

Диагностика по капле крови. Кристаллизация биожидкостей.

Книга 1. Кристаллизация сыворотки крови методом открытой капли (угловая дегидратация).

**Краевой Сергей Александрович
Колтовой Николай Алексеевич**

Koltovoi.nethouse.ru
koltovoi@mail.ru

Версия 6.0

**Москва – Смоленск
2016**

**Электронный математический и медико-биологический журнал
«Математическая морфология»**

Сведения об авторах:



1

Краевой Сергей Александрович, доктор медицинских наук, заместитель министра здравоохранения РФ. Окончил Военно-медицинскую Академию им. С.М. Кирова.



Колтовой Николай Алексеевич (Москва) окончил МФТИ с отличием, кандидат физико-математических наук. Много лет проработал в представительстве фирмы Zeiss в Москве, председатель "Image Processing Club". Специализация-оптика, микроскопия, системы анализа изображений, исследование биожидкостей, спектральные методы исследования в медицине, спектральные методы ранней диагностики рака, кристаллизация биожидкостей.

УДК 548.5; 612.461.1

Краевой С.А., Колтовой Н.А. Кристаллизация сыворотки крови методом открытой капли (угловая дегидратация). Книга 1. - Москва-Смоленск: Электронный математический и медико-биологический журнал "Математическая морфология", 2016. - 320 с. - 235 Илл.

Аннотация. Рассматривается перспективный метод диагностики заболеваний на основе кристаллизации капли сыворотки крови. Метод является простым, не требует дорогостоящего оборудования, оперативным, дешевым, безреагентным. Метод позволяет оценить общее состояние организма, нарушение работы отдельных подсистем организма, проводить мониторинг состояния организма, проводить скрининговые обследования, выявлять заболевания на ранней стадии. Метод позволяет выявлять раковые заболевания на ранней стадии. Путем проведения большого количества экспериментов удалось выявить и описать динамику процессов, происходящих в высыхающей капле сыворотки крови. Книга предназначена для врачей, которые хотят использовать новые эффективные методы диагностики, и для специалистов, которые занимаются нано технологиями для разработки процессов самосборки.

Ключевые слова: биожидкость, кристаллизация, ранняя диагностика онкологических заболеваний, сыворотка крови, капля крови, мониторинг, дегидратация, тезиография, гемосканирование.

Рецензенты: д.м.н., профессор Фаращук Н. Ф.; д.м.н., профессор Глотов В. А.

ISBN: 978-0-0000-0000-2

S. Kraevoy, N. Koltovoy

Crystallization of blood serum by means open drops evaporation. Volume 1. Moscow-Smolensk: Electronic mathematical and biomedical journal "Mathematical Morphology", 2016. - 320 p. - 235 Fig.

Abstract. Considered a promising method for diagnosis of diseases on the basis of crystallization drops of blood serum. The method is simple, does not require expensive equipment, operational, cheap, non-reagent. The method allows to assess the overall condition of the body, the violation of individual subsystems of the organism, monitor the condition of the body, to carry out the screening tests, to detect the disease at an early stage. The method allows to detect cancers at an early stage. Based on a survey of a large number of patients unable to allocate a set of diagnostic features for the diagnosis of various diseases. By conducting a large number of experiments were able to identify and describe the dynamics of the processes in drying drops of blood serum. Understanding of the process allowed to identify structural and functional disorders of the blood. The book is intended for doctors who want to use new and effective methods of diagnosis, and for professionals who are engaged in nano technology for the development of self-assembly processes.

Keywords: biological liquids, crystallization, early diagnosis of cancer, blood serum, blood drop, monitoring, dehydration, teziografiya, haemoscanning, drying drops.

Содержание.

Глава 0. История применения метода кристаллизации. 10

- 0.1 История применения кристаллографических методов исследования. 10
- 0.2 Исследования по дегидратации в России. 21
- 0.3 Микрорекристаллизация. 24
- 0.4 Высушивание (кристаллизация) капли воды. 27
- 0.5 Конференции по кристаллизации биожидкостей. 34

Глава 1. Введение. 36

- 1.1 Физические методы диагностики заболеваний. 37
- 1.2 Состав и свойства сыворотки крови. 38
- 1.3 Смежные области, используемые при изучении процессов кристаллизации капли сыворотки крови. 40

Глава 2. Процессы, происходящие при дегидратации методом открытой капли. 41

Первый этап-испарение несвязанной воды. 43

2.0 от 0 до 1 мин. Начальный этап. 43

- 2.0.1 Растекание капли.
- 2.0.2 Образование внешнего прозрачного кольца.
- 2.0.3 Процесс взаимодействия капли со стеклом.
- 2.0.4 Седиментационные процессы.
- 2.0.5 Процессы на поверхности капли.

2.1 от 1 до 70 мин. Конвекционные потоки. 47

- 2.1.1 Статьи по конвекционным потокам в капле.
- 2.1.2 Исследование конвекционных потоков в капле.

2.2 от 1 до 70 мин. Черви. 69

Второй этап-гелеобразование. 70

2.3 от 20 до 70 мин. Формирование морщин. 70

2.4 от 20 до 70 мин. Гелеобразование. 73

- 2.4.1 Основные этапы гелеобразования.
- 2.4.2 Образование белкового валика.
- 2.4.3 Образование широких псевдотрещин.

2.5 от 60 до 70 мин. Движение фронта загустения. 76

- 2.5.0 Формирование течений на поверхности капли.
- 2.5.1 Структура фронта загустения.
- 2.5.2 Светящееся кольцо.
- 2.5.3 Образование микротрещин на поверхности капли.

2.6 от 60 до 80 мин. Движение фронта радиальных трещин (трещины типа 1). 84

- 2.6.1 Зарождение аркообразных трещин.
- 2.6.2 Радиальные трещины.
- 2.6.3 Количественные методы оценки структуры радиальных трещин.

2.7 от 65 до 90 мин. Движение фронта выпадения белков. 93

2.8 от 65 до 80 мин. Образование псевдотрещин в центральной зоне. 95

2.9 от 65 до 80 мин. Кристаллизация соли. 99

- 2.9.1 Кристаллизация соли на поверхности в центральной зоне.
- 2.9.2 Кристаллизация соли на поверхности в средней зоне.

- 2.10 от 60 до 80 мин. Формирование ячеек. 103
 - 2.10.1 Типы ячеек.
 - 2.10.2 Динамика усыхания и деформации ячеек.
 - 2.10.3 Выпадение осадка по краю ячеек.
 - 2.10.4 Ядро ячеек.
 - 2.10.5 Образование языковых структур в ячейках.
 - 2.10.6 Образование листьев.
 - 2.10.7 Образование трещин в ячейках.
 - 2.10.8 Интерференционные кольца.

Третий этап-затвердевание. 116

- 2.11 от 80 мин до 7 дней. Усыхание капли. 116
- 2.12 от 3 до 7 дней. Кристаллизация липидов. 117
- 2.13 от 3 до 7 дней. Внешняя кристаллизация. 121
- 2.14 от 7 дней до бесконечности. Перекристаллизация. 122

Глава 3. Структура высохшей капли. 123

- 3.1 Зоны. 123
- 3.2 Структуры различного уровня. 125
- 3.3 Типы трещин. 125
- 3.4 Напряжения в высохшей капле. 129
- 3.5 Методы определения состава высохшей капли. 130

Глава 4. Теоретическое моделирование процессов, протекающих в высыхающей капле. 141

- 4.1 Движение границы капли жидкости при испарении. 141
- 4.2 Высыхание капли коллоидного раствора, эффект кофейного кольца (coffee-ring effect).
- 4.3 Исследование процессов, происходящих в испаряющейся капле. 156
- 4.4 Периодические процессы при кристаллизации (ритмическая кристаллизация). 158
- 4.5 Экспериментальные методы исследования процесса испарения капли. 164
- 4.6 Двумерная кристаллизация. 165

Глава 5. Выбор оптимальных условий дегидратации. 166

- 5.1 Управляемая дегидратация. 166
 - 5.1.1 Управление формой капли.
 - 5.1.2 Зависимость формы капли от объема капли.
 - 5.1.3 Зависимость диаметра капли от поверхностного натяжения.
 - 5.1.4 Выбор материала поверхности, на которой проводится дегидратация.
 - 5.1.5 Управление площадью капли.
 - 5.1.6 Формирование различных структур в зависимости от объема капли.
- 5.2 Испарение капли при нормальной температуре. 187
 - 5.2.1 Динамика испарения капли жидкости на плоской поверхности.
 - 5.2.2 Литература по динамике испарения капли жидкости.
 - 5.2.3 Время испарения капли.
 - 5.2.4 Масса сухого остатка.
 - 5.2.5 Зависимость формы капли от времени.
 - 5.2.6 Диагностические параметры формы капли.
 - 5.2.7 Двойная фазия.

- 5.3 Испарение капли при повышенной температуре. 203
- 5.4 Испарение капли при пониженной температуре. 210
- 5.5 Управление влажностью. 212
- 5.6 Управление обдуванием. 213
- 5.7 Управление составом капли. 214
- 5.8 Различные методы дегидратации. 216

Глава 6. Диагностика заболеваний по структуре высохшей капли сыворотки крови. 226

- 6.1 Преимущества диагностики методом кристаллизации капли сыворотки крови. 226
- 6.2 Разработка методов диагностики. 227
- 6.3 Что такое заболевание? 227
- 6.4 Определение устойчивости состояния организма. 230
- 6.5 Что такое норма. 231
- 6.6 Изучение динамики состояния пациента. 232
- 6.7 Установление взаимосвязи: от биохимии-к структуре капли. 234
- 6.8 Установление взаимосвязи: от диагноза-к структуре капли. 235
- 6.9 Установление взаимосвязи: от структуры капли-к диагнозу. 235
- 6.10 Диагностические маркеры. 237
- 6.11 Примеры диагностики различных заболеваний. 240
- 6.12 Диагностика интоксикации. 246
- 6.13 Диагностика лейкозов. 250
- 6.14 Фазовый характер изменений состава крови. 250

Глава 7. Диагностика онкологических заболеваний методом кристаллизации биожидкостей. 251

- 7.1 Диагностика онкологии методом кристаллизации сыворотки крови. 251
 - 7.1.1 Диагностика онкологических заболеваний путем кристаллизации сыворотки крови методом закрытой капли.
 - 7.1.2 Диагностика онкологических заболеваний путем кристаллизации сыворотки крови методом открытой капли.
 - 7.1.3 Диагностика онкологических заболеваний путем кристаллизации сыворотки крови тизиографическим методом в открытой капле.
 - 7.1.4 Диагностика онкологических заболеваний путем кристаллизации сыворотки крови тизиографическим методом в закрытой капле.
- 7.2 Диагностика онкологических заболеваний методом кристаллизации слюны. 258
- 7.3 Диагностика онкологических заболеваний методом кристаллизации мочи. 258
- 7.4 Диагностика онкологических заболеваний методом кристаллизации слезы. 258
- 7.5 Диагностика онкологических заболеваний методом кристаллизации различных биожидкостей. 259
- 7.6 Диагностика рака молочной железы. 260
- 7.7 Сравнение различных методов диагностики. 260
 - 7.7.1 Сравнение диагностики методом дегидратации с биохимическим методом.
 - 7.7.2 Дополнительные изображения.

Глава 8. Исследование капли высушенной крови, Dry Blood Analysis, HLB test, Bolen test. 264

- 8.1 Диагностика по капле цельной крови. Тест Болен. 266
- 8.2 Изучение кристаллизации препаратов крови в России. 283
- 8.3 Примеры кристаллограмм высушенной капли крови. 287
- 8.4 Метод высушивания капли крови на бумаге (dried blood spot testing, DBS). 292

Глава 9. Исследование капли живой крови, Гемосканирование, Live Blood Analysis, LBA test. 295

- 9.1 История создания метода гемосканирования. 295
- 9.2 Особенности метода гемосканирования. 300
- 9.3 Компоненты крови. 303
- 9.4 Что можно определить методом гемосканирования. 308
- 9.5 Изображения, полученные при гемосканировании. 309
- 9.6 Отечественная литература по гемосканированию. 311

Глава 10. Тезиография сыворотки крови, Blood Sensitive Crystallization. 312

- 10.1 Тезиография сыворотки крови методом открытой капли, зарубежные авторы. 312
- 10.2 Тезиография сыворотки крови методом открытой капли, Российские авторы. 318
- 10.3 Тезиография сыворотки крови методом закрытой капли. 320
- 10.4 Teichman Crystallization Test. 320
- 10.5 Получение альбумина путем высушивания сыворотки крови. 321

Заключение.

Table of Contents:

Part 1. Processes occurring during evaporation drops bioliquids.

Chapter 1. Introduction.

- 1.1 Physical methods of diagnosing diseases.
- 1.2 Composition and properties of serum.
- 1.3 The history of crystallographic methods.
- 1.4 Foreign studies on evaporation water drops.
- 1.5 Related areas used in the study of the crystallization droplet of blood serum.

Chapter 2. Processes occurring in the evaporation method drops open.

The first stage-the evaporation of free water.

- 2.0 from 0 to 1 min. The initial stage.
 - 2.0.1 Spreading of drops.
 - 2.0.2 Education transparent outer ring.
 - 2.0.3 The process of interaction with glass drops.
 - 2.0.4 Sedimentation processes.
 - 2.0.5 Processes on the droplet surface.
- 2.1 from 1 to 70 minutes. Convection currents.
 - 2.1.1 Articles convective flows in the drop.
 - 2.1.2 Investigation of convection currents in the drop.
- 2.2 from 1 to 70 minutes. Worms.

The second stage-the gelation.

- 2.3 from 20 to 70 min. Formation of wrinkles.
- 2.4 from 20 to 70 min. Gelation.
 - 2.4.1 Milestones gelation.
 - 2.4.2 Education protein roller.
 - 2.4.3 Education psevdotreschin wide.
- 2.5 from 60 to 70 min. Motion of the front thickened.
 - 2.5.1 The front structure thickens.
 - 2.5.2 Light Ring.
 - 2.5.3 Education of steps on the surface of the drop.
- 2.6 from 60 to 80 min. Movement of the front radial cracks (crack type 1).
 - 2.6.1 The origin of arcuate cracks.
 - 2.6.2 Radial cracks.
 - 2.6.3 Quantitative methods for assessing the structure of radial cracks.
- 2.7 from 65 to 90 min. Drop Front movement proteins.
- 2.8 from 65 to 80 min. Education psevdotreschin in the central zone.
- 2.9 from 65 to 80 min. Crystallization of the salt.
 - 2.9.1 Crystallization of salts at the surface in the central zone.
 - 2.9.2 Crystallization of salts at the surface in the middle area.
- 2.10 60 to 80 min. The formation of cells.
 - 2.10.1 Types of cells.
 - 2.10.2 Dynamics shrinkage and deformation of cells.
 - 2.10.3 precipitation along the edge of the cell.
 - 2.10.4 core cells.
 - 2.10.5 Education language structures in cells.
 - 2.10.6 Education leaves.
 - 2.10.7 The formation of cracks in the cells.
 - 2.10.8 Interference rings.

Third stage-hardening.

2.11 80 min to 7 days. The shrinkage of the drop.

2.12 from 3 to 7 days. Crystallization lipids.

2.13 from 3 to 7 days. External crystallization.

2.14 from 7 days to infinity. Recrystallization.

2.15 Theoretical modeling of the processes occurring in the drying droplet.

Chapter 3. The structure of the dried droplet.

3.1 Zone.

3.2 The structures of different levels.

3.3 Types of fractures.

3.4 Stresses in the dried droplet.

3.5 Methods for determining the composition of the droplet.

Part 2. Choice of optimal conditions of evaporation.

1 Controlled evaporation.

2 Control of the shape of the drop.

2.1 Dependence of the droplet shape of the droplet volume.

2.2 Dependence of the droplet diameter on the surface tension.

2.3 The choice of material surface on which the evaporation is carried out.

2.4 Management area of the drop.

2.5 Formation of different structures depending on the volume of the drop.

3 droplet evaporation at normal temperature.

3.1 dynamics of evaporation of the liquid on a flat surface.

3.2 Evaporation time.

3.3 weight solids.

3.4 Dependence of the droplet shape from time to time.

3.5 Diagnostic parameters of the droplet shape.

3.6 Double facies.

4 droplet evaporation at elevated temperature.

5 of evaporation at low temperature.

6 humidity control.

7 Management by blowing.

8 Managing the composition of the droplet.

9 Different methods of evaporation.

Part 3. Diagnosis of various diseases by crystallization bioliquids.

Chapter 1. Diagnosis of diseases of the structure of the dried droplet of blood serum.

1.1 Advantages diagnosis by crystallization droplet serum.

1.2 Development of diagnostic methods.

1.3 What is-a disease?

1.4 Determination of the resistance state of the organism.

1.5 What is the norm.

1.6 Studying the dynamics of the patient's condition.

1.7 Establishing the link: from biochemistry-the structure of the droplet.

- 1.8 Establishing the link from diagnosis-to the structure of the drop.
- 1.9 Establishing the link from the drop structure-to the diagnosis.
- 1.10 Diagnostic markers.
- Examples 1.11 to diagnose various diseases.
- 1.12 Diagnosis of intoxication.
- 1.13 Diagnosis of leukemia.

Chapter 2. Diagnosis of cancer by crystallization bioliquids.

- 2.1 Diagnostics Oncology crystallization method of blood serum.
 - 2.1.1 Diagnosis of cancer by crystallization method closed serum drops.
 - 2.1.2 Diagnosis of cancer by crystallization method serum drops open.
 - 2.1.3 Diagnosis of cancer by crystallization serum teziograficheskim method in an open drop.
 - 2.1.4 Diagnosis of cancer by serum teziograficheskim crystallization method in a closed drop.
- 2.2 Diagnosis of cancer by crystallization of saliva.
- 2.3 Diagnosis of cancer by crystallization of urine.
- 2.4 Diagnosis of cancer by crystallization tears.
- 2.5 Diagnosis of cancer by crystallization of different bioliquids.
- 2.6 Diagnosis of breast cancer.

Chapter 3. Comparison of different diagnostic methods.

- 3.1 Comparison of diagnosis by evaporation biochemical method.
- 3.2 Additional images.

Part 4. Study of dried blood drops, Dry Blood Analysis, HLB test, Bolen test.

- 4.1 Diagnosis dropwise whole blood. Test Bohlen.
- 4.2 Study of crystallization of blood in Russia.
- 4.3 Method of drying drops of blood (dried blood spot testing, DBS)

Part 5. The study of living blood drops (hemoscanning), Live Blood Analysis, LBA test.

- 5.1 History haemoscanning method.
- 5.2 Features haemoscanning method.
- 5.3 Blood Components.
- 5.4 What can be determined by haemoscanning.
- 5.5 Images from haemoscanning.
- 5.6 Domestic literature.
- 5.7 Foreign Literature.

Part 6. Teziografiya serum, Blood Sensitive Crystallization.

- 6.1 Teziografiya serum by open drop-foreign authors.
- 6.2 Teziografiya serum by open drop-Russian authors.
- 6.3 Teziografiya serum enclosed by drop.

Глава 0. История применения метода кристаллизации.

0.1 История применения кристаллографических методов исследования.

При исследовании кристаллизации различных жидкостей различными авторами вводились различные термины:

- Кристаллизация, Россия, Ломоносов М.В. 1740.
- Метод выветренных налетов, Россия, Ловиц Т.Е., 1794.
- Аподизация (apodization), Papanicolaou G.N. 1945.
- Тест папоротника (fern test) кристаллизация слюны и цервикальной слизи в виде листа папоротника, феномен листа папоротника, Rydberg E. 1948.
- Стагоскопия (stagoskopie) Sole A. 1951.
- Ритмическая кристаллизация (rhythmic crystallization), Blumenkrantz N. 1962.
- Кристаллизация методом открытой капли, клиновидная дегидратация,
- Кристаллизация методом закрытой капли, краевая дегидратация, кристаллизация в оптической ячейке,
- Тезиография,
- Биокристаллизация, чувствительная кристаллизация,
- Микрокристаллизация.

Ломоносов Михаил Васильевич (1711-1765) исследовал явление кристаллизации из растворов. Он ввел в русский язык слово «кристаллизация». В 1740 году открыл закон постоянства углов для кристаллов. 1763 год-труд «Первые основания металлургии или рудных дел».

1791-Одной из первых публикацией по кристаллизации является статья французских ученых Anton-Francos de Fourcroy и Louis-Nicolas Vauquelin вышедшая в 1791 году. В ней описывается кристаллизация слезы.

1791-de Fourcroy, A.F, Vauquelin, L.N. Examen chimique des larmes et de l'humeur des narines (Chemical examination of tears and nasal humor). Ann Chim (Paris). 1791; 10: p.113-130.

1794- Ловиц Товий Егорович (Иоганн Тобиас) (1757-1804) последователь Ломоносова М.В. Санкт-Петербург, Российская Академия Наук, кафедра химии.

Ловиц Т.Е. написал работу «Заметки о кристаллизации солей» изучал процессы кристаллизации в жидкости. Он разработал два способа изучения химических веществ:

- метод выветренных налетов, метод качественного анализа веществ по рисункам кристаллических налетов на стекле, образующихся после выпаривания капель раствора, которые можно наблюдать с помощью микроскопа.
- метод микрохимического анализа, при котором к раствору соли на стекле добавляется другое вещество, что приводило к образованию кристаллов.

Суть метода «выветренных налетов» состоит в том, что если на стеклянную пластинку нанести раствор соли, а затем испарить растворитель, то на стекле останется «соляной налет», с характерным для каждой соли рисунком. Ловиц изготовил 85 образцов таких налетов солей. Преимущество метода «выветренных налетов» перед методом микрохимического анализа состоит в том, что он позволяет идентифицировать вещества без применения реактивов. Ловиц исследовал кристаллизацию солей из растворов. Обнаружил явление пересыщения и переохлаждения растворов; установил условия выращивания кристаллов. Предложил при анализе солей использовать индивидуальные кристаллические модификации; для этого изготовил 288 моделей-эталонов-различных веществ и классифицировал их по химическим признакам. Он применил микроскопический анализ для исследования кристаллов.

1794-Ловиц Т.Е.Изложение новых наблюдений над кристаллизацией солей, а также нового изобретения, касающегося образования солями правильных кристаллов. 1794.

1804-Ловиц Т.Е. Показание нового способа испытывать соли. Технологический Журнал, 1804, т.1, ч.3, с.27.

1805-Ловиц Т.Е. Опыт изъяснения различных явлений, которые бывают во время кристаллообразования солей. Технологический журнал. 1805.

1955-Ловиц Т.Е. Избранные труды по химии и химической технологии. Редактор Фигурновский Н.А. Серия «Классики науки». М. 1955. 618с.

1919-Вальден Е.И, Товий Ловиц, забытый физико-химик. В книге Вальден П.И. Наука и жизнь. Ч.2. Пгр. 1919. 148с.

1853-Польский анатом Teichmann Ludwig Karol (1823-1895) в 1853 году занимался кристаллизацией различных компонент крови, он получил микрокристаллы гемина. Разработанный им тест на определения наличия пятен крови на одежде стал широко использоваться в области судебной медицины. Кристаллы гемина называют кристаллами Техмана.

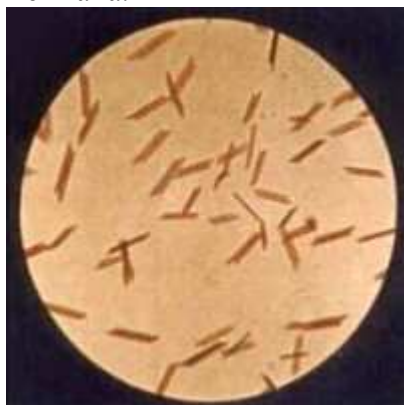


Рис. 0-1-1. Тест Техмана.

1877-Максвелл исследовал процессы испарения капель в газообразной среде. В статье «Диффузия», написанной в 1877 году Максвелл рассмотрел случай испарения сферической капли.

1907-Французский биолог Ледюк Стефан (LeDuc Stefan) (1855-1939) помещал капли крови на тонкий слой раствора соли, нанесенного на поверхность стекла. Он наблюдал потоки жидкости.

1917-Irving Langmuir, USA. Ирвинг Ленгмюр (Irving Langmuir) (1881-1957) вместе со своей ученицей Katarin Blodgett разработал метод формирования тонких пленок мономолекулярной толщины на поверхности воды (Langmuir-Blodgett method сокр. LB). Лауреат Нобелевской премии по химии в 1932 году «за открытия и исследования в области химии поверхностных явлений». При образовании пленки из стеариновой кислоты происходит кристаллизация пленки. Форма и структура кристаллов зависит от содержания примесей в воде. Таким образом, удалось зарегистрировать концентрацию примеси алюминия в воде при концентрации 1 к 500 миллионов.

1917-Langmuir, I. J. Am. Chem. Soc. 39 (1917) 1848.

1935-Blodgett, K.B. J. Am. Chem. Soc. 57 (1935) 1007.

1926-Dr. Heinrich von Hoesslin H. Das Sputum, 2nd ed. Auflage, Berlin, 1926. 500pages.

Исследовал кристаллизацию секретов слизистых оболочек.

1927-известный американский экстрасенс и ясновидящий Эдгар Кейси (Edgar Cayce) (1877-1945) предсказал 11 ноября 1927 года, что в один прекрасный день все болезни будут диагностироваться по одной капле крови. «On November 11, 1927, this was given in a reading: the day may yet arrive when one may diagnose the condition of the body through one drop of blood.» Он занимался медицинским диагностированием посредством ясновидения.

1932-Hedges-описал и сфотографировал картины высохших капель белков сыворотки крови и желатина. Наблюдал формирование колец Лиезеганга в процессе соагуляции, например, в растворе хромата серебра в желатине.
1922-Hedges E.S. Myers J.E. The problem of physicochemical periodicity. Longmans. New York. 1922.
1928-Hedhes E.S. Henley. J. Chem. Soc. 1928. 130. 2714.
1929-Hedges E.S. Periodic structures in gel. J. Chem. Soc. 1929. 23.
1930-Hedges E.S. Some relations between physicochemical and biological periodic phenomena. J. Soc. Chem. 1930. Ind. 49. T. 121.

1942-Bolen H.L. использовал кристаллизацию капли цельной крови для диагностики раковых заболеваний (HLB blood test-тест Болена).
1942-Bolen H.L. The Blood Pattern as a Clue to the Diagnosis of Malignant Disease. J. Lab.&Clin. Med. 27: p.1522-1536. 1942

1946-Papanicolaou-кристаллизация слизи цервикального канала при высушивании на воздухе.
Papanicolaou, GN. A general survey of the vaginal smear and its use in research and diagnosis. Am J Obstet Gynecol. 1946; 51: p.316-328.

1946-Лепешинская Ольга Борисовна (Москва, Институт Экспериментальной Биологии).
1946-Лепешинская О.Б. Косоротова М.В. Явления кристаллизации в живой материи. Наука и жизнь. 1946. №7. с.7-11.+

1950-Donadio V. (Italia) Crystallization method in the study of blood serum changes in the course of tuberculosis infection. Minerva Med. 1950 Mar 31; 41(15): p.511-515.

1951-Sole A. Stagoskopie.

Австрия, Вена, Детская больница Каролины. Sole Alphons. **Метод Stagoskopie (стагоскопия).**

Метод стагоскопии (кристаллизации) применялся для количественного анализа в коллоидной химии, минералогии, для медицинских исследований. Стагоскопия является одной из празновидностью химического микроанализа. На поверхность стекла наносится капля сыворотки крови и высушивается. Он применил этот метод для диагностики различных заболеваний. 27 февраля 1951 года он доложил об основах стагоскопии на Венском обществе педиатров. Он описал движение частиц от центра к краям при высыхании капли коллоидного раствора, и образование краевого валика. Он исследовал кристаллизацию капли сыворотки крови, спинномозговую жидкость, молоко, слезу.

Он высушивал жидкость при комнатной температуре (22-25) градусов и относительной влажности 45-50%. Полученные кристаллизационные картины он назвал стагограммы, stagogramm, от латинских слов stagon-капля и грамма-картина. Он выделял две основные области на стагограмме. В периферической области содержится коллоид, альбумин. В центральной области содержатся кристаллы соли.

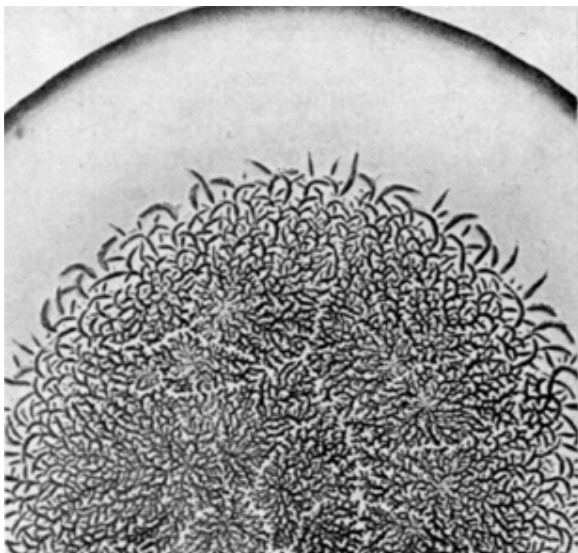


Abb. 1. Serostagogramm des Menschen.

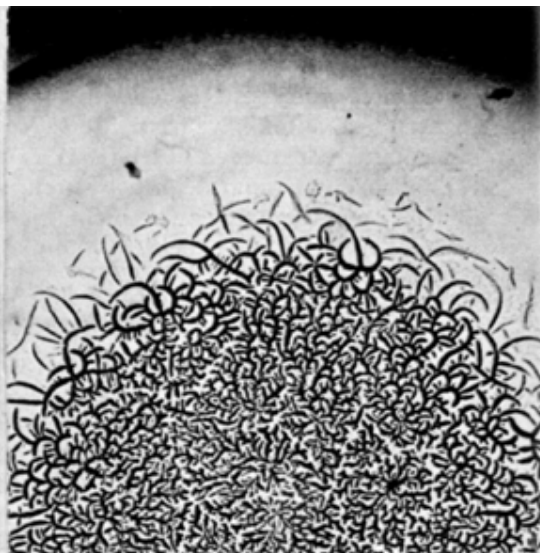


Abb. 2. Serostagogramm des Rindes.

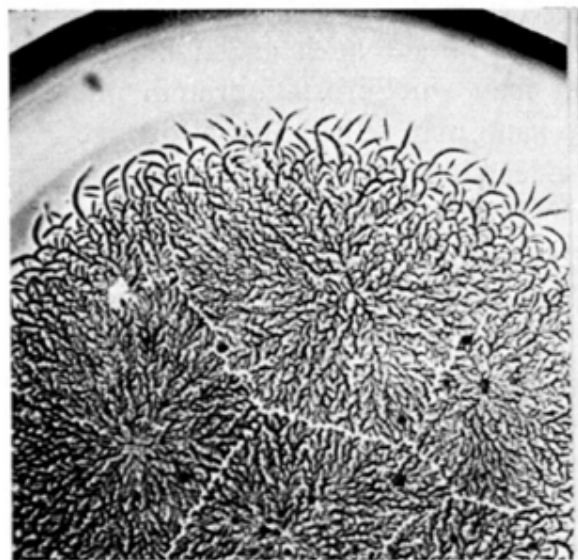


Abb. 3. Serostagogramm des Pferdes.

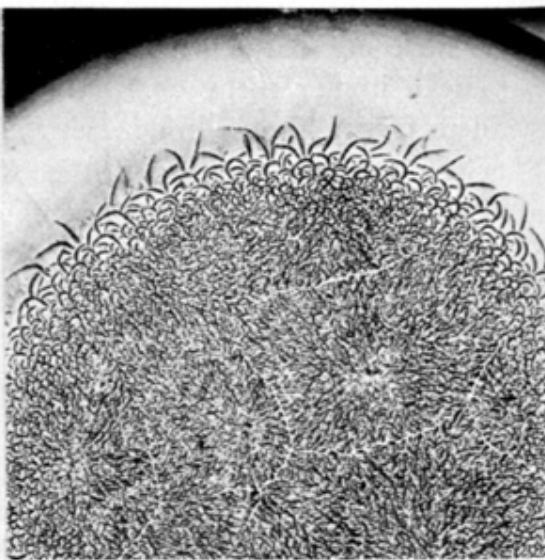


Abb. 4. Serostagogramm des Schafes.

Рис. 0-1-2. Серостагограммы сыворотки крови человека, коровы, лошади и овцы.

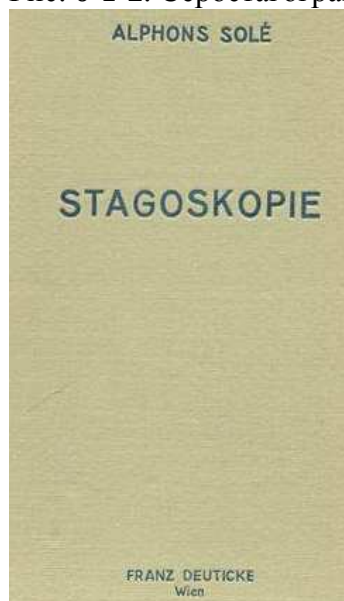


Рис. 0-1-3. Обложка книги.

1951-Sole A. Med. Klin, 1951. Nr.23. 680a.
 1952-Sole A. Stagoskopie. Wiener klinische Wochenschrift. 1952. Band.64. №1. s.24.
 1954-Sole A. Vergleichende Stagoskopie des Blutserums. Österreichische Zoologische Zeitschrift. Wien. Springer-Verlag. 1955. Bd. 5. №. 3. p.366-376.+
 1954-Sole A. Quantitative chemische Analyse mittels Stagoskopie. Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie. 1954, Volume 142, Issue 6, p.412-414.
 1954-Sole A. Die Stagoskopie des Liquor cerebrospinalis. Wien. Arch. Psychol. Neurol. 1954. 4. 2. p.83-93.
 1954-Sole A. Kolloid-Zeitschrift. 1954. Bd. 137. 1. p.15.
 1954-Sole A. Die Rhythmischen kristallisationen im influenzstagogramm. (Rhythmic crystallization by a drop technique). Kolloid-Zeitschrift. 1954. 137(1). P.15-19.
 1955-Sole A. Die Rhythmik im Influenzstagogramm. Kolloid-Zeitschrift. 1955. Band.143. No.2. p.73-83.+
 1955-Solé A. Die Stagoskopie der Tränen (The stagocopy of tears). Klinisches Monatsblatt Augenheilkunde. 1955. 126. 4. p.446-451.
 1955-Sole Alphons, Die Stagoskopie in der Mineralogie. Tschermak's Mineralogische und Petrographische Mitteilungen. 1955. 5(3): p.162-169.
 1955-Sole A. Osterr. Z. Kinderheilk. 1955. 11. 2-4. p.344.
 1955-Sole A. Osterr. Z. Kinderheilk. 1955. 11. 2-4. p.355.
 1955-Sole A. Neue Osterr. Z. Kinderheilk. 1955. 1. 1. p.71.
 1957-Sole A. Untersuchung über die Bewegung der Teilchen im Stagoform und Influenzstagogramm. Kolloid-Zeitschrift. 1957, Bd. 151, S. 55-62.+
 1960-Sole A. Stagoskopie Einführung in Methodik, Theorie und Praxis für Ärzte und Naturforscher. Wien. Franz Deuticke. 1960. 92 pages.

1919-Strindberg A.: Ein Blaubuch 1. Bd., p.381. G. Müller Verl., München 1919.

1920-Dold, H. Deutsch, med. Wochenschr. 3 (1920).

1920-Ders. Arch. f. Hy. 89, HZ. 8 (1920).
 1921-Ders. Deutsch, med. Wochenschr. Nr. 15, (1921).
 1921-Ders. Zeitschr. f. Immunforsch. 31, H. 2, (1921).
 1922-Ders. Ztbl. f. Bakt. I, Orig. Beih. (1922).
 1950-Ders. Ärztl. Forsch. 4. Jg., H. 12, (1950).
 1951-Ders. Mediz. Klinik, Nr. 23, 680a, (1951).
 1952-Ders. Wien. klin. Wochenschr., 64, Nr. 1, 24, (1952).
 1954-Ders. Kolloid-Zeitschr. 137, H. 1, 15 (1954).
 1954-Ders. Wien. Arch. f. Psychol., Psychiat. u. Neurol. 4, H. 2, 83 (1954).

1933-Henning N. & Norpath: Zeitschr. f. klin. Med. 126, H. 1 u. 2, (1933).
 1934-Henning N. & Beck: Klin. Wochenschr. Nr. 7 (1934).
 1949-Henning N. & Fischer: Klin. Wochenschr. Nr. 17/18 (1949).

1932-Zenker: Verh. deutsch, ophthalm. Ges. 49. Tg. (Leipzig 1932) in Monatsbl. f. Augenheilk. Bd. 88, 858 (1932).

1952-Bourgeois (Bourgeois) Blood crystallization in cancer. Homeopath Fr. 1952 May; 40(5): p.291-300.

1954- Bourgeois. Diagnostic Precoce et Traitement du Cancer. Paris 1954.

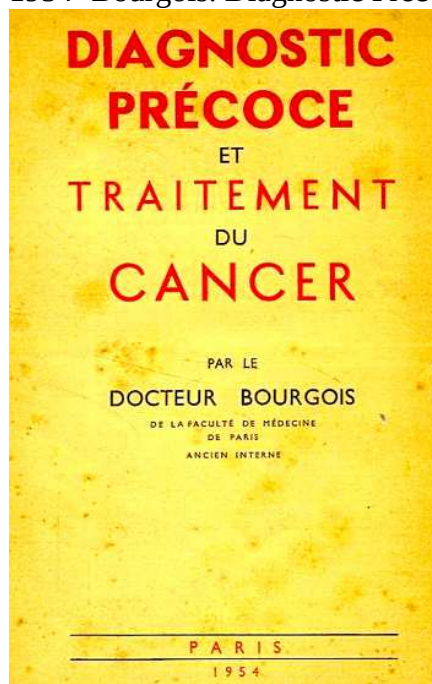


Рис. 0-1-4. Обложка книги.

1954-Von Carl Koch. Первое морфологическое описание структур высохшей на стекле капли сыворотки крови и интраокулярных жидкостей.

1952-C. Koch, Annali ottalmolog. 78 (1952)

1953-C. Koch, Ophthalmologica. 126 (1953)

1954-C. Koch, Ophthalmologica. 127 (1954)

1954-C. Koch. Feinbau und Entstehungsweise von Kristallstrukturen in getrockneten Tropfen hochmolekularsalzhaltiger Flüssigkeiten. Kolloid-Zeitschrift (Colloid & Polymer Science), september 1954, Volume 138, Issue 2, p.81-86.

1955-Koch C. über Kristallstrukturen in getrockneten Fäden und Ausstrichen menschlichen Glaskörpers. Ophthalmologica. 1955; 129: No.6. p.405-412.

1957-C. Koch. Kristallstrukturen und verwandte erscheinungen in getrockneten tropfen hochmolekular-salzhaltiger Flüssigkeiten (Kammerwasser). Documenta Ophthalmologica. 1957, Volume 11, Issue 1, p.182-189.

Исследуются кристаллические структуры в высушенных препаратах водянистой влаги и других интраокулярных жидкостей, а также в модельных растворах. Подробно описаны формы кристаллизации в высушенных препаратах. Делается вывод, что кристаллическая форма в высушенном препарате определяется соотношением концентрации белков и солей.



Рис. 0-1-5. Высушенная капля сыворотки крови.

1958-20 марта 1958 года газеты опубликовали анонсы работы доктора Уинстона Прайса (Dr. Winston Price). Он занимался изучением крови в Университете Джона Хопкинса. В статье сделан вывод: "Его открытие может означать, что медицинская лаборатория могу сказать, что беспокоит вас просто путем изучения капли крови".

Spain. Blumenkrantz Nelly, Kohan Samuel.

1961-Blumenkrantz N. (Spain) Rhythmic crystallization of cerebrospinal fluids. *Lav. Um.* 1961. 32. p.429-438.

1961-Blumenkrantz, N. and Moreno, A. R. *Laboratorio*, 1961. 32, p.101.

