

УДК 542.934.8

© Р. А. Капшук

**ИССЛЕДОВАНИЕ ФОРМИРОВАНИЯ ФАЦИЙ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА
ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ВАКУУМОМ И УЛЬТРАЗВУКОМ**

ГОУ ВПО «Донецкий национальный университет»
283050, г. Донецк, ул. Щорса, 46; e-mail:spectrolite@mail.ru

Капшук Р. А. Исследование формирования фаций сыворотки крови человека после воздействия вакуумом и ультразвуком. – В работе представлены результаты исследований по формированию фаций сыворотки крови, образующихся в вакууме и после воздействия ультразвуком. Показано, что исследованные физические воздействия могут расширить возможности метода клиновидной дегидратации для ранней диагностики определенных видов заболеваний.

Ключевые слова: сыворотка крови, дегидратация, фация, вакуум, ультразвук.

Введение

Изучение процессов и структур, которые происходят при дегидратации «сидячей» капли и приводят к формированию фаций (сухого остатка на подложке), привлекают внимание исследователей, как с медицинской, так и с технологической точек зрения.

В частности, актуальным является поиск качественных маркеров, по которым можно будет диагностировать определенные виды заболеваний, а также способов количественной обработки фаций, сформированных различными биологическими жидкостями методом клиновидной дегидратации после выпадения сухого остатка.

Одним из научных направлений в данной области является исследование процессов дегидратации различных белково-солевых растворов с целью анализа и понимания процессов, приводящих к структурному упорядочению сухого остатка на гладкой поверхности.

По данным литературы [1] данный метод является наиболее простым способом формирования упорядоченных структур из наночастиц. В частности, с помощью этого метода получают коллоидные кристаллы из оксидов и полимеров [1].

Одним из интенсивно разрабатываемых научных направлений в области формирования упорядоченных структур является исследование влияния различных внешних физических воздействий на особенности формирования фаций. Исследования проводятся как на модельных растворах, так и на биологических жидкостях (сыворотка крови, слюна, слеза, ликвор и др.) [2-7]. При этом изучают влияние следующих факторов: температуры подложки, контролируемый обдув капли, материала подложки (материалы с гидрофильными или гидрофобными свойствами) и др. В таких исследованиях используют два подхода к постановке эксперимента: *in vivo* и *in vitro*. В первом подходе (*in vivo*) оценку сформировавшейся фации проводят, когда физический фактор воздействует непосредственно на организм (человек или животное), после чего отбирают пробу биологической жидкости и дегидратируют её. Во втором (*in vitro*) оценивают в результате воздействия непосредственно на «сидячую» каплю.

Одним из недостаточно изученных вопросов в исследовании дегидратации биологических жидкостей является формирование структурных портретов фаций в вакууме. Следует отметить работу Л. В. Савиной [8], которая исследовала сыворотку крови в условиях низкого вакуума с целью определения маркеров заболеваний, и работу коллектива авторов [9], изучавших особенности формирования структур в условиях вакуума для использования результатов в технической отрасли.

В области изучения особенностей дегидратации биологических жидкостей имеются данные исследований по воздействию ультразвука на исходный солевой раствор альбумина, а также на щелочной раствор NaOH, с последующим изучением морфологической картины фаций [10]. В этой работе отмечается, что остаточный след микрокапли предварительно озвученного раствора заметно изменяется по сравнению со следом контрольного раствора. Авторами установлено, что после ультразвукового озвучивания, в котором воздействию подвергался белково-солевой раствор альбумина, после дегидратации формировались более яркие структурные картины, а также в центральной части фации формировалась четко выраженная дендритная структура. Также отмечается, что данный метод воздействия можно использовать не только для самосборки микро- и наночастиц, но и для разработки методов медицинской диагностики.

Цель нашей работы – исследовать формирование фаций сыворотки крови человека, образующихся после воздействия вакуумом и ультразвуком *in vitro*.

Материал и методы исследования

В качестве объекта исследования использовали сыворотку крови условно здоровых и больных панкреатитом мужчин одного возраста.

