

ЛАЗЕРНАЯ АТОМНО-ЭМИССИОННАЯ СПЕКТРОМЕТРИЯ ЛОКАЛЬНОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ МАКРОЭЛЕМЕНТОВ В ОБРАЗЦАХ КРОВИ ПАЦИЕНТА С ДИАГНОЗОМ МЕНИНГИОМА, ВЫСОХШИХ НА ТВЕРДОЙ 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. 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 and blood plasma with the use of multichannel local atomic-emission spectrometry. 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.

Патологическое состояние организма тесно связано с изменениями содержания химических элементов в биологических жидкостях (БЖ). Известно огромное влияние макроэлементов (кальций, калий, натрий, магний и др.) и микроэлементов (цинк, медь, железо, алюминий и др.) на функционирование организма и состояние здоровья. В связи с этим особое значение приобретает разработка методов ранней диагностики нарушений накопления и распределения некоторых химических элементов в БЖ человека.

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. 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 и высоте капли) кальция при высыхании на поверхности капли крови и плазмы крови человека.

Образцы готовили по следующей методике. Каплю крови (плазмы крови) 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 6 мм. Средняя толщина высохшей капли примерно 0,07 мм. Использование предметного стекла в ла-

зерном атомно-эмиссионном методе исключается из-за наличия в самом стекле большинства исследуемых элементов.

Снимки высохших капель крови и плазмы крови пациентов с диагнозом менингиома до операции (Кд и Пд) и после операции (Кп и Пп) приведены на рисунке 1. Для получения снимков использовался микроскоп Биолам со светодиодной подсветкой (на пропускание) и веб-камерой.

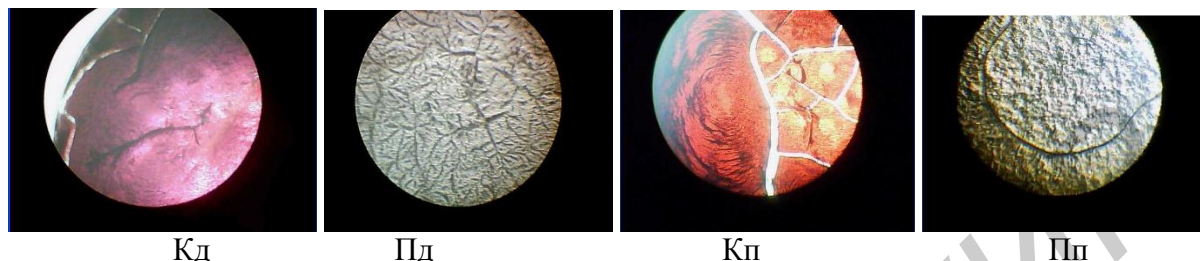


Рисунок 1 - Снимки высохших капель крови и плазмы крови пациента с диагнозом менингиома до операции (Кд и Пд) и после операции (Кп и Пп).

Суть метода диагностики на основе дегидратации капли крови и плазмы (БЖ) состоит в том, что в норме она имеет однородную структуру, и при дегидратации возникают регулярные и однородные структуры (радиальное растрескивание). При малейшем нарушении структуры белков начинаются процессы агрегации молекул белков, которые существенно 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 растрескивание и разрывы 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].

Для оценки локального пространственного распределения макро- и микроэлементов в каплях экспериментально с помощью лазерной многоканальной спектроскопии 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 крови и плазмы больного до и после операции.

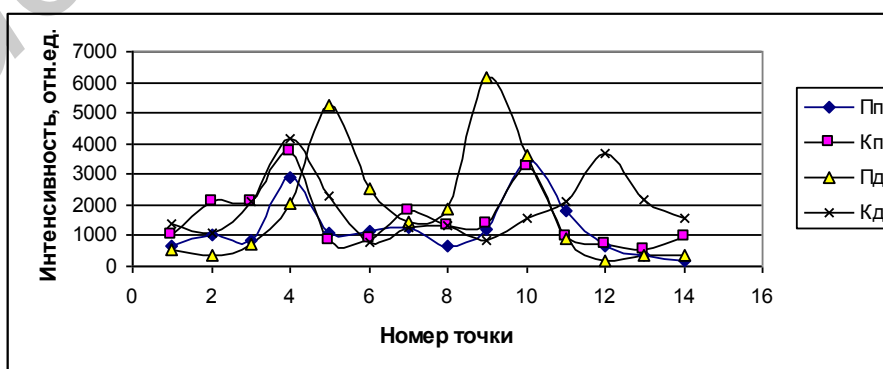


Рисунок 2 – Интенсивность линии Са II (393,239 нм) в атомно-эмиссионных спектрах крови и плазмы крови.

Наблюдается определенная закономерность между интенсивностью линий кальция и положением точки. Кальций в основном распределен по краям. При сравнении кривых распределения кальция обращает на себя резкое возрастание концентрации его в точке 12 в крови до операции. В образцах крови после операции кривые становятся более гладкими, без больших выбросов. Таким образом, прослеживаются определенные закономерности в изменении распределения кальция по поверхности капли у больных до и после операции.

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

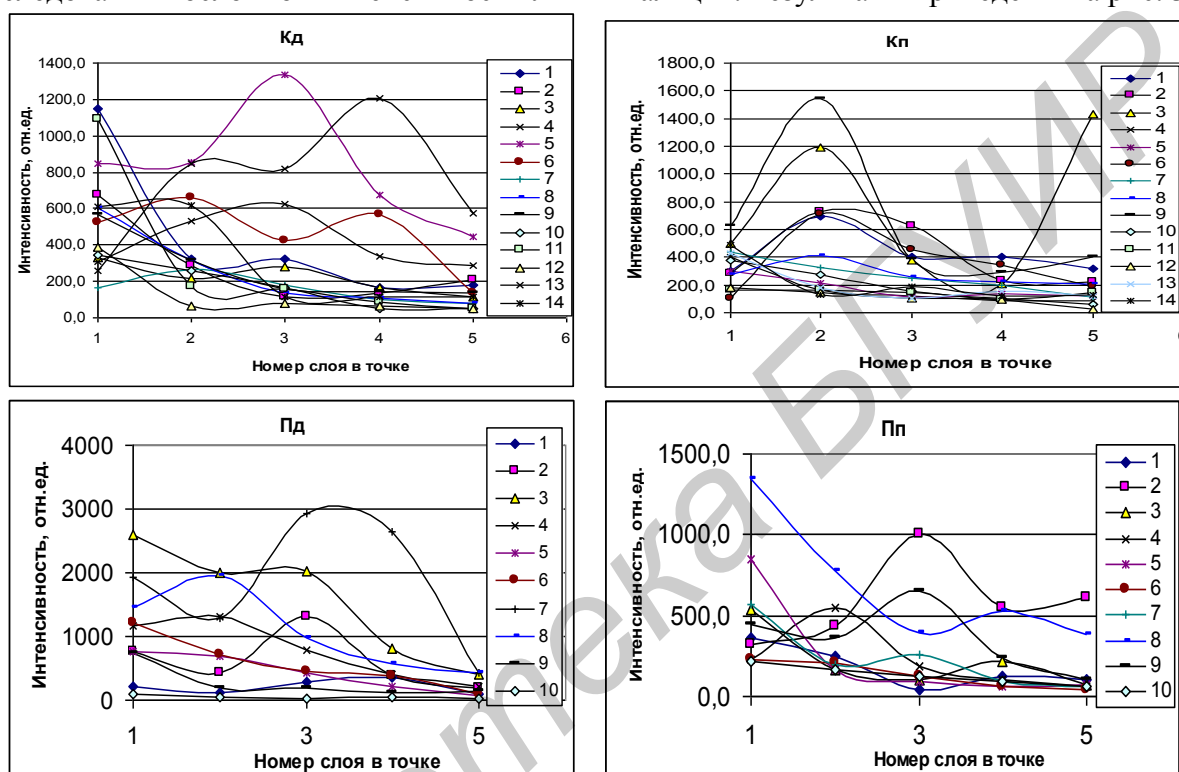


Рисунок 3 – Послойная интенсивность линии Ca II (393,239 нм) в атомно-эмиссионных спектрах крови и плазмы крови.

Настоящее исследование с использованием метода ЛАЭМС показало, что возбуждение двоянными лазерными импульсами анализируемой поверхности высохшей капли БЖ 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.