1962-Blumenkrantz N. Rhythmic crystallization of synovial fluids. *Lav. Um.* 1962. 33. p.511-513.

1962-Blumenkrantz N. Rhythmic crystallization of surgically-obtained bile. *Lav. Um.* 1962. p.513-514. (Spain).

1962-Blumenkrantz N. Kohan S. Rhythmic crystallization of bile. *American Journal of Digestive Diseases*. 1962. vol.7. issue 5. p.484-488.

1973-Blumenkrantz N, Asboe-Hansen G: New method for quantitative determination of uronic acids. *Anal Biochem.* 1973. 54: p.484-489.

1964-Teichmann B. Germany

1964-Teichmann B. Huber R. On the effects of irradiated human serum on the crystallization forms of L-leucine. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med.* 1964; 8: p.297-298.

1964-Teichmann B. On the effectiveness of the crystallization of L-leucine in contact with sera from cancer patient as a means of cancer diagnostics. *Acta biologica et medica Germanica.* 1964; 13: p.758-768.

1965-Teichmann B. On the use of the crystallization test in cancer diagnosis. *Arch Geschwulstforsch.* **1965**; 25(3): p.195-208.

1973-Teichmann B, Ziebarth D. The influence of lactic acid on crystallization patterns in cancer diagnosis. I. Cryoscopic measurements and studies on crystallization. *Arch Geschwulstforsch.* 1973; 42(1): p.41-49.

1973-Teichmann B, Ziebarth D. Effect of acid on crystallization tests in tumor diagnosis. Cryoscopic measurements and crystallization tests. II. Crystallization studies. *Arch Geschwulstforsch.* **1973**; 42(2): p.151-162.

1982-Zhuang, H., Coulepis, A. G., Locarnini, S. A., and Gust, I. D., 1982. "Detection of markers of hepatitis b infection in serum dried on to filter-paper: an application to field studies". *Bulletin of the World Health Organization*, 60, p.783-787. Исследования сыворотки крови **на фильтровальной бумаге**.

1984-Cancer Research Group, c/o A.Kovács Buza utca 2. H-2097, Pilisborosjenő, Hungary.

A. Kovács, A. Vértesy, L. Szalai, S. Adámi, L. Urbancsek, Z. Simon, G. Németh, J. M. Takács.

A New Technique for Diagnosing Cancer by Inspecting Blood Serum. *Growth, Cancer, and the Cell Cycle Experimental Biology and Medicine* Volume 5, 1984, p.307-314.

1984-Anderson, H.E., Reid, B.L. Vicinal, Long Range and Extremely Long Range Effects on Growth of Sodium Chloride Crystals from Aqueous Solutions Containing Protein. *Applied Physics Communications.* 1984; 4: No.2-3. p.217-239. Твердокристаллический метод исследования биожидкостей.

1986-Reid, B.L. Propagation of Properties of Chemical Reactions Over Long Distance in the Atmosphere as Seen by Crystal Growth Pattern Changes. *Aust. J. Med. Lab. Sci.* 1986; 7: p.30-35.

1987-Reid, B.L. The Ability of an Electric Current to Carry Information for Crystal Growth Patterns. *J. Biol. Phys.* 1987; 15: p.33-35.

1989-Department of Neurology, Medical Academy, Wroclaw, Poland

Brzecki A. Brzecka A. Gruszka E. Olejniczak P. Cyrul M.

Dry drop of blood plasma-a new approach in the diagnosis of neoplastic diseases. Mater. Med. Pol. 1989. Jul-Sep. 21(3): p.170-173.

Метод высушивания капли плазмы крови и сыворотки была впервые описана Białowas в 1967 году. Высушивание капли как метод диагностики новообразований был введен в 1984 году венгерскими авторами из Cancer Research Group. Целью исследований было оценить полезность этого метода в диагностике опухолей центральной нервной системы и рака легких. Мы разработали нашу собственную модификацию метода, мы использовали плазму крови вместо сыворотки крови. В 93% новообразований результат теста был положительным (в 92% опухолей центральной нервной системы и в 83% случаев рака легких). В контрольной группе произошло большое количество ложно положительных результатов, а также в группе больных туберкулезом легких (70%), рассеянный склероз (63%) и миастении (45%). Результаты наших исследований показали полезность этого метода в скрининг диагностики неоплазии. Дальнейшие исследования необходимы, особенно соотношение сухих результатов испытаний падение с эритроцитов теста оседания и антител и уровень фибриногена в крови.

1995-Bercy H. Biocrystallization analysis of low and high dilutions and homoeopathically treated blood of patients.

2000-Annarelli C. Reyes L. Fornazero J. Bert J. Cohen R. Coleman A.W. Ion and molecular recognition effects on the crystallisation of bovine serum albumin-salt mixtures. Cryst. Eng. 2000. 3(3). p.173-194.

2001-Annarelli C. Fornazero J. Bert J. Colombania J. Crack patterns in drying protein solution drops. Eur. Phys. J. E 2001. 5, p.599-603.+

2001-Vladimir, Z.; Wang, J. B.; Yan, X. H. (China) Human Blood Plasma Crystal and Molecular Biocolloid Textures-Dismetabolism and Genetic Breaches. Natural science journal, Xiangtan University; 2001. 23; p.118-127.

2006-USA. Фирмой Artann Laboratories, West Trenton, New Jersey, USA был разработан метод названный DMC-Droplet MicroChromatography. Метод основан на анализе динамики и структуры высушенной капли сыворотки крови. Автор методики-Dr. Armen P. Sarvazyan.

<http://www.artannlabs.com/droplet-micro.html>-сайт фирмы, e-mail: kille001@umn.edu

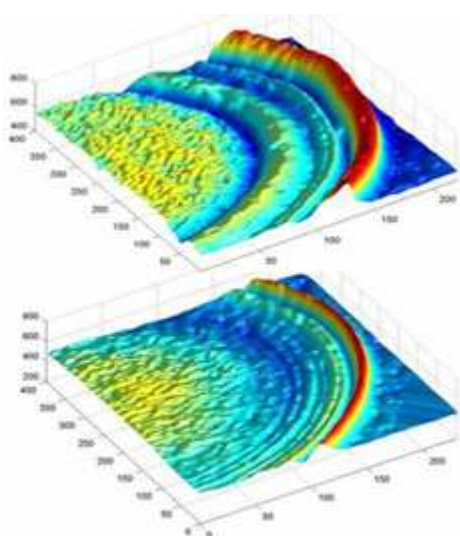


Рис. 0-1-6. Структура высохшей капли.

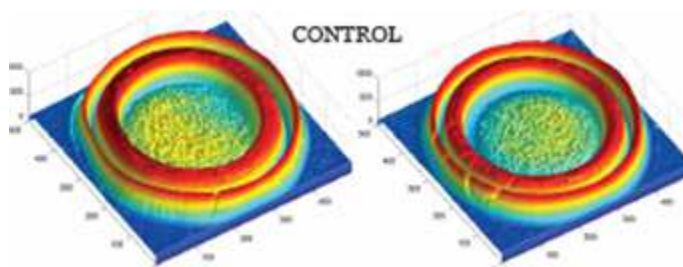


Рис. 0-1-7. Структура капли в норме.

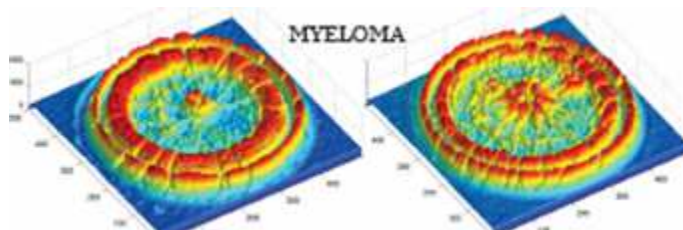


Рис. 0-1-8. Структура капли при заболевании Миелома.

2006-A.A. Killeen. N. Ossina. R.C. McGlennen. Sharon Minnerath. John Borgos. V. Alexandrov. A. Sarvazyan. Protein Self-Organization Pattern in Dried Serum Reveal Changes in B-Cell Disorders. Molecular Diagnostics. 2006. volume 10. No.6. p.371-380. +

2006-Farkas A, Sarvazyan A. A pilot study of the use of droplet microchromatography to screen for ovarian cancer. The Emerging Role of Screening and Prevention in Women's Cancer 2006 May; New York University, New York, NY.

2008-Sarvazyan A.P: Methods and devices for droplet microchromatography. USA Patent 7,364,696.

2008. Apr 29.

2003-Фирма Hagalis AG-Германия-Uberlingen

<http://www.hagalis.com/Kristeng/ppframe.htm>

Diagnosing Cancer and Early Detection. 2013.

Рассматриваются вопросы кристаллизации сыворотки крови.

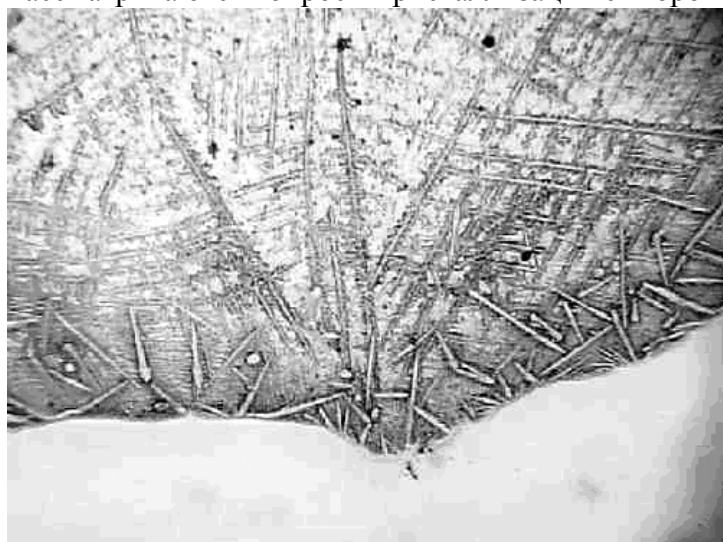


Рис. 0-1-9. Кристаллизация сыворотки крови пациента с раком молочной железы.

2003-Routh AF. BP Institute and Department of Chemical Engineering and Biotechnology, University of Cambridge, Pembroke Street, Cambridge CB2 3RA, UK. afr10@cam.ac.uk

2006-Liu Y. (University of Texas at Dallas, Richardson, USA) Serum proteomic pattern analysis for early cancer detection. Technol Cancer Res Treat. 2006 Feb; 5(1): p.61-6.

2005-Tatiana a. Yakhno, vladimir g. Yakhno, anatoly g. Sanin, Olga a. Sanina, artem s. Pelyushenko, Natalia a. Egorova, igor g. Terentiev, Svetlana v. Smetanina, Olga v. Korochkina, And elena v. Yashukova. The Informative-Capacity Phenomenon of Drying Drops. IEEE Engineering in medicine and biology magazine/ 2005. March. P.96-104.+

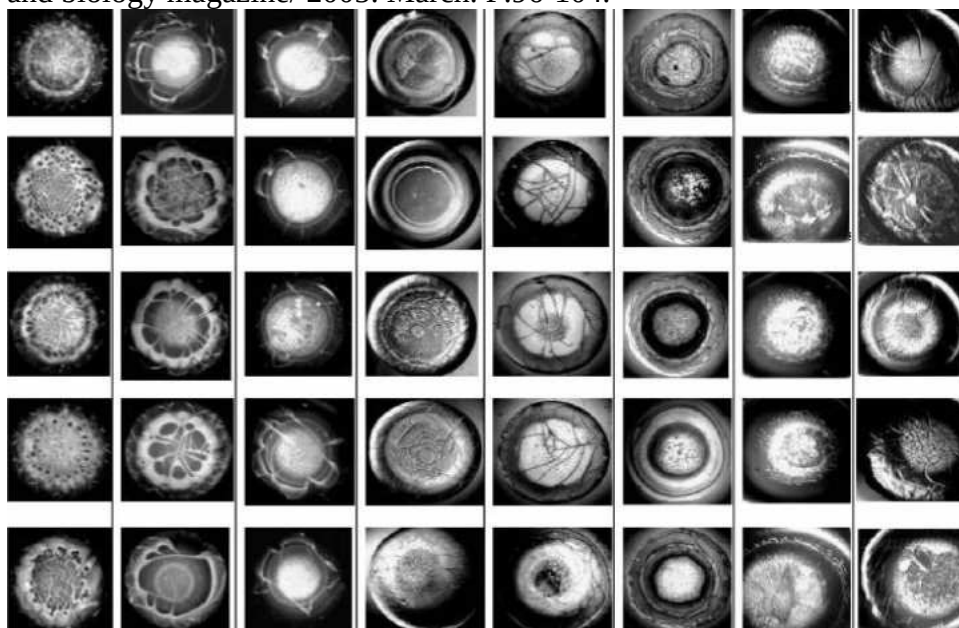


Рис. 0-1-10. Различные типы высушенных капель сыворотки крови.

2006-фирма Haemoview Science-Vienna-Austria

Фирма Haemoview Science предлагает тест Haemoview-Test-диагностика по капле высушенной крови. <http://haemoview.com/node/14>-сайт фирмы.

2010-Sefiane K. On the formation of regular patterns from drying droplets and their potential use for bio-medical applications. Journal of Bionic Engineering. 2010; 7(supplement): p.82-93.

2011-Sobac B. IUSTI, Aix-Marseille Université, UMR 6595 CNRS, Technopôle de Château-Gombert, 5 rue Enrico Fermi, 13453 Marseille, France. benjamin.sobac@polytech.univ-mrs.fr

2012-D. Brutin, B. Sobac, and C. Nicloux, "Influence of substrate nature on the evaporation of a sessile drop of blood," Journal of Heat Transfer, vol. 134, p.061101-061101, May 2012.

2012-Robert O. Yang, USA

Американский доктор Dr Robert O. Young из Калифорнии двадцать пять лет проводил исследования с каплей живой и высушенной крови. Он предложил новое направление-New Biology. Его выводы относительно применения Mucotoxic Oxidative Stress Test привели к более полному пониманию процессов в крови.

<http://www.phmiraclemicroscopy.com/bios/young.html>-сайт.

E-mail: phmiraclesecrets@aol.com

2013-Mikko Vapa-Droppi Veripalvelu Oy Finland

В Финляндии исследованием капли сухой крови занимаются Mikko Vapa and Marko Vapa-firstname@dropper.fi.

-Mikko Vapa and Marko Vapa. Visual Patterns of Dry Blood as a Health State Indicator. <http://dl.dropbox.com/u/3302341/VisualPatternsofDryBlood.pdf>-ссылка на статью.

2013-Ziye Xiong (University of Pittsburg) Pattern formation in drying drops of colloidal solutions. Dissertation. 2013.+

2014-University of Michigan Medical School, Ann Arbor, USA.

2014-Karen A. Esmonde-White, Francis W. L. Esmonde-White, Michael D. Morris and Blake J. Roessler. Characterization of biofluids prepared by sessile drop formation. Analyst, 2014,139, pp.2734-2741.

Группа американских исследователей, на базе Университета штата Мичиган исследовала процесс дегидратации каплей крови и синовиальной жидкости для диагностики. Капли наносились на различные гидрофильные подложки с краевым углом 50-90 градусов.

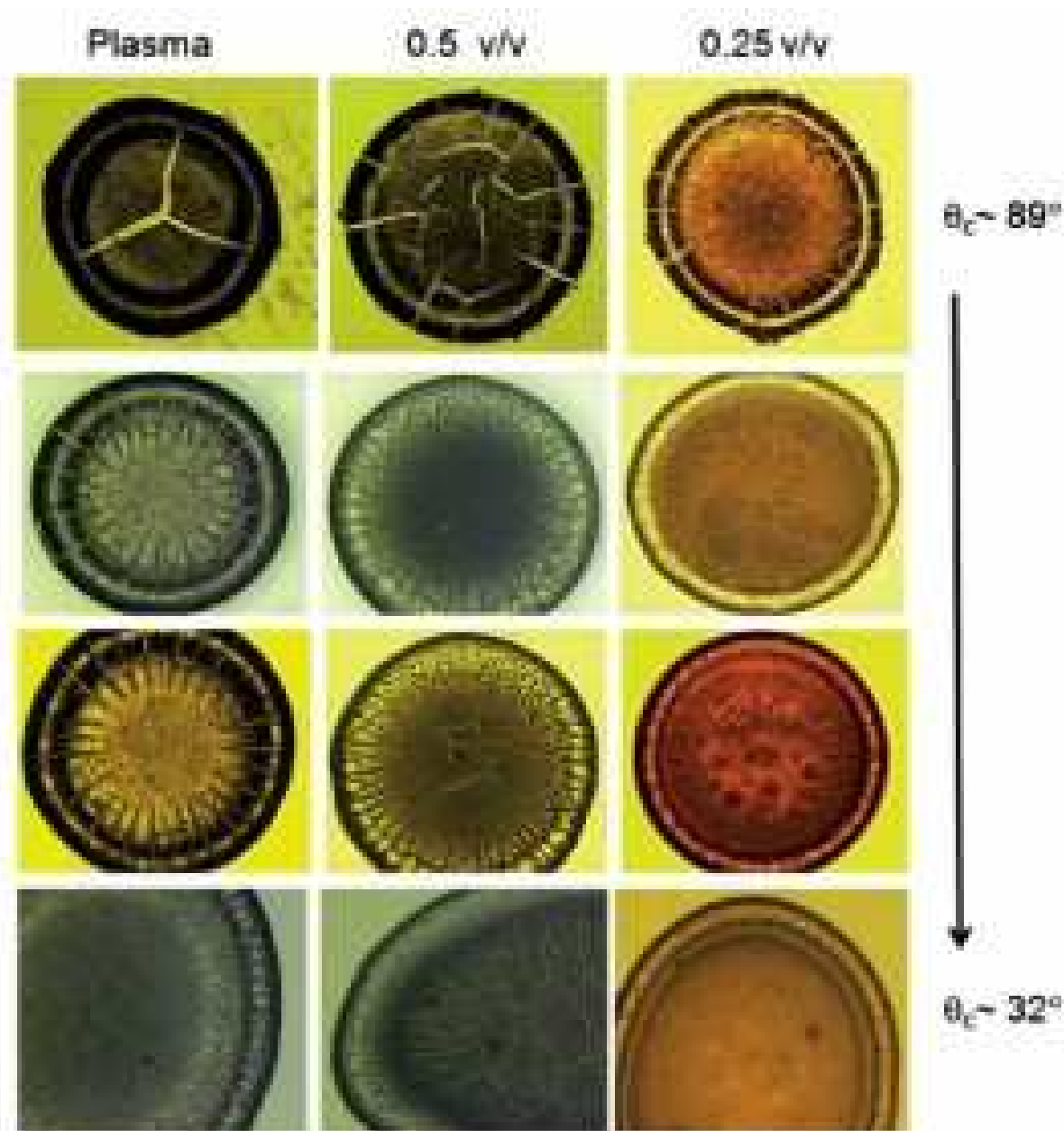


Рис. 0-1-11. Результаты экспериментов по высыханию капли крови.

0.2 Исследования по дегидратации в России.

1923-Яхонтов Н.Н. Кристаллография и органолиты. Журнал Природа, 1923, №7-12, с.17-38. Рассматривались вопросы кристаллизации биожидкостей.

1957-Фигуровский Н.А. Борисова В.Г. (Москва, МГУ) Качественный анализ фармакологических препаратов методом кристаллических налетов. Аптечное дело. 1957. №5. с.46.

1962-Ступко А.И. Кульбашник С.Н. Исследовал кристаллизацию слизи цервикального канала.

1967-Метод высушивания капли плазмы крови и сыворотки была описана польским исследователем Białowas в 1967 году.

1973-Ашхабад, НИИ Глазных болезней

Рапис Елизавета Гдальевна (1927-2012), доктор медицинских наук, профессор Тель-Авивского Университета в лаборатории прикладной физики, с 1950 по 1990 г. проживала в СССР.

1973-статья о высушивании жидкой части стекловидного тела глаза.

Рапис Е. Кристаллография в офтальмологии. Всесоюзный съезд офтальмологов. Тезисы доклада, Киев, 1973, с.53-57.

1988-опубликована статья об образовании структур при высыхании белка,

210 печатных работ, проведено исследование 8.000 образцов.

2002-книга «Белок и жизнь».

1973-Гегузин Я.Е. Капля. М. 1973.

1976-Леус П.А. Клинико-экспериментальное исследование патологии патогенетической консервативной терапии и профилактики кариеса зубов. Диссертация доктора медицинских наук. Рассматривалась кристаллизация слюны для диагностики кариеса. Впервые показано, что при высушивании на предметном стекле капли ротовой жидкости остается осадок, имеющий различное микроскопическое строение.

1977-Неретин В.Я. и Кирьяков В.А. (Москва). Исследовали кристаллизацию спинномозговой жидкости у больных с заболеваниями центральной нервной системы.

1977-Екатеринбург, УПИ, Лаборатория биофизики.

Минц Рафаил Исакович-работа по жидким кристаллам в организме.

Минц Р.И. Бязыров В.С. Методологические проблемы и биофизические аспекты изучения жидкокристаллического состояния. В сб. Проблемы и особенности современной научной методологии. Свердловск. 1977. с.47.

1984-Высушивание капли как метод диагностики новообразований был введен в 1984 году венгерскими авторами из Cancer Research Group.

1984-Ермаков Н. (Киев), описал высыхающую каплю яичного белка.

Статья-Ермаков Н. След капли. Наука и жизнь. 1984. №9. с.33-34.

1986-Волынский Марк Семенович

Книга-Необыкновенная жизнь обыкновенной капли. Наука и прогресс. Знание. Москва. 1986. 142с.

1987-Москва, МОНИКИ

Калинин А.П. Мороз Л.А. Макеев С.А. О кристаллографическом исследовании сыворотки крови при некоторых эндокринных заболеваниях. Советская медицина, 1987, №7, с.36-39. Кристаллография сыворотки крови без добавления кристаллообразующего вещества.

1987-Пермь, Краснодар, КубГМУ.

Савина Лидия Васильевна опубликовала работу по вакуумной ксерогелеграфии для изучения сыворотки крови.

Савина Л.В. Туев А.В. Чирвинский Н.П. Светлов Ю.Г. Перескоков В.Н. Шамсутдинов Н.В. Способ исследования сывороточной системы крови. Патент 1399681. 1988.

Сыворотку крови человека или животного наносят капельно (10-30 капель 04-5мм) на изотропную подложку (например, чашка Петри) с фильтровальной бумагой и помещают в электрический суховоздушный шкаф при 37 градусов и обычном атмосферном давлении. Сушат 3-4 ч до полного удаления влаги. Полученный препарат микроскопируют в проходящем свете при разных увеличениях.

1989-Екатеринбург, УГМА, Кафедра хирургических болезней.

Лисиенко Валентина Михайловна и Р.И. Минц положили начало новому научному направлению, в основу которого легла идея возможности использования биофизических методов в диагностике, прогнозировании и контроле за эффективностью лечения различных заболеваний с помощью оценки структурирования жидких кристаллов в биологических жидкостях организма.

1992-Москва,

Шабалин Владимир Николаевич-директор Российского НИИ Геронтологии, дмн
Шатохина Светлана Николаевна-д.м.н. руководитель клинко-диагностической лаборатории МОНИКИ.

1992 г. опубликовали работу по кристаллическим структурам крови в норме и при патологии. Они исследовали более 10.000 образцов.

1995-диссертация доктора медицинских наук Шатохиной С.Н. «Диагностическое значение кристаллических структур биологических жидкостей в клинике внутренних болезней»

1997-1-я Всероссийская научно-практическая конференция «Кристаллографические методы исследования в медицине». 1997.

2001-книга-Морфология биологических жидкостей человека.

1993-Екатеринбург, УГМИ

Веселова Вера Симоновна-диссертация к.м.н. «Кристаллогенные свойства липидной фракции сыворотки крови у больных ишемической болезнью сердца и их особенности в зависимости от клиники и лечения».

1999-Саров, ВНИИЭФ

Бузоверя М.Э. Гончаров А.Е. Лобкаева Е.П. Мальцева Е.Н.
Способ оценки гомеостаза организма. Патент 2127430. 1999.

Способ позволяет расширить объем информации о состоянии гомеостаза организма. Проводят исследование физико-химического состояния жидкой биологической среды организма с учетом воздействия на него внешних или внутренних факторов. При этом оценку осуществляют по изменению надмолекулярной структуры биологической среды в целом. Жидкую биосреду высушивают, и после испарения раствора полученную кристаллограмму просматривают в неполяризованном свете. При наличии агрегированных структурных элементов по образованию сложных морфологических форм, судят о развитии патологического процесса и оценивают гомеостаз как нарушенный, а при их структурировании, ориентации и

исчезновении крупных сложных агрегатов судят об улучшении физического состояния и оценивают гомеостаз как компенсированный.

2001-Астрахань, АГУ

Тарасевич Юрий Юрьевич-моделирование роста кристаллов в высыхающей капле

2001-Астрахань, НИИ по изучению лепры.

Аюпова Адиля Камильевна-диссертация к.м.н. «Системная организация сыворотки крови при лепре».

2001-Н. Новгород, ИПФ РАН

Яхно Татьяна Анатольевна-статья о моделировании процессов в высыхающей капле.

2001-2-я Всероссийская научно-практическая конференция «Морфология биологических жидкостей в диагностике и контроле эффективности лечения». Москва, 2001.

В конференции приняло участие более 150 человек из различных городов: Москвы, Астрахани, Волгограда, Воронежа, Екатеринбурга, Камышина, Кирова, Кузнеця, Нижнего Новгорода, Пензы, Смоленска, Самары, Саратова, Сарова, Тамбова, Тулы, Ульяновска, Ярославля

2004-3-я Всероссийская научно-практическая конференция «Функциональная морфология биологических жидкостей». Москва.

2004-Москва, НПО «Радон»

Ручьева Ольга Александровна диссертация к.ф.м.н. «Исследование кристаллизации биологических молекулярных систем плазмы крови под действием специальной твердотельной подложки в качестве скрининга ионизирующего излучения».

2008-Астрахань, АГМА

Рыжкова Оксана Александровна-диссертации к.м.н. «Клинико-диагностическое значение морфологической картины сыворотки крови у больных туберкулезом легких».

2008-Саратов, СГМУ

Сергеева Юлия Васильевна-диссертация к.м.н. «Оптимизация диагностики острого коронарного синдрома с помощью маркеров функциональной морфологии сыворотки крови (клинико-экспериментальное исследование)».

Докторские диссертации, посвященные изучению дегидратации различных биожидкостей:

1992-Краснодар, КГМА, Савина Лидия Васильевна

Кристаллографические структуры сыворотки крови в клинике внутренних болезней. Диссертация доктора медицинских наук. Пермь. 1992.

1995-Москва, МОНИКИ, Шатохина Светлана Николаевна

Диагностическое значение кристаллических структур биологических жидкостей в клинике внутренних болезней. Диссертация доктора медицинских наук. Москва. 1995.

2001-Москва, РМАПО, Гайворонская Валентина Ивановна

Кристаллографический метод диагностики черепно-мозговой травмы и некоторых других патологических состояний в судебно-медицинской практике. Диссертация доктора медицинских наук. Москва. 2001.

2004-Нижний, Новгород, НГМА, Потехина Юлия Павловна

Значение морфологической картины биологических жидкостей в диагностике и контроле эффективности лечения некоторых распространенных заболеваний лиц пожилого возраста. Диссертация доктора медицинских наук. 2004.

2005-Самара, СГМУ, Девяткин Анатолий Анатольевич
Функциональная морфология биологических жидкостей человека в патофизиологии инволютивного катарактогенеза. Диссертация доктора медицинских наук. 2005.

2005-Москва, МГСУ, Колединцев Михаил Николаевич
Клинико-экспериментальная разработка системы скринингового анализа слезной жидкости для диагностики, прогноза и контроля эффективности проводимого лечения при различных формах патологии глаз. Диссертация доктора медицинских наук. Москва. 2005.

2007-Москва, РУДН, Разумова Светлана Николаевна.
Диагностические и прогностические критерии стоматологической патологии по морфологической картине ротовой жидкости у пациентов различных возрастных групп. Диссертация доктора медицинских наук. 2007.

2009-Астрахань, АГМА, Дикарева Людмила Васильевна
Гиперпластические процессы матки, клинико-диагностическое значение маркеров биологических жидкостей. Диссертация доктора медицинских наук. (Астрахань. 2003.) Волгоград. 2009.

2010-Нижний Новгород, НГМА, Обухова Лариса Михайловна
Роль протеинов в формировании структурного макропортрета плазмы крови при интоксикации организма. Диссертация доктора биологических наук. 2010.

2011-Нижний Новгород, ИПФ, Яхно Татьяна Анатольевна
Агрегатное состояние и кооперативные реакции компонентов цельной крови в норме и патологии. Диссертация доктора биологических наук. 2011.

0.3 Микрорекристаллизация.

Отдельным направлением исследований является микрорекристаллизация, кристаллизация малых объемов жидкости. Основы микрорекристаллоскопического анализа были заложены Ловицем Т.Е. в 1804 году. Дальнейшее развитие микрорекристаллоскопический анализ получил в работах Хартинга (1850), Божицкого (1877) и Беренса (1882). Работами отечественных ученых Ахматова П.Н., Вульфа Ю.В. внесен большой вклад в микрорекристаллохимию соединений. В 1903 г. Клей, а в 1906 г. Болланд применили кристаллооптический метод для определения алкалоидов.

Издавался журнал *Mikrochemie* (1923-1933), *Mikrochem. Acta.*(1939).
Microchemical Journal, издатель Elsevier BV, Нидерланды. Основными предметными областями публикуемых статей являются Аналитическая химия, Спектроскопия.

1873-Ахматов П.Н. Приложение микроскопа к химическим исследованиям. 1873. Он проводил микрорекристаллические исследования.

Ахматов П.Н. О реакциях ксантогенатов на соединения некоторых металлов. Москва, 16 ноября 1874 г. с.15.

1882-Беренс, шведский химик, исследовал микрорекристаллизацию.

1904-Donau S. Monatsh. Chem. 1904. 25. p.918.

- 1905-Белянкин Д.С. Краткое руководство к микрохимическому анализу минералов. 1905. Он использовал микрокристаллоскопический метод для изучения породообразующих минералов.
- 1910-Emich F. Ber. 43. p.10 (1910).
- 1930-Heller K. Mikrochemie. 1930. 8. p.141.
- 1930-Hahn F. Mikrochemie. 1930. 10. p.313.
- 1931-Дьячковский С.И. Электрокапиллярный анализ. Журнал общей химии. 81 (1931).
-
- 1931-Коренман Израиль Миронович (1904-1988), дхн, проф. развивал микрокристаллоскопию, Нижней Новгород, НГУ, кафедра аналитической химии (с 1936 года),
1931-Коренман И.М. Краткое пособие по качественному микрохимическому анализу. ОНТИ. Химтеорет. 1931. Второе издание 1935.
1936-Коренман И.М. Количественный микрохимический анализ. ОНТИ. Химтеорет. 1936.
1939-Коренман И.М. Микрокристаллоскопия. Диссертация. 1939.
1947-Коренман И.М. Микрокристаллоскопия. Качественный микрохимический анализ неорганических веществ. М. Л. 1947. 319с.+
1949-Коренман И.М. Количественный микрохимический анализ. Госхимиздат. 1949. 321с.+
-
- 1932-Кольтгоф И.М. Объемный анализ. Т. II. 214, 276, 351, Л. Госхимтехиздат. 1932.
- 1934-Прэгл Ф. Количественный органический микроанализ. М. Л. 1934. 134с.
- 1934-Шорт М.Н. Микроскопическое определение рудных минералов. 124. 1934.
- 1934-Леммлейн Г.Г. Цехновицер Е.В. К истории возникновения микрохимического анализа. Труды института истории науки и техники. 1934. Выпуск 4. №1. с.365-378.
-
- 1937-Танаев Н.А. Романюк А.Н. ЖПХ. №9. 1924 (1937).
1939-Танаев Н.А. Капельный метод. ГОНТИ. 1939.
-
- 1939-Фридрих А. Практика количественного органического микроанализа. М. Л. 1939.
- 1948-Аншелес О.М. Буракова Т.Н. Микрохимический анализ на основе кристаллооптики. Л. 1948. 133с.
-
- 1949-Москва, Институт органической химии АН СССР, Лаборатория микроанализа, Коршун Мирра Осиповна (1900-1958) руководитель лаборатории.
1949-Коршун М.О. Гельман Н.Э. Новые методы элементарного микроанализа. М. Л. 1949. 126с.+
-
- 1956-Книжко П.О. (Украина, Одесса, Одесский фармацевтический институт) Труды Одесского фармацевтического института. 1, 165, 1948.
1956-Книжко П.О. Микрокристаллоскопические реакции на дибазол и некоторые сульфаниламиды. Аптечное дело. 1956. №2. 13.
-
- 1957-Фигуровский Н.А. Борисова В.Г. (Москва, МГУ) Качественный анализ фармакологических препаратов методом кристаллических налетов. Аптечное дело. 1957. №5. с.46
- 1959-Швайкова М.Д. Судебная химия. Москва. Медгиз. 1959. 168с.

1960-Белова А.В. Микрористаллоскопическое обнаружение некоторых производных барбитуровой кислоты при судебно-химических исследованиях Судебно-медицинская экспертиза. 1960. №2. с.37-45.

1960-Позднякова Валентина Трофимовна (Украина, Львов, ЛГМИ) Микрористаллоскопические реакции на алкалоиды. Госмедиздат. УССР. 1960. 163с.+

1965-Позднякова В.Т. Головкин В.А. Идентификация бензамона при помощи микрористаллоскопии и кристаллооптики Аптечное дело. 1965. №5. с.60-62.

1965-Позднякова В.Т. Роговский Д.Ю. Головкин В.А. Идентификация гексония при помощи кристаллооптики и микрористаллоскопии. Фармацевтический Журнал 1965. №3. с.33-36.

1968-Позднякова В.Т. Микрористаллический анализ фармацевтических препаратов и ядов. М. Медицина. 1968. 118с. Книга.+

1961-Никольская М.Н. Исследование пестицидов кристаллографическим методом. Аптечное дело. 1961. №6. с.42.

1965-Никольская М.Н. Гендель В.А. Попков В.А. Исследование природных веществ на основании изучения формы кристаллов. Аптечное дело. 1965. №4. т.4. с.63-65.

1965-Никольская М.Н. Гандель В.Г. Попков В.А. Обнаружение сульфаниламидных препаратов методом кристаллизации в тонком слое. Аптечное дело. 1965. №4. с.63-65. (13-14).

1968-Никольская М.Н. Ранзеев В.Г. Попков В.А. Кристаллизация некоторых химических препаратов. Аптечное дело. 1968. №4. с.63.

1965-Бубон Н.Т. Пузыревский К.Я. (Белоруссия, Витебск, Витебский медицинский институт, Кафедра токсикологической и аналитической химии) Микрористаллоскопическая реакция обнаружения папаверина. Аптечное дело. 1965. №2. с.50-52.

1965-Шемякин Ф.М. Бердников К.М. (Москва, Институт общей и неорганической химии) Определение качества барбитуратов методом кристаллографии. Аптечное дело. 1965. №6. с.63.

1966-Лобанов В.И. Микрористаллоскопические реакции обнаружения некоторых производных барбитуровой кислоты. Журнал аналитической химии. 1966. №1. с.110.

1976-Фартушный А.Ф. Матвеев В.И. Кузьменко Е.Д. Использование микрористаллоскопии для обнаружения производных изоникотиновой кислоты. В кн. Первый Всесоюзный съезд судебных медиков. 21-24 сентября 1976. Киев, 1976. с.538.

Использование микрористаллической реакции в судебно-медицинской практике для установления факта наличия крови на тех или иных объектах.

1-Суть микрористаллических проб сводится к выявлению характерных кристаллов, образующихся в результате взаимодействия гемоглобина с определенными химическими веществами. Обнаружение таких кристаллов подтверждало наличие крови в исследуемом объекте. С этой целью получали кристаллы солянокислого гематина (кристаллы Тейхмана). Проба основывалась на реакции взаимодействия хлористого натрия, уксусной кислоты и красящего вещества крови с последующим образованием двоякопреломляющих кристаллов в виде косых параллелограммов темно-коричневого цвета. В результате химического взаимодействия гидроксида натрия, пиридина, глюкозы и красящего вещества крови получают полиморфные кристаллы гемохромогена темно-красного цвета. Они часто имеют игловидную или ромбовидную форму, располагаются группами в виде звезд, снопов, пучков.

2-Teichman Crystallization Test. Кристаллизационный тест Тейхмана применяется в криминалистике для выяснения, являются ли пятна следами крови, или нет. Тест был предложен польским анатомом Ludwig Teichman в 1853 году. Посещая школу в Германии он исследовал реакции различных органических соединений в крови, и обнаружил кристаллы, которые образуются в результате одной из реакций. Эти кристаллы Teichmann были названы в

честь Людвиг Теихманн. В этом тесте гемоглобина крови вступает в реакцию с уксусной кислотой и раствором хлорида натрия с образованием линейных и прямоугольных кристаллов. Этот тест подтверждает ли образец крови, на основе внешнего вида кристаллов Текмана.

3-Кристаллы гемина Тейхмана-кристаллы ромбической формы, темно-бурого цвета. Получаются с большой легкостью из любого кровавого пятна самой различной давности, что позволяет решить кровавую природу сомнительно окрашенного пятна, имеющегося на мебели, платье, белье или оружии и т.д. Для получения кристаллов гемина растворяют в воде исследуемое окрашенное пятно и раствор после прибавления концентрированной уксусной кислоты и нескольких кристалликов поваренной соли подвергают на водяной бане медленному испарению.

4-Выявление кристаллов гемина (кристаллы Тейхмана). Наносят на предметное стекло каплю крови и тщательно смешивают ее с небольшой каплей 0,9-процентного раствора поваренной соли. Затем предметное стекло подогревают до тех пор, пока жидкость испарится и образуется красно-коричневый остаток. Прежде наложения покровного стекла подливают ледяную уксусную кислоту до заполнения пространства между покровным: и предметными стеклами. После этого препарат подогревают до полного испарения уксусной кислоты. Наконец, высушенный препарат промывают, ксилолом и заключают в бальзам. Кристаллы гемина (солянокислый гема-тин) выступают в виде ромбических табличек.

5-Каплю свежей крови помещают на предметное стекло и дают ей высохнуть, держа стекло высоко над пламенем горелки во избежание нагревания выше 60°C (не кипятить, контролировать нагрев прикосновением стекла к тыльной поверхности кисти руки). К подсушенной крови добавляют 1-2 капли концентрированной уксусной кислоты, тщательно перемешивают стеклянной палочкой, накрывают покровным стеклом и осторожно нагревают до начала кипения кислоты. При этом предметное стекло следует держать высоко над пламенем горелки, чтобы избежать выкипания жидкости. Затем препарат охлаждают и рассматривают под микроскопом образовавшиеся при разрушении гемоглобина кристаллы солянокислого гемина, имеющие форму ромбоидальных палочек. Если обнаружить кристаллы не удастся, то приподнимают покровное стекло, добавляют 2-3 капли концентрированной уксусной кислоты, нагревают и после охлаждения вновь исследуют под микроскопом.

0.4 Высушивание (кристаллизация) капли воды.

1989-Германия, Мюнхен



Рис. 0-4-1. Ruth Kübler и ее книга

Ruth Kübler (1925-2011) родилась в Берлине. В 1989 году разработала метод м-Autonomous development of a droplet viewing method-droplet pictures Сайт <http://www.yasni.info>

-Ruth Kübler. Der Kosmos im Wassertropfen. Werlag Baden. Schweis. 2006. В книге помещены фотографии Ruth Kübler. („The Cosmos in Water Droplets“)



Рис. 0-4-2. Кристаллы водных растворов.

1995-Япония, Токио

Японский ученый Масау Эмото (Masaru Emoto) изучает структуру кристаллов воды получаемых путем замораживания. Исследовалось влияние различных факторов на форму образовавшихся кристаллов льда.

1998-Германия, Штутгарт, Bernd Kroplin.

