

Исследования частотной и температурной зависимостей скорости и поглощения ультразвука в модифицированной сыворотке крови

А. В. Клемина^{1,*}, И. Ю. Демин^{1,†}, В. А. Клемин^{2,‡}, С. Н. Гурбатов^{1,§}

¹Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет имени Н. И. Лобачевского
Россия, 603022, Н. Новгород, пр. Гагарина, д. 23

²ООО «Фирма «БИОМ». Россия, 603950, Н. Новгород, ул. Ветеринарная, д. 3

(Статья поступила 01.07.2016; Подписана в печать 12.09.2017)

Результаты исследований сыворотки крови человека с помощью Акустического анализатора АКБа-01 БИОМ позволили разработать безреагентные методики определения белковых и липидных компонентов сыворотки крови. Дальнейшие перспективы в этой области связаны с использованием сред, полученным из сыворотки крови путем воздействия на сыворотку крови буферных растворов, которые позволяют удалить глобулины и оставить в модифицированной сыворотке крови альбумин в окружении низкомолекулярных компонентов данной сыворотки.

Альбумин является важнейшим переносчиком множества компонентов организма человека в процессе его жизнедеятельности. В настоящей работе приводятся результаты исследований модифицированной сыворотки крови, основным компонентом которой является альбумин. Обсуждаются перспективы использования полученных результатов для разработки методик лабораторной диагностики.

PACS: 43.35.Yb; 43.80.Q

УДК:534.8

Ключевые слова: скорость и поглощение ультразвука, акустический анализатор, альбумин.

ВВЕДЕНИЕ

Структура макромолекул в растворе играет важную роль при выполнении ими своих функций в организме. В сыворотке крови присутствует более 200 видов белков. Альбумин важнейший белок сыворотки крови, он синтезируется в печени и считается «годным» в течение 17–20 дней. На альбумин приходится 80 % общего белка. Он отвечает за поддержание в крови осмотического давления. Это позволяет химическим веществам не выпадать в осадок и нормально проходить биохимическим процессам метаболизма.

Альбумин в связанном состоянии является переносчиком для гормонов щитовидной железы и надпочечников. До 40 % кальция альбумин транспортирует в костную ткань. С помощью молекул альбумина синтезированные вещества разносятся из одного органа в другой. Альбумин связывает лекарственные вещества и доставляет их в нужное место. Белок поддерживает необходимый уровень жирных кислот, холестерина, билирубина. Это обеспечивает защиту от образования желчных конкрементов, работает против атеросклероза. Большинство из этих выполняемых альбумином функций для нормального функционирования организма определяется его структурой и ее изменениями в процессе функционирования.

Практически все исследования альбумина в клинико-диагностических лабораториях направлены на определение его концентрации, так как при пониже-

нии содержания альбумина снижаются и переносимые им компоненты, а действие назначенных доз лекарств изменяется. По концентрации альбумина в крови судят о функции печени, почек, степени воспалительной реакции. Мы поставили перед собой задачу зафиксировать изменение структуры альбумина при патологических состояниях организма.

Акустический метод успешно используется для исследования динамического равновесия между различными структурными формами макромолекул и позволяет получить кинетические характеристики структурных изменений с временем релаксации, сравнимым с периодом ультразвуковых волн [1]. Поэтому для исследования изменений структуры альбумина при патологических состояниях организма был выбран акустический метод.

1. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Раствор альбумина получали путем осаждения белков сыворотки крови пациентов ПОМЦ ФМБА России 6 % раствором трихлоруксусной кислоты с последующим восстановлением альбумина 2 % раствором углекислого натрия. Концентрацию альбумина определяли унифицированным бромкрезоловым зеленым методом [2].

