

По завершению каждого раздела нормальной физиологии для контроля знаний на итоговых занятиях проводится компьютерное тестирование, которое позволяет объективно оценить уровень подготовки и компетентности студентов. Компьютерное тестирование не требует большого количества учебного времени для проведения и проверки результатов. Такой способ контроля позволяет охватить весь материал тестируемого раздела в полном объеме, что не достигается при традиционном зачете. Тестовый контроль включает различные категории сложности, используемые для оценки уровня знаний, обеспечивая наиболее объективный и точный результат проверки. Объективность достигается путем четкой, однозначной формулировки задания, избегая спорности предложенных ответов, неясности и тривиальности поставленных вопросов, что позволяет полностью исключить субъективное отношение преподавателя к студенту.

Таким образом, применение современных технологий облегчает процесс обучения, способствует лучшему усвоению, пониманию и сохранению полученной информации, повышая, тем самым, качество образования и уровень подготовки специалистов, необходимых в современном мире.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Кашлев, С. С.* Современные технологии педагогического процесса / С. С. Кашлев. — Мн.: Университетское, 2001.

2. *Физиология человека* // под. ред. В. М. Покровского, Г. Ф. Коротко. — 2-е изд., перераб. и доп. — М.: Медицина, 2003.

УДК 615.849.5:611.018.53

ВЛИЯНИЕ ИЗЛУЧЕНИЯ СВЧ НА АДГЕЗИВНОЕ ПОВЕДЕНИЕ КЛЕТОК HL-60

¹Кузнецова Т. Г., ²Богачук А. П., ³Раваев А. А., ²Костянян И. А.

¹Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»,

г. Гомель, Республика Беларусь

²«Институт биоорганической химии

им. акад. М.М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН»,

³Федеральное государственное унитарное предприятие

«Московский радиотехнический институт Российской академии наук»,

г. Москва, Российская Федерация

Введение

Адгезивные свойства — важнейшие функциональные показатели гранулярных лейкоцитов. Они лежат в основе миграционной активности этих клеток и, следовательно, определяют эффективность их участия в иммунных реакциях организма. С другой стороны, степень дифференцировки клеток определяет адгезивные взаимодействия, создающие барьер для проникновения их в другие ткани, который исчезает при малигнизации клеток. Это связано с исчезновением в результате дедифференцировки молекул адгезии на мембране, обуславливающих адгезию в дифференцированных клетках. Иначе говоря, существует закономерная корреляция между пролиферацией клетки, степенью злокачественности, исчезновением молекул адгезии на мембране и метастазированием.

Цель исследования — изучение морфологических характеристик клеток линии HL-60 промиелоцитарного лейкоза человека в процессе их адгезии и исследование влияния кратковременного облучения клеток импульсами СВЧ на эти показатели.

Методы

В работе использованы клетки линии HL-60, культивируемые в модифицированной среде RPMI-1640. Контролем служили клетки, не подвергавшиеся облучению. Их выживаемость согласно тесту МТТ принималась за 100 %. Концентрация клеток в образце 500–600 тыс/мл. Опытной группой являлись клетки, облученные импульсами СВЧ со следующими характеристиками: $P_{свч} = 5,2$ кВт, частота 200 Гц, время отдельного импульса — 30 мкс, образцы облучались «пачками» импульсов, время на каждую «пачку» — 0,5 сек с паузами между ними 2 сек. Общее время облучения образца —

50 сек. Фоновое излучение составляло 50–70 Вт. После облучения флаконы с клетками помещали в CO₂ инкубатор на сутки. Процент выживания клеток через 24 часа после облучения составил 70 %.

Для микроскопических исследований готовили мазки клеток на предметных стеклах размером 1×1 см. Клетки осаждали из среды культивирования бережным центрифугированием при 1 тыс. об/мин и суспендировали в ФБ, доводя концентрацию клеток до 1 млн/мл. Каплю (10 мкл) клеточной взвеси помещали на стекло и выдерживали в течение 15 минут. Затем в каплю добавляли равный объем 2 %-го раствора глутарового альдегида на ФБ (рН 7,4) и фиксировали 15 минут. Подложку с фиксированными клетками отмывали один раз в ФБ и дважды в дистиллированной воде. Образец высушивали на воздухе при комнатной температуре.

Морфометрические исследования образцов проводили на световом микроскопе «Olympus» при увеличении 800 с использованием программного комплекса «Морфотест». Определяли размеры проекционных площадей отдельных клеток. Для распластанных клеток дополнительно определяли проекционную площадь центральной ядродержащей области. Форма клеток оценивалась также визуально. Статистическая обработка включала определение среднего арифметического и ошибки среднего арифметического ($M \pm m$), а также t-критерия Стьюдента, используя программу «Microsoft Excel 2007».

Атомно-силовая микроскопия (АСМ) выполнена на приборе «НТ-206» («МикроТестМашины», Беларусь) в статическом режиме сканирования с использованием игл CSC38 («МикроМаш», Россия) с радиусом кривизны 10 нм. Максимальное поле сканирования микроскопа 50×50 мкм, максимальная высота — 3 мкм.

Результаты и обсуждение

Клетки контрольной группы значительно различались по степени адгезии. Микрофотографии и АСМ-изображения различных адгезивных состояний представлены на рисунках 1 и 2.

14,6 % лейкоцитов представляли собой распластанные клетки с самой большой проекционной площадью (от 115 до 208 мкм²). В центре таких клеток располагается высокая ядродержащая область («клеточное тело»), окруженная со всех сторон обширными ламеллоподиями (рисунок 1А, 2А). Полярность в распределении ламеллоподий, которая могла бы расцениваться как формирование лидирующего края, характерного для активированных на стеклянной подложке сегментоядерных нейтрофилов, проявилась только у шести клеток.

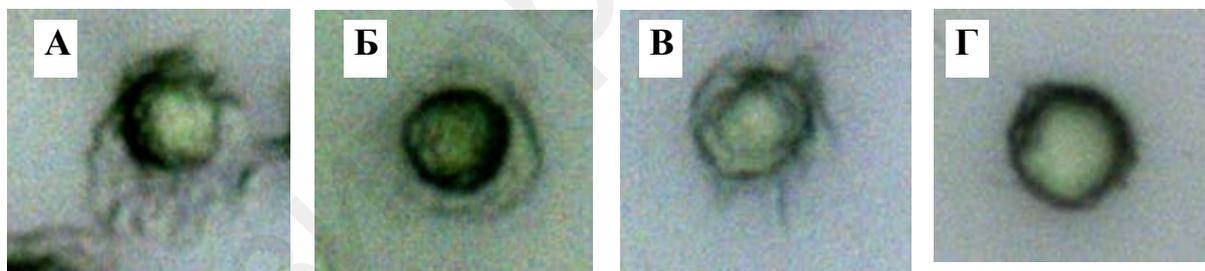


Рисунок 1 — Морфологические типы HL-60 клеток контрольной группы (× 800)

Для количественной характеристики адгезивного состояния клетки были классифицированы по степени распластанности, которая определялась по формуле: $(S_{\text{общая}}/S_{\text{клеточного тела}})$ — 1. Этот показатель наибольший у распластанных клеток с обширными ламеллоподиями (от 1,6 до 3,4) и равен нулю у сферических клеток.

29,2 % лейкоцитов находились в начальной стадии формирования ламеллоподий. Их клеточное тело было окружено узким ободком распластанный цитоплазмы (рисунок 1Б). Проекционные площади большинства этих лейкоцитов варьировали в пределах 55–110 мкм², а коэффициент распластывания был от 0,1 до 1,4. Профильные размеры клеточных тел этих двух популяций контрольных клеток различались мало и составили $48,45 \pm 1,60$ мкм² ($n = 67$). Третью популяцию составили округлые клетки со слабо выраженными признаками адгезии. Это либо мелкие полярные ламеллоподии (рисунок 2Б, 28,5 % клеток), либо 1–3 широких и длинных выроста (рисунок 1В, 7,7 %), либо короткие и тонкие филоподии, окружающие клеточный контур (рисунок 2В, 0,5 %). 15,4 % контрольных HL-60 клеток имели сферическую форму без признаков активации, связанной с адгезией на твердом субстрате (рисунок 1Г).

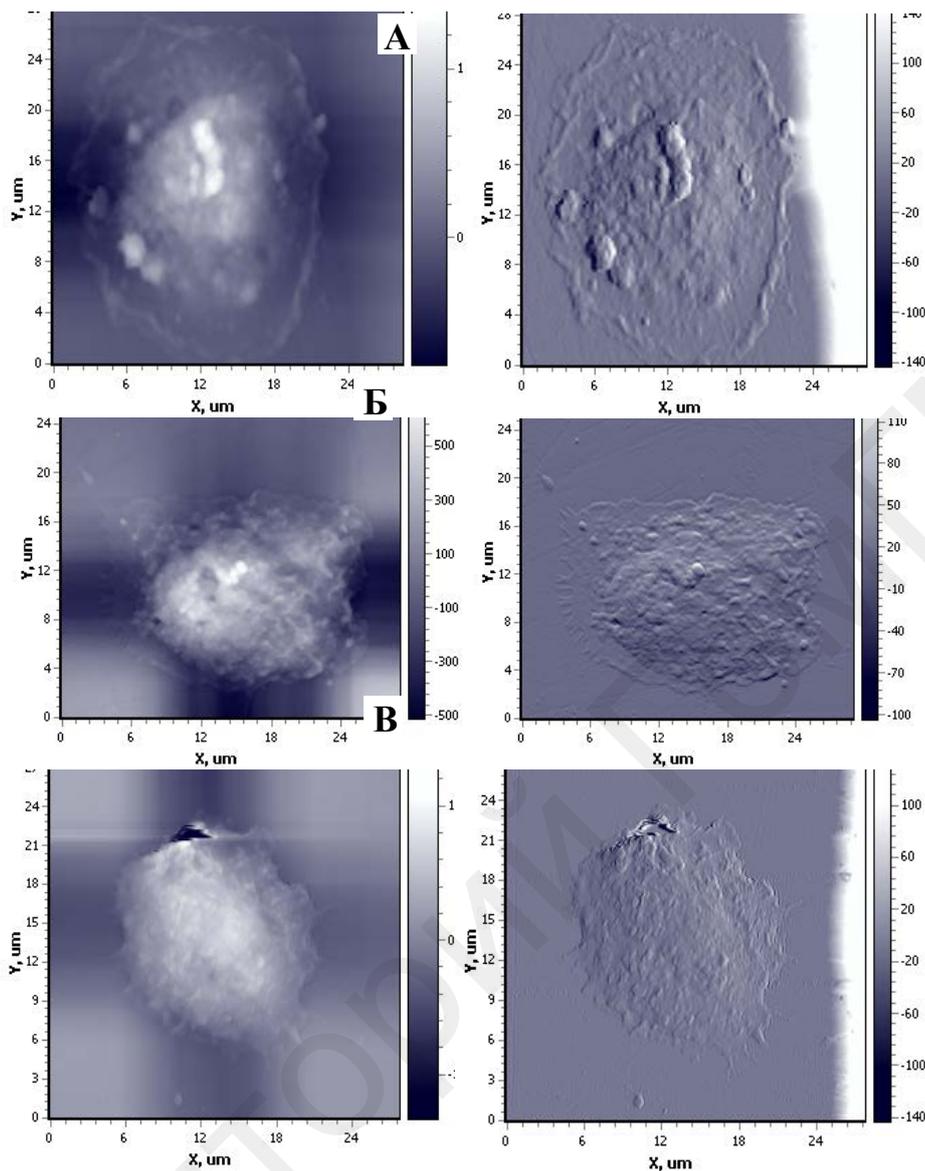


Рисунок 2 — АСМ-изображения нейтрофильных гранулоцитов (слева — топография, справа — карта латеральных сил)



Рисунок 3 — HL-60 клетки контрольной группы (слева) и после облучения СВЧ (справа), $\times 800$

HL-60 клетки, облученные СВЧ, за единичными исключениями, оказались сферическими клетками без каких-либо морфологических признаков активации (рисунок 3). Лишь у 3 % клеток были различимы тонкие игольчатые филоподии по периферии клеточной проекции на подложке.

Проекционные площади облученных и контрольных клеток приведены в таблице 1.

Таблица 1 — Проекционные площади (S) HL–60 клеток (мкм²)

Контроль, n = 142		Облученные клетки, n= 194
Общая S всех клеток	S сферических клеток, n= 75	
74,24 ± 3,08	54,93 ± 2,13	50,71 ± 1,30

Сравнение средних размеров клеток показывает достоверные различия ($p < 0,05$) между средней проекционной площадью облученных HL–60 клеток и всех клеток контрольной группы, что отражает различную степень их адгезии на субстрате. При этом размеры контрольных сферических клеток и облученных лейкоцитов не имеют достоверных отличий. Они близки к размерам клеточных тел у распластанных клеток и, по-видимому, определяются размерами промиелоцитных ядер.

Заключение

Таким образом, морфологическая картина активации HL–60 клеток на стеклянной подложке в целом сходна с начальными этапами адгезии и миграции зрелых сегментоядерных лейкоцитов. Это — контакт сферических клеток с субстратом, формирование филоподий, а на их основе — ламеллоподий с обособлением лидирующего края. Дальнейшие этапы в изменении клеточной формы, связанные с пространственным перемещением нейтрофильных гранулоцитов (уплощение, ассиметричные контуры, многочисленные филоподии, образование уропода и т. д.) не зафиксированы. Следует отметить, что у зрелых нейтрофилов через 15 минут уже наблюдается полное распластывание и активные преобразования формы, связанные с клеточной локомоцией.

Кратковременное облучение импульсами СВЧ тормозит (или вообще блокирует) адгезию и активацию HL–60 клеток на субстрате, длительно поддерживая их сферическую форму после контакта со стеклянной подложкой.

УДК 616.713:616.12-089

МЕТОДИКА И РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ БИОМЕХАНИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ЧАСТИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

¹Кузьминский Ю. Г., Шилько С. В., ²Аничкин В. В., ³Бондаренко А. Е.

¹«Институт механики металлополимерных систем им. В. А. Белого НАНБ»,

²Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»,

³Учреждение образования

«Гомельский государственный университет им. Ф. Скорины»,

г. Гомель, Республика Беларусь

Введение

К широко используемым в клинической практике и доступным для измерения характеристикам состояния сердечно-сосудистой системы (ССС) относятся измеряемые антропологические (возраст, рост, вес), физические (нагрузка) и гемодинамические параметры (частота сердечных сокращений (ЧСС), верхнее и нижнее пульсовое давление) [1, 2]. Для принятия кардиологом решения о тактике лечения сердечно-сосудистых заболеваний весьма полезна дополнительная информация о содержании гемоглобина Hb , показателе кислотного равновесия pH , кинематической вязкости крови ρ , содержании адреналина, начальной деформации и модуле упругости стенок сосудов Ed , скорости распространения пульсовой волны Cv и др. К сожалению, в настоящее время перечисленные параметры определяются инвазивными, сложными и дорогостоящими лабораторными методами.

Целью работы является создание неинвазивного метода диагностики гемодинамики на основе биомеханического моделирования течения крови, как вязкой жидкости, в эластичных сосудах. Разработанная авторами гемодинамическая модель включает базу опорных данных и интерфейс, показанный на рисунке 1.