Для изучения структурообразования фаций в качестве материала подложки применяли покровные стекла с линейными размерами 21×31×0,45 мм. Фации сыворотки крови в вакууме получали с помощью вакуумного универсального поста ВУП-5М, а для формирования фаций под воздействием ультразвука использовали ультразвуковой диспергатор УЗДН-А. Структуру портретов фаций оценивали визуально с помощью оптического микроскопа МБС-10. Для регистрации изображения портретов использовали цифровой фотоаппарат Nikon.

При исследовании структурных портретов фаций сыворотки крови применяли феноменологическое описание морфологической картины. В настоящее время выделяют три зоны фации (центральную – солевую, переходную – в ней концентрируются белки, липиды и соли, а также зону краевого валика – белковую зону) на визуальное наличие которых проверялись фации, полученные в результате экспериментальных исследований. Известно, что в краевой зоне, которая представляет собой выпуклый белковый валик, расположенной на внешнем краю фации, в основном концентрируется белок. В переходной зоне уменьшается концентрация белка и соответственно увеличивается содержание соли. Центральная часть фации представляет собой скопление кристаллов соли. Считается, что кристаллы формируются над тонким слоем белка.

Определяли также наличие следующих видов трещин: глобальные – пересекающие всю поверхность сухого остатка, которые в свою очередь подразделяли на аркообразные, радиальные и поперечные; затем – дуговые, кольцевые, концентрические, штриховые, гребешковые, дендритные, жгутовые, многолучевые и псевдотрещины [11].

Исследование формирования фаций в вакууме проводили следующим образом. Каплю сыворотки крови объемом 10 мкл наносили на покровное стекло непосредственно в рабочем объеме вакуумного поста. Стекла располагали в одной половине чашки Петри, а другой половиной накрывали её. Затем проводили откачивание воздуха до высокого вакуума порядка 10^{-3} Па. Исследуемый материал выдерживался в условиях высокого вакуума в течение 30 минут. При исследовании формирования фаций под воздействием ультразвука исходную сыворотку крови переливали в пробирку, которую размещали в концентратор ультразвукового диспергатора (рис. 1).

Сыворотку крови подвергали ультразвуковому воздействию (22 кГц) в течение 1-й, 2-х и 3-х минут. После каждой дозы воздействия из пробирки микродозатором отбирали 30-40 мкл сыворотки для её раскапывания. Затем, на предварительно подготовленные покровные стекла с линейными размерами 21×31×0,45 мм, наносили 3-4 капли сыворотки крови, каждая объемом 10 мкл.



Рис. 1. Внешний вид ультразвукового диспергатора: 1 - концентратор

Указанная последовательность эксперимента соблюдалась при исследовании сыворотки крови здоровых и больных мужчин.

Результаты и обсуждение

Исследование сыворотки крови больных панкреатитом, подвергшейся воздействию вакуума, показало, что основные процессы дегидратации проходили в период получения предварительного вакуума. При этом, после того как в центральной части фации образовывался холмик, изначально прозрачный, через 60-80 секунд он становился матовым. Микроскопические исследования показали, что существуют явные визуальные различия в структуре полученных фаций сыворотки крови здоровых и больных панкреатитом мужчин.

Для всех исследованных сывороток крови здоровых и больных мужчин наблюдалось формирование в центральной части фации указанного бугорка. Полученные портреты фаций этой части экспериментальных исследований показаны на рис. 2.