На акустическом анализаторе АКБа-01 БИОМ, изготовляемом ООО «Фирма «БИОМ», измерялись относительное изменение скорости ультразвука (АКП) и относительное изменение поглощения ультразвука (В):

$$\text{АКП} = \frac{V_s - V_{H_2O}}{V_{H_2O}},$$

*E-mail: annet17@yandex.ru

†E-mail: demin@rf.unn.ru

‡E-mail: viktorklemin@mail.ru

§E-mail: gurb@rf.unn.ru

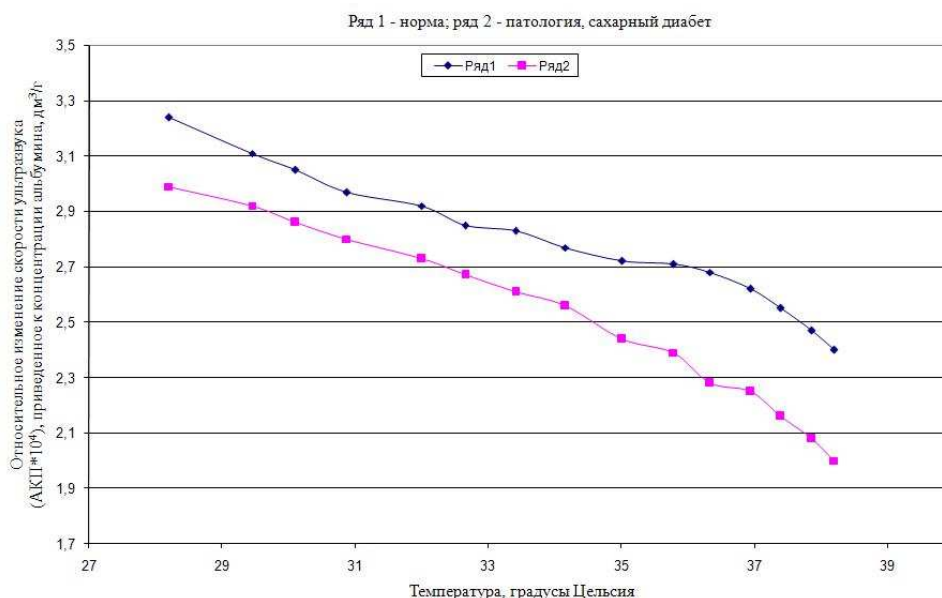


Рис. 1: Относительное изменение скорости ультразвука (АКП), приведенное к концентрации альбумина, от температуры в растворе альбумина

$$B = \frac{\Delta f_s - \Delta f_{H_2O}}{\Delta f_{H_2O} \cdot C_{al} \cdot f^2},$$

где V_s — скорость ультразвука в исследуемом образце, V_{H_2O} — скорость ультразвука в дистиллированной воде, Δf_s — ширина резонансного пика в исследуемом образце, Δf_{H_2O} — ширина резонансного пика в дистиллированной воде, C_{al} — концентрация альбумина, f — частота ультразвуковых волн.

Указанные выше величины измерялись в диапазоне частот (7.0–9.2) МГц и в диапазоне температур (28–38) °C. Измерения проводились с погрешностью 10^{-5} по скорости ультразвука и $2 \cdot 10^{-3}$ по поглощению ультразвука. Особенности методики оценки точности измерения акустических характеристик отражены в работе [3].

Изменить структуру альбумина можно с помощью изменения pH раствора. В этом случае происходит разворачивание макромолекулы альбумина и увеличение доступности внутренних аминокислотных остатков макромолекулы. Скорость и коэффициент поглощения ультразвука возрастут.

В организме человека в норме pH нейтрально, но при возникновении патологических состояний pH может изменяться, и это приводит к изменению структуры альбумина. Например, при сахарном диабете сыворотка крови «защелачивается», т.е. pH уменьшается, поэтому и скорость, и поглощение ультразвука могут измениться.

Мы провели измерение относительного изменения скорости ультразвука и относительного изменения поглощения в растворе альбумина, полученного из сыворотки крови донора и больного сахарным диабетом.

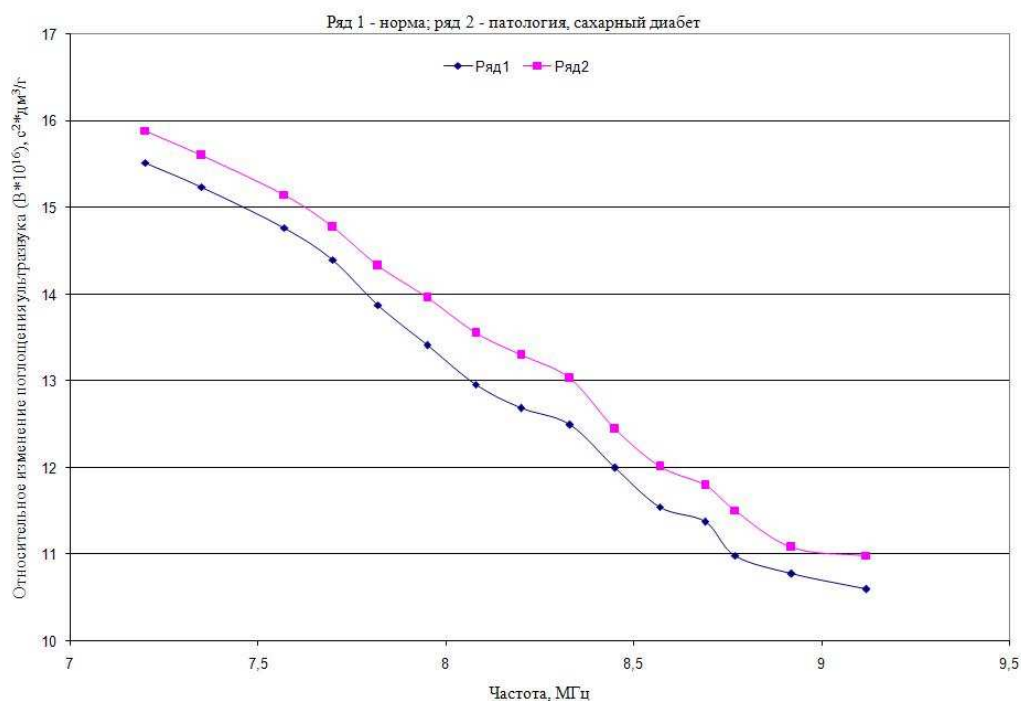
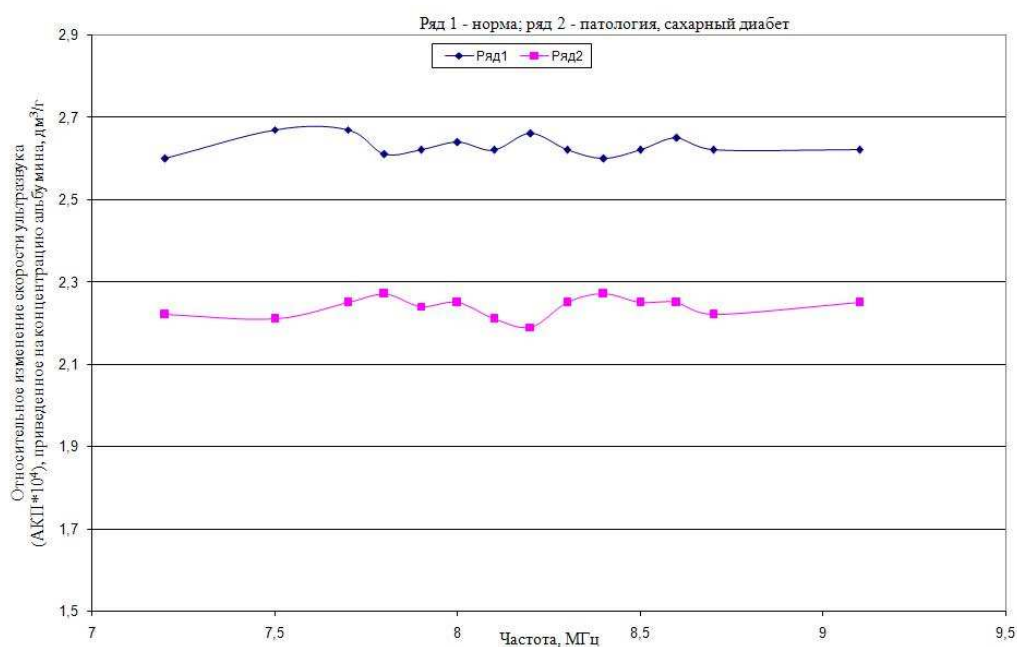
Результаты измерений представлены на рис. 1–3.

Из рис. 3 видно, что относительное изменение скорости ультразвука в растворе альбумина, приведенное на концентрацию альбумина не зависит от частоты в диапазоне (7–9.2) МГц, как для раствора альбумина, приготовленного из сыворотки крови донора, так и для пациента с сахарным диабетом.

2. ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ результатов исследования температурной зависимости относительного изменения скорости ультразвука в растворе альбумина, а также частотной зависимости относительного изменения поглощения ультразвука в растворе альбумина показал, что структура альбумина у пациента с сахарным диабетом (диагноз подтвержден) изменена относительно структуры альбумина донора.

Были исследованы растворы альбумина 18 доноров (здоровые пациенты ПОМЦ ФМБА России) и полученные значения относительного изменения скорости АКП, приведенные на концентрацию альбумина, и относительного изменения поглощения В доноров, характеризующие структуру альбумина. Полученные значения в пределах ошибки измерений одинаковым образом зависят от температуры и частоты в исследованных диапазонах частот и температур. Все обследованные 12 пациентов с сахарным диабетом имели отличные от нормальных значения В и АКП, приведенные на концентрацию альбумина.

Рис. 2: Относительное изменение поглощения ультразвука (B) в растворе альбумина от частоты ультразвукаРис. 3: Относительное изменение скорости ультразвука (АКП), приведенное на концентрацию альбумина от частоты ультразвука при $T=36,94^\circ\text{C}$ в растворе альбумина

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования частотных и температурных зависимостей относительного изменения скорости АКП, приведенные на концентрацию альбумина, и от-

носительного изменения поглощения B позволяют надеяться, что изменения структуры альбумина, зафиксированные акустическим методом могут быть использованы для разработки методики уточнения диагноза сахарного диабета, а также для скрининга пациентов при профилактических обследованиях населения.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ «Статистические, регулярные и обратные задачи физики

нелинейных слабо диспергирующих волн и структур», проект 14-12-00882.

-
- [1] Физическая акустика. 2, часть А. / Под ред Мэзона У. М.: Мир, 1968.
[2] Камышников В. С. Методы клинических лабораторных исследований. М.: Медпресс-Информ, 2011.
[3] Клемина А. В. Акустическая интерферометрия биологи-

ческих жидкостей для медицинской лабораторной диагностики: Дис. ... канд. физ.-мат. наук. Нижний Новгород. 2010.

Studies of the frequency and temperature dependences of the rate and absorption of ultrasound in modified serum

A. V. Klemina^{1,a}, I. Yu. Demin^{1,b}, V. A. Kleimn^{2,c}, S. N. Gurbatov^{1,d}

¹*N. I. Lobachevsky Nizhny Novgorod State University. Nizhny Novgorod, 603022, Russia*

²*ООО «Firma «БИОМ». Nizhny Novgorod, 603950, Russia*

E-mail: ^aannet17@yandex.ru, ^bdemin@rf.unn.ru, ^cviktorklemin@mail.ru, ^dgurb@rf.unn.ru

The results of human blood serum studies with the help of the AKB-01 BIOM Acoustic Analyzer enabled the development of non-reagent methods for determining protein and lipid components of blood serum. Further perspectives in this area are related to the use of media obtained from blood serum by affecting the serum of buffer solutions that allow the removal of globulins and leave the albumin in modified serum in the environment of low-molecular components of this serum. Albumin is an important carrier of many components of the human body in the process of its life. The report presents the results of studies of modified serum, the main component of which is albumin. The prospects of using the results obtained for the development of laboratory diagnostic techniques are discussed.

PACS: 43.35.Yb, 43.80.Q.

Keywords: ultrasonic velocity and absorption, acoustic analyzer, albumin.

Received 01 July 2017.

Сведения об авторах

1. Клемина Анна Викторовна — канд. физ.-мат. наук, доцент; тел.: (831) 465-63-05, e-mail: annet17@yandex.ru.
 2. Демин Игорь Юрьевич — канд. физ.-мат. наук, доцент; тел.: (831) 465-63-05, e-mail: demin@rf.unn.ru.
 3. Клемин Виктор Александрович — канд. биол. наук, ген. директор ООО «Фирма «БИОМ»; тел.: (831) 434-50-80, e-mail: viktorklemin@mail.ru.
 4. Гурбатов Сергей Николаевич — доктор физ.-мат. наук, зав. кафедрой; тел.: (831) 465-63-05, e-mail: gurb@rf.unn.ru.
-