

Исследование морфо-функционального состояния эритроцитов методом лазерной интерференционной микроскопии

Научный руководитель – Иващенко Марина Николаевна

Белов Андрей Александрович

Сотрудник

Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия, Нижегородская область, Россия

E-mail: kafedra2577@mail.ru

Разработка интерференционных методов оптической микроскопии раскрывает новые перспективы в изучении клеточных процессов. Высокое пространственное разрешение, количественный характер получаемой информации и отсутствие необходимости применения дорогостоящих красителей позволяют использовать этот метод в качестве универсального инструмента для исследования оптических и динамических свойств живой клетки.

Цель работы - показать возможности метода интерференционной микроскопии при анализе функционального состояния эритроцитов.

Материалы и методы исследования. Интерференционную микроскопию эритроцитов проводили при модификации эритроцитов в экспериментах *in vitro* преинкубированных с адреналином ($1 [U+F0D7] 10^{-9}$ г/мл) в течение 15 мин (1 серия), с кортизолом ($5 [U+F0D7] 10^{-7}$ г/мл) в течение 30 мин (2 серия), в 0,1% растворе глутарового альдегида в течение 30 мин (3 серия), с пропранолоном ($1 [U+F0D7] 10^{-9}$ г/мл) в течение 30 мин (4 серия). Опыты проводили на лазерном интерференционном микроскопе МИМ-340 (Россия, Екатеринбург) с объективом 30x (NA=0.65), λ лазера = 650 нм. Для захвата изображений использовали ПЗС видеокамеру VS-415U (NPK Videoscanner, Russia) с разрешением 782x582 пикселей.

Во всех сериях определяли концентрации АТФ и 2,3-ДФГ в эритроцитах неэнзиматическим методом, определяя неорганический фосфор в гидролизатах эритроцитов. Определение неорганического фосфора проводили фотоэлектрокалориметрически.

Концентрацию малонового диальдегида (МДА) определяли по образованию окрашенного триметинового комплекса с максимумом поглощения при 530 нм при реакции с тиобарбитуровой кислотой. Для расчета концентрации МДА использовали коэффициент молярной экстинкции $E=1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Полученные результаты обрабатывали с помощью пакетов прикладных программ BIOSTAT и Microsoft Excel. Достоверность различий средних определяли по t-критерию Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. Анализ фазовой высоты и фазового диаметра от функционального состояния эритроцитов показал, что повышение концентрации АТФ и снижение концентрации МДА при действии кортизола и пропранолола сопровождается снижением фазового диаметра и фазовой высоты. Действие адреналина приводило к снижению концентрации АТФ и 2,3-ДФГ и увеличению фазовой высоты при снижении фазового диаметра. Глутаровая фиксация при аналогичном действии на функциональные показатели эритроцитов, напротив, вызывала увеличение фазового диаметра и снижение фазовой высоты.

Таким образом, усиление метаболической активности клеток на фоне снижения окислительного потенциала определяло оптимальное изменение морфологии эритроцитов, которое, вероятно, было направлено на повышение эффективности прохождения эритроцитами микрокапилляров.

Снижение метаболической активности на фоне усиления окислительного стресса вызывает рост либо фазовой высоты и либо фазового диаметра, что ухудшает пластичность эритроцитов и их прохождение через микрокапилляры.

Из этих результатов следует вывод о зависимости профиля фазовой толщины и фазовой высоты от функционального состояния эритроцитов. Отклик эритроцитов на состояние метаболической активности проявляется в характерных изменениях их профиля.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №19-316-90066.