

Т. В. Малащенко

ИССЛЕДОВАНИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ МОНОНУКЛЕАРНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПРОТОЧНОГО ЦИТОФЛУОРИМЕТРА И ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО МИКРОСКОПА

Научный руководитель: ассист. К. И. Павлов

Кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

Резюме: В работе представлена сравнительная характеристика методов исследования жизнеспособности мононуклеарных лейкоцитов с помощью проточного цитофлуориметра, светового (инкорпорация эозина) и флуоресцентного (инкорпорация пропидия йодида) микроскопов.

Ключевые слова: мононуклеарные лейкоциты, эозин, пропидия йодид.

Resume: The paper presents a comparative characteristic of methods for studying the viability of mononuclear leukocytes with flow cytometry, light (incorporation of eosin) and fluorescent (propidium iodide incorporation) microscopes.

Key words: mononuclear leukocytes, eosin, propidium iodide.

Актуальность. К мононуклеарным лейкоцитам относятся моноциты и лимфоциты. Высокая жизнеспособность мононуклеарных лейкоцитов – необходимое условие исследования иммунофенотипа клеток крови. Большой объем мёртвых клеток может отражаться на качестве цитофлуориметрических исследований, биохимических тестов. Особенно важной высокая жизнеспособность данной группы клеток является для ДНК-микроэррей исследования [1] и ПЦР-исследований клонального статуса В-лимфоцитов [2].

Цель: Предложить микроскопические методы для иммуногистохимических исследований мононуклеарных лейкоцитов.

Задачи:

1. Провести анализ цитогамм
2. Провести исследования с помощью светового микроскопа
3. Провести исследования с помощью флуоресцентного микроскопа

Материал и методы: В качестве источника мононуклеарных лейкоцитов использовали спленоциты мышей С57BL/6. Проводился анализ цитогамм, полученных при исследовании жизнеспособности спленоцитов мыши с использованием витального красителя пропидия йодида в сравнении с исследованием при помощи светового микроскопа (инкорпорация эозина) [3] и флуоресцентного микроскопа (инкорпорация пропидия йодида) [3].

Результаты и их обсуждение.

На рисунке 1 представлена цитограмма спленоцитов мыши с исследованием инкорпорации пропидия йодида. Верхний кластер представляет клетки с высокой инкорпорацией (мёртвые клетки). При исследовании с помощью проточного цитофлуориметра порядка 20 % клеток кластеризовались, как нежизнеспособные.

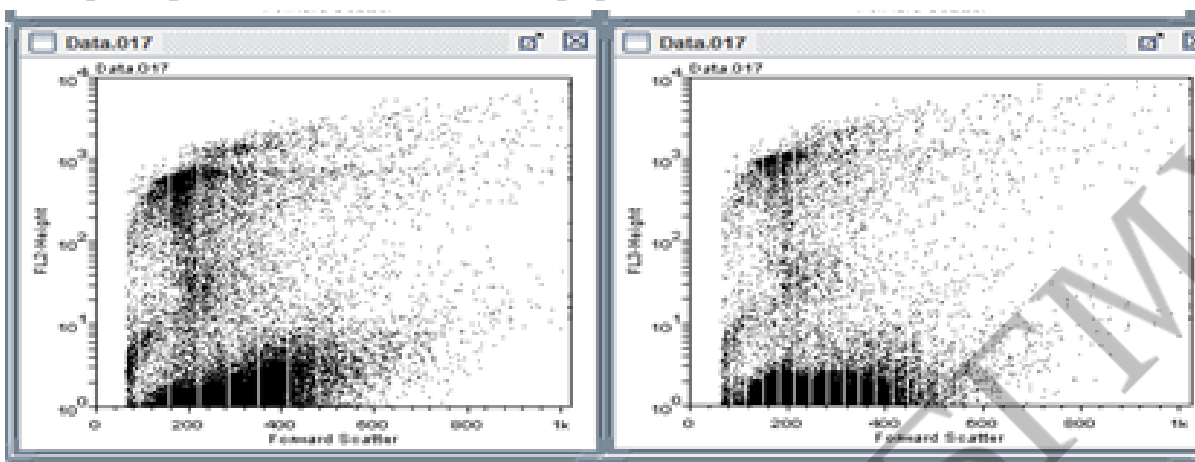


Рисунок 1 – Цитограмма инкорпорации пропидия йодида спленоцитами мыши.

Схожие показатели были отмечены при использовании раствора эозина и визуальном исследовании клеток (Рисунок 2):

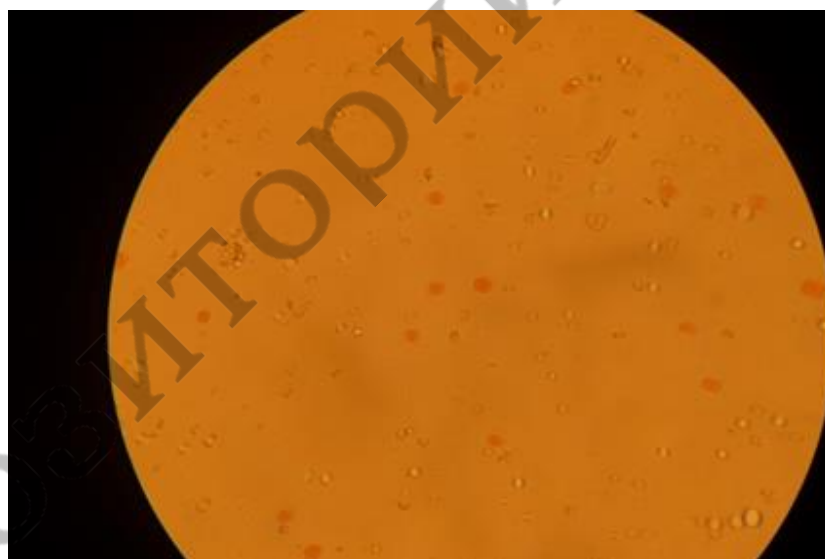


Рисунок 2 – Микрофотография мертвых клеток.