Профессор Dr. Bernd Helmut Kröplin (Bernd-Helmut Kroeplin) (Director of the Institute for Static and Dynamic for Aerospace Constructions; University of Stuttgart)

<http://www.weltimtropfen.de>

Проводилось испарение капли воды и осуществлялось фотографирование с помощью микроскопа в режиме освещения методом темного поля. Исследовалось влияние на воду различных факторов. Он показал, что каждая капля воды имеет и хранит свою историю. Он и его коллеги нашли способ документировать формы капли воды под микроскопом-они нанесли капли на стекло и дали им высохнуть. Затем они фотографировали их с помощью микроскопа. Получилось, что у каждой капли свой неповторимый вид.

Капли водопроводной воды, высушенные в его лаборатории, показали темные пятна в их центре. После введения в воду компонентов растительного или животного происхождения, проявившееся пятно стало светлым. Несколько людей положили в воду различные цветы, и высохшие капли этой воды раскрыли свой "имидж" под объективом микроскопа. Выяснилось, что каждый вид цветка создал капли с уникальными характеристиками и по утверждению профессора Крёплина, похожие на изображение самого цветка.

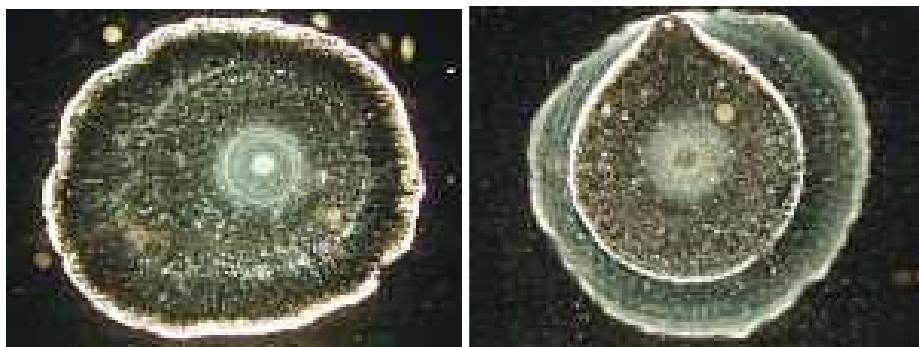


Рис. 0-4-3. Высохшая капля воды до и после воздействия излучение сотового телефона.

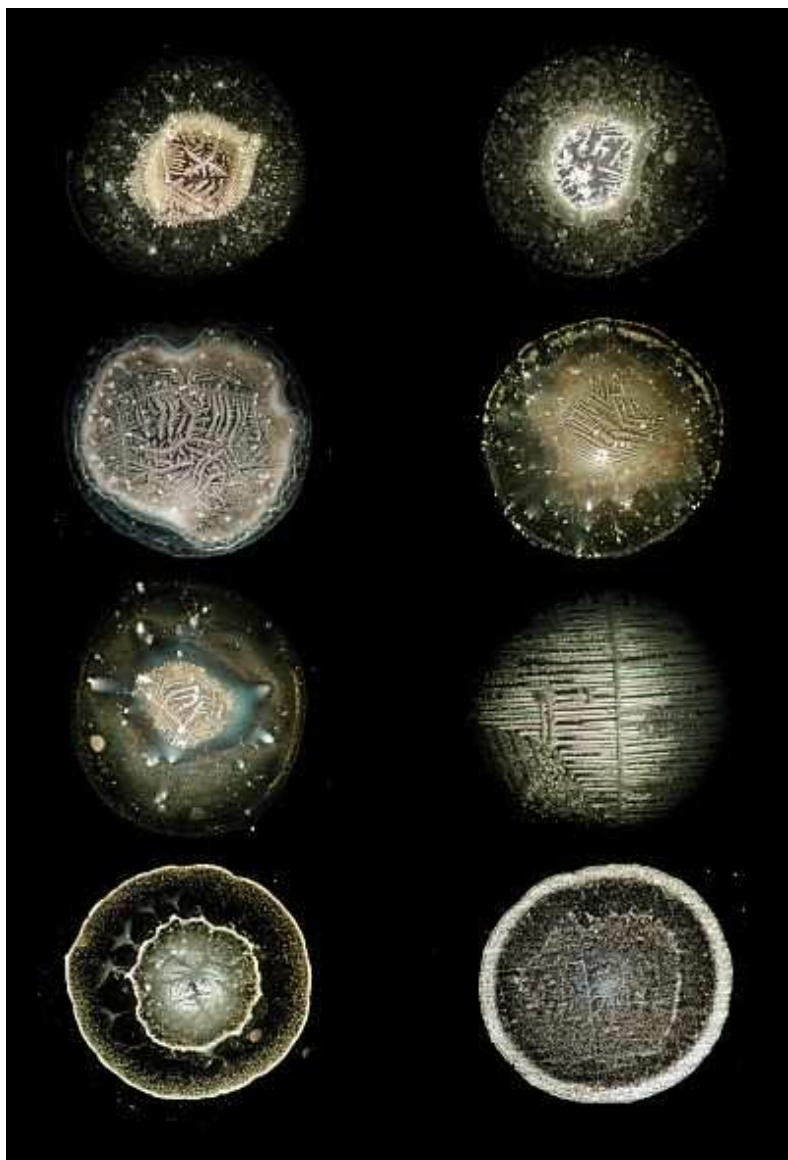


Рис. 0-4-4. Воздействие сотового телефона на кристаллизацию капли слюны и капли воды.

Был проведен эксперимент по оценки влияния экспериментатора на результат эксперимента. Оказалось, что при выполнении испарения капли одной и той же жидкости результат существенным образом зависел от того, кто выполнял процедуру. В интервью Третьему немецкому телеканалу проф. Крёплин рассказал, что капли, помещенные на стекло одним человеком, были схожи друг с другом, однако, при сравнении фотографий капель, нанесенных разными людьми, были обнаружены большие различия в их формах. Исходя из этого, исследователи пришли к выводу, что даже нанесший капли воды на поверхность стекла человек, оставляет память о себе, что вода запоминает, кто вступал с ней в контакт.

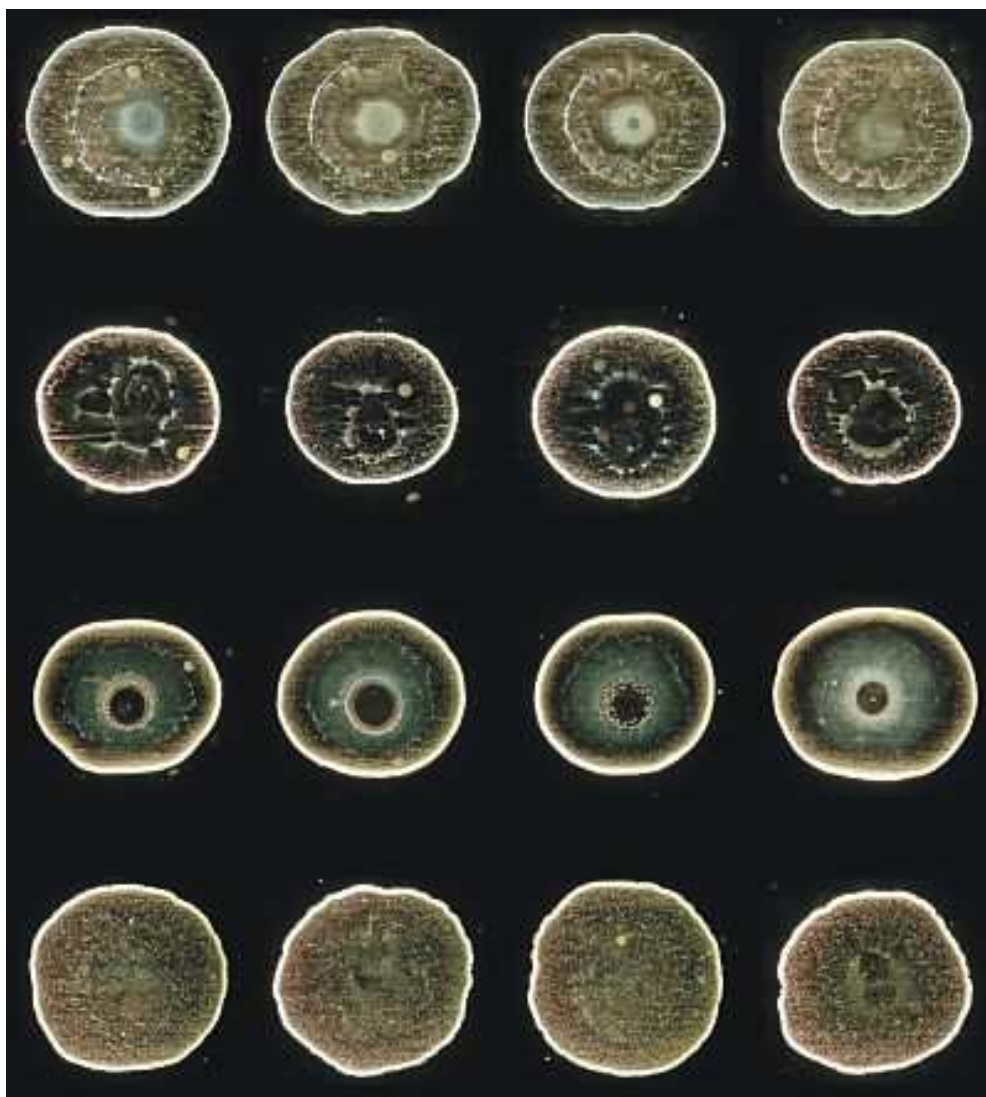


Рис. 0-4-5. Капли одной и той же воды, приготовленные различными людьми.



Рис. 0-4-6. Кристаллограмма слюны до и после рентгеновского сканирования ротовой полости.

Была создана программа «World in the drop» с целью организации выставок.

2000-Первая такая выставка была проведена в 2000 году в Ганновере (Германия) в рамках выставки ЭКСПО-2000.

2012-Выставка “World in the drop” в Bas Fussing в рамках Water-Symposium.

2005-Jordi Gómez-Segura, Olga Kazakova, Julia Davies, Patrick Josephs-Franks, Jaume Veciana and Daniel Ruiz-Molina. Self-organization of Mn12 single-molecule magnets into ring structures induced by breath-figures as templates. Chem. Commun., 2005, 5615-5617.

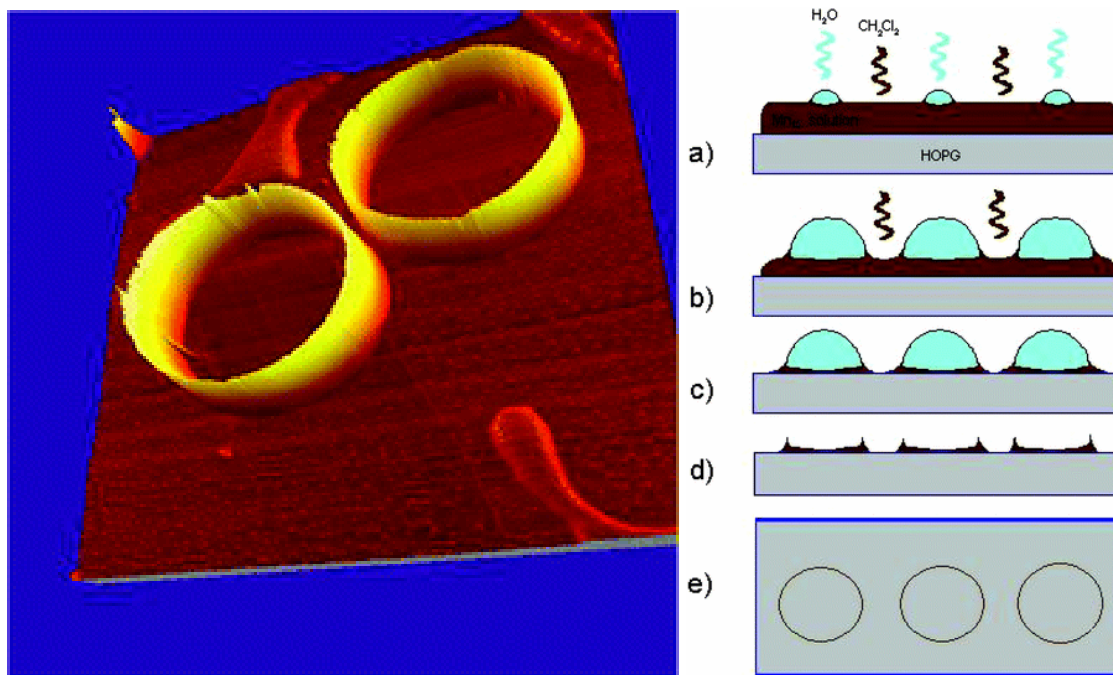


Рис. 0-4-7. Изображение высохшей капли.

2010-Теленкова Олеся Геннадьевна (Смоленск, СГМА).

2010-Теленкова О.Г. Фаращук Н.Ф. Способ оценки изменений структурного состояния воды после физического воздействия. Заявка на изобретение №2010145460/05 (065524) от 8.11.2010.

2011-Теленкова Олеся Геннадьевна. Гигиеническое обоснование условий, обеспечивающих стабильность структурного состояния воды. Диссертация кандидата биологических наук. Москва. 2011. а+

Устанавливается зависимость между кристаллографическим и дилатометрическим методами анализа структурного состояния воды. Для экспресс-оценки изменения структурного состояния воды впервые предложен метод кристаллографического исследования. Предложен метод кристаллографического рисунка высушенной капли в качестве экспресс-анализа структурного изменения питьевых вод при гигиенической оценке влияния на них различных физических факторов.

Исследовались образцы воды методом, разработанным в лаборатории кафедры общей и медицинской химии Смоленской медицинской академии (патент на изобретение №2004129172 от 4.10.2004). С помощью микропипетки на предварительно обезжиренные предметные стекла наносилось по 3 капли каждого исследуемого образца воды. Расстояние от носика микропипетки до предметного стекла 1см. Капли высушивались в течение 48ч в термостате при температуре 25 градусов Цельсия. После чего кристаллографический рисунок фотографировался при 7х40 увеличении с помощью микроскопа МИКМЕД-2 фирмы ЛОМО с фотографической насадкой фотоаппаратом Nikon COOLPIX 4500 при синем светофильтре, обрабатывался в программе ACDSee 7.0. Для выявления особенностей кристаллографического рисунка делались и анализировались снимки трех капель каждого исследуемого образца воды.

В необработанной водопроводной воде (содержание ЖКА-3,56±0,21%) осадок представлен крупнокристаллические неравномерно распределенными образованиями. В воде, обработанной лампой Биоптрон (содержание ЖКА-6,90±0,23%), четко виден мелкокристаллический, равномерно распределенный осадок солей, размер кристаллов по всей капле практически одинаковый.

2011-Maria Olga Kokornaczyk, Giovanni Dinelli, Ilaria Marotti, Stefano Benedettelli, Daniele Nani, and Lucietta Betti. (Italy) Self-Organized Crystallization Patterns from Evaporating Droplets of Common Wheat Grain Leakages as a Potential Tool for Quality Analysis. ScientificWorldJournal. 2011; 11: p.1712-1725.+

Исследовалась кристаллизация капель жидкости, полученной экстракцией из различных сортов пшеницы. Было проанализировано два сорта пшеницы. Один сорт давал слабую кристаллизацию, другой сорт имел сильную кристаллизацию. Путем проращивания зерен было установлено, что пшеница с сильной кристаллизацией обладает большей энергией и более сильным прорастанием.

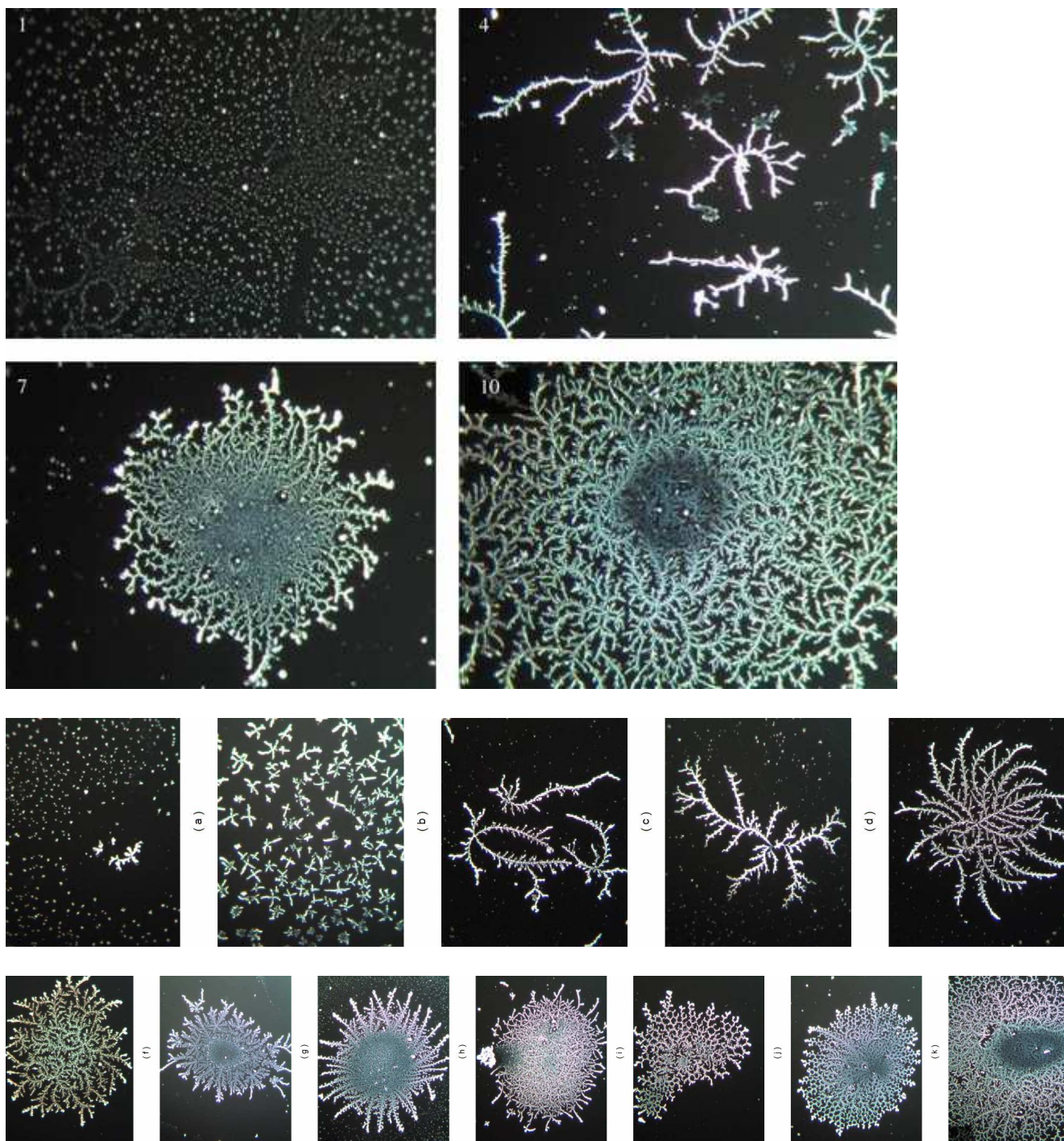


Рис. 0-4-8. Различная степень кристаллизации. Увеличение 100х.

2014-David Schweitzer (UK)

D. Schweitzer исследовал свойство воды-память воды. Для получения снимков он использовал следующие дополнительные методы:

- наклонное освещение под углом 1,12 градуса,
- увеличение изображения с помощью компьютера в 4000х раз,
- поляризационный фильтр,
- источник света с длиной волны 820нм.

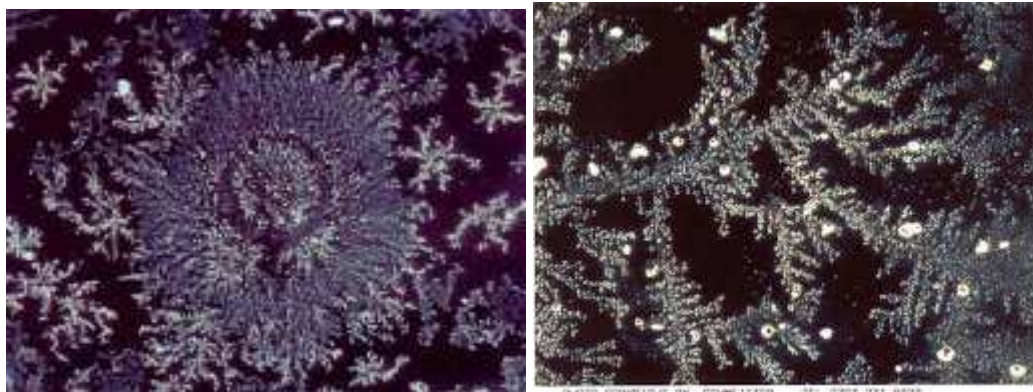


Рис. 0-4-9. Кристаллизация воды, фото David Schweitzer.

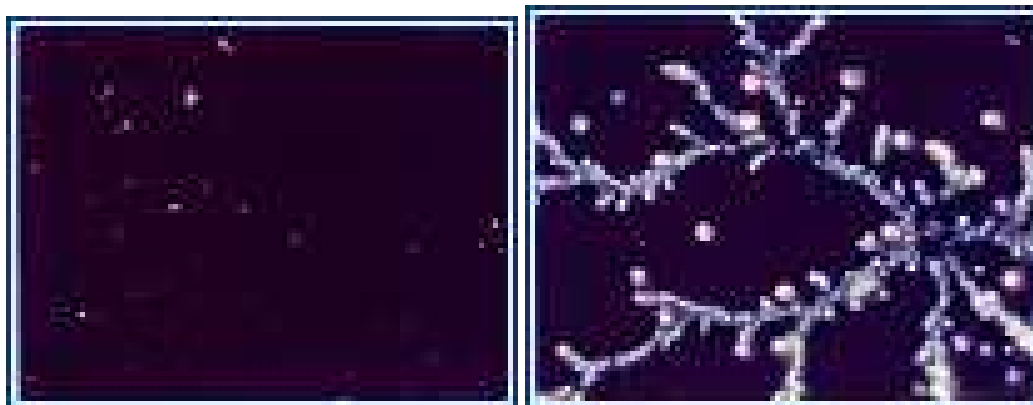
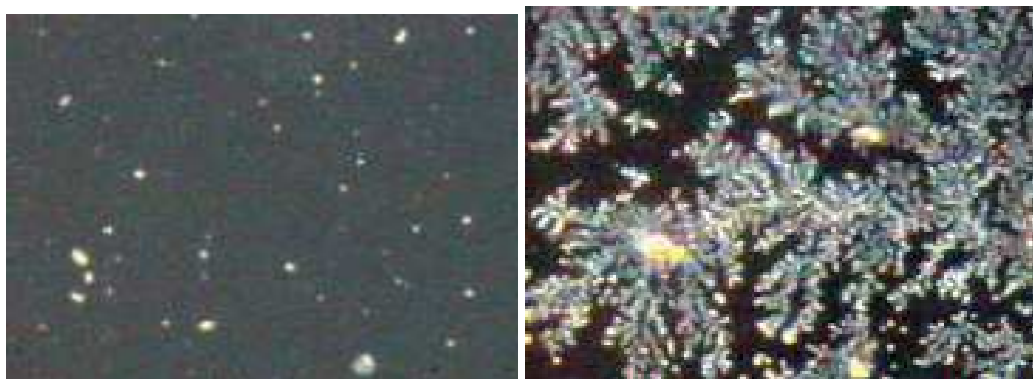


Рис. 0-4-10. Кристаллизация водопроводной воды (Лондон) до и после воздействия Vortex Water Revitalizer. Biophoton Light Emission Microscope Pictures of Revitalized Water (1,200x magnification).

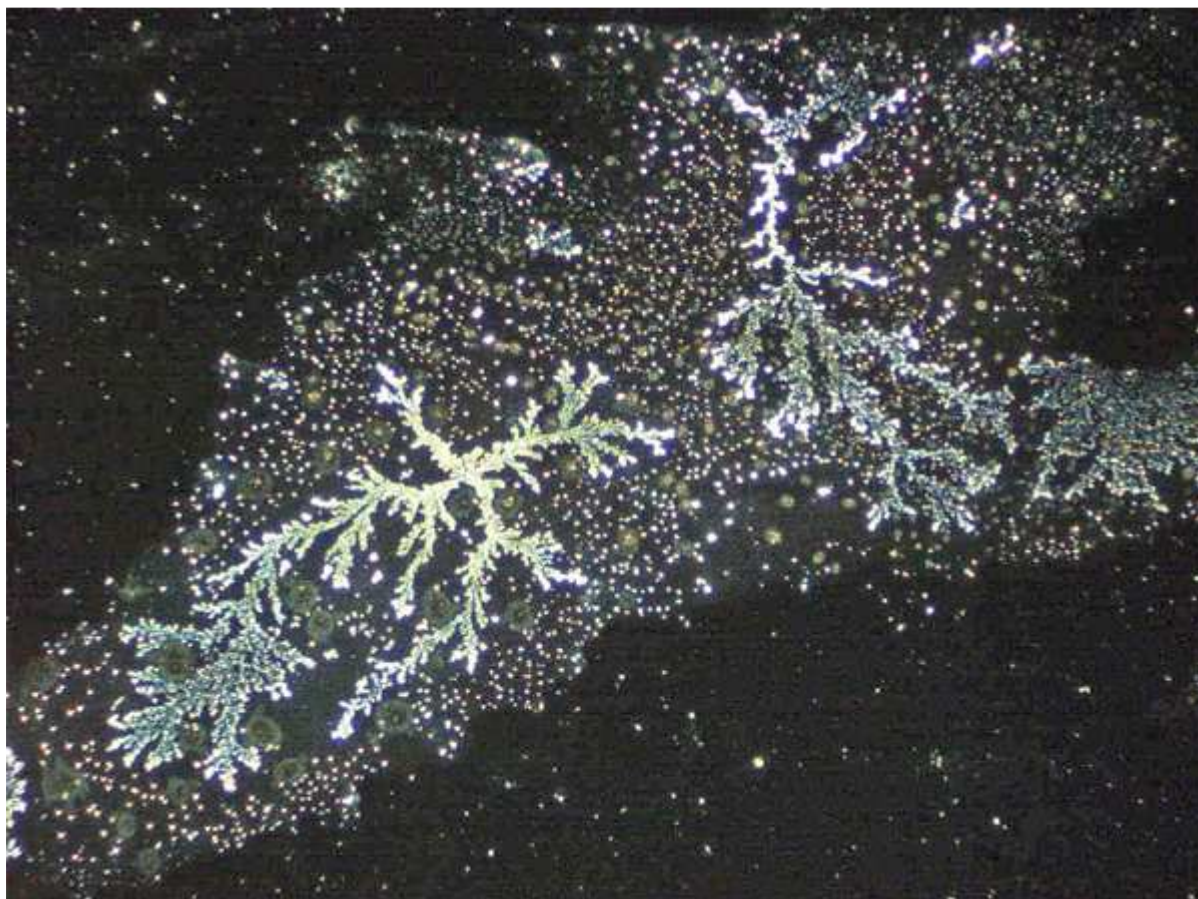


Рис. 0-4-11. Кристаллизация водопроводной воды города Токио после воздействия Vortex Energizer.

0.5 Конференции по кристаллизации биожидкостей.

Российские конференции по кристаллизации биожидкостей.

1997-1-я Всероссийская научно-практическая конференция.

Кристаллографические методы исследования в медицине. 14-15 октября 1997. Сборник научных трудов. Москва. МОНИКИ. 1997. 138с.

2001-2-я Всероссийская научно-практическая конференция.

Морфология биологических жидкостей в диагностике и контроле эффективности лечения. 22-23 ноября 2001. Сборник научных трудов. Москва. МОНИКИ. 2001. 114с.

2004-3-я Всероссийская научно-практическая конференция.

Функциональная морфология биологических жидкостей. 15-16 июня 2004. Сборник научных трудов. Москва. МОНИКИ. 2004. 116с.

2010-DROPS-2010.

Первая международная конференция и Всероссийская молодежная школа.

Процессы самоорганизации в высыхающих каплях многокомпонентных жидкостей: эксперименты, теория, практика. 3-6 мая 2010. Астраханский Государственный Университет. Астрахань. 2010. 208с.

<http://mathmod.aspu.ru/?id=169>

2012-DROPS-2012.

Вторая международная конференция и Всероссийская молодежная школа. Процессы самоорганизации в высыхающих каплях многокомпонентных жидкостей: эксперименты, теории, приложения. 17-22 сентября 2012. Астраханский Государственный Университет. Астрахань. 2012. 243с.

<http://mathmod.aspu.ru/?id=199>

Зарубежные конференции по кристаллизации биожидкостей.

1998-Crystallisation Workshop. Paris 22 June 1998.

Commission for Scientific and Technical Research on Safety and Health in the Extractive Industries, French Ministry of the Economy, Finance and industry, 1998.

2013-DROPLETS-2013. 1st International Workshop on: Wetting and evaporation: droplets of pure and complex fluids. 17-20 June. Marseillies. France.

<http://dme-iusti.polytech.univ-mrs.fr/droplets2013/index.html>



Рис. 0-5-1. Эмблема конференции DROPLETS-2013.

2015-Droplets 2015. 6-8 october 2015. University of Twente. Netherlands.

<http://www.elveflow.com/microfluidics-news-and-events/droplets-2015-conference/>

2017-Droplets 2017. USA. March 20-24. <https://icerm.brown.edu/programs/sp-s17/w2/>

2015-EMN (Energy Materials Nanotechnology) Meeting on Droplets. May 8-11. 2015. Phuket. Thailand. <http://emnmeeting.org/droplets/>

2016- EMN (Energy Materials Nanotechnology) Meeting on Droplets. May 9-13. 2016. San Sebastian. Spain. <http://emnmeeting.org/droplets/2016/>

Глава 1. Введение.

Изучение процессов, происходящих при кристаллизации сыворотки крови, позволяет понять проявление на макроуровне процессы молекулярных взаимодействий. При кристаллизации сложно-структурированных сред возникают процессы самоорганизации и возникновения упорядоченных структур. Понимание процессов, происходящих на молекулярном уровне (самосборка) позволяет решать две очень важные задачи: ранняя диагностика заболеваний, и управляемый синтез наноструктур с заданными свойствами. Изучение процессов, происходящих при испарении капли сыворотки крови позволяет понять взаимосвязь следующих понятий:

(структуры высохшей капли) $\leftrightarrow$ (состав, свойства и структура сыворотки) $\leftrightarrow$ (заболевания).

Суть метода диагностики на основе дегидратации капли сыворотки крови состоит в том, что в норме сыворотка имеет более или менее однородную структуру, и в результате процесса дегидратации возникают регулярные и однородные структуры (радиальное растрескивание). При малейшем нарушении структуры белков из-за различных факторов (окислительных, токсичных) изменяется гидратная оболочка белков, и начинаются процессы агрегации молекул белков. Если в норме в сыворотке белки находятся в основном в виде мономеров, то при отклонении от нормы возникают димеры, тримеры и полимеры. Если в норме примерно 2% белков имеют нарушения в структуре (третичной или четвертичной), то при патологии до 50% белков имеют нарушения в структуре. Одним из основных следствий процессов агрегации является изменение физических свойств сыворотки (вязкость, плотность, показатель преломления, спектральные свойства). Изменяется соотношение свободной и связанной воды в сыворотке крови. Отметим, что биохимические показатели при этом остаются в норме. Изменение физических свойств (прежде всего вязкости) существенным образом сказывается на формировании структур, возникающих при кристаллизации биожидкостей. Возникают аномальные и нерегулярные структуры.

На изменение структуры высохшей капли влияют следующие параметры:

-изменение соотношения количества молекул альбумина с нормальной и с нарушенной структурой,

-изменение соотношения количества молекул альбумина и глобулина, изменяется альбумин-глобулиновый коэффициент,

Следствием является изменение соотношения свободной и связанной воды в сыворотке крови.

Проявление изменений на макроуровне осуществляется за счет двух основных процессов. Первый процесс-образование осадков и кристаллов. Второй процесс-растрескивание. При этом основным физическим механизмом, отвечающим за формирование структур трещин в капле, является уменьшение объема сыворотки при гелеобразовании (высыхании). При уменьшении объема в геле возникают напряжения, которые вызывают различного вида растрескивания и разрывов в структуре геля. Таким образом, нарушения на микро уровне (нарушение структуры белков на молекулярном уровне) вызывают нарушение структур кристаллизации на макро уровне.

1.1. Физические методы диагностики заболеваний.

В последнее время широкое распространение получили биохимические методы диагностики заболеваний на основе анализа сыворотки крови пациента. Биохимические методы диагностики имеют много преимуществ:

- наличие большого количества методик диагностики, утвержденных министерством здравоохранения,
- многолетний опыт применения биохимических методов диагностики,
- врачи обучены интерпретации данных биохимических анализаторов,
- наличие в лабораториях биохимических анализаторов,
- возможность быстро проводить большое количество анализов с помощью универсальных автоматизированных биохимических анализаторов,
- высокая точность анализов.

Недостатки биохимических методов диагностики:

- стоимость биохимических анализаторов достаточно высокая из-за наличия специальных расходных материалов,
- маленькая лаборатория не в состоянии иметь мощный биохимический анализатор,
- мощный биохимический анализатор обычно эффективен при большой загрузке, при малом количестве анализов он не эффективен,
- при большом количестве измеряемых параметров необходим забор большого количества крови,
- необходим постоянный контроль и калибровка анализаторов для обеспечения высокой точности,
- основной недостаток-необходимость постоянной покупки дорогостоящих расходных материалов и реактивов для диагностики.

Дополнением к биохимическим методам диагностики служат физические методы диагностики-это методы измерения физических параметров сыворотки крови. Для физических методов диагностики не нужны реактивы. Это прямые методы измерения, а не косвенные, как в биохимических анализаторах. Одним из физических методов диагностики является диагностика на основе анализа структуры высушенной капли сыворотки крови.

Задача диагностики по структуре дегидратированной капли сыворотки крови состоит из нескольких подзадач:

- Выяснение структуры капли в норме.
- Выяснение взаимосвязи структуры капли с состоянием организма (заболеванием).
- Выяснение взаимосвязи структуры капли с данными биохимических анализов.

Для контроля свойств биожидкостей можно измерять различные физические характеристики:

- показатель преломления (зависимость показателя преломления от длины волны света)
 - степень поляризации света,
 - спектр поглощения в ультрафиолетовой, видимой и инфракрасной области спектра,
 - спектр комбинационного рассеивания,
 - лазерная корреляционная спектроскопия,
 - плотность (удельный вес),
 - вязкость,
 - коэффициент поверхностного натяжения (краевой угол),
 - рН,
 - электропроводность.
-

1.2 Состав и свойства сыворотки крови.

Кровь состоит из жидкой части (плазмы) и взвешенных в ней форменных элементов крови (эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов). На долю форменных элементов приходится 40-45%, на долю плазмы-55-60% от объема крови. Это соотношение называется гематокритным соотношением, или гематокритным числом.

Таблица 1-1. Сравнительные характеристики крови, плазмы и воды.

Характеристика	Единицы измерения	Кровь	Сыворотка	Вода
Плотность	г/см ³	1,040-1,060	1,025-1,034	1,000
Вязкость	Усл. ед.	4-5	1,2-1,7	1
Показатель преломления	-	-	1,348-1,351	1,3332
Температура замерзания	градусы	-	0,56-0,58	0
Угол смачивания	градусы	18	14	12
Коэф. поверхностного натяжения	Н/м		0,056	0,0725
Температура замерзания	градусы		-0,56	0

Поверхностное натяжение сыворотки крови при 18 градусах-57-58 дн/см, при 38 градусах-46-47 дн/см.

Если налить в пробирку немного крови, то через 15 минут она превратится в пастообразную массу-сгусток. Затем сгусток сжимается и отделяется от желтоватой прозрачной жидкости-сыворотки крови. Сыворотка отличается от плазмы тем, что в ней отсутствует фибриноген, белок плазмы, который в процессе коагуляции (свертывания) превращается в фибрин. Плазма крови это раствор, в котором 90%-вода, 7%-белки, 2%-органические небелковые соединения, 1%-неорганические соли. Концентрация хлорида натрия в сыворотке составляет 0,9% (9 г на 1 литр)-это одна из физиологических констант. Плотность такого раствора составляет 1,005 г/см³. Состав белков-60%-альбумин, 40%-глобулины. Если упорядочить основные компоненты плазмы, то получаем: вода-900 г/л, альбумин-60г/л, глобулины-38 г/л, NaCl-9г/л, фибриноген-3г/л, трансферрин-3г/л,

Сыворотка крови является неоднородной сложно-структурированной жидкостью, гетерогенным коллоидно-полимерным раствором. Молекулярные компоненты сыворотки крови эффективно исследуются биохимическими методами. Но для исследования надмолекулярных структур в интервале размеров от 100нм до 2000нм в настоящее время мало эффективных методов исследования. Свойства сыворотки не однородны по объему. Имеются большие колебания концентрации различных веществ и структурных компонент (белков и солей) как в пространстве, так и во времени. Как следствие-большие колебания физических свойств-плотности, оптической плотности, вязкости.

Таблица 1-2. Состав сыворотки крови.

Компонент	Название	Мол Вес г/моль	Размер нм	содержан ие г/л	Содержание ммоль/л
Вода	Water	18,02	0,30	900-910 г/л	
Белок общий	Protein Total			64-83 г/л	
Альбумины	Albumin	69.000	3,6	56-66 г/л	
Глобулины	Globulin	150.000	5-50	33-43 г/л	
Фибриноген	Fibrinogen	350.000	22	1,8-4,2 г/л	
Гемоглобин	Haemoglobin	64.500	5,5		
Трансферрин	Transferrin	80.000		2-3 г/л	

Общие липиды	Lipids Total		0,5	3,5-8,0 г/л	4,6-10,4
Общие фосфолипиды	Phospholipids Total		0,5	1,5-3,8 г/л	1,95-4,9
Общий холестерин	Cholesterol total	386,67	0,5	1,2-2,5 г/л	3,11-6,48
Свобод. холестерин	Cholesterol	386,67	0,5	0,4-0,9 г/л	1,04-2,33
Эфиры холестерина	Cholesterol Ester		0,5	0,4-0,7 г/л	2,33-3,49
Холестерин ЛПВП	HDL Cholesterol	386,67	5-12	0,4-0,6 г/л	1,04-1,55
Холестерин ЛПНП	LDL Cholesterol	386,67	18-25	1,0-1,6 г/л	2,59-4,11
Холестерин ЛПОНП	VLDL Cholesterol	386,67	30-80		0,26-1,04
Триглицериды	Triacylglycerol Triglycerides	875,00		1-2 г/л	0,44-1,69
Глюкоза	Glucose	180,16	0,42	0,7-1,15 г/л	3,90-6,40
Мочевина	Urea	60,06	0,20	150-432 мг/л	2,5-7,2
Мочевая кислота	Uric Acid	168,11		58-76 мг/л	0,14-0,42
Общий билирубин	Bilirubin Total	584,68		3-10 мг/л	0,005-0,021
Прямой билирубин (связанный)	Bilirubin Direct	584,68		1-3 мг/л	0-0,007
Непрямой билирубин (свобод.)	Bilirubin	584,68		2-7 мг/л	0,0034-0,0166
Креатинин	Creatinine	113,12		5,9-13 мг/л	0,053-0,115
Хлорид натрия (NaCl)	Sodium chloride	58,44	0,30	9 г/л	135-145
Натрий (Na ⁺)	Natrium	22,99	0,11	3,1-3,3 г/л	135-145
Калий (K ⁺)	Kalium	39,09	0,23	136-203 мг/л	3,5-5,2
Кальций общий	Calcium total	40,08	0,19	90-105 мг/л	2,15-2,57
Кальций ионизированный (свободный)(Ca ⁺)	Calcium	40,08	0,19	45-56 мг/л	1,15-1,32
Хлор (Cl ⁻)	Chlorum	35,45	0,19	3,4-3,9 г/л	98-112

Пояснения к таблице. Модем называется количество вещества, масса которого, выраженная в граммах, численно равняется его молекулярной массе. Молекулярная масса-это сумма масс атомов, входящих в состав данной молекулы, выражается в атомных единицах массы (а.е.м.). 1 а.е.м. иногда называют Дальтон. Количество молекул в одном моле любого вещества постоянно и равно числу Авогадро = 6×10^{23} степени. (мг/л)/мол масса=моль/л. Весьма распространенной единицей концентрации в клинической биохимии являлся миллиграмм-процент (мг%) - количество вещества в миллиграммах, содержащееся в 100 мл биологической жидкости. Для пересчета этой величины в единицы СИ используется следующая формула: ммоль/л = мг% 10 / молекулярная масса вещества.

