

УДК 577.471:612.1

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КРИСТАЛЛОГЕННЫХ СВОЙСТВ ПЛАЗМЫ И СЫВОРОТКИ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

¹Костяев А.А., ²Мартусевич А.К., ¹Андреев А.А., ³Ковалева Л.К., ³Лучникова Е.В.

¹ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови ФМБА России», Киров, e-mail: kirov_ak@mail.ru;

²ФГБУ «Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр» Минздрава России, Нижний Новгород, e-mail: cryst-mart@yandex.ru;

³ГБОУ ВПО «Кировская ГМА» Минздрава России, Киров, e-mail: us@kirovgma.ru

Целью данного исследования служило выявление кристаллоскопических особенностей плазмы и сыворотки крови здоровых людей. Нами получены образцы крови от 26 субъектов (мужчин в возрасте 21-45 лет), являющихся донорами компонентов крови. Предварительное обследование всех включенных в данную группу лиц подтвердило отсутствие у них хронических и острых заболеваний на момент проведения исследования. Из каждого образца полученной донорской крови приготавливали плазму и сыворотку по стандартной методике. Затем капли объемом 4 мкл каждой биосреды наносили на чистое, обезжиренное предметное стекло в горизонтальном положении, высушивали в электрическом термостате при 37°C и влажности 30%. Для каждого образца крови выполняли 5 повторностей эксперимента. Полученные фации плазмы и сыворотки крови оценивали морфологически, а также с применением полуколичественных параметров с использованием ранее разработанного нами алгоритма. Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы Statistica 6.0. Проведенные исследования позволяют заключить, что кристаллогенные свойства плазмы и сыворотки крови существенно различаются, что непосредственно обусловлено неодинаковостью их компонентного состава. «Обеднение» сыворотки крови по сравнению с плазмой приводит к снижению кристаллогенной активности первой (реализуется в форме уменьшения уровня кристаллиземости и индекса структурности) и изменению морфологии краевой зоны фации (модификация структуры «разломов», дифференциация зоны от центра капли и др.). Эти особенности определяют необходимость выбора биообъекта для кристаллоскопического исследования с учетом задач предполагаемого исследования.

Ключевые слова: плазма крови, сыворотка крови, кристаллизация, биокристалломик

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF CRYSTALLOGENIC PROPERTIES OF THE HUMAN BLOOD PLASMA AND SERUM

¹Kostyaev A.A., ²Martusevich A.K., ¹Andreev A.A., ³Kovaleva L.K., ³Luchnikova E.V.

¹Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion, Kirov, e-mail: kirov_ak@mail.ru;

²Privolzhskii Federal Medical Research Center, Nizhny Novgorod, e-mail: cryst-mart@yandex.ru;

³Kirov State Medical Academy, Kirov, e-mail: us@kirovgma.ru

The aim of this paper is study of crystalloscopic specialties of blood plasma and serum from healthy people. We tested the specimens from 26 healthy men (21-45 years old), which are the donors of blood components. We have got a plasma and serum from each blood specimen. After that 4 mcl of blood plasma and serum was placed on clear preparation glass and was dehydrated in an electric oven at 37°C at humidity of 30%. Each experiment was repeated in 5 times. All facias of blood serum and plasma were estimated morphologically and morphometrically with the use of number of semiquantitative criteria. Statistical data processing was executed with Statistica 6.0 program. We concluded that crystallogenic properties of the blood serum and plasma are differing clearly, which is associated with variability of its composition. This fact led to reduction of crystallogenic activity of blood serum as compared with plasma, which realizing in decreasing of crystallizability and structure index and transformation of facia marginal zone (modification of the «breaks», differenciation of this zone from others etc.). These specialties determine the selection of the substrate for crystalloscopic study, based on the aim of the planned investigation.

Keywords: blood plasma, blood serum, crystallization, biocrystalloitics

В настоящее время изучение характера дегидратационной структуризации жидкой части крови при различных функциональных и патологических состояниях служит как предметом самостоятельных исследований [1, 3, 8-10], так и успешно дополняет экспериментальные и клинические работы иной направленности [2, 4, 5, 9]. С этой целью достаточно подробно рассмотрены особенности кристаллизации сыворотки крови человека [1, 3, 7, 9, 10] и наиболее часто используемых в экспериментальных иссле-

дованиях лабораторных животных – крыс разных линий [2, 7]. Значительно хуже изучены кристаллогенные свойства сыворотки крови животных иных видов (лягушек, собак, кошек и др.), сведения о которых имеются лишь в единичных публикациях [7].

