СОВРЕМЕННЫЕ ДОСТИЖЕНИЯ БИОНАНОСКОПИИ

Четвертая международная конференция

ТЕСТИРОВАНИЕ БИОАКТИВНОСТИ НАНОЧАСТИЦ МЕТОДОМ КОМПЬЮТЕРНОЙ ФАЗОВО-ИНТЕРФЕРЕНЦИОННОЙ МИКРОСКОПИИ В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ



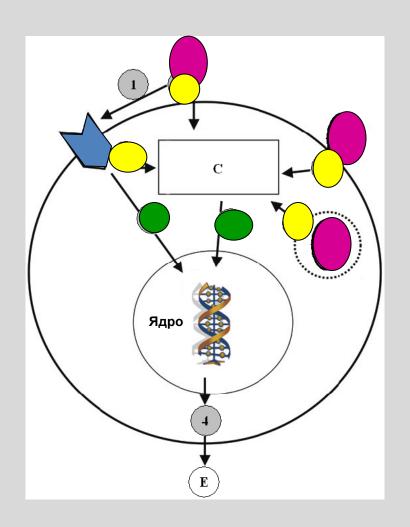
МАКАРОВА Д.В., МЕТЕЛИН В.Б.

Филиал ГОУ ВПО РГМУ Росздрава «Научно-клинический центр геронтологии»

ПУТИ ПОСТУПЛЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ В ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА



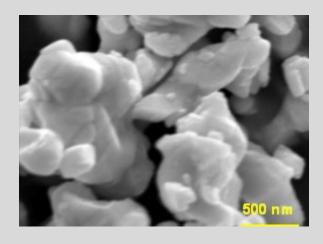
МЕХАНИЗМ ВОЗДЕЙСТВИЯ НАНОЧАСТИЦ НА ЖИВУЮ КЛЕТКУ



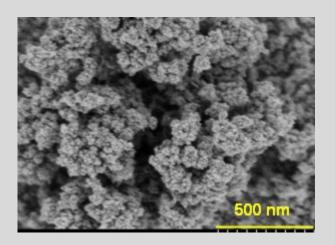
Присутствие наночастиц на мембране клетки приводит к активации рецепторов, Увеличению внутриклеточного кальция и инициации окислительного стресса, а также активации генов



ПОРОШКИ ВОЛЬФРАМА (ЭЛЕКТРОННАЯ МИКРОСКОПИЯ)



Промышленный вольфрам (SEM)



Нановольфрам 60 нм (SEM)

КОМПЬЮТЕРНАЯ МОРФОМЕТРИЯ

Объем

принцип действия фазово-интерференционного комплекса «Цитоскан» (увеличение 500х)

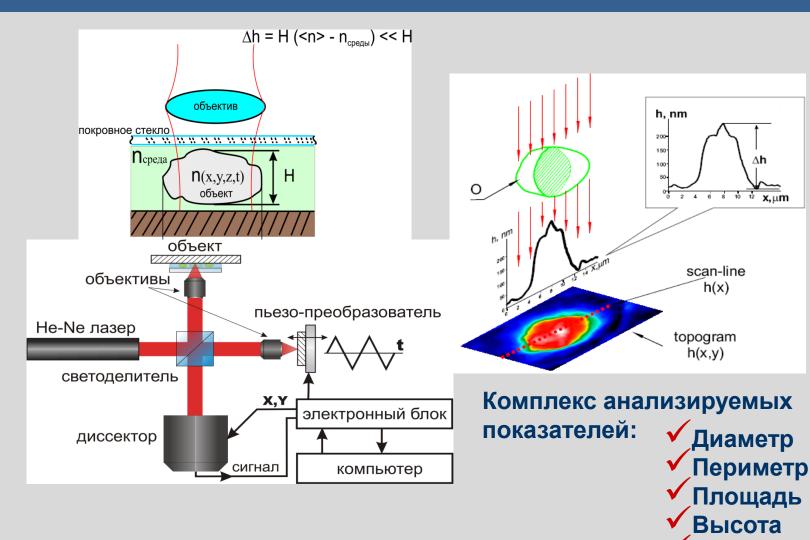
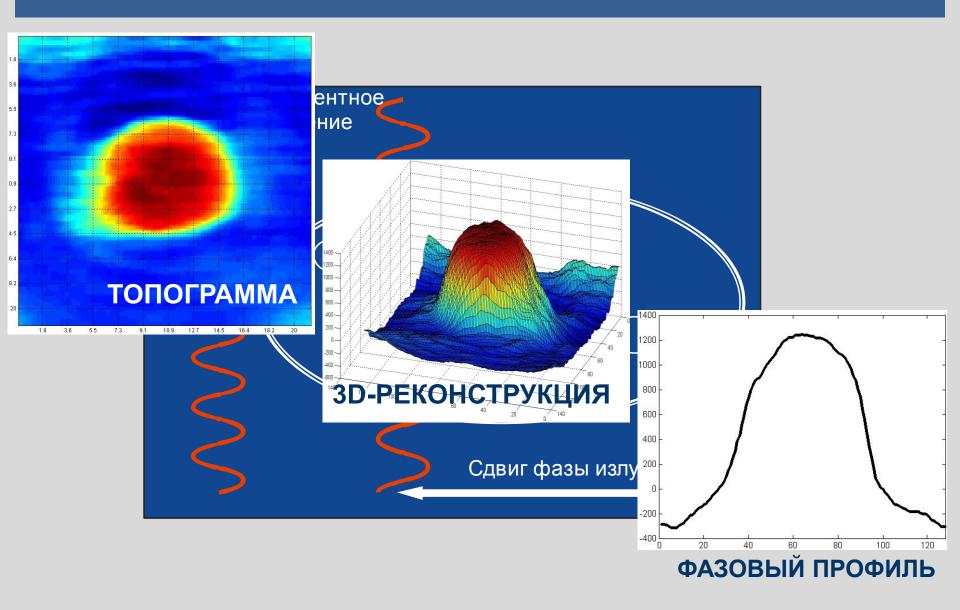
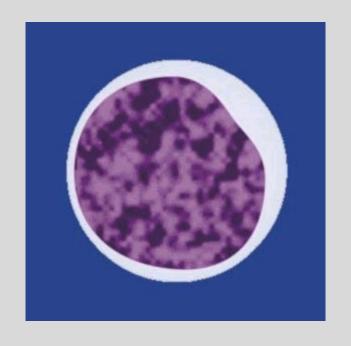


СХЕМА ПРОХОЖДЕНИЯ ЛУЧА ЧЕРЕЗ КЛЕТКУ ПРИ ФАЗОВО-ИНТЕРФЕРЕНЦИОННОЙ МИКРОСКОПИИ



ВЛИЯНИЕ ПРОЦЕССА АКТИВАЦИИ ЛИМФОЦИТОВ НА ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ

Световая микроскопия

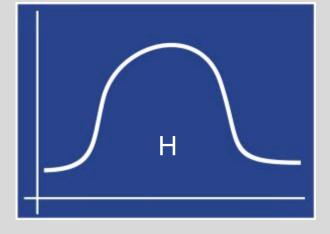


Изменение диаметра, периметра, площади

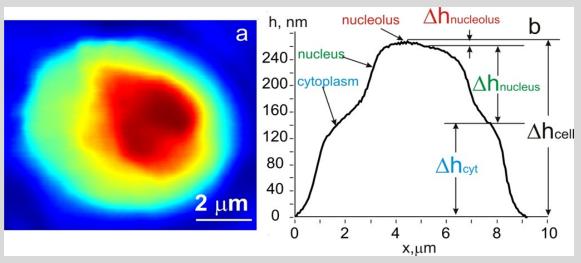
Изменение высоты



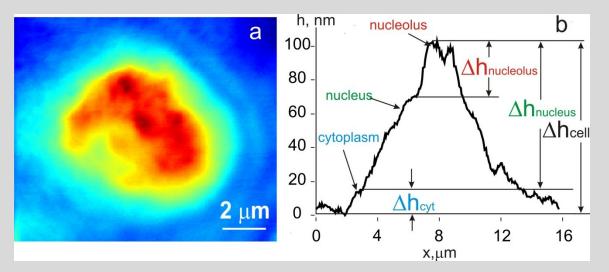
Фазово-интерференционная



АКТИВАЦИЯ ЛИМФОЦИТОВ ФИТОГЕМАГГЛЮТИНИНОМ (ФГА) IN VITRO



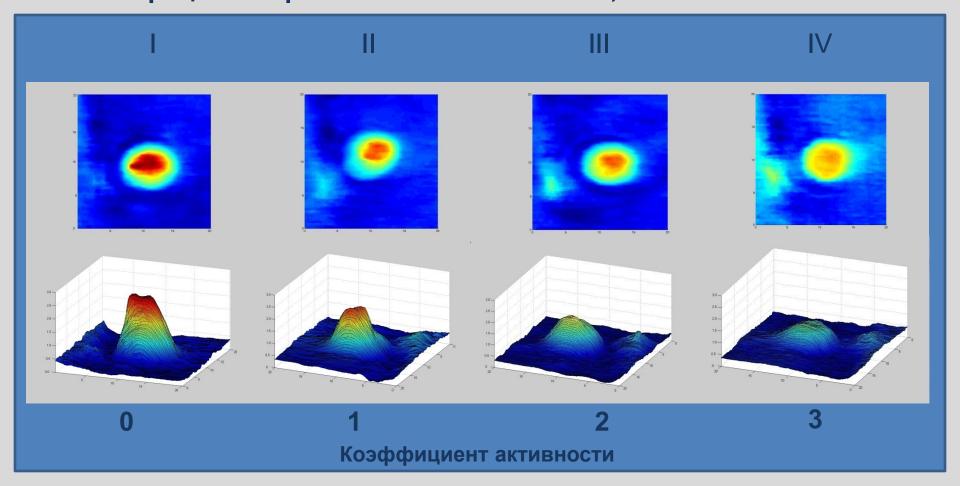
Интактный Т- лимфоцит



Активированный Т- лимфоцит

ЛИМФОЦИТЫ С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ

- I лимфоциты с фазовой высотой выше 2,5 мкм;
- II- лимфоциты с фазовой высотой от 2,5 до 2,0 мкм;
- III лимфоциты с фазовой высотой от 2,0 до 1,5 мкм;
- IV- лимфоциты с фазовой высотой ниже 1,5 мкм.



Показатель функциональной активности ядра (FAN) как величина обратно пропорциональная фазовой высоте (PH)

FAN =
$$\frac{3*n3+2*n2+n1+0*n0}{n}$$

```
где FAN — функциональная активность ядра;

n3 — количество клеток с PH ≤1,5мкм;

n2 — с PH >1,5, но ≤2мкм;

n1 — с PH >2, но ≤2,5мкм;

n0 — с PH >2,5;

n — число клеток в выборке.
```

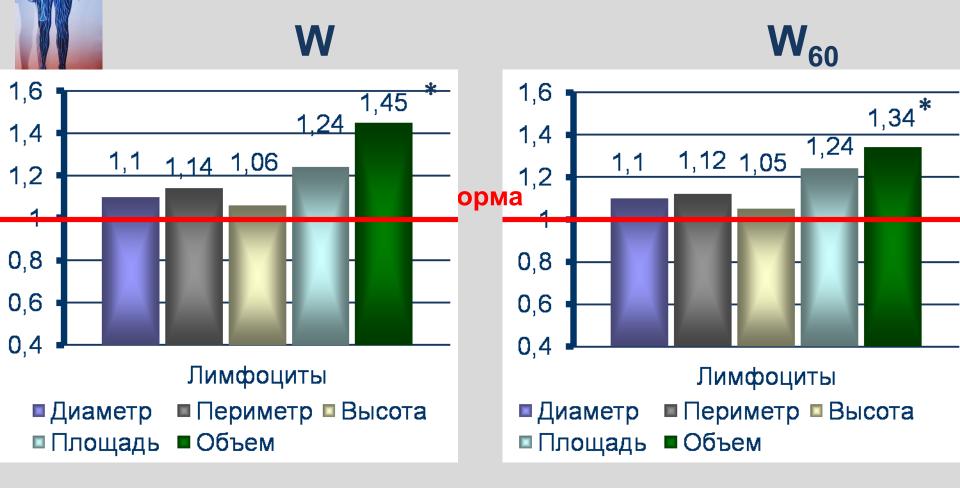
Коэффициент означает степень активации клеток с определенной высотой

ВЛИЯНИЕ ВОЛЬФРАМА НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЛИМФОЦИТОВ КРЫС В ЭКСПЕРИМЕНТАХ IN VIVO



^{* -} по отношению к контролю р<0,05

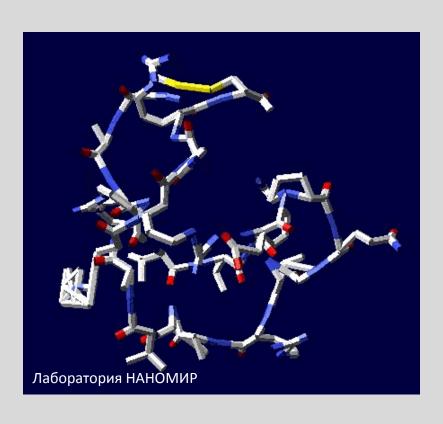
ВЛИЯНИЕ ВОЛЬФРАМА НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА В ЭКСПЕРИМЕНТАХ IN VITRO



^{* -} по отношению к контролю р<0,05

Анализ морфометрических показателей лимфоцитов периферической крови в экспериментах in vitro и in vivo продемонстрировал наличие супрессивного действия порошков вольфрама, что нашло отражение в изменении фазовых параметров ядер живых клеток

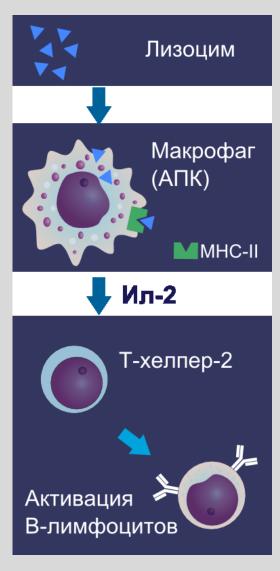
ЛИЗОЦИМ - N-АЦЕТИЛМУРАМИЛ-ГИДРОЛАЗА (МУРАМИНИДАЗА)



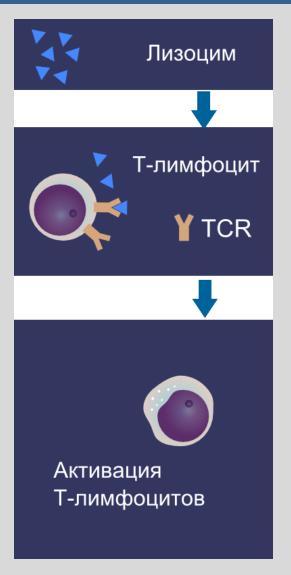
Фермент класса гидролаз

Является одним из важнейших защитных факторов живых организмов, обладающим широким спектром общебиологического действия.

МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ЛИЗОЦИМА



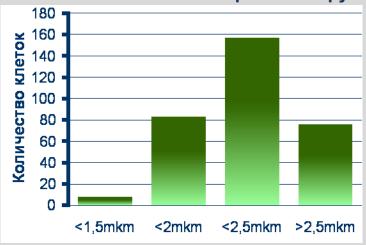
Опосредованный



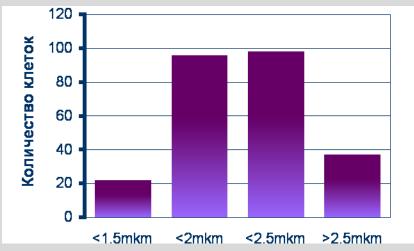
Прямой

ПОКАЗАТЕЛЬ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ЯДРА (FAN) В ЭКСПЕРИМЕНТАХ С ЛИЗОЦИМОМ IN VITRO

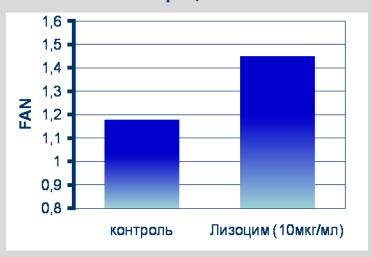
Пимфоциты с различным уровнем функциональной активности в контрольной группе



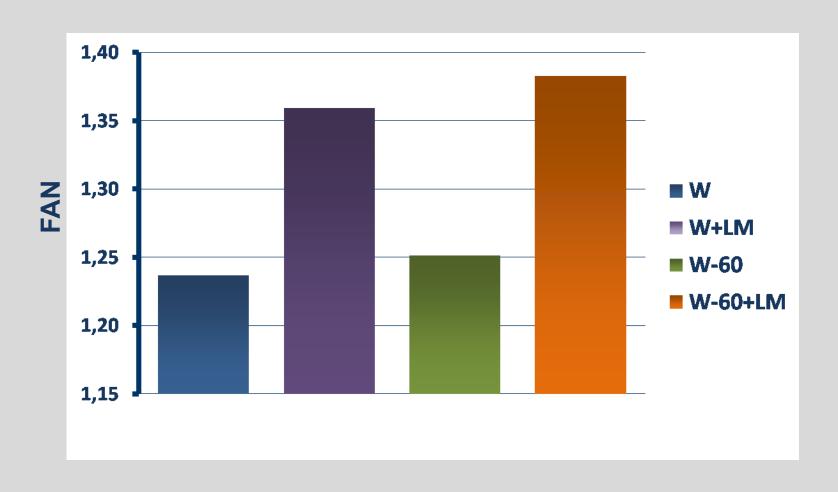
Лимфоциты с различным уровнем функциональной активности после инкубации с лизоцимом 10 мкг/мл



Функциональная активность ядер лимфоцитов



ПОКАЗАТЕЛЬ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ЯДРА (FAN) В ЭКСПЕРИМЕНТАХ С ВОЛЬФРАМОМ И ЛИЗОЦИМОМ IN VITRO



ВЫВОДЫ

- Увеличение фазовой высоты и объема лимфоцитов крыс in vivo может свидетельствовать о супрессивном влиянии порошков вольфрама на иммунокомпетентные клетки.
- В экспериментах in vitro на клетках крови человека наблюдалось достоверное увеличение объема, что может свидетельствовать о снижении функциональной активности лимфоцитов под воздействием частиц вольфрама. Этот эффект требует дальнейшего изучения и объяснения.
- Изменение фазовых параметров Т-лимфоцитов крови человека и увеличение функциональной активности ядер (FAN) после воздействия лизоцима может свидетельствовать о его способности к прямому стимулирующему действию на данные клетки.
- При совместной инкубации Т-лимфоцитов с вольфрамом и лизоцимом, лизоцим оказывает выраженное активирующее действие на фоне воздействия порошков вольфрама.

Благодарю за внимание!