

ORIGINAL ARTICLE



Specialties of Blood Serum Structurization Under Some Physiological Conditions

Andrew K. Martusevich^{1,2*}, Lida K. Kovaleva², Lubov M. Kozlova²
and Maria A. Feofilova³

¹ Laboratory of medical biophysics, Privolzhsky Research Medical University; 603155, Russia, Nizhny Novgorod, Minin sq., 10/1

² Laboratory of biocrystallomics and free radical medicine, Kirov State Medical University; 610027, Russia, Kirov, Karl Marx st., 112

³ Medical institute, Tula State University; 300012, Russia, Tula, Lenin av., 92

*E-Mail: cryst-mart@yandex.ru

Received August 2, 2018

Background: it is well-known that physiological stress agents can to produce a significant response of regulatory systems. At the same time, the nature of metabolic shifts in the organism during significant physical exertion and emotional stress has been insufficiently studied in detail.

Aim: The aim of this investigation is study of modification of crystallogenic properties of human blood serum action under physical exertion and psychoemotional stress.

Results: it is stated that physical exertion and psychoemotional stress causes increasing of crystallogenic activity of human blood serum. This trend is more pronounced for the first impact. This is confirmed by the results of vizuametric analysis of blood serum facias and its spectrometric testing.

Conclusion: we show that crystalloscopic picture of blood serum is an informative criterion of different physiological conditions, including physical exertion and psychoemotional stress. It realized in the shifts of structure of biological fluid facias.

Key words: biocrystallomics, stress factors, blood serum

Известно, что даже физиологические стрессоры способны вызвать существенные ответные реакции со стороны регуляторных (нейро-иммуно-гормональный контур) и эффекторных (кардиореспираторная надсистема) систем (Судаков, 1997). В то же время характер метаболических сдвигов, происходящих в организме при значимых физических нагрузках и психоэмоциональном стрессе изучен недостаточно подробно (Дерягина, 2001; Дмитриева, Воложин, 2001; Мартусевич, Сафарова, 2007).

Экзаменационный стресс – достаточно сильный психофизиологический раздражитель для студента с социально-детерминированной значимостью и важностью результата, выводящий многие системы организма из состояния равновесия на длительное время, что сохраняется и после ответа по билету (Першина, Спичин, 2013; Спичин *и др.*, 2016). В связи с этим, данная ситуация является удобной моделью для оценки психоэмоционального воздействия, в том числе и на тезиокристаллоскопическую картину сыворотки крови (Савина, 1999; Кидалов *и др.*, 2004; Максимов, 2007).

В настоящее время известен ряд стандартизированных тестов, позволяющих изучать физическую работоспособность индивида (Воложин, Субботин, 1987). Одним из наиболее распространенных среди них является тест PWC 170, позволяющий с учетом возраста, пола и уровня физической тренированности человека оценивать функциональные резервы организма в целом и кардиореспираторной системы в частности (Епифанов, 2007). Более того, проба Physical Working Capacity (PWC), разработанная в Каролинском университете в Стокгольме Шестрандом в 50-х годах XX в., еще в 1968 г. рекомендована ВОЗ для определения физической работоспособности человека. Данный метод (от английского Physical Working Capacity - "физическая работоспособность") заключается в определении мощности стандартной нагрузки, при которой частота сердечных сокращений (ЧСС) достигает 170 ударов в минуту. Его стандартизованность и

предопределила возможность его применения в качестве модели значимой индивидуализированной физической нагрузки.

Целью исследования служила оценка модификации кристаллогенных свойств сыворотки крови человека в условиях психоэмоционального и физического напряжения.

MATERIALS AND METHODS

Нами проведена оценка кристаллогенной и иницирующей активности сыворотки крови 35 практически здоровых студентов-добровольцев (возраст 18-20 лет). У всех испытуемых производили забор крови в спокойном состоянии (в межсессионный период), после выполнения физической нагрузки и непосредственно перед сдачей курсового экзамена. В качестве модели физической нагрузки использовали тест PWC 170 в варианте велоэргометрической пробы. Мощность первой и второй нагрузок рассчитывали по таблицам с учетом антропометрических данных, возраста и пола испытуемых.

Сыворотку крови получали стандартным методом путем центрифугирования непосредственно после получения крови. Для изучения кристаллогенных и иницирующих свойств биологической жидкости приготавливали микропрепараты по методике тезиокристаллоскопии (Камакин, Мартусевич, 2003, 2003; Мартусевич *и др.*, 2010). Базисным веществом в тезиграфическом тесте служил 0,9% раствор хлорида натрия. Описание результатов собственного и иницированного кристаллообразования биологического субстрата производили с использованием системы полуколичественных параметров (Мартусевич, 2011).

Данные визуальной морфометрии микропрепаратов высушенной РЖ дополнялись спектрометрическим исследованием кристаллоскопических и тезиграфических фаций, выполняемым на микроспектрофотометре PowerWave XS (США) при длинах волн 300, 350 и 400 нм. Для нивелирования влияния характеристик стекла на результаты спектрометрического исследования биокристаллов введена поправка на

оптическую плотность самого материала (для кристаллоскопии) или контрольного образца базисного вещества, нанесенного на то же стекло (для тизиграфического теста).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программы Statistica 6.0.

RESULTS AND DISCUSSION

На основании полученных результатов выполнен сравнительный анализ влияния физической нагрузки и психоэмоционального напряжения на кристаллогенные и иницирующие свойства сыворотки крови. В частности, установлено, что указанные физиологические стрессоры способствуют существенному преобразованию собственного кристаллообразования рассматриваемой биологической жидкости (рис. 1 и 2).

При этом важно подчеркнуть, что направленность сдвигов по всем основным оценочным показателям при обоих вариантах воздействия аналогична, что обусловлено универсальностью стресс-ответа организма на раздражитель, однако выраженность смещения значения параметров неодинакова. Так, при выполнении теста PWC 170 изменения кристаллоскопической картины сыворотки крови были более отчетливыми и включали усложнение структурной организации кристаллических элементов (за счет преобладания дендритных кристаллических образований с минимальным количеством одиночных структур), увеличение их плотности в фации в сочетании с нарастанием степени их деструкции. Это проявилось в статистически значимом приросте уровня индекса структурности, кристаллизруемости и параметра СДФ соответственно ($p < 0,05$). Кроме того, после осуществления велоэргометрической пробы наблюдали существенное расширение краевой зоны микропрепарата, приводящее к увеличению показателя выраженности последней (K_3), причем в этом случае указанная зона фации была шире не только по сравнению с фациями сыворотки крови, полученными в состоянии покоя, но и в условиях экзаменационного стресса ($p < 0,05$). С учетом того, что краевая зона микропрепарата формируется

белковыми макромолекулами (Shabalin et al., 1995; Шабалин, Шатохина, 2001; Mollaret et al., 2004; Yakhno et al., 2004), можно предположить нарастание концентрации протеинов в биологической жидкости, поступающих в кровь при интенсификации метаболизма в мышечной ткани.

Согласно полученным результатам, эмоциональная нагрузка вызывает формирование менее значительных сдвигов морфологии кристаллограмм сыворотки крови (рис. 1). В частности, в условиях экзаменационного стресса наблюдали умеренную, но статистически достоверную тенденцию к усложнению организации кристаллических структур (по индексу структурности фации; $p < 0,05$), однако она была менее существенной, чем при выполнении физической нагрузки. В отношении кристаллизруемости биологической среды – показателя, характеризующего количественную сторону кристаллогенеза (Мартусевич, 2011), – увеличение уровня параметра зарегистрировано лишь на уровне тенденции ($p < 0,01$). Сопоставимым с характерным для физического напряжения оказалось повышение степени деструкции фации, в предэкзаменационный период также превышающее 1,5 балла.

При эмоциональном стрессе, как и после выполнения теста PWC 170, отмечали значимое расширение краевой зоны микропрепарата дегидратированной сыворотки крови ($p < 0,05$), но в этом случае оно было менее выраженным, чем при физической нагрузке. По нашему мнению, это может быть обусловлено трансформациями белкового спектра биологической жидкости без существенного изменения уровня общего белка в сыворотке крови испытуемых в предэкзаменационный период, что соотносится с данными литературы (Дерябина, Залеский, 2005).

