Применение Клеточной Хемилюминесценции

© Владимиров Ю. А.

План лекции “Клеточная хемилюминесценция”

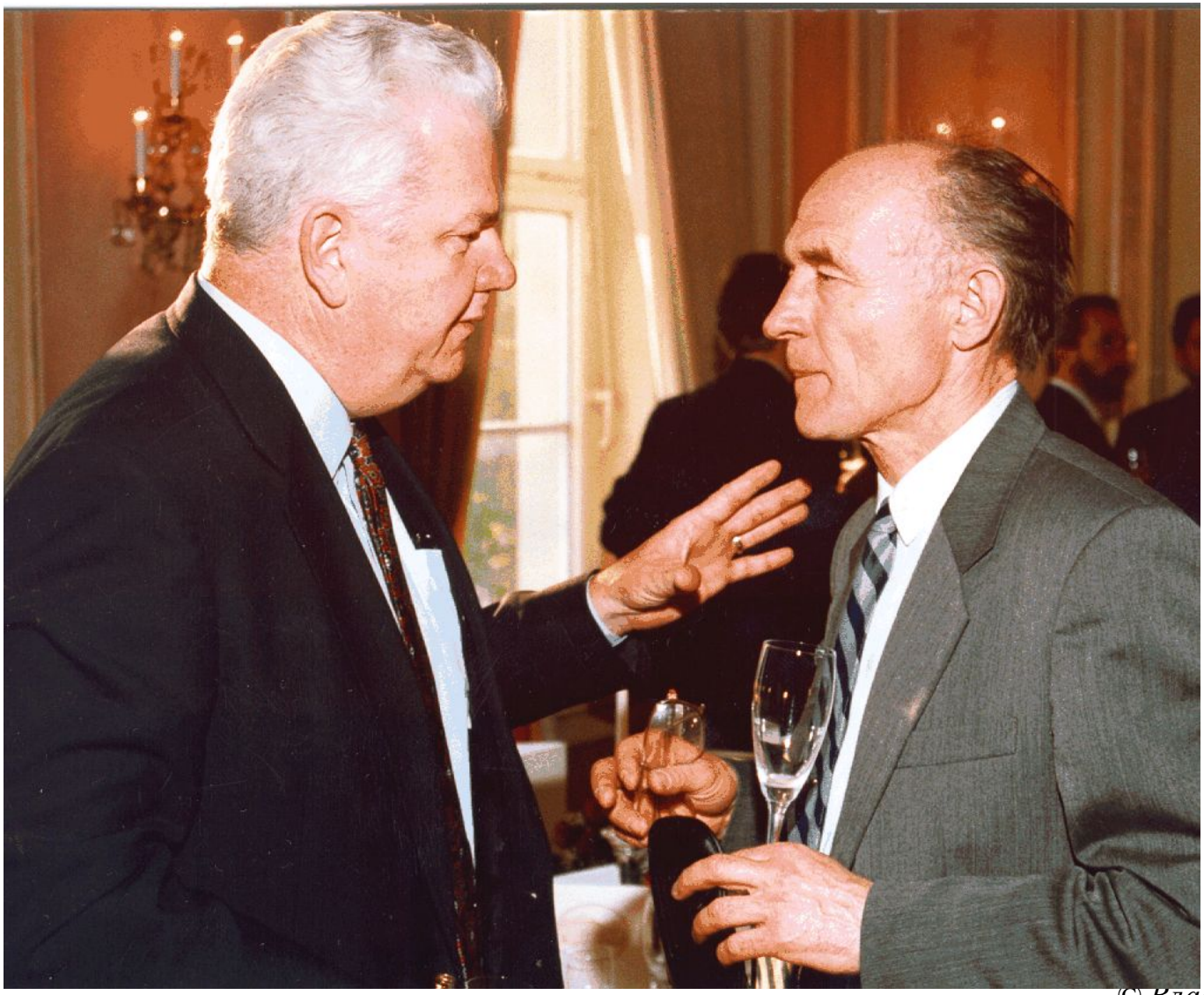
- **Введение**
  - История
  - Установка
  - Пример кривых ХЛ
- **Принцип метода**
  - Реакции при стимуляции клеток
  - Активаторы свечения

- **Физико-химические стимулы**
  - Латекс
  - Сульфат бария
  - Электропорация
- **Химические стимулы**
  - Ca^{2+} ионофоры
  - Иммунные комплексы
  - fMLP
  - FMA
  - Поверхность апоптотических клеток

- **Примеры применения**
  - Активность фагоцитов
  - Действие токсических веществ
  - Действие света (лазера)
  - Лекарственная несовместимость
- **Заключение**

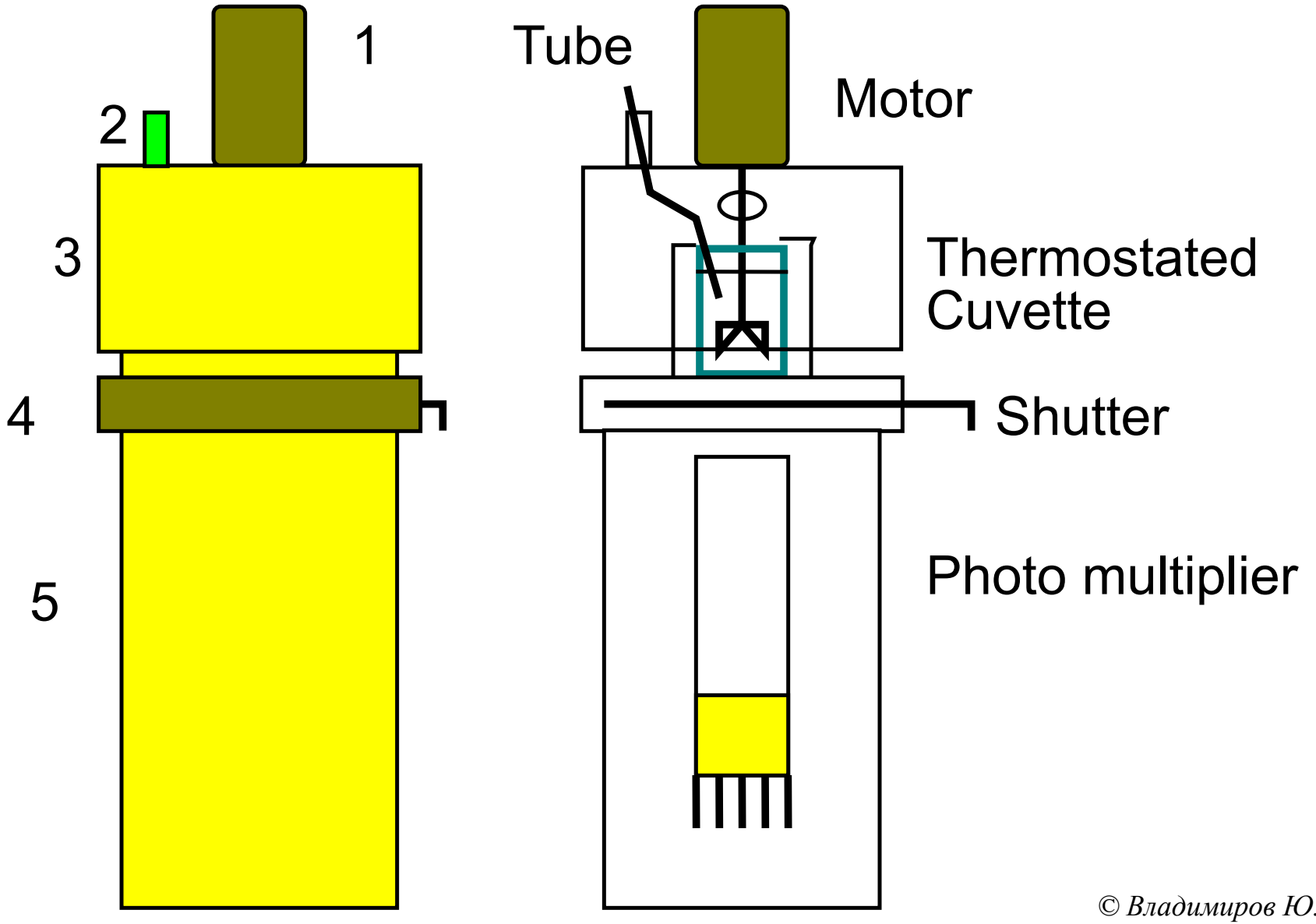
© Владимиров Ю. А.

Robert Allen and Yury Vladimirov



© Владимиров Ю. А.

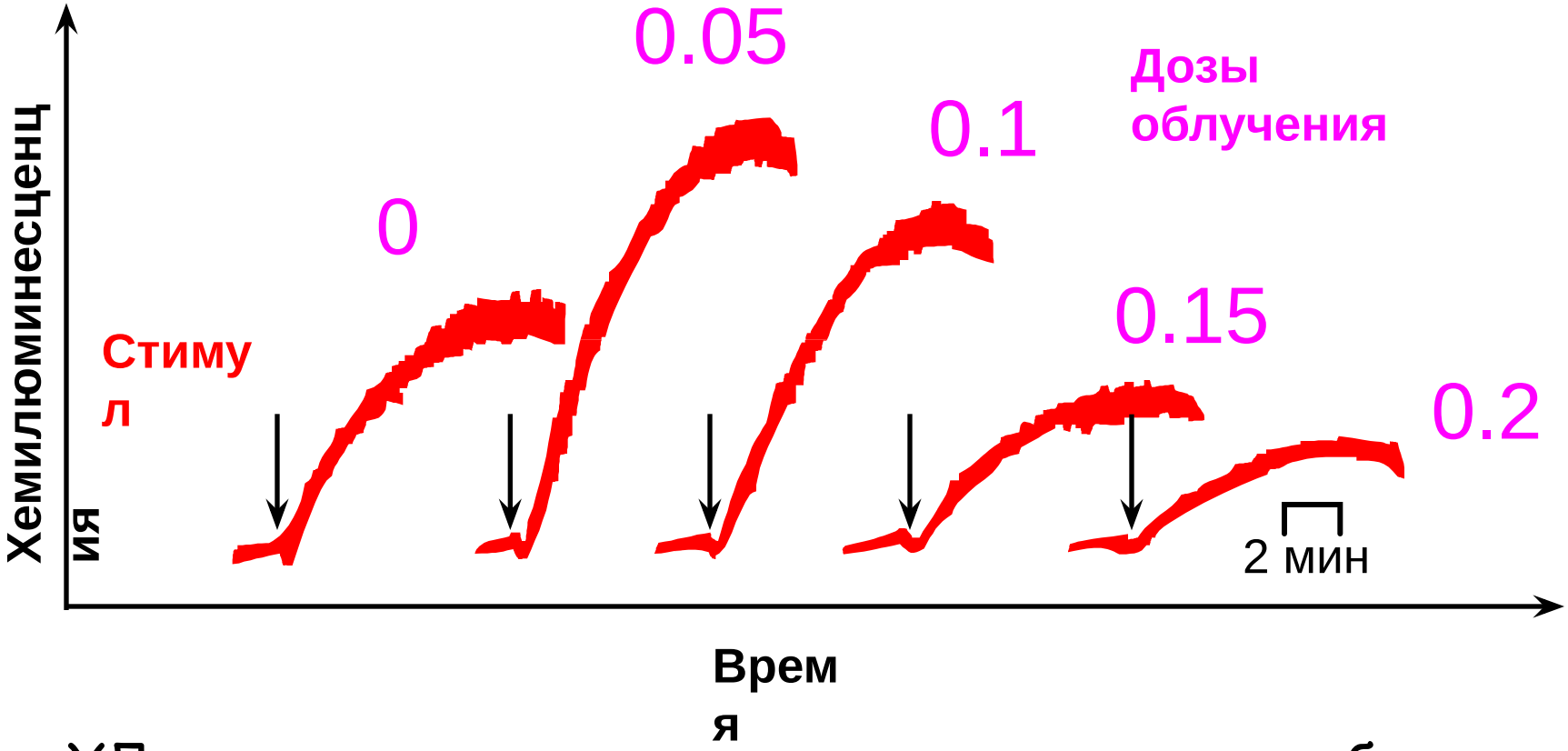
Photometric set of the chemiluminometer



© Владимиров Ю. А.

Выделение активных форм кислорода нейтрофилами

При взаимодействии со стимулом, например бактериями, фагоциты выделяют супероксидные радикалы и другие активные формы кислорода.



ХЛ-ответ клеток меняется после лазерного облучения.

© Владимиров Ю. А.

Time course of liniimol-dependent chemiluminescence from human neutrophils

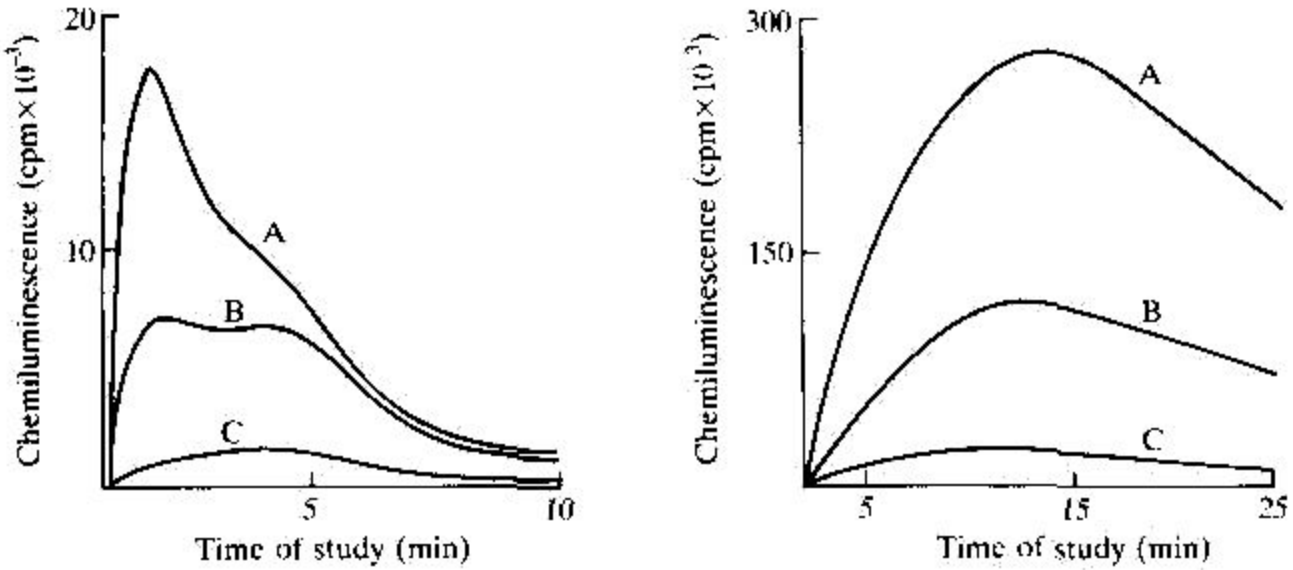
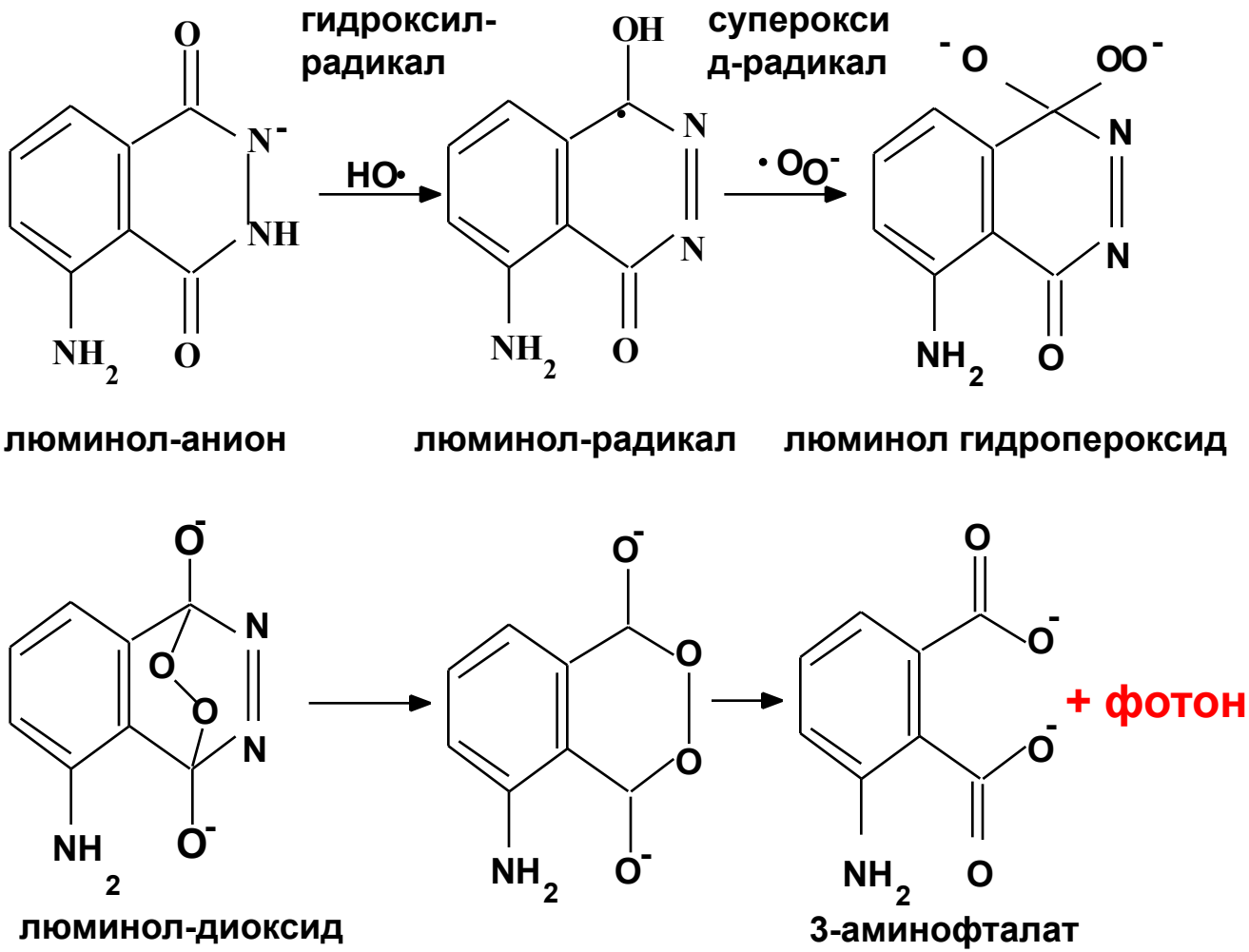


