

УДК 616.379-008.64:616.155.191]-072:616.717

¹Песоцкая Л. А., ²Глухова Н. В., ¹Лакиза Т. В., ¹Симонова Т. А., ¹Писаревская О. В.

ОЦЕНКА ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ КОМПОНЕНТОВ КРОВИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА РЕГИСТРАЦИИ ГАЗОРАЗРЯДНОГО СВЕЧЕНИЯ

¹ГУ «Днепропетровская медицинская академия» МОЗ Украины, г. Днепр

²ГВУЗ «Национальный горный университет», г. Днепр

pesotskaya23@mail.ru

В работе исследовали газоразрядное свечение (ГРС) лимфоцитов и сыворотки крови у пациентов с анемией при добавлении различных препаратов железа в день забора крови и через сутки инкубации. Применили регистратор эффекта Кирлиан, рентгеновскую пленку, нативный материал. Полученные результаты сравнивали между собой и с лабораторными данными подсчета лимфоцитов и эритроцитов в образцах. Компьютерную обработку полученных изображений короны свечения капель проводили с построением гистограмм яркости свечения и их анализа. Выявлены различия между показателями поддиапазонов гистограмм ГРС образцов, которые соотносились с лабораторными данными. Метод целесообразно использовать для раннего установления повреждений биологической ткани.

Ключевые слова: газоразрядное свечение; биологический объект; кровь.

Актуальность темы. Существующие методы выявления функциональных нарушений биологических систем или объектов сегодня в основном основаны на регистрации изменений биохимических и химических величин. Однако эти изменения появляются при уже достаточно выраженных морфологических изменениях в тканях. Поэтому актуальным является изучение новых методов раннего выявления функциональных расстройств различных биологических объектов, основанных на изменении их биофизических параметров, которые являются надсистемными и предшествуют биохимическим.

В то же время, с биохимическими реакциями и физиологическими процессами в организме биофизические представляют собой неразрывное целое. Известны биологические поля клетки и всего организма, открытые экспериментально А. Гурвичем [2]. Они индуцируют цитогенетическую активность клеток, т.е. координируют биохимические процессы. Это явление открывает новые возможности использования их в изучении физиологического состояния биологических тканей.

К биофизическим методам, развивающимся сегодня, относится регистрация на фотоматериале газоразрядного свечения (ГРС) объектов, в том числе живой природы, в поле высокого напряжения [4], что известно как эффект Кирлиан [3]. Изменения ГРС возникают на до лабораторном и на до клиническом уровне регистрации патологии стандартными способами [8].

Определение биофизических дисфункциональных состояний перспективны для решения целого ряда задач в практической медицине. В ранее проведенных нами исследованиях были выявлены изменения ГРС ткани из Ахиллова сухожилия в разные сроки постмортального периода, установлены корреляции между полученными результатами и изменениями содержания биохимических веществ в исследуемых образцах [7]. Выявлены различия между параметрами ГРС мазков крови у пациентов с курабельными и некурабельными анемиями [1].

Нам представилось целесообразным изучить возможность использования метода регистрации ГР-свечения для оценки биологических объектов в целом. Примером могут быть различные клетки крови, по-разному реагирующие при добавлении активных биологических веществ.

Целью исследования было сравнить изменение ГР-свечения лимфоцитов и сыворотки крови у пациентов с анемией при добавлении различных препаратов железа.

Материал и методы исследования. Методом регистрации ГРС исследовали лимфоциты и сыворотку крови у 2-х пациентов с железодефицитной анемией в условиях стационара. Взвеси лимфоцитов и сыворотки крови выделяли стандартными лабораторными методами. Подсчитывали Т-активные и цитотоксические Т-лимфоциты (Лф) методом розеткообразования, количество эритроцитов (Эр) в день забора крови и через сутки инкубации после добавления различных пероральных препаратов железа в сравнении с контрольными образцами. Кирлианографическое фотографирование объектов проводили на рентгеновской пленке.

Таблиця 1 – Лабораторные показатели клеток крови

Образцы	ч/сут% Та-лф1	% цитот. лф1	Эр 1 Т/л	ч/сутки Эр1 Т/л	ч/сут % Та-лф 2	Эр2 Т/л	ч/сутки Эр2 Т/л
контроль	44	10	2,34	1,86	38	1,96	2,32
с ГС	33	9	-	2,02	гемолиз	-	2,66
с ГЛ	28	5	-	гемолиз	гемолиз	-	гемолиз
с МФ	гемолиз	гемолиз	-	оболочки	гемолиз	-	оболочки

Примечания: Эр – эритроциты 1- первого пациента, 2 – второго пациента, ГС – гемсинарал ТД, ГЛ – глобирон, МФ – мегаферин.

