

© Ковальчук М.Т., Шкільна М.І., 2012
УДК 616.921.5-022.6-092

М.Т. Ковальчук, М.І. Шкільна

ПОЛЯРИЗОВАНА ФЛУОРЕСЦЕНЦІЯ ЛЯМБЛІЙ ІЗ ВІТАМІНАМИ

Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського

Вперше застосовано метод поляризованої флуоресценції для вивчення взаємодії лямблій з різними вітамінами. Даний метод надає можливість досліджувати живі об'єкти (лямблії) в динаміці та отримати відповідну високоточну інформацію.

Ключові слова: лямблії, вітаміни, поляризована флуоресценція.

Виходячи із сучасних уявлень про фізичні і біофізичні властивості біологічних макромолекул взагалі, а клітинних макромолекулярних структур – зокрема, важливими компонентами яких є ліпіди і нуклеїнові кислоти – сполуки з рідкокристалічними властивостями, зростає інтерес до методу цитолоюмінесцентного аналізу на принципових засадах поляризованої флуоресценції [1-3]

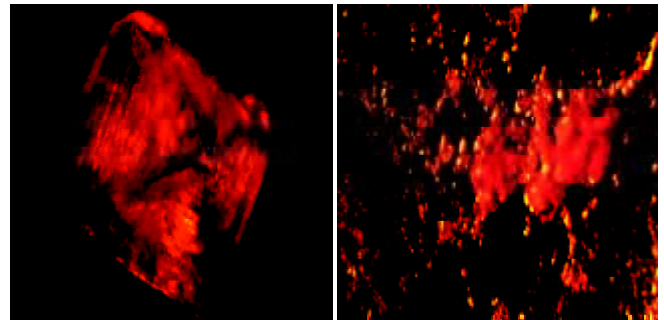
Притаманні вітамінам рідкокристалічні властивості внаслідок реалізації анізотропії їх щодо світла складають підоснову візуалізації складних фізико-хімічних процесів, які є визначальними для процесу кристалізації суміші інгредієнтів живої і неживої природи. Так, наприклад, заслуговують на увагу результати дослідження взаємодії вегетативних форм лямблій, виділених з дуоденального вмісту хворих, із такими кристалічними структурами – біологічно активними субстанціями, якими є вітаміни, зокрема, ціанокобаламін, тіамін монобромат, аскорбінова кислота.

Матеріали і методи

У дослідженнях *in vitro* на предметне скло наносили 0,05 мл дуоденального вмісту, отриманого від хворого з лямбліозом, і змішували його з розчинами вітамінів, зокрема ціанокобаламіну, тіаміну монобромату, аскорбінової кислоти, та індукували процес кристалізації, після завершення якого мікропрепарат досліджували у полі зору люмінесцентного мікроскопу (ЛЮММ 8-3М) методом поляризованої флуоресценції. Тіла паразитів (лямблій) виявляли та оцінювали за характером світіння на фоні мікрокристалічних структур жовчі та вітамінів [4].

Результати досліджень та їх обговорення

При змішуванні дуоденального вмісту, що містить вегетативні форми лямблій, з краплиною нативного препарату ціанокобаламіну на предметному склі навіть неозброєним оком помітна бурхлива реакція, в ході якої вегетативні форми лямблій за лічені секунди асимілюють потрібний для їхнього біорозвитку вітамін B_{12} . У полі зору поляризаційного мікроскопу спостерігали повну деструкцію кристалічної структури ціанокобаламіну: рубіново-червоні кристали у вигляді тетраедру втрачали форму, перетворюючись у безформну масу, оточену з усіх боків лямбліями, які флуоресціюють яскраво жовтим світлом (мал. 1).



А

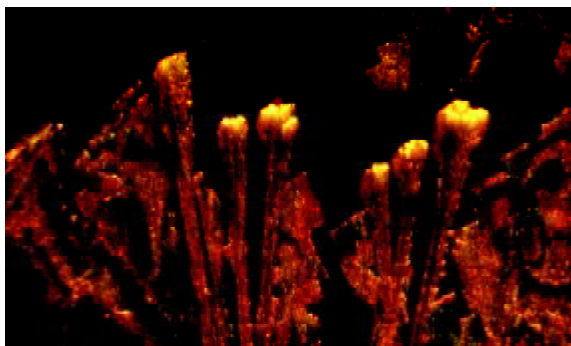
Б

Мал. 1. Деструкція кристалу ціанокобаламіну під впливом живих лямблій: А – інтактний препарат – контроль, Б – руйнація кристалічної структури вітаміну B_{12} . ЛЮММ-Р: Об.х10; ок.х20К.

