

Регистрация кинетики адгезии тромбоцитов на иммобилизованном на оптической подложке белковом покрытии в условиях потока

Научный руководитель – Габбасов Зуфар Ахнафович

Автаева Юлия Николаевна

Студент (специалист)

Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И.

Пирогова, Москва, Россия

E-mail: julia_94fs@mail.ru

Введение. Адгезия тромбоцитов (Тр) - важный биологический процесс, как в осуществлении нормального гемостаза, так и в патогенезе сердечно-сосудистых патологий. Оценка этого показателя является информативным критерием в медико - биологических исследованиях, лабораторной диагностике и мониторинге эффективности антитромбоцитарной терапии. Существующие на данный момент подходы количественного исследования адгезивной функции Тр (АТр) основаны на микроскопической морфометрии АТр или подсчете количества Тр (часто меченных радионуклидами) до и после контакта со стеклом. Эти подходы весьма трудоемки и сложны [1].

Целью работы является апробирование метода регистрации кинетики адгезии тромбоцитов на покрытом фибриногеном стекле с использованием специальной высокочувствительной лазерной оптической системы.

Материалы и методы. Цельную кровь у пациентов отбирали из локтевой вены с помощью системы S-Monovette (Германия), содержащей 3,2% цитрата натрия в соотношении антикоагулянт/кровь 1/10. Обогащенную тромбоцитами плазму (ОТП) готовили центрифугированием крови при 200g в течение 5-ти минут.

Система регистрации АТр состояла из проточной камеры, управляемого компьютером перистальтического насоса, АЦП «Е-154» (L-Card, Россия) и лазера с длиной волны излучения $\lambda = 650$ нм. Взаимодействие Тр с оптической подложкой в тонком пристеночном слое (толщиной до 200 нм) анализировалось специальной оптической системой, которая измеряла интенсивность (I) малоуглового внутреннего отражения лазерного излучения на границах оптических сред (поверхность клеток крови, оптическая подложка). Поверхность оптической подложки проточной камеры покрывали фибриногеном (50 мкг/мл) [2]. Тр активировали 5 мкМ АДФ непосредственно перед измерениями. В контроле АТр измеряли на подложке проточной камеры без покрытия, либо без добавления АДФ.

Результаты. При движении ОТП через проточную камеру происходил значительный рост оптического сигнала на фотоприемнике. Начало роста кривой изменения I лазерного излучения начиналось примерно через 4 минуты и достигало максимального значения через 20-25 минут после добавления к Тр АДФ. В контрольных опытах АТр на поверхность проточной камеры без покрытия и/или без добавления АДФ была минимальна.

Выводы. Покрытая фибриногеном подложка в комбинации с лазерной оптической системой образует высокочувствительный биомолекулярный сенсор и позволяет регистрировать кинетику контактных взаимодействий Тр с активной белковой поверхностью.

Источники и литература

- 1) Мазуров А. В. Физиология и патология тромбоцитов, М., ГЭОТАР-Медиа, 2011.
- 2) Salim M. et all, Characterization of fibrinogen adsorption onto glass microcapillary surfaces by ELISA, Lab Chip, 2007, 7, 64–70.