

Кристаллографическое исследование сыворотки крови больных хроническим алкоголизмом

СИДОРОВ П.И.

Академик РАМН, д.м.н., профессор, ректор СГМУ, Архангельск,

КИРПИЧ И.А.

д.б.н., доцент, СГМУ, Архангельск,

ВОЛЧЕЦКИЙ А.Л.

к.м.н., доцент, СГМУ, Архангельск

Проведено кристаллографическое исследование сыворотки крови больных хроническим алкоголизмом в динамике купирования острых алкогольных психозов и ремиссии наркологического заболевания. Выявлено нарушение кристаллообразующих свойств сыворотки крови, формирование новых кристаллографических структур, свидетельствующих о наличии алкогольобусловленного метаболического «дефекта» организма. Обнаруженные кристаллографические маркеры, встречающиеся с разной частотой в зависимости от характера состояния больных позволяют повысить диагностику наличия наркологического заболевания, а также использовать их для объективной оценки тяжести состояния и прогноза изменения гомеостаза организма.

Введение

Алкогольная ситуация на современном этапе характеризуется увеличением среднелечевого потребления алкоголя, укоренением «северного типа» алкоголизации - употребления крепких алкогольных напитков в высоких, «ударных» дозах [12; 13]. При этом в наибольшей мере реализуются все негативные эффекты влияния на организм этилового спирта, развивается тяжелая алкогольная интоксикация с высокими пиковыми концентрациями этанола и ацетальдегида в крови, что является главным пусковым механизмом в патогенезе алкогольных висцеропатий [14]. Возникает необходимость разработки объективных биологических критериев злоупотребления алкоголем, выявления и прогноза течения алкогольобусловленных соматических проявлений и нарушения гомеостаза организма.

В основе метаболических процессов биологической системы лежат сложные совокупности химических реакций, организованных определенным образом в пространстве и во времени. Реакции обмена веществ идут упорядоченно, организуются и управляются сравнительно жесткими структурами из белков и ферментативными ансамблями [9; 16]. В этом аспекте привлекает к себе внимание биотехнологический подход, основанный на понимании физиологических процессов, протекающих на молекулярном уровне, формирующий новое направление биологической и медицинской науки, изучающее молекулярные механизмы метаболизма.

Многообразие и глубина метаболических расстройств организма отражаются и оставляют свой «след» в структурной организации биологических жидкостей организма, в частности, такого сложного биокolloида, как сыворотка крови, обладающего способностью к пространственной самоорганизации [17]. Три десятилетия назад было сформулировано положение о том, что все биологические жидкости относятся к ассоциированным, т.е. молекулы растворенных в них веществ находятся в различных формах взаимосвязи, они сравнительно равномерно рассеяны по всему объему и находятся в сложном высокодинамичном перераспределительном процессе [6]. Подавляющее большинство молекул в них находится в виде надмолекулярных комплексов, организованная аутоволновая структура дегидратированной капли отражает спектр этих комплексов. Переход биологической жидкости из неупорядоченного

жидкого состояния в твердое организует определенный статический порядок, который становится наблюдаемым; в процессе самоорганизации биожидкости происходит передача информации о ее молекулярной организации на макроскопический уровень [7; 10; 20].

Одним из методов, позволяющих обнаружить изменения гомеостаза, является изучение кристаллообразующих свойств гуморальных жидкостей. В клинической медицине данные исследования начались с 1964 г., когда W. Daems [22] провел кристаллизацию $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ с добавлением гомогенизированной крови здоровых людей и больных с гипертрофией и карциномой простаты. В дальнейшем стали определять кристаллографические особенности различных биологических сред (спинномозговой жидкости, назального секрета, мочи, смывов с биоптатов, вытяжки из опухолевых тканей, сыворотки крови) при физиологических и некоторых патологических состояниях, показав достаточно высокую информативность данного метода.

Под влиянием энергии электронов, колебаний звукового и радиочастотного спектра процесс образования кристаллических структур изменяется [21]. Частоты, при которых наблюдается нарушение кристаллов или полное их разрушение, строго специфичны не только для каждой изучаемой физиологической среды, но и для функционального состояния организма во время получения биологического материала [1; 8; 18].

Например, кристаллизационный рисунок смывов с биопсийного материала больных с опухолевыми заболеваниями желудка характеризуется отсутствием центров кристаллизации, хаотичным расположением лучей с отростками; у пациентов с воспалительными заболеваниями желудка кристаллы имеют ромбовидный центр с расходящимися от него лучами с отростками [19].

При изучении картины кристаллических налетов назального секрета у больных аллергическим ринитом обнаружены дендритные формы кристаллов, кристаллизационные лучи располагались в определенном геометрическом порядке; у больных с нейровегетативным ринитом — кристаллы имеют фигурный ромбовидный центр и расходящиеся от него лучеобразно веточки, состоящие из цепочек мелких кристаллов, в основном треугольной формы [11]. Проведенные исследования кристаллографической картины сыворотки крови [3] больных инфекционными заболеваниями различной этиологии и активности

позволили заключить, что последние сопровождаются нарушениями кристаллообразующих свойств сыворотки, проявляющимися деструктивными процессами, изменением количества кристаллизационных лучей, нарастанием интенсивности окраски центров кристаллизации и самого кристаллизационного поля.

В.И.Гайворонская и О.А.Майновская [5], применявшие кристаллографический метод исследования ликвора для диагностики и определения степени тяжести черепно-мозговой травмы у живых лиц, выявили, что влияние алкогольного опьянения в момент получения травмы проявлялось формированием специфических кольцевидно-секторальных очагов кристаллизации. Однако, в литературе крайне немногочисленны сведения о кристаллографической картине биологических сред организма при хроническом алкоголизме (ХА) в целом, и при наиболее опасных осложнениях заболевания — острых алкогольных психозах (ОАП), в частности.

Целью настоящего исследования явилось изучение особенностей кристаллообразующих свойств сыворотки крови больных хроническим алкоголизмом в динамике острых алкогольных психозов и ремиссии заболевания для оценки степени тяжести изменения гомеостаза организма.

Методика исследования

Обследовано 72 мужчины в возрасте от 25 до 55 лет (средний возраст 41,3 ± 1,07) — больных ХА II стадии по классификации А.А.Портнова и И.Н.Пятницкой (1973) со средним стажем злоупотребления алкоголем 16,26 ± 0,96 лет, в состоянии ОАП (54), а также в ремиссии заболевания сроком от 3 до 6 месяцев (18). Все больные — жители Архангельской области находились на стационарном лечении в наркологическом отделении областной психиатрической больницы в условиях стандартного режима дня. Длительность запоев при ОАП перед поступлением составила от 7 до 18 дней.

Обследование осуществлялось в момент поступления в стационар на высоте ОАП и в дальнейшем — на протяжении первой недели госпитализации: на 3—4 сутки (к среднему времени купирования психотического состояния) и на 6—7 сутки (ко времени завершения проведения курса интенсивной терапии).

Больные ХА в состоянии ремиссии были обследованы однократно. Контрольную группу составили 25 практически здоровых мужчин аналогичных возрастных категорий, у которых анамнестически и клинически были исключены ХА и употребление спиртных напитков в течение последних 2 недель.

Исследования проводились по методике [4] в течение одного зимнего сезона; кровь забиралась в одно и то же время у всех обследуемых — утром (с 7.00 до 8.00), из локтевой вены, натощак. Кровь центрифугировали в течение 10 минут при 1000 оборотов в минуту, сыворотку крови разводили дистиллированной водой в соотношении 1:1000, пропускали через беззольный фильтр. В качестве кристаллообразующего вещества использовали CuCl_2 , обладающий выраженной светоплотностью, не содержащий H_2O , что значительно повышает качество исследования. К 0,1 мл полученного раствора при постоянном встряхивании добавляли 1 мл спиртового раствора CuCl_2 . Данный реактив отстаивали в течение 10 минут при комнатной температуре, затем каплями наносили на предметное стекло и помещали в термостат. Выращивание кристаллов производили в течение 1 часа при температуре 37 °C. Оценка результатов производилась по 12 качественным и 9 количественным показателям.