Для регистрации ГР-свечения образцов компонентов крови использовали экспериментальный прибор «РЕК 1», разработанный УкрНИИ технологий машиностроения и Национальным горным университетом (г. Днепр) [5]. Фотографировали по 30 капель каждого образца, которые сканировали для последующей компьютерной обработки. Использовали пакет прикладных программ для построения гистограммы, модифицированных нами [6].

При статистической обработке выборок изображений короны свечения капель образца использовалась усредненная оценка количества пикселей, попавших в определенный поддиапазон яркости (d). В качестве такой оценки применялось значение медианы, как наиболее устойчивой к случайным выбросам и отклонениям величины. Расчитывали разность медиан, как разницу количества пикселей, попавших в текущий поддиапазон яркости, по сравнению с предыдущим. Для оценки изменений интенсивности свечения в короне, отражающих ее рисунок, рассчитывалось отношение разниц медиан последующей к предыдущей ($N+1)/(N)$.

Для анализа количественных данных медиан полученных параметров интенсивности свечения были выбраны поддиапазоны гистограммы яркости №№1–7; поддиапазоны №№8–12 связаны с фоном пленки.

Интенсивность свечения в диапазонах №№1–3 отражает наличие реакций «свободной», не связанный в кристаллы или биополимеры, воды. Чем больше такой «активной» воды, тем интенсивнее свечение. Более светлое изображение в последующих поддиапазонах отражает преобладание «связанной» воды в сложных биологических молекулах.

Результаты исследования и их обсуждение. Данные лабораторных исследований количества эритроцитов, субпопуляций лимфоцитов исследуемых образцов крови представлены в таблице 1.

У П.2 ч/сутки во всех образцах с цитотоксическими Лф наблюдался гемолиз. Кирлианографическое исследование проводили Т-активных Лф.

По представленным результатам оптимальным для обоих пациентов, по устойчивости мембран клеток к разрушению, явился препарат гемсинарал ТД (ГС). Хотя, для второго пациента (П.2) он был менее оптимальен, чем для П.1, т.к. при добав-

лении к лимфоцитам вызывал гемолиз. С глобироном (ГЛ) у П.1, наоборот, сохраняются лимфоциты, но гемолиз с эритроцитами. С мегаферином (МФ) у П.1 всех образцов – гемолиз; у П.2 – гемолиз с лимфоцитами, но с эритроцитами он неполный, с наличием оболочек клеток. На рис. 1, 2 и в таблицах 2, 3 приведен пример кирлианограммы и результаты гистограммы яркости ГРС Т-активных лимфоцитов у П. 1.

