

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОРФОСТРУКТУРНОГО АНАЛИЗА И ЛОКАЛЬНОГО ПРОСТРАНСТВЕННОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ БИОЭЛЕМЕНТОВ В ВЫСЫХАЮЩЕЙ КАПЛЕ КРОВИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ РАКА ЖЕЛУДКА

*Г.Т. Маслова, А.Н.Веремчук, Т.А. Русско, А.С. Мавричев,
Ж.И. Булойчик, А.П. Зажогин*

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

Abstract. This work presents the development of the methods intended for quantitative estimation of the local spatial distribution of vitally important elements in dried drops of human blood with the use of multichannel local atomic-emission spectrometry. The results of these estimates may form the basis for diagnostication of different diseases.

Относительно недавно в медицинской диагностике нашел применение метод клиновидной дегидратации [1, 2]. Метод позволяет на основании визуального анализа структур, образовавшихся при высыхании капли биологической жидкости (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.

В настоящей работе анализируется морфология высохших капель крови в процессе их высыхания на твердой поверхности и пространственное распределение ионов кальция по диаметру высохшей капли у пациентов с различными видами рака желудка. При подготовке образцов каплю крови объемом 10 мкл наносили на твердую подложку (ПММА – органическое стекло)ки. Для оценки локального пространственного распределения кальция использовался лазерный многоканальный атомно-эмиссионный спектрометр LSS-1.

Снимки высохших капель крови пациентов получали, используя оптический микроскоп Webbers, совмещенный с цифровой камерой (отражение), и микроскоп Биолам со светодиодной подсветкой (пропускание) и веб-камерой. Оба микроскопа имеют видеонасадки, работающие с компьютером по USB-2 порту.

Морфоструктурная характеристика высохших капель крови пациентов с диагнозом рак желудка

На рисунке 1 представлены снимки высохших капель крови пациентов с различными формами рака желудка.

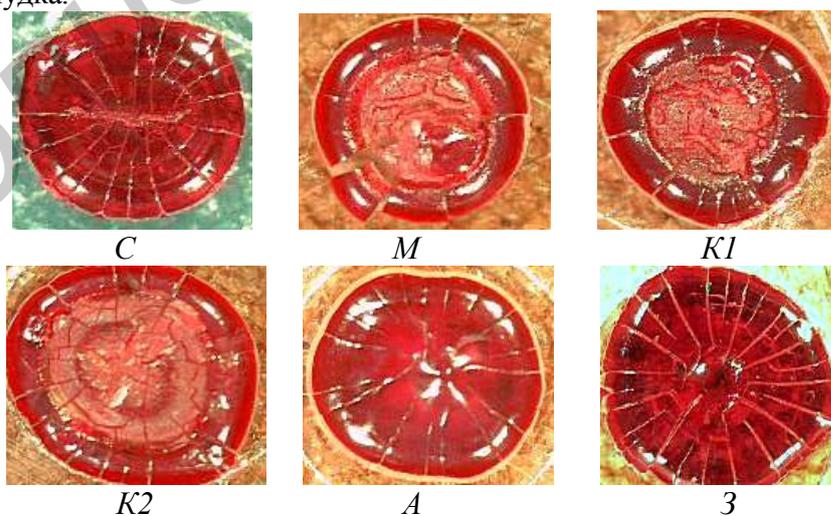


Рисунок 1 – Высохшие капли крови пациентов:

С – предварительный диагноз стенозирующий рак нижней трети желудка;

М - (рак желудка 4 стадия); *К1* - рак желудка; *К2* - рак тела желудка;

А - предполагаемый рак тела желудка; *З* – потенциально здоровый человек.

Анализ морфоструктуры высохших капель крови пациентов М, К1, К2, которым при поступлении поставлен диагноз - рак желудка, показывает, что при окончательном высыхании капли имеют подобную морфоструктуру. По краю капли обозначен белковый валик, а в центральной части идет образование псевдотрещин и отдельных блоков.

При исследовании капель крови пациентов С и А, с предварительным диагнозом при поступлении – предполагаемый рак тела желудка, процесс высыхания капель носит несколько иной характер. Динамика и структуризация высыхающих капель крови этих пациентов имеет некоторые отличительные особенности. Проявление сложного процесса комплексообразования выражается в появлении радиальных трещин с продвижением их к центральной зоне. Процесс носит довольно упорядоченный характер, что характерно при дегидратации капель крови в контрольной группе здоровых добровольцев (рис.1; 3). На этом основании было высказано предположение о возможном отсутствии у этих пациентов онкологической патологии. Окончательный диагноз, поставленный этим больным, действительно подтвердил наше предположение. Окончательный диагноз пациента С - нейрогенный мочевого пузыря (стриктура нижней трети правого мочеточника); пациента А - ангиопапиллома кожи межягодичной складки (единичные стромальные элементы на фоне крови).

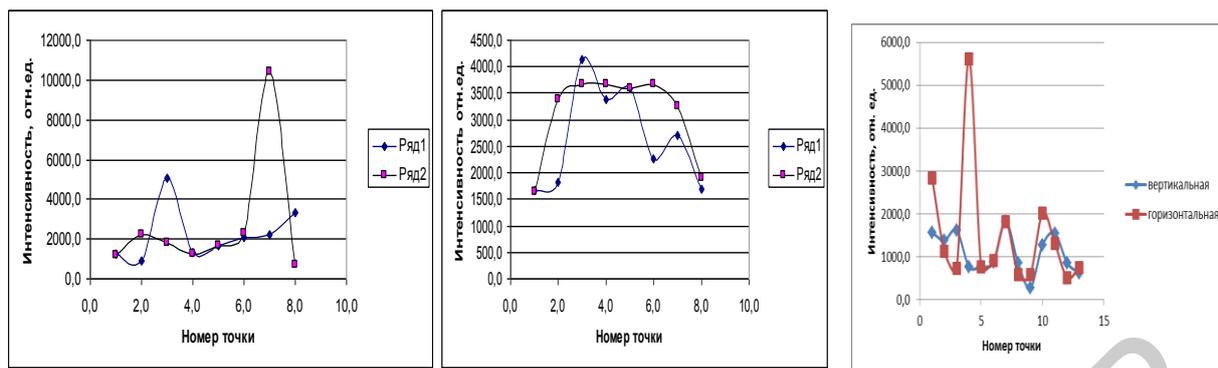
Метод диагностики на основе дегидратации капли крови состоит в том, что в норме при высыхании капли возникают регулярные и однородные структуры (радиальное растрескивание). При малейшей патологии происходит нарушение структуры белков, начинаются процессы агрегации, возникают аномальные и нерегулярные структуры, что существенно изменяет ход структуризации капли. Микронарушения структуры белков на молекулярном уровне вызывают нарушение на макроуровне. Если в норме всего 2% белков имеют нарушения в структуре (третичной или четвертичной), то при патологии - 50% белков имеют изменения в структуре. Последнее в свою очередь отражается на распределении кальция, одного из важнейших эссенциальных элементов, так как его ионы преимущественно связаны с белками [3].

Таким образом, в исследованных образцах высыхающих капель крови у всех онкологических больных отмечаются ярко выраженные грубые изменения в структурном построении морфологической картины крови. Нарушение гармонического взаимодействия элементов крови со структурой приводит к появлению конкреций, трещин, которые обособленно и раздельно размещаются по капле, образуя характерные признаки, свидетельствующие о нарушении системной регуляции процесса структуризации. Хаотическое растрескивание капель при различных заболеваниях, по-видимому, связано с нарушением процессов комплексообразования, влияющим на гомогенность полимерной пленки.

Представляло интерес параллельно с анализом морфоструктуры высыхающей на твердой подложке капли крови оценить пространственное распределение Са по диаметру высохших капель крови.

Исследование локального пространственного распределения кальция в высохших каплях крови

Для оценки локального пространственного распределения кальция использовали лазерный многоканальный атомно-эмиссионный спектрометр LSS-1, исследованы все образцы. Для иллюстрации представлены результаты пространственного распределения кальция в высушенных образцах крови пациентов К2, А и 3. Зависимость интенсивности линии Са II (393,239 нм) в спектрах высушенных капель крови по перпендикулярным диаметрам (ряд 1 - вертикальный, ряд 2 – горизонтальный) приведена на рисунке 2. Оценивалась интенсивность линий и по толщине капли.



K2

A

3

Рисунок 2 – Интенсивность линии Ca в атомно-эмиссионных спектрах высушенных образцов крови пациентов.

Была отмечена неравномерность интенсивности кальция в разных слоях высохшей капли. У пациента А кальций распределяется по всей поверхности центральной части капли. У пациента К2 виден пик на одной из краевых зон капли с очень высокой интенсивностью - 10000 отн.ед. Имелось отличие в распределении кальция по слоям: в капле А в каждом слое содержалась большая концентрация кальция, в капле К2 два слоя содержали максимальный пик 4000 отн.ед., в остальных слоях интенсивность кальция была мала. Локальное распределение кальция в капле цельной крови потенциально здорового человека (3) несколько отличается. Распределение довольно равномерное, максимальный пик отмечается только в одном месте - примерно 6000 отн. ед., минимальных пиков достаточно много со средней интенсивностью около 1000 отн. ед..

Более тщательные исследования с использованием метода ЛАЭМС для возбуждения сдвоенными лазерными импульсами анализируемой поверхности высохшей капли биологической жидкости (БЖ) могут быть перспективным направлением для полуколичественной оценки распределения эссенциальных элементов по диаметру капли и, возможно, со временем смогут использоваться для поиска маркеров заболеваний.

Используя же данные морфоструктурного анализа высыхающей капли крови можно предварительно диагностировать отсутствие или наличие у пациента онкологического заболевания благодаря выявленным различиям образующихся структур в процессе высыхания капли БЖ. Учитывая относительную простоту выполнения анализа, не требующего наличия дорогостоящего оборудования и больших затрат времени, обеспечивается возможность выделения группы риска для дальнейшего углубленного исследования с подключением более специфических дорогостоящих методов диагностики.

Литература

1. **Шабалин В.Н.**, Шатохина С.Н. Морфология биологических жидкостей в клинической лабораторной диагностике // Клинич. лаб. диагностика. 2002. № 3. С. 25—32.
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. **Шабалин В.Н.**, Шатохина С.Н. Морфология биологических жидкостей человека // М.: Хризостом, 2001. 300 с.