

УДК 616.5-001.17-003.9-07:616.15

ТЕЗИОГРАФИЧЕСКИЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ ПЛАЗМЫ КРОВИ

А. О. Буглак, В.Г. Шестакова, Е.Б. Ганина, В.Н. Захарова, В.В. Патрошкина

ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России, г. Тверь, Россия

Кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии

Научный руководитель – д.м.н., доцент В. Г. Шестакова

Резюме. Статья посвящена применению тезиографического метода исследования в регенеративной медицине. Суть данной методике заключается в оценке формы и размеров кристаллов в присутствии исследуемых веществ. Биокристалломику можно рассматривать, как один из современных и перспективных методов диагностики различных патологических состояний, благодаря своей простоте и доступности. При визуальном и микроскопическом исследовании кристаллов сыворотки крови можно установить характер происходящего процесса.

Ключевые слова: кристаллы; ожоговая рана; репарация; тезиография; нингидрин

THEσιοGRAPHIC METHOD OF BLOOD PLASMA EXAMINATION

A. O. Buglak, V.G. Shestakova, E.B. Ganina, V.N. Zakharova, V.V. Patroshkina

Tver State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Tver, Russia

Department of Histology, Embryology and Cytology

Supervisor - Doctor of Medical Sciences, Associate Professor V. G. Shestakova

Resume. The article is devoted to the application of the thermographic research method in regenerative medicine. The essence of this technique is to evaluate the shape and size of crystals in the presence of the substances under study. Biocrystalloemics can be considered as one of the modern and promising methods for diagnosing various pathological conditions, due to its simplicity and accessibility. With visual and microscopic examination of blood serum crystals, it is possible to determine the nature of the process taking place.

Keywords: crystals; burn wound; repair; thesiography; ninhydrin

Введение. Явление кристаллизации известно с древности. Аристотель, в своих трудах первым описывал получение поваренной соли путем выпаривания морской воды, а Плиний - об изготовлении медного купороса путем кристаллизации из водных растворов. Первые упоминания о кристаллообразовании в научной литературе можно встретить в труде Исаака

Ньютона «Оптика», где был описан феномен образования регулярных структур из растворов солей. А первым русским ученым, активно изучавшим минералогию, стал российский химик, минералог, геолог, академик Императорской академии наук, Василий Михайлович Севергин (1765-1826) (Рисунок 1).



Рисунок 1. Академик В.М. Севергин



Рисунок 2. Академик Т.Е. Ловиц

Как метод исследования, кристаллография проявилась в работах российского учёного-химика, академика Санкт-Петербургской Академии наук, Товия Егоровича Ловица (1904, 1905) (Рисунок 2).

Долгое время кристаллография оставалась исключительно технической наукой. Приставка «био-» к данной области науки появилась благодаря работам профессора Тельавивского Университета, доктора медицинских наук Елизаветы Гдальевны Рапис (1973), в работах которой впервые был описан характер кристаллообразования некоторых биосред человека и животных [1].

Наиболее часто исследуемыми биологическими жидкостями в биокристалломике являются – плазма крови, слезная жидкость, ликвор, слюна и другие.

Кристалломорфологический метод расширяет диагностические возможности в определении характера патологического процесса в живых организмах. Он основан на выращивании кристаллов в биологических объектах. Это сложный физико-химический процесс, течение которого зависит от многих факторов: химического состава, условий роста [2].

Цель работы. Изучить процесс кристаллизации плазмы крови и установить зависимость кристалломорфологического рисунка и срока заживления ожоговой раны.

Материалы и методы. Экспериментальная часть исследования проведена на базе межкафедральной лаборатории Тверского государственного медицинского университета и лаборатории фундаментальных морфологических исследований кафедры анатомии, гистологии и эмбриологии. Экспериментальные исследования проведены с соблюдением всех правил и норм по работе с лабораторными животными. На проведение исследования было

получено разрешение локального Этического комитета Тверского государственного медицинского университета (Протокол от 11.05.2018 г.). Объектами для исследования послужили самцы беспородных лабораторных крыс ($n=12$) массой тела в среднем 250-300 грамм. Животные содержались в одинаковых условиях в виварии, со стандартным пищевым и питьевым режимами. Крысы включались в эксперимент после 14-ти дневного карантина.

Животным на предварительно подготовленную дорсальную поверхность тела с помощью специального паяльника, наносился ожог (общей площадью 225 мм²), составляющий около 14 % площади кожных покровов тела крысы. В качестве наркоза применялся «Золетил-100» (8,0 мг/кг).

Определяющее большинство жизненных процессов развивается в биогетерогенных полимерных системах, то есть в коллоидных структурах. Плазма крови представляет собой специализированную дисперсную коллоидную массу, относится к внутренней среде организма и содержит различные белки. В качестве эталона использовался закристаллизованный спиртовой раствор нингидрина. Целесообразность применения спиртового раствора нингидрина в качестве диагностического вещества подтверждено авторским свидетельством на изобретение (№ 1412738 от 1985 года) [3].

Взятие плазмы для дальнейшего исследования у опытных животных проводилось на 7, 14, 21 сутки эксперимента.

Для диагностики брали по 2 мл плазмы крови у опытных животных (на 7, 14, 21 сутки эксперимента) и добавляли 2%-й спиртовой раствор нингидрина (10 мл). Смесь оставляли в чашке Петри на 12-14 часов для кристаллизации. Далее кристаллы изучали под световым микроскопом и фотографировали с помощью микроскопа Olympus CX21 с камерой MC-10 [4].

Для сравнения кристалломорфологических картин были закристаллизованы чистый спиртовой раствор нингидрина, спиртовой раствор нингидрина с плазмой интактных крыс и спиртовые растворы нингидрина с плазмой опытных крыс, взятой на 7, 14, 21 сутки исследования.

Результаты и их обсуждение.

При кристаллизации чистого спиртового раствора нингидрина образуются крупные кристаллы, имеющие форму правильных сферолитов. Из одного центра кристаллизации выходит от 35 до 40 лучей; тонких, с четко выраженной морфологией, одинаковых по длине и толщине (Рисунок 3).

Форма кристаллов изменялась при добавлении в спиртовой раствор нингидрина плазмы интактных крыс и крыс опытных групп.

Кристаллы, полученные при кристаллизации плазмы крови, полученной от интактных крыс сохраняли форму сферолитов, как при кристаллизации чистого спиртового раствора нингидрина, но лучи, выходящие из центра кристаллизации были неодинаковы по длине. Между лучами наблюдалось скопление аморфного вещества. Это можно объяснить наличием аминокислот в плазме (Рисунок 4).

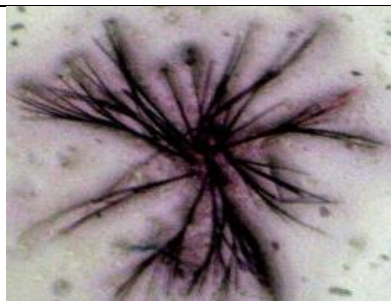


Рисунок 3. Кристаллограмма спиртового раствора нингидрина. X100, нативный препарат.



Рисунок 4. Спиртовой раствор нингидрина с плазмой крови интактных крыс. X100, нативный препарат.

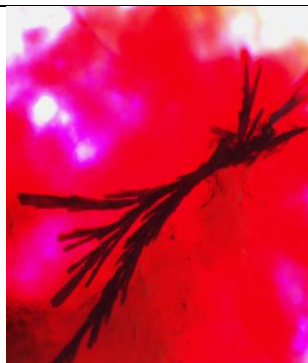


Рисунок 5. Спиртовой раствор нингидрина с плазмой крыс опытной группы на 7 сутки исследования. X100, нативный препарат.

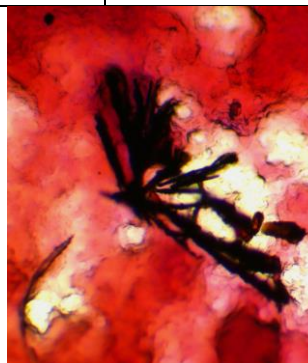


Рисунок 6. Спиртовой раствор нингидрина с плазмой крыс опытной группы на 14 сутки исследования. X100, нативный препарат.

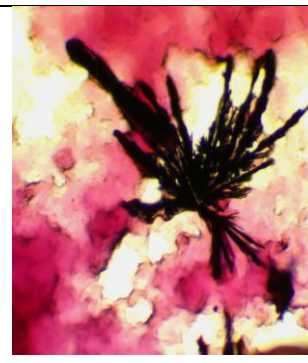


Рисунок 7. Спиртовой раствор нингидрина с плазмой крыс опытной группы на 21 сутки исследования. X100, нативный препарат.

У крыс опытных групп можно различить следующие формы кристаллов:

- на 7 сутки исследования кристаллы приобретали форму полусферолитов, с лучами разной длины и количеством 15-20 (Рисунок 5);
- на 14 сутки исследования формировались кристаллы, близкие по форме к полусферолитам, но количество лучей, выходящих из одного центра кристаллизации увеличивалось с 20 до 25, что в среднем составило 20,83% по сравнению с 7 сутками (Рисунок 6).

- на 21 сутки экспериментального исследования кристаллы уже имели вид сферолитов и сохранялась тенденция к увеличению количества лучей до 30-35 (29,4 % по сравнению 14 сутками и 44,12% по сравнению с 7 сутками) (Рисунок 7).

Г.Н. Зубеева и соавторы отмечали в своих работах, что использование метода кристалломорфологии может применяться, как дополнительный метод в диагностике атеросклероза. А также для контроля за лечением аритмологических больных [5].

Выводы. Результаты проведенного исследования указывают на информативность тезиографического метода в отношении течения репаративного процесса ожоговой раны. Существует закономерность в изменении формы, размеров и количества лучей кристаллов при смене фаз заживления. Форма кристаллов эволюционировала от полусферолитов к сферолитам. Отличия в размерах являлись недостоверными, тогда как количество лучей достоверно возрастало от 7-ых к 21-ым суткам на 20,83% и 29,4% соответственно. Выше изложенное позволяет рассматривать тезиографический метод в качестве одного из дополнительных методов исследования в регенеративной медицине.

Список литературы.

1. Мартусевич А.К. Биокристалломика в России: краткий очерк этапов становления. / А.К. Мартусевич, Н. Ф. Камакин. – Текст : непосредственный // Вятский медицинский вестник. - 2011.
2. Мартусевич А.К. Современные методы биокристалломики в оценке состояния организма животного / А.К. Мартусевич, Л.К. Ковалева, А.Г. Самоделкин. – Текст : непосредственный // Вестник Нижегородской государственной сельскохозяйственной академии. – 2019. - №2 (22).
3. Курбатова Л.А. Кристаллизация в биологических средах / Текст : непосредственный //Тезисы докладов. - Тверь. - ТГМИ. -1992.
4. Буглак А.О. Биокристалломика как метод прогнозирования течения репарации ожоговых ран кожи / А.О. Буглак, В.Г. Шестакова, Е.Б. Ганина. – Текст : непосредственный // Молодежный инновационный вестник. - 2023. - Т. 12. - № 1.
5. Мартусевич А.К. Биокристалломика: предпосылки, сущность, перспективы / А.К. Мартусевич, В.Л. Эмануэль. – Текст : непосредственный // Клинико-лабораторный консилиум. – 2011. - №4.