

УДК 615.273

**МОРФОДЕНСИТОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ХРОМАТИНА  
ЛИМФОЦИТОВ ПРИ ИНКУБАЦИИ  
С МЕТАЛЛОДЕКСТРАНОМ *IN VITRO***

**А. И. Выговская**

(МГУ имени А. А. Кулешова, Могилев, Беларусь)

В работе проведен анализ возможных структурно-функциональных изменений интерфазного хроматина лимфоцитов при экспериментальном исследовании влияния металлодекстрана спейсферрона *in vitro*.

*Ключевые слова:* металлодекстраны, спейсферрон, морфоденситометрический анализ.

Отечественный металлодекстран спейсферрон, созданный на основе радиационно- и химически- модифицированного декстрана, помимо комплексно связанного железа, содержит кобальт. Влияние ионов железа и кобальта, а также их комбинаций на функциональное состояние

клеточных элементов крови остается во многом неизученным, что и определило цель работы – проанализировать процессы реорганизации интерфазного хроматина лимфоцитов под влиянием спейсферрона и неорондекса. Препарат неорондекс использовали в эксперименте как «чистый» модифицированный декстран.

**Материалы и методы.** Объектом исследования послужили образцы венозной крови практически здоровых добровольцев мужчин, не принимавших на момент исследования лекарственных препаратов. Методика исследования: препараты неорондекс и спейсферрон добавляли в образцы крови *in vitro* (количество препарата рассчитывалось с учетом рекомендуемых среднетерапевтических дозировок [4]) с последующей инкубацией в пластиковых тубах при 37°C и оценкой структурно-функциональных реакций хроматина через 60 и 180 мин. от начала эксперимента.

Структурно-функциональные реакции хроматина лимфоцитов, отражающие активность эпигенетических процессов в ядре, оценивали с помощью метода компьютерной морфоденситометрии (МДМ) [2-4]. Видеотехнология МДМ реализована на АПК «ДиаМорф» («ДиаМорф», Москва). Интерфазный хроматин подразделялся на 4 компоненты, две из них относятся к конденсированному (гетеро-) хроматину и две к неконденсированному (эу-) хроматину. Темная гранулярная компонента гетерохроматина обозначена q1; q2 – более светлая перигранулярная компонента; q4 – наиболее светлая компонента эухроматина. Оценивались следующие параметры: QUOT – доля компоненты в ядре; OTN – отношение площади плотного хроматина к площади рыхлого, AREAN – площадь ядра; PERN – периметр ядра; IODN – интегральная оптическая плотность ядра; ODN – оптическая плотность ядра; STDODN – контрастность ядра [3,4].

**Результаты.** При анализе оптико-денситометрических параметров выявлены следующие изменения: при кратковременной инкубации образцов крови с неорондексом ODN достоверно снижается, а при продолжении эксперимента – возрастает, при этом различия параметра между двумя временными интервалами становятся статистически значимыми ( $p=0.024$ ). Аналогичная тенденция обнаруживается и при анализе контрастности: при кратковременной инкубации STDODN несколько снижается, а при продолжении эксперимента – возрастает, при этом различия этого параметра в двух интервалах наблюдения становятся статистически значимыми ( $p=0.047$ ).

Таким образом, изменения МДМ параметров ядер лимфоцитов при инкубации образцов крови с неорондексом свидетельствуют о преходящем характере метаболической активации, на смену которой приходит умеренное снижение функциональной активности хроматина.

При кратковременной инкубации со спейсферроном статистически значимых изменений размеров ядер (AREAN и PERN) не отмечено, при этом выявлено изменение долевого участия компонент хроматина: доли наименее активного гетерохроматина QUOT1 ( $p=0.01$ ) и перигранулярной компоненты QUOT2 ( $p=0.02$ ) достоверно снижаются. Одновременно уменьшается и доля наиболее активного эухроматина QUOT4 ( $p=0.04$ ).

При продолжении эксперимента со спейсферроном сохраняется выраженное снижение QUOT1, QUOT2, QUOT4, а оптические параметры хроматина ядер остаются практически неизменными.

**Заключение.** Проведенный анализ структурно-функциональных реакций интерфазного хроматина лимфоцитов показал, что инкубация со спейсферроном *in vitro* вызывает значимые морфологические изменения интерфазного хроматина лимфоцитов, которые по направленности изменений отличаются от реакций на неорондекс. Изменения хроматина лимфоцитов в целом, так и его отдельных компонент, зависят от продолжительности эксперимента и отличаются от неорондекса стабильностью и однонаправленностью.

### Список использованной литературы

1. Гапанович, В.Н. Кровезамещающий раствор на основе металлодекстранового комплекса – рондферрин / В.Н. Гапанович, П.Т. Петров, Е.П. Иванов, В.М. Царенков и др. // Актуальные проблемы разработки и производства кровезаменителей и препаратов крови: материалы международной конференции, 28 ноября – 1 декабря 1994 г. – Минск, 1994. – С. 29-32.
2. Выговская, А.И. Структурно-функциональные реакции лимфоцитов при исследовании металлодекстранов спейсферрона и рондферрина *in vitro* / А.И. Выговская // XI Съезд Белорусского общества физиологов, Минск, 21-22 сентября 2006 г. : тез. докл. – Минск, 2006. – С. 24.
3. Ostapenko, V.A., Prishchepova, E.V., Ostapenko, S.M. et al. Use of Computer TV morphodensitometry to study epigenetic changes in blood lymphocytes from children affected by low doses irradiation // Stem Cells. – 1997. – V15. – P. 103-109.
4. Teplyakov, A.I., Prishchepova, A.V., Chegerova, T.I. Chromatin image analysis provides new evidence of the relation of lymphocytes to cytokines and sCAM in the inflammatory nature of atherosclerosis // Ann. N.Y. Acad. Sci. – 2001. – V. 947. – P. 377-381.
5. Francis Stewart. Epigenetic aspects of lineage commitment. // Chromatin Structure & Function. Punta Cana, Dominican Republic, 5-8 December, 2006.: Program & Abstract Book. – Abcam., 2006. – P. 24.