Результаты исследования

Кристаллограмма сыворотки крови практически здоровых лиц характеризовалась светлым кристаллизационным полем с расположенными в центре от одного до трех центров кристаллизации, с равномерно расходящимися первичными лучами (3—4). По мере удаления от центра наблюдалась градиация лучей на вторичные (2—3) и третичные (1—2), образуя древовидную структуру, равномерно заполняющую кристаллизационное поле (рис.1).

У больных ХА в состоянии ОАП, на протяжении всего периода наблюдения отмечено полное отсутствие крупных центров кристаллизации древовидной формы и наличие их в состоянии ремиссии наркологического заболевания только у 22,3% обследованных.

Кристаллограмма сыворотки крови лиц, страдающих ХА, отличалась выраженной деструкцией кристаллов, наиболее часто встречаемой на высоте ОАП — более чем в 90,7% случаев, на 6—7 сутки наблюдения и в состоянии ремиссии этот показатель составлял 68,2% и 77,7%, соответственно.

Значительные изменения наблюдались в формировании лучей кристаллизации (табл. 1; 2). На высоте ОАП их количество и длина достоверно уменьшались, необходимо отметить отсутствие третичных лучей в этот период. К окончанию периода госпитализации и в состоянии ремиссии заболевания достоверно увеличивалась численность первичных и третичных лучей со снижением, наряду с этим, количества вторичных лучей. Толщина лучей и угол расхождения между ними во всех обследованных группах больных были достоверно больше аналогичных показателей контрольной группы.

Рост лучей также претерпевал значительные изменения. Поломка лучей, их веерообразное расхождение и перекрест наиболее чаще встречались у больных в состоянии ремиссии, превышая значения контрольной группы в 16,6 ($p < 0,001$), 5,28 ($p < 0,001$), 3,06 раза, соответственно.

Фрагментация лучей и перпендикулярный их рост чаще наблюдались на высоте ОАП в 4,4 ($p < 0,001$) и 10,6 ($p < 0,001$) раза, соответственно, по отношению к контрольным значениям, с динамикой снижения на выходе из психоза и в состоянии ремиссии. Темная окраска лучей встречалась чаще также на высоте ОАП.

Таким образом, процесс кристаллизации сыворотки крови больных ХА претерпевал значительные динамические изменения, что нашло отражение в деструкции кристаллов и изменении структурной организации кристаллизационных лучей.

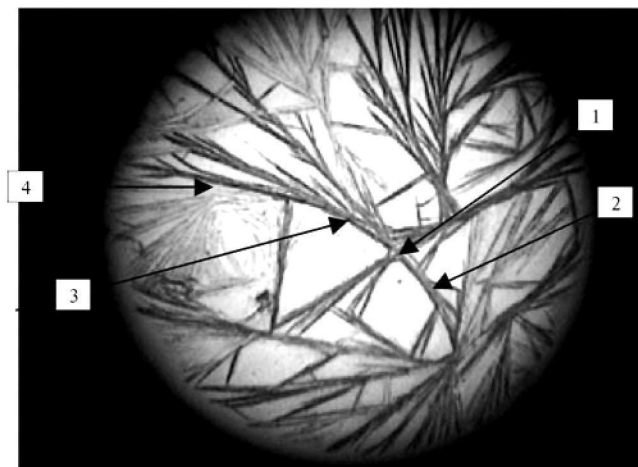


Рис. 1. Кристаллограмма сыворотки крови практически здоровых лиц. Крупные оформленные центры древовидной формы. 1 — центр кристаллизации; 2 — первичные лучи; 3 — вторичные лучи; 4 — третичные лучи

Таблица 1

**Качественные параметры кристаллографической картины
сыворотки крови больных хроническим алкоголизмом и лиц контрольной группы, (частота встречаемости, %)**

Параметры	Контрольная группа, n = 25	Больные хроническим алкоголизмом			
		На высоте ОАП, n=54	На 3–4 сутки наблюдения, n=49	На выходе из ОАП, n=41	В состоянии ремиссии, n=18
1 Наличие центров кристаллизации недревовидной формы	0	100	100	100	77,7***
2 Деструкция кристаллов	0	90,7***	94,2***	68,2***	77,7***
3 Поломка лучей	4,0	20,3*	17,1*	12,1	83,3***
4 Перпендикулярный рост лучей	4,0	31,4***	22,8***	17,0*	11,1
5 Веерообразное расхождение лучей	8,0	3,7	11,1	19,5	38,8***
6 Перекрест кристаллизационных лучей	16,0	7,4	20,0	21,9	50,0***
7 Фрагментация лучей	20,0	87,0***	88,5***	65,8***	33,3
8 Темная окраска лучей	12,0	35,2***	34,2*	21,9	11,1
9 Темный фон кристаллизационного поля	8,0	57,4***	51,4***	19,5	11,1

Примечание. Достоверность различий (критерий Фишера) по отношению к контролю при * – $p < 0,05$ *** – $p < 0,001$

Вместе с тем, в кристаллографической картине сыворотки крови больных ХА в состоянии ОАП, в отличие от таковой здоровых лиц, обнаружено несколько новых кристаллографических признаков, не встречающихся ни в норме, ни при одном из описанных в отечественной и зарубежной литературе патологических состояний и сохраняющихся в динамике наблюдения: хаотично расположенные мелкие деформированные центры кристаллизации с короткими, перекрещивающимися лучами, образующими звездообразный фон кристаллизационного поля (рис.2); расположенные по периферии деформированные центры кристаллизации с удлиненными первичными и вторичными лучами (рис.3). Однотипная динамика снижения частоты встречаемости описанных кристаллизационных структур в динамике выхода из ОАП напрямую коррелировала с уменьшением выраженности постинтоксикационного синдрома, улучшением психического и соматического состояния больных ХА.

По мере выхода из ОАП отмечено появление и тенденция к возрастанию числа крупных оформленных центров кристаллизации с веерообразным расхождением лучей (рис.4).

Выявленные кристаллизационные рисунки наблюдались у больных ХА как при делирии, так и при галлюцинозе. Однако, при делирии среди центров кристаллизации дополнительно определялись единичные “черные лучистые звезды”, являющиеся признаком развития выраженных интоксикационных процессов в организме.

Обращает на себя внимание наличие крупных оформленных центров с изогнутыми лучами только у больных ХА в ремиссии заболевания (рис.5).

Согласно современным представлениям квантовой механики в обычных условиях все частицы материального мира не могут вступать в непосредственный контакт. Они взаимодействуют друг с другом только посредством электромагнитных полей — т.е. имеют волновые контакты [2].

Таблица 2

**Количественные параметры кристаллографической картины
сыворотки крови больных хроническим алкоголизмом и лиц контрольной группы ($M \pm m$)**

Кристаллографические признаки	Контрольная группа, n=25	Больные хроническим алкоголизмом			
		На высоте ОАП, n=54	На 3–4 сутки наблюдения, n=49	На 6–7 сутки наблюдения, n=41	В состоянии ремиссии, n=18
1 Количество древовидных центров кристаллизации	2,14 $\pm$ 0,12	0	0	0	2,5 $\pm$ 0,02
2 Количество первичных лучей	4,11 $\pm$ 0,10	3,30 $\pm$ 0,04***	4,6 $\pm$ 0,03	5,90 $\pm$ 0,02***	3,81 $\pm$ 0,06**
3 Количество вторичных лучей	3,35 $\pm$ 0,09	3,30 $\pm$ 0,10	3,6 $\pm$ 0,21	2,95 $\pm$ 0,11***	2,80 $\pm$ 0,33
4 Количество третичных лучей	2,38 $\pm$ 0,09	0	0	6,70 $\pm$ 0,03***	2,81 $\pm$ 0,06***
5 Толщина кристаллизационных лучей, усл.ед.	0,05 $\pm$ 0,01	0,08 $\pm$ 0,01**	0,09 $\pm$ 0,02*	1,49 $\pm$ 0,03***	0,20 $\pm$ 0,01***
6 Длина кристаллизационных лучей, усл.ед.	5,50 $\pm$ 0,12	4,10 $\pm$ 0,31***	3,27 $\pm$ 0,02***	6,00 $\pm$ 0,21**	11,20 $\pm$ 0,20***
7 Угол расхождения кристаллизационных лучей,	45,5 $\pm$ 0,79	75,3 $\pm$ 1,21***	60,3 $\pm$ 0,34***	49,5 $\pm$ 0,33***	78,3 $\pm$ 1,34***

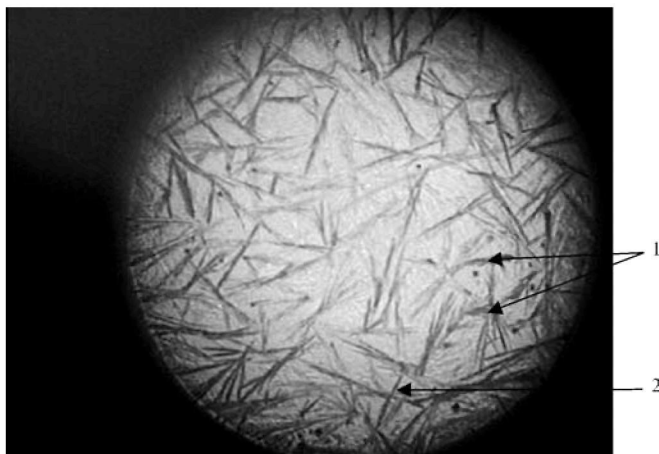


Рис. 2. Кристаллограмма сыворотки крови больного алкоголизмом в состоянии острого алкогольного психоза. Хаотично расположенные мелкие деформированные центры кристаллизации с короткими, перекрывающимися лучами, образующими звездообразный фон кристаллизационного поля. 1 — центры кристаллизации; 2 — кристаллизационные лучи

При появлении атипичных структур, например, экзо- и аутокосинов, или чрезмерно большого количества продуктов незавершенного метаболизма, распада тканей происходят ритмологические сбои, выражающиеся в образовании дисгармоничных волновых образований. Появляются особые ритмы, фиксированные волновые структуры, различающиеся по форме, по направлениям, а также по общим принципам их построения. Отклонение от физиологического ритма, с одной стороны, заставляет органические молекулы терять обычные межмолекулярные связи, а с другой — побуждает их приобретать способность вступать в «запрещенные» химические контакты.

Аутоволновые параметры биологических молекул являются тем первичным звеном, которое определяет структуру и функцию любого биообъекта, чувствительность биосистемы к любому внешнему воздействию, особенности его физиологических процессов, специфику различных, в том числе и алкогольобусловленных патологических отклонений.

Так, хаотично расположенные мелкие деформированные центры кристаллизации с короткими, скрещивающимися лучами, образующими звездообразный фон кристаллизационного поля имели положительные корреляционные связи с повышенной активностью АЛТ и гиперпротеинемией, в частности, увеличением содержания глобулиновых фракций, что подтверждается также и сильной сте-

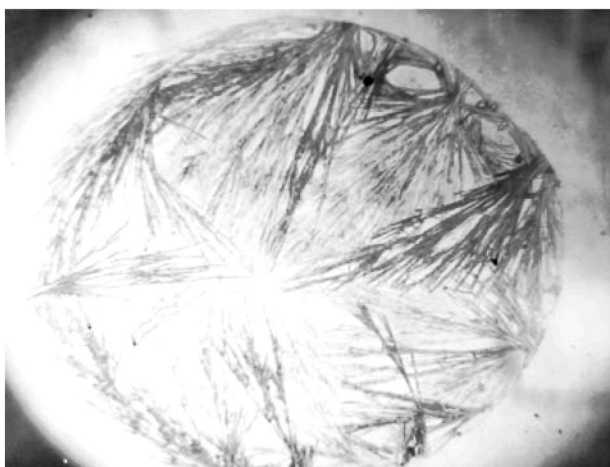


Рис. 3. Кристаллограмма сыворотки крови больного алкоголизмом в состоянии острого алкогольного психоза. Деформированные центры кристаллизации с удлинненными первичными и вторичными лучами

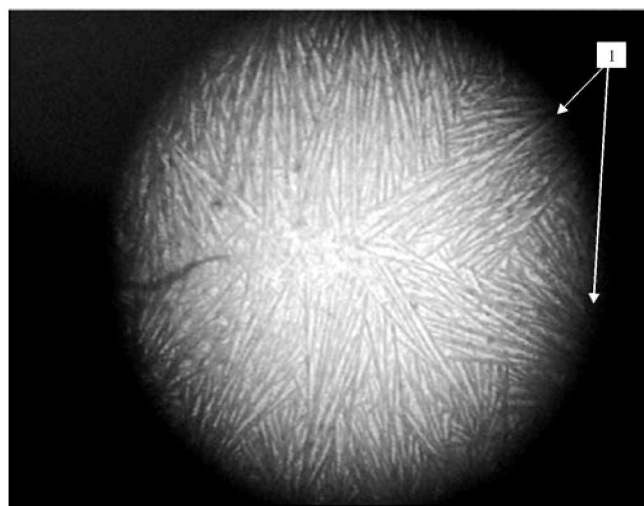


Рис. 4. Кристаллограмма сыворотки крови больного алкоголизмом после купирования острого алкогольного психоза. Центры кристаллизации с веерообразным расхождением лучей. 1 — центр кристаллизации

пенью корреляционной взаимосвязи гиперглобулинемии с деструкцией кристаллов.

Расположенные по периферии деформированные центры кристаллизации с удлинненными первичными и вторичными лучами наблюдались у больных ХА при высокой ферментативной активности АСТ, сниженным уровнем в сыворотке крови альбуминов, повышенным содержанием глобулинов -1- и -фракций.

Крупные оформленные центры с изогнутыми лучами у больных ХА имели сильную прямую корреляционную зависимость с повышенной ферментативной активностью АСТ, уровнем всех глобулиновых фракций, липопротеидов сыворотки крови, а также обратную связь с понижением пре- и -липопротеидов на фоне повышения -2-глобулинов и -липопротеидов при гиперактивности АСТ.

Из качественных признаков, характеризующих кристаллографическую картину сыворотки крови, с повышением липопротеидов тесно связаны изменение роста кристаллизационных лучей — полонка, перпендикулярный рост, перекрест, со снижением липопротеидов — наличие темной окраски лучей. Повышение активности ферментов сыворотки крови сопряжено с веерообразным расхождением лучей.



Рис. 5. Кристаллограмма сыворотки крови больного хроническим алкоголизмом в ремиссии заболевания. Центры кристаллизации с изогнутыми лучами.

Таблица 3

Степень расхождения частоты встречаемости кристаллографических признаков сыворотки крови между лицами контрольной группы (принято за 1) и больными хроническим алкоголизмом

Кристаллографические признаки	Контрольная группа, n=25	Больные хроническим алкоголизмом			
		На высоте ОАП, n=54	На 3—4 сутки, n=49	На 6—7 сутки, n=41	В состоянии ремиссии, n=18
Крупные оформленные центры древовидной формы	1	0	0	0	> 0,22
Темный фон кристаллизационного поля	1	> 7,3	> 6,6	> 2,8	> 1,4
Поломка лучей	1	> 4,1	> 3,5	> 2,4	> 16,6
Перпендикулярный рост лучей	1	> 10,6	> 8,0	> 5,6	> 4,5
Фрагментация лучей	1	> 4,4	> 4,4	> 3,3	> 1,5
Темная окраска лучей	1	> 3,8	> 2,6	> 1,7	> 1,2

Сравнение кристаллографической картины сыворотки крови здоровых лиц и больных ХА позволило обосновать алгоритм поиска совокупности признаков, частота встречаемости которых при ХА была напрямую связана с тяжестью состояния больных (табл.3).

Среди рассмотренных признаков с большой долей вероятности выступают: интенсивность затемнения кристаллизационного поля и первичных и вторичных лучей, частота перпендикулярного роста лучей и их фрагментация, а также поломка лучей. Последний признак в совокупности с наличием крупных оформленных центров кристаллизации древовидной формы свидетельствует о факте хронической алкогольной интоксикации, сохраняющемся даже в состоянии длительной ремиссии наркотического заболевания.

Таким образом, кристаллографическая картина сыворотки крови является моделью *in vivo* для получения визуальной информации о структурном течении алкогольобусловленных патобиохимических процессов, характер кристаллографического пейзажа свидетельствует о наличии метаболического “дефекта”, что может быть использовано для повышения эффективности оценки степени выраженности нарушений обмена веществ и прогноза изменения гомеостаза организма наркотических больных.

Кристаллографическое исследование позволяет в определенной мере проиллюстрировать “биоэнергетическую концепцию” патогенеза алкоголизма, основанную на специфическом изменении и нарушении этанолом стабильности метаболической структуры организма. При хронической алкогольной интоксикации возникает патологическая архитектура с резонансной спектральной памятью водно-ионных систем, комплекса количественных и качественных элементов, присутствующих в биологических жидкостях. Резонансная настройка биоэнергетической системы требует постоянного употребления этанола, что приводит к потере устойчивости и “полому” биоэнергетических систем организма.

Обнаружение кристаллографических маркеров сыворотки крови, постоянно присутствующих при ХА (как в динамике ОАП, так и ремиссии заболевания) и встречающихся с разной частотой в зависимости от характера алкогольобусловленного состояния, позволяет не только повысить диагностическую значимость подтверждения наличия наркотического заболевания, но и использовать их для объективной оценки тяжести состояния больных ХА.

Список литературы

1. Брык В.Е., Мороз Л.А., Теодор Н.Л. Кристаллографический метод исследования биологических субстратов. Метод. рекомендации. — М., 1991. — 32 с.

2. Вегман Е.Ф. Кристаллография, минералогия, петрография и рентгенография. М., 1990. — 263 с.

3. Волчецкий А.Л. Кристаллографическое исследование сыворотки крови как метод оценки адаптивных реакций организма. Автореф. дисс. канд.мед.наук. — Архангельск, 1998

4. Волчецкий А.Л., Спасенников Б.А., Агафонов В.М., Прудкий П.Б. Модификация метода и компьютерное направление тезиграфического анализа //Экология человека. — 1999. — № 3. — С.38—42.

5. Гайворонская В.И., Майновская О.А. Применение кристаллографического метода исследования ликвора для диагностики и определения степени тяжести черепно-мозговой травмы у живых лиц //Суд.мед.экспертиза. — 1999. — № 6. — С.27—28.

6. Гленсдорф П., Пригожин И. Термодинамическая теория структуры, устойчивости и флуктуаций. М., Мир, 1973.

7. Кантор Ч., Шиммель П. Биофизическая химия. — М., 1984.

8. Корина Р.В. Сафронов Д.В. Кристаллографический метод при вирусных гепатитах //Сов.мед. — 1989 — № 6. — С.76—79.

9. Кузин А.М. Структурно-метаболическая теория в радиологии. — М., 1986.

10. Кузнецов В.Д. Кристаллы и кристаллизация. — М., 1954. — 65 с.

11. Мороз Л.А., Каликштейн Б.Д. Кристаллографический метод в исследовании различных биологических субстратов. Метод.рекомендации. — М., 1986.

12. Немцов В.А. Алкогольная ситуация в России — М., 1995.

13. Нужный В.П., Харченко В.И., Акоюн А.С. Избыточное потребление алкоголя в России — весомый фактор риска болезней системы кровообращения и высокой смертности населения //Тер.архив. — 1998. — № 10. — С.57—64.

14. Огурцов П.П. Скрытые потери здоровья населения и бюджета здравоохранения РФ от хронической алкогольной интоксикации (алкогольной болезни) //Алкогольная болезнь. — 1998. — № 6. — С.8—20.

15. Портнов А.А., Пятницкая И.Н. Клиника алкоголизма. — Л.:М., 1973.—383с.

16. Рубин А.Б., Пытьева Н.Ф., Ризниченко Г.Ю. Кинетика биологических процессов. — М., 1977

17. Савина Л.В. Кристаллографические структуры сыворотки крови здорового и больного человека. — Краснодар, 1999

18. Тахер Асаад М.А. Судебно-медицинская диагностика прижизненности повешения по кристаллографической структуре биологических жидкостей: Дис. канд.мед.наук. — Киев, 1996.

19. Теодор И.Л., Мороз Л.А., Каликштейн Д.Б. и соавт. Применение метода кристаллографических налетов в диагностике некоторых патологических процессов //Лабораторное дело. — 1985. — № 5. — С. 295—298.

20. Blundel T.L., Jonson L.N. Protein crystallography. — New York., 1976.

21. Chernov A.A. Crystal growth and crystallography //Acta Crystallogr. A. — 1998. — Nov 1 54:1. — P.859—872.

22. Daems W.F.//Chem.Courant. — 1964. — V.63. — P.17