулей упругости периферических областей, в то время как другие части клетки не реагировали [30]. Обработка фибробластов нокодазолом или колцемидом (разрушают микротрубочки), напротив, значительно увеличивала показатели эластичности [28]. Химические воздействия на цитоскелет раз-

личных фибробластических культур показали, что дезагрегация актиновых микрофиламентов приводит к увеличению модулей упругости клеток, а реорганизация микротрубочек не сказывается на их механических свойствах [31].

Взаимосвязь между динамикой цитомеханических свойств и перестройкой цитоскелета в ходе миграционного процесса подтверждает эти результаты. Показано, что снижение жесткости мигрирующих кератиноцитов является результатом деполимеризации актина, что обеспечивает механизм сокращения актин-миозиновой сети в переходной зоне между ламеллоподиями и клеточным телом [16]. Хага с соавторами [13] полагают, что более высокая жесткость клеточного тела соотносительно с ламеллоподиями мигрирующих фибробластов связана с конденсацией актиновой сети, которая уплотняет клеточный кортекс и снижает цитоскелетную активность.

Модуляция клеточной жесткости у остеобластов при закреплении их на различных подложках (стекло, полилизин, фибронектин) является результатом ремоделирования актинового цитоскелета вследствие формирования адгезионных контактов с теми или иными элементами субстрата [17].

Подвижность слуховых клеток, связанная с их сенсорной физиологией, также опосредуется через изменения в цитоскелете, ультраструктура которого в живых волосковых клетках была исследована методами АСМ. Однако многие детали проявились только после АСМ-изучения кортикального цитоскелета, выделенного из волосковых клеток с помощью тритона X-100. Оказалось, что он состоит из дискретных доменов, которые сформированы круговыми актиновыми филаментами и спектриновыми поперечными связями. Сравнивая модули упругости, измеренные вдоль вертикальной клеточной оси и в поперечном направлении, а также воздействуя диамидом, который разрушал спектриновые связи и изменял форму клеток, удалось выяснить роль отдельных цитоскелетных элементов в формировании интегральных упругих свойств этих клеток и их электромобильности [21].

Дифференцировка клеток и старение

Изменения в механических свойствах и цитоскелетной организации коррелируют и со стадией клеточного цикла [4, 29, 32, 33, 34]. Поэтому такие исследования формируют основу для понимания механизмов клеточной дифференцировки и возрастных изменений организма. АСМ-исследования эндотелиальных клеток пупочных вен человека выявили, что показатели эластичности зависят от возраста клеточной культуры [4]. Эластичность клеток, культивируемых на коллагене дольше, чем 4 дня,

быстро увеличивалась (до 10 кПа). Данные, полученные Бердяевой [34] для эндотелиальных клеток человека, подтверждают, что жесткость клеток *in vitro* увеличивается с возрастом.

Наноиндентирование было использовано для анализа возрастных изменений кардиомиоцитов молодых и старых самцов крыс [33]. Было обнаружено, что модуль упругости кардиомиоцитов с возрастом значительно увеличивается. Он изменялся от 35 кПа у молодых крыс до 42 кПа у старых животных. Эти результаты подтверждают предположение авторов, что механизмы возникновения диастолической дисфункции левого желудочка в стареющем сердце реализуются и на уровне миоцитов, а не только за счет патологических изменений межклеточного матрикса, как предполагалось ранее.

Дифференцировка скелетных мышц — сложный процесс, который помогает понять функциональные свойства и механизмы регенерации мышечной ткани. Она включает последовательное слияние миобластов с образованием многоядерных мышечных трубочек и далее мышечных волокон, что сопровождается экспрессией специфических белков. Поскольку процесс дифференцировки от миобласта до мышечного волокна сопровождается изменениями в цитоскелете, то следует ожидать и изменений в вязко-упругом поведении клеток. Группа Коллинсуорса [29] проверила эту гипотезу и продемонстрировала коренные изменения пассивного механического поведения мышечных клеток мышцы, что проявилось в значительном возрастании модулей упругости — от 11 кПа для недифференцированных миобластов до 45 кПа для 8-дневных клеток. Интересно, что клеточная вязкость при этом не изменялась. В другой работе также была установлена вариабельность модулей упругости многоядерных миоцитов в ходе их дифференцировки [32]. Результаты показали, что на второй день клеточной дифференцировки модуль упругости для статически натянутых клеток был равен 8 кПа и возрастал к четвертому дню до 14 кПа.

Клеточная патология

Биологическая эластография как направление, которое позволяет получать и анализировать информацию о механических свойствах органов и тканей, уже сегодня имеет широкое практическое применение в виде методов ультразвукового и магнитного резонансов. Но только в последнее десятилетие, благодаря уникальным возможностям АСМ, стала доступна эластография отдельных клеток, представляющая несомненный интерес для понимания клеточной патологии, поскольку патогенные факторы, влияющие на метаболизм и структуру клеток, в целом ряде случаев

изменяют и цитомеханические свойства. Кроме того, определение локальных модулей упругости в культуральных средах открывает возможности для изучения экспериментальных воздействий на клетку, причем не только патогенных факторов, но и различных фармакологических препаратов.

Недавно с использованием силовой спектроскопии был сделан сравнительный анализ эластических свойств эритроцитов у людей, страдающих различными типами гемопатологий [35]. Модули упругости патологически измененных эритроцитов оказались в 2–3 раза выше, чем у нормальных клеток и составили: 26 ± 7 кПа, 43 ± 21 кПа, 40 ± 24 кПа и 90 ± 20 кПа для нормальных клеток, при наследственном сфероцитозе, талассемии и дефиците глюкозо-6-дегидрогеназы соответственно. Самые значительные отклонения наблюдались в случае недостаточности глюкозо-6-дегидрогеназы, когда модуль упругости более чем в три раза превышал контрольные значения. Эти изменения авторы связывают с нарушением цитоскелетной организации, причинами которого могут быть либо изменения в спектриновом скелете, либо аномалии в структурной организации молекул гемоглобина, либо нарушения энергетического обмена. Этими же авторами продемонстрированы изменения в распределении количественных значений эритроцитарных модулей упругости при патологии. В этих случаях центральный пик плотности распределения модуля упругости расширялся по сравнению с контрольными показателями, а при выраженном пойкилоцитозе распределение становилось бимодальным.

Проведенные нами АСМ-исследования также выявили значительные изменения эластических свойств эритроцитов под воздействием активных форм азота [36, 37]. Согласно нашим результатам, пероксинитрит в концентрации >1 mM приводит к увеличению модуля упругости в 2–3 раза по сравнению с контрольными образцами. Одновременно наблюдается расширение пика плотности распределения модуля упругости. Изменения в пространственном распределении локальных механических свойств сопровождаются цитоскелетной реорганизацией, что было визуализировано с помощью карт латеральных сил эритроцитарной поверхности. Важно отметить, что пероксинитрит-индуцированные изменения механических свойств регистрировались раньше и при более низких концентрациях, чем проявлялась морфологическая трансформация клеток. Полученные результаты свидетельствуют, что пероксинитрит (одна из активных форм азота) взаимодействует как с мембранным цитоскелетом, так и с липидными и белковыми компонентами самой плазмолеммы [37].

Таким образом, использование АСМ позволило нам разработать предполагаемые механизмы пероксинитрит-индуцированного пойкилоцитоза. Нами также было выявлено достоверное возрастание вариабельности локальных механических свойств эритроцитов у больных сахарным диабетом второго типа [38].

Розенблют [39] обнаружил значительные отличия в механических свойствах гемопоэтических клеток в случае их патологических изменений. Миелоидные лейкозные (HL60) клетки оказались в 18 раз более жесткими (855 ± 670 Па), чем лимфоидные лейкозные клетки (Jurkat, 48 ± 35 Па) и в 6 раз жестче, чем нормальные нейтрофилы человека (156 ± 87 Па).

