

Акустические исследования эритроцитов крови человека под воздействием солевых растворов

Д.А. Стрельцов,^{*} А.В. Клемина[†]

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

(Статья поступила 01.07.2017; Подписана в печать 12.09.2017)

Проведены исследования изменений структуры эритроцитов акустическим методом — методом интерферометра постоянной длины. Метод основан на использовании стоячих ультразвуковых волн в цилиндрическом резонаторе. В ходе эксперимента бралась цельная кровь человека, на эритроциты которой действовали гипотоническими и гипертоническими растворами. Полученная суспензия помещалась в акустическую ячейку анализатора. Проводилось сравнение относительной скорости ультразвука в цельной крови и после воздействия на нее гипотоническим и гипертоническим растворами. Была получена четкая картина изменения структуры эритроцитов под воздействием растворов, причем все данные были получены акустическими измерениями.

PACS: 43.35.Yb; 43.80.Q

УДК: 534.8

Ключевые слова: акустический анализатор, эритроциты, солевые растворы.

ВВЕДЕНИЕ

Исследование физических характеристик биологических жидкостей является актуальной задачей, имеющей прикладное значение в области биологии и медицины. Акустические исследования биологических жидкостей позволяют изучать тонкие структурные характеристики и гидратацию биологических макромолекул в растворе, их межмолекулярные взаимодействия.

Вопросы профилактики болезней системы кровообращения — ведущей причины смертности во всех индустриально развитых странах — уже несколько десятилетий занимают как теоретическую медицину, так и врачей практиков.

Важным направлением использования акустического метода интерферометра постоянной длины в лабораторной медицине является изучение свойств эритроцитов человека при воздействии на них гипотонических, гипертонических растворов и кислот [1].

1. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ СТРУКТУРЫ ЭРИТРОЦИТОВ

В качестве экспериментальной установки использовался акустический анализатор «БИОМ». Внешний вид прибора представлен на рис. 1.

Прибор представляет собой термостатируемый интерферометр постоянной длины. Работа прибора основана на том, что столбик исследуемой жидкости, находящейся в цилиндрической полости между двумя пьезопреобразователями (рис. 2), является механическим резонатором, собственные частоты которого линейно



Рис. 1: Акустический безреагентный анализатор «БИОМ»

связаны со скоростью ультразвука в исследуемой среде.

Анализатор предназначен для определения концентрации веществ в водно-солевых растворах методами биофизической акустики путем измерения резонансных частот растворов [2]. В ячейках осуществляется частотное и температурное сканирование образцов. Полученная информация в виде акустического спектра (зависимости скорости и поглощения ультразвука от частоты при различных температурах) передается с анализатора в персональный компьютер, где обрабатывается с помощью специальных программ многопараметрического анализа, позволяющих из сложного акустического спектра выделить: - параметры липидного обмена, параметры белкового обмена.

В ходе работы было проведено исследование изменений структуры эритроцитов акустическим методом в цельной крови человека с использованием гипотонических, гипертонических и изотонических растворов, проведена обработка результатов и предложено дальнейшее направление развития исследования.

Гипертонический раствор — раствор, имеющий большую концентрацию вещества по отношению к внутриклеточной. При погружении клетки в гипертонический раствор, происходит её дегидратация — внутриклеточная вода выходит наружу, что приводит к вы-

^{*}E-mail: danstreltsov@mail.ru

[†]E-mail: annet17@yandex.ru

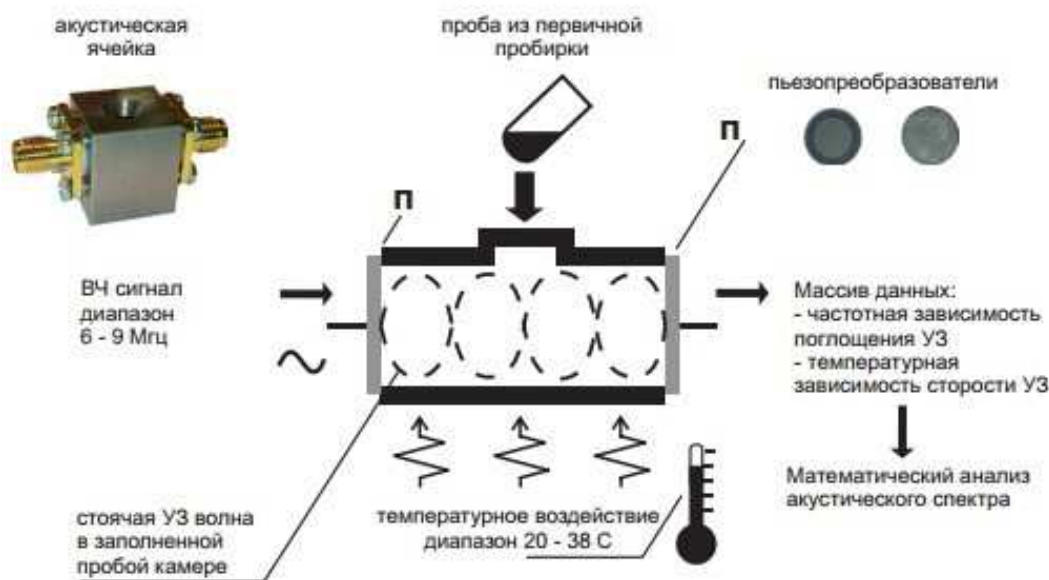


Рис. 2: Схематическое представление работы прибора «БИОМ»

сыханию и сморщиванию клетки. Гипотонический раствор — раствор, обладающий меньшей концентрацией вещества по отношению к внутриклеточной. При погружении клетки в гипотонический раствор вода под действием осмотического давления проникает внутрь клетки, то есть происходит её гипергидратация — набухание.

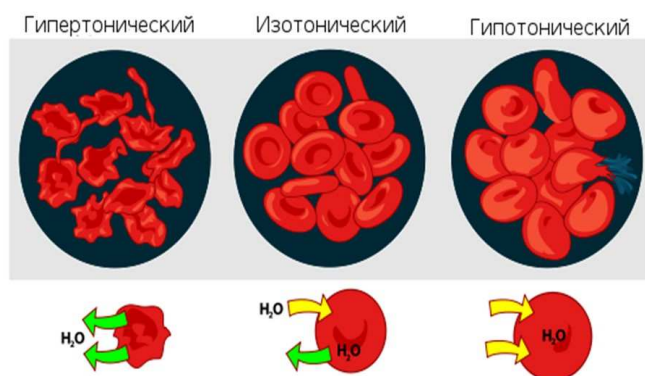


Рис. 3: Взаимодействие эритроцитов с растворами разной тоничности

Вначале проводились исследования амплитудно-частотных зависимостей в дистиллированной воде в 2 акустических ячейках прибора (калибровка прибора). Специальным ультразвуковым термометром была измерена температура в ячейках. Дальнейшие исследования проводились с цельной кровью человека. Было изучено влияние на эритроциты человека гипертонического, изотонического и гипотонического растворов различной концентрации.

Для исследования были приготовлены 9 растворов

нужной концентрации NaCl. Суспензии для исследования получались путем смешивания в пропорции 1:1 трехкратно отмытых в изотоническом растворе эритроцитов крови здорового человека и раствора NaCl нужной концентрации. Всего использовалось 9 растворов (3 гипертонических (№6–8), изотонический (N) и 5 гипотонических (№ 1–5) и 9 приготовленных с помощью них суспензий. Концентрации растворов представлены в табл. 1.

С помощью растворов имитировались различные патологии эритроцитов (набухание или сморщивание). Проводилось сравнение относительной скорости ультразвука в цельной крови и после воздействия на нее гипотоническими и гипертоническими растворами. Для исследования концентраций веществ в биологических жидкостях введена величина — акустический параметр (АСР — acoustic parametr): $АСР = \left(\frac{V_{sol}}{V_{wat}} - 1 \right) \cdot 1000$, где V_{wat} — скорость ультразвука в ячейке с дистиллированной водой, V_{sol} — скорость ультразвука в ячейке с исследуемой жидкостью, АСР — относительное изменение скорости звука по отношению к эталону, по которому производится калибровка прибора.

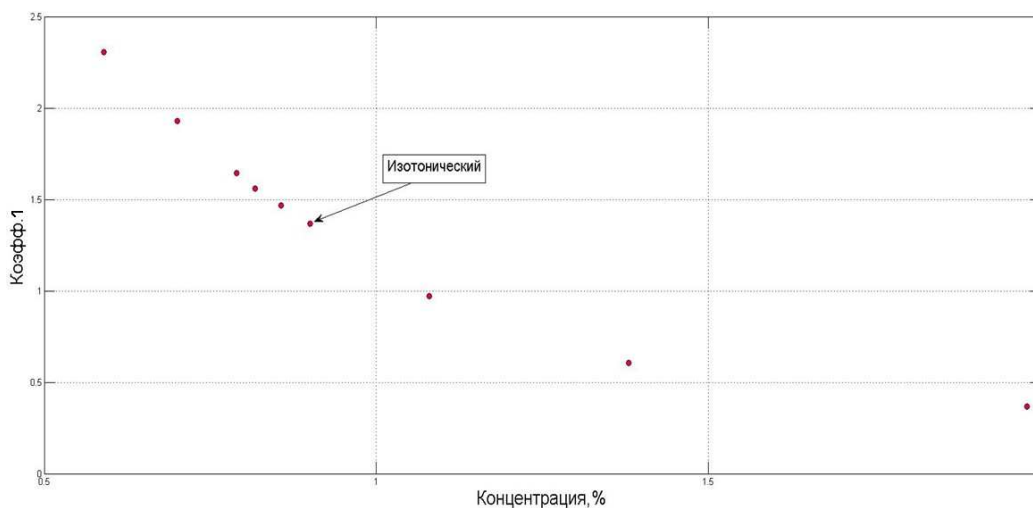
В табл. 1 представлены значения АСР в исследуемых растворах и суспензиях.

2. ОБРАБОТКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ДАННЫХ

По полученным данным было предложено два варианта обработки данных (два относительных коэффициента). Для обработки результатов эксперимента была написана программа для вычисления коэффициентов

Таблица I:

№ р-ра	1	2	3	4	5	N	6	7	8
Концентрация NaCl, %	0.59	0.7	0.79	0.818	0.857	0.9	1.08	1.38	1.98
АСР р-ра	3.69	4.32	4.96	5.22	5.46	5.71	7.26	9.71	12.61
АСР суспензий	12.2	12.65	13.11	13.37	13.47	13.51	14.32	15.60	17.24
$K1$	2.3062	1.9282	1.6431	1.5613	1.467	1.366	0.9725	0.6066	0.3672
$K2$	-0.097	-0.0637	-0.0296	-0.0104	-0.003	0	0.06	0.1547	0.2761

Рис. 4: Зависимость коэффициента $K1$ от концентрации раствора

$K1$ и $K2$ и построения графиков зависимости этих коэффициентов от концентрации растворов NaCl.

Первый коэффициент $K1 = \frac{ACP_{N_0}^S - ACP_{N_0}}{ACP_{N_0}}$, где $ACP_{N_0}^S$ — это АСР в суспензии с соответствующим раствором, а ACP_{N_0} — акустический параметр в чистом растворе. В табл. 1 представлены значения $K1$ для различных растворов.

График зависимости $K1$ от концентрации раствора представлен на рис. 4.

Используя коэффициент $K1$, получили разброс значений относительно изотонического раствора. У всех суспензий с добавлением гипотонических растворов $K1$ выше, чем у суспензии с добавлением изотонического раствора. Соответственно у всех суспензий с добавлением гипертонических растворов $K1$ соответственно ниже.

Второй предложенный коэффициент $K2$ не связан с измерением АСР чистых растворов: $K2 = \frac{ACP_{N_0}^S - ACP_N^S}{ACP_N^S}$, где $ACP_{N_0}^S$ — это АСР в суспензии с соответствующим раствором, а ACP_N^S — это АСР в суспензии с изотоническим раствором. В табл. 1 представлены значения $K2$ для различных растворов.

График зависимости $K2$ от концентрации раствора представлен на рис. 5.

Коэффициент $K2$ более применим для дальнейшей разработки метода определения состояния эритроцитов в цельной крови пациентов. На графике четко видна разница при воздействии растворов различного типа, причем имеем линейную зависимость $K2$ от концентрации растворов с хорошей точностью ($R = 0.96-0.98$ в разные дни измерений).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Целью настоящей работы было исследование изменений структуры эритроцитов акустическим методом. Все проведенные исследования изменений упругих свойств эритроцитов под действием растворов показали возможность в дальнейшем использовать данные для моделирования изменений формы и свойств эритроцитов в организме человека. В дальнейшем предлагается разработка акустического метода определения состояния эритроцитов, выявить диапазоны значений предложенных коэффициентов для нормальных эритроцитов (без отклонений) и для эритроцитов с патологиями.

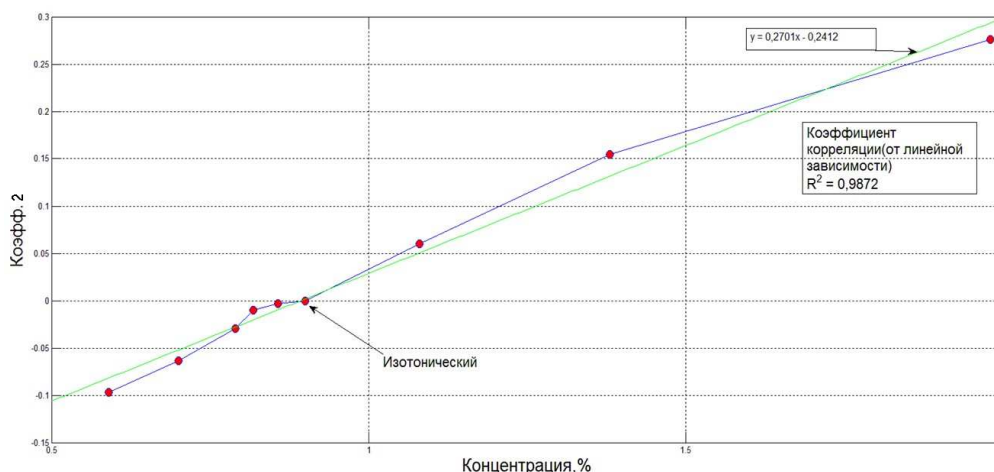


Рис. 5: Зависимость коэффициента K_2 от концентрации раствора

- [1] Shuhg K. K., Krisko B. A. JASA. 1982. **72**, N 5. P. 1364.
[2] Гурбатов С. Н., Клемина А. В., Демин И. Ю., Кле-

мин В. А. Датчики и системы. 2011. № 12. С. 23.

Acoustic studies of human erythrocytes under the influence of saline solutions

D. A. Streltsov^a, A. V. Klemina^b

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

E-mail: ^adanstreltsov@mail.ru, ^bannet17@yandex.ru

Studies of changes in the structure of erythrocytes by an acoustic method-the method of a constant-length interferometer-have been carried out. The method is based on the use of standing ultrasonic waves in a cylindrical resonator. In the course of the experiment, the whole human blood was taken, the erythrocytes of which were hypotonic and hypertonic solutions. The resulting suspension was placed in the acoustic cell of the analyzer. Comparison of the relative velocity of ultrasound in whole blood and after exposure to hypotonic and hypertonic solutions was performed. A clear picture of the change in the structure of erythrocytes under the influence of solutions was obtained, and all the data were obtained by acoustic measurements.

PACS: 43.35.Yb; 43.80.Q.

Keywords: acoustic analyzer, erythrocytes, saline solutions.

Received 01 July 2017.

Сведения об авторах

1. Стрельцов Данила Андреевич — магистрант; тел.: (831) 465-63-05, e-mail: danstreltsov@mail.ru.
2. Клемина Анна Викторовна — канд. физ.-мат. наук, доцент; тел.: (831) 465-63-05, e-mail: annet17@yandex.ru.