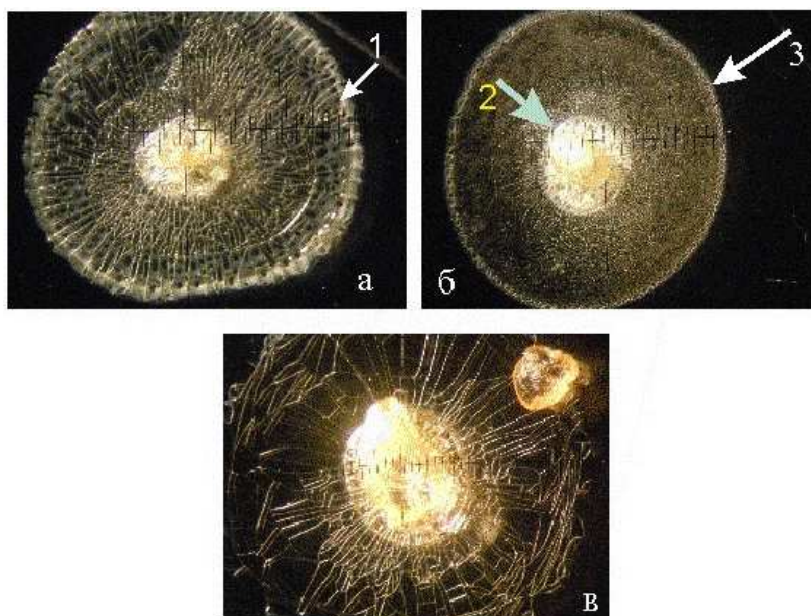


Рис. 2. Фации, сформированные сывороткой крови в вакууме: а – здоровых мужчин, б и в – больных. 1 – конкреция, 2 – бугорок, 3 – краевой валик. Ув.×16

В результате проведенных исследований установлено, что у фации сывороток крови условно здоровых и больных имеются явные визуальные отличия. В частности, у фаций здоровых мужчин наблюдается значительное количество конкреций как в зоне контактного валика, так и переходной зоне фации. В фациях больных панкреатитом формирование конкреций в зоне контактного валика и переходной зоны не наблюдалось. Кроме того, у фаций здоровых наблюдается радиальный характер трещин в области контактного валика, а у фаций больных можно наблюдать мелкую сеть радиальных и кольцевых трещин (см. рис. 2, б).

Процесс формирования фации, образованной сывороткой крови здорового человека, представлен на рис. 3.

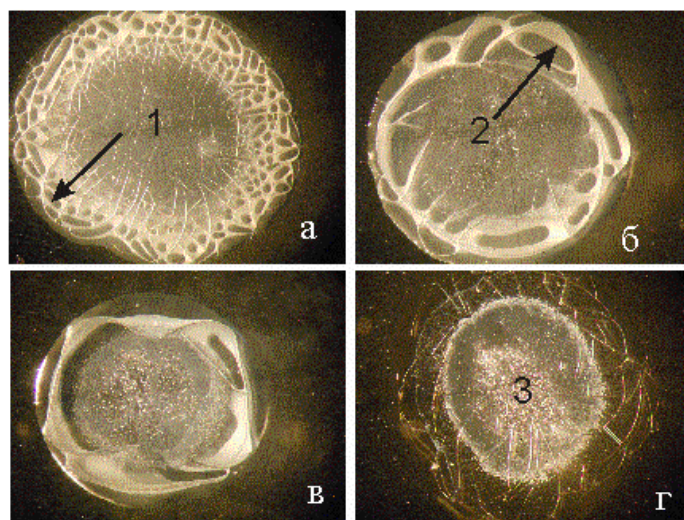


Рис. 1. Фации, образованные сывороткой крови здоровых мужчин:
 а – контрольный образец (без ультразвукового воздействия), б – 1 минута диспергации, в – 2 минуты диспергации, г – 3 минуты диспергации
 1, 2 – конкреции, 3 – солевая зона. Ув.×16

На рисунке видно, что у фаций контрольного образца образуется значительное количество конкреций в области между краевым валиком и центральной, солевой зоной (см. рис. 3, а). Воздействие ультразвуком на сыворотку крови приводит к практически полному исчезновению в поле зрения конкреций либо их сильному укрупнению (см. рис. 3, б, в). При более длительном воздействии ультразвуком наблюдается ярко выраженная солевая область в центральной зоне фации и практически прозрачная белковая область (см. рис. 3, г).

Результаты исследований воздействия ультразвуком на сыворотку крови больных панкреатитом представлены на рис. 4.

Как видно из рис. 4, структурный портрет фации контрольного образца сыворотки крови одного из больных панкреатитом заметно отличается от подобного у здоровых мужчин (см. рис. 3, а), в частности, наличием узкого кольца между переходной и солевой областями фации, а также формированием меньшего количества конкреций (темных пятен круглой формы) в переходной зоне (см. рис. 4, а). Наблюдаются отличия и у фаций, образованных после воздействия ультразвуком. Так, после одной минуты диспергации образовались три светлые кольцевые области (см. рис. 4, б), в которых, по всей видимости, сконцентрировалась солевая составляющая сыворотки крови. Конкреции наблюдаются только в зоне краевого валика (см. рис. 4, б, в). Характерной особенностью фаций сыворотки крови после более длительного воздействия ультразвуком является образование внутренней солевой области без образования конкреций в прозрачной белковой области (см. рис. 4, г).

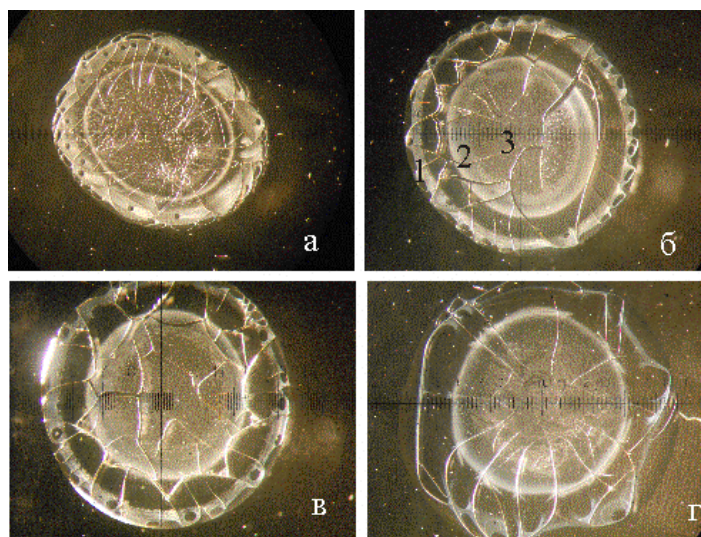


Рис. 2. Фазии, образованные сывороткой крови больного № 1:
а – контрольный образец, б – 1 минута диспергации, в – 2 минуты диспергации, г – 3 минуты диспергации
1, 2, 3 – кольцевые области. Ув.×16

Следует отметить, что и у других больных панкреатитом наблюдались подобные структурные портреты фазии сыворотки крови. В качестве примера на рис. 5 представлены портреты фазии, образованные сывороткой крови больного № 2.

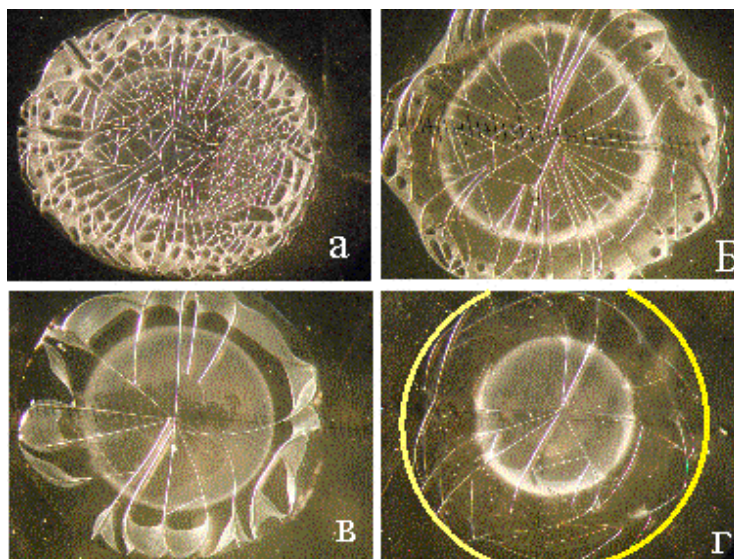


Рис. 3. Фазии, образованные сывороткой крови больного № 2:
а – контрольный образец, б – 1 минута диспергации, в – 2 минуты диспергации, г – 3 минуты диспергации
Дугами обозначена граница фазии. Ув.×16

Таким образом, воздействие ультразвуком на сыворотку крови здоровых и больных людей приводит к изменению структурного портрета фазии, особенно на формирование конкреций.

Выводы

Проведенные исследования по изучению влияния (*in vitro*) вакуума и ультразвука на сыворотку крови позволили установить особенности формирования морфологических портретов её фазии у здоровых и больных панкреатитом людей. Выявленные различия в структурных портретах фазии сыворотки крови здоровых и больных людей будут учтены при разработке диагностических критериев в дальнейших исследованиях.

Результаты исследований, полученные при дегидратации сыворотки крови в вакууме, могут найти применение для ускорения процесса получения фаций, а ультразвуковое воздействие может быть использовано для управления структурным портретом фаций.

Список литературы

1. Ролдугин В. И. Самоорганизация наночастиц на межфазных поверхностях / В. И. Ролдугин // Успехи химии. – 2004. – Т. 73, № 2. – С. 123-156.
2. Особенности морфологической картины сыворотки крови у больных пожилого возраста с острым инфарктом миокарда / [Шрамко О. Ю., Громов В. В., Гаврилов А. О. и др.] // Аспирантский вестник Поволжья. – 2010. – Вып. 3–4. – С. 240-242.
3. Максимов С. А. Метод определения показателей структур фаций сыворотки крови: обоснование использования в биомедицинских исследованиях / С. А. Максимов // Медицина в Кузбассе. – 2007. – Вып. 3. – С. 41-45.
4. Дементьев К. А. Способ оценки тяжести воспалительных заболеваний органов малого таза методом клиновидной дегидратации сыворотки крови / К. А. Дементьев, С. И. Кулинич // Сибирский медицинский журнал. – 2010. – Т. 97, № 6. – С. 81-84.
5. Инюткина Н. В. Морфология желчи при возрастных патофизиологических изменениях желчевыводящих путей : дис. ... канд. мед. наук / Н. В. Инюткина. – М., 2002. – 110 с.
6. Возможности применения метода кристаллографии слезы при патологии слезоотводящей системы / [Белоглазов В. Г., Атькова Е. Л., Федоров А. А. и др.] // Вестник офтальмологии. – 2003. – Т. 119, № 4. – С. 49-52.
7. Кристаллографический скрининг слезной жидкости при инволюционной центральной хориоретинальной дистрофии / [Рослякова А. Г., Тюльганова Е. Б., Кабанова И. П., Непомнящих О. А.] // Дальневосточный медицинский журнал. – 2004. – № 4. – С. 56-58.
8. Савина Л. В. Структурообразование сыворотки крови в условиях вакуума / Л. В. Савина // Клиническая лабораторная диагностика. – 1999. – № 11. – С. 48.
9. Mendez-Vilas A. Ultrasmall liquid droplets on solid surfaces : production, imaging and relevance for current wetting research / A. Mendez-Vilas, A. B. Jodar-Reyes, M. L. Gonzalez // Small. – 2009. – Vol. 5 (12). – P. 1366-1390. <http://dx.doi.org/10.1002/sml.200800819>
10. Камарена Ф. Влияние ультразвукового передозвучивания растворов на структурирование следа высохших микрокапель / Ф. Камарена, Ю. Н. Маков // Акустический журнал. – 2011. – Т. 57, № 5. – С. 607-612.
11. Краевой С. А. Диагностика по капле крови. Кристаллизация биожидкостей / В кн. : Кристаллизация сыворотки крови методом открытой капли (угловая дегидратация) / С. А. Краевой, Н. А. Колтовой. – М. – Смоленск, 2016. – 256 с.

Kapshukov R. A. Investigation of the formation of facies of human blood serum after exposure to vacuum and ultrasound. – The paper presents the results of studies on the formation of the facies of blood serum formed in a vacuum and after exposure to ultrasound. It is shown that the investigated physical effects can expand the possibilities of the wedge dehydration method for early diagnosis of certain types of diseases.

Key words: blood serum, dehydration, facies, vacuum, ultrasound.