

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 Николаевич Метелкин**

## **Голографическая интерферометрия и лазерная микроскопия эритроцитов**

*[http://www.litres.ru/pages/biblio\\_book/?art=67289235](http://www.litres.ru/pages/biblio_book/?art=67289235)*

*SelfPub; 2022*

### **Аннотация**

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.

# **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 2ом 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.Ринкевичюс

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 де-

лает 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 e a, 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 ла-

зерного, 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 ос-

новые 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.Вельтищев/, 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.