Исследование эпителиальных клеток также представляет большой интерес, поскольку именно эти клетки чаще всего являются объектом опухолевой трансформации. Группой Лекка [40] установлено, что опухолевые клетки эпителия мочевого пузыря человека по модулю упругости на порядок отличаются от нормальных клеток. Авторы связывают эти изменения с различиями в структуре подмембранного цитоскелета, что проявляется в усилении клеточных контактов с белками межклеточного матрикса. Позднее эти же авторы показали строгую корреляцию между снижением продукции АТФ и возрастанием величины модуля упругости, поскольку необычные модули возвращались к нормальным значениям, когда опухолевые клетки обрабатывались микрокристаллическим хитозаном (препаратом, который ингибирует гликолитическую активность раковых клеток) [41].

Подобные исследования демонстрируют перспективность АСМ-анализа одиночных клеток (вероятно, даже полученных с использованием биопсийного материала пациента) для оценки и понимания предлагаемых терапевтических стратегий.

Экспериментальное повреждение тромбоцитов человека стрептолизином O (белком, формирующим мембранные поры) усиливало упругость в ходе порообразования, что сопровождалось и изменением морфологии клеток [42]. Стабилизация актинового цитоскелета фаллоидином приводило к частичному восстановлению показателей упругости. Это указывает на то, что при воздействии стрептолизина O потеря тромбоцитами их устойчивости опосредована повреждениями и плазматической мембраны, и цитоскелета.

Влияние кортизона на механические и структурные свойства конфлюэнтных клеточных слоев эндотелиальных клеток микроциркуляторного русла головного мозга было изучено научной группой Шрота [43]. Они показали, что гидрокортизон вызывает уменьшение поверхности межклеточных контактов и изменяет эластические свойства клеток.

Выводы

Обобщенные в этой статье результаты наглядно демонстрируют, что клеточная биомеханика является важной для характеристики клеток, поскольку определяет целый ряд цитобиологических и цитопатологических процессов. Поэтому изучение механических свойств нативных клеток не только открывает перспективы в области теоретической цитологии, но и представляет несомненный клинический интерес.

Рассматривая биомеханические параметры клеток в качестве потенциальных маркеров цитопатологических процессов, развитие АСМ-эластиграфии должно способствовать выявлению, диагностике и лечению определенных заболеваний. Обсуждая перспективы этого метода можно предположить, что эффективность новых способов фармакологического или генетического лечения также может оцениваться по характеру их воздействия на механические параметры клетки.

Однако решающим ограничением на пути клинического использования АСМ-методов является, в первую очередь, их низкая «пропускная способность», поскольку на анализ одной клетки тратится не менее часа. Это ограничение делает крайне актуальным дальнейшее техническое усовершенствование атомно-силовых микроскопов, адаптированных для исследования биологических объектов, а также разработку новых методических подходов. До тех пор, пока АСМ будет не в состоянии быстро измерять большие популяции клеток, она не сможет полностью реализовать свой потенциал ни в области фундаментальной науки, ни в клинических приложениях, таких как скрининг заболеваний или оценка эффективности терапевтического лечения.