Fig. 6.15. Time course of liniimol-dependent chemiluminescence from human neutrophils,. Cells were exposed to fMet—Leu—Phe (left-hand graph) or to phorbol myristate acetate (right-hand graph) at 37°C. (A) 10^5 cells, (B) 5 x 10^5 cells; (C) 10^6 cells. Diagram adapted from *Agents and Actions,* **21,** 104 (1987) by courtesy of Dr C. Dahlgren and the publishers. In the left-hand curve, the first peak is probably related to extracellular events (such as HOCl production by myeloperoxidase) and the second to intracellular events.

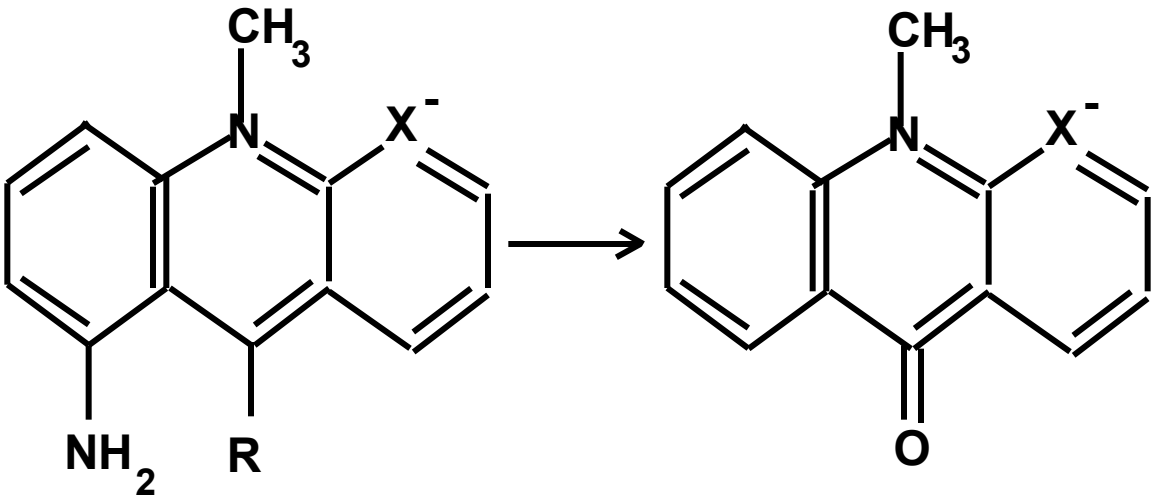
© *Владимиров Ю. А.*

Хемилюминесценция при окислении люминола



© Владимиров Ю. А.