1.3 Смежные области, используемые при изучении процессов кристаллизации капли сыворотки крови.

- 0-клиническая лабораторная диагностика-изучение свойств крови,
- 1-биохимия-состав сыворотки крови,
- 2-биофизика-изучение физических свойств биожидкостей,
- 3-коллоидная химия-состояние раствора капли, мицеллярные растворы, золь-гель переходы, образование студней, загустение, затвердевание,
- 4-теория растворов-трехкомпонентные фазовые диаграммы растворов, растворы высокомолекулярных веществ, расслоение растворов,
- 5-кристаллография-процессы кристаллизации в капле, кристаллизация в геле,
- 6-кристаллохимия-зависимость формы кристаллов от состава веществ,
- 7-поляризационная микроскопия-изучение оптических свойств кристаллов,
- 8-методы спектрального анализа-изучение состава дегидратированной капли,
- 9-жидкие кристаллы-фазовые переходы при испарении воды,
- 10-смачивание-форма капли при раскапывании на стекле,
- 11-поверхностное натяжение-форма капли,
- 12-испарение-процессы испарения воды с поверхности капли,
- 13-реология-изучение изменения вязкости в процессе дегидратации,
- 14-высыхание тонких пленок-процессы затвердевания,
- 15-конвекционные потоки, ячейки Бенара,
- 16-вода-структура и свойства воды,
- 17-вода-свободная и связанная вода в биожидкостях, гидратные оболочки молекул,
- 18-белки-процессы агрегации и высаливания белков,
- 19-компьютерные системы анализа изображений-количественная оценка структурных элементов высушенной капли,
- 20-синергетика-процессы самоорганизации в капле,
- 21-циклические химические реакции, кольца Лизеганга, кофейные кольца,
- 22-колебательные процессы в химических реакциях, реакция Белоусова-Жаботинского,
- 23-нанотехнология-создание наноразмерных структур с заданными свойствами,
- 24-гемосканирование-диагностика по капле живой крови,
- 25-полимеры-разрушение полимеров.

В настоящее время изучением процессов, происходящих при испарении капель различных жидкостей занимаются в различных научных центрах:

-Франция-University Claude Bernard Lyon

-США-Harvard University, Cambridge, Massachusetts, University of California, University of Chicago.

Глава 2. Процессы, происходящие при дегидратации методом открытой капли.

Метод исследования сыворотки крови путем высушивания на предметном стекле называется метод открытой капли, метод угловой дегидратации, метод клиновидной дегидратации. Сыворотка крови объемом 10-20 мкл наносится на предварительно подготовленную поверхность предметного стекла. Имеются различные варианты подготовки поверхности стекла: обезжиривание, протирание фильтровальной бумагой или тканью. Дегидратация производится при комнатной температуре 20-25 °С. Диаметр капли составляет 5-7мм, высота капли-ориентировочно 1мм. Угол смачивания капли-25-30 °С. Дегидратация продолжается 18-24 часа.

Различные варианты пробоподготовки.

1-Сыворотку крови объемом 10-20 мкл наносят на предметное стекло. Предварительно поверхность стекла промывается, просушивается и протирается замшей или фильтровальной бумагой. Высушивание производится в электрическом суховоздушном шкафу при температуре +37 °С в течении 3-4 часов до полного удаления влаги.

-Савина Л.В. Кристаллографические структуры сыворотки крови в клинике внутренних болезней. Диссертация доктора медицинских наук. Пермь. 1992.

2-Сыворотку объемом 10-20 мкл наносят на обезжиренное предметное стекло. Высушивание производят при температуре 20-25 °С и относительной влажности 65-70% в термостатированном шкафу. Продолжительность высыхания-18-24 часа. (Шатохина С.Н.)

3-На тщательно обезжиренное, промытое и просушенное предметное стекло наносится сыворотка крови в объемах 10, 20 и 50 мкл. При температуре 18-20 градусов и влажности 60-80% производится дегидратация сыворотки. Продолжительность-30 мин после появления первичной структуры. Иногда использовался поток теплого воздуха сверху с расстояния 30 см при температуре 40-50 градусов и влажности 38-40%. Контролировалась горизонтальность расположения препарата и ориентация по отношению к сторонам света.

-Кидалов В.Н. Хадарцев А.А. Тезиография крови и биологических жидкостей. Тула. 2009. 244с.

Интересным является вопрос ориентации препаратов во время кристаллизации. В некоторых случаях (Кидалов В.Н. Хадарцев А.А.) специально соблюдается ориентация препаратов в пространстве. Хотя нет исследований о влиянии ориентации или об анизотропии структуры капли.

В Швейцарии в Laboratory for Sensitive Crystallization (Donach) при использовании метода чувствительной кристаллизации была обнаружена анизотропия структур кристаллограммы и выявлена взаимосвязь локализации различных зон в структуре капли с нарушениями в различных органах.

Важным является вопрос подготовки крови к проведению дегидратации. Получение сыворотки из цельной крови возможно двумя способами, путем центрифугирования и путем отстаивания. Эти два способа имеют принципиальное различие. При центрифугировании из сыворотки оседают имеющиеся в ней компоненты (частицы, сгустки). При этом нарушается исходное состояние сыворотки. Если сыворотку отстаивать, то она более точно сохраняет исходную структуру и при дегидратации более правильно передает информацию о состоянии организма. Выявить различие в структуре сыворотки после отстаивания и после центрифугирования можно с помощью дегидратации в тонком слое. В сыворотке после центрифугирования будет меньше неоднородностей на единицу площади.

Метод исследования биожидкостей путем дегидратации в принципе аналогичен другим методам, используем для анализа жидкостей: электрофорез, седиментация

(центрифугирование), хроматография. Общим в этих методах является создание условий, при которых молекулы или частицы с разными свойствами локализуются в различных местах в пространстве. Это пространственные методы разделения. При дегидратации капли создаются градиентные условия от края к центру, которые вызывают пространственное разделение компонент сыворотки с различными свойствами. Поэтому пространственное разделение имеет концентрическую структуру.

Одним из основных параметров, в соответствии с которым происходит разделение компонент, является размер (масса) компонент сыворотки. По мере увеличения размеров можно выделить следующие компоненты-молекулы воды (0,26нм), ионы Na и Cl (0,3нм), молекулы средней массы (токсины), молекулы альбумина (3,6нм), нагруженные молекулы альбумина (молекулы альбумина с токсинами), молекулы глобулинов, молекулы фибрина (22нм), ЛПВП (12нм), ЛПНП (25нм), хиломикроны (до 1000нм), агрегаты в виде остатков разрушенных клеток (до 1000нм), эритроциты (10.000нм). Необходимо иметь в виду, что эффективные размеры компонент в сыворотке крови гораздо больше реальных, так как все компоненты окружены гидратными оболочками.

Рассмотрим процессы, которые происходят при высыхании капли:

T0-0 мин-начало испарения. Момент нанесения капли сыворотки крови на стекло, жидкая фаза, постепенное испарение воды, черви на дне, возникновение конвекционных потоков, формирование морщин и бляшек в геле,

T1-60 мин-начало движения границы жидкой фазы (фронта загустения геля) к центру, жидкая фаза начала уменьшаться в размерах, начало гелеобразования в краевой зоне, жидкая фаза находится в виде капли в центральной части, черви существуют все время в жидкой фазе,

T2-63 мин-начало образования трещин, начало затвердевания в краевой зоне, движение фронта затвердевания геля к центру капли, начало выпадения агрегатов вдоль радиальных трещин, начинается образование поперечных трещин, образование ячеек,

T3-68 мин-начало осаждения белка в краевой зоне вдоль трещин,

T4-70 мин-полное испарение жидкой фазы,

T5-80 мин-завершение образования радиальных трещин, радиальные трещины сходятся в центре, начало образования псевдотрещин,

T5-(75-85 мин)-выделение солей в центральной зоне, движение фронта кристаллизации соли от центра к краю. Соли могут начать выпадать как до, так и после схождения радиальных трещин.

Постепенное образование ядер в ячейках, движение фронты выпадения белков от края к центру, выпадение солей на верхней и нижней поверхностях ячеек, образование кольцевых трещин в ячейках, сжатие ячеек и расширение радиальных трещин.

-Завершается образование трещин.

-Завершается выпадение солей.

-Завершается осаждение белков.

T6-90 мин-завершение процессов дегидратации, масса капли больше не уменьшается.

Временные параметры динамики высыхания являются важными диагностическими признаками.

Малов В.М. Шатохина С.Н. Ерошевская Е.Б. Шабалин В.Н. Девяткин А.А. Малов И.В.

Морфологические исследования внутриглазных жидкостей в оценке патофизиологических механизмов развития набухающей катаракты. 2004. +

Для диагностики хронического риносинусита проводят морфологическое исследование зон структуризации, которые образуются последовательно при клиновидной дегидратации биологической жидкости полости носа и околоносовых пазух. В качестве критериев оценки процесса в норме и при патологии берут временные параметры образования структур, при этом длительность всего периода дегидратации с формированием окончательного рисунка фации определяют по формуле: $t_{\text{общ}} = t_1 + t_2 + t_3$, где t_1 -время образования периферической краевой зоны; t_2 -время образования радиальных трещин и секторов; t_3 -время образования поперечных трещин

с формированием отдельностей и образованием в них центров кристаллизации. При t_1 от 30 до 50 минут, t_2 от 50 до 90 минут, t_3 от 60 до 90 минут, $t_{\text{общ}}$ от 2,5 до 4,5 часов диагностируют хронический риносинусит.

Первый этап-испарение несвязанной воды.

2.0 от 0 до 1 мин. Начальный этап.

На этапе раскапывания, когда капля образовалась на конце дозатора и летит на стекло, на поверхности капли образуется слой поверхностно-активных веществ (липидов). Когда капля опустилась на поверхность стекла, начинаются два процесса: растекание капли по поверхности стекла и взаимодействие капли со стеклом.

2.0.1 Растекание капли.

Важным является сам процесс растекания капли по поверхности стекла. Капля сыворотки крови является неоднородной сложно-структурированной вязкой жидкостью. Отдельные слои и сгустки не растекаются, а сохраняются при дегидратации и проявляются в высохшей капле. Само растекание происходит в виде отдельных струй и течений внутри капли. Капля при растекании принимает форму круга.

Растекание капли происходит в два этапа:

1-й этап, продолжается от 0 до 1 сек, диаметр капли увеличивается от 0 до 5мм, растекание происходит быстро.

2-й этап, продолжается от 1 сек до 2 мин, диаметр капли увеличивается от 5мм до 6мм, растекание происходит медленно. При растекании диаметр капли увеличивается до тех пор, пока не установится равновесие сил растекания и сил поверхностного натяжения, пока не установится необходимый критический угол. При нанесении капли на стекло начальная площадь капли маленькая, а краевой угол-большой. При растекании площадь капли увеличивается, а краевой угол-уменьшается.

Угол смачивания капли сыворотки крови на стекле равен 14 градусам, для воды угол смачивания на стекле равен 30 градусам. Величина угла смачивания не является постоянной, и зависит от многих параметров (чистота поверхности стекла, состав сыворотки, температура). На поверхности стекла имеются не скомпенсированные заряды, это оказывает сильное влияние на процесс смачивания. Поверхность стекла водой смачивается, поскольку в стекле содержится достаточно много атомов кислорода, и вода легко образует водородные связи с атомами кислорода.

Сразу после нанесения капли на поверхность стекла рядом с каплей на стекле образуется много мелких капелек. Эти капельки образовались в результате конденсации пара, который находится вокруг капли.

Интересную работу по исследованию процесса растекания капли выполнили в Самарском Государственном аэрокосмическом университете (Бородин С.А. Волков А.В. Казанский Н.Л. Устройство для анализа нано шероховатостей и загрязнений подложки по динамическому состоянию капли жидкости, наносимой на ее поверхность. Оптический журнал. 2009. №7. с.42-47.). С помощью скоростной съемки регистрировался процесс растекания капли жидкости. Если шероховатость поверхности 5-6нм, то время растекания 12 мс. Если шероховатость поверхности 35-40нм, то время растекания 18 мс.

2.0.2 Образование прозрачного краевого кольца.

Коллоидный раствор.

При дегидратации капли коллоидного раствора в краевой зоне капли образуется тонкое прозрачное кольцо. Краевое кольцо не содержит коллоидных частиц. При дегидратации сыворотки прозрачное кольцо образуется сразу после растекания капли. Ширина кольца около 0,2мм. Краевой угол для кольца меньше, чем у сыворотки. Таким образом, получается, что при переходе от прозрачного кольца к белковому валику имеется прогиб на поверхности капли. Краевое кольцо отделяется от остальной капли четкой границей выпадения осадка белков.

Основные особенности краевого кольца:

- краевое кольцо очень тонкое,
- краевое кольцо быстро затвердевает,
- в краевом кольце отсутствует перемешивание за счет конвективных течений.

В результате быстрого испарения без перемешивания сыворотка в краевом кольце затвердевает очень быстро и происходит процесс стеклования, без образования кластеров молекул альбумина. В результате стеклования образуется твердое прозрачное кольцо.

Если объем капли очень маленький, меньше 5 мкл, то вся капля при затвердевании представляет собой прозрачный диск, т.е. состоит только из прозрачного внешнего кольца. Во всей капле происходит процесс стеклования, так как отсутствует перемешивание и разделение различных компонент капли. Из этого следует, что при малых объемах капли не происходят процессы кластеризации альбумина. Затвердевание происходит очень быстро, и капля затвердевает как однородный раствор мономеров альбумина.

Состав внешнего прозрачного кольца. Можно было бы предположить, что прозрачное внешнее кольцо состоит из чистого растворителя, воды. Но чистая вода испаряется, не остается твердой компоненты. Значит, прозрачное кольцо представляет собой чистый раствор мономеров альбумина без альбуминовых кластеров.

При высыхании капли за прозрачным внешним кольцом начинает происходить выпадение осадка в ячейках. Таким образом, появляется четкая граница между прозрачным кольцом и остальной каплей.

Аркообразные трещины.

Именно на границе между прозрачным кольцом и основной массой сыворотки происходит образование аркообразных трещин, которые при росте разворачиваются и в виде радиальных трещин распространяются к центру.

Гребешковые трещины.

В краевом кольце, как правило, трещины отсутствуют. Иногда краевое кольцо пересекают трещины, перпендикулярные к краю капли. Характерными для краевого кольца являются гребешковые трещины. Гребешковые (краевые, лесенка)-это группа коротких наклонных трещин, расположенных на самом краю капли. Особенность образования гребешковых трещин состоит в том, что они образуются в кольце застывшей сыворотки, у которой переменная толщина (в виде клина по направлению к краю капли), и переменная твердость (максимальна твердость на поверхности капли). В связи с этим гребешковые трещины имеют следующие характерные особенности:

- они образуются только в тонком прозрачном краевом кольце,
- они образуют группу из нескольких параллельных трещин с постепенно уменьшающейся длиной,
- они растут по направлению от центра капли к краю капли,
- они растут под углом 45 градусов к внешней границе капли,
- они являются не вертикальными, а наклонными,
- они не прямые, а загнутые. Направление загиба-в сторону от ближайшей радиальной трещины,
- они являются утончающимися, вначале они толстые, а ближе к краю утончаются.

Наличие гребешковых трещин является диагностическим признаком.

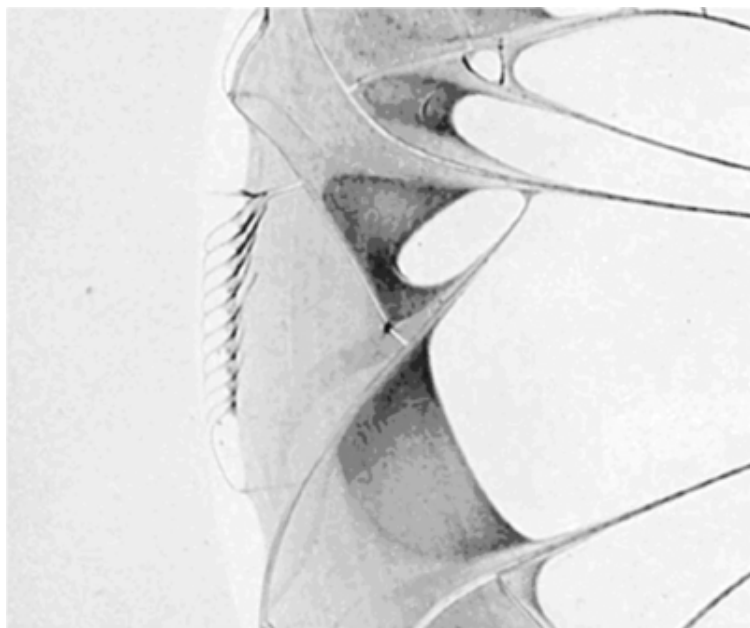


Рис. 2-0-1. Гребешковые трещины в зоне краевого кольца.

Растянутая капля.

Можно провести интересный эксперимент. Капля сыворотки наносится на стекло. Затем, с помощью наконечника дозатора от капли отводится некоторое количество сыворотки на расстояние нескольких миллиметров. Получается круглая капля с небольшим языком. Изучение процессов, происходящие в языке, позволяет более глубоко понять процессы, происходящие в капле. В косом свете видны концентрические границы, образующиеся при высыхании капли.

-на поверхности языка четко видны полосы, последовательные этапы при загустении сыворотки. Видно, что смещение границы загустения происходит скачками.

-видна четкая граница перехода между языком и основной каплей. На основной капле уже не видно скачков загустения.

-если язык достаточно тонкий, то он является однородным, без трещин.

-если толщина языка больше некоторого порогового значения, то на его поверхности образуются небольшие кристаллы соли.

Если на стекло нанести каплю крови (плазма с эритроцитами), то в краевой зоне сразу происходит гемолиз эритроцитов. Мембрана эритроцитов разрушается, и эритроциты сливаются в сплошную массу. Одна из возможных причин гемолиза-эритроциты разрушаются в чистой воде.

2.0.3 Процесс взаимодействия капли со стеклом.

На дне капли образуется контактный слой, который обеспечивает сцепление капли со стеклом. Можно изучать процесс формирования капли путем удаления жидкой фазы капли.

1-Если каплю сразу слить со стекла, то на поверхности стекла остается тонкая пленка жидкости, которая в течении нескольких минут высыхает, и остается тонкая однородная прозрачная твердая пленка. Если на стекло капнуть каплю чистой воды, то она стекает без следа.

2-Если удалить воду через 5 минут после раскапывания, то на стекле останется небольшой краевой валик белка. Этот валик можно исследовать отдельно.

3-Если удалить воду через 10 минут после раскапывания, то валик белка останется больше, и на дне капля будет тонкий слой, сцепленный со стеклом. После высыхания эта пленка растрескивается в виде ромашки без образования других структур.

4-Если каплю сыворотки слить после начала образования трещин, то в центральной части капли будет гладкая поверхность.

Наличие пленки на поверхности высыхающей капли. Если имеется хилезная сыворотка крови, в которой много мелких капелек жира, то эти капельки всплывают, и встраиваются в верхнюю липидную пленку. Капельки всплывают, так как плотность жира меньше, чем плотность воды.

Температура нижней части капли сравнивается с температурой предметного стекла и начинается испарение. Испарение происходит с верхней поверхности капли. Испарение происходит через монослой липидов. Поэтому испарение происходит в полтора раза медленнее, чем с поверхности чистой воды. Диаметр капли не изменяется (явление пиннинга), так как контактный слой капли со стеклом формируется сразу после раскапывания и фиксирует положение и размер капли.

2.0.4 Седиментационные процессы.

Каплю сыворотки крови можно рассматривать как многокомпонентный полидисперсный коллоидный раствор. Для коллоидных растворов имеет место явление седиментации. Большие частицы, которые более тяжелые и у которых диффузия медленная, оседают быстро. Маленькие частицы, которые более легкие и у которых диффузия быстрая, оседают медленно. Скорость оседания частиц пропорциональна квадрату диаметра частицы. Частицы диаметром 10мкм оседают за 6 сек, частицы диаметром 1мкм оседают за 10 мин. Устанавливается седиментационное равновесие. При равновесии изменение концентрации с высотой тем больше-чем больше частицы. Например, для частиц гуммигута размером 230мкм убывание концентрации с высотой в два раза происходит на высоте 30мкм. Таким образом получаем, что в верхней части капли располагаются мелкие коллоидные частицы, а в нижней части капли-крупные частицы. Мелкие частицы выносятся на край капли течением. Таким образом, получается, что в центральной части капли больше крупных частиц, а в краевой части капли больше мелких частиц. Происходит разделение частиц по размерам.

2.0.5 Процессы на поверхности капли.

Состав и свойства поверхности испаряющейся капли существенно отличаются от свойств основной массы капли.

- на поверхности капли повышенная концентрация липидов, которые являются поверхностно-активными веществами,
- на поверхности капли повышенная концентрация белков, так как с поверхности происходит испарение. Вода испаряется, а выравнивание концентрации белков из-за диффузии затруднено, так как вязкость капли возрастает,
- загустение капли происходит с поверхности, а под поверхностью сохраняется гелеобразное состояние сыворотки,
- конвекционные течения происходят во внутренней поверхности капли. Поверхность капли остается неподвижной. Это можно наблюдать по неподвижным частичкам пыли, находящимся на поверхности капли.
- поверхность капли не является ровной. В центре ячеек Бернара, где конвекционные течения выходят наружу, находится углубление. По краям ячеек, где встречаются течения соседних ячеек и течения уходят вниз, находится возвышение.
- температура на поверхности капли не является постоянной по всей поверхности. В местах выхода конвекционных потоков снизу-температура повышена. В местах опускания конвекционных потоков вниз-температура понижена.

Адсорбционный слой на поверхности раздела раствор-воздух является областью повышенной концентрации белков. Чем больше молекулярная масса-тем сильнее молекулы концентрируются на границе раздела. При этом высокомолекулярные компоненты (иммуноглобулины) вытесняют более низкомолекулярные молекулы альбумина с поверхности.

Процессы, происходящие на поверхности капли, отражают конвекционные процессы, происходящие внутри капли.

Можно провести следующий эксперимент. На поверхность капли наносится несколько кристаллов перманганата калия (марганцовки). Наблюдаются следующие явления:

1-Часть кристаллов остается лежать в неизменном виде на поверхности капли. Значит, за счет сил поверхностного натяжения и наличия пленки кристалл удерживается на поверхности без соприкосновения с каплей.

2-Образуется круглая область бурого цвета с четкой границей. Значит, на поверхности образовалась отдельная маленькая окрашенная капля, не смешивающаяся с основной каплей.

3-кристалл на поверхности, а под ним бурое пятно с размытыми краями. Значит, кристалл частично проник в основную каплю, и там происходит растворение и диффузия марганцовки.

4-Бурое пятно с размытыми краями. Значит, кристалл полностью провалился в каплю, и там растворяется.

5-От темных бурых пятен в радиальном направлении расходятся светлые бурые полосы. Значит, имеются течения, которые разносят растворенные кристаллы.

2.1 от 1 до 60 мин. Конвекционные потоки.

2.1.1 Статьи по конвекционным потокам в капле.

Можно выделить три уровня при анализе движений внутри капли.

1-броуновское движение молекул и частиц. Броуновское движение является случайным, и вызывает локальные флуктуации плотности жидкости. Характерный размер перемещений при броуновском движении составляет 0,5нм для частицы размером 0,1мкм.

2-микроциркуляции среды-совместное перемещение микрообластей жидкости. Характерный размер области-0,1мм. Формирование неоднородностей в этом случае связано не с флуктуациями плотности из-за броуновского движения, а из-за формирования макро неоднородностей из-за неоднородности состава и структуры жидкости. О наличии в сыворотке областей с различной плотностью (различной концентрацией белка) можно судить по следующему эксперименту. При переливании сыворотки из одной пробирки в другую четко видны различные течения. Это обусловлено оптической неоднородностью сыворотки, которая вызывается неоднородностью состава сыворотки.

3-макроциркуляции-организованное перемещение больших областей, всей массы капли. Характерный размер области-5мм.

Изучению структуры течений в высыхающей капле жидкости посвящено много исследований.

1950-G.O. Langstroth, C.H. Diehl, E.J. Winhold. Canad. Journal Research, 28A, с.574 (1950). Наблюдали конвекционные потоки в капле испаряющейся воды по движению пылинок.

1955-Sole A. Die Rhythmik im Influenzstagogramm. Kolloid-Zeitschrift. 1955. Bd. 143. s.73-83. Исследовал испарение капли коллоидного раствора. При помещении капли в закрытую от внешней среды ячейку никаких течений в капле не наблюдалось. Значит, течения возникают в результате испарения жидкости.

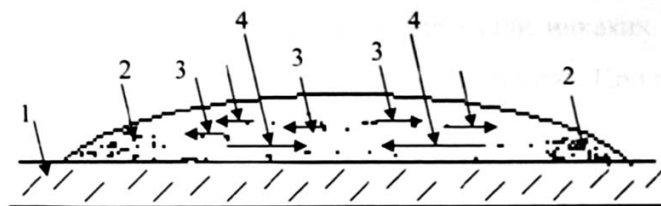


Рис. 2-1-1. Потоки в высыхающей капле. 1-подложка, 2-коллоидные частицы, 3-центробежные потоки коллоидных частиц, 4-центростремительные потоки растворителя.

1958-Кузьмин А.М. Явление концентрационных потоков при кристаллизации. Известия сибирского отделения АН СССР. 1958. 95. с.378.

1997-Deegan Robert D-James Franck Institute, 5640 South Ellis Avenue, Chicago, Illinois 60637, USA, Email: ddeegan@cotnrol.uchicago.edu

2000-Deegan R.D. Bakajin O. Dupont T.F. et al. Contact line deposits in an evaporating drop. Physical Review E. July 2000. v.62. p.756-765.+

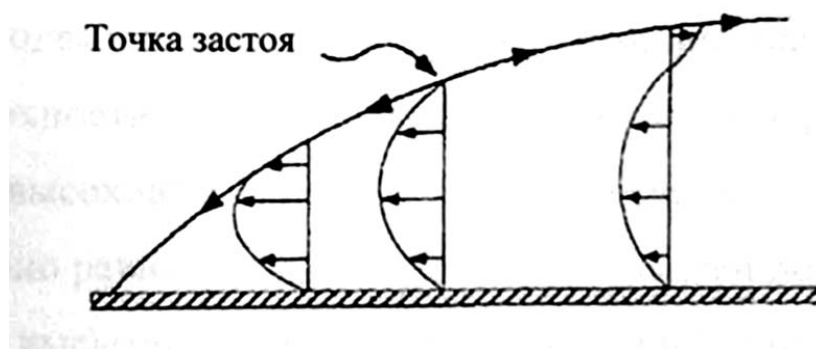


Рис. 2-1-2. Потоки в высыхающей капле.

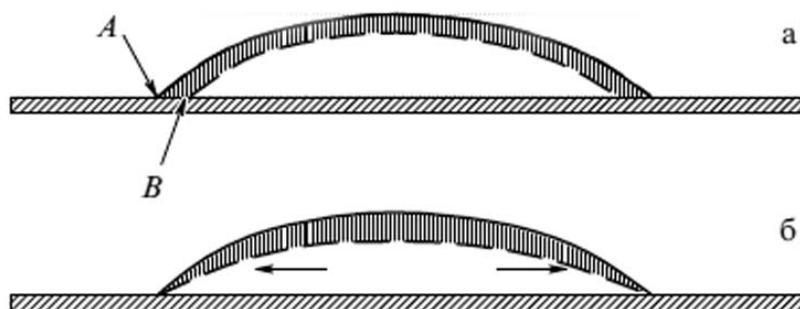


Рис. 2-1-3. Горизонтальное течение в высыхающей капле. Описывается центростремительное движение жидкости. Указывается, что перемещению линии раздела фаз из точки А в точку В препятствует горизонтальное течение, направленное от центра капли к краям.

2001-Москва, Институт элементарноорганических соединений.

2001-S. S. Abramchuk, A. R. Khokhlov, T. Iwataki, H. Oana and K. Yoshikawa. Direct observation of DNA molecules in a convection flow of a drying droplet. EPL (Europhysics Letters) Volume 55 Number 2. 294.

С помощью флуоресцентной микроскопии изучалось движение отдельных молекул ДНК Т4 (166 килодальтон). Изучалось движение в высыхающей капле раствора полиэтиленгликоля (ПЭГ) на поверхности стекла. Упорядоченный поток наблюдалось в непосредственной близости от линии контакта капли. Высокое растяжение молекул ДНК был найдено на периферии капли. В то время как в его центральной части молекулы ДНК находились в свернутом состоянии.

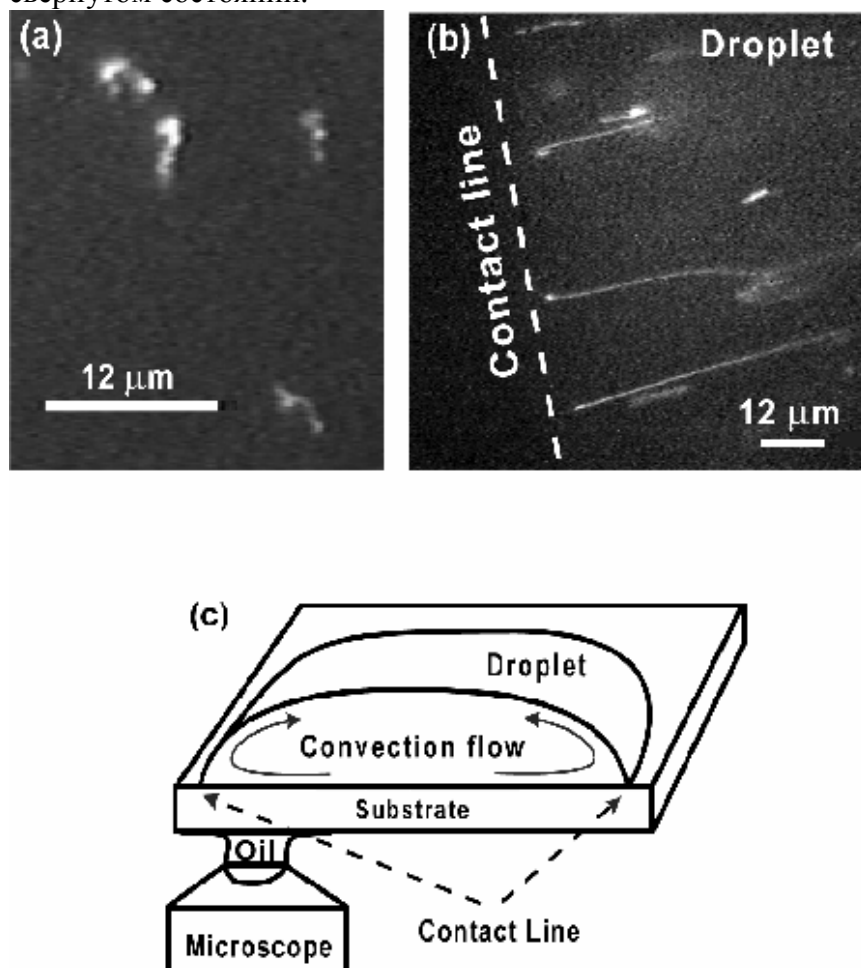


Рис. 2-1-4. Движение молекул ДНК в высыхающей капле.

2002-Москва, Университет нефти и газа

Калинин В.А. Влияние поверхностных сил на гидродинамику растекания капель и капиллярные течения. Диссертация доктора физико-математических наук. Москва. 2002.

2004-Астрахань, АГУ.

2004-Тарасевич Ю.Ю. Механизмы и модели дегидратационной самоорганизации биологических жидкостей Успехи физических наук. 2004. т.174. №7. с.779-790.

Тарасевич Ю.Ю. Конвекционные и диффузные потоки в высыхающей капле многокомпонентной жидкости. с.135.

2005-Y. Y. Tarasevich, "Simple analytical model of capillary flow in an evaporating sessile drop," Physical Review E, vol. 71, p.027301, Feb. 2005.

2004-K. H. Kang, S. J. Lee, C. M. Lee, and I. S. Kang, "Quantitative visualization of flow inside an evaporating droplet using the ray tracing method," Measurement Science and Technology, vol. 15, p.1104-1112, June 2004.

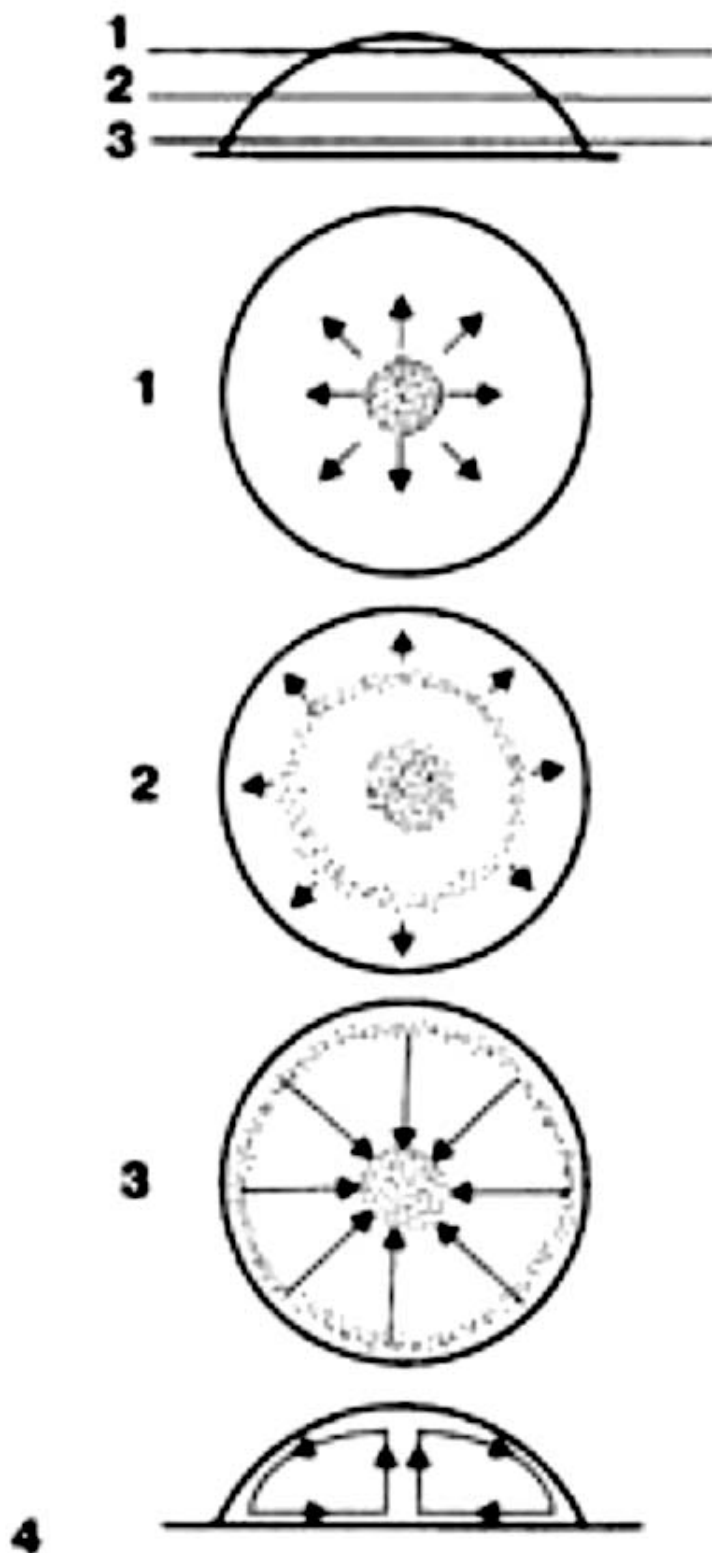


Рис. 2-1-5. Схема циркуляции потоков жидкости в капле, помещенную на горизонтальную подложку при ее высыхании. 1, 2, 3-распределение маркировочных частиц и направление их движения на разных уровнях в капле жидкости. 4-циркуляционные потоки жидкости в капле.

2005-A. J. Petsi and V. N. Burganos, "Potential flow inside an evaporating cylindrical line," Physical Review E, vol. 72, p.047301, Oct. 2005.

2006-A. J. Petsi and V. N. Burganos, "Evaporation-induced flow in an inviscid liquid line at any contact angle," Physical Review E, vol. 73, p.041201, Apr. 2006.

2010-A. Petsi, A. Kalarakis, and V. Burganos, "Deposition of brownian particles during evaporation of two-dimensional sessile droplets," Chemical Engineering Science, vol. 65, p.2978-2989, May 2010.

2009-H. Masoud and J. D. Felske, "Analytical solution for stokes flow inside an evaporating sessile drop: Spherical and cylindrical cap shapes," Physics of Fluids, vol. 21, p.042102-042102-11, Apr. 2009.

2009-Москва, Институт теоретической физики.

Бараш Лев Юрьевич. Испарение и динамика лежащей на подложке капли. Диссертация кандидата физико-математических наук. Москва. 2009. 74 с.

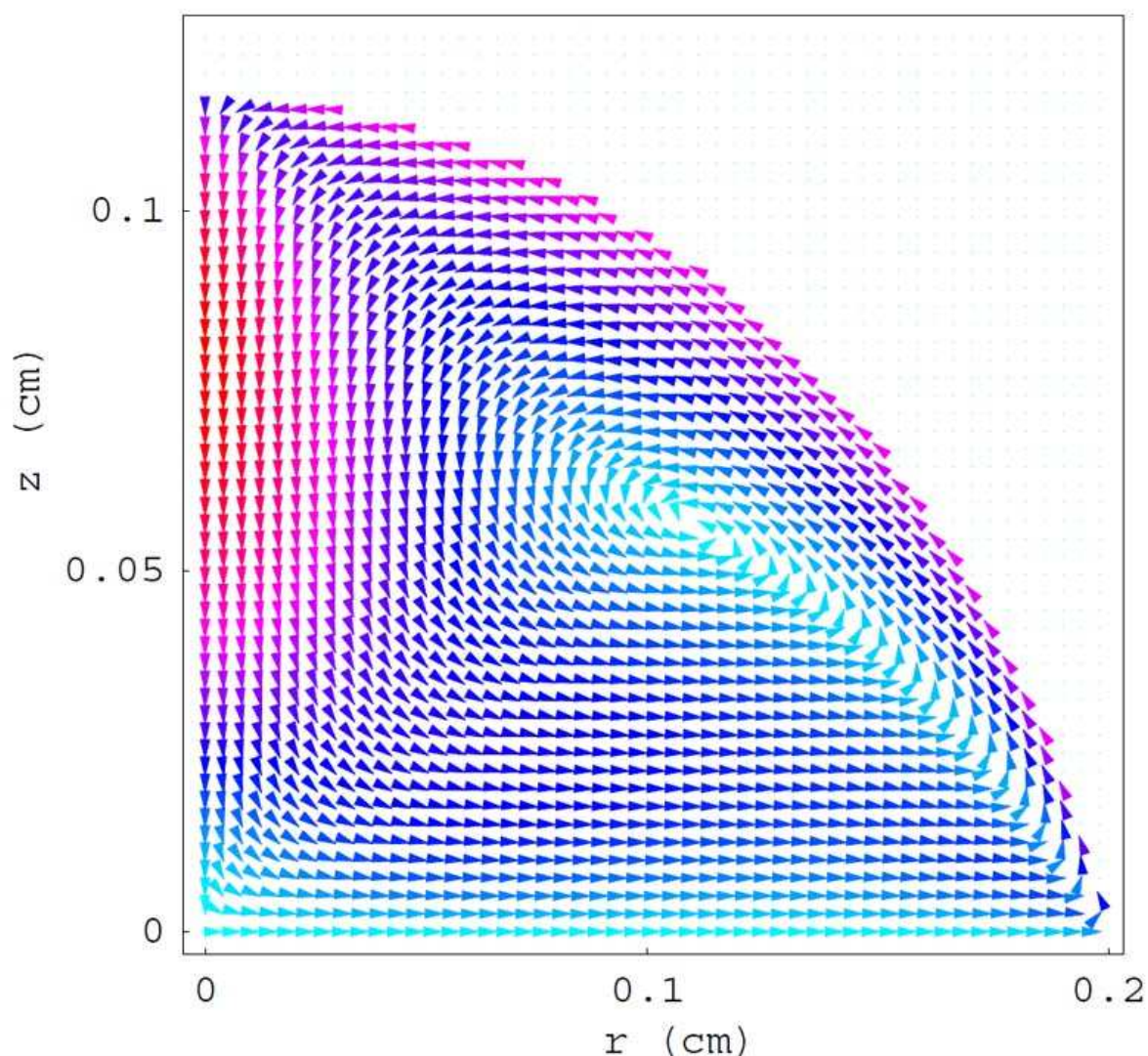


Рис. 2-1-6. Вихревое течение в капле, которое происходит с 2 по 250 сек. Заметим, что в данной работе получено обратное направление потока-на дне от центра, а на поверхности к центру.

