

Оценка динамики метаболизма Са в организме пациентов с заболеваниями головного мозга методами лазерной атомно-эмиссионной спектроскопии образцов плазмы крови

Т. А. Прокопенко¹, Н. И. Нечипуренко¹, М. Н. Коваленко², И. Д. Пашковская¹,
М. П. Патапович², А. П. Зажогин²

¹Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии, Минск, Беларусь;

²Белорусский государственный университет, Минск; e-mail: zajogin_an@mail.ru

Изучена морфология образцов высохшей плазмы крови больных с дисциркуляторной энцефалопатией (ДЭ) головного мозга. Выявлены структурные особенности высохших капель плазмы крови пациентов с диагнозом ДЭ мозга различной степени до и после надвенно и внутривенно лазерного облучения крови. Показана возможность уточнения диагноза по отнесению опухоли к различным типам. Получены полуколичественные результаты пространственного распределения кальция по поверхности высохшей капли биологических жидкостей и в слоях с использованием метода лазерной атомно-эмиссионной спектроскопии. Показано, что метод лазерной атомно-эмиссионной спектроскопии дает возможность количественно оценить изменения в белковых центрах и является оперативным высокочувствительным инструментом в диагностике заболеваний. Полученные экспериментальные данные могут быть основой для дальнейшей разработки методологии ранней диагностики нарушения уровня функциональных резервов организма и выработки системы реабилитационных мероприятий.

Ключевые слова: атомно-эмиссионный спектральный анализ, плазма крови, биологическая жидкость, морфология капли, лазерная атомно-эмиссионная спектроскопия, пространственное распределение кальция, послойный анализ.

Введение

Ишемические повреждения головного мозга, главным образом, цереброваскулярная болезнь, расценивается в настоящее время как синдром острого и хронического повреждения мозга. Ввиду высокой распространённости ишемическая болезнь мозга представляет собой серьёзную медико-социально-экономическую проблему. Особенно актуальным является изучение возникновения артериальной аневризмы головного мозга, как основной причины развития геморрагического инсульта. Это обуславливает поиск патогенетически обоснованных методов лечения внутримозговых катастроф.

Возникновение дисциркуляторной энцефалопатии (ДЭ) всегда является результатом целого комплекса патофизиологических воздействий. Сюда относятся и нарушения функционально-морфологических свойств сосудов мозга, и дисрегуляция системной гемодинамики и гемостаза организма.

Одним из методов коррекции нарушений, возникающих при ишемии головного мозга может быть лазерная гемотерапия в сочетании с лекарственными средствами, в частности внутривенное лазерное облучение крови (ВЛОК) в красной области спектра или надвенное лазерное облучение крови (НЛОК) в инфракрасной спектральной области, обладающие антиоксидантными, иммуномодулирующими, противовоспалительными свойствами [1, 2]. Адаптогенное действие низкоинтенсивного лазерного излучения реализуется на клеточном, тканевом, системном уровнях [2]. Результатом действия лазерной гемотерапии, является ответ системы регулирования гомеостаза на развитие патологических процессов в отдельных органах и тканях, поэтому изучение действия различных длин волн низкоинтенсивного лазерного излучения при цереброваскулярных заболеваниях актуально.

В последнее время в медицинской диагностике становятся более актуальными методы исследования структур, образующихся при кристаллизации солей в биожидкостях. На практике для диагностики используется метод клиновидной дегидратации

биожидкостей, разработанный Шабалиным В.Н. и Шатохиной С.Н. [3]. Кристаллы солей выпадают в виде зерен, образуют дендриты, а биологическая компонента жидкости создает сложную лепестковую структуру. Этот метод обладает неоспоримыми достоинствами для диагностики различных заболеваний человека на доклинической стадии.

При различных вариантах нарушения мозгового кровообращения, в частности ДЭ, высохшая капля биологической жидкости имеет отличную от здорового человека структуру [4].

Поскольку при патологических процессах происходит изменение фазового состояния белка, выявлены достаточно четкие зависимости типа «вид наблюдаемых структур - патологический процесс». И хотя в последнее время появилось множество работ, показывающих, что развитие самых разнообразных патологических процессов в организме сопровождается изменением распределения коллоидных частиц и солей БЖ, что сказывается на изменении морфоструктур высохших капель, до сих пор практически отсутствуют количественные оценки образующихся структур. На сегодняшний день нет модели, которая бы одновременно учитывала оба фактора.

Основная часть

В настоящей работе для оценки процессов связывающей способности альбумина изучено пространственное распределение кальция в высохших каплях плазмы крови пациентов с ДЭ.

Для изучения морфологии и пространственного распределения кальция в высохшей капле плазму крови (10 мкл) наносили на обезжиренную пластинку из оргстекла, высушивали при комнатной температуре в открытой системе в течение 90 - 100 минут. Диаметр высохшей капли равен примерно 6 мм.

Снимки высохших капель плазмы крови регистрировали, используя микроскоп Биолам со светодиодной подсветкой (на пропускание) и веб-камерой.

Изучена морфология высохших капель плазмы крови более 30 пациентов с ДЭ головного мозга различной степени и характером патологии. В качестве примера на рис. 1 приведена морфология центральной части высохшей через 90 минут капли плазмы крови некоторых пациентов с ДЭ ГМ (увеличение 120 раз).

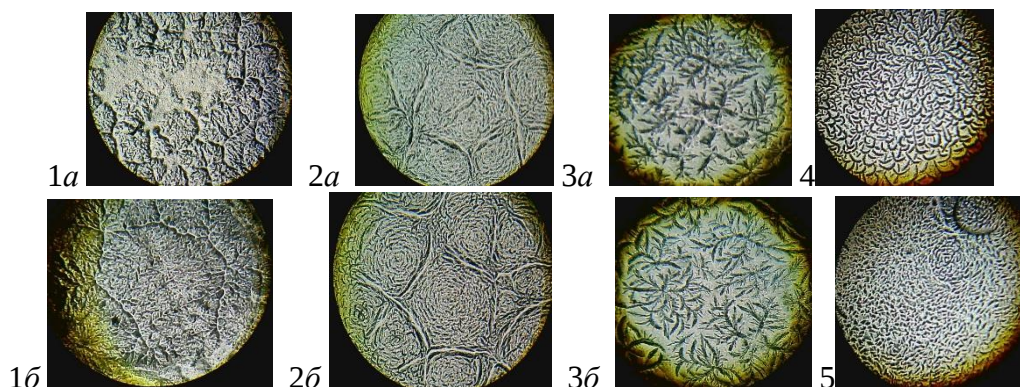


Рис. 1. – Снимки центральной части высохших капель плазмы крови пациентов: *а* – до лечения; *б*- после 8-10 сеансов ВЛОК (1, 3) и НЛОК (2).

Видно, что при патологических состояниях организма характерны существенные изменения морфологической структуры фации. Проявляются нарушения в виде потери симметрии расположения основных элементов фации (конкреций, отдельностей, морщин, трещин и т. д.). Идентифицируются различные типы фаций, кроме радиального нормотипа.

Структура фаций плазмы крови для всех изученных пациентов во многом схожа. Исключительно у больных с глубокой патологией (пациент 3) обильно

присутствуют в фации морщины (складчатость), хаотично разбросанные широкие жгутовые трещины, множество блестяшек.

Наличие альбумина в крови в пределах физиологической нормы (45–55 % от общего белка) далеко не всегда отражает полноценность его транспортной функции. Его связывающие центры могут быть блокированы токсичными лигандами (при эндотоксемиях и печеночной недостаточности), в связи с чем, ее транспортная емкость резко снижается. В связи с этим для клиницистов весьма важное значение имеет методика определения степени заблокированности центров связывания альбумина, его резервной связывающей способности и в соответствии с этим оценки транспортной функции.

Для конкретизации патологии обследованных больных дополнительная информация получена при определении кальция с использованием метода лазерной атомно-эмиссионной спектроскопии (ЛАЭМС). Количественную оценку локального пространственного распределения кальция по поверхности и объему всей высохшей капли проводили с помощью лазерного многоканального атомно-эмиссионного спектрометра LSS-1. Лазерное излучение фокусируется на образец с помощью ахроматического конденсора с фокусным расстоянием 104 мм. Размер пятна фокусировки примерно 50 мкм. Все эксперименты проводили в атмосфере воздуха при нормальном атмосферном давлении. Анализировали результаты действия каждого из 5 последовательных сдвоенных лазерных импульсов (СЛИ) на точку. Энергия лазерного излучения составляла 34 мДж (первый и второй импульсы, соответственно), временной интервал между сдвоенными импульсами – 8 мкс. Абляция осуществлялась через 0,6 мм. Размер точки повреждения 0,10–0,15 мм. По диаметру пробы анализ проводили в 12 точках поверхности.

Результаты полуколичественного определения пространственного распределения кальция в высохших каплях плазмы крови пациентов до (1а, 2а и 3а) и после (1б, 2б, 3б) облучения крови методами НЛОК (2) и ВЛОК (1 и 3) приведены на рисунке 2. Приведены интенсивности линии кальция Са II (393,366 нм) измененные по диаметру на поверхности высохшей капли, а также при послойном определении (5 слоев) в каждой анализируемой точке.

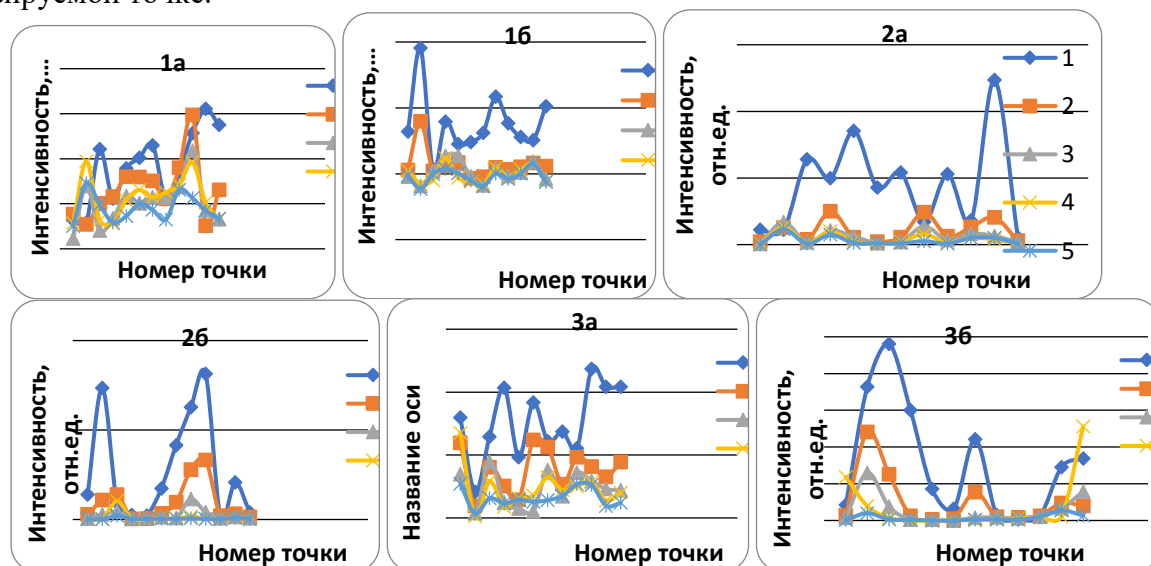


Рис. 2. – Интенсивность линии Са II (393,239 нм) в атомно-эмиссионных спектрах фаций плазмы крови пациентов. В столбце справа – номер слоя.

Для здорового человека характерно уже хорошо изученное равномерное распределение кальция по поверхности высохшей капли с максимальной концентрацией в краевом белковом валике благодаря равномерной диффузии раствора к краям в процессе испарения. При патологии изменение связывающей способности альбумина приводит к

аномальной коагуляции белка и увеличению концентрации кальция по центру фации в более глубоких слоях.

Заключение

Полученные данные показывают, что у больных с ДЭ в процессе высыхания капля плазмы происходит хаотичное образование центров коагуляции, наблюдается разброс концентрации кальция как по поверхности, так и слоям. Налицо - изменение связывающей способности альбумина при патологии. Это приводит к аномальной коагуляции белка и увеличению концентрации кальция по центру фации и в более глубоких слоях, что не характерно для здорового человека. После проведения 8-10 сеансов облучения крови НЛОК (2) и ВЛОК (1 и 3) пациентов наблюдаются определенные улучшения свойств белков плазмы крови – максимальное распределение кальция передвигается на периферию капли, что ближе к качеству белков здорового человека.

При сравнении графиков на рис. 2 для больного 2 наблюдается значительно большая общая концентрация кальция, чем для пациентов 1 и 3. Следует подчеркнуть, что у него морфология фации плазмы крови ближе к морфологии здоровых людей.

Литература

1. Лазерная гемотерапия при ишемических цереброваскулярных заболеваниях (экспериментальные и клинические аспекты) / Н.И. Нечипуренко [и др.]; под ред. Н.И. Нечипуренко. Минск: Бизнесофсет. 2010. 192 с.
2. Пашковская И.Д., Нечипуренко Н.И., Василевская Л.А. Эффекты инфракрасного лазерного излучения при экспериментальной церебральной ишемии. *Здравоохранение*. 2010. № 2. С.74-78.
3. Шабалин В.Н., Шатохина С.Н. Морфология биологических жидкостей человека. М.: Хризостом, 2001. 302 с.
4. Булойчик Ж.И., Веремчук А.Н., Русско Т.А., Маслова Г.Т., Мавричев А.С. Морфологическое и спектрометрическое изучение образцов высохших капель крови онкологических больных. *Вестник БГУ. Серия 1*. 2015, № 2, С. 24-30.

Assessment of the dynamics of VNE metabolism in patients with brain diseases using atomic emission spectrometry of blood plasma samples

T.A. Prokopenko¹, N.I. Nechipurenko¹, M.N. Kovalenko², I.D. Pashkovskaya¹,
M.P. Patapovich², A.P. Zajogin²

¹*Republican Research-Practical Center of Neurology and Neurosurgery, Minsk, Belarus;*

²*Belarusian State University, Minsk; e-mail: zajogin_an@mail.ru*

The morphology of dried blood plasma samples from patients with dyscirculatory encephalopathy (DE) of the brain was studied. The structural features of dried blood plasma drops of patients diagnosed with various degrees of brain DE were revealed before and after intravenous and intravenous laser irradiation of blood. It is shown that it is possible to clarify the diagnosis by assigning the tumor to different types. Semi-quantitative results of spatial distribution of calcium on the surface of a dried drop of biological liquids and in layers using the method of laser atomic emission spectrometry were obtained. It is shown that the method of laser atomic emission spectrometry makes it possible to quantify changes in protein centers and is an operational highly sensitive tool in the diagnosis of diseases. The obtained experimental data can be the basis for further development of the methodology for early diagnosis of violations of the level of functional reserves of the body and the development of a system of rehabilitation measures.

Keywords: atomic-emission spectral analysis, blood plasma, biological fluids, drop morphology, laser atomic-emission spectrometry, spatial distribution of calcium, layer-by-layer analysis.