

ВОЗМОЖНОСТИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ, ОСНОВАННОЙ НА ВОЗДЕЙСТВИИ ГИДРОДИНАМИЧЕСКОГО ДАВЛЕНИЯ НА ПРЕПАРАТЫ КОСТНОГО МОЗГА, В ИССЛЕДОВАНИИ АДГЕЗИВНЫХ СВОЙСТВ ЭРИТРОБЛАСТИЧЕСКИХ ОСТРОВКОВ.

Щипицын М.А., Рассохин А.Г., Квиринг М.Е.

ГОУ ВПО «Челябинская государственная медицинская академия» Росздрава  
Челябинск, Россия

INVESTIGATION OF ADHESIVE PROPERTIES OF BONE MARROW ERYTHROBLASTIC ISLANDS BY A MODEL BASED ON AN INFLUENCE OF HYDRODYNAMIC PRESSURE ON ADHERED BONE MARROW CELLS TO GLASS.

Schipitsin M.A., Rassokhin A.G., Kviring M.E.

Chelyabinsk State Medical Academy  
Chelyabinsk, Russia

Изучение адгезивных взаимодействий клеток друг с другом и с компонентами экстрацеллюлярного матрикса являются в настоящее время одной из актуальных проблем как молекулярной биологии, так и медико-биологических дисциплин, использующих теоретическую базу фундаментальных наук для объяснения процессов патогенеза и возможностей лечения заболеваний человека. Исследование взаимодействий макрофага с эритроидными и другими гемопоэтическими клетками представляется интересным в связи с тем, что данная проблема еще пока находится на стадии изучения.

**Цель** настоящей работы заключалась в выявлении особенностей адгезивных свойств ЭО различных классов зрелости, а также сравнение адгезии ЭО к субстрату у самцов и самок крыс.

**Материалы и методы.** В работе были использованы интактные крысы, 10 самцов и 11 самок.

Препараты эритробластических островков (ЭО) и клеток костного мозга из бедренных костей крыс получали по методу Ю.М. Захарова и соавторов (1984). Клеточную взвесь разводили средой выделения и помещали на квадратные предметные стекла, при этом зона с разведённой клеточной взвесью была ограничена на препарате резиновым кольцом. Далее стекла помещали в термостат при  $T=37^{\circ}\text{C}$  и при 100% влажности на 45 минут. За это время ЭО и клетки костного мозга оседали и адгезировались.

Для сравнения силы адгезивного взаимодействия ЭО различных классов зрелости с субстратом нами была предложена оригинальная методика гидродинамического воздействия на препараты костного мозга. После инкубации в термостате стекла вынимали и производили смывы с областей адгезии поршневым автоматическим медицинским дозатором А-2 по 1 мл. На область адгезии первой группы стекло производили один смыв (1 мл среды Игла), второй группы стекло – пятьдесят смывов (по 1 мл среды Игла). Средняя кинетическая энергия струи жидкости (среда Игла), подаваемой из сопла дозатора, оставалась постоянной. Для расчёта гидродинамического давления мы использовали уравнение Бернулли:

$$\Theta = p + \gamma \cdot h + (\rho \cdot V^2) / 2 = \text{const}, \text{ где} \quad (1)$$

$p$ -«статическое давление» (пьезоэлектрический напор), давление, сжимающее частицу жидкости;

$\gamma \cdot h$ -изменение давления при изменении высоты на величину  $h$ ;

$(\rho \cdot V^2)/2$ -«динамическое давление» (скоростной напор).

Преобразовав уравнение Бернулли, мы рассчитывали только гидродинамическую составляющую давления, создаваемого поршнем дозатора:

$$P_{\text{гидродин}} = (\rho \cdot V^2)/2, \text{ где} \quad (2)$$

$\rho \approx 1000 \text{ кг/м}^3$  (плотность среды Игла),

$V = 0,764 \text{ м/с}$  (линейная скорость жидкости на выходе из сопла).

Таким образом, подставив вышеуказанные значения в уравнение (2), гидродинамическое давление жидкости оказалось равным 292 Па.

После смывов стекла центрифугировали при 1000 об/мин 40-45 секунд, фиксировали метиловым спиртом. Затем препараты окрашивали по Романовскому-Гимза. Общее количество ЭО подсчитывали на всем препарате под малым увеличением ( $\times 600$ ), количество ЭО выражали на  $1 \text{ см}^2$  препарата. Для оценки количества ЭО различных классов (формула ЭО) зрелости препарат анализировали под большим увеличением ( $\times 1350$ ) с масляной иммерсией.

Классы зрелости ЭО оценивали в адгезированных препаратах островков, окрашенных по Романовскому-Гимза и в соответствии с классификацией Ю.М. Захарова и соавт. (1990).

Для анализа данных использовали пакеты прикладных программ Statistica (StatSoft, USA), редактора электронных таблиц MS Excel 2000. Достоверность различий определяли с критерия Колмогорова–Смирнова.

**Результаты.** Общее количество ЭО самцов на препаратах уменьшилось в 1,274 раза с  $1283 \pm 48$  (1-кратный смыв) до  $1007 \pm 43$  (50-тикратный смыв) на  $1 \text{ см}^2$  ( $p < 0,05$ ), а количество ЭО самок уменьшилось с  $798 \pm 29$  (1-кратный смыв) до  $606 \pm 378$  (50-тикратный смыв), то есть в 1,316 раза ( $p < 0,05$ ). Таким образом, убывание количества ЭО самок было более выраженным по сравнению с убыванием количества ЭО самцов, что свидетельствует о более слабой связи ЭО самок с субстратом. Анализ количества ЭО различных классов зрелости на  $1 \text{ см}^2$  препарата также выявил снижение их количества с увеличением кратности смывов, кроме того, мы наблюдали отличия в паттерне убывания количества ЭО разных классов зрелости. Так, количество ЭО I, ЭО II, ЭО рек. как у самцов, так и у самок уменьшалось в большей степени по сравнению с ЭО других классов зрелости. Сравнительная оценка количества ЭО I и ЭО инв. выявила лишь тенденцию к уменьшению их количества при увеличении кратности смывов, которая не достигала уровня статистической значимости

Таким образом, предложенная нами оригинальная методика гидродинамического воздействия на препараты ЭО костного мозга позволила выявить один из аспектов функциональной гетерогенности ЭО различных классов зрелости.