В то же время выбор оптимального био-субстрата для кристаллоскопического исследования (плазмы или сыворотки крови) остается предметом дискуссий. Для диагностических целей различными авторами применяются оба биологических объекта [3-5,

9, 10], однако различие их состава должно предопределять и неодинаковость их структуризации. С другой стороны, однозначной сравнительной характеристики кристаллогенных свойств плазмы и сыворотки крови не представлено как в отечественной, так и в зарубежной литературе. Поэтому целью данного исследования служило выявление кристаллоскопических особенностей плазмы и сыворотки крови здоровых людей.

Материалы и методы исследования

Нами получены образцы крови от 26 здоровых людей (мужчин в возрасте 21-45 лет), являющихся донорами компонентов крови. Предварительное обследование всех включенных в данную группу лиц подтвердило отсутствие у них хронических и острых заболеваний на момент проведения исследования.

Из каждого образца крови приготавливали плазму и сыворотку по стандартной методике. Затем 4 мкл каждой биосреды наносили на чистое, обезжиренное предметное стекло в горизонтальном положении и производили высушивание микропрепаратов в электрическом термостате (температура 37°C, влажность 30%) [6-8]. Для каждого образца крови выполняли 5 повторностей эксперимента.

Полученные фации плазмы и сыворотки крови оценивали морфологически, а также с применением полуколичественных параметров с использованием ранее разработанного нами алгоритма [6-8]. В качестве основных оценочных показателей выделены:

- кристаллизруемость (Кр), характеризующая плотность распределения элементов в фации;
- индекс структурности (ИС), описывающий сложность структуропостроения кристаллов;
- степень деструкции фации (СДФ) – выраженность процессов разрушения кристаллических фигур в микропрепарате;
- выраженность краевой зоны (Кз).

Все указанные параметры градировались по четырехбалльной шкале (от 0 до 3 баллов).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы Statistica 6.0.

Результаты исследования и их обсуждение

Проведенный сравнительный анализ характера кристаллизации плазмы и сыворотки крови доноров позволил выявить их дифференциацию уже на морфологическом уровне (рис. 1).

Согласно полученным результатам, особенностью кристаллоскопических фаций плазмы крови является существенно более широкая краевая зона микропрепарата по сравнению с дегидратированными образцами сыворотки крови. При этом, кроме относительного размера, в ней присутствуют несколько дополнительных отличительных черт. В частности, для фаций плазмы крови свойственно относительно слабое разграничение зон микропрепарата с практически полным исчезновением промежуточной его зоны. Напротив, в высушенных образцах сыворотки крови все зоны выделяются отчетливо, а промежуточная зона присутствует и однозначно определяется в большинстве случаев.

Кроме того, обращает на себя внимание структура «разломов» краевой зоны. Установлено, что в образцах плазмы крови «разломы» единичны, имеют дугообразную форму, причем в большинстве фаций они расположены иррегулярно. В свою очередь, в микропрепаратах сыворотки крови данных доноров обнаруживали регулярные, центростремительные «разломы», разделяющие краевую зону на практически равные отделы.

а



б

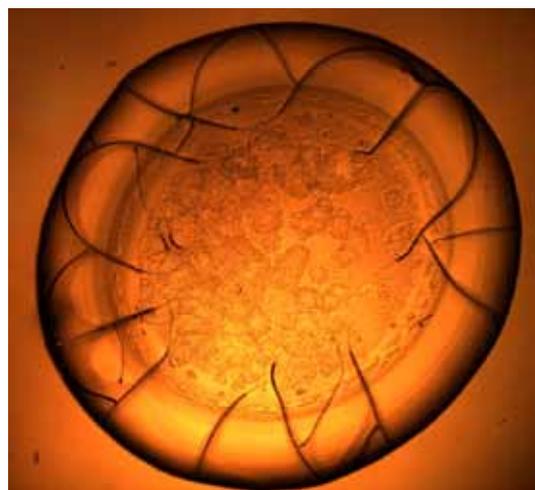


Рис. 1. Пример кристаллоскопической картины плазмы и сыворотки крови одного донора: а – образец плазмы крови; б – образец сыворотки крови

Подобные особенности, очевидно, связаны с различиями компонентного состава плазмы и сыворотки крови. С учетом того обстоятельства, что краевая зона формируется преимущественно белковыми макромолекулами, эти вариации могут быть ассоциированы с удалением из биологической жидкости фибриногена и других белков свертывающей системы.

Существенные морфологические особенности выявлены нами и в строении центральной зоны (рис. 1). Установлено, что для дегидратированных образцов плазмы крови характерно образование преимущественно разветвленных дендритных структур с умеренной степенью деструкции. Следует отметить, что последние четко отграничены друг от друга.

Напротив, в кристаллоскопических фациях сыворотки крови регистрировали превалирование одиночных кристаллов, в большинстве случаев имеющих выраженную деструкцию, вплоть до тотальной. В отдельных микропрепаратах отмечали значительное количество аморфных элементов. Превалирующий тип взаимодействия кристаллов с последними – налипание на них.

Представленные выше результаты сравнительной морфологической оценки фаций плазмы и сыворотки крови были полностью подтверждены данными критериального описания высушенных образцов (рис. 2).

Установлено, что по основному количественному критерию – кристаллизуетости – наблюдаются значимые вариации: в фациях плазмы крови она составляет $2,0 \pm 0,1$ балл, тогда как в образцах СК – $1,5 \pm 0,2$ балла ($p < 0,05$). Это указывает на большую плотность структурных элементов в микропрепаратах, полученных из плазмы крови по сравнению с сывороткой крови. Аналогичная тенденция зафиксирована и в отношении индекса структурности, характеризующего сложность формируемых кристаллических фигур ($1,7 \pm 0,1$ и $1,1 \pm 0,1$ балла соответственно; $p < 0,05$). Таким образом, плазма крови демонстрирует более выраженные кристаллогенные свойства по сравнению с сывороткой.

Существенные вариации отмечены и в степени выраженности деструктивных изменений в кристаллических элементах (рис. 3). Обнаружено, что степень деструкции фации значимо выше в кристаллограммах сыворотки крови, чем в плазме крови ($2,1 \pm 0,2$ и $1,6 \pm 0,1$ соответственно; $p < 0,05$). Это указывает на более высокую кристаллогенную стабильность плазмы крови, которая может обеспечиваться за счет большей полноценности ее компонентного состава по сравнению с сывороткой крови. Кроме того, эти данные подтверждают результаты морфологического анализа образцов.

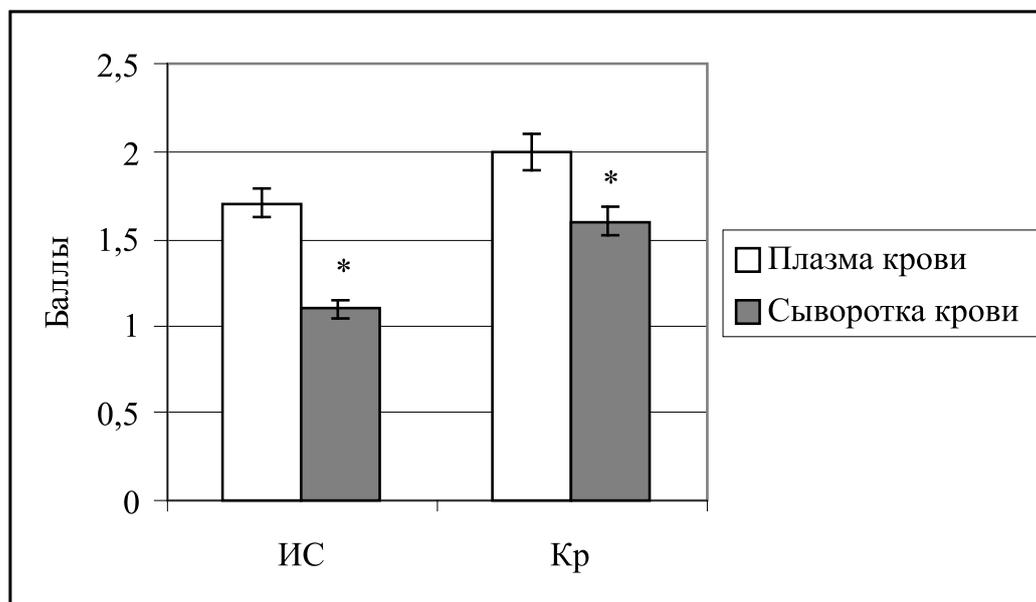


Рис. 2. Уровень индекса структурности (ИС) и кристаллизуетости (Кр) в кристаллограммах плазмы и сыворотки крови доноров («*» – статистическая значимость различий между плазмой и сывороткой крови $p < 0,05$)

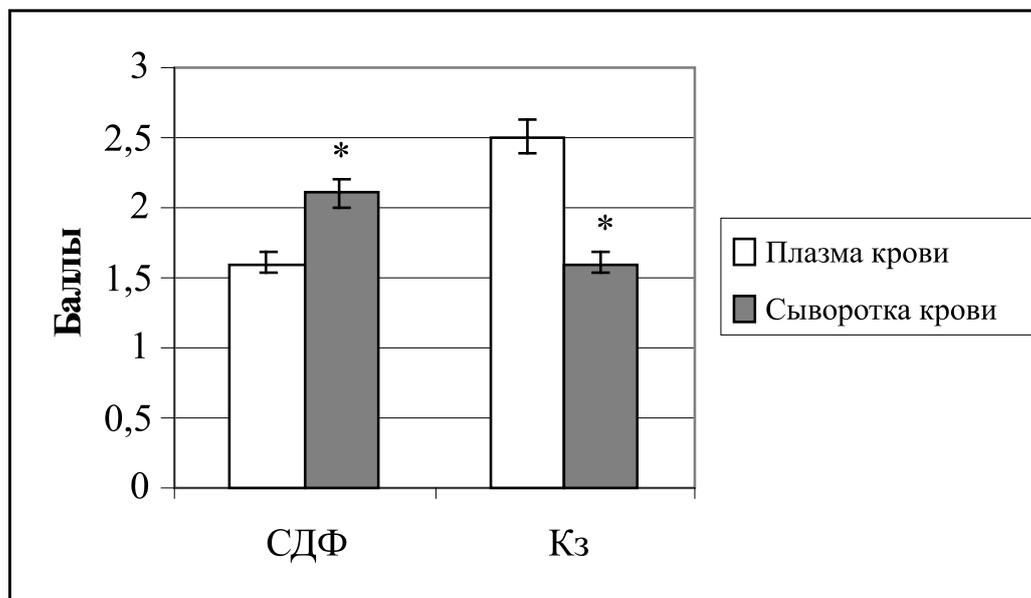


Рис. 3. Степень деструкции фации (СДФ) и выраженность краевой зоны (Кз) в кристаллограммах плазмы и сыворотки крови доноров («*» – статистическая значимость различий между плазмой и сывороткой крови $p < 0,05$)

Наконец, преобразования белкового профиля биосреды, в частности, связанные с удалением фибриногена и некоторых иных протеинов, приводят к сдвигам выраженности краевой зоны микропрепаратов (Кз; рис. 3). Так, в фациях плазмы крови Кз составляла $2,5 \pm 0,2$ балла, а в высушенных образцах СК – лишь $1,6 \pm 0,1$ балла ($p < 0,05$). Это дополняет сведения о вариабельности кристаллогенной активности плазмы и сыворотки крови.

Заключение

Проведенные исследования позволяют заключить, что кристаллогенные свойства плазмы и сыворотки крови существенно различаются, что непосредственно обусловлено неодинаковостью их компонентного состава. Известное «обеднение» сыворотки крови по сравнению с плазмой крови приводит к относительному снижению кристаллогенной активности первой (это реализуется в форме уменьшения уровня кристаллизруемости и индекса структурности) и изменению морфологии краевой зоны фации (модификация структуры «разломов», дифференциация зоны от центра капли и др.). Приведенные особенности предопределяют необходимость выбора объекта для кристаллоскопического исследования с учетом задач предполагаемого исследования.

Список литературы

1. Бузовера М.Э. с соавт. Морфометрический анализ фаций сыворотки крови // Клиническая лабораторная диагностика. – 2003. – №9. – С. 22-23.
2. Громова И.П. Кристаллоскопический способ изучения сыворотки крови в токсиколого-гигиеническом эксперименте методом «открытая капля» // Гигиена и санитария. – 2005. – №2. – С. 66-69.
3. Кидалов В.Н., Хадарцев А.А., Якушина Г.Н. Тезисографические исследования крови и их практические возможности // Вестник новых медицинских технологий. – 2004. – Т. 11, №1-2. – С. 23-25.
4. Кокуева О. В., Савина Л. В., Ли А. М. Кристаллоскопическое исследование сыворотки крови в диагностике хронического панкреатита в сочетании с заболеваниями желчевыводящих путей // Клиническая медицина. – 2000. – №4. – С. 32-34.
5. Малинова Л.И., Сергеева Ю.В., Симоненко Г.В. с соавт. Дегидратационная самоорганизация плазмы крови больных ишемической болезнью сердца // Клиническая лабораторная диагностика. – 2007. – №10. – С. 14-16.
6. Мартусевич А.К., Камакин Н.Ф. Унифицированный алгоритм исследования свободного и иницированного кристаллогенеза биологических жидкостей // Клиническая лабораторная диагностика. – 2007. – №6. – С. 21-24.
7. Мартусевич А.К. Биокристалломик в молекулярной медицине СПб.: Издательство СПбГМУ – Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2011. – 112 с.
8. Мартусевич А.К., Ковалева Л.К. Особенности дегидратационной структуризации сыворотки крови человека при некоторых физиологических состояниях // Врач-аспирант. – 2013. – №6. – С. 104-109.
9. Савина Л.В., Клименко Е.Ф., Яковенко М.С. с соавт. Метаболические структуры сыворотки крови – маркеры острого панкреатита // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2006. – №3. – С. 62-67.
10. Шабалин В.Н., Шатохина С.Н. Морфология биологических жидкостей человека. М.: Хризопраз, 2001. – 304 с.