Зафиксированные методом визуаметрического анализа кристаллоскопических фаций сдвиги были верифицированы последующим их спектрометрическим исследованием при длинах волны 300, 350 и 400 нм. (рис. 2). Установлено, что при обоих вариантах реализации стресса оптическая плотность кристаллограмм возрастает, причем в

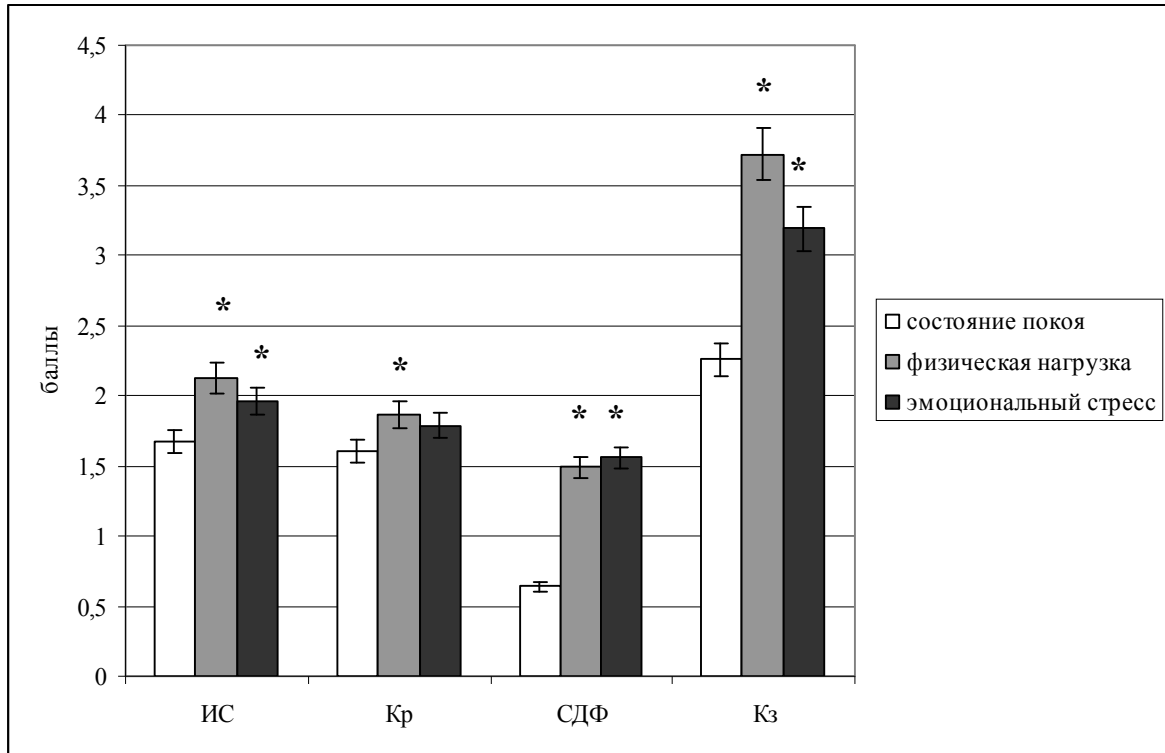


Figure 1. Результаты визуаметрии кристаллограмм сыворотки крови здоровых людей при физической нагрузке и эмоциональном стрессе («*» – уровень статистической значимости различий по сравнению с показателем, характерным для состояния покоя $p < 0,05$)

