

МЕТЕЛКИН
АЛЕКСАНДР НИКОЛАЕВИЧ

ГОЛОГРАФИЧЕСКАЯ ИНТЕРФЕРОМЕТРИЯ И ЛАЗЕРНАЯ МИКРОСКОПИЯ ЭРИТРОЦИТОВ

14.00.29 - гематология и переливание крови

01.04.05 — оптика



Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва, 1981 г.

18+

Александр Метелкин

**Голографическая
интерферометрия и лазерная
микроскопия эритроцитов**

«Автор»

1981

Метелкин А. Н.

Голографическая интерферометрия и лазерная микроскопия эритроцитов / А. Н. Метелкин — «Автор», 1981

Для гематологов и биофизиков. Автореферат содержит материалы работ, выполненных во ВНИИ оптико-физических измерений в области голографической микроинтерферометрии, телевизионной микроскопии и лазерной нефелометрии эритроцитов. Работы выполнены на клинической базе Второго МОЛГМИ им Н.И. Пирогова, в ДКБ № 1. По результатам исследований предложена модель развития эритроцитов от молодой клетки, ретикулоцита, до утилизации старых клеток в селезенке. Показана связь между изменением формы клетки, вызванной фрагментацией мембраны эритроцита и переходом от диска к сфере. Сферулизация, как маркер ослабления клетки и сигнал для ее утилизации. Показана независимость перехода от диска к сфере от природы действующих факторов. Это позволяет предположить наличие единого механизма утилизации ослабленных клеток, вне зависимости от природы нарушений. В отраженном лазерном свете, впервые были зафиксированы колебания поверхности мембраны эритроцитов, что безусловно влияет на реологические свойства клеток.

© Метелкин А. Н., 1981

© Автор, 1981

Александр Метелкин

Голографическая интерферометрия и лазерная микроскопия эритроцитов

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ СССР
ЦЕНТРАЛЬНЫЙ ОРДЕНА ЛЕНИНА
И ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ

На правах рукописи

МЕТЕЛКИН
АЛЕКСАНДР НИКОЛАЕВИЧ

ГОЛОГРАФИЧЕСКАЯ ИНТЕРФЕРОМЕТРИЯ И
ЛАЗЕРНАЯ МИКРОСКОПИЯ ЭРИТРОЦИТОВ

14.00.29 – гематология и переливание крови
01.04.05 – оптика

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва, 1981 г.

Работа выполнена во 2-ом Московском ордена Ленина Государственном институте имени Н.И.Пирогова Министерства здравоохранения РСФСР и во Всесоюзном научно-исследовательском институте оптико-физических измерений.

Научные руководители:
доктор медицинских наук, профессор
Ю.А.Князев

доктор технических наук, ст.н.с.
В.М. Гинзбург

Официальные оппоненты:
доктор биологических наук, ст.н.с.
Ю.А Шарова
доктор физико-математических наук, доцент
Б.С.Ринкевичус

Ведущая организация:

Всесоюзный онкологический научный центр АМН СССР. Защита состоится "___" 198__ г. В ___ часов на заседании Специализированного Совета Д 074.08.01 в Центральном ордена Ленина и ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательском институте гематологии и переливания крови /Москва, 125167, Новозыковский проезд, 4а/.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке института.
Автореферат разослан "___" 198_.

Ученый секретарь
Специализированного Совета
доктор медицинских наук, профессор Л.Н.Пушкарь

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Расширение и углубление представлений о жизнедеятельности эритроцитов периферической крови непосредственно связано с внедрением в практику новейших методов исследований. Этим определяется актуальность проблемы анализа нефиксированных эритроцитов человека с целью изучения и количественной оценки их размеров, формы, массы и концентрации гемоглобина в норме и патологии методами голографической интерферометрии и лазерной микроскопии.