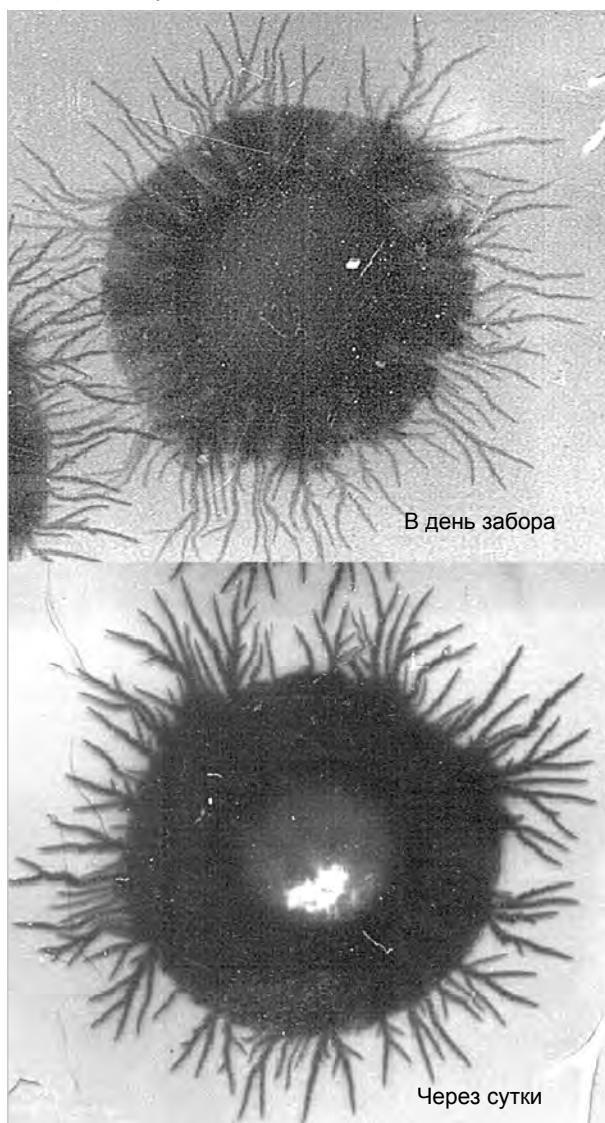


Рис. 1. ГР-свечение Т-акт. лф с гемсинаралом у П.1 до и после инкубации.

Таблиця 2 – Параметри гистограмми ГРС лимфоцитов с ГС у П.1

Лф с ГС	Медиана	Разница	Отношения разниц	ч/с	Медиана	Разница	Отношения разниц
1	0	38	27,84211	1	4	200	32,89
2	38	1058	7,727788	2	204	6578	3,831408
3	1096	8176	2,324731	3	6782	25203	-0,36285
4	9272	19007	-0,39891	4	31985	-9145	1,003062
5	28279	-7582	1,608283	5	22840	-9173	-0,08819
6	20697	-12194	-0,07561	6	13667	809	-1,71446

Таблиця 3 – Параметри гистограмми ГРС лимфоцитов у П.1

№ d гистограмм	Медиана	Разница	Медиана (через сутки)	Разница (через сутки)	Отношения разниц (N+1)/ (N)	Отношения разниц (через сутки)
1 контроль	34		1917			
2	9007	8973	41103	39186		
3	41120	32113	43295	2192	3,5788	0,055938
4	19927	-21193	20206	-23089	-0,65995	-10,5333
5	7975	-11952	76530	56324	0,56395	-2,43943
6	13674	5699	59355	-17175	-0,47682	-0,30493
7	31301	17627	19230	-40125	3,09299	2,33624
1 с глобирон	421		222			
2	2903	2482	5006	4784		
3	13593	10690	21386	16380	4,30701	3,42391
4	23205	9612	18676	-2710	0,89915	-0,16544
5	19573	-3632	8456	-10220	-0,37786	3,77121
6	10744	-8829	5704	-2752	2,4308	0,2692
7	8328	-2416	5361	-343	0,27364	0,12463
1 с МФ	242		0			
2	14112	13870	296	296		
3	47546	33434	8700	8404	2,41052	28,39189
4	23766	-23780	12002	3302	-0,71122	0,392908
5	12179	-11587	13752	1750	0,48727	0,529981
6	9198	-2981	16729	2977	0,25723	1,701142
7	11523	2325	11130	-5599	-0,77999	-1,880752

Во взвеси Лф с мегаферином как в день забора, так и через сутки, в отличие от других образцов наблюдали полный гемолиз. Параметры его ГРС отличаются от других образцов максимальными значениями в крайних поддиапазонах с одинаковыми по величине значениями в остальных. Эта постепенная изменчивость оттенков яркости ГРС отражает гомогенность структуры исследуемого образца с достаточно высокой энергетикой (по значениям медиан яркости) по всем поддиапазонам в первый день и снижением ее через сутки. Максимум показателя в конце графика в первый день отражает резкую границу с фоном пленки; в начале графика через сутки – резкое выделение наиболее интенсивного свечения (в d2), однородность взвеси вещества при позднем гемолизе.

В контрольном образце Лф и образце Лф с глобироном имеют место несколько пиков резких изменений яркостей свечения, что отражает мно-

гообразие структуры изображения короны свечения, связанной с неоднородностью по величине биохимических веществ в них. Но, у эритроцитов с ГЛ через сутки наблюдали гемолиз, в отличие от Эр с ГС. В контроле через сутки количество эритроцитов уменьшилось, в отличие от Эр с ГС.

Кривая скорости изменения количества пикселей с разной яркостью свечения у Лф с ГС не имела описанных пиков, была более равномерной, как и у Лф с МФ с гемолизом, но после значительного ее увеличения, в отличие от последних. По-видимому, выявленные особенности связаны с ГРС самих клеток в первом случае и продуктами их распада во втором. Другие образцы имели смешанные признаки гистограмм ГРС, что соответствовало их состоянию по лабораторным данным.