Исследование жизнеспособности с применением пропидия йодида и флуоресцентного микроскопа позволило визуализировать мёртвые клетки с возможностью оценки цитоморфологии и оцифровки данных (Рисунок 3). Пропидий йодид интенсивно флуоресцирует в диапазоне 500-600 нм. При инкорпорации выявляются красные клетки разной степени интенсивности.

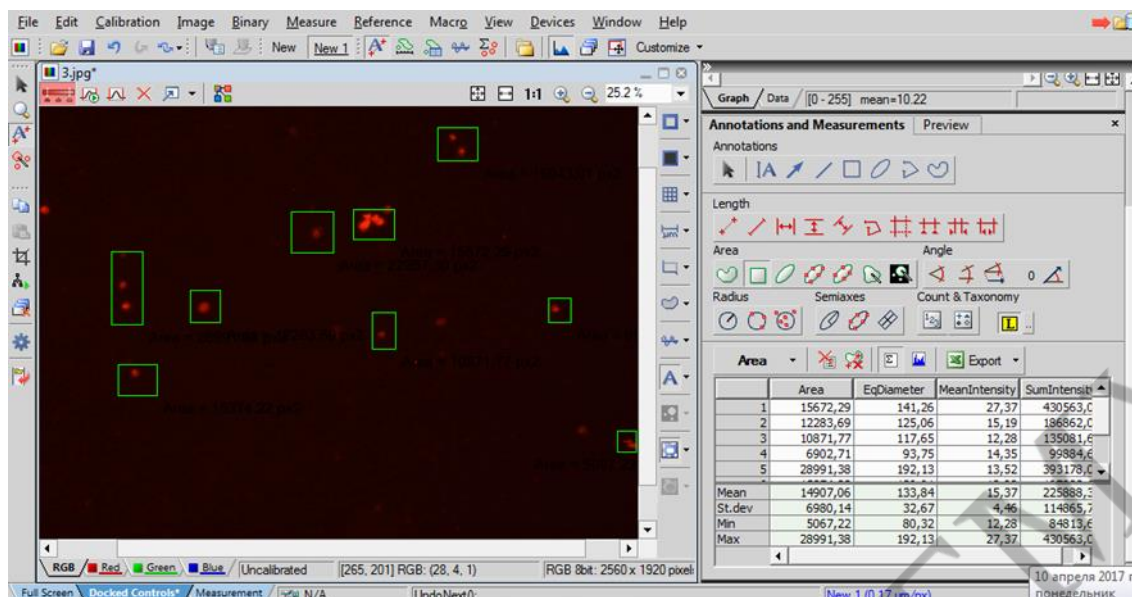


Рисунок 3 – Оцифровка данных с использованием пакета программ для обработки изображений, полученных с помощью флуоресцентного микроскопа.

Выводы:

1. Метод окраски эозином эффективен для исследования жизнеспособности мононуклеарных лейкоцитов и сопоставим с результатами проточной цитометрии.
2. Использование флуоресцентного микроскопа позволяет визуализировать мёртвые клетки и оцифровывать уровни флуоресценции.
3. Предложенные модели могут использоваться для иммуногистохимических исследований как мононуклеарных лейкоцитов, так и производных от них клеток: тканевых макрофагов, дендритных клеток, клеток Лангерганса, плазмоцитов.

T. V. Malashchenko

STUDY OF THE VIABILITY OF MONONUCLEAR LEUKOCYTES USING A FLOW CYTOMETER AND A FLUORESCENCE MICROSCOPE

Tutor: assist. K. I. Pavlov

*Department of microbiology, virology, immunology
Belarusian State Medical University, Minsk*

Литература:

1. Pavlov, K. DNA microarray-based expression profile of neurotransmitter receptors and second messengers by peripheral blood mononuclear leucocytes/ L. Titov, K. Pavlov, A. Kapitau, L.M. DuBuske // ABSTRACT BOOK 2015 Annual Meeting American College of Allergy, Asthma & Immunology, November 5-9, 2015 San Antonio, Texas/ P.- A59
2. Pavlov, K. The immunoglobulin heavy chain genes somatic recombination in B-lymphocytes populations from healthy volunteers and patients with chronic infections / L. P. Titov, K. I. Pavlov, L.M. DuBuske // Allergy: Volume 70, Issue Supplement S101; Special Issue: Abstracts from the European Academy of Allergy and Clinical Immunology Congress, 6–10 June 2015, Barcelona, Spain; Red TPS 26. № 1047, P.436
3. Плосконос М. В., Применение эозина и йодистого пропидия для оценки жизнеспособности сперматозоидов человека /М. В. Плосконос// Клиническая и лабораторная диагностика – 2014. – №11 – Стр. 22-25.