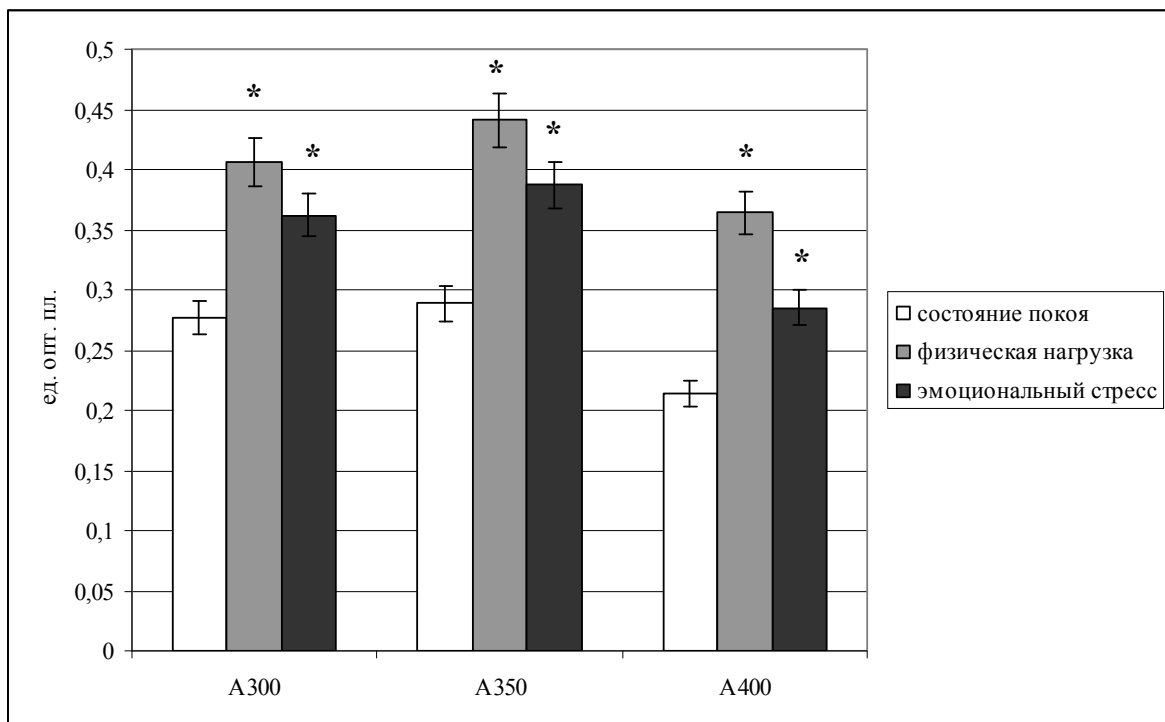


Figure 2. Спектрометрия кристаллоскопических фаций сыворотки крови здоровых людей при физической нагрузке и эмоциональном стрессе («*» – уровень статистической значимости различий по сравнению с показателем, характерным для состояния покоя $p < 0,05$)

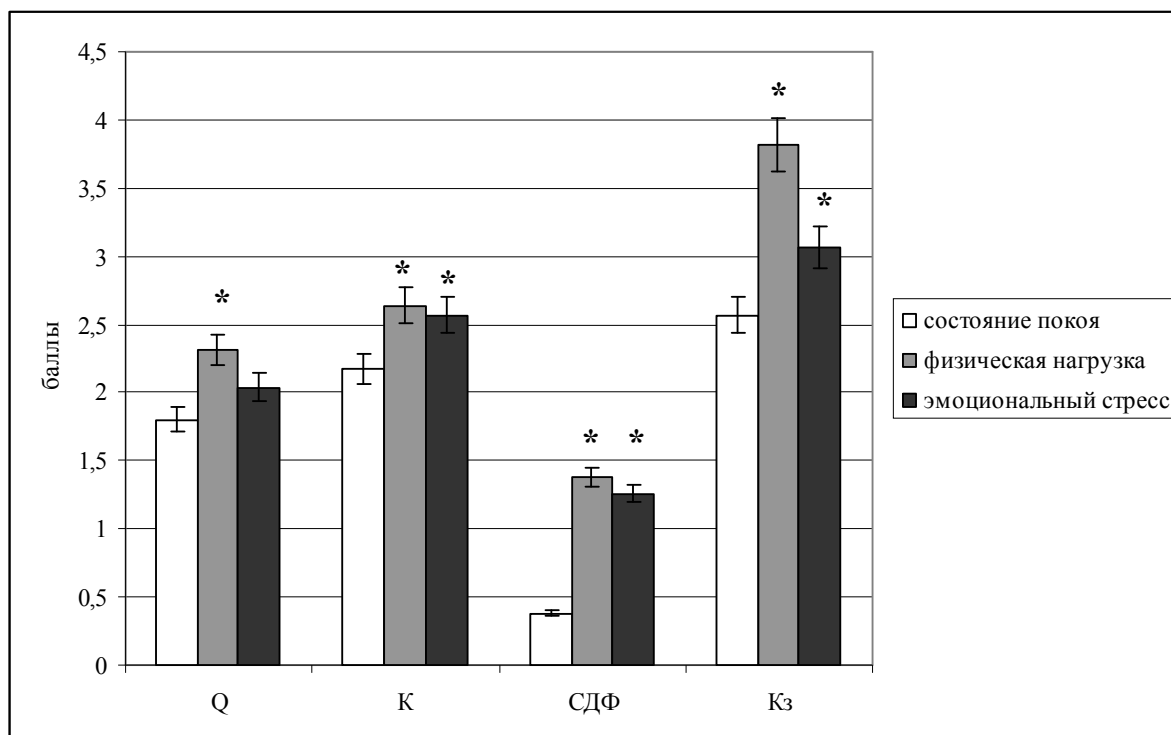


Figure 3. Результаты визуаметрии тезиграмм сыворотки крови здоровых людей при физической нагрузке и эмоциональном стрессе («*» – уровень статистической значимости различий по сравнению с показателем, характерным для состояния покоя $p < 0,05$)

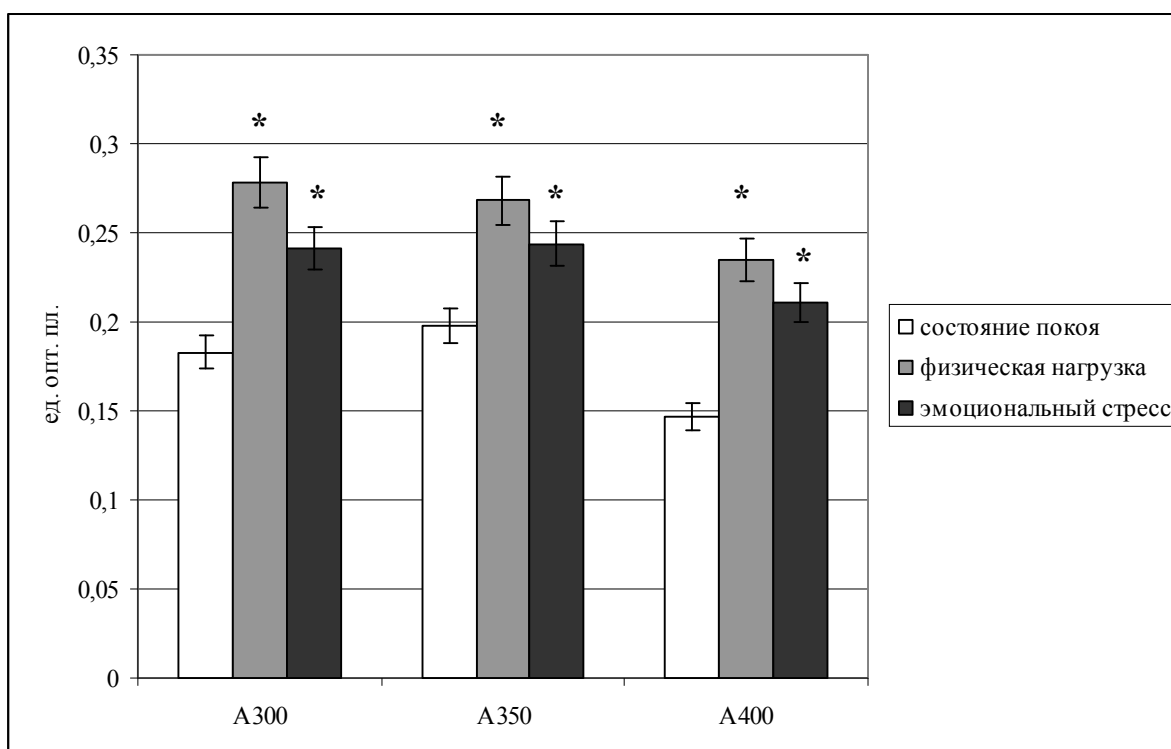


Figure 4. Спектрометрия тезиграфических фаций сыворотки крови здоровых людей при физической нагрузке и эмоциональном стрессе («*» – уровень статистической значимости различий по сравнению с показателем, характерным для состояния покоя $p < 0,05$)

случае выполнения нагрузочного теста PWC 170 данная тенденция более отчетлива при всех использованных длинах волны, статистически значимо отличаясь как от уровня показателя, зарегистрированного в состоянии покоя, так и непосредственно перед сдачей экзамена ($p < 0,05$).

Следует заметить, что повышение оптической плотности фаций в этих случаях обусловлено увеличением количества и усложнением кристаллических элементов, формирующих кристаллоскопическую картину биологической жидкости. Таким образом, спектрометрические данные позволяют подтвердить результаты визуаметрической оценки кристаллоскопических фаций в состоянии покоя и в условиях стресс-реакции.

Также была проведена комплексная оценка иницирующих свойств сыворотки крови практически здоровых людей при реализации метаболического ответа на физическое напряжение и психоэмоциональный стресс (рис. 3 и 4). Выявлено, что, как и в отношении кристаллогенной активности биологического субстрата, в тезиграфическом тесте в условиях стресс-реакции наблюдали нарастание значений большинства визуаметрических параметров, однако степень выраженности данного тренда варьирует в зависимости от вида стрессирующего фактора (рис. 3). В частности, по уровню основного количественного показателя – тезиграфического коэффициента Q – непосредственно после физической нагрузки регистрировали нарастание инициаторного потенциала биосреды, о чем свидетельствовало значимое увеличение данного параметра ($p < 0,05$). Напротив, в предэкзаменационный период существенных сдвигов плотности кристаллических структур в тезиграммах сыворотки крови испытуемых людей не выявлено. Следует отметить, что значение рассматриваемого критерия после физического напряжения было выше, чем перед сдачей экзамена ($p < 0,05$).

В то же время оба стрессирующих фактора способствовали усложнению формируемых кристаллических элементов в высушенных образцах

биологической жидкости, на что указывало умеренное нарастание уровня кристалличности ($p < 0,05$ для обоих случаев). Аналогичная динамика имела место в отношении степени деструкции фации – неспецифического маркера «правильности» кристаллообразования. По нашему мнению, характер изменения этих параметров отражает универсальный компонент метаболического стресс-ответа.

Особенности формирования краевой зоны микропрепарата дегидратированной сыворотки крови при воздействии изучаемых стрессирующих факторов в целом аналогичны обнаруженным для основного тезиграфического коэффициента, но данный параметр статистически возрастает как после физической нагрузки, так и в предэкзаменационный период ($p < 0,05$). Это позволяет предполагать наличие перестроек протеома сыворотки крови при обоих исследуемых состояниях, причем при выполнении теста PWC 170 эти изменения выражены в большей степени ($p < 0,05$).

Приведенные сдвиги иницированного кристаллообразования сыворотки крови, как в случае кристаллоскопических фаций биологической жидкости, полностью подтверждаются результатами спектрометрического исследования (рис. 4). Так, при всех использованных длинах волны тезиграммы сыворотки крови демонстрируют более высокий уровень оптической плотности по сравнению с высушенными образцами биосреды, полученными от этих же людей в спокойном состоянии ($p < 0,05$). В то же время при длине волны 300 и 400 нм оптическая плотность фаций сыворотки крови испытуемых после физической нагрузки статистически значимо превышает таковую, характерную для предэкзаменационного периода ($p < 0,05$).

CONCLUSIONS

Таким образом, тезиокристаллоскопическая картина сыворотки крови является чутким индикатором различных физиологических состояний, в том числе физической и эмоциональной нагрузки, что находит отражение в изменениях морфологии высушенных микропрепаратов биожидкости,

свидетельствующих о сдвигах качественно-количественного состава последней.

REFERENCES

- Воложин А.И., Субботин Ю.К. (1987) Адаптация и компенсация - универсальный биологический механизм приспособления. М. С. 33-34.
- Дерябина Н.И., Залеский М.Г. (2005) Содержание белковых компонентов в капле сыворотки крови при ее высыхании. *Вестник новых медицинских технологий*. **12(1)**. 85.
- Дерягина Л.Е. (2001) Психофизиологические аспекты формирования дифференцированных стратегий адаптивного поведения. Дисс. ... докт. мед. наук. Архангельск. 297 с.
- Дмитриева Т.Б., Воложин А.И. (2001) Социальный стресс и психическое здоровье. М.: ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ. 248 с.
- Епифанов В.А. (2007) Лечебная физкультура и спортивная медицина. М. 568 с.
- Камакин Н.Ф., Мартусевич А.К. (2002) К методике тезиокристаллографии биожидкостей. *Клиническая лабораторная диагностика*. **10**. 3.
- Камакин Н.Ф., Мартусевич А.К. (2003) Современные подходы к кристаллографической идентификации состава биологических жидкостей. *Экология человека*. **5**. 23-25.
- Кидалов В.Н., Хадарцев А.А., Якушина Г.Н. (2004) Тезиографические исследования крови и их практические возможности. *Вестник новых медицинских технологий*. **11(1-2)**. 23.
- Максимов С.А. (2007) Морфология твердой фазы биологических жидкостей как метод диагностики в медицине. *Бюллетень сибирской медицины*. **6(4)**. 80-85.
- Мартусевич А.К. (2011) Биокристалломика в молекулярной медицине / Под ред. В.Л. Эмануэля. СПб.: Издательство СПбГМУ – Тверь: ООО «Издательство «Триада». 112 с.
- Мартусевич А.К., Сафарова Р.И. (2007) Информативность исследования кристаллогенеза слюны спортсменов-лыжников в прогнозировании результативности их выступления. *Вестник спортивной науки*. **4**. 27-32.
- Мартусевич А.К. Воробьев А.В., Гришина А.А., Русских А.П. (2010) Физиология и патология кристаллостаза: общая парадигма и перспективы изучения. *Вестник Нижегородского университета им Н.И. Лобачевского*. **1**. 135-139.
- Савина Л.В. (1999) Кристаллоскопические структуры сыворотки крови здорового и больного человека. Краснодар. 238 с.
- Спицин А.П., Кушкова Н.Е., Першина Т.А. (2016) Показатели реоэнцефалограммы у студентов с семейной отягощенностью по артериальной гипертензии в условиях стресса. *Вятский медицинский вестник*. **3**. 30-33.
- Судаков К.В. (1997) Новые аспекты классической концепции стресса. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. **2**. 124-130.
- Першина Т.А., Спицин А.П. (2013) Особенности гемодинамики у студенток младших курсов с наследственной отягощенностью по артериальной гипертензии в условиях экзаменационного стресса. *Гигиена и санитария*. **3**. 80-89.
- Шабалин В.Н., Шатохина С.Н. (2001) Морфология биологических жидкостей человека. М.: Хризопраз, 304 с.
- Mollaret R., Sefiane K., Christy J.R.E., Veyret D. (2004) Experimental and Numerical Investigation of the Evaporation into Air of a Drop on a Heated Surface. *Chemical Engineering Research and Design*. **82(4)**. 471-480.
- Shabalin V.N., Shatokhina S.N., Yakovlev S.A. (1995) Character of blood crystallization as an integral index of organism homeostasis. *Phys. Chem. Biol. Med.* **2(1)**. 6-9.
- Yakhno T.A., Yakhno V.G., Sanin A.G. et al. (2004) The informative-capacity phenomenon of drying drops. *IEEE Engineering in Medicine and Biology Magazine*. **24(2)**. 96-104.