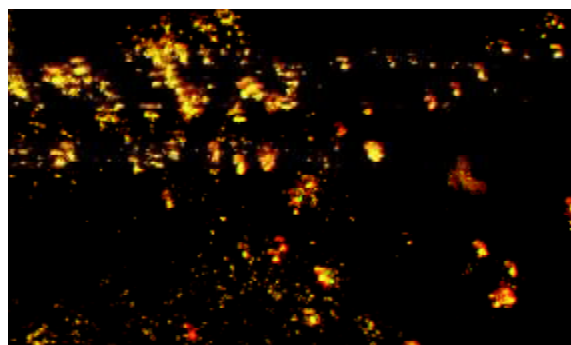
Для взаємодії лямблій з вітаміном B_6 характерним є те, що в процесі кристалізації вітаміну окремі особини одноклітинного паразита витісняються на вершину кристала, що росте, або іншу його поверхню (мал. 2).

Аналогічним чином відбувається взаємодія лямблій з вітаміном С, яку можна розглядати як процес взаємoadсорбції (мал. 3).

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

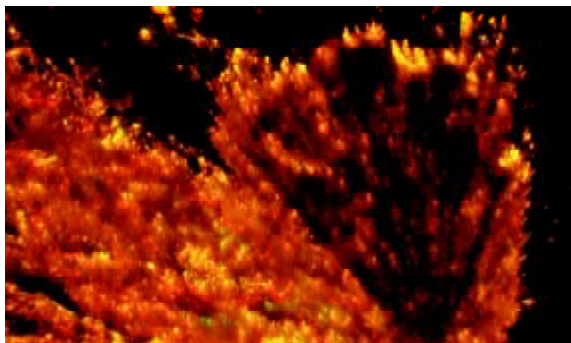


Мал. 2. Феномен витіснення нативних тіл паразитів кристалами вітаміна В₆ на предметному склі. ЛЮМАМ-Р: Об.х10; ок.х20К.



Мал. 3. Взаємoadсорбція лямблій і кристалів аскорбінової кислоти. ЛЮМАМ-Р: Об.х10; ок.х20К.

Кристалізація вітаміна В₁ у мікропрепараті супроводжується своєрідним поглинанням тіл лямблій структурними філаментоподібними елементами кристалу, можливо, за рахунок адсорбції, а також процесом своєрідного витіснення лямблій на вершину відростків кристала (мал. 4).



Мал. 4. Феномен „витіснення” лямблій кристалами тіаміну. ЛЮМАМ-Р: Об.х10; ок.х20К.

Очевидно, як клітина з біоенергетично високим потенціалом, на що вказує надзвичайно високий рівень інтенсивності її флуоресценції, лямблія адаптується до умов життя, змінених завдяки

безпосередній близькості макромолекул активної сполуки, наприклад ціанокобаламіну, тіаміну монобромату, аскорбінової кислоти, відбувається відповідне «перепрограмування» процесу кристалізації конгломерату лямблій з хімічною сполукою. З наведених результатів, очевидно, можна зробити попередній висновок про те, що ці та інші питання взаємодії паразитів з біологічно активними сполуками у поляризованому світлі потребують подальшого вивчення. У зв'язку з цим не буде перебільшенням стверджувати, що описані явища вже тепер набувають загальнонаукового значення.

Висновки

1. Доцільність застосування методу поляризованої флуоресценції при дослідженні природних сполук (вітамінів) впливає із притаманних їм анізотропних властивостей відносно до світла, що, власне, характеризує їх як речовини з рідкокристалічними властивостями.

2. Значною перевагою методичного і методологічного плану, порівняно з багатьма іншими методами аналізу природних речовин, поляризована флуоресценція надає можливість досліджувати взаємодію з ними живого біооб'єкту в динаміці з отриманням високоточної інформації.

Література

1. Карнаухов В.Н. Люминесцентный спектральный анализ клетки / В.Н. Карнаухов – М.: Наука, 1978. – 209 с.
2. Жевандров Н.Д. Поляризация света / Н.Д. Жевандров. – М.: Наука, 1969. – С. 125-140.
3. GPI-anchored proteins are organized in submicron domains at the cell surface Varma R., Mayor S. // Nature. – 1998. – V. 394. – P. 798-801.
4. Пат. 85799 А. Україна, МПК А61В 10/00, А61В 10/00, G01N 33/487, G01N 21/21. Спосіб виявлення одноклітинних паразитів у пробах жовчі / Шкільна М.І., Дем'яненко В.В.; заявник і патентовласник Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського. – № а200714481; заявл. 21.12.2007; опубл. 25.02.09, Бюл. № 4.

POLARIZED FLUORESCENCE OF LAMBIA WITH VITAMINS

M.T. Kovalchuk, M.I. Shkilna

SUMMARY. Interaction of (Gardia lamblia) with vitamins on the basis of luminescent methods of polarized fluorescence was estimated for the first time. This method permit to investigate vital objects (Gardia lamblia) in different stages, and receive certain information of high quality.

Key words: lamblia, vitamins, polarized fluorescence.

Отримано 3.10.2012 р.