В литературе имеется сравнительно мало работ, посвященных анализу свойств нефиксированных эритроцитов, что объясняется трудностями исследования живых клеток. Традиционные методы анализа размеров эритроцитов, как правило, позволяют получать усредненные данные, что делает невозможным оценку внутренней структуры популяции эритроцитов. Даже такие современные методы исследования как электронная микроскопия /трансмиссионная и растровая/, требуют фиксации клеток, что приводит к определенному изменению их истинных размеров и значительно затрудняет изучение эритроцитов в динамике.

Методы голографической интерферометрии и лазерной микроскопии лишены описанных недостатков и позволяют исследовать живые клетки, анализировать форму эритроцитов по их поперечному сечению /Evans, Fang, 1972 /, производить количественную оценку формы /Reeves et al, 1978/, измерять объем и площадь поверхности эритроцитов, определять концентрации внутриклеточных веществ /Evans, Leblond, 1973/. Новые цитоморфометрические методы: голографическая интерферометрия и лазерная микроскопия позволяют проводить оценку состояния эритроцитов в динамике по таким важнейшим параметрам как форма и размеры, масса и концентрация плотных веществ в клетке. В настоящее время в Советском Союзе и за рубежом не имеется специальной голографической аппаратуры для исследования биомедицинских микрообъектов. В связи с вышеизложенным представляются актуальные цели и задачи данной работы.

Цели работы.

Целями работы являлись:

1. Выбор и реализация наиболее оптимальной схемы лазерного, голографического интерференционного микроскопа для анализа биологически1 микрообъектов, разработка количественных методик оценки размеров, формы, массы и концентрации гемоглобина в эритроцитах.

2. Проведение сравнительной характеристики свойств популяций эритроцитов в норме и патологии. Сопоставление полученных новыми методами результатов с известными данными. Количественный и качественный анализ основных преобразований формы и размеров эритроцитов в норме, при наследственных изменениях мембраны эритроцитов и при нарушениях состава плазмы.

Основные задачи исследования

1. Выбор и реализация наиболее оптимальной схемы лазерного, голографического интерференционного микроскопа для получения высококачественных интерферограмм и микрофотографий живых клеток малых размеров /510 мкм/.

2. Разработка количественных методик анализа эритроцитов на основе данных голографической интерферометрии и лазерной микроскопии по следующим параметрам: диаметр,

максимальная и минимальная толщина, площадь поверхности, объем, коэффициент сферичности эритроцитов, масса и концентрация гемоглобина в клетках. Выработка количественных критериев оценки формы эритроцитов по их поперечному сечению.

3. Анализ свойств нефиксированных эритроцитов /на основе методик количественной и качественной оценки состояния клеток/ в норме, при нарушениях ионного состава плазмы /диффузный гломерулонефрит/, содержания глюкозы /сахарный диабет/ и при нарушениях свойств мембраны эритроцитов /наследственный микросфероцитоз/

4. Сравнительная характеристика эритроцитов в норме и наследственном микросфероцитозе в исследованиях *in vitro* при индуцированных изменениях формы клеток от дискоидальной до сферической /количественная и качественная оценка/.

Научная новизна.

Количественные данные, полученные на препаратах без изменения нативных свойств клеток с использованием оригинальных количественных методик интерференционного анализа, указывают на однозначную взаимосвязь между формой, размерами эритроцитов, массой и концентрацией в них гемоглобина. Характер взаимосвязи одинаков для эритроцитов в норме и при наследственном сфероцитозе /НС/. Выявлено полное отсутствие истинных сфероцитов в плазме крови детей больных НС. Установлено, что увеличение сферичности эритроцитов при данном заболевании связано с уменьшением площади поверхности клеток. Исследование *in vitro* явления перехода эритроцитов от двояковогнутого диска к сфере в норме и при НС показало, что этот переход в обоих случаях представляет собой последовательный обратимый процесс, однако форма поверхности эритроцитов сферической формы в норме и при НС различна. Установлено, что переход от диска к сфере у эритроцитов больных НС происходит при меньших физико-химических воздействиях, что указывает на увеличенную способность эритроцитов к сферуляции при данном заболевании.

Практическая ценность.

Результаты работы, начиная с 1978 года, внедрены в практику в Той детской клинической больнице г. Москвы, применяются в научно-исследовательской работе лаборатории гормонально обменной диагностики и кафедры факультетской педиатрии 2го МОЛГМИ им. Н.И.Пирогова, лаборатории цитобиохимии МНИИ педиатрии и детской хирургии МЗ РСФСР. Результаты исследований по разработке оптической схемы голографического микроскопа для анализа фазовых объектов малых размеров. (5-10 мкм) используются в научно-исследовательской работе группы "Голографическая микроскопия" ВНИИ оптик физических измерений.

Публикации.

По материалам диссертации опубликовано 5 работ.

Апробация диссертационного материала.

Результаты работ докладывались на:

1. 4ом Всесоюзном семинаре "Физические методы и вопросы метрологии биомедицинских измерений", Москва, 1976 г.

2. Первом Всесоюзном научно-техническом симпозиуме "Оптическое приборостроение и голография", Львов, 1976 г.

3. Первой Всесоюзной конференции "Средства и методы квантовой электроники в медицине", г. Саратов, 1976 г.

4. 4ой Енисейской биофизической конференции "Механизмы регуляции эритропоэза", г. Красноярск, 1978 г.

5. Заседании гематологической секции общества педиатров г. Москвы /предс. чл.корр. АМН СССР Н.С. Кисляк/, г. Москва, 1980 г.

6. Заседаниях Научного Совета по проблеме "Голография" при АН СССР /предс. чл.корр. АН СССР Л.Д.Бахрах/, г. Москва, г. Ленинград, 1980 г.

7. Заседании Научного Совета кафедры "Физика твердого тела" Московского инженерно-физического института, г. Москва, 1981 г.

8. Заседании Ученого Совета МНИИ педиатрии и детской хирургии МЗ РСФСР /дир. проф. Ю.Е.Вельтишев/, г. Москва, 1981 г.

Структура работы.

Диссертация изложена на 176 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, трех глав собственных исследований, включающих описание методик анализа эритроцитов методами оптической голографии и экспериментальных исследований, заключения, выводов и приложения. Библиографический указатель содержит 137 источников литературы. Работа иллюстрирована 45 рисунками и 13 таблицами.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В качестве материала исследования были взяты эритроциты периферической крови здоровых /20/ и больных детей: 5 с сахарным диабетом, 6 с диффузным гломерулонефритом, 12 с наследственным микросфероцитозом в возрасте от 6 до 12 лет. Обследовались эритроциты родственников детей, больных НС. В 2х случаях анализировались эритроциты, выделенные из удаленной по поводу НС селезенки.

Забор крови производился из локтевой вены. Для анализа использовалась гепаринизированная кровь в объеме 0,5+1,0 мл, не позднее чем через час после забора крови. Эритроциты исследовались при комнатной температуре / $t = 20-22^{\circ}\text{C}$ / в аутоплазме или в физиологическом растворе в зависимости от типа эксперимента. Взвесь эритроцитов разделялась на две части. Первая часть /0,1 – 0,3 мл/ помещалась под микроскоп, далее проводилось фотографирование или микрокиносъемка интерферограмм и изображений клеток в лазерном свете. Интерференционные картины, снятые на фотопленку, обрабатывались по разработанным методикам расчёта интерферограмм. Вторая часть эритроцитов /0,3 – 0,4 мл/ отбиралась для измерения на рефрактометре показателя преломления внутри и вне клеток.

Конец ознакомительного фрагмента.

Текст предоставлен ООО «ЛитРес».

Прочитайте эту книгу целиком, [купив полную легальную версию](#) на ЛитРес.

Безопасно оплатить книгу можно банковской картой Visa, MasterCard, Maestro, со счета мобильного телефона, с платежного терминала, в салоне МТС или Связной, через PayPal, WebMoney, Яндекс.Деньги, QIWI Кошелек, бонусными картами или другим удобным Вам способом.