Люцигенин дает свечение при взаимодействии с супероксидом



Lucigenin

+ ROOH
or R=O
+ photon

(blue-green luminescence)

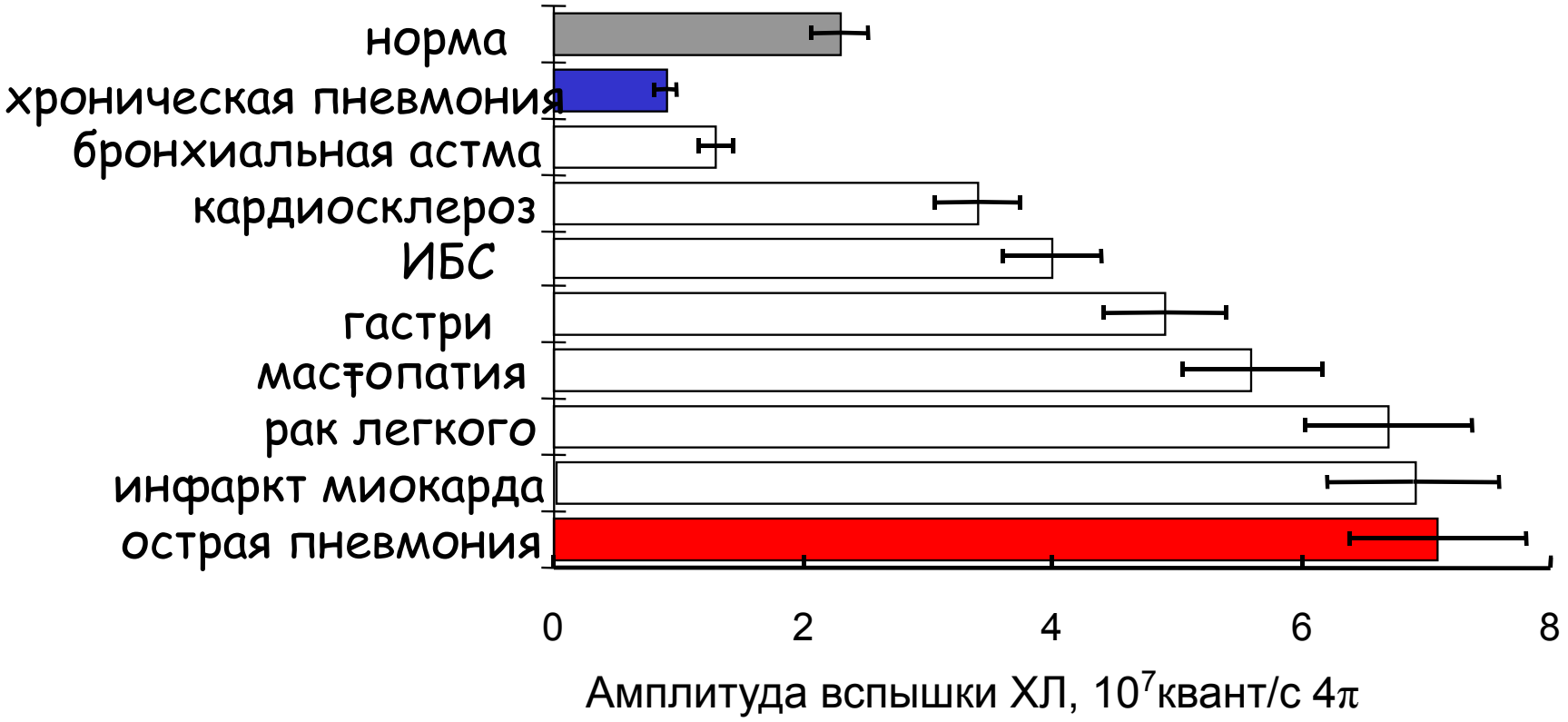
© Владимиров Ю. А.

Стимулы

- **Физические**
  - Электрические импульсы
  - Адгезия
- **Химические**
  - Ca^{2+}-ионофор
  - fMLP
  - FMP
- **Физико-химические**
  - Опсонизированный зимозан
  - НИЛИ

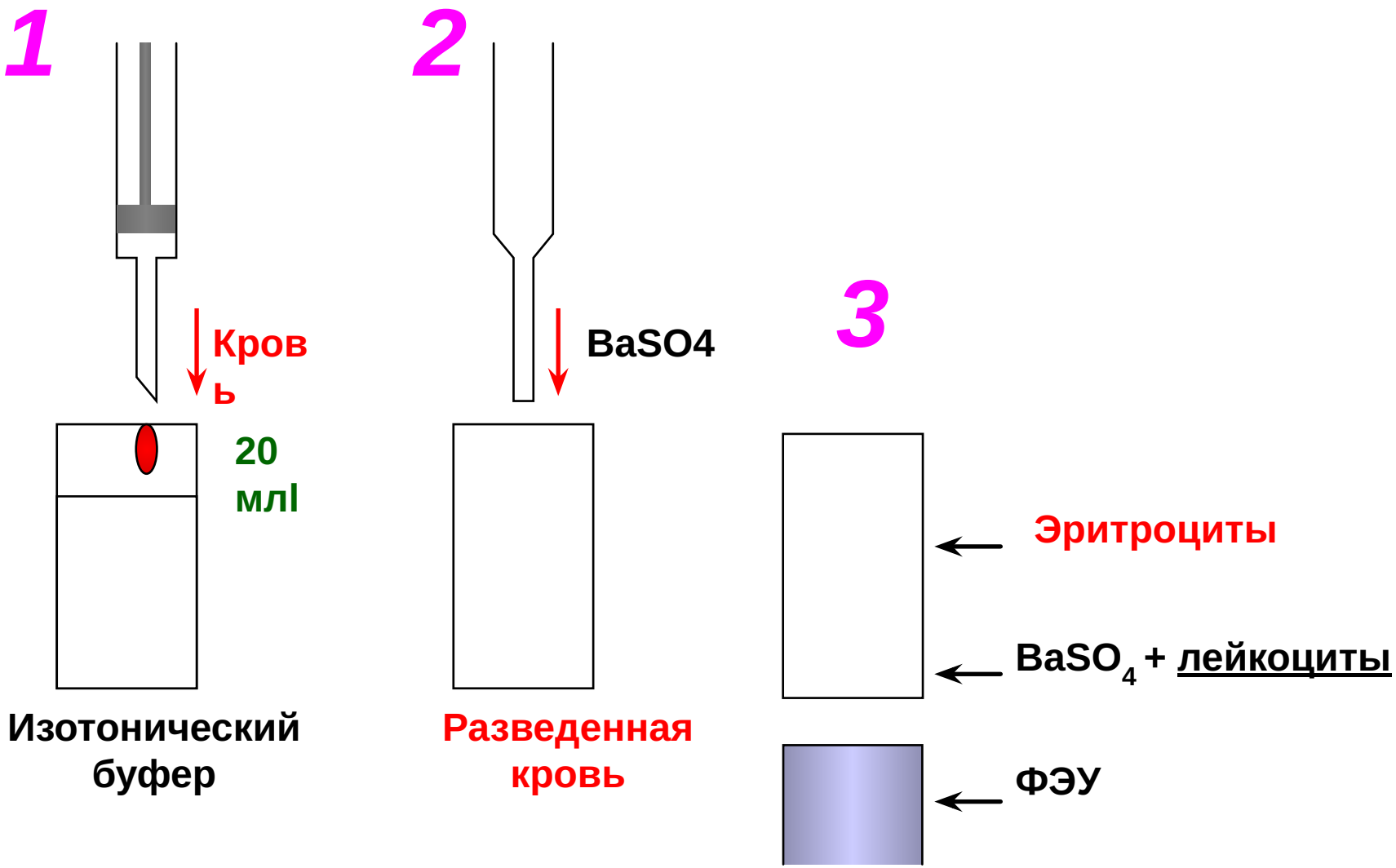
© *Владимиров Ю. А.*

ХЛ нейтрофилов стимулированных латесом



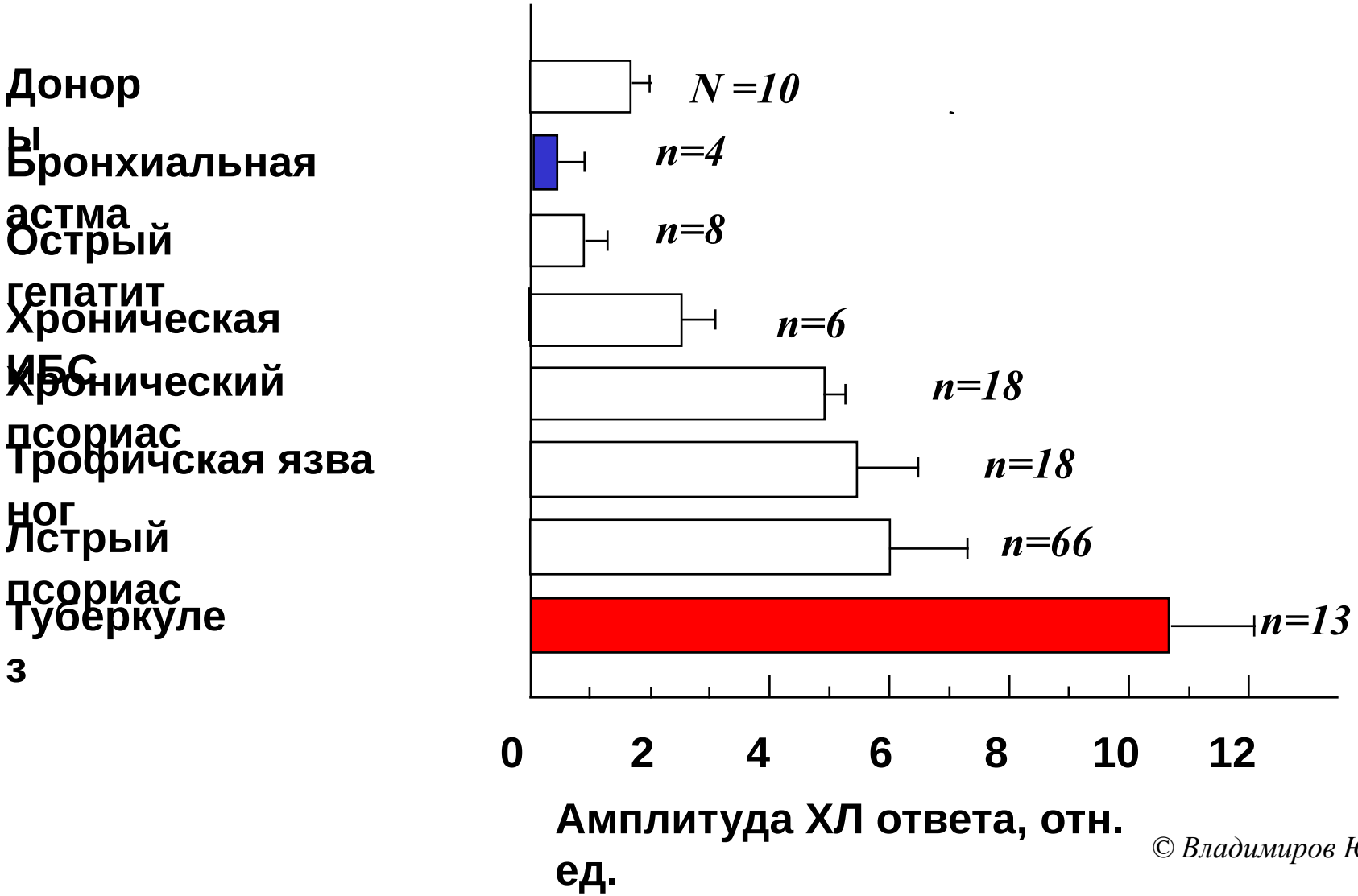
© Владимиров Ю. А.

Измерение ХЛ цельной крови с $BaSO_4$



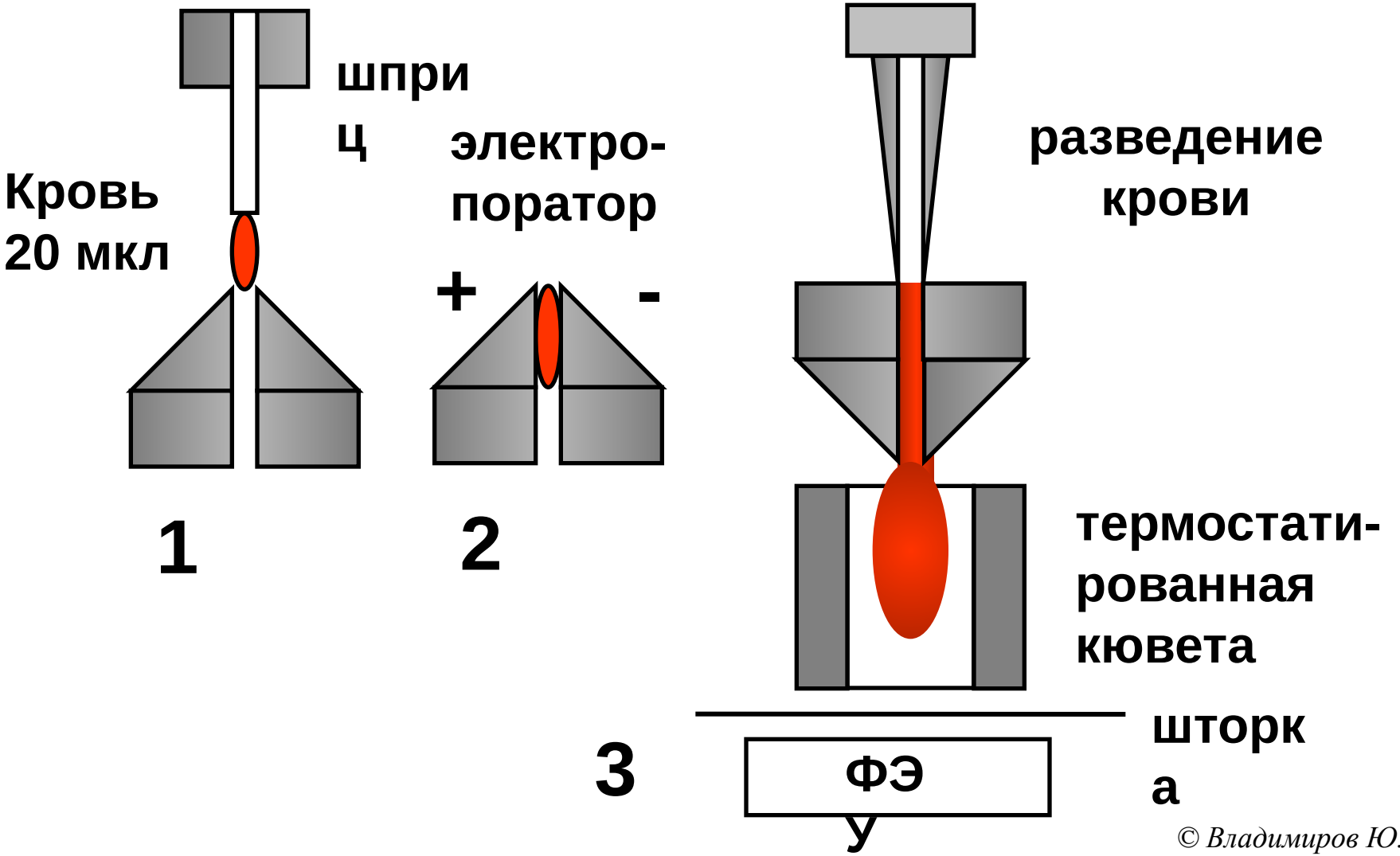
© Владимиров Ю. А.

ХЛ ответ осажденных лейкоцитов



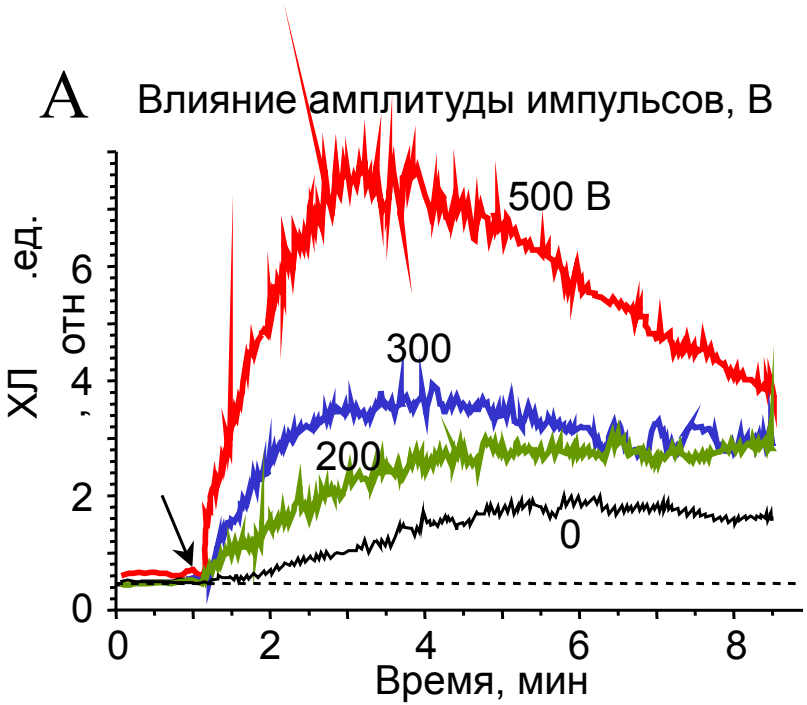
© Владимиров Ю. А.

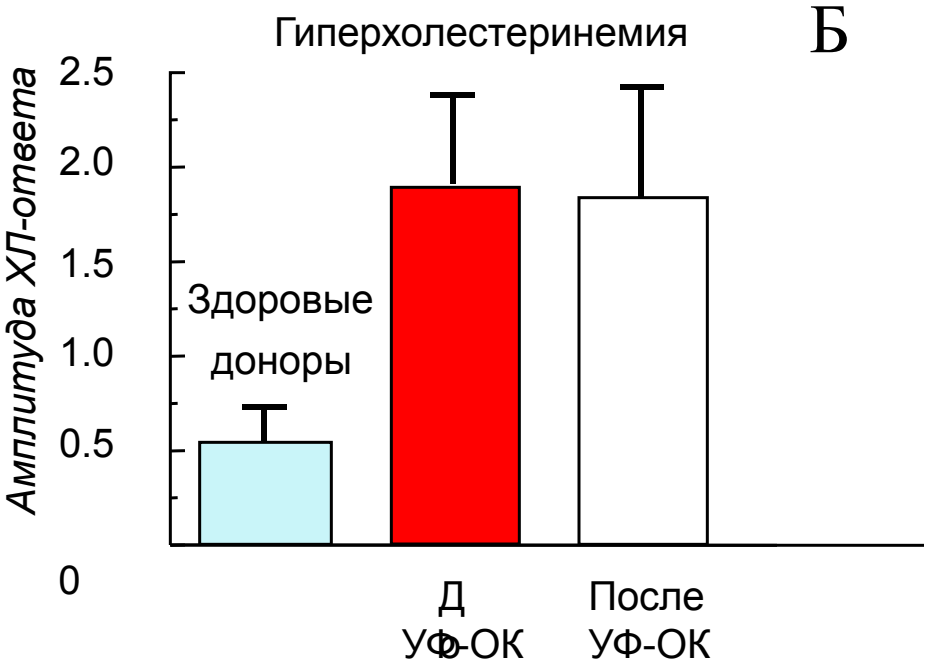
Измерение электро-стимулированной ХЛ



© Владимиров Ю. А.

Электростимулированная ХЛ крови

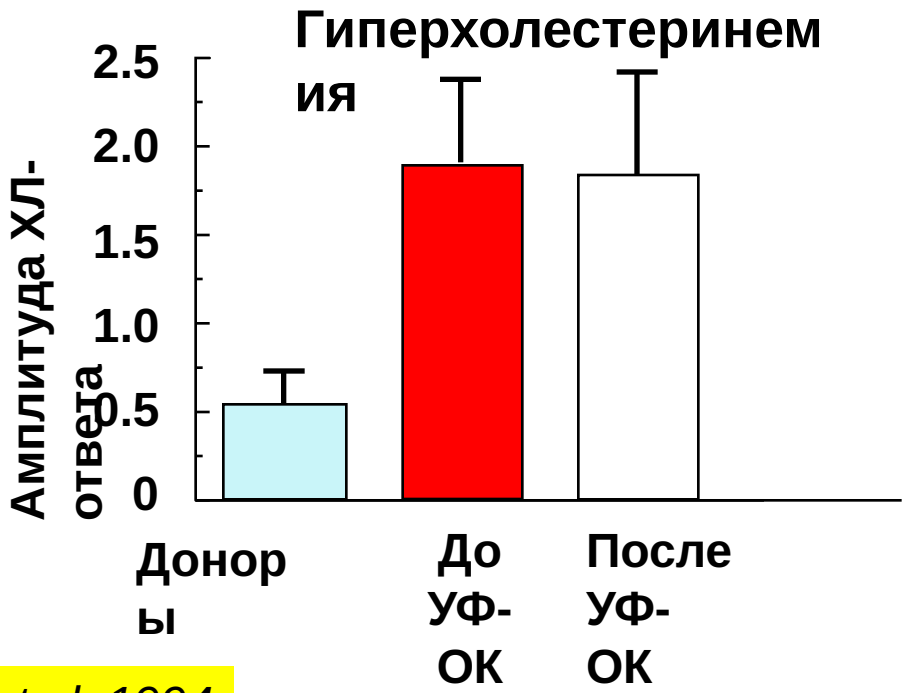




© Владимиров Ю. А.

Электро-стимулированная хемилюминесценция крови

До и после УФ-облучения крови (УФОК)



Vladimirov et al. 1994

Клиника Гумбольдского университета, Берлин

© *Владимиров Ю. А.*

Вопросы к зачету

1. Клеточная хемилюминесценция. Какие клетки используются, как проводятся измерения? Основные узлы прибора. Форма кривых и от чего она зависит.
2. Активаторы хемилюминесценции, используемые при изучении клеток крови. Принцип их действия и специфичность.
3. Хемилюминесценция нейтрофилов крови различных групп больных.
4. Метод измерения хемилюминесценции клеток, осаждаемых на адсорбенте.
5. Электропорация клеток крови. Принцип метода и его применение.

© Владимиров Ю. А.