

ЛАЗЕРНАЯ АТОМНО-ЭМИССИОННАЯ СПЕКТРОМЕТРИЯ ЛОКАЛЬНОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ КАЛЬЦИЯ В ОБРАЗЦАХ ЛИКВОРА ПАЦИЕНТОВ С ДИАГНОЗОМ МЕНИНГИОМА, ВЫСОХШИХ НА ГЛАДКОЙ ПОВЕРХНОСТИ

*Чинь Н.Х., И.Д. Пашковская, М.Н. Трущенко, Ж.И. Булойчик,
Н.И. Нечипуренко, А.П. Зажогин*

*Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь
E-mail: zajogin_an@mail.ru*

Abstract. The problems associated with the development of the methods offering quantitative estimates of the local spatial distribution of vitally important elements in the dried liquor drops with the use of multichannel local atomic-emission spectrometry are considered. The results of these estimates may form the basis for diagnosis of different diseases.

В последние годы анализ биологических объектов стал одной из основных областей применения инструментальных, в том числе и спектральных методов анализа. Такие исследования актуальны при диагностике врожденных патологий, экологически обусловленных заболеваний, профессиональных заболеваний, связанных со спецификой промышленного производства, и др.

Относительно недавно в медицинской диагностике нашел применение метод клиновидной дегидратации [1-3]. Метод позволяет на основании визуального анализа структур, образовавшихся при высыхании капли БЖ, выявлять различные заболевания человека на доклинической стадии. Исследования ведутся по качественным особенностям на феноменологическом уровне. Хотя проблема и требует более глубокого изучения, выявленные эмпирические закономерности активно используются в медицинской практике.

Тем не менее, как отмечается в работе [3], остается ряд проблем в практическом применении морфологии твердой фазы БЖ. В первую очередь это касается перевода данных методов из теоретических в практическую деятельность медицины. За исключением отдельных запатентованных способов диагностики заболеваний по особенностям структуризации БЖ большая часть исследований находится на стадии феноменологического описания вследствие трудности количественного анализа получаемых паттернов, что, в свою очередь, затрудняет применение статистических методов анализа. Высокая степень субъективизма в оценке результатов также не способствует решению данной проблемы. Весомым минусом методов является недостаточная обоснованность механизмов дегидратационной самоорганизации БЖ. Ведь в данном случае особо ценным является не феноменологическое описание типа «вид патологии – наблюдаемые структуры», а анализ обменных процессов, обуславливающих особенности механизмов формирования структуры твердой фазы БЖ.

Механизмы переноса коллоидных частиц в высыхающих каплях в настоящее время достаточно хорошо изучены как теоретически, так и экспериментально. Однако влияние диффузии на перемещение внутри капли молекул малого размера (соли) изучено еще недостаточно. В настоящей работе анализируется пространственное распределение (по диаметру капли) кальция при высыхании образцов ликвора человека на гладкой поверхности.

Образцы готовили по следующей методике. Каплю ликвора (спинномозговой жидкости) наносили на поверхность тщательно промытой подложки из ПММА с помощью микропипетки. Объем капли составлял 10 мкл. Процесс сушки проходил при температуре 20-25 °С и относительной влажности воздуха 60-65 % в течение примерно 20-24 часов. Диаметр высохших капель на поверхности подложки из ПММА равен примерно 5-6 мм. Средняя толщина высохшей капли примерно 0,03 мм. Использование

предметного стекла в лазерном атомно-эмиссионном методе исключается из-за наличия в самом стекле большинства исследуемых элементов.

Снимки высохших капель ликвора пациентов А и Б с диагнозом менингиома приведены на рисунке 1. Для получения снимков использовался микроскоп Биолам со светодиодной подсветкой (на пропускание) и веб-камерой.

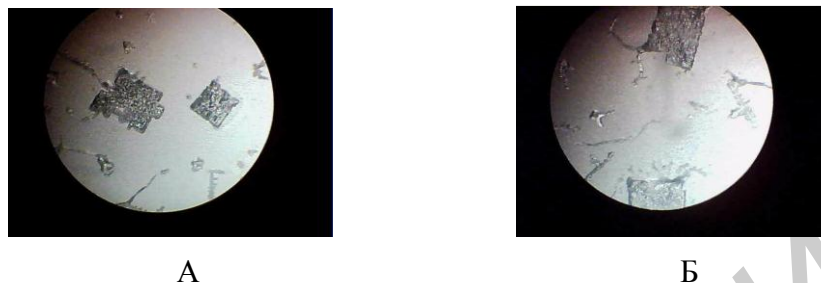


Рисунок 1 - Снимки высохших капель ликвора пациентов с диагнозом менингиома

Суть метода диагностики на основе дегидратации капли крови и плазмы (БЖ) состоит в том, что в норме они имеют однородную структуру, и при дегидратации возникают регулярные и однородные структуры (радиальное растрескивание). При малейшем нарушении структуры белков начинаются процессы агрегации молекул белков, которые существенным образом изменяют вид структур, возникают аномальные и нерегулярные структуры. Основным физическим механизмом, отвечающим за формирование структур в капле, является уменьшение объема БЖ при гелеобразовании (высыхании). При уменьшении объема в геле возникают напряжения, которые вызывают различного вида растрескивания и разрывов в структуре геля. А эти процессы уже проявляются на макроуровне. Таким образом, микро нарушения белков на молекулярном уровне вызывают нарушение структур на макроуровне. Если в норме всего 2% белков имеют нарушения в структуре (третичной или четвертичной), то при патологии до 50% белков имеют нарушения в структуре [1-3]. Здесь следует отметить, что капля ликвора практически не растрескивается. Это может быть обусловлено тем фактом, что по сравнению с кровью (плазмой крови) ликвор содержит альбумина, основного белка БЖ, в несколько десятков раз меньше.

Для оценки локального пространственного распределения макро- и микроэлементов в каплях экспериментально с помощью лазерной многоканальной спектрометрии исследованы образцы высушенных капель крови и плазмы крови. Для проведения исследований использовался лазерный многоканальный атомно-эмиссионный спектрометр LSS-1. Лазерное излучение фокусируется на образец с помощью ахроматического конденсора с фокусным расстоянием 100 мм. Размер пятна фокусировки примерно 50 мкм. Все эксперименты проводились в атмосфере воздуха при нормальном атмосферном давлении. На рис. 2 представлена зависимость интенсивности линий кальция в спектрах высушенных капель образцов ликвора пациентов А и Б с диагнозом менингиома.

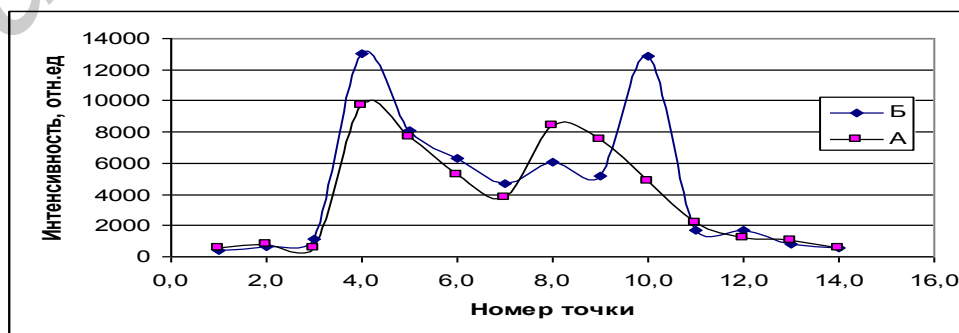


Рисунок 2 – Интенсивность линии Ca II (393,239 нм) в атомно-эмиссионных спектрах ликвора

Наблюдается определенная закономерность между интенсивностью линий кальция и положением точки. Кальций в основном распределен по краям. При сравнении кривых распределения кальция в образцах обращает на себя возрастание концентрации его в точке 10 в образце Б, в то время как для образца А максимум сдвинут к точке 8. Таким образом, прослеживаются определенные закономерности в изменении распределения кальция по поверхности капли у различных больных.

Для более детального анализа распределения кальция по объему капли проведены исследования послойной интенсивности линии кальция. Результаты приведены на рис. 3.

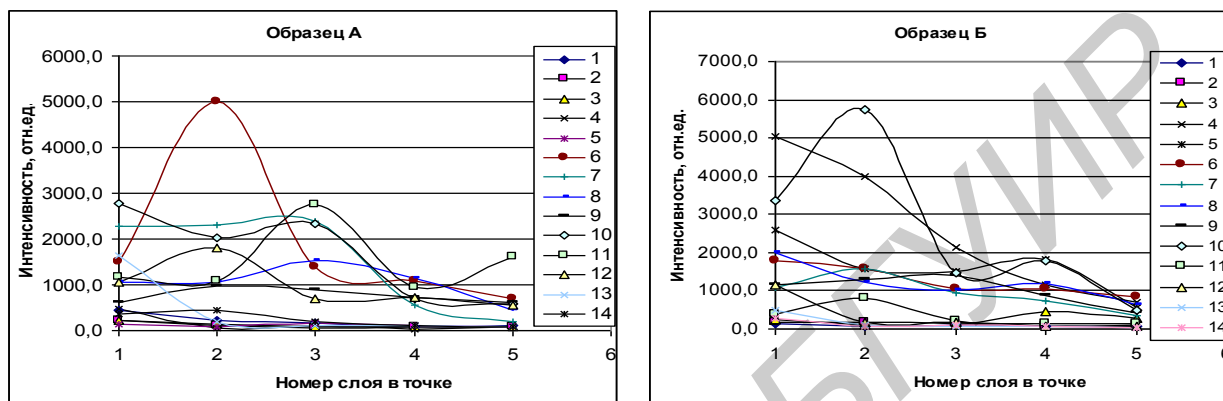


Рисунок 3 – Послойная интенсивность линии Ca II (393,239 нм) в атомно-эмиссионных спектрах ликвора пациентов А и Б.

Следует отметить, что распределение кальция и дефекты на поверхности образцов (см. рис. 1) неплохо коррелируют между собой.

Настоящее исследование с использованием метода ЛАЭМС показало, что возбуждение сдвоенными лазерными импульсами анализируемой поверхности высохшей капли ликвора на гладкой поверхности является перспективным направлением для полуколичественной оценки распределения эссенциальных элементов по диаметру и толщине капли и может быть со временем использовано для поиска маркеров заболеваний.

Результаты таких оценок могли бы служить основой при проведении диагностических исследований, поскольку на начальных стадиях развития болезни общее содержание макроэлементов в БЖ пациентов, как правило, лежит в пределах нормы.

Литература

1. **Шабалин В.Н.**, Шатохина С.Н. Морфология биологических жидкостей человека // М.: Хризостом, 2001. 300 с.
2. **Краевой С. А.**, Колтовой Н. А. Диагностика по капле крови. Кристаллизация биожидкостей // Книга 1. Метод открытой капли (угловая дегидратация) – Москва, 2013 С. 47-49.
3. **Максимов, С.А.** Морфология твердой фазы биологических жидкостей как метод диагностики в медицине / С.А. Максимов // Бюллетень сибирской медицины. – 2007. – № 4. – С. 80–85.