Авторы выражают благодарность РБФФИ за финансовую поддержку при выполнении работы (проект № Б07-043).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Кузнецова, Т. Г. Методологические проблемы изучения наномеханических свойств живых клеток / Т. Г. Кузнецова, М. Н. Стародубцева, Н. И. Егоренков // Проблемы здоровья и экологии. — 2007. — № 3 (13). — С. 103–111.
2. Barbee, K. A. Shear stress-induced reorganization of the surface topography of living endothelial cells imaged by atomic force microscopy / K. A. Barbee, P. F. Davies, R. Lal // Circulation Research. — 1994. — Vol. 74. — P. 163–171.
3. Barbee, K. A. Changes in surface topography in endothelial monolayers with time at confluence: influence on subcellular shear stress distribution due to flow / K. A. Barbee // Biochemistry and Cell Biology. — 1995. — Vol. 73. — P. 501–505.
4. Kinetic study on the elastic change of vascular endothelial cells on collagen matrices by atomic force microscopy / H. Sato [et al.] // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. — 2004. — Vol. 34(2). — P. 141–146.
5. Experimental and numerical analyses of local mechanical properties measured by atomic force microscopy for sheared endothelial cells / T. Ohashi [et al.] // Bio-Medical Materials and Engineering. — 2002. — Vol. 12. — P. 319–327.
6. Pesen, D. Micromechanical Architecture of the Endothelial Cell Cortex / D. Pesen, J. H. Hoh // Biophysical Journal. — 2005. — Vol. 88. — P. 670–679.
7. Miyazaki, H. Atomic force microscopic measurement of the mechanical properties of intact endothelial cells in fresh arteries / H. Miyazaki, K. Hayashi // Medical and Biological Engineering and Computing. — 1999. — Vol. 37(4). — P. 530–536.
8. Fritz, M. Granula motion and membrane spreading during activation of human platelets imaged by atomic force microscopy / M. Fritz, M. Radmacher, H. E. Gaub // Biophysical Journal. — 1994. — Vol. 66(5). — P. 1328–1334.
9. Fritz, M. In vitro activation of human platelets triggered and probed by atomic force microscopy / M. Fritz, M. Radmacher, H. E. Gaub // Experimental Cell Research. — 1995. — Vol. 205. — P. 187–190.
10. Measuring the viscoelastic properties of human platelets with the atomic force microscope / M. Radmacher [et al.] // Biophysical Journal. — 1996. — Vol. 70(1). — P. 556–567.
11. Elastic properties of living fibroblasts as imaged using force modulation mode in atomic force microscopy / S. Sasaki [et al.] // Archives of Histology and Cytology. — 1998. — Vol. 61(1). — P. 57–63.
12. Nagayama, M. Drastic change of local stiffness distribution correlating to cell migration in living fibroblasts / M. Nagayama, H. Haga, K. Kawabata // Cell Motility and the Cytoskeleton. — 2001. — Vol. 50(4). — P. 173–179.
13. Time-lapse viscoelastic imaging of living fibroblasts using force modulation mode in AFM / H. Haga [et al.] // Journal of Electron Microscopy (Tokyo). — 2000. — Vol. 49(3). — P. 473–481.
14. Rotsch, C. Dimensional and mechanical dynamics of active and stable edges in motile fibroblasts investigated by using atomic force microscopy / C. Rotsch, K. Jacobson, R. Radmacher // Proceedings of the National Academy Sciences USA. — 1999. — Vol. 96. — P. 921–926.
15. Quantitative analysis of the viscoelastic properties of thin regions of fibroblasts using atomic force microscopy / R. E. Mahaffy [et al.] // Biophysical Journal. — 2004. — Vol. 86. — P. 1777–1793.
16. Gradient of Rigidity in the Lamellipodia of Migrating Cells Revealed by Atomic Force Microscopy / V. M. Laurent [et al.] // Biophysical Journal. — 2005. — Vol. 89. — P. 667–675.
17. Osteoblast elastic modulus measured by atomic force microscopy is substrate dependent / E. Takai [et al.] // Annals of Biomedical Engineering. — 2005. — Vol. 33(7). — P. 963–971.
18. Characterization of dynamic cellular adhesion of osteoblasts using atomic force microscopy / A. Simon [et al.] // Cytometry. — 2003. — Vol. A 54(1). — P. 36–47.
19. Substrate dependent differences in morphology and elasticity of living osteoblasts investigated by atomic force microscopy / J. Domke [et al.] // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. — 2000. — Vol. 19(4). — P. 367–379.
20. Local mechanical properties of mouse outer hair cells: atomic force microscopic study / M. Murakoshi [et al.] // Auris, Nasus, Larynx. — 2006. — Vol. 33(2). — P. 149–157.
21. Tolomeo, J. F. Mechanical properties of the lateral cortex of mammalian auditory outer hair cells / J. F. Tolomeo, C. R. Steele, M. C. Holley // Biophysical Journal. — 1996. — Vol. 71(1). — P. 421–429.
22. Sugawara, M. Local mechanical properties of guinea pig outer hair cells measured by atomic force microscopy / M. Sugawara, Y. Ishida, H. Wada // Hearing Research. — 2002. — Vol. 174(1–2). — P. 222–229.
23. Relationship between the local stiffness of the outer hair cell along the cell axis and its ultrastructure observed by atomic force microscopy / H. Wada [et al.] // Hearing Research. — 2003. — Vol. 177 (1–2). — P. 61–70.
24. Sugawara, M. Mechanical properties of sensory and supporting cells in the organ of Corti of the guinea pig cochlea—study by atomic force microscopy / M. Sugawara, Y. Ishida, H. Wada // Hearing Research. — 2004. — Vol. 192(1–2). — P. 57–64.
25. Shroff, S. G. Dynamic micromechanical properties of cultured rat atrial myocytes measured by atomic force microscopy / S. G. Shroff, D. R. Saner, R. Lal // American Journal of Physiology. — 1995. — Vol. 269 (Cell Physiology 38). — P. 286–292.
26. AFM imaging and elasticity measurements on living rat liver macrophages / C. Rotsch, [et al.] // Cell Biology International. — 1997. — Vol. 21(11). — P. 685–696.

27. Investigating the cytoskeleton of chicken cardiocytes with the atomic force microscope / U.G. Hofmann [et al.] // *Journal of Structural Biology*. — 1997. — Vol. 119. — P. 84–91.
28. *Wu, H. W.* Mechanical properties of L929 fibroblasts measured by atomic force microscopy: effects of anticytoskeletal drugs and membrane crosslinking / H. W. Wu, T. Kuhn, V. N. Moy // *Scanning*. — 1998. — Vol. 20(5). — P. 389–397.
29. Apparent elastic modulus and hysteresis of skeletal muscle cells throughout differentiation / A. M. Collinworth [et al.] // *American Journal of Physiology*. — *Cell Physiology*. — 2002. — Vol. 283. — P. 1219–1227.
30. A comparative atomic force microscopy study on living skin fibroblasts and liver endothelial cells / F. Braet [et al.] // *Journal of Electron Microscopy (Tokyo)*. — 2001. — Vol. 50(4). — P. 283–290.
31. *Rotsch, C.* Drug-induced changes of cytoskeletal structure and mechanics in fibroblasts: an atomic force microscopy study / C. Rotsch, R. Radmacher // *Biophysical Journal*. — 2000. — Vol. 78(1). — P. 520–535.
32. *Zhang, S.* Stretch-induced nitric oxide modulates mechanical properties of skeletal muscle cells / S. Zhang, W. E. Kraus, G. A. Truskey // *American Journal of Physiology*. — *Cell Physiology*. — 2004. — Vol. 287. — P. 292–299.
33. Aging increases stiffness of cardiac myocytes measured by atomic force microscopy nanoindentation / S.C. Lieber [et al.] // *American Journal of Physiology* — *Heart and Circulatory Physiology*. — 2004. — Vol. 287. — P. 645–651.
34. *Berdyeva, T. K.* Human epithelial cells increase their rigidity with ageing in vitro: direct measurements / T. K. Berdyeva, C. D. Woodworth, I. Sokolov // *Physics in Medicine and Biology*. — 2005. — Vol. 7, № 50(1). — P. 81–92.
35. Stiffness of normal and pathological erythrocytes studied by means of atomic force microscopy / I. Dulinska [et al.] // *Journal of Biomedical and Biophysical Methods*. — 2006. — Vol. 66. — P. 1–11.
36. *Стародубцева, М. Н.* Пероксинитрит-индуцированные структурные перестройки в эритроцитарных мембранах / М. Н. Стародубцева, Т. Г. Кузнецова, Т. А. Кузнецова // *Вестн. НАН Беларуси, серия биологических наук*. — 2006. — № 3. — С. 96–99.
37. *Стародубцева, М. Н.* Механические свойства эритроцитарных мембран при действии пероксинитрита / М. Н. Стародубцева, Т. Г. Кузнецова, С. Н. Черенкевич // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. — 2007. — Т. 143, № 2. — С. 222–230.
38. Структурно-механические свойства мембран эритроцитов больных сахарным диабетом второго типа. / М. Н. Стародубцева [и др.] // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. — 2008.
39. *Rosenbluth, M. J.* Force Microscopy of Nonadherent Cells: A Comparison of Leukemia Cell Deformability / M. J. Rosenbluth, W. A. Lam, D. A. Fletcher // *Biophysical Journal*. — 2006. — Vol. 90. — P. 2994–3003.
40. *Lekka, M.* Elasticity of normal and cancerous human bladder cells studied by scanning force microscopy / M. Lekka [et al.] // *European Biophysics Journal*. — 1999. — Vol. 28(4). — P. 312–316.
41. Lekka, M. The effect of chitosan on stiffness and glycolytic activity of human bladder cells / M. Lekka. [et al.] // *Biochimica et Biophysica Acta* 22. — 2001. — Vol. 1540(2). — P. 127–136.
42. *Walch, V.* Effect of streptolysin O on the microelasticity of human platelets analyzed by atomic force microscopy/ V. Walch, U. Ziegler, P. Grocuth. // *Ultramicroscopy*. — 2000. — Vol. 82(1–4). — P. 259–267.
43. Influence of Hydrocortisone on the Mechanical Properties of the Cerebral Endothelium in Vitro / S. Schrot [et al.] // *Biophysical Journal*. — 2005. — Vol. 89. — P. 3904–3910.

Поступила 26.11.2007

СЛУЧАЙ ИЗ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ

УДК 616.12-008.46-089

ТЕЧЕНИЕ ДИЛАТАЦИОННОЙ КАРДИОМИОПАТИИ У БОЛЬНОГО, ПЕРЕНЕСШЕГО ОПЕРАЦИЮ ГЕОМЕТРИЧЕСКОЙ РЕКОНСТРУКЦИИ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА СЕРДЦА

Н. В. Тишкова, В. А. Шилова

Республиканский научно-практический центр
радиационной медицины и экологии человека, г. Гомель

Представлено клиническое наблюдение за течением дилатационной кардиомиопатии у больного, перенесшего комбинированное хирургическое лечение, включавшее имплантацию экстракардиального сетчатого каркаса.

Ключевые слова: дилатационная кардиомиопатия, экстракардиальный сетчатый каркас, хроническая сердечная недостаточность.

THE DEVELOPMENT OF DILATED CARDIOMYOPATHY IN A PATIENT AFTER SURGICAL GEOMETRICAL RECONSTRUCTION OF LEFT VENTRICULAR

N. V. Tishkova, V. A. Shilova

Republican Research and Practical Centre for Radiation
Medicine and Human Ecology, Gomel

The clinical occurrence of integrated surgical treatment of dilated cardiomyopathy is presented.

Key words: dilated cardiomyopathy, extracardiac mesh, chronic heart failure.

Введение

Идиопатическая дилатационная кардиомиопатия (ДКМП) — тяжелое заболевание сердца, характеризующееся дилатацией полостей сердца, снижением его насосной и диастолической

функций, быстрым развитием сердечной недостаточности и плохим прогнозом.

Этиология ДКМП остается невыясненной. Большая роль в современных исследованиях отводится выявлению генетических наруше-