На рис. 3 и в соответствующих таблицах представлены результаты анализа гистограмм яркости свечения сыворотки крови П.1.

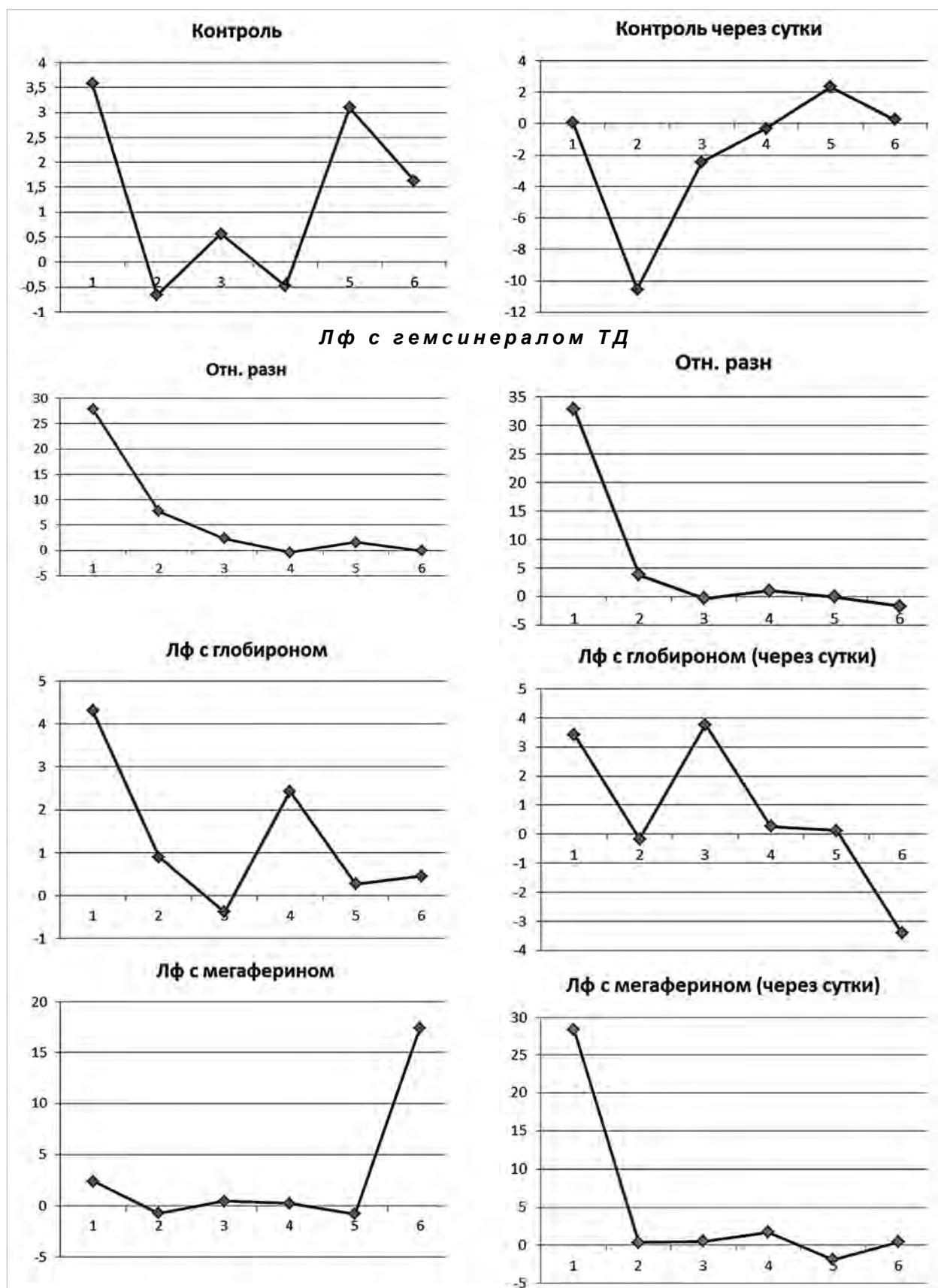


Рис. 2. Графики отношений разниц медиан параметров яркостей ГРС взвеси Лф с различными препаратами железа у П.1.

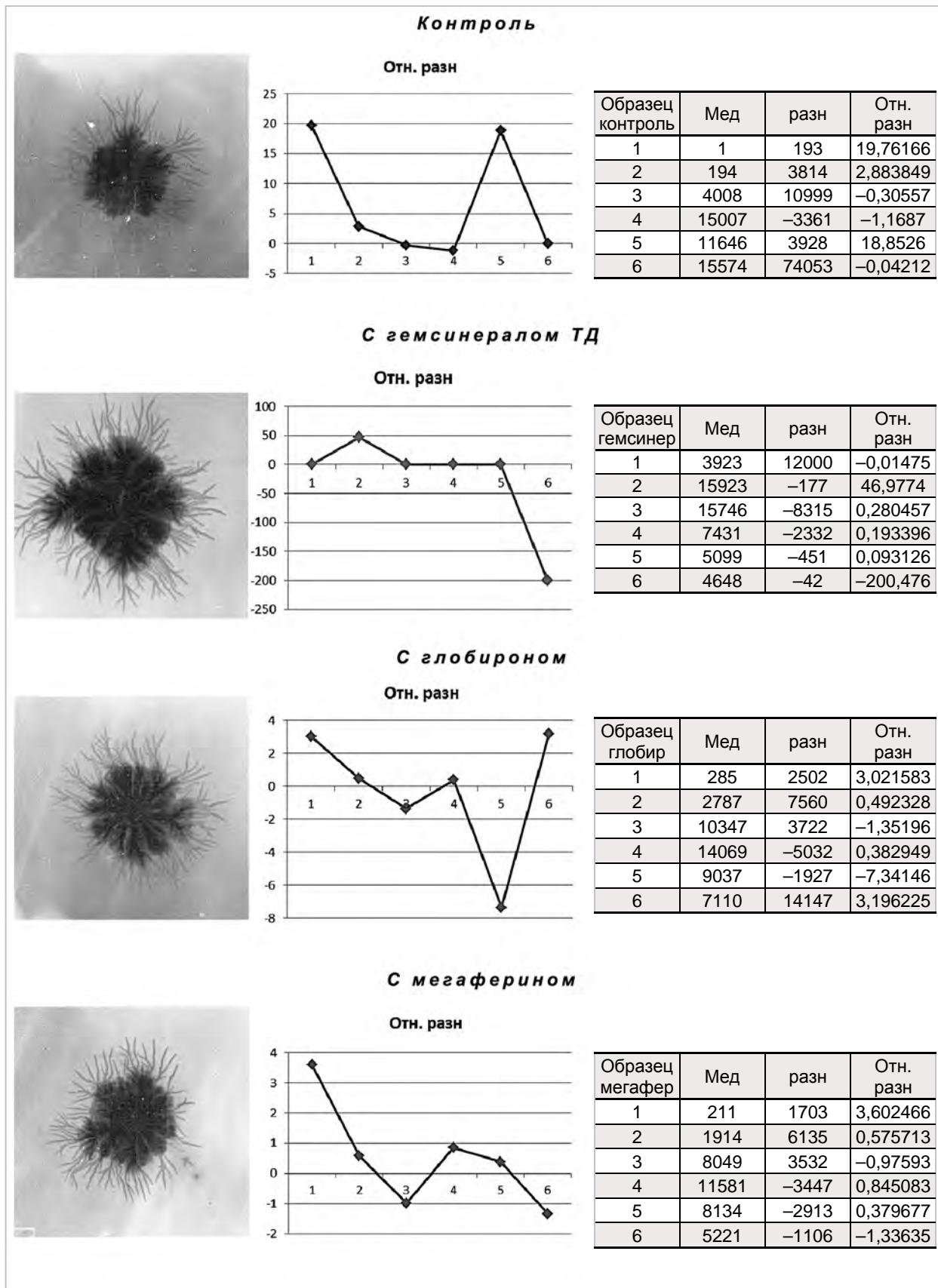


Рис. 3. Результаты анализа гистограмм яркости свечения сыворотки крови с различными препаратами железа у П.1.

У всіх образців сыворотки, крім з ГС, мають місце максимальні зміни в d1, а в образці сыворотки з ГС – в d2. Сміщення максимуму показника якості свечення вправо по графику у оптимального образца, отримує уменьшення «свободної» реактивної води в рідкій часті образца і підвищення субстанцій веществ со «св'язаною» водою в біополімерних молекулах.

Кончатка части графика ГР-свечення сыворотки з ГС в d6 і з ГЛ в d5 протилежна таковому в контролі, з уменьшенням Эр через сутки, і відрізняється від образца з МФ, який викликав гемолізу і після інкубації.

На рис. 4 і в відповідних таблицях представлені результати аналізу гистограм якості свечення сыворотки крові у П.2.

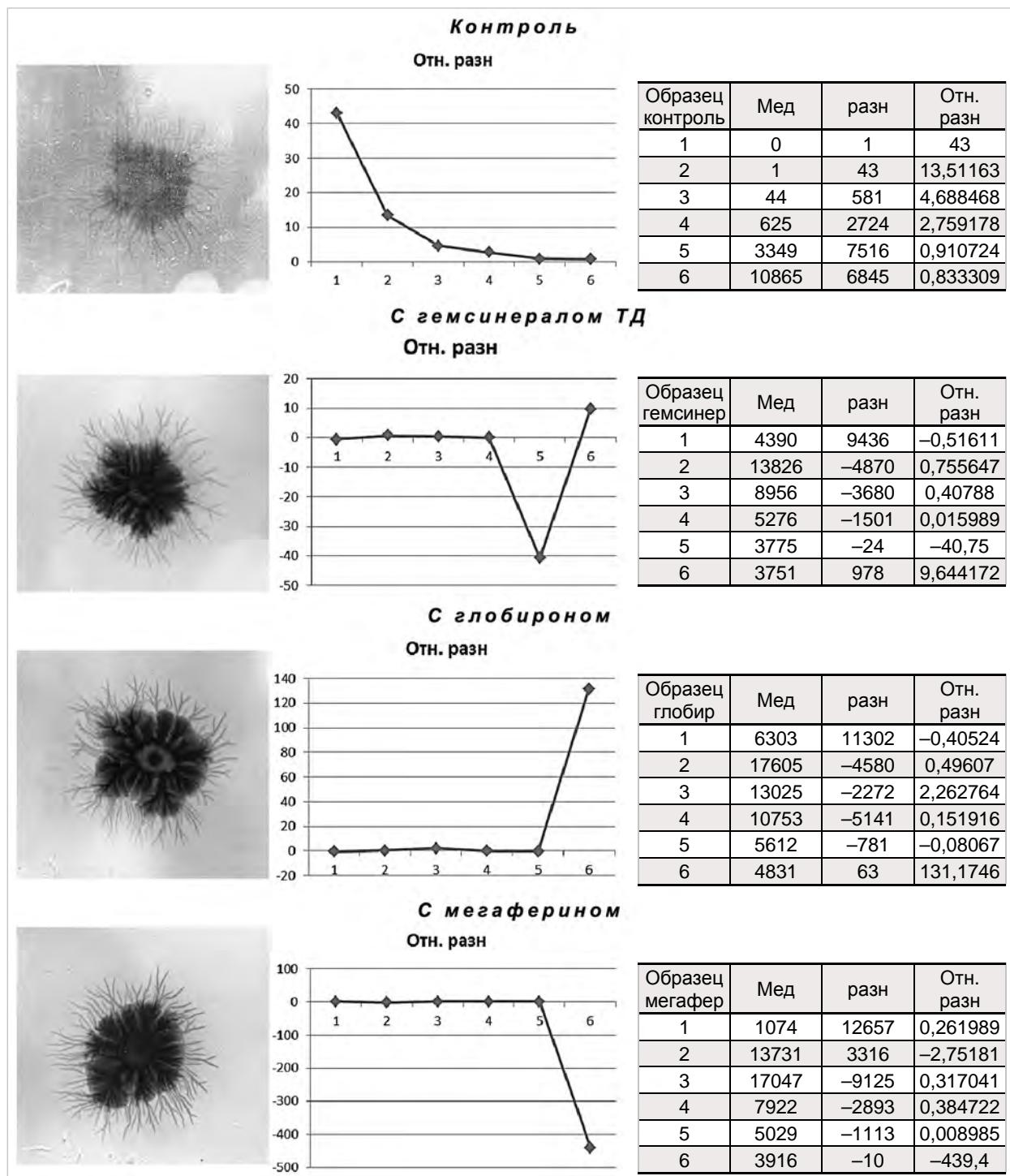


Рис. 4. Результати аналізу гистограм якості ГРС сыворотки крові у П.2.

При добавлении препаратов железа во всех образцах сыворотки крови у П.2 энергетика увеличилась. В отличие от П.1, только ГС не вызывал гемолиз лимфоцитов. С МФ был меньший гемолиз Эр, чем у П.1. Отличаются графики их ГР-свечения.

Выводы.

- ГР-свечение компонентов крови меняется в соответствии с физиологическим состоянием биологических образцов.

- Для выявления отличий и особенностей ГРС биообъектов возможно использование их гистограмм яркости.

Перспективы дальнейших исследований.

Целесообразно дальнейшее изучение метода регистрации ГРС биологических объектов для практического применения в медицине.

Література

- Глухова Н. В. Діагностика захворювань крові на основі кластерного аналізу зображень газорозрядного світіння / Н. В. Глухова, Л. А. Пісоцька // Медична інформатика та інженерія. – 2014. – № 3. – С. 58–63.
- Гурвич А. Г. Принципы аналитической биологии и теории клеточных полей / А. Г. Гурвич. – М. : Наука, 1991. – 250 с.
- Кирлиан С. Д. Способ получения фотографических снимков различного рода объектов / С. Д. Кирлиан // Авт. свид. №106401, кл. G03B 41/00. Подано 5.09.1949. Опубл. 1.01.1957 г.
- Коротков К. Г. Основы ГРВ биоэлектрографии / К. Г. Коротков. – СПб. : СПбГИТМО (ТУ), 2001. – 360 с.
- Пісоцька Л. А. Пристрій для реєстрації зображення кірліан-світіння біологічних об'єктів / Л. А. Пісоцька, О. П. Мінцер, Н. В. Глухова // Патент України на корисну модель №100879 від 10.08.2015 р. Бюл. №15. – 3 с.
- Песоцкая Л. А. Разработка метода анализа геометрических и яркостных параметров изображений газоразрядного излучения / Л. А. Песоцкая, Н. В. Глухова // Конференция «Биофизические методы в клинической лабораторной диагностике». З июля 2015. – С.-Петербург, 2015. – 6 с. [Электронный ресурс] –Доступно : <https://yadi.sk/d/6YIVh3pphvdJu>.
- Пісоцька Л. А. Порівняльний аналіз кірліанографічного світіння біологічної тканини з біохімічними процесами / Л. А. Пісоцька, Н. В. Глухова, В. А. Повстяний, Н. М. Євдокименко, Г. П. Черненко // Медична інформатика та інженерія. – 2015. – № 4. – С. 48 – 53.
- Mandel P. Energetische Terminalpunkt-Diagnose / P. Mandel. – Engan, 1983. – 199 p.

References

- Glukhova NV, Písots'ka LA. Díagnostika zakhvoryuvan' kroví na osnoví klasternogo analízu zobrazhen' gazorozryadnogo svítinnyha. Medichna ínformatika ta ínheneriya. 2014;3:58–63.
- Gurvich AG. Printsipy analiticheskoy biologii i teorii kletochnykh poley. M.: Nauka; 1991. 250 s.
- Kirlian SD. Sposob polucheniya fotograficheskikh snimkov razlichnogo roda ob»yektov. Avt. svid. №106401, kl. G03V 41/00. Podano 5.09.1949. Opubl. 1.01.1957 g.
- Korotkov KG. Osnovy GRV bioelektrografii. SPb. SPbGITMO (TU); 2001. 360 s.
- Písots'ka LA, Mintser OP, Glukhova NV. Pristríy dlya reéstratsií zobrazhennya kírlían-svítinnya bíologíchnikh ob'ěktiv. Patent Ukraïni na korisnu model' №100879 víd 10.08.2015 r. Byul. №15. – 3 s.
- Pesotskaya LA, Glukhova NV. Razrabotka metoda analiza geometricheskikh i yarkostnykh parametrov izobrazheniy gazorazryadnogo izlucheniya // Konferentsiya «Biofizicheskiye metody v klinicheskoy laboratornoy diagnostike» 3 iyulya 2015. S.-Peterburg; 2015. 6 s. Availble from: <https://yadi.sk/d/6YIVh3pphvdJu>.
- Písots'ka LA, Glukhova NV, Povstyaniy VA, Èvdokimenko NM, Chernenko GP. Porívnyal'niy analíz kírlíanografíchnogo svítinnya bíologíchnoi tkanini z biokhímíchnimi protsessami. Medichna ínformatika ta ínheneriya. 2015;4:48 – 53.
- Mandel P. Energetische Terminalpunkt-Diagnose. Engan; 1983. 199 p.

УДК 616.379-008.64:616.155.191]-072:616.717

ОЦІНКА ФІЗІОЛОГІЧНОГО СТАНУ КОМПОНЕНТІВ КРОВІ З ВИКОРИСТАННЯМ

МЕТОДУ РЕЄСТРАЦІЇ ГАЗОРОЗРЯДНОГО СВІТІННЯ

Пісоцька Л. А., Глухова Н. В., Лакіза Т. В., Симонова Т. А., Писарєвська О. В.

Резюме. В роботі досліджували газорозрядне світіння лімфоцитів та сироватки крові у пацієнтів з анемією при додаванні різних препаратів заліза в день забору крові і через добу. Застосовували реєстратор ефекту Кірліан, рентгенівську плівку. Отримані результати порівнювали між собою і з лабораторними даними підрахунку лімфоцитів та еритроцитів у зразках. Комп'ютерну обробку отриманих зображень корони світіння крапель проводили з побудовою гістограми яскравості світіння та їх аналізу. Виявили від-

мінності між показниками піддіапазонів гістограм ГРС зразків, які співвідносилися з лабораторними даними. Метод доцільно використовувати для раннього виявлення пошкоджень біологічної тканини.

Ключові слова: газорозрядне світіння; біологічний об'єкт; кров.

UDC 616.379-008.64:616.155.191]-072:616.717

ASSESSMENT OF THE PHYSIOLOGICAL STATE OF THE BLOOD COMPONENTS USING THE METHOD OF REGISTRATION OF A DISCHARGE LUMINESCENCE

Pesotskaya L., Glukhova H., Lakiza T., Simonova T., Pisarevskaya O.

Abstract. The relevance of the topic. Existing methods for detection of functional disorders of biological systems or objects today are mostly based on registration of changes of biochemical and chemical quantities. However, these changes appear when already rather pronounced morphological changes in the tissues. Therefore, it is important to study new methods of early detection of functional disorders of various biological objects, based on changes in their biophysical parameters, which are preceded by biochemical changes.

It is to register on the photographic material of the glow discharge (GDS) objects, including wildlife, in the field of high voltage, which is known as the Kirlian effect.

The *aim* of the study was to compare the change in G-the glow of lymphocytes and serum of blood in patients with anemia in the addition of various iron preparations.

Material and methods. Method of registration of the GRS investigated the serum and blood lymphocytes in 2 patients with iron deficiency anemia in a hospital. Suspensions of lymphocytes and blood serum were isolated using standard laboratory methods. Calculated T-active and cytotoxic T-lymphocytes by the method of rosette, number of erythrocytes in the day of blood sample and in a day of incubation after the addition of different oral iron preparations in comparison with the control. Kirlianography photographing was performed on x-ray film. To register GR-glow of the samples of blood components the experimental device «REK 1» was used developed by Ukrainian research Institute of engineering technologies National mining University (Dnipro). 30 drops were photographed of each sample that was scanned for subsequent computer processing. At the statistical processing of sample images of the corona glow drops of the sample used the average estimate of the number of pixels in a certain sub-band brightness (d). It was calculated the median difference, as the difference in the number of pixels in the current sub-band brightness, in comparison with the previous one. To assess changes in the intensity of illumination in the crown, reflecting its figure, it was calculated the ratio of the differences of median follow-up to the previous one ($N+1$)/ (N) .

Resistance of cell membranes to the destruction was the drug Hemineral. For the second patient (P.2) it was less optimal than for P.1, because in addition to hemolysis was caused by lymphocytes. With Globaren at P.1, on the contrary, preserved lymphocytes, but hemolysis was with red blood cells. With Megaterim P.1 all samples presented hemolysis; P. 2 presented hemolysis with lymphocytes, red blood cells, but it is incomplete, with the presence of cell membranes. The differences between the indices of the subbands histograms of GRS samples were correlated with the laboratory data. Method is useful for early detection of damage to biological tissue.

Conclusions. GR-glow of blood components varies according to the physiological state of biological samples. To identify the differences and features of GDS of possible biological objects using their histograms of brightness. It is advisable to study the method of registration GRS of biological objects for practical use in medicine.

Keywords: glow discharge; biological object; blood.

Стаття надійшла 04.04.2017 р.
Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування