

УДК 616.366- 002:616- 073.48

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА КЛИНОВИДНОЙ ДЕГИДРАТАЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ В КЛИНИКЕ ВНУТРЕННИХ БОЛЕЗНЕЙ

Т.В. МАРИНИЧ, А.В. БОРСУКОВ, И.А. ПИСКУНОВА

*Кафедра факультетской ойтерапии,**проблемная научно-исследовательская лаборатория «Ультразвуковы еисследования и малойн вазивн ьетехнол
огии»**Смоленская государств еннаямедицинскаяакадемия*

В настоящее время для диагностики различных патологических состояний используется преимущественно аналитический подход. Это тысячи параметров организма, которые можно получить при помощи широкого спектра диагностических методов.

Организм человека состоит из устойчивых структур - клеток, и высокодинамичных - биологических жидкостей. Данные системы являются взаимодополняющими. Причем, если высокодинамичные структуры могут существовать без клеточных форм, то клеточные структуры не могут существовать без высокодинамичных структур. Все биохимические процессы, которые протекают в организме, оказывают влияние на состав биологических жидкостей. Биологические жидкости являются зеркалом метаболических процессов, протекающих в клетках. В свою очередь, биологические жидкости оказывают сильнейшее влияние на метаболизм в клетке.

В настоящее время созданы методики, позволяющие анализировать принципиальные связи устойчивых структур организма. Однако система выявления высокодинамичных связей биологических жидкостей отсутствует. Существуют принципиальные возможности изучения этих связей, при условии перевода биологических жидкостей в твердую фазу. В Российском НИИ геронтологии академиком Шебалиным В.Н., профессором Шатохиной С.Н. в качестве способа дегидратации биологических жидкостей предложен метод клиновидной дегидратации. В качестве естественной объемной структурной единицы любой жидкости выбрана капля. Данная структура является результатом адекватности веса капли силе ее поверхностного натяжения.

На рис.1 на цветной вкладке показана схема клиновидной дегидратации. Данная схема демонстрирует, что испарение жидкости происходит равномерно по всей открытой поверхности капли. В силу того, что полусфера имеет разную толщину слоя в центре и на периферии (клин), в исследуемой капле при испарении воды происходит неравномерное изменение концентрации растворенных веществ, а именно, концентрация в тонких (периферических) отделах возрастает более быстрыми темпами по сравнению с центральной (толстой) частью капли. При данных изменениях начинают проявлять себя осмотические и онкотические силы. В связи с тем, что мощность осмотических сил на два порядка выше онкотических, соли начинают более быстро перемещаться к центру капли, в сторону меньшей концентрации растворенных веществ. По мере испарения воды раствор становится насыщенным, и соли начинают «выдавливать» органические вещества из воды, переводя их в твердую фазу. Однако ввиду сложного компонентного состава биологических жидкостей этот процесс происходит

постепенно с образованием концентрационных волн (зон) твердой фазы, которые формируются за счет соответствующих компонентов биологической жидкости с определенными физико-химическими параметрами. В результате при переходе капли биологической жидкости в твердую фазу формируется фация - сухая пленка с фиксированными концентрационными волнами и другими формообразующими элементами.

Метод клиновидной дегидратации биологических жидкостей в настоящее время широко применяется в различных областях медицины. На базе клиники факультетской терапии СГМА (зав. кафедрой - профессор А.А. Пунин), МЛПУ «Клиническая больница №1» г. Смоленска (главный врач А.Н. Толкачев) она применялась у пациентов с обострением хронического калькулезного холецистита, у больных с «малыми» плевральными выпотами неясного генеза.

Обострение хронического калькулезного холецистита в современных условиях характеризуется многообразием клинических проявлений, высокими показателями неблагоприятных исходов лечения и недостаточным количеством критериев ранней диагностики осложненного течения заболевания.

В нашей работе, посвященной раннему выявлению осложненного течения хронического калькулезного холецистита, наряду с другими исследованиями, мы применяли метод клиновидной дегидратации сыворотки крови, с целью:

- выявить информативные признаки структурной организации сыворотки крови для динамической оценки характера течения обострения заболевания.
- установить взаимосвязь между клинической картиной, ультразвуковой симптоматикой, гистологическими изменениями стенки желчного пузыря и морфологическими особенностями сыворотки крови в зависимости от формы хронического калькулезного холецистита.

Работа основана на результатах обследования и лечения 142 пациентов с обострением хронического калькулезного холецистита

Контрольную группу составили 40 человек (20 человек находившихся в пульмонологическом отделении МЛПУ КБ №1 с диагнозом хронический бронхит вне обострения, 20 человек в кардиологическом отделении с диагнозами гипертоническая болезнь 1-2 стадия, сравнимые по возрасту (средний возраст составил 56,5 лет)).

Для исследования твердой фазы сыворотки крови, кровь у больных брали натощак из локтевой вены при поступлении, а затем через каждые 6 часов (кратность 2-3 раза).

На обезжиренное предметное стекло, расположенное строго горизонтально, с помощью полуавтоматической пипетки-дозатора наносили 3 капли сыворотки крови в объеме 10 мкл (рис. 2). Диаметр каплей составлял 5-7 мм. Капли высушивались при температуре 20-25 градусов и относительной влажности воздуха 65-70% при минимальной подвижности окружающего воздуха. В процессе высыхания капли были неподвижны. Продолжительность периода высыхания (до момента анализа структуры) составляла 3-5 часов. Высушенная капля имеет вид пленки и носит название фации (рис. 2).

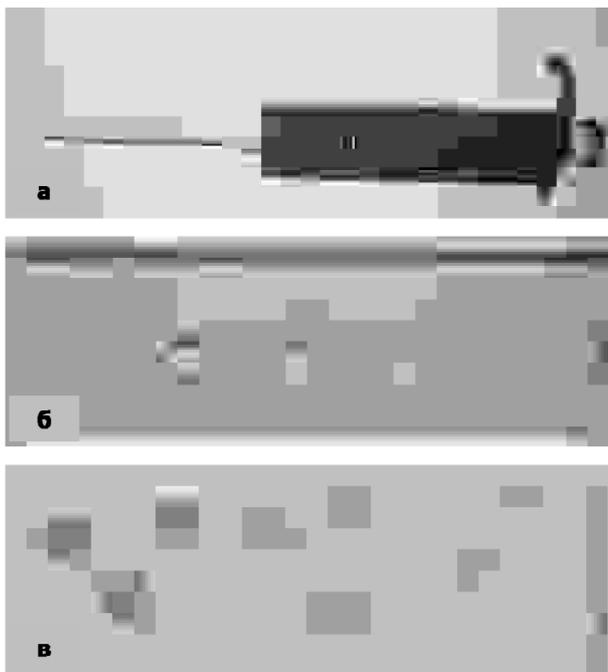


Рисунок 2. а - пипетка-дозатор; б — нанесение капель сыворотки крови на предметное стекло; в - готовый препарат для морфологического (кристаллографического) исследования сыворотки крови

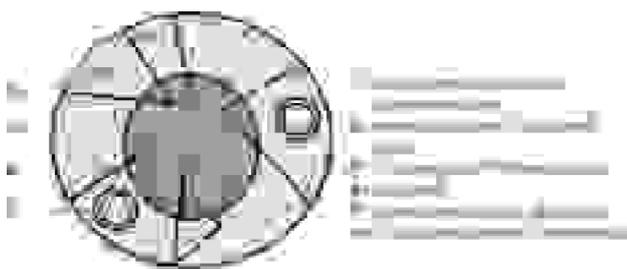


Рисунок 3. Фация сыворотки крови (схема)

Исследование структурообразующих элементов натурных образцов высушенных капель (фации) проводился с помощью светового микроскопа, бинокулярной лупы при увеличениях $\times 56$, $\times 72$. Кроме того, исследовались цифровые фотографии фаций сыворотки крови. Для определения параметров фации применялись стандартные окулярные вставки. Определялись следующие параметры: радиус периферической зоны, общий радиус, длина трещины (минимальная, максимальная), число трещин, описывалась форма трещин, внутренняя зона (вид чаще, чем в группе с неосложненным ХКХ ($\Phi^*_{эмп}=1,88$; $p < 0,05$).

При обострении ХКХ изменяется зона кристаллизации сыворотки крови (появляется ее неоднородность по структуре, окраске). В группе с осложненным ХКХ определялась неоднородная зона кристаллизации (2-4 кристаллизации, порядок деления кристаллов, углы кристаллизации, длина осей кристаллизации) (рис. 3), а также стабильность указанных параметров в динамике.

Для морфологического исследования сыворотки крови выбор статистических критериев, используемых для проверки гипотез о достоверности различий между средними значениями выборок, зависел от характера и количества выборок, а также от характера распределения выборок. В случае принадлежности выборки к нормальному распределению мы использовали t-критерий Стьюдента для парных сравнений, либо тесты Бонферрони, Ньюмена-Кейлса, Даннетта - в случае множественных сравнений; также в ряде случаев использовались методы дисперсионного анализа.

Для анализа выборок, характеризующиеся распределением, отличным от нормального, мы использовали методы непараметрической статистики (критерии Фишера, Пирсона).

Результаты исследования:

Все больные с обострением ХКХ разделены на 2 группы: пациенты с неосложненной формой ХКХ (80 человек) и с осложненной формой ХКХ (62 человека).

У большинства больных с осложненной формой ХКХ при операции было обнаружено флегмонозный холецистит - изолировано или вместе с другими видами осложнений (70,9%).

При морфологическом исследовании сыворотки кров при поступлении доля белковой зоны (коэффициент S белк / S общ) у пациентов с обострением ХКХ была больше ($\chi^2 = 3,01$), чем в контрольной группе. У пациентов с осложненной формой ХКХ среднее значение коэффициента S белк / S общ на 15,6% больше, чем в группе с неосложненной формой заболевания ($sr^*_{эмп}=1,88$; $p < 0,05$). При осложненном ХКХ коэффициент S белк / S общ был нестабильным у 38,8% больных (преобладало у 66,8% пациентов) увеличение значения показателя). В группе с увеличением белковой зоны при повторном исследовании на 30% наблюдалось одно или несколько тяжелых осложнений (гангренозный холецистит, перитонит).

У пациентов с обострением ХКХ как при осложненной, так и при неосложненной форме нами установлено достоверное увеличение длины трещин по сравнению с данными по контрольной группе ($p < 0,05$). При осложненной форме ХКХ отмечалось более значительное уменьшение количества трещин в условной единице площади, по сравнению с неосложненной формой ($p < 0,05$). При осложненном ХКХ, у 54,8% больных количество трещин изменялось при повторном исследовании, тогда как у больных с неосложненной формой заболевания и у контрольной группы данный признак был стабильным.

Установлено, что при обострении ХКХ чаще выявлялись фации, признаки которых соответствовали 3 или 4 баллам. При осложненном ХКХ признаки соответствовали 3 баллам в 77,4% случаев, что в 1,9 чаще, чем при неосложненной форме ($\Phi^*_{эмп}=4,62$; $p < 0,01$). Форма и расположение трещин в фациях сыворотки соответствовали 4 баллам у 16,1% пациентов с осложненной формой ХКХ, что статистически достоверно

балла) у 83,8% больных, тогда как в группе с неосложненным ХХХ - у 38,7%, а в контрольной - у 5%. У больных с осложненным ХХХ зона кристаллизации соответствовала 2 баллам в 66,1% случаев, что достоверно больше ($\Phi^*_{\text{зн}}=3,9$; $p < 0,01$) аналогичного показателя в группе с неосложненной формой. У большего числа (82,39%) обследованных пациентов зона кристаллизации была стабильна. В группе с осложненным течением ХХХ признак нестабильности внутренней зоны встречался в 1,6 раза чаще, чем в группе с неосложненным течением ХХХ.

При всех формах ХХХ преобладало деление кристаллов до ветвей 3 порядка (70% и 70,97%), т.к. при высоких концентрациях белка в биожидкости отмечается угнетение роста дендритных структур, что проявляется в уменьшении числа ответвлений от центра кристаллизации.

На основании анализа и сопоставления результатов морфологического (кристаллографического) исследования сыворотки крови, клинической картины, результатов ультразвукового исследования гепатобилиарной зоны, данных гистологического исследования послеоперационного материала были выявлены наиболее информативными кристаллографические признаки фаций сыворотки крови при обострении хронического калькулезного холецистита. Морфологические признаки сыворотки крови в соответствии со значимостью оценивались в баллах по следующим критериям: площадь периферической зоны (стабильная - 1 балл, увеличена на 10% - 2 балла, увеличена на 20% - 3 балла, увеличена на 30% - 5 баллов, уменьшена - 0 баллов); количество трещин (стабильное - 1 балл, нестабильное - 2 балла, уменьшено - 3 балла, увеличено - 0 баллов); зона кристаллизации (однородная - 0 баллов, неоднородная - 1 балл, стабильная - 1 балл, нестабильная - 3 балла).

Кроме того, начато изучение возможностей метода клиновидной дегидратации в дифференциальной диагностике «малых» плевральных выпотов.

В клинике факультетской терапии СГМА на базе МЛПУ «Клиническая больница № 1» в течение 2006 года обследовано 48 больных (29 мужчин и 19 женщин) в возрасте от 34 до 75 лет, имеющих малый плевральный выпот в первые сутки заболевания, полученный при проведении плевральной пункции под контролем ультразвукового исследования по диагностической программе, основанной на сравнительном анализе результатов биохимического исследования плеврального выпота и оценки морфологической структуры плевральной жидкости методом клиновидной дегидратации по стандартной методике.

Результаты. Больные распределились следующим образом - 29 пациентов (I группа), у которых при биохимическом исследовании был выявлен экссудат (имеющих клинические диагнозы пневмония - 14; метастатический плеврит - 8, туберкулезный плеврит - 7) и 19 пациентов (II группа) с трансудатом (недостаточность кровообращения II Б ст., III ФК).

У пациентов I группы площадь белковой зоны на 15% больше, чем во II группе. У 8 пациентов II группы (42,1% отмечается полное отсутствие трещин в белковой зоне, у 11 (57,9%) имеются единичные радиальнорасположенные трещины. Зона кристаллизации однородная (рис. 6а на цветной вкладке).

В I группе расположение и количество трещин фации зависит от клеточного осадка плеврального выпота.

При преобладании в клеточном осадке лимфоцитов определяются единичные трещины, теряется радиальный ритм расположение трещин, длина трещин от 46,7 мкм до 163 мкм, трещины не заходят более чем $1/3$ радиуса в зону кристаллизации, зона кристаллизации однородная (рис. 6 б на цветной вкладке).

При преобладании в плевральном выпоте нейтрофилов количество трещин от 5- 14, появляются горизонтально расположенные трещины, в 12 случаях (70,5%), которые заходят в зону кристаллизации на более чем $2/3$ радиуса. Конкреции полиморфны, располагаются ассиметрично. Зона кристаллизации неоднородная, имеются участки другого цвета или структуры, занимающие до 25% площади зоны кристаллизации (рис. 6 в на цветной вкладке).

В одном случае (2,1%) дифференциальный диагноз вызывал затруднения; так как ширина белкой зоны, количество и характер расположение трещин было погранично как для экссудата, так и для трансудата. При биохимическом исследовании у данного пациента выявлялся экссудат.

Таким образом, выявлено, что при различных плевральных выпотах имеются различия в кристаллографической картине фаций. Уже первые исследования у данной группы больных позволяют говорить о возможности дифференциальной диагностики с помощью метода клиновидной дегидратации трансудата и экссудата, дифференциальной диагностики клеточного осадка: преобладание нейтрофилов или лимфоцитов.

Метод клиновидной дегидратации является перспективным для научных исследований, практического применения. Его преимуществами является доступность - методическая и экономическая, универсальность для всех биологических жидкостей. Проведенное в динамике исследование позволяет говорить о характере течения заболевания, об эффективности терапии, повышает специфичность инструментальных методов исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Борсуков А.В., Маринич Т.В. Использование метода морфологического исследования сыворотки крови в диагностической модели течения обострения хронического калькулезного холецистита: Матер. 5 научн. общ-ва гастроэнтерологов России. - М., 2005. С.35.
2. Гольбрайх Е., Рапис Е.Г., Моисеев С.С. О формировании узора трещин в свободно высыхающей пленке водного раствора белка //Журнал технической физики. - 2003. - Т. 73.- Вып. 10. - С.116-121.
3. Инюткина Н.В. Морфология желчи при возрастных патофизиологических изменениях желчевыводящих путей: Дис. ... канд. мед. наук. - М., 2002. - 110 с.
4. Потехина Ю.П. Морфологическое исследование желчи в диагностике заболеваний желчевыводящих путей //Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. - 2003. - № 3. - С.92- 97.
5. Шабалин В.Н., Шатохина С.Н. Системная самоорганизация биологических жидкостей организма и старение //Сборник 1 Российского съезда геронтологов и гериатров. - Самара. - 1999. - С.502-505.
6. Шабалин В.Н., Шатохина С.Н. Морфология биологических жидкостей человека. - М.: 2001. - 304 с.