

А. К. Мартусевич

КРИСТАЛЛОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ: ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА*Кировская государственная медицинская академия (Науч. рук. - д. м. н., профессор Н. Ф. Камакин)*

Кристаллизация биологических жидкостей организма - генетически обусловленный процесс, связанный с наличием в них определенных органических и неорганических компонентов [8]. Это достаточно любопытное их свойство до последнего времени оставалось без внимания. Лишь, начиная с 80-х годов, в литературе стали появляться подобные исследования [2-4, 13-14]. Они брали начало из работ Т. Е. Ловица [5], который предложил два оригинальных метода анализа: «метод микрокристаллических реакций» и «выветренных солей». Они легли в основу будущих экспериментов. Первоначально методики нашли применение в фармации [6-7], а затем и в судебной медицине [1]. Значительно позже кристаллизация стала восприниматься как диагностический тест. В этом плане наибольший вклад внесли сотрудники Московского областного научно-исследовательского клинического института им. М. Ф. Владимирского. Ими была разработана методика кристаллоскопического анализа биологических субстратов, которая по сути представляла собой тизиграфический тест [4]. По данному способу изучены уже сыворотка крови, моча, слюна, назальный секрет, ликвор, биоптаты с различных органов, дуоденальное содержимое и другие, однако эти исследования содержат определенные недостатки (отсутствие системного подхода, привязка к конкретным условиям проведения диагностики, рассмотрение одного диагностического принципа и т. д.) [11].

Работы, посвященные исследованию биожидкостей человека методом «классической» кристаллоскопии, встречаются в литературе достаточно редко [10-11]. Причем их особенностью является использование для диагностики сыровотки крови, что позволяет отнести такой способ применения к инвазивным.

В связи с таким разнообразием методических подходов необходимо систематизировать их и выявить наиболее эффективные из них.

Целью исследования являлось выяснение применимости кристаллографических методов в отношении некоторых нормальных и патологических состояний организма человека, а также изучение стандартных картин, полученных при подготовке микропрепаратов по способам «классической» кристаллографии и тизиграфии.

Материал и методы исследования

В качестве основного метода была применена разработанная нами тизокристаллография. Она включала в себя совместное использование «классической» кристаллографии и тизиграфии, что повышает информативность проводимого анализа. В качестве кристаллообразующего вещества при тизиграфии использовался 0,9% раствор NaCl. Материалом исследования были слюна, моча, слеза и пот 150 здоровых людей и сыворотка крови и моча 160 лиц с различной патологией (бронхолегочные заболевания, нарушения пищеварительной и нервной системы). Высушивание микропрепаратов производилось модифицированным ускоренным способом в токе теплого воздуха (при температуре $56,8 \pm 12,1^{\circ}\text{C}$; влажности $24,0 \pm 3,4\%$; время подготовки пробы в этих условиях составляло $0,24 \pm 0,03$ часа). Объем наносимой биожидкости составлял $0,3 \pm 0,05$ мл. Оценка полученных кристаллограмм и характеристика количественного и качественного состава образцов производилась по идентификационной таблице. Подсчет структур и центров в целях повышения точности исследования проводился в трех полях зрения, причем в качестве диагностического принималось среднее между ними округленное до целого значение.

Для оценки данных тизиграфии вводился коэффициент Q , отражающий соотношение количества центров кристаллизации в обоих образцах: $Q=A/B$, где A - количество центров кристаллизации в экспериментальной пробе, B - количество центров кристаллизации, образовавшихся при высушивании стандартного раствора. Именно с помощью данного коэффициента, по нашему мнению, станет возможным проведение диагностики и дифференциальной диагностики различных заболеваний. Кроме того, его использование позволяет нивелировать погрешности от воздействий, связанных с условиями проведения лабораторной диагностики (температура в помещении, влажность, температура потока воздуха при сушке).

Полученные результаты и их обсуждение

Для интерпретации кристаллоскопических картин мы проклассифицировали все встречаемые нами кристаллические и аморфные образования (таблица № 1, схема). В соответствии с данной классификацией и проводилась оценка препаратов, подготовленных для анализа по методике «классической» кристаллоскопии. Проводилось как общее изучение кристаллоскопических особенностей биожидкости, так и сравнительная их характеристика.

СТРАНИЧКА МОЛОДОГО УЧЕНОГО

Всем основным биожидкостям организма свойственно образование кристаллической кар

тины, отличающейся следующими особенностями. Высыхание капли слюны на смачиваемой поверхности (стекло) приводит к образованию 3 различных зон: наружная (маргинальная), обусловленная подвижной составляющей слюны (вода, электролиты, низкомолекулярные соединения); внутренняя (центральная), структура которой соответствует коллоидной части слюны (в мукоиде сосредоточены высокомолекулярные белки, электролиты, низкомолекулярные соединения) и промежуточная, отличающаяся наименьшей концентрацией веществ. Внутренняя зона может иметь выраженные и невыраженные границы. Часто к внешнему контуру внутренней границы примыкают кристаллические и аморфные структуры.

Высыхание коллоида сопровождается его ретракцией, нарастанием концентрации низкомолекулярных соединений и образованием кристаллических структур самого разного вида.

Такое распределение составных частей биожидкостей наиболее характерно для слюны, другие же имеют свои индивидуальные особенности (таблица №2).

По представленным в таблице данным очевидно, видно, что каждая из исследованных биожидкостей имеет свои особенности кристаллоскопической картины, что может быть объяснено выведением ими различных веществ. Так, наибольшее общее количество кристаллов наблюдается в слюне и поте, однако качественное соотношение их варьирует. Если для слюны характерно преобладание пластинчатых примогоульников, то основные составляющие картины пота - пирамиды и октаэдры. Это свидетельствует о том, что роль в экскреции холестерина на салivarного пути больше, чем его выделение с потом, в то время как выведение фосфатов кальция и магния выявляет обратную закономерность. Возможно, данный факт объясняется большим количеством выделяемой слюны относительно объема экскретированного пота в спокойном состоянии у практически здоровых лиц. Выведение данным путем фосфатов может быть связано с нагрузкой, как физической, так и эмоциональной. Присутствующие в составе мочи октаэдры, являющиеся по химической природе фосфатом кальция, на наш взгляд, выполняют ту же функцию.

Дендритная картина биожидкостей в значительной степени дифференцирована. Соотношение данных структур, как и одиночные кристаллы, несет диагностическую нагрузку. Так, большое количество фигур «лук» и «комета», представляющих собой оксалат кальция, указывает на совместную экскрецию с кальцием углекислого газа, одного из терминальных метаболитов дыхательной цепи.

В отношении аморфных образований наблюдается различие в размерах частиц и их количестве. Эти характеристики демонстрируют степень участия данного пути в экскреции углекислого газа и кальция.

Кроме исследований, посвященных изучению кристаллоскопической картины у здоровых людей в спокойном состоянии, нами были проведены эксперименты по рассмотрению влияния физических и эмоциональных нагрузок на количество и качественный состав получаемых препаратов. В результате данной группы опытов нами выделены следующие тенденции.

Для физической нагрузки было характерно кристаллоскопически значимое выделение ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} , фосфат-ионов, что в свою очередь дало отражение в образующейся картине. Соотношение данных ионов существенно зависело от уровня подготовленности испытуемого.

В качестве примера возможного применения этих методик проиллюстрируем проведение диагностики и дифференциальной диагностики на различных формах и стадиях панкреатита. Так, нами изучались кристаллические картины больных острым и хроническим панкреатитом, панкреатитом в период реконвалесценции. По обоим тестам имеет место дифференциация (таблица № 3). При анализе полученных данных изучалась также динамика изменения результатов кристаллоскопического теста в процессе развития и лечения заболевания (диаграмма).

В соответствии с вышеприведенной диаграммой прослеживаются изменения соотношения и количества кристаллов в зависимости от формы и стадии заболевания. Таким образом, различия в кристаллоскопической картине указывают на возможность диагностики и дифференциальной диагностики панкреатита.

Из данной таблицы можно видеть, что наблюдаются значительные отличия по всем основным группам кристаллических и аморфных структур. Следовательно, метод «классической» кристаллоскопии дает достаточно оснований, чтобы с определенной степенью точности поставить предварительный диагноз панкреатита, а также установить форму или стадию заболевания. Кроме того, по изменениям кристаллоскопической картины, на наш взгляд, представляется возможным определить некоторые метаболические сдвиги ионного гомеостаза в организме.

Тезиграфический тест дал следующие результаты (таблица № 4).

Очевидно, что тезиграфическое исследование, как и кристаллоскопическое, показывает значительные различия по используемому коэффициенту данных заболеваний. При этом дифференциация по коэффициенту Q достаточно четкая, о чем свидетельствуют достоверные отличия между ними ($p < 0,01$). Следовательно, анализируемый метод является подходящим в качестве быстрого и эффективного диагностического теста.

Выводы

1. Организм человека можно представить как совокупность кристаллоскопических картин его биожидкостей (слюны, мочи, сыворотки крови, слезы, пота, ликвора и других);
2. каждой биожидкости организма человека свойственны определенные кристаллоскопические признаки (наличие или отсутствие вышеуказанных структур);
3. физическое и эмоциональное напряжение могут менять кристаллоскопическую картину в сторону увеличения содержания компонентов, являющихся по химической природе фосфатами кальция и магния или карбонатом кальция;
4. выявлены характерные паттерны в отношении «классической» кристаллографии и тезиграфии для различных форм и

стадий панкреатита.

Литература

1. Я. З. Ильясов. Судебно-медицинская экспертиза. - 1966. - № 4. - С. 43.
2. Д. Б. Каликитейн, Л. А. Мороз, Н. Н. Квитко, Н. Е. Шмелева, Б. А. Павлов. Кристаллографическое исследование биологических субстратов // Клиническая медицина. - 1990. - № 4. - С. 28-31.
3. Д. Б. Каликитейн, Л. А. Мороз, В. Л. Черняков. Значение тизиграфического метода исследования мочи // Лабораторное дело. - 1981. - № 2. - С. 79-81.
4. Кристаллоскопический метод исследования биологических субстратов: Метод, рекомендации / Л. А. Мороз, И. Л. Теодор, В. Е. Брык и др. - М., 1981. - 9 с.
5. Т. Е. Ловиц. Технол. журнал. - 1804. - Т. 1, № 3. - С. 27.
6. М. Н. Никольская. Аптечное дело. - 1961. - № 6. - С. 42.
7. М. Н. Никольская, В. Г. Гандель, В. А. Попков. Аптечное дело. - 1965. - № 4. - С. 63.
8. Г. В. Плаксина, Г. В. Рымарчук, С. В. Бутенко, Л. Н. Горчакова. Клиническое значение кристаллографического и кристаллоскопического метода исследования мочи // Клиническая лабораторная диагностика. - 1999. - № 10. - С. 34.
9. Ю. П. Потехина, П. С. Зубарев, А. В. Страхов, М. Э. БузOVERЯ, Т. А. Яхно, Ю. П. Щербак. Кристаллография и вискозиметрия желчи при желчнокаменной болезни // Клиническая лабораторная диагностика. - 2001. - № 3. - С. 33-35.
10. Савина Л. В. Структурообразование сыворотки крови в условиях вакуума // Клиническая лабораторная диагностика. - 1999. - № 11. - С. 48.
11. Савина Л. В., Конуева О. В., Коротко Г. Г., Яковенко М. С., Новоселя Н. В. Кристаллоскопическая диагностика нарушений экзокринной функции поджелудочной железы у больных с хроническим панкреатитом / IV Международный конгресс «Парентальное и энтеральное питание». - Москва, 2000. - С. 98.
12. С. Н. Шатохина, В. Н. Шабалин. Профильная дегидратация биологических жидкостей // Клиническая лабораторная диагностика. - 1999. - № 9. - С. 38.
13. Daems W. F. - Р. Ж. Биол. химия. - 1965. - № 9. - С. 4-5.
14. Daems W. F. Thesigraphie. - Chem. courant. - 1964, 1963, 1970, 1977.

Таблица № 1

Кристаллические и аморфные структуры, встречаемые при «классическом» кристаллоскопическом анализе биожидкостей организма человека

Тип образований	Структура	Химическая природа
1. Одиночные кристаллы	Пластинчатые прямоугольники	Холестерин и его производные
	Октаэдры	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$
	Призмы	$\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$
	Пирамиды	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$
2. Кристаллические фигуры (дендриты)	Пластинчатые прямоугольники	
	Линейчатые дендриты с углом расхождения 90° и 120°	
	Пластинчатые «кресты»	
	Фигуры «мох»	
	Фигуры «папоротник»	
	Фигуры «комета»	$\text{Ca}(\text{C}_2\text{O}_4)_2$
	Фигуры «лук»	$\text{Ca}(\text{C}_2\text{O}_4)_2$
	Фигуры «хвощ»	

Таблица № 1

Тип образований	Структура	Химическая природа
	Розетки	
	пластинчатые (обычно 6 лепестков)	Производные холестерина

	листовидные (обычно 6 лепестков)	NaHCO_3
3. Дендритоидные структуры	Нитевидные	
	Дихотомически ветвящиеся	
	Цепочечные	
4. Особые структуры	Дендритоподобные мелко- и крупноячеистые сетки	
	Ламеллы	
	- параллельные	
	- субпараллельные	
	Сфероидные камеры с дендритами	
	Реликтовые микротипы	
5. Аморфные образования		Обычно CaCO_3

Примечание: * - различаются по количеству (немного, умеренное количество, большое количество) и по размеру (мелкие, средние, крупные, агрегаты).

Схема. Взаимодействия кристаллических и аморфных структур.

Тип взаимодействий

Налипание

Оттеснение

Страничка молодого ученого Таблица № 2

Кристаллоскопическая характеристика биожидкостей организма человека (имеются только приводимые структуры)

Структуры	Слюна	Моча	Слеза	Пот
1. Одиночные кристаллы	Прямоугольники - 4, призмы - 2, пирамиды - 1	Прямоугольники - 1, призмы - 0-1, октаэдры - 2	Прямоугольники - 2-3, пирамиды - 3, Октаэдры - 1	Прямоугольники - 0-1, пирамиды - 3, октаэдры - 3-4, призмы - 1
2. Дендриты	Линейчатые - 1, «кресты» - 0-1, «мох», «лук», «комета» - 2-3, прямоугольники - 0-1	Линейчатые - 0-1, прямоугольники - 0-1, «мох», «лук», «комета» - 2-3	Линейчатые - 0-1, прямоугольники - 0-1, «хвош» - 2, «розетки» - 2-3	Линейчатые - 2-3, «лук» - 2, прямоугольники - 1
3. Аморфные образования	Средние, количество среднее	Крупные, мало	Крупные, среднее количество	Средние, среднее количество
4. Взаимодействие кристаллов и аморфных образований	Налипание	Оттеснение	Налипание	Налипание

Таблица № 3

Кристаллоскопическая картина мочи у больных панкреатитом (указаны наиболее диагностически важные показатели)

Структуры	Острый панкреатит	Панкреатит (рековаленция)	Хронический панкреатит
1. Одиночные кристаллы	Прямоугольник - 2, призма - 2, пирамида - 1	Прямоугольник - 1, призма - 3, пирамида - 2	Прямоугольник - 2, призма - 1, пирамида - 2

2. Дендриты	Прямоугольник - 2, линейчатые - 2, «мох» - 1, «кресты» - 0	Прямоугольник - 1, линейчатые - 1, «мох» - 0, «кресты» - 1	Прямоугольник - 3, линейчатые — 0, «мох» - 0, «кресты» - 0
3. Аморфные образования	Мелкие, мало	Средние, среднее количество	Мелкие, мало
4. Тип взаимоотношения	Налипание	Налипание	Оттеснение

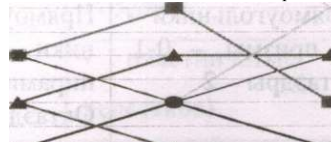
Таблица № 4
Тезиграфический анализ проб мочи больных панкреатитом

Стадия или форма заболевания	Количество центров кристаллизации		
	NaCl+мочэ	NaCl	Q
Острый панкреатит	150±33	200±21	0,753±0,067
Панкреатит (реконвалесценция)	60±7	200±21	0,328±0,041
Хронический панкреатит	15±2	200±21	0,075±0,006

Примечание: различия между коэффициентами Q достоверны ($p < 0,05$)
прямоугольники (дендриты) —*— линейчатые

дендриты —•— "кресты"

Динамика изменения кристаллоскопической картины с течением заболевания



■ прямоугольники

- призм

- пирамиды

— "мох"

Summary

CRYSTALLOGRAPHIC ANALYSIS: COMMON CHARACTERISTIC

Martusevich A. K.

Kirov State Medical Academy Chair of normal physiology

The crystallization of the biological fluids is a multiplex process of movings of high and low molecular substances and dehydration. In this process three zones of crystallographic picture are formed. There are central, intermediate and marginal zones.

Specimens of urine, blood and saliva were investigated in 150 healthy people and 160 patients with different pathology (diseases of nervous, respiratory systems etc).

The results of biological fluid crystallization were identified with special table and the analyses of these specimens were done by teziocrystalloscopic test.

It has been determined that there are differences between crystallogramms of the human fluids of healthy and sick patients. Crystallographic analysis can be used for primary diagnostics.