2011-Новосибирск, Институт теплофизики.

Барташевич Мария Владимировна

Динамика и теплообмен в ручейковых течениях и каплях жидкости. Диссертация кандидата физико-математических наук. Новосибирск. 2011.

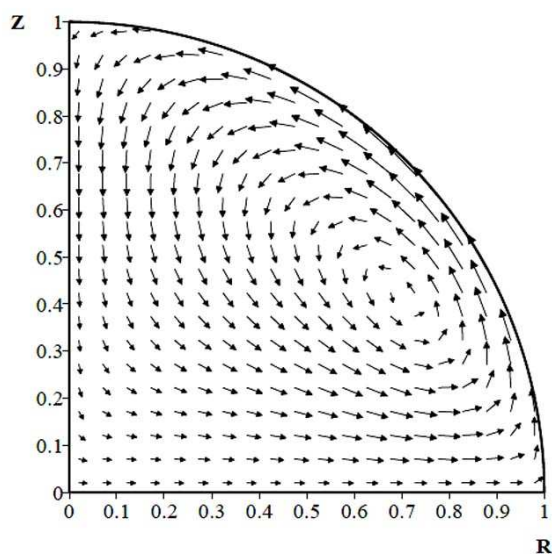


Рис. 2-1-7. Течения внутри испаряющейся капли воды. Заметим, что в данной работе получено обратное направление потока-на дне от центра, а на поверхности к центру.

2012-Москва, Институт проблем механики.

Чашечкин Ю.Д. Бардаков Р.Н.

Экспериментальное исследование процессов структуризации в высыхающих каплях растворов солей и тонких суспензий. Астрахань. 2012. с.141-155.+

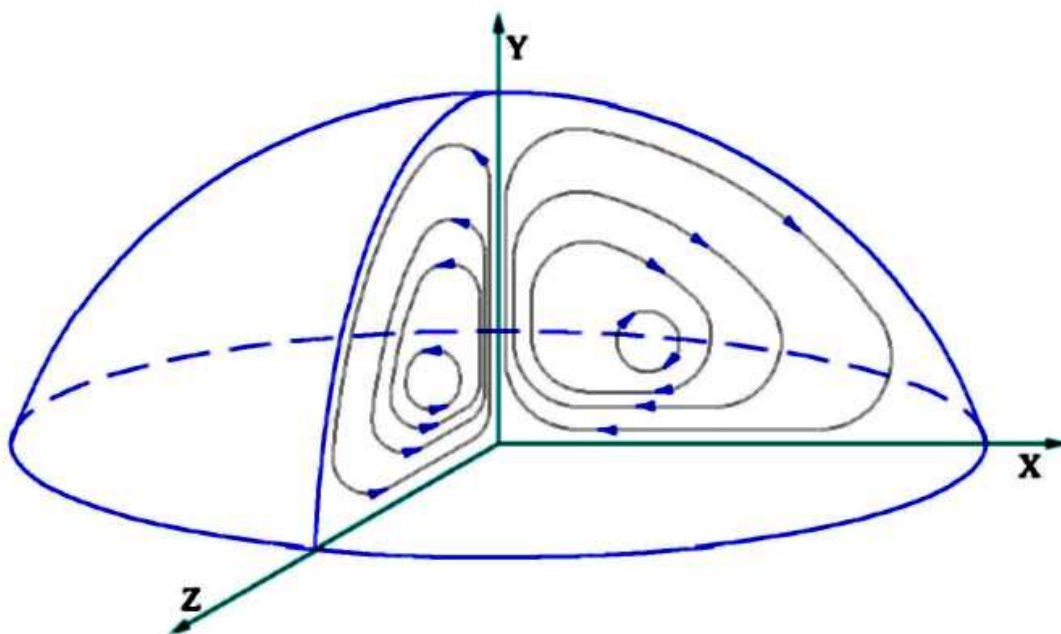


Рис. 2-1-8. Схема тороидального течения в высыхающей капле жидкости.

2013-University of Michigan-Michigan, USA.

Erwin Hendarto and Yogesh B Gianchandani.

Size sorting of floating spheres based on Marangoni forces in evaporating droplets. 2013 J. Micromech. Microeng. 23 075016 doi:10.1088/0960-1317/23/7/075016

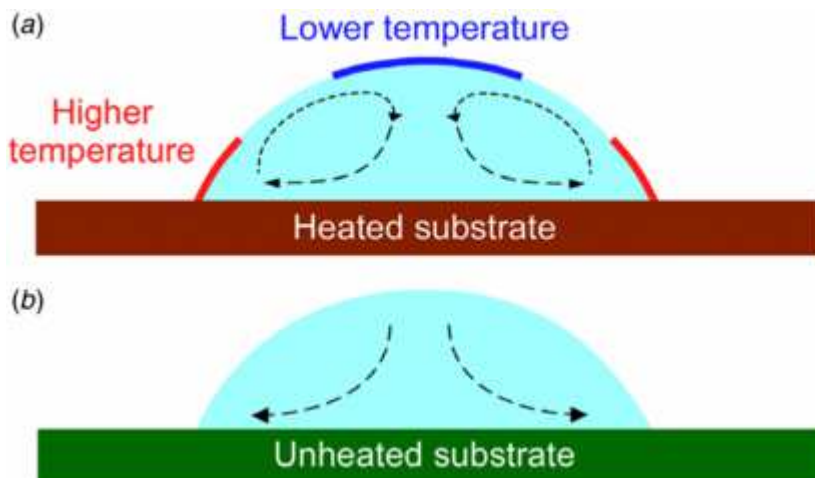


Рис. 2-1-9. Потоки в капле жидкости.

2014-Vanderbilt University, Nashville, USA.

Joshua R. Trantum, Mark L. Baglia, Zachary E. Eagleton, Raymond L. Mernaughb and Frederick R. Haselton

Biosensor design based on Marangoni flow in an evaporating drop. Lab on a Chip. Issue 2. 2014.

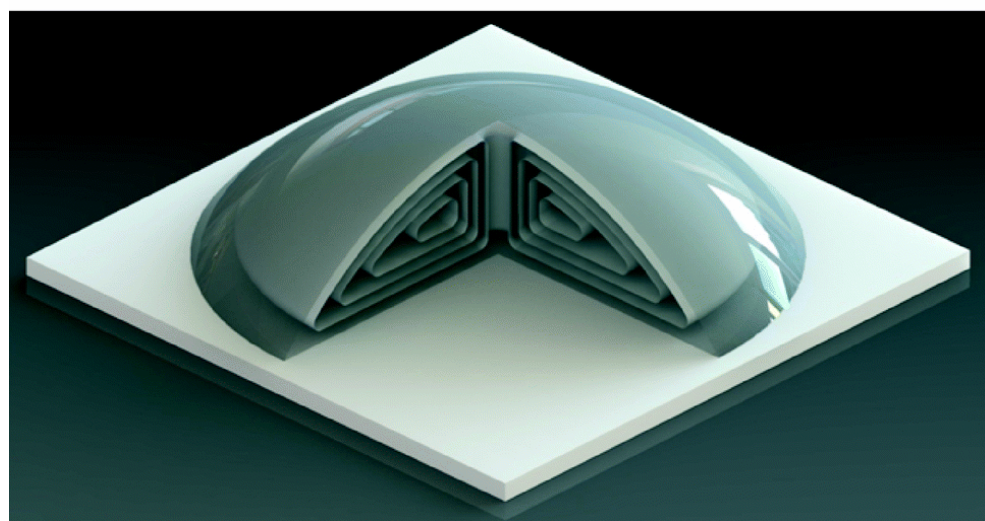
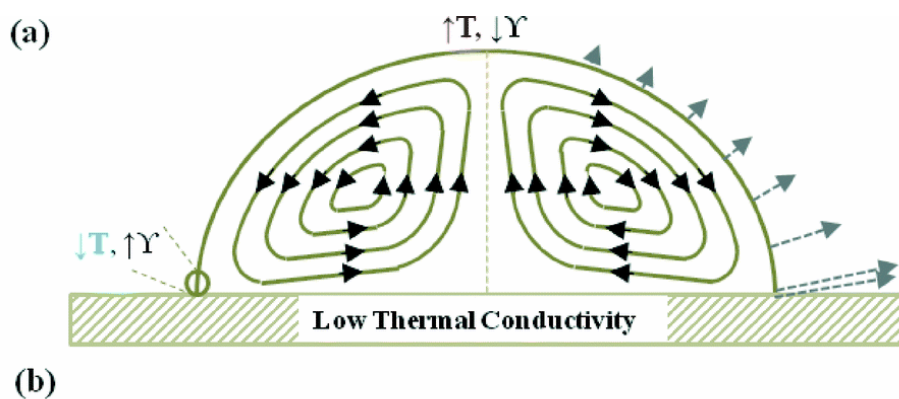


Рис. 2-1-10. Структура потоков в капле жидкости.

2013- Joshua R. Trantum, Mark L. Baglia, Zachary E. Eagleton, Raymond L. Mernaugh and Frederick R. Haselton. (USA) Biosensor design based on Marangoni flow in an evaporating drop Show Affiliations. Lab Chip, 2014, 14, p.315-324.

Разрабатывается метод обнаружения малого количества биомаркеров путем их концентрации в центре испаряющейся капли. Для создание необходимых течение в растворе необходимо присутствие солей и глицерина. В качестве частиц использовался бактериофаг M13K07 размером 1мкм. Количество частиц в растворе определялось пропорционально диаметру образовавшегося центрального пятна. Время для проведения анализа составляет 10 минут. За это время при испарении капли в центре собирается 80% частиц.

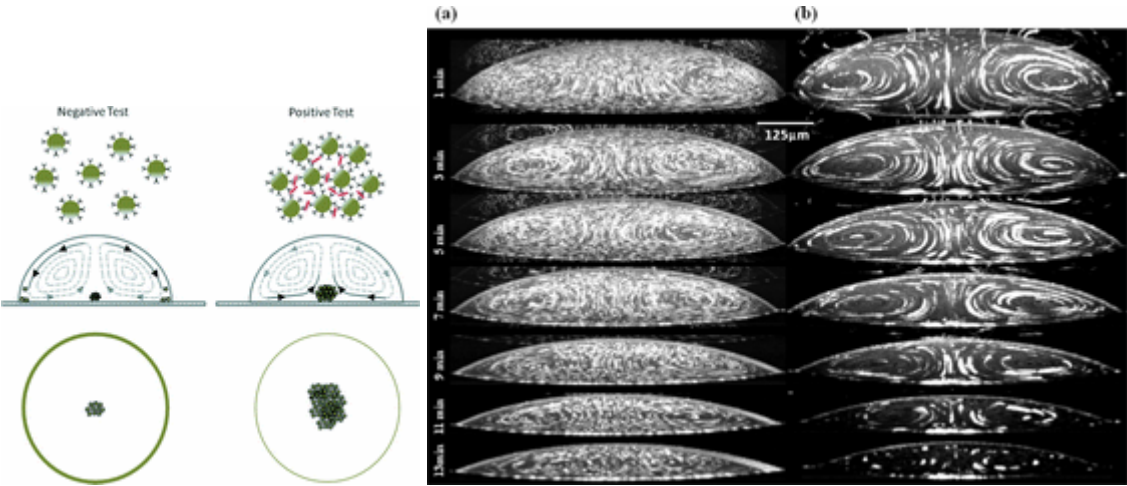


Рис. 2-1-11. Течения в капле.

2.1.2 Исследование конвекционных потоков в капле.

В процессах испарения чистой воды и растворов высокомолекулярных соединений имеются несколько принципиальных различий:

- 1-При испарении капли чистой воды краевой угол не меняется, а площадь контакта с подложкой сокращается, капля стягивается. При испарении растворов площадь контакта с подложкой не изменяется (явление пиннинга), а краевой угол уменьшается.
- 2-При испарении растворов высокомолекулярных соединений верхняя и нижняя поверхность капли неподвижна,
- 3-Испарение растворов высокомолекулярных соединений осуществляется через пленку ПАВ, и происходит более медленно.
- 4-При испарении сыворотки на поверхности формируется приповерхностный слой с повышенной концентрацией растворенных веществ.

Таблица 1-3. Сравнения процессов испарения капли воды и капли сыворотки крови.

№	Параметр	Вода	Сыворотка крови
1	Площадь капли	уменьшается	постоянна (пиннинг)
2	Краевой угол	постоянный	уменьшается
3	Вязкость	постоянна	возрастает
4	Наличие ПАВ	нет	есть

Рассмотрим некоторые выявленные закономерности.

Радиальное течение. Внешняя граница капли неподвижна (явление пиннинга) а испарение с внешнего края происходит. Для восполнения потери испарившейся воды возникает течение, направленное от центра к краю капли.

Перепад температур. За счет испарения воды верхняя поверхность капли немного охлаждается, и со дна поднимаются вверх более теплые слои капли. Измерения с помощью

пирометра показывают, что если температура подложки (стекла) составляет $28,1\text{ }^{\circ}\text{C}$, то температура на поверхности капли составляет $24,8\text{ }^{\circ}\text{C}$. При этом самая низкая температура на поверхности расположена в центре капли. Ближе к краю температура повышается, и на краю совпадает с температурой подложки. Значит, перепад температур составляет $3,3\text{ }^{\circ}\text{C}$ при толщине капли $0,5\text{ мм}$.

Распределение температуры на верхней поверхности капли. Если с помощью тепловизора зарегистрировать распределение температуры на верхней поверхности капли, то картина будет соответствовать распределению восходящих и нисходящих потоков жидкости (ячеек Бенара). В тех местах, в которых потоки холодной сыворотки поднимаются со дна на поверхность, температура капли на поверхности будет ниже. Для возникновения конвекционных течений обычно требуется перепад температур: снизу-более нагретые слои, сверху-более холодные слои. Так как обычно при нагревании жидкости расширяются и их плотность уменьшается.

Диффузия. Перемешивание в капле осуществляется с помощью двух процессов-диффузия и конвекционное течение. Процессы диффузии являются достаточно медленными по сравнению с процессами испарения. Поэтому в основном перераспределение жидкости осуществляется не за счет диффузии, а за счет конвекции.

Трейсеры. Потоки в капле легко наблюдать, если в сыворотку крови добавить немного эритроцитов. Диаметр эритроцита- 8 мкм . Эритроциты выступают в роли трейсеров (трейсер-частица, по траектории движения которой судят о направлении потока жидкости). Траектория движения эритроцитов хорошо видна под микроскопом.

Градиент температуры. Первые 10 секунд после нанесения капли заметных изменений не происходит. В это время осуществляется формирование градиента температур в капле-прогрев нижних слоев капли до температуры предметного стекла и охлаждение верхнего слоя капли за счет испарения. При малом значении градиента температуры (параметр Рэлея) перенос тепла осуществляется за счет теплопроводности, и потоков в жидкости не возникает.

Когда величина градиента достигает некоторого критического значения, начинают формироваться восходящие потоки. Распределение восходящих потоков в начальной фазе распределено по поверхности случайным образом. Точки возникновения восходящих потоков определяются различными неоднородностями: неоднородность поверхности стекла (микрорельеф), неоднородность температуры на поверхности стекла, неоднородность плотности и теплоемкости капли у поверхности, неоднородность нагрева капли в прилегающем к поверхности стекла слое. Например, выступающее вверх возвышение на поверхности стекла вызовет создание восходящего потока. Постепенно движение жидкости переходит от хаотического к установившемуся стационарному течению в виде ячеек. Происходит перераспределение микропотоков. Некоторые микропотоки усиливаются, а некоторые микропотоки ослабевают. Таким образом, происходит формирование макропотоков-процесс перемешивания самоорганизуется в структуру отдельных вихрей и получается структура из конвекционных ячеек-ячеек Бенара.

Построим модель, описывающую процесс возникновения ячеек. Перейдем для простоты от двумерного случая к одномерному случаю. Между двумя вертикальными пластинами находится слой жидкости высотой H , который подогревается снизу. Динамика восходящих потоков определяется следующими правилами:

1-Правило возникновения восходящих потоков. В каждый дискретный момент времени возникает один восходящий поток. (Вначале возникают потоки на больших неоднородностях, а затем на более мелких). Восходящие потоки возникают в случайных местах, на свободном пространстве-расстоянии не ближе чем h_i до ближайшего восходящего потока h_i . Новому возникшему потоку присваивается величина d .

2-Правило роста восходящих потоков. С каждым дискретным интервалом времени величина всех восходящих потоков увеличивается на постоянную величину d . При достижении некоторой пороговой величины H рост потока прекращается.

3-Правило перераспределения потоков. Когда количество восходящих потоков мало, и они расположены далеко друг от друга (расстояние между потоками больше высоты жидкости H), то потоки растут независимо друг от друга. Если два потока h_i и h_j оказались расположенными

на расстоянии меньшем чем h_i+h_j , то потоки раздвигаются на расстояние h_i+h_j (отталкивание потоков). Если два потока максимальной высоты H оказались на расстоянии в интервале от $2H$ до $3H$, то они сдвигаются на одну позицию друг к другу (притягивание потоков). Если малый поток оказался между двумя большими потоками i и j , и расстояние от него до больших потоков меньше h_i и h_j , то отодвигаться ему некуда, и он пропадает, перераспределяется между двумя большими потоками.

Через несколько итераций окажется, что вся одномерная область разбилась на отрезки равной величины, пропорциональные толщине слоя H . Сформировались устойчивые течения в прямоугольнике. Аналогичная модель работает для двумерного случая. В двумерном случае плоскость разобьется на шестиугольные ячейки равной величины, если слой жидкости однородный.

Форма и размер ячейки Бенара определяется следующими параметрами: толщина слоя жидкости, величина градиента температур, вязкость жидкости. Структура конвекционных потоков в виде ячеек наблюдается в ограниченной области пространства этих параметров. В 1900 году в классической работе Бенара (Benard H. Rev. generale sci. pures et appl. 11. 1261-1309. 1900.) описывается возникновение ячеек в тонком слое (толщиной 0,5мм) жидкого жира кашалота (спермацет-кашалотовый воск) на подогреваемом снизу металлическом горизонтальном листе. В 1888 году James Thomson наблюдал конвекционные структуры в сосуде с мыльной водой.

Зависимость размера ячейки от толщины слоя жидкости.

Можно предположить, что наиболее устойчивым является случай, когда диаметр ячейки равен половине высоты ячейки (толщине слоя). В этом случае профиль одного витка течения представляет собой квадрат. В экспериментах Бенара ширина ячейки равнялась утроенной толщине слоя жидкости. Принципиальным является малая толщина слоя жидкости. Это можно объяснить тем, что при малой толщине слоя сохраняется ламинарность восходящих потоков. При большой толщине слоя ламинарность восходящих потоков нарушается, поток становится турбулентным, и ячейки не возникают. Если диаметр маленький, а высота ячейки большая, то возникает вертикальная неустойчивость и ячейка распадается. Если диаметр ячейки большой, а высота маленькая, то возникает горизонтальная неустойчивость, и ячейка распадается. Чем больше площадь (объем) капли, тем больше ячеек образуется. Если рассматривать слой жидкости переменной толщины в виде клина, то по мере уменьшения толщины слоя размер ячеек уменьшается до некоторого предела, а затем ячейки пропадают. При возрастании толщины слоя ячейки вначале увеличиваются, затем их размер остается постоянным. При дальнейшем увеличении толщины ячейки пропадают.

Зависимость размера ячеек от градиента температур. При малом значении градиента температуры ячейки не возникают, и перемешивание осуществляется за счет диффузии. При некотором фиксированном значении градиента температур возникают ячейки. Ячейки Бенара наблюдаются в довольно широком интервале градиентов температур. Чем сильнее градиент температур между нижней и верхней поверхностью-тем больше размер ячеек. При градиенте больше некоторого порогового значения ячейки исчезают, и в жидкости устанавливается турбулентная конвекция.

Зависимость размера ячеек от вязкости. Конвекционные ячейки имеют пространственный характер в форме призм. Бывает два типа ячеек Бенара. В ячейке I-типа в центре поток движется вверх, а по краям поток движется вниз. В ячейке G-типа потоки движутся в обратном направлении, в центре поток движется вниз, а по краям поток движется вверх. При малой вязкости жидкости (с ростом температуры) жидкость поднимается вверх в центре ячейки и опускалась по краям ячейки (I-тип). При высокой вязкости жидкость опускается в центре ячейки и поднималась по краям (G-тип).

При высыхании капли сыворотки крови в центральной части капли возникают автономные замкнутые конвекционные ячейки (от 2 до 4), в центре которых идут восходящие потоки, а по краям-нисходящие потоки. В краевой зоне капли расположено ориентировочно 15 открытых ячеек. В открытых ячейках край капли играет роль центра ячейки, и потоки на краю

направлены сверху-вниз. В открытых ячейках идут потоки по поверхности капли от центра к краю, а по дну капли-от края к центру.

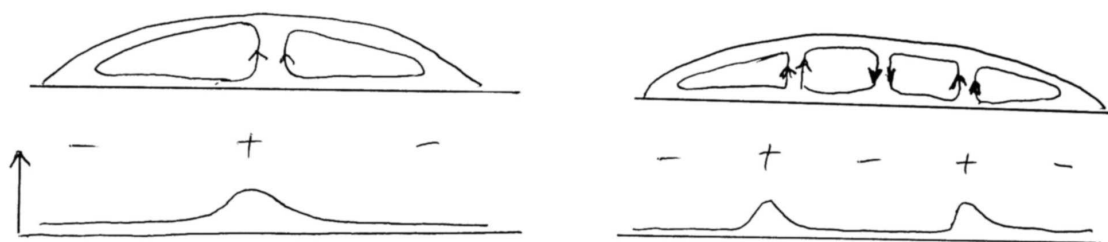


Рис. 2-1-12. Тороидальное и ячейчатое течение. Плюс означает направление течения вверх, минус означает направление течения вниз. В нижней части представлен график распределения эритроцитов, осевших на дне чашки.

Так как структура сыворотки сильно неоднородна, то однородных ячеек не возникает. Возникают ячейки различной формы, определяемой локальными изменениями плотности сыворотки. Для визуализации ячеек необходимо добавить в каплю эритроциты. После застывания капли можно видеть застывшую картину ячеек. Дело в том, что эритроциты постепенно опускаются на дно капли. Течениями жидкости эритроциты перемещаются в те места, где находятся восходящие потоки. Одновременно они вымываются из тех мест, где находятся нисходящие потоки. Таким образом, картина сгущений эритроцитов на дне капли соответствует положению восходящих конвекционных потоков.

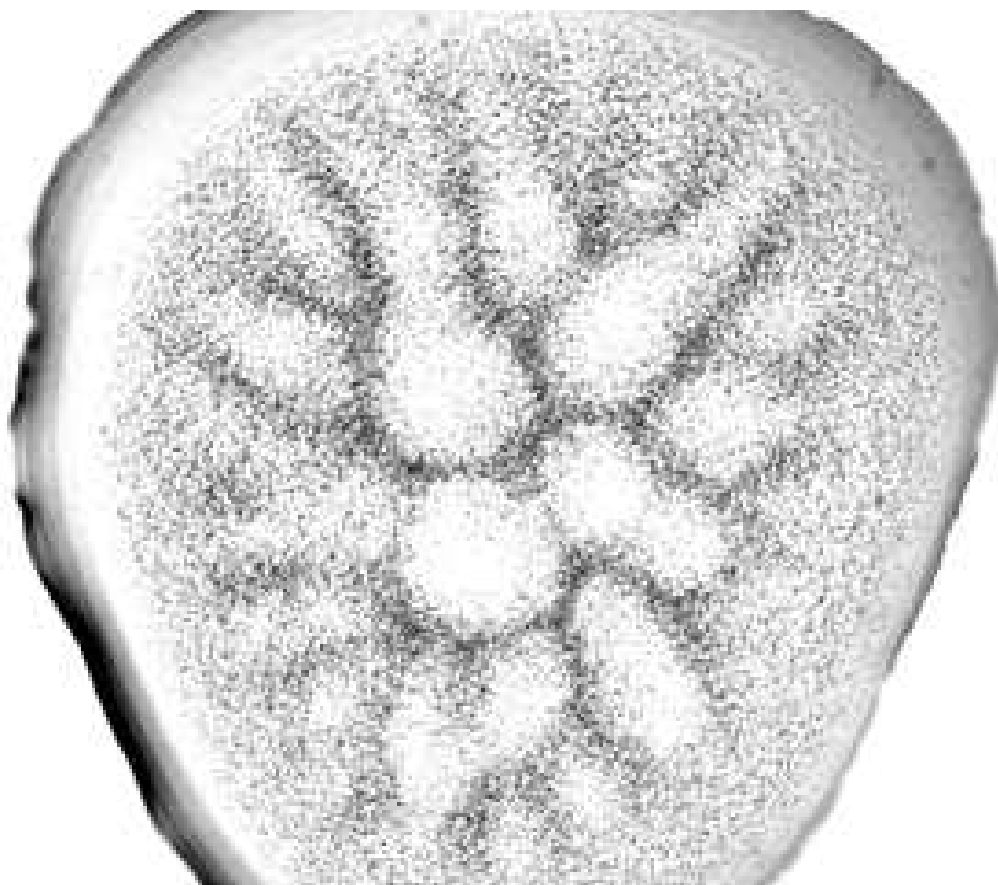


Рис. 2-1-13. Картина конвекционных ячеек в высыхающей капле сыворотки крови с эритроцитами. Поле зрения 8мм.

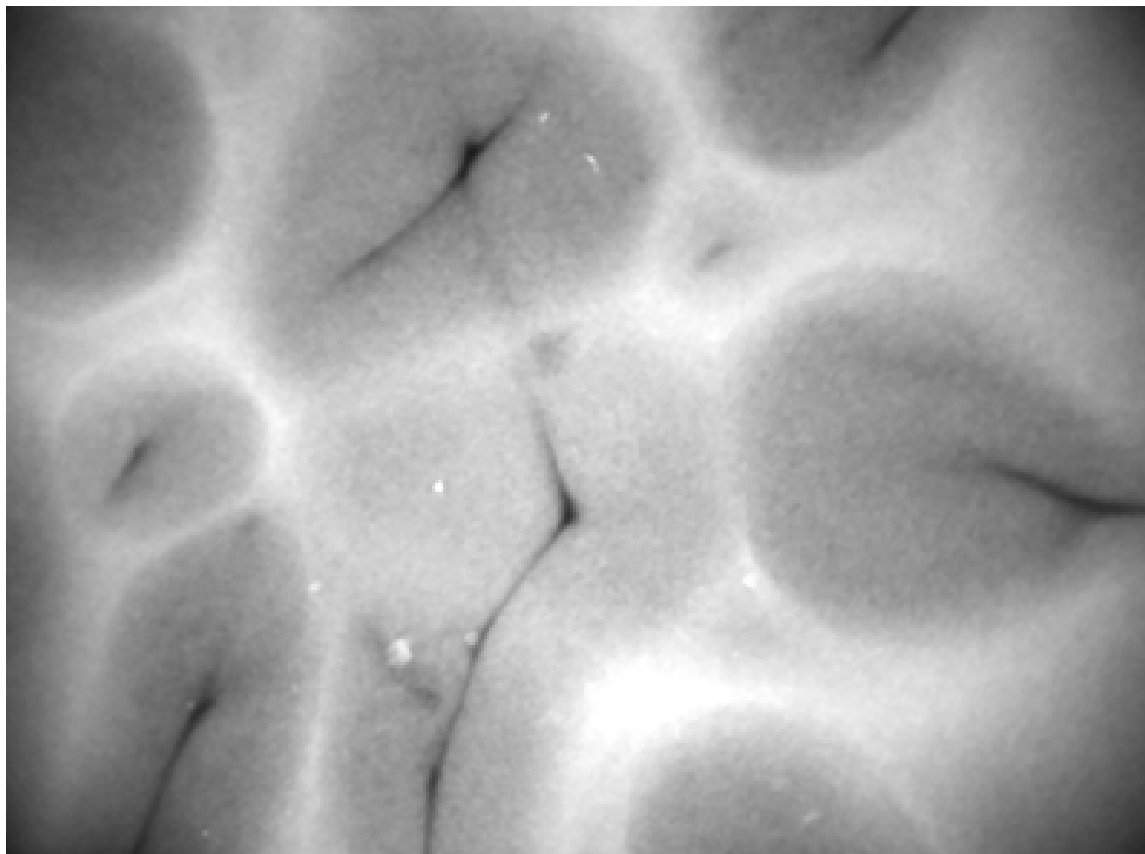


Рис. 2-1-14. Структура потоков в конвекционных ячейках. Поле зрения 2мм.

Необходимо отметить, что конвекционные ячейки локализованы в центральном слое капли. Нижний слой капли неподвижен, в нем находятся высокомолекулярные соединения, сцепленные с поверхностью предметного стекла. Верхний слой капли так же неподвижен, он представляет собой мономолекулярный слой поверхностно-активных веществ (липидов).

Отметим, что течения, возникающие в центральной части капли аналогичны течениям, возникающим в тонких пленках жидкости.

Общая структура ячеек имеет следующий вид-в центре имеется несколько замкнутых ячеек, а по краям расположены открытые ячейки. Структура ячеек в высыхающей капле не остается постоянной, а изменяется со временем. Это объясняется тем, что испарение капли не является стационарным процессом-постоянно за счет испарения воды увеличивается вязкость капли, уменьшается скорость течения, уменьшается высота капли. Это вызывает изменение размеров, формы и положения ячеек.

С началом загустения по краям (движение фронта загустения) зона конвекции постепенно сужается к центру. Ориентировочно через 30 минут движение жидкости прекращается.

Профиль скоростей течений. В левой части капли верхний приповерхностный слой движется влево, а нижний придонный слой движется вправо. Скорость движения жидкости составляет 0,01мм/сек. Самый нижний слой, который контактирует с предметным стеклом, остается неподвижным, в этом слое находятся частицы, прилипшие к стеклу. Неподвижен так же и самый верхний слой-тонкая пленка, образованная поверхностно-активными веществами (липидами).

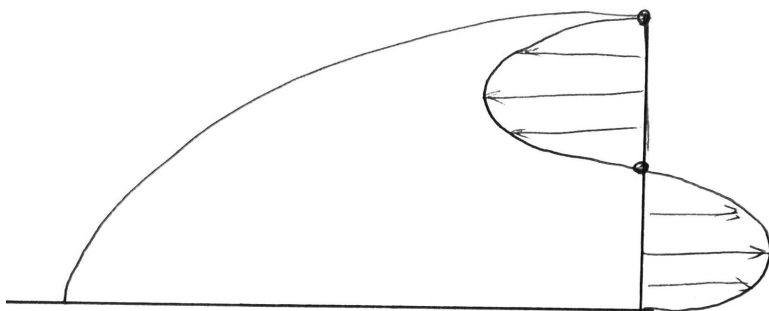


Рис. 2-1-15. Профиль скоростей течения в высыхающей капле.

Для капли сверху так же существуют некоторые факты, которые трудно объяснить. Например, течения в ячейках возникают быстро и так же быстро прекращаются. Если бы течения были вызваны только градиентом температур, то они бы возникали медленно и медленно прекращались.

Одной из таких причин может быть неоднородность состава, и как следствие, неоднородность плотности сыворотки крови. Например, если переливать сыворотку из одной пробирки в другую, то невооруженным глазом видны течения, вызванные неоднородностью оптических свойств. Значит, имеется неоднородность плотности.

В этом случае более тяжелые локальные компоненты начинают опускаться вниз, а более легкие-подниматься вверх. Возникают течения.

Структурные компоненты. Каплю сыворотки можно представить как среду с неоднородной плотностью. Неоднородность плотности среды вызвана не флуктуациями, а неоднородностью состава. Предположительно, колебания плотности в различных областях сыворотки составляют до 10%. Размер неоднородностей составляет до 1мм. Неоднородности связаны со структурированием в среде. В сыворотке имеются высокомолекулярные соединения, имеющие структуру полимеров-молекулы белка фибрина. Эти молекулы могут образовывать структуры типа трехмерной сетки, в которой как в каркасе удерживаются другие молекулы. В такой структуре процессы диффузии затруднены. Такая структура при перемещении жидкости ведет себя как целая часть. Плотность такой структуры может быть выше плотности окружающей среды, и при нанесении капли на стекло такая структуры будет оседать на дно как целый компонент, как тяжелое облако. При этом она будет увлекать за собой окружающую среду. Возникнет течение вниз.

Облака повышенной плотности. При нанесении капли на стекло в верхнем слое капли в виде облаков существуют области с повышенной плотностью. Однако, большое облако не может опуститься вниз как целое, так как имеется большое сопротивление воды. В связи с этим начнет формироваться нисходящий поток (течение). Как один из вариантов, в центральной, наиболее тяжелой части облака, начнется узкое течение вниз, раздвинувшее окружающую жидкость. Через это узкое место вниз устремиться все облако, как через узкий канал. Возникнет сильный поток вниз через узкий канал. Как видно из наблюдений, диаметр этого канала составляет примерно 0,1мм.

Облака пониженной плотности. При прогревании капли снизу у дна образуются облака с пониженной плотностью. Облако с пониженной плотностью начинает подниматься вверх. В верхней части капли более плотный слой жидкости старается опуститься вниз. Возникают два противоположных течения. Выявляется наиболее слабое место, где восходящий поток самый слабый, и в этом месте возникает канал, по которому верхний плотный слой жидкости устремляется вниз. Как видно из наблюдений, диаметр этого канала составляет примерно 0,1мм. Этим можно объяснить тот факт, что восходящие потоки двигаются широким фронтом, а нисходящие потоки двигаются узкими точечными или линейными каналами.

Возникает два типа каналов-точечные каналы (0-мерные), и каналы в виде изломанных линий (одномерные). По бокам каналов вытесняемая снизу жидкость поднимается вверх. Возникает структура ячеек. При наблюдении с трейсерами видна следующая картина:

-светлые точки (нисходящие 0-мерные потоки), окруженные темными областями (восходящие потоки)

-светлые линии (нисходящие одномерные потоки), на которые нанизаны темные кольца (восходящие потоки). Нисходящие линии как бы разбиваются на отдельные участки восходящими потоками, а не образуют единый восходящий поток по бокам вдоль нисходящего потока.

Данное явление можно смоделировать, если на жидкость с малой плотностью налить тонкий слой подкрашенной жидкости с высокой плотностью, и посмотреть, как она будет прорываться вниз.

Представление структуры потоков в виде графа. Восходящие и нисходящие потоки бывают двух типов-точечные (0-мерные) и линейные (1-мерные). Структуру нисходящих потоков можно представить в виде планарного графа, вершины графа-это точечные потоки, а ребра-это линейные потоки. На самом деле это взвешенный граф. Для каждой точки графа (вершины и точки на ребре) существует величина потока в этой точке. Это непрерывная функция, на ребрах эта функция является унимодальной, с максимальными значениями в вершинах ребра, и минимальным значением в центре ребра.

Структура восходящих потоков так же можно представить в виде аналогичного графа. Основное свойство структуры потоков: графы восходящих и нисходящих потоков являются двойственными. Граф А называется двойственным к планарному графу В, если вершины графа А соответствуют граням графа В, и две вершины графа А соединены ребром тогда и только тогда, когда соответствующие грани графа В имеют хотя бы одно общее ребро.

Так как капля имеет неоднородный состав, то структура графа не регулярна. Рассмотрим структуру графов для ячеек Бенара. В ячейке I-типа в центре поток движется вверх, а по краям поток движется вниз. Нисходящий поток имеет структуру графа в виде регулярных шестигранных ячеек. Восходящий поток имеет структуру графа в виде изолированных вершин, находящихся в центрах ячеек.

В ячейке G-типа в центре поток движется вниз, а по краям поток движется вверх. Восходящий поток имеет структуру графа в виде регулярных шестигранных ячеек. Нисходящий поток имеет структуру графа в виде изолированных вершин, находящихся в центрах ячеек.

Исследование конвекционных потоков в тонком слое жидкости различными авторами.

1900-Benard H.

1900-Benard H. Les tourbillons cellulaires dans une nappe liquide. Rev. Generale sciences pures et appl. 1900. 11(23) p.1261-1309.

1900-Benard H. Rev. Generale sciences pures et appl. 1900. 11(24) p.1309-1328.

1901-Benard H. Les tourbillons cellulaires dans une nappe liquide transportant de la chaleur par convection en regime permanent. Ann.d. Chim. et Phys. 1901. Ser. 7. 23. p.62-144.

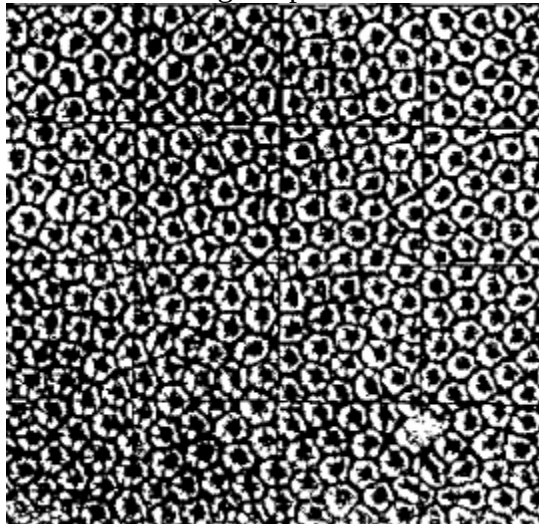


Рис. 2-1-16. Конвективные ячейки в слое расплавленного спермацета толщиной 0,81мм.

1947-Шишкин Н.С. Образование ячеистых структур в слоях жидкости и газа. Успехи физических наук. 1947. т.31. №4. с.461-490.+

1983-Москва-ИРЭ-Путвинский А.В.

1983-Бецкий О.В. Казаринов К.Д. Путвинский А.В. Шаров В.С. Конвективный перенос растворенных в воде веществ как возможный механизм ускорения мембранных процессов под действием миллиметрового излучения. Эффекты нетеплового воздействия миллиметрового излучения на биологические объекты. М. ИРЭ АН СССР. 1983.

1985-Полников И.Г. Казаринов К.Д. Шаров В.С. Путвинский А.В. Бецкий О.В. Гидродинамическая неустойчивость на межфазной границе при поглощении излучения низкой интенсивности. Применение миллиметрового излучения низкой интенсивности в биологии и медицине. М. ИРЭ АН СССР. 1985.

1998-Бецкий О.В. Голант М.Б. Девятков Н.Д. (Москва, ИРЭ) Вода и миллиметровые волны в биологии. М. Знание. 1998. 64с.

Путвинский А.В. с сотрудниками (Москва, ИРЭ) обнаружили возникновение конвективного движения жидкости под действием миллиметрового излучения низкой интенсивности. При этом не удалось зафиксировать локальных изменений температуры при чувствительности не хуже 0.1 градус. Конвекция возникает на границе раздела фаз (воздух-жидкость, жидкость-твердое тело) за счет приповерхностного поглощения излучения и обусловлена изменением сил поверхностного натяжения на этой границе (термокапиллярный эффект). Картину конвекции можно наблюдать в прямоугольных кюветах с помощью фазового контраста.

1986-Альбом течений жидкости и газа. Перевод с английского. Сост. М.Ван-Дайк. М. Мир. 1986. 184с.

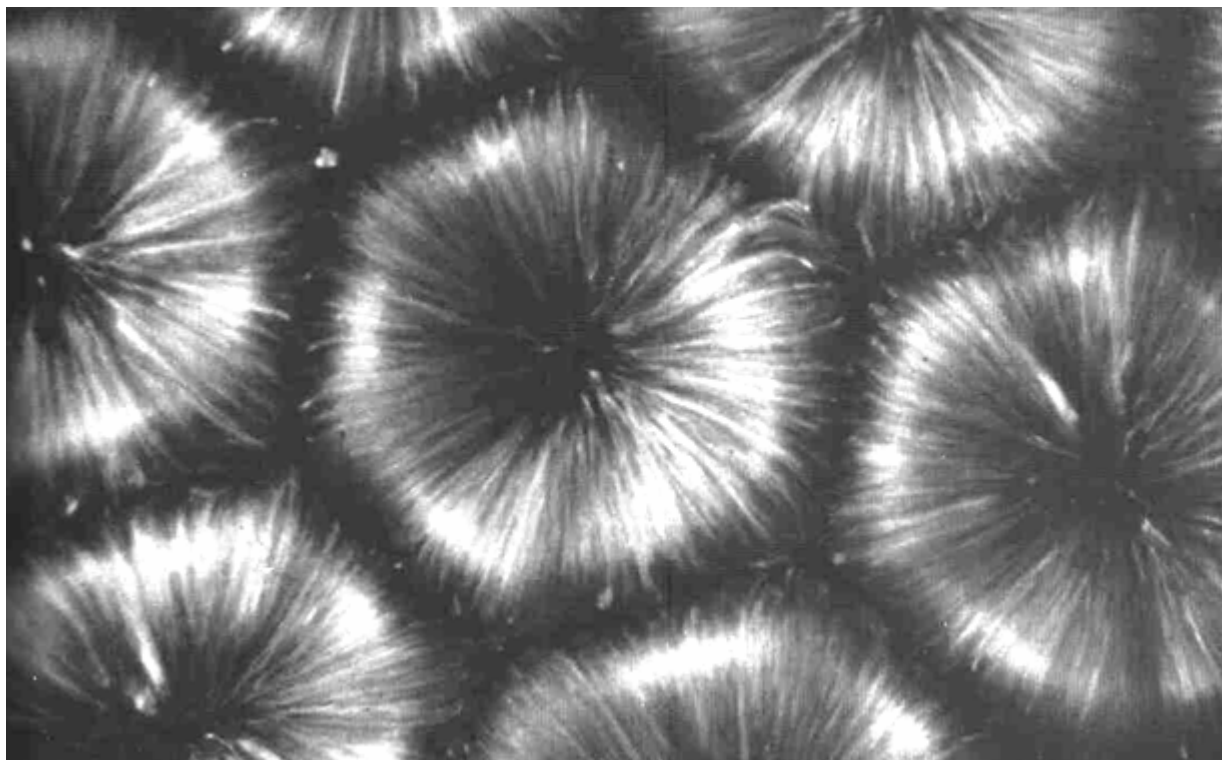


Рис. 2-1-17. Гексагональные конвективные ячейки в слое силиконового масла толщиной 1мм при равномерном нагреве снизу. Свет отражается от алюминиевых хлопьев. Время экспозиции 10 секунд. Наблюдается подъем жидкости в центре и опускание по краям.

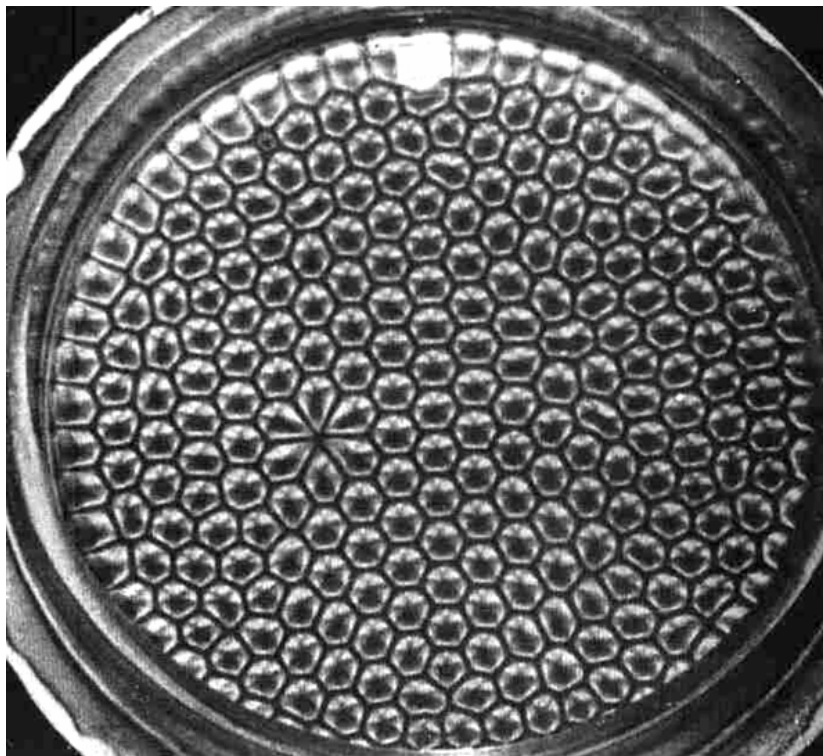


Рис. 2-1-18. Структура конвективных течений при конвективной неустойчивости, вызванной поверхностным натяжением. Тонкий слой силиконовагг масла с алюминиевой стружкой на нагреваемой медной пластине. Koschmieder, 1974.

1986-Владивосток, Тихоокеанский океанологический институт

Акуличев Виктор Анатольевич

1986-Акуличев В.А. Алексеев В.Н. Буланов В.А. Периодические фазовые превращения в жидкостях. М. Наука. 1986.

1999-Гетлинг А.В. Конвекция Рэлея-Бенара. Структуры и динамика. Эдиториал УРСС. 1999. 248с.+ Монография дает сжатое, но систематическое описание структур и динамики течений, возникающих при тепловой конвекции в плоском горизонтальном слое жидкости, подогреваемого снизу-конвекции Рэлея-Бенара. Эволюция конвективных потоков демонстрирует существенные черты, присущие не только различным явлениям гидродинамической неустойчивости, но и нелинейным структурообразующим процессам различной природы.

1988-Минск, Институт фотобиологии, Радюк М.С.

1988-Радюк М.С. Что стоит за золотым сечением. Химия и жизнь 1988. №7. с.66-67.+

1998-Радюк М.С. Физиология растений. 1998. т.45. с.248-252.

2001-Радюк М.С. Журнал общей биологии. 2001. Т.62. №5. с.403-409.

2002-Radyuk M.S., Homan N.M. Photosynthesis Research. 2002. V. 72. p.117-122.

2006-Радюк М.С. Эффект «неоднородности пространства» в биологических и физических процессах. Квантовая Магия, 2006. т.3, №4, с.4141-4155.+

2007-Радюк М.С. «Гало» физических объектов: некоторые свойства и возможная природа. Квантовая магия. 2007, т.4, №4, с.4107-4115.+

2008-Радюк М.С. Пространственная неоднородность воды. Квантовая Магия. 2008, т.5, №2, с.2183-2191.+

2010-Радюк М.С. Фантомный эффект. Квантовая Магия, 2010. т.7, №4, с.4139-4143.+

Изучается реакция агрегации в гомогенате зеленых листьев. При проведении реакции в пробирке происходит обычное образование осадка не дне пробирки. При проведении реакции в

длинных узких кюветах наблюдается неоднородность образования осадка, вызванная конвекционными потоками.

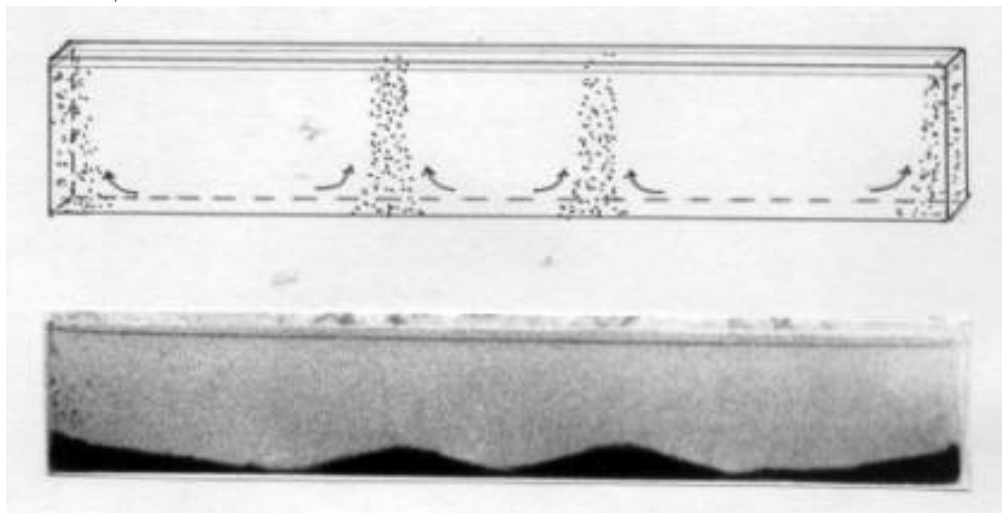


Рис. 2-1-19. Неоднородность образования осадка в узкой кювете.

2007-Реутов В.П. Езерский А.Б. Рыбушкина Г.В. Чернов В.В. (Нижний Новгород, ИПФ) Конвективные структуры в тонком слое испаряющейся жидкости, обдуваемом воздушным потоком. Прикладная механика и теоретическая физика. 2007. т.48. №4. с.3-14.+

2009-Украина, Киев, КНУ, Мартынюк В.С.

Мартынюк В.С. Нижельская А.И. Возникновение диссипативных структур при воздействии эми квч на систему «вода-краситель». Конференция Космос и Биосфера. 2009.

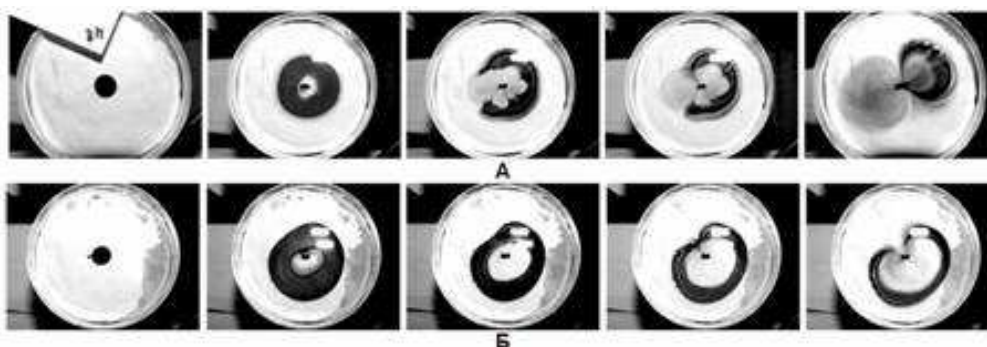


Рис. 2-1-20. Конвекционные структуры в жидкости.

В чашку Петри наливались водные растворы различных красителей. При воздействии электромагнитным излучением миллиметрового диапазона в диапазоне частот 37-53 ГГц в слое воды возникали различные структуры. Основной причиной образования структур являются конвекционные потоки, вызванные разогреванием воды в области выхода волновода (в центре чашки Петри). Вид конвективной структуры зависит от толщины водного слоя. В экспериментах с красителем ДХФИФ при толщине водного слоя 3мм доминируют структуры «неправильных восьмёрок», а при 6мм наблюдаются преимущественно кардиоиды. При использовании туши доминировали кардиоиды при разной высоте водного слоя. Такое различие указывает на то, что формирование диссипативных структур зависит и от химической природы растворённых веществ (наличия заряженных, гидрофобных, полярных химических групп в молекулах и т.д.).

Одной из наиболее интересных особенностей таких диссипативных структур является их когерентность: система ведет себя согласованно, как единое целое. Например, зацепив микропипеткой край «структуры», её можно поворачивать и двигать как целое, что напоминает поведение гелеподобных структур.

2010-Тюмень, ТГУ, Федорец Александр Анатольевич

2010-Федорец А.А. Способ визуализации конвективных течений в жидкостях с помощью красителя нильского синего. Патент 2402011. 2010.+

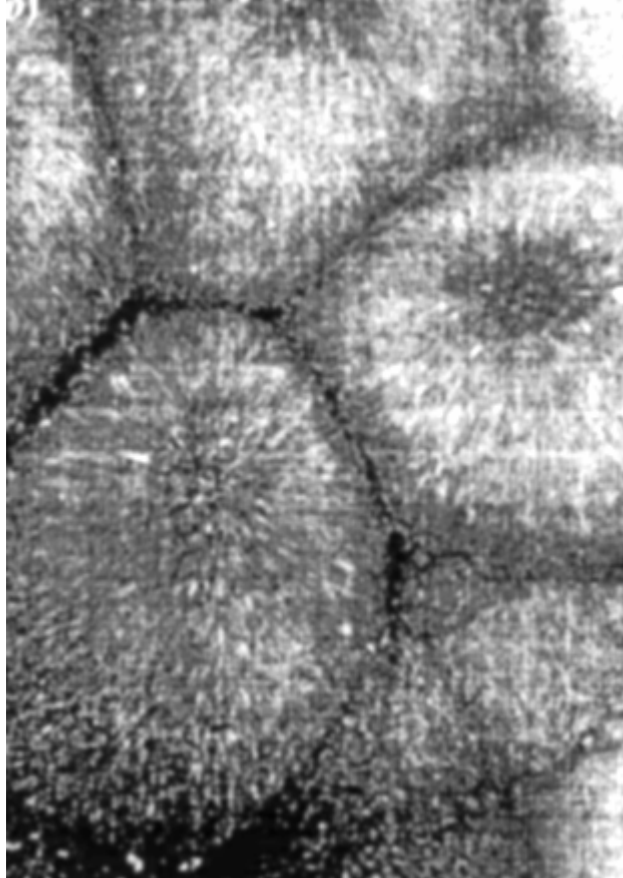


Рис. 2-1-21. Конвективные течения в тонком слое раствора нильского синего в изопропиловом спирте.

1965-Theodor Schwenk. Sensitive Chaos: The Creation of Flowing Forms in Water and Air. Rudolf Steiner Press, 1965. 231 pages.

2003-Швенк Теодор. Чувствующий хаос. Образование движущихся форм в воде и воздухе. М. Новый центр. 2003. 215с.+

Тепловизионные методы исследования капли.

На тепловизионных изображениях темные области соответствуют более низким температурам. Рассмотрим слой жидкости, к которой на нижней поверхности температура выше, чем температура на верхней поверхности. Тогда светлые области это конвекционные потоки легкой нагретой жидкости снизу вверх, а темные области это потоки холодной жидкости сверху вниз.

1996-Пушино, ИТЭБ, Хижняк Евгений Павлович

1996-Е.Р.Khizhnyak and M.C.Ziskin. Temperature Oscillation in Liquid Media Caused by Continuous (Nonmodulated) Millimeter Wavelength Electromagnetic Irradiation. Bioelectromagnetics, 1996, 17, p.223-229.

2005-Иваницкий Г.Р. Деев А.А. Хижняк Е.П. Структуры на поверхности воды, наблюдаемые с помощью инфракрасной техники. Успехи физических наук, 2005, т.175, №11, с.1207-1216.

2007-Иваницкий Г.Р. Деев А.А. Хижняк Е.П. Биологическое значение тепловых узоров на поверхности воды. Сборник «Проблемы регуляции в биологических системах. Биофизические аспекты», М. РХД, 2007, с.292-328.

2009-Бецкий О.В. Козьмин А.С. Хижняк Е.Е. Хижняк Е.П. Цыганов М.А. Яременко Ю.Г. Роль температурных градиентов и конвективно-диффузионных процессов в механизмах биологических эффектов миллиметровых волн. Биомедицинская радиоэлектроника, 2009, №12, с.24-33.

2009-Хижняк Евгений Павлович. Анализ термоструктур биологических систем методом матричной инфракрасной термографии. Диссертация кандидата физико-математических наук. Пущино. 2008.

2011-Хижняк Е.П. Термоструктуры и термофлуктуации в воде и водных растворах. Труды конф. Пущино. 2011.+ В работах описываются конвекционные ячейки в воде.

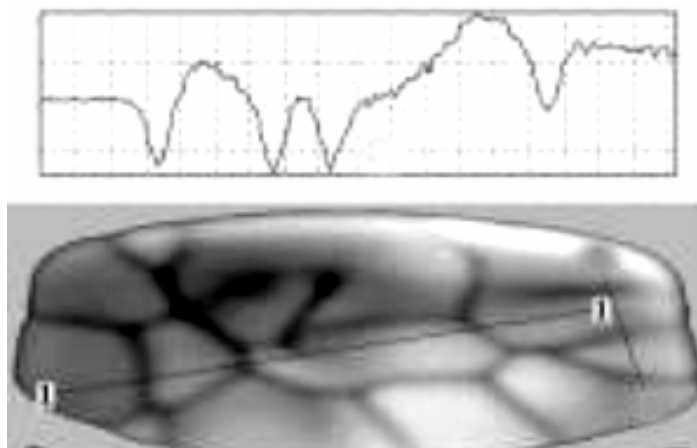


Рис. 2-1-22. Термопрофиль, распределение температур на поверхности воды.

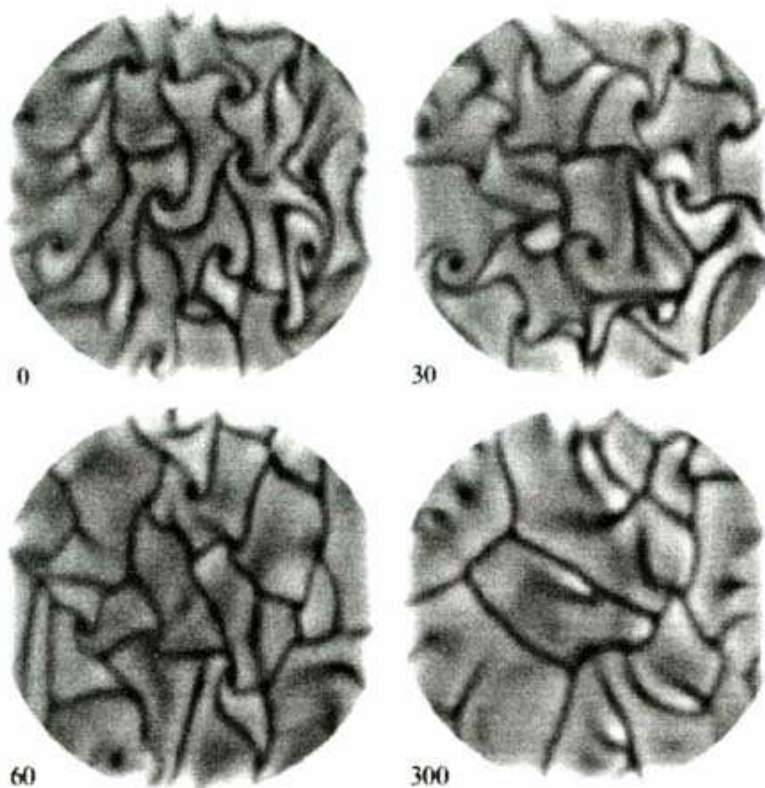


Рис. 2-1-23. Фильмограмма в ИК диапазоне 8-12мкм переходного процесса остывания воды в круглом резервуаре диаметром 17см. Диапазон температур от 20 до 40 градусов. Показаны различные моменты времени.

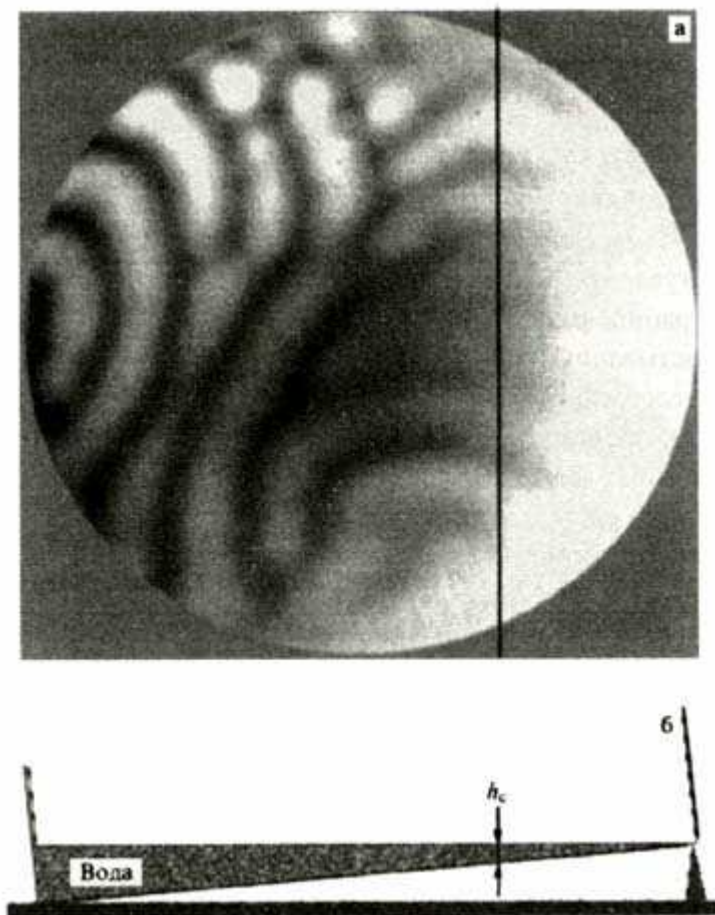


Рис. 2-1-24. Структуры, образующиеся в наклонном сосуде. Диаметр сосуда 17см. Глубина слоя с левой стороны 10мм. Глубина слоя в сечении h равна 2мм.

2010-Новосибирск, Институт теплофизики.

Терехов В.И. Шишкин Н.Е. Температура поверхности испаряющихся капель бинарных растворов. Ползуновский вестник. 2010. №1. с.55-59. В работе с помощью тепловизора производилось измерение распределения температур на поверхности испаряющейся капли. Показано, что распределение температур по поверхности неоднородно. Изменение диаметра капли от времени имеет нелинейный характер.

2011-Brutin D. Sobac B. F. Rigollet, C. LeNiliot, Infrared visualization of thermal motion inside a sessile drop deposited onto a heated surface, Experimental Thermal and Fluid Science, Vol. 35, p.521-530, 2011. <http://iusti.univ-provence.fr/document.php?pagendx=11286&project=iusti>

Исследуется процесс испарения капли на нагреваемой поверхности с помощью тепловизионной камеры. Исследовалось испарение различных жидкостей, этанол и метанол. Эти жидкости были выбраны потому, что они прозрачны в ИК области, в которой работает тепловизионная камера (от 3 до 5мкм). Это позволяет с помощью тепловизионной камеры наблюдать тепловые потоки внутри камеры. При изучении испарения было обнаружено три этапа: 1-начальный этап, 2-основной этап испарения с конвекционными потоками, 3-заключительный этап, без тепловых потоков.

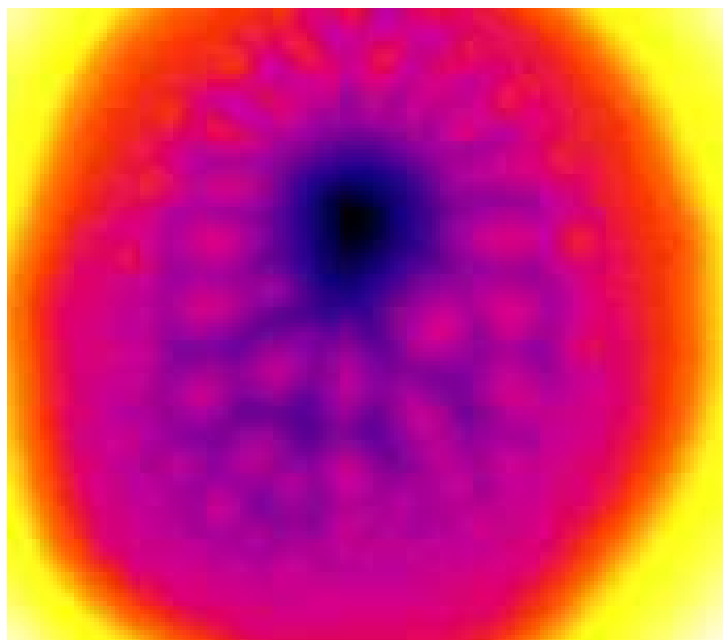


Рис. 2-1-25. Тепловизионное изображение конвекционных потоков в испаряющейся капле.

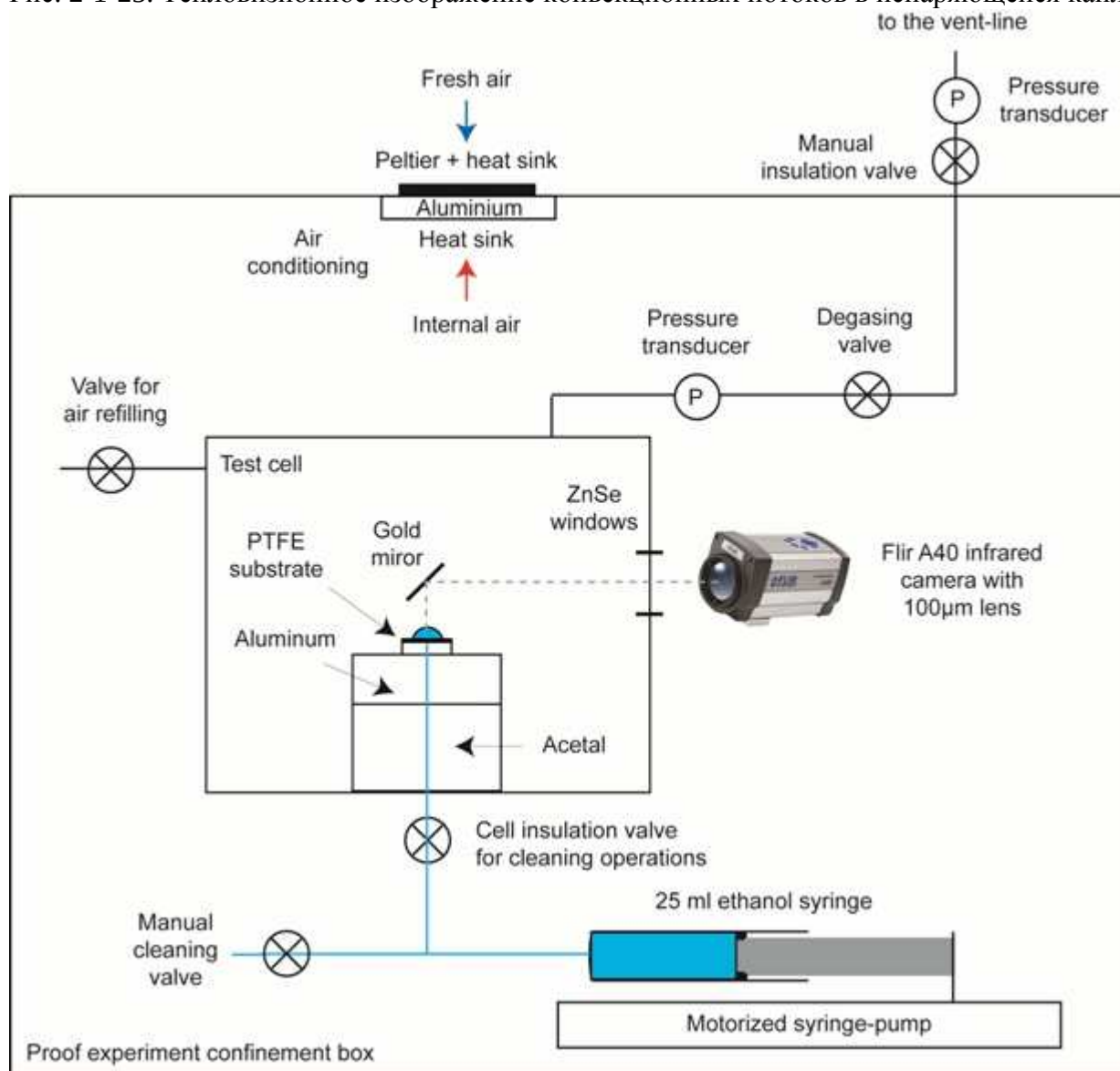


Рис. 2-1-26. Схема установки.

2014-Vahid Bazargan. Effect of substrate cooling and droplet shape and composition on the droplet evaporation and the deposition of particles. Dissertation. 2014.

С помощью тепловизора IR-TCM-384 (Jenoptic, Germany) измерялась температура не поверхности капли при испарении.

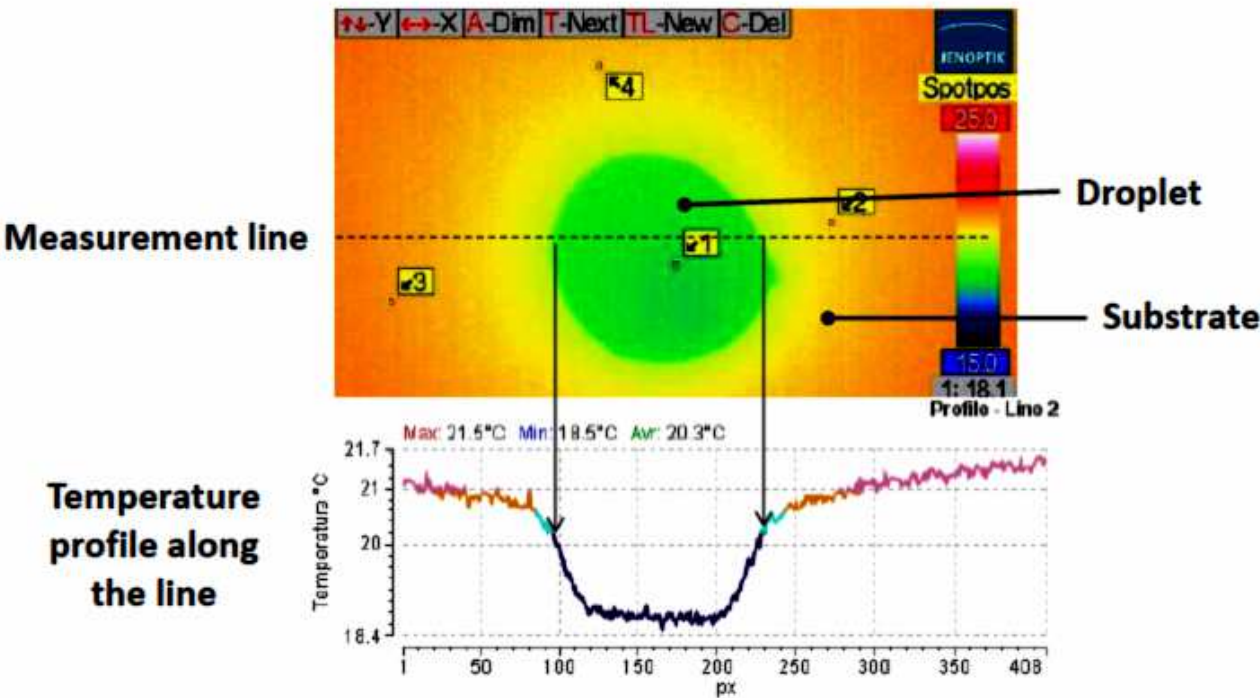


Рис. 2-1-27. Распределение температуры на поверхности капли при испарении.

2.2 от 1 до 60 мин. Черви.

Черви можно рассматривать как границы восходящих потоков. Границы ячеек Бенара в высыхающей капле можно наблюдать при косом освещении в виде так называемых червей. Черви-это границы раздела потоков плазмы с разной оптической плотностью. Через одну минуту после раскапывания на дне появляются червеобразные структуры. Черви зарождаются одновременно по всему дну капли. Черви извиваются и продвигаются к краю. Видны в проходящем свете при косом методе освещения. Черви существуют все время в жидкой фазе капли. При движении фронта загустения от края к центру черви двигаются от центра к фронту загустения. Не доходя небольшого расстояния до фронта, черви пропадают.

Основные характеристики червей:

- черви не имеют пространственного рельефа, а только оптическая неоднородность,
- черви появляются сразу после раскапывания,
- черви существуют до тех пор, пока в центральной части капли существует жидкая фаза,
- максимальная контрастность червей в самом начале, потом ослабевает,
- зарождаются черви в центральной части капли,
- двигаются черви от центра к краю капли,
- черви наблюдаются в виде извилистых линии, они являются границами областей,
- если потрясти стекло, то черви пропадают, но через несколько секунд появляются снова,
- если качать предметное стекло, то черви будут качаться вместе с каплей, значит, черви не сильно связаны с поверхностью стекла,
- если в каплю поместить конец иглы, коснуться дна капли и подвигать иглу, то на дне капли возникнет след от движения иглы в виде червя.

Причиной перемещения червей (ячеек) к краю является изменение конвекционных потоков в капле, возникновение новых конвекционных ячеек в центре, изменение формы и размеров ячеек вследствие уменьшения толщины капли.



Рис. 2-2-1. Черви в центральной жидкой части капли. Боковое освещение. Поле зрения 8мм.

Черви-это выход восходящих потоков на поверхность. На изображении червей видно, что каждый червь является как бы хребтом на некоторой возвышенности вокруг него. Между червями имеется понижение. Рельеф поверхности соответствует форме конвекционных ячеек. Движение червей соответствует движению ячеек.

Верхняя поверхность капли имеет рельеф, соответствующий структуре ячеек конвекционного течения. В области восходящих потоков имеется возвышение (черви), а в области нисходящих потоков имеются углубления.

Второй этап-гелеобразование.

2.3 от 20 до 70 мин. Формирование морщин.

На начальном этапе дегидратации происходит формирование морщин. Морщины формируются в краевой и переходной зоне. Морщины являются результатом расслоения исходной однородной сыворотки на две фазы (две компоненты). Наблюдаемая структура морщин-это структура распределения оптической плотности, оптический рельеф, а не рельеф поверхности (рельеф дна). При расслоении неоднородного раствора белка образуются две фазы: с пониженной и повышенной оптической плотностью. Оптическая плотность пропорциональна концентрации белка. Чем выше концентрация белка-тем выше оптическая плотность.

Существует рефрактометрический способ определения концентрации белка. При этом методе используют таблицу показателей преломления сыворотки крови при разной концентрации белка (таблица Рейса).

Таблица 1-4. Зависимость показателя преломления сыворотки от концентрации белка (таблица Рейса).

Показатель преломления	Белок %
1,3370	0,60
1,3377	1,01
1,3394	2,0
1,34275	3,94
1,34463	5,03
1,34650	6,12
1,34798	6,98
1,34984	8,06
1,35319	9,99
1,35388	10,41
1,3549	11,01

Для воды показатель преломления равен 1,33320. Как видно из таблицы, значения показателя преломления очень сильно зависят от концентрации. Сильно зависят в т.смысле, что показатели преломления для разных концентраций различаются в третьем знаке. Однако известно, что при наблюдении в микроскоп двух объектов с разным показателем преломления, граница между объектами видна, если показатели преломления различаются в пятом знаке! Значит можно наблюдать различие в показателе преломления при изменении концентрации белка в третьем знаке.

Агрегация белков начинается в краевой зоне. В проходящем свете морщины не видны. Морщины хорошо наблюдаются при косом освещении. В образовании морщин принимают участие высокомолекулярные белки (фибриллярные-фибрин) и глобулярные, которые подверглись денатурации и была разрушена их третичная и четвертичная структуры. В этом случае молекулы имеют вытянутую форму, и образуют морщины в виде жгутов и усов.

Морщины бывают следующих типов:

1-бляшки-круговые образования,

2-дуги-дугообразные морщины в виде расходящихся от круглых бляшек загнутых дуг

3-жгуты-морщины в виде жгутов, с поперечными полосами или без них. Поперечная исчерченность жгутов связана со сжатием структуры геля, из которого состоит жгут. Темные и светлые полосы-это чередование полос с повышенной и пониженной оптической плотностью. Когда жгут достаточно толстый, он выходит на поверхность. В этом случае на поверхности капли (поверхности жгута) возникают поперечные трещины, которые соответствуют расположению более слабосвязанных (разреженных) полос жгута.



Рис. 2-3-1. Морщины в краевой зоне капли. Боковое освещение. Поле зрения 2мм.

Если сыворотка крови является однородной, то морщины не образуются. Причина образования морщин-неоднородность концентрации белка. Например, более гидрофобные белки при одних и тех же условиях отдают меньше воды, и гель усыхает меньше. Если в некотором месте находятся менее гидрофобные белки, то они отдают больше воды, гель усыхает сильнее, образуется морщина (складка).

Было замечено, что при интоксикации появляется большое количество морщин. Это можно объяснить следующим образом. При интоксикации молекулы альбумина перегружены токсинами, имеют на своей поверхности много различных компонент. Это вызывает повышенную агрегацию альбумина и более сильное расслоение раствора на две фазы. Получаем, что количество морщин пропорционально количеству молекул альбумина, перегруженных токсинами.

Структуры, сформированные в результате распада сыворотки на две фазы можно наблюдать двумя способами.

1-в режиме светлого поля структуры видны в виде морщин.

2-в режиме темного поля структуры видны в виде течений, и в виде чередования светлых и темных областей. Убедиться в том, что данные структуры находятся на поверхности капли можно при наблюдении структур объективами с большим увеличением и малой глубиной резкости. Формирование структур в виде течений происходит в результате реального наличия течений в застывающей капле, которые накладывают структуру на расслаивающуюся сыворотку.



Рис. 2-3-2. Структуры на поверхности капли. Темнопольное освещение. Поле зрения 3мм.

Характеристики двух фаз.

Первая фаза проявляется в виде однородных темных областей без мелких точек. Краевое прозрачное кольцо является второй фазой, она имеет гладкую поверхность без светящихся точек. В этой области происходит формирование ступенек. Эта фаза является нормой, и состоит из мономеров белков. В норме основная масса альбумина является мономерами. При этом краевая зона капли образуется однородной и прозрачной.

Вторая фаза проявляется в виде серых областей, состоящих из множества мелких точек на поверхности капли. Эти точки светятся в режиме темного поля. Эта фаза состоит из агрегированных молекул белка, из димеров, тримеров, полимеров и крупных агрегатов. Крупные агрегаты наблюдаются в виде светящихся точек в режиме темного поля. Чем больше второй фазы, тем сильнее нарушения в структуре белков.

Можно рассмотреть модель образования двух фаз в терминах напряжения и растрескивания. Расслоение (разделение на два типа областей) происходит в результате наличия напряжений в сыворотке. В результате напряжений происходит разрушение однородной структуры затвердевшей сыворотки. Это тоже своего рода псевдотрещины. Образуются два типа областей: исходная сложная структура сыворотки, и разреженная зона, в которой находится чистый раствор молекул альбумина в форме мономеров. Эти области существенно различаются по оптической плотности.

Таким образом, получается, что наблюдать степень нарушения структуры белков можно на макроуровне без использования специальных зондов, электрофореза и тонкой биохимии. Сам процесс формирования морщин состоит в следующем. Расслоение сыворотки на две фазы происходит когда сыворотка находится в жидкой фазе. Но само образование морщин происходит на поверхности фронта фазового перехода жидкость-гель. При движении фронта загустения перед фронтом находится жидкая фаза, в которой происходят конвекционные течения, и в микроскоп видныдвигающиеся частицы. Позади фронта никакого движения частиц уже нет, и видны образовавшиеся морщины. Перед фронтом морщин не видно, только иногда, когда морщина очень большая и яркая, перед фронтом движется выпуклость от этой морщины.

На основе напряжения и растрескивания можно объяснить форму морщин. Если в некоторой области имеется плотное сцепление структуры геля с поверхностью предметного стекла. То образуется круглая бляшка. Из-за напряжения вокруг нее образуются радиальные неоднородности (псевдорастрескивание). Если бы пленка сыворотки имела постоянную толщину, то радиальные лучи были бы симметричны. Но так как в краевой зоне сыворотка имеет клиновидную форму, то радиальные неоднородности имеют форму усов.

2.4 от 20 до 70 мин. Гелеобразование.

2.4.1 Основные этапы гелеобразования.

1-Малая концентрация белка. Белок существует в основном в виде мономеров. Каждая молекула белка окружена гидратной оболочкой. Много свободной воды. По мере испарения воды количество свободной воды уменьшается, концентрация белка возрастает. Количество мономеров белка уменьшается, а количество димеров белка увеличивается.

На начальном этапе происходит испарение свободной воды. За счет конвекционного перемешивания новые порции свободной воды поступают к верхней поверхности капли и испаряются. В некоторый момент в краевой зоне заканчивается свободная вода, концентрация белка достигает границы полной сольватации. Вся вода оказывается в сольватных оболочках. После этого начинается испарение слабо связанной воды из сольватных оболочек. Это приводит к разрушению сольватных оболочек белков, агрегации белковых молекул, и как следствие, к началу гелеобразования.

При гелеобразовании, вызванном повышением концентрации белка из-за испарения воды, происходит повышение вязкости сыворотки. На повышение вязкости оказывают влияние два процесса:

- разрушение третичной и четвертичной структуры белка вследствие потери гидратных оболочек. Это приводит к распутыванию глобулярных белков. Глобула преобразуется в полимерную цепь. Это приводит к повышению вязкости.

- агрегация молекул белка. Потеря гидратных оболочек приводит к слипанию, агрегации молекул белка. Образуются крупные кластеры молекул. Это приводит к повышению вязкости.

2-По мере испарения свободной воды наступает момент, когда свободной воды не остается. Вся вода находится в гидратных оболочках. Это момент полной сольватации. При дальнейшем испарении воды происходит разрушение гидратных оболочек белков и агрегация молекул белка. Уменьшается количество мономеров белков, и увеличивается количество димеров, тримеров и полимеров белков. Затем образуются агрегаты-сферические частицы, содержащие сотни и тысячи молекул белка. Эти кластеры являются квазистатическими. Происходят изменения строения кластеров, часть молекул уходит из кластера, и присоединяются новые молекулы.

3-При дальнейшем испарении воды происходит объединение агрегатов в кластеры. Кластер-это соединение агрегатов в виде пространственной сетки. Это уже структура геля.

4-При дальнейшем испарении воды происходит объединение всех кластеров в единую сеть, заполняющую все пространство раствора. Образуется один большой кластер.

5-В дальнейшем происходит испарение воды из промежутков между ячейки сети.

6-Затем происходит сжатие сети и загустение геля. Сжатие сети вызывается двумя причинами:

- уменьшение объема геля за счет испарения воды.

- уменьшение объема геля за счет сближения молекул (узлов сети) в результате притяжения.

При затвердевании геля происходит постепенное увеличение вязкости геля. Затвердевание не является фазовым переходом.

Формирование внешнего белкового кольца. Если испаряется чистая вода, то форма капли не меняется. Остается постоянным угол смачивания между каплей и поверхностью, и только уменьшается площадь основания и высота. Капля сжимается пропорционально по всем направлениям. При испарении раствора, в котором 10% белков процесс испарения

принципиально изменяется. Внешний диаметр фиксируется и не изменяется (пиннинг-залипание контактной линии). Уменьшается краевой угол и высота капли. С краю высыхающей капли имеется внешняя кольцевая зона, процессы в котором принципиально отличаются от процессов, происходящих в основной массе капли:

-в этой зоне нет перемешивания, это застойная зона.

-в этой зоне концентрация белков и солей резко возрастает по двум причинам:

-с краю капля более тонкая, чем в середине, и при испарении происходит более резкое возрастание концентрации,

-с краю капли поверхность более сильно искривлена, давление насыщенного пара меньше, и испарение происходит более интенсивно.

2.4.2 Образование белкового валика.

При конвекционном перемешивании осуществляется перенос высокомолекулярных молекул белка к краю капли. Происходит образование краевого белкового валика. Высохшая капля принимает форму бублика-внешнее высокое кольцо белков, и внутреннее тонкое кольцо. Высохшая капля представляет собой прозрачную твердую массу-альбумин, в которую включены различные элементы. Форма высушено капли имеет вид бублика-выпуклый вал в краевой зоне, и плоскую поверхность в центральной зоне. Высота высохшей капли в некоторой точке соответствует количеству альбумина в данной точке на момент затвердевания. Если вспомнить, что при равномерном высыхании капли с краю толщина капли меньше, то концентрация альбумина с краю станет выше, чем в центре. Значит, имеется градиент концентрации альбумина-при движении от центра к краю концентрация альбумина растет. Значит, при дегидратации происходит движение альбумина против градиента концентрации.

Рассмотрим некоторые варианты объяснения причины возникновения краевого валика.

1.Наличие соли. Иногда возникновение валика белков объясняют тем, что соли устремляются в центр, и вытесняют белок к краю. Однако если провести контрольный эксперимент, и высушить каплю чистого альбумина-то валик снова будет. Это означает, что валик образуется не из-за соли.

2.Высаливание белка. При дегидратации капли ее край загустевает в первую очередь, а в центральной части возникают конвекционные потоки. В центральной части раствор альбумина поднимается вверх, затем двигается к краю, и по нижней стороне капли возвращается в центр. Получается, что не все молекулы альбумина, которые двигаются к краю, возвращаются к центру. Предположим, что капля испаряется равномерно. В этом случае в краевой зоне за счет меньшей толщины капли концентрация соли возрастает быстрее. Из-за этого в краевой зоне раньше начинается процесс высаливания белков. При испарении воды в капле вначале испаряется свободная, не связанная вода. Затем начинает испаряться слабо связанная вода. Начинают разрушаться гидратные оболочки молекул. При испарении воды ионы соли Na и Cl удерживают гидратную оболочку прочнее, чем молекулы альбумина. Поэтому начинает разрушаться гидратная оболочка молекул альбумина, приносимых конвекционным потоком. Гидратная оболочка экранировала поверхностные заряды альбумина и препятствовала слипанию молекул альбумина. При разрушении гидратной оболочки начинают взаимодействовать поверхностные заряды, и молекулы альбумина слипаются. В результате явления слипания молекул альбумина и возникает эффект движения молекул альбумина к краю капли. В результате в краевой зоне остается валик из сцепленных молекул альбумина. При слипании молекул альбумина происходит фазовый переход и образуется густой гель, который затем затвердевает в виде внешнего кольца. Соли (ионы Na и Cl) вытесняются в центральную часть капли. Другой причиной перемещения солей к центру является диффузия. Коэффициент диффузии соли превышает коэффициент диффузии белка на два порядка.

3.Конвекционная модель. Если бы капля равномерно испарялась по всей поверхности, и если бы не было перемешивания, то после высыхания капля имела бы такую же форму, как исходная капля, только высота была бы в 10 раз меньше (так как масса белка составляет 10% сыворотки, а 90%-вода). Так как образуется краевой валик, то это означает, что при высыхании

происходит перераспределение белка, и часть белка из центральной зоны поступает в краевую зону.

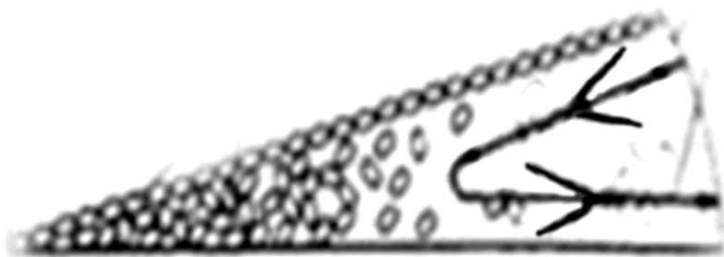


Рис. 2-4-1. Осаждение альбумина с краю высыхающей капли, образование белкового валика.

Эффект образования белкового валика аналогичен эффекту «кофейных колец». При высыхании капли кофе на поверхности стекла с внешней стороны капли образуется темное кольцо. Эффект кофейных колец возникает при высыхании капель коллоидных растворов. При высыхании коллоидных растворов коллоидные частицы концентрируются на внешнем крае капли. Обычно образование колец объясняют тем, что течения выносят коллоидные частицы к краю. Течение возникает из-за того, что с краю толщина маленькая, и вода испаряется быстро. Поэтому возникает течение воды от центра к краю. Это течение и выносит коллоидные частицы к краю.

Однако в высыхающей капле течение не однонаправленное, а быстрое циркулярное течение: в верхней части капли от центра к краю, а в нижней части капли от края к центру. Возникает вопрос, почему молекулы альбумина остаются на краю, а не возвращаются назад вместе с течением? Одна из причин-высаливание, залипание, молекулы альбумина прилепляются к ранее слипшимся молекулам альбумина. Другая причина-перераспределение коллоидных частиц в потоке. При развороте потока в краевой зоне в обратное направление, коллоидные частицы (они тяжелые) по инерции переходят на более удаленные от центра траектории. В конечном итоге через несколько оборотов частицы оседают на краю в зоне застоя.

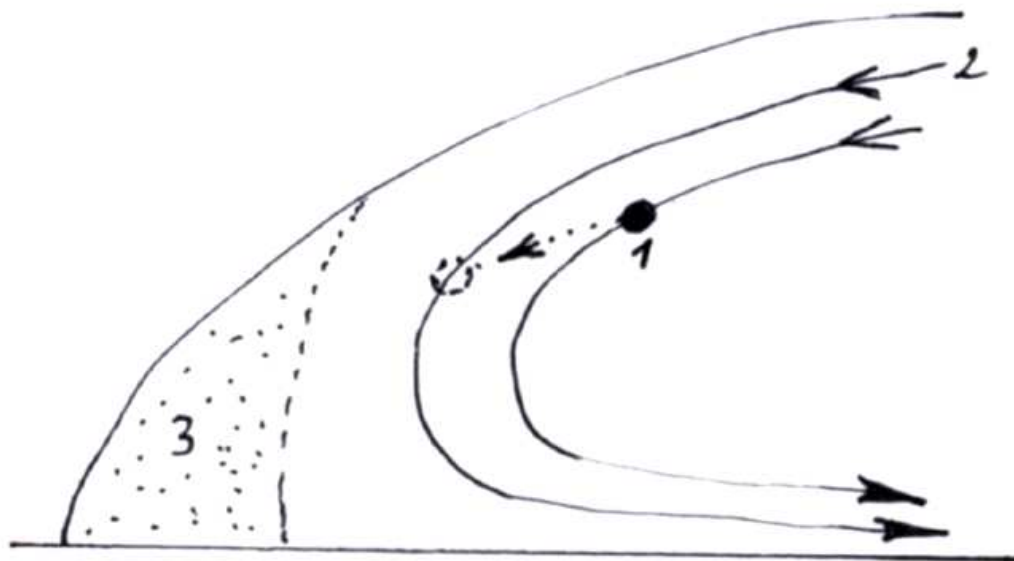


Рис. 2-4-2. Переход коллоидных частиц в зону застоя. 1-коллоидная частица, 2-линии течения, 3-зона застоя.

2.4.3 Образования широких псевдотрещин.

Широкие псевдотрещины-образуются на раннем этапе, когда гель еще недостаточно густой. Псевдотрещины широкие достаточно широкие, и никакими методами освещения не выявляются. Они по структуре близки основной структуре геля. Обнаружить эти псевдотрещины можно только за счет того, что они нарушают структуру капли. Если в каплю добавить эритроциты, то они равномерно заполняют все пространство. При образовании широких псевдотрещин происходит разрыв геля, и эти псевдотрещины становятся видны. В фазе геля происходит фрагментация. В однородном геле формируются отдельные блоки.

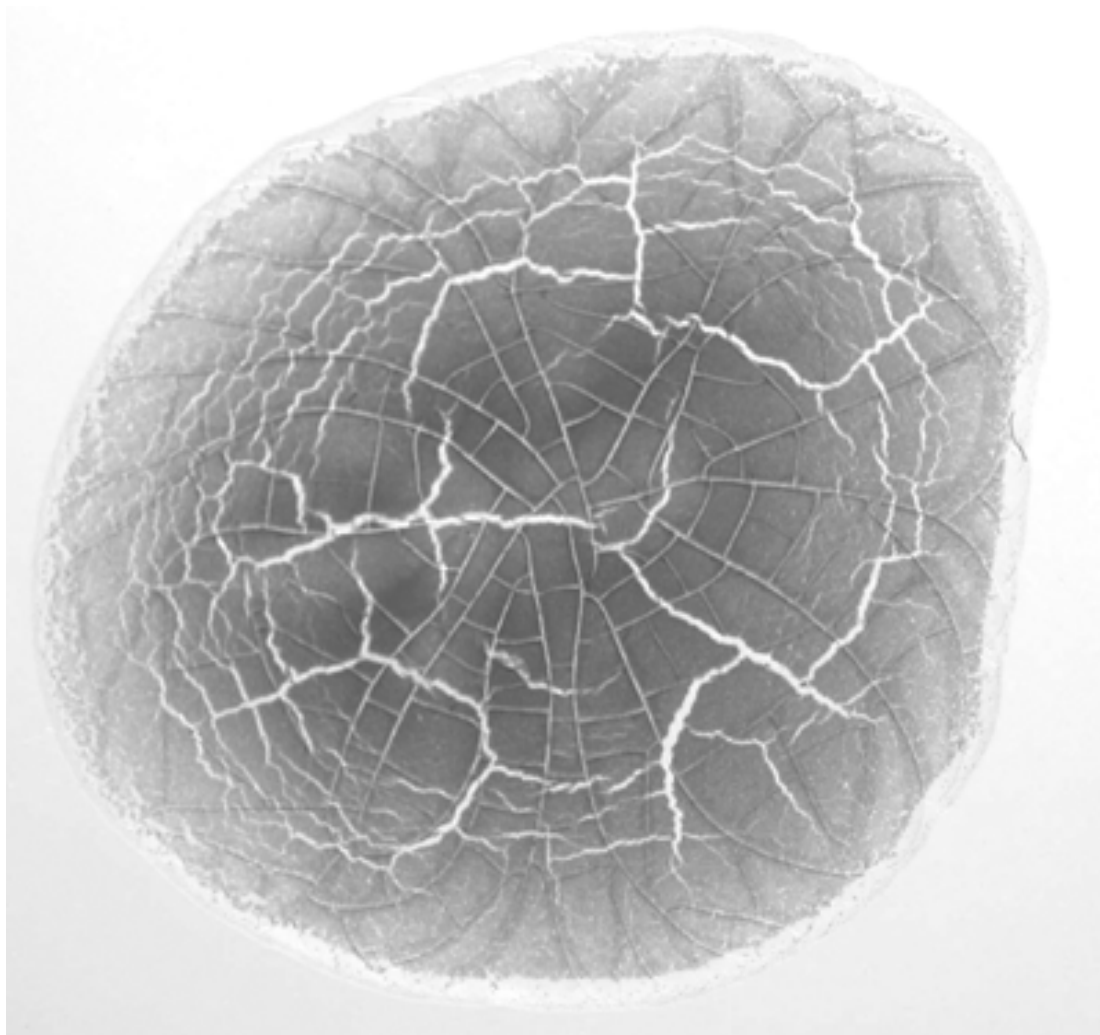


Рис. 2-4-3. Широкие псевдотрещины, фрагментация геля. Поле зрения 8мм.

2.5 от 60 до 70 мин. Движение фронта загустения.

2.5.0 Формирование течений на поверхности капли.

При начале загустения на верхней поверхности капли образуется корочка в виде гибкой пленки. На этой корочке становятся видны различные **течения, которые происходили на поверхности в момент образования пленки.**

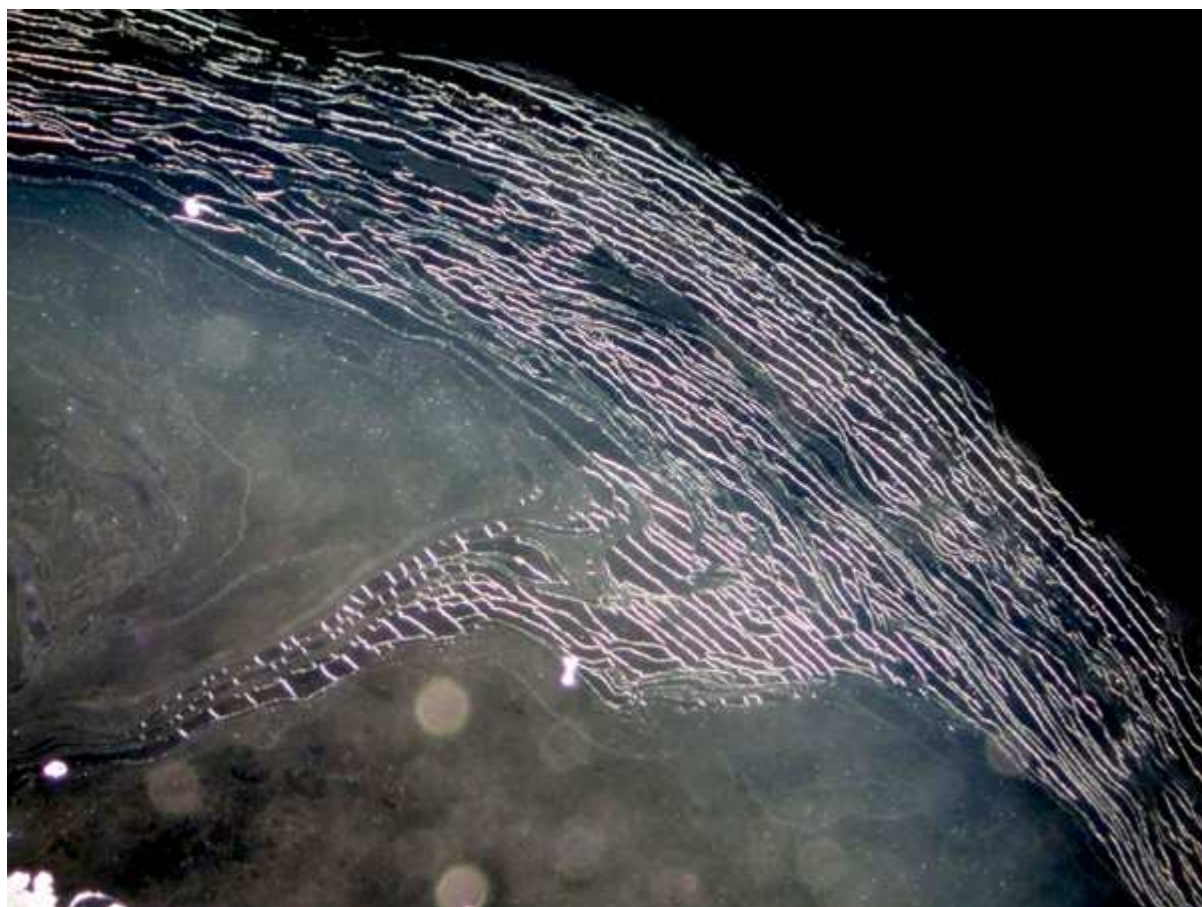
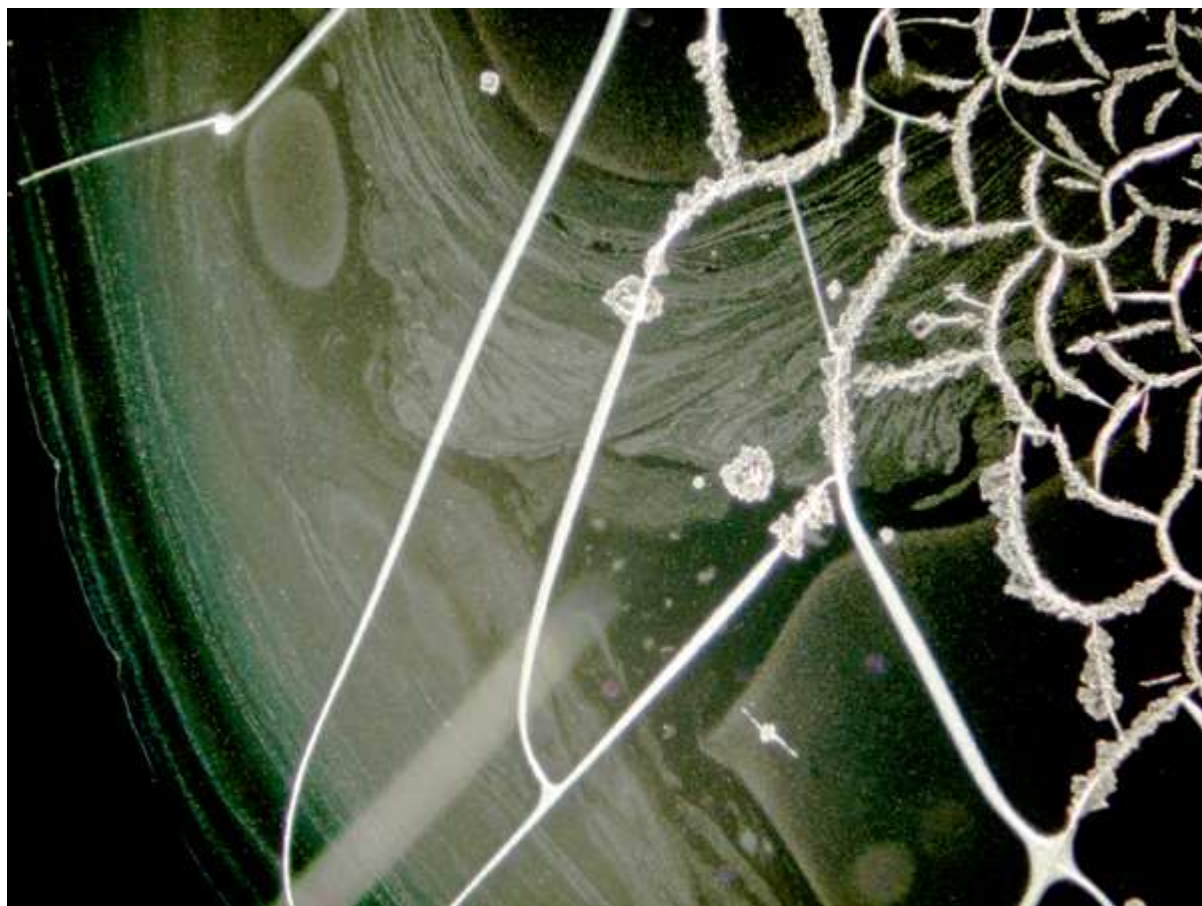


Рис. 2-5-1. Течения на поверхности капли.

2.5.1 Структура фронта загустения.

При наблюдении под углом в отраженном свете видно, что капля начинается уменьшаться в размерах, сжимается к центру и при сжатии остается загустевшее кольцо белков снаружи. Капля состоит из следующих компонент, перечисленных в порядке следования от центра к краю:

-Жидкая фаза-находится в центральной части капли. Со временем жидкая часть капли сжимается. В жидкой капле продолжается конвекционное перемешивание, которое постепенно ослабевает в связи с загустением жидкой фазы.

-Переходная фаза-находится в узкой краевой зоне жидкой капли. Это фаза видна в проходящем свете как коричневое кольцо, а в режиме темного поля как светящееся кольцо молочного цвета. Можно наблюдать движение фронта затвердевания. Перед фронтом, с самого края испаряющейся капли, к центру двигается темно-коричневое кольцо, если наблюдать в проходящем свете. По мере продвижения к центру кольцо расширяется, и постепенно становится кругом. Потом круг пропадает.

-Фаза геля-находится между краем жидкой капли и твердой фазы. Фаза геля имеет вид кольца, которое постепенно сужается к центру. Фаза геля-узкая полоска в виде кольца. Кольцо не вертикальное, а наклонное, сужающееся к низу. Этот фронт можно обнаружить, если через 20 минут после начала высыхания удалить центральную жидкую часть капли с помощью дозатора или фильтровальной бумаги.

-Твердая фаза геля (ксерогель) находится на внешнем крае капли. Границей твердой фазы является граница прозрачности. Твердая фаза постепенно распространяется к центру.

Можно выделить следующие характерные области, перечисленные в порядке следования от центра к краю капли в процессе дегидратации:

1-Жидкая фаза сыворотки.

2-Коричневое кольцо (при темнопольном освещении светящееся кольцо)-область агрегации белков.

3-Тонкое прозрачное кольцо.

4-Граница затвердевания (граница прозрачности), за этой границей видна структура нижней поверхности капли при боковом освещении (видны морщины на дне капли).

5-Граница ступенек.

6-Граница растущих радиальных трещин.

7-Внешняя граница капли.

Необходимо отметить, что структура фронта затвердевания (зависимость состояния сыворотки от радиуса) соответствует динамике затвердевания (зависимость состояния сыворотки от времени). Таким образом, мы можем наблюдать временную развертку процесса затвердевания.

2.5.2 Светящееся кольцо.

В проходящем свете кольцо имеет слабо коричневый цвет. В режиме темнопольного освещения кольцо ярко светится (иногда кольцо имеет голубой цвет). Это говорит о том, что кольцо-это среда с большим количеством мелких частиц. Впереди этого кольца (ближе к центру) находится жидкость. Позади кольца находится гель. И жидкость и гель прозрачны. Светящимся является только узкое кольцо. Это зона агрегирования белка. В жидкой фазе агрегаты белка очень мелкие, поэтому жидкая фаза не светится. В фазе геля все агрегаты слиплись, и образовался прозрачный гель. В переходной зоне происходит фазовый переход-мелкие частицы слипаются в крупные кластеры, а крупные кластеры соединяются в единую сеть. Ближе к центру от кольца с помощью темнопольного освещения можно видеть активное движение светящихся частиц. За кольцом (ближе к краю) никакого движения нет, образовался гель.

Фазовый переход жидкость-гель осуществляется в два этапа.

-На первом этапе происходит агрегация молекул альбумина в макро-кластеры. Вначале увеличивается концентрация димеров (димеры альбумина существуют и в нормальных условиях, но их концентрация мала). Затем происходит увеличение концентрации олигомеров (более двух молекул альбумина, соединенных вместе). Затем происходит образование кластеров альбумина, содержащих сотни и тысячи молекул альбумина. Затем происходит образование микрокоацерватов (капельки, с повышенным содержанием альбумина). Образование микрокоацерватов приводит к возникновению сильного рассеивания в режиме темнопольного освещения. Возникает светящееся кольцо. При движении кольца к центру капли кольцо расширяется. Ширина кольца соответствует величине области сыворотки, в которой значение параметров соответствует определенной величине. При приближении к центру сыворотка становится более однородной. В центральной части (в области плоского центра) все параметры сыворотки однородны. Поэтому при приближении к центру кольцо расширяется, а при достижении центра кольцо сразу заполняет весь центр.

Одним из вариантов объяснения причин возникновения светящегося кольца является зависимость величины светорассеяния раствора белка от pH. При определенном значении pH светорассеяние белка достигает максимума, а при других значениях pH светорассеяние резко падает. Максимальное значение светорассеяния достигается в изоэлектрической точке, в которой пропадает заряд молекулы белка и молекулы белка начинают агрегировать. Для альбумина изоэлектрическая точка pH равно 4.64. В норме pH крови равен 7,4. В жидкой части капли pH повышается за счет возрастания концентрации соли. Имеется градиент концентрации соли и величины pH от края жидкой части капли к центру капли. Светящееся кольцо соответствует той части капли, в которой pH соответствует максимальному светорассеянию. Существует второй вариант объяснения светящегося кольца. Светящееся кольцо-это микропузырьки воздуха, которые образовались в момент фазового перехода, а затем схлопнулись. Образование микропузырьков могло происходить из-за выделения тепла при фазовом переходе жидкость-гель.

-На втором этапе макро-кластеры объединяются в единую трехмерную сеть-гель. Гель становится прозрачным.

Фазовый переход происходит при переходе молекулы белка из глобулярного в денатурированное (распутанное) состояние.

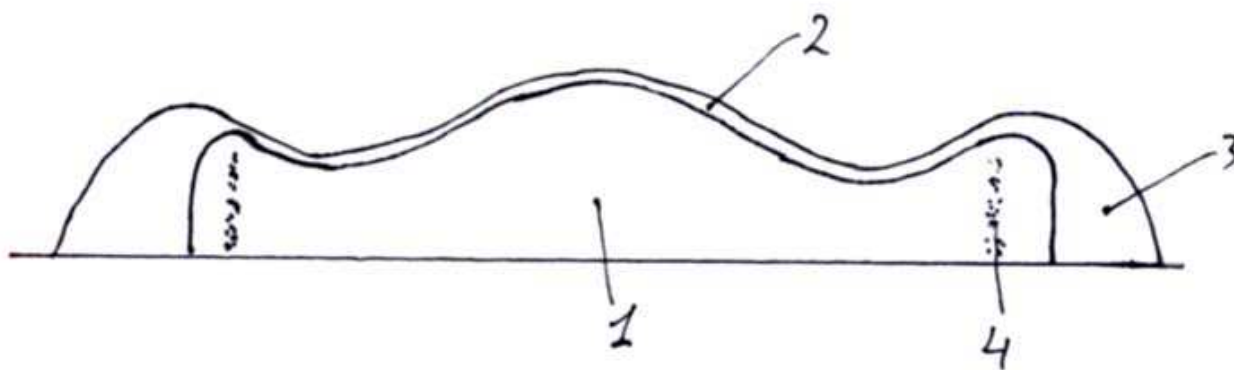


Рис. 2-5-2. Расположение различных фаз в высыхающей капле сыворотки.

1-жидкая фаза,

2-тонкая пленка толщиной 0,1мм,

3-фаза геля,

4-зона фазового перехода, светящееся кольцо.

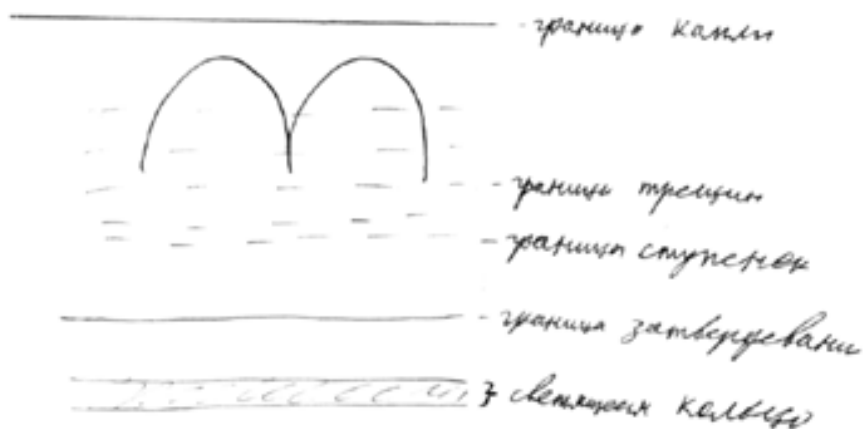


Рис. 2-5-3. Границы различных фаз в высыхающей капле сыворотки.

Постепенно по мере уменьшения жидкой фазы капли большая часть белков остается на стекле. Таким образом, получаем, что когда от капли осталась небольшая часть в центре, то она состоит из очень концентрированного раствора соли. Если бы в капле не происходило внутренних процессов, связанных с перераспределением белка, то высохший слой белка повторял бы исходную форму капли, уменьшенную по высоте в десять раз. За счет постоянного испарения воды происходит постоянное повышение концентрации, постоянное загустение. При загустении образуются различные кольцевые структуры, связанные со скачкообразным перемещением фронта. Необходимо отметить, что все основные процессы, происходящие в дегидратируемой капле, происходят скачкообразно и периодически, а не плавно и непрерывно (процесс движения фронта загустения, процесс роста трещин).

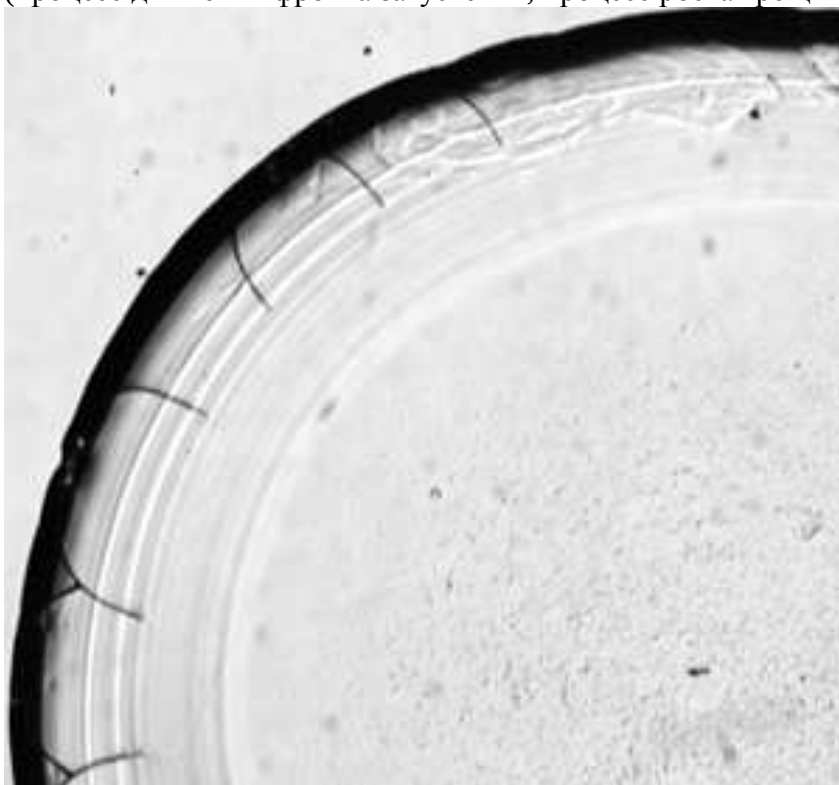


Рис. 2-5-4. Скачкообразное движение фронта фазового перехода (кольцевые структуры в краевой зоне). Фронт затвердевания проходит по концам трещин. Боковое освещение. Поле зрения 4мм. 25 минут после начала дегидратации.

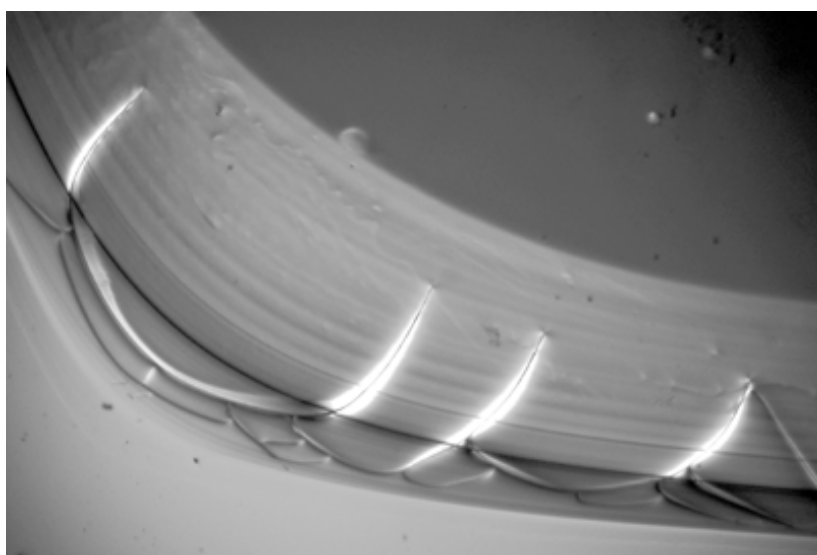
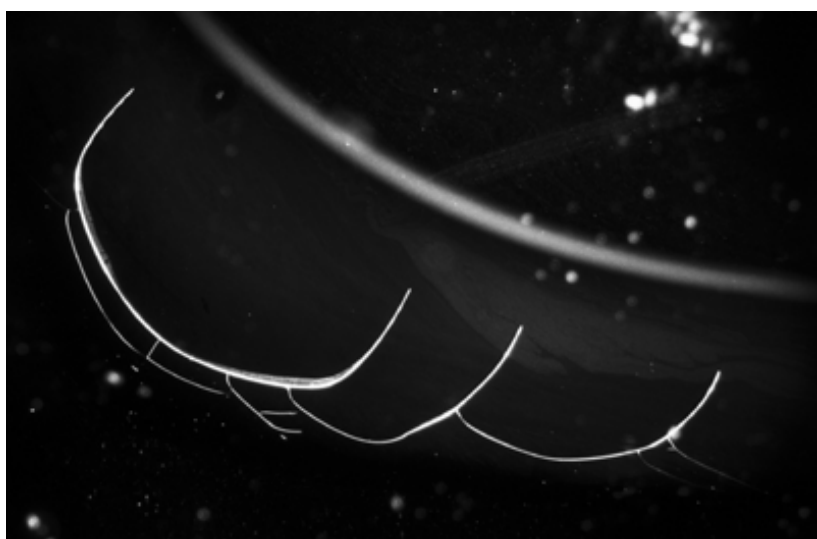
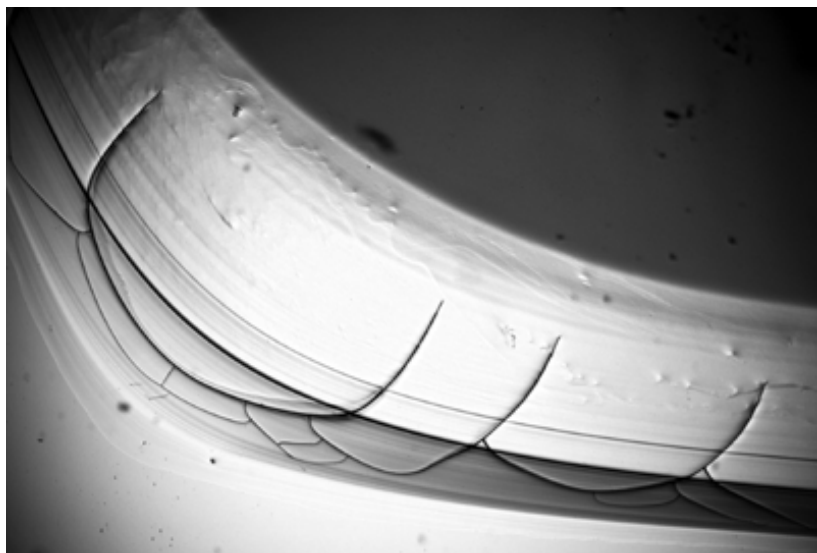


Рис. 2-5-5. Движение фронта фазового перехода. Поле зрения 2мм.

1-Режим светлопольного освещения. Видна резкая граница фазового перехода.

2-Режим темнопольного освещения. В виде белого кольца видна зона агрегирования.

3-Поляризационное освещение. В виде ярких полос видны области высокого напряжения вдоль трещин.

2.5.3. Образование микротрещин на поверхности капли.

Переход альбумина в твердую фазу начинается на поверхности на внешнем крае капли. Сверху капли начинает образовываться затвердевшая корочка. При этом в центральной части капли находится жидкая фаза.

На краю капли образуются тонкие параллельные структуры. Можно предположить два способа образования таких структур:

- микротрещины,
- микроступеньки.

Наиболее вероятным кажется предположение, что это микротрещины.

Вслед за фронтом загустения на верхней поверхности капли образуются рельефные ступеньки, параллельные фронту. Эти ступеньки можно наблюдать при большом увеличении на внешней гладкой поверхности капли в виде тонких линий. Эти линии хорошо видны при темнопольном освещении. Расстояние между соседними ступеньками составляет примерно 0,03мм. На краю капли ступеньки расположены часто. Чем дальше от края, тем больше расстояние между ступеньками. Величина шага пропорциональна скорости испарения жидкой фазы. Чем быстрее испарение, тем больше величина шага.

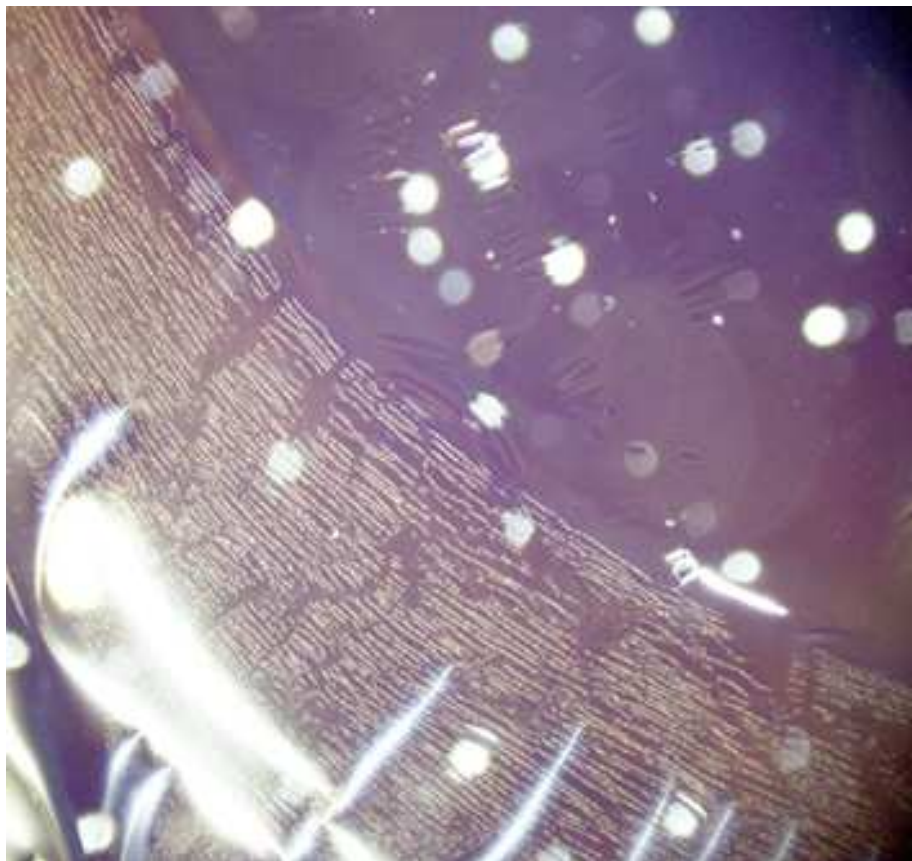


Рис. 2-5-6. Ступеньки на верхней поверхности капли. Темнопольное освещение. Поле зрения 1,5мм.

Особенности структуры ступенек:

- ступеньки имеют вид слабо изломанных линий,
- ступеньки возникают из маленького отрезка, который растет в одном из направлений,
- ступеньки образуются только в краевой зоне капли, до вершины гребня белкового валика,
- в начале ступеньки расположены часто, ближе к гребню ступеньки расположены редко,
- ступеньки не заполняют всю поверхность равномерно,
- имеются участки поверхности без ступенек, эти участки имеют форму течений,

-рост ступенек-это результат отступления границы жидкой фазы.

Ступеньки являются результатом кристаллизации альбумина. Затвердевание альбумина происходит не в виде аморфного твердого тела без структуры (стеклование), а в виде слоев. В некоторых местах кристаллизации альбумина не происходит, и поверхность является ровной, без ступенек.

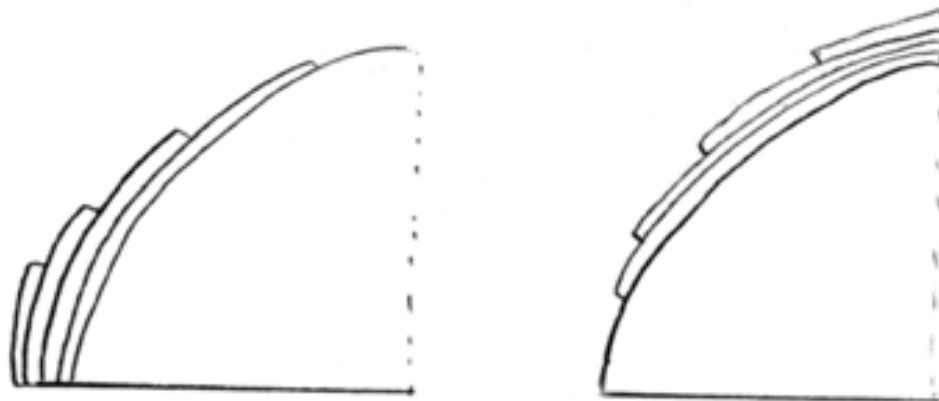


Рис. 2-5-7. Два варианта структуры ступенек на поверхности капли в краевой зоне.

Можно предположить две модели кристаллизации.

1-кристаллизация шарами (глобулами). Кристаллическая структура образуется в результате укладки слоями шаров (глобулярных молекул альбумина).

2-кристаллизация диполями. Молекулы альбумина имеют вытянутую форму эллипса. Диполи при слипании образуют плоский слой, который служит основой кристалла.

3-кристаллизация слоями, слоистое (пленочное) строение кристалла.

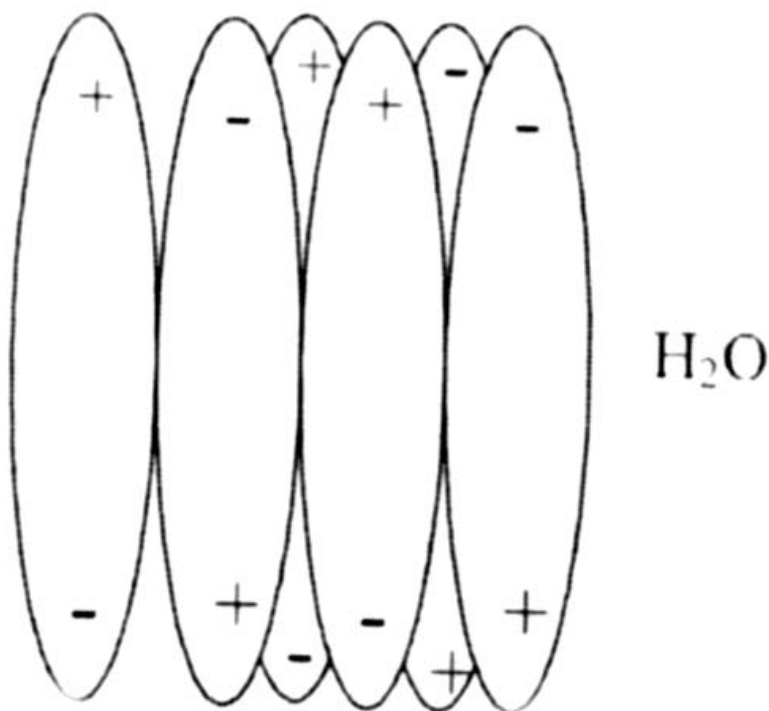


Рис. 2-5-8. Кластер диполей альбумина, из которых образуется кристаллическая структура.

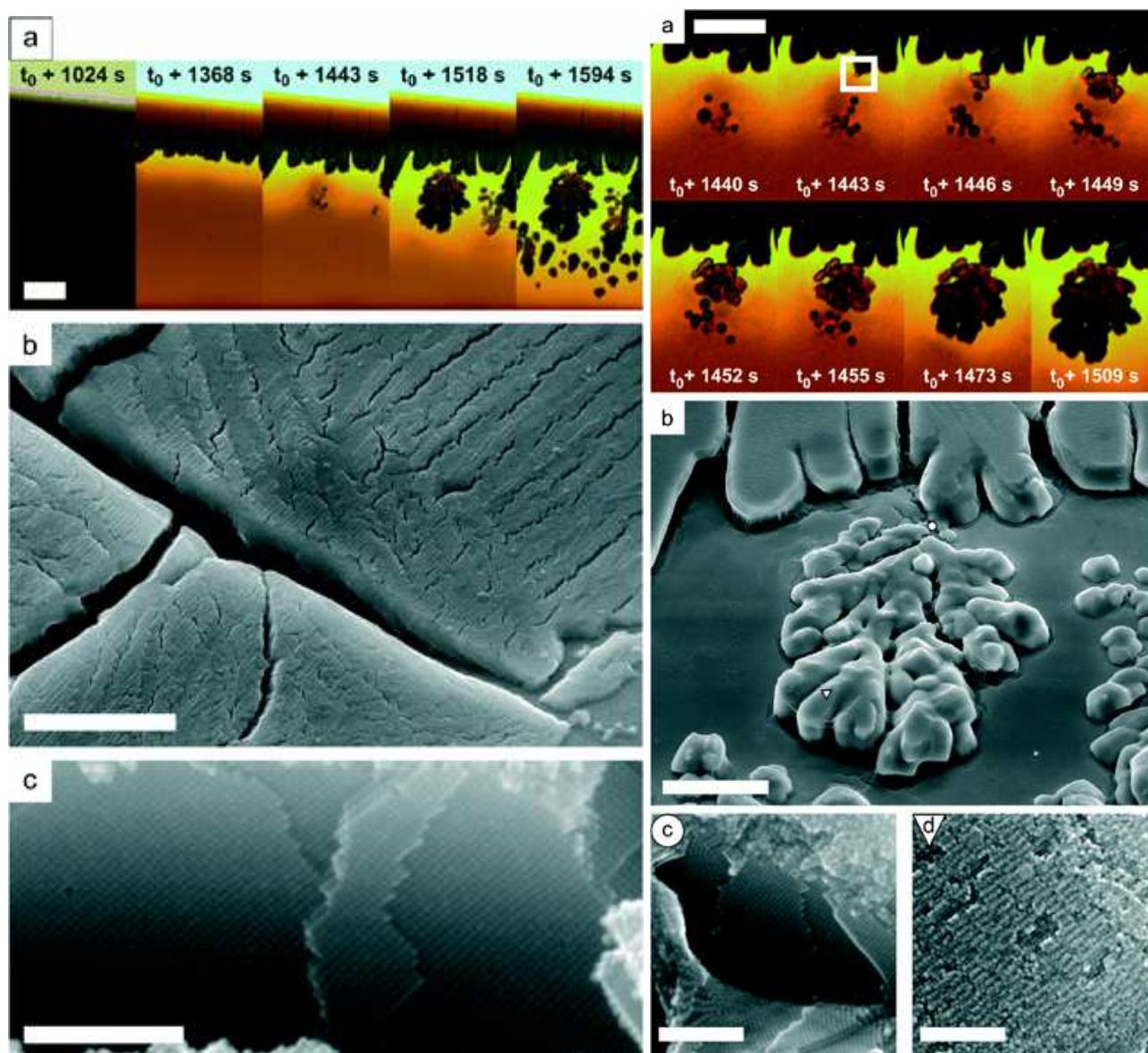


Рис. 2-5-9. Динамика испарения капли и образование ступенек. Поле зрения 20мкм, 3 мкм, 200нм.

2.6 от 60 до 80 мин. Движение фронта радиальных трещин (трещины тип 1).

Гель на краю капли начинает загустевать. С краев капли начинают образовываться трещины. В виде ромашки трещины развиваются к центру. Граница трещин-это граница твердой фазы. Через некоторое время начинают образовываться поперечные трещины, которые создают ограниченные ячейки. Основная причина образования трещин-напряжения в дегидратируемом геле. Если капля достаточно тонкая-трещины не образуются. Растрескивание при высыхании связано с уменьшением объема загустевшего геля при дополнительном испарении связанной воды. При уменьшении объема возникают напряжения, которые снимаются путем образования трещин. Образование трещины в веществе происходит при выполнении двух условий:

- 1-среда достигла определенной степени твердости,
- 2-величина приложенной силы (напряжение) превышает некоторое пороговое значение.

В жидкости и в студне растрескивания не происходит, так как в этих средах не возникает напряжения. При прикладывании силы жидкость и студень перемешивается. Таким образом получается, что граница растущих трещин-это область, в которой твердость геля (хрупкость) достигла определенного критического значения.

При образовании трещины высохшая капля растрескивается по вертикали от верхней поверхности до нижней поверхности, до предметного стекла. Две образовавшиеся границы ячеек расходятся в стороны. При этом возникает четыре угла, по два угла на каждой границе трещины. В этих углах остаются остаточные напряжения, которые можно увидеть в поляризованном свете в виде ярких полос, проходящих вдоль трещин.

2.6.1 Зарождение аркообразных трещин.

Капля начинает затвердевать с внешнего края. На внешнем крае капли образуется тонкое прозрачное кольцо, свойства которого сильно отличаются от свойств основной массы сыворотки. Это кольцо быстро затвердевает. Остальная масса сыворотки в виде геля уменьшается в объеме за счет испарения воды. Так как тонкое внешнее кольцо прикреплено к подложке, то оно не может сдвинуться к центру. Возникает напряжение, которое стремится оторвать внешнее кольцо от загустевающей сыворотки. Когда это напряжение превышает прочность геля, происходит отрыв внешнего кольца от геля, возникает кольцевая трещина, которая параллельна внешнему краю капли. Отметим, что зарождение кольцевой трещины происходит только при достаточно быстром затвердевании геля. При медленном затвердевании успевает пройти процесс релаксации и кольцевая трещина не образуется. На пленке геля в виде клиновидной полуплоскости трещины образуются параллельно границе, а не перпендикулярно границе.

Зарождение аркообразной трещин происходит путем образования маленькой трещины на некоторой неоднородности (включение, частицы). Затем трещина начинает скачками увеличиваться в длину в обе стороны. При росте трещины ее направление роста изменяется. Дальнейшее направление роста трещины определяется полем напряжений. Трещина растет по нормали к напряжениям, чтобы максимально снять напряжения. При первичном образовании трещины сбрасываются радиальные напряжения, но остаются тангенциальные напряжения. Эти напряжения вызывают поворот трещин к центру. Так как напряжения в геле направлены по касательной к радиусу капли (разрывающие напряжения из-за сжатия геля), то трещина при росте начинает разворачиваться по направлению к центру. Трещины загибаются, и в дальнейшем растут перпендикулярной фронту загустения по направлению к центру капли.

Наличие и величина аркообразных трещин является важным диагностическим признаком. Если сыворотка долго хранится, то аркообразные трещины уменьшаются в размерах. При раскапывании на бумаге аркообразные трещины совсем пропадают, и радиальные трещины начинаются от самого края капли.

2.6.2 Радиальные трещины.

Процесс продвижения трещин к центру является скачкообразным. Несколько минут паузы, затем все трещины удлиняются на 0,1мм. Всего примерно 20 скачков. На конце растущей трещины постепенно возрастает напряжение. Это можно наблюдать в поляризованном свете как яркий крест с центром в вершине трещины. Яркость креста возрастает. При достижении напряжения определенной величины происходит скачкообразный рост трещины на некоторую величину. Величина скачка определяется тем количеством геля, который загустел в направлении роста трещины. Если впереди была тонкая ровная поверхность, которая одновременно вся загустела, то скачек будет через всю загустевшую поверхность. Рост трещины продолжается до тех пор, пока она не упрется в другую трещину. Если капля тонкая, рост трещины останавливается там, где толщина капли меньше критической толщины, достаточной для создания необходимого напряжения.

По концам растущих трещин проходит граница твердой фазы геля. Через концы растущих к центру трещин проходит фронт затвердевания. Через некоторое время начинают образовываться поперечные трещины, которые создают ограниченные ячейки. Процесс образования поперечных трещин так же идет от края капли к центру. Поперечные трещины возникают в результате усыхания секторов и возрастания радиальных напряжений.

Образование радиальных трещин завершается их смыканием в центре капли. Рост трещин может остановиться, и не будет смыкания. Это происходит в т.случае, если в центральной части капли при высыхании останется очень тонкий слой геля, и в нем не создается достаточно напряжения для образования трещины.

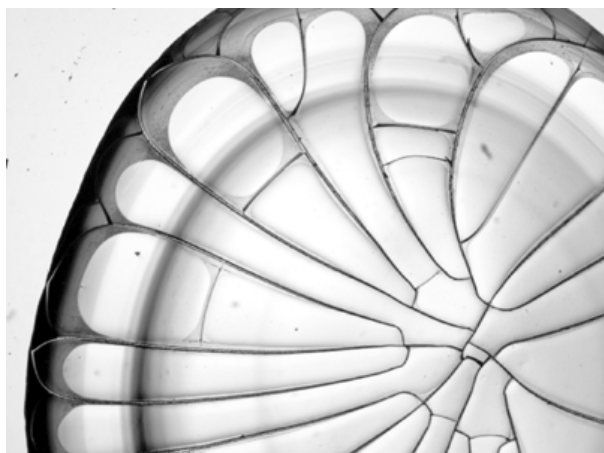
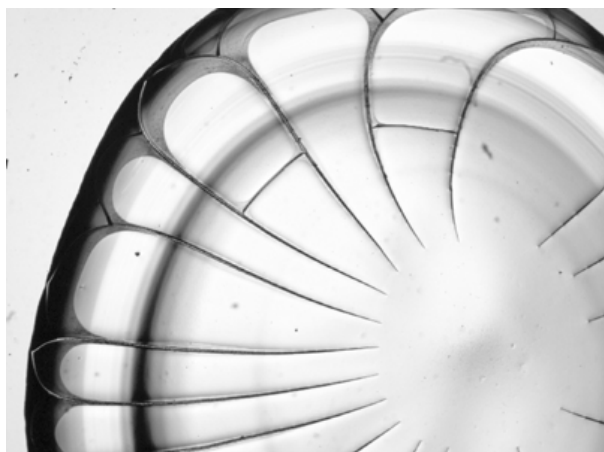


Рис. 2-6-1. Движение фронта трещин. Поле зрения 4мм. Снимки сделаны через 20, 30 и 32 мин после начала дегидратации.

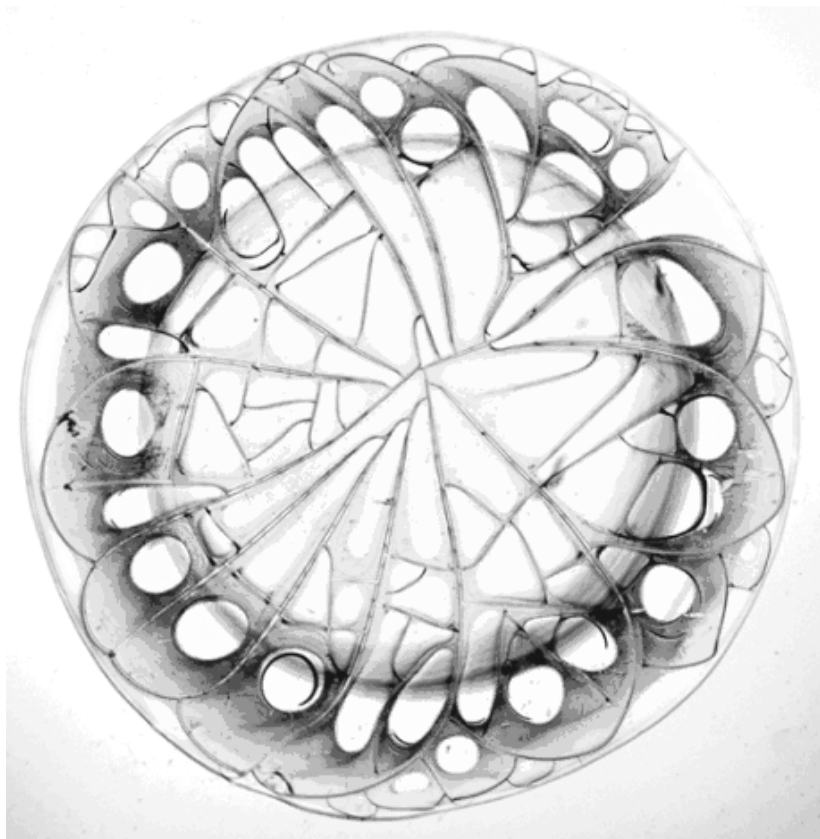


Рис. 2-6-2. Образование трещин в виде ромашки. Поле зрения 8мм.

Количество и вид трещин зависит от состава и формы капли, а так же от условий кристаллизации:

1-Трещины радиальные, частые, имеют вид ромашки. Образуются когда капля толстая (большой угол смачивания), если кристаллизация быстрая (высокая температура, низкая влажность).

2-Трещины радиальные, редкие, имеют вид ромашки. Они образуются когда капля имеет среднюю толщину.

3-Трещины произвольные, редкие, нет ромашки. Образуются когда капля тонкая (размазанная, малый угол смачивания), если кристаллизация медленная (низкая температура, высокая влажность).

Вид трещин в высыхающей жидкости зависит от соотношения скоростей двух процессов: скорость испарения воды и скорость образования геля. Возможны следующие случаи:

1-Скорость испарения больше скорости гелеобразования-образуется ромашка.

2-Скорость испарения и скорость гелеобразования сравнимы-образуется произвольная сеть трещин.

3-Скорость испарения меньше скорости гелеобразования-образуются концентрические трещины. При большой скорости гелеобразования происходит образование пленки геля на верхней поверхности капли. Вода из внутренней части капли испаряется вверх через верхнюю пленку геля. Объем внутренней части капли уменьшается и верхняя пленка геля проседает вниз. При достижении некоторой плотности верхней пленки геля начинается образование концентрических трещин.

Скорость гелеобразования пропорциональна концентрации соли. Чем больше концентрация соли-тем быстрее происходит гелеобразование.

Скорость испарения определяется в основном температурой и площадью поверхности. Поэтому при проведении дегидратации в стандартных условиях скорость испарения практически постоянна для различных образцов. Таким образом, получаем, что формирование

структуры трещин в виде ромашки определяется в основном скоростью процесса гелеобразования. Скорость гелеобразования альбумина определяется количеством молекул альбумина, состояние которых отличается от нормы. Нарушение нормального состояния молекулы альбумина возникает при связывании их с некоторыми лигандами, при нарушении четвертичной или третичной структуры (например, под действием оксидантов). При нарушении состояния молекулы альбумина нарушается гидратная оболочка, и повышается способность молекул альбумина к агрегации. Это приводит к повышению скорости гелеобразования. Таким образом, получаем следующий диагностический критерий-степень отклонения структуры трещин от ромашки пропорциональна количеству молекул альбумина с нарушенной конфигурацией.

1996-Pauchard Ludvig. Parisse F. Allain C. France

Laboratoire FAST, Bat. 502, Campus Universitaire, 91405 Orsay Cedex, France

1996-Parisse F. Allain C. (Cedex, France) Shape Changes of Colloidal Suspension Droplets during Drying. *Journal de Physique II France*, 1996, vol.6(7), p.1111-1119.+

1997-Parisse F. Allain C. Drying of Colloidal Suspension Droplets: Experimental Study and Profile Renormalization. *Lanfmur*. 1997. 13. p.3598-3602.+

1999-Pauchard L. Parisse F. Allain C. Influence of salt content on crack patterns formed through colloidal suspension desiccation. *Physical Review E*. 1999. Vol. 59. No.3. P.3737-3740.+

2003-Pauchard L. Allain C. Buckling instability induced by polymer solution drying. *Europhys. Lett.* 2003. 62(6), p.897-903.+

2003-Pauchard L. Allain C. Mechanical instability induced by complex liquid desiccation. *C. R. Physique*. 2003. 4 p.231-239.

2003-Pauchard L. Allain C. Stable and unstable surface evolution during the drying of a polymer solution drop. *Physical Review E*. 2003. vol. 68, p.052801.+

2004-L. Pauchard, Invagination during the collapse of an inhomogeneous spheroidal shell/ Y. Couder *Europhys. Lett.* 2004. 66 (5), p.667-673.+

2005-S. Bohn, L. Pauchard, and Y. Couder. Hierarchical crack pattern as formed by successive domain divisions. *Phys. Rev. E*, 71: p.046214, 2005.

2006-Pauchard L. Patterns caused by buckle-driven delamination in desiccated colloidal gels *Europhysics Letters*. 2006. Vol. 74(1). P.188.

2009-Pauchard, L. Abou, B. & Sekimoto, K. 2009 Influence of mechanical properties of nanoparticles on macrocrack formation. *Langmuir*. 2009. 25, p.6672-6677.

2011-V. Lazarus and L. Pauchard. From craquelures to spiral crack patterns: influence of layer thickness on the crack patterns induced by desiccation. *Soft Matter*, 2011. 7: p.2552.

2012-F. Boulogne, L. Pauchard, and F. Giorgiutti-Dauphin'e. Effect of a non-volatile cosolvent on crack patterns induced by desiccation of a colloidal gel. *Soft Matter*, 2012. 8: p.8505-8510.

2013-F. Giorgiutti-Dauphin'e and L. Pauchard. Direct observation of concentration profiles induced by drying of a 2D colloidal dispersion drop. *Journal of Colloid and Interface Science* 395, 2013. p.263-268.+

2013-F. Boulogne, F. Giorgiutti-Dauphin'e and L. Pauchard. The buckling and invagination process during consolidation of colloidal droplets. *Soft Matter*. 2013. 9, p.483-485.+

2013-F.Boulogne, F. G. Dauphine. L. Pauchard. How to reduce the crack density in drying colloidal material. 2013.+

2014- F. Giorgiutti-Dauphin'e and L. Pauchard. Elapsed time for crack formation during drying. *Eur. Phys. J. E* (2014) 37: p.39.

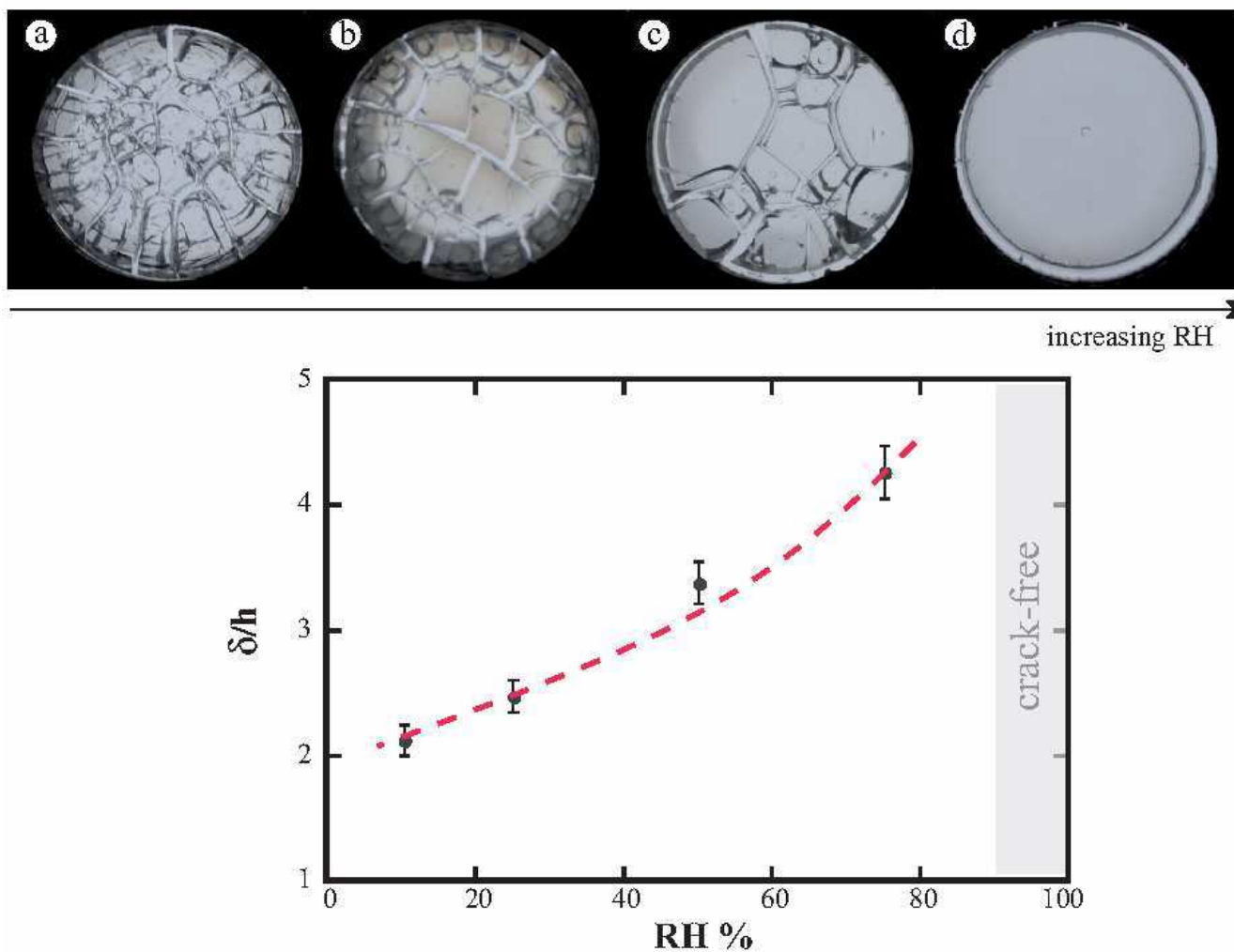


Рис. 2-6-3. Зависимость количества трещин от относительной влажности.

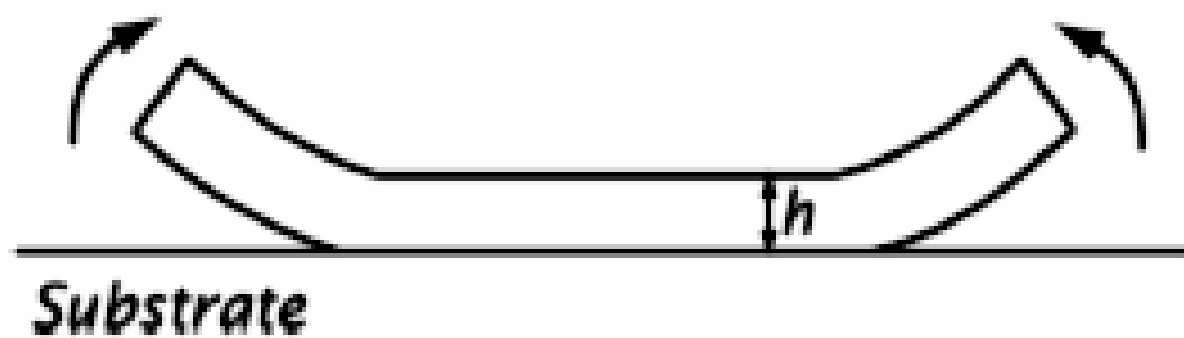


Рис. 2-6-4. Причина образования трещин.

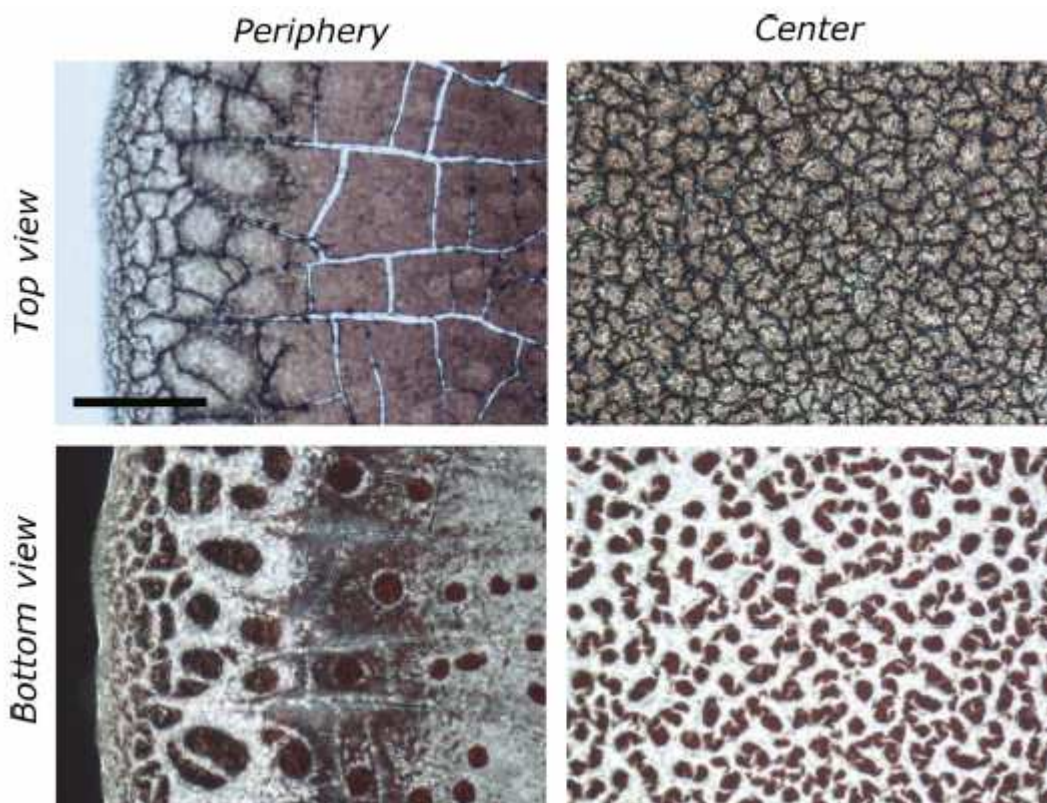


Рис. 2-6-5. Вид сверху и снизу на высохшую каплю. Видно, что крепление растрескавшихся секторов имеется только в центральной части.

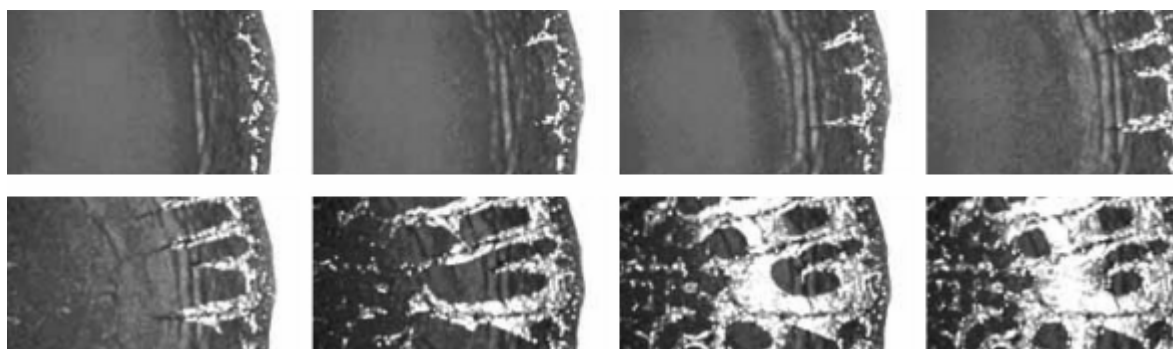


Рис. 2-6-6. Динамика растрескивания. Вид снизу. Темные области это зоны контакта с поверхностью. Светлые области это зоны отслоения, нарушения контакта с поверхностью.

2001-Annarelli C. Fornazero J. Bert J. Colombania J. Crack patterns in drying protein solution drops. Eur. Phys. J. E 2001. 5, p.599-603.

2005-M.S Tirumkudulu and W.B Russel. Cracking in drying latex films. Langmuir, 21: p.4938-4948, 2005.

2009-P. Xu, A. S. Mujumdar, and B. Yu. Drying-induced cracks in thin film fabricated from colloidal dispersions. Drying Technology: An International Journal, 2009. 27: p.636-652.

2013- W. Bou Zeid, J. Vicente, D. Brutin (France) Influence of evaporation rate on cracks' formation of a drying drop of whole blood. Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects. 2013. 432. p.139-146.+

-Ding Lan, Yuren Wang (Beijin, China) Cracks formation in the vertical co-depositing colloidal crystal.+

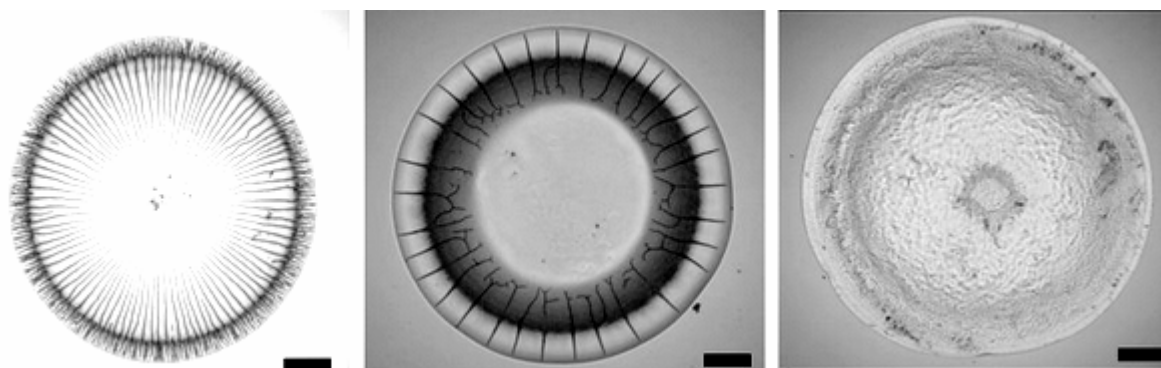


Рис. 2-6-7. Зависимость количества трещин от концентрации суфрактанта (1-нет суфракитанта, 2-0,5% суфрактанта, 3-3% суфрактанта).

2.6.3 Количественные методы оценки структуры радиальных трещин.

1-Степень раскрытия трещин. Со временем трещины расходятся (расширяются) из-за усыхания ячеек. Расстояние между краями трещины увеличивается со временем, а потом расширение прекращается. Величина расхождения зависит от величины ячеек, чем больше ширина ячейки, тем больше величина усыхания ячейки, тем больше в сторону данной ячейки расходится трещина. Величина усыхания пропорциональна количеству воды, находящейся в ячейках в начале растрескивания. Как правило, это вода, находящаяся в гидратных оболочках молекул белка, и в ячейках гелевой структуры.

При высыхании происходит расхождение не только верхних границ ячеек, но и расхождение нижних границ ячеек. Если высушить каплю на тонком покровном стекле, то можно произвести наблюдение нижней поверхности ячейки (перевернув покровное стекло обратной стороной). При этом будет замечен валик, расположенный по центру разошедшейся трещины. С двух сторон от валика расположены края соседних ячеек.

Можно выделить две причины, влияющие на ширину трещин: гидрофильность белков, и размер ячеек (число ячеек).

Гидрофильность белков. Величина усыхания ячейки пропорциональна количеству воды, находящейся в ячейке при ее образовании (при первичном растрескивании). Чем больше исходной воды-тем больше усыхание. Количество оставшейся воды пропорционально количеству белков с сильной гидрофобностью (большой молекулярной массы-глобулины). У белков с сильной гидрофобностью имеется большая сольватная оболочка, и они удерживают больше воды в момент растрескивания геля. Но увеличение ширины трещин происходит на длительном заключительном этапе окончательного обезвоживания ячеек. Получается, что ширина трещин пропорциональна количеству белков с большой молекулярной массой.

Размер ячеек. Расхождение трещины пропорционально линейному размеру ячеек. Чем крупнее ячейки, тем сильнее расхождение трещин. Если ячеек много, то ячейки маленькие, и трещины не широкие. Если ячеек мало (всего несколько больших ячеек), то площадь ячеек большая, и трещины образуются широкие.

2-Суммарная длина (площадь) трещин. Суммарная площадь раскрытия трещин может служить одним из показателей структуры высохшей капли. Измерить суммарную площадь трещин можно следующим образом. На высохшую каплю наносится темное густое вещество, например, мелкодисперсный порошок углерода, гуталин. Избыток вещества стирается. Вещество остается только в трещинах. При регистрации изображения в проходящем свете все

трещины будут видны в виде темных полос. При обработке изображения подсчитывается площадь черной компоненты на изображении. Теоретически, суммарная площадь трещин постоянна (если объем капли постоянный), и не зависит от того, что трещин много, но узкие, или мало, но широкие. Суммарная площадь трещин определяется процентным содержанием воды в ячейках в состоянии геля на стадии образования трещин. В общем случае суммарная площадь трещин пропорциональна площади капли.

3-Соотношение радиальных и кольцевых трещин. По типу ориентации крупные трещины можно разбить на два типа-радиальные и кольцевые. Так как трещины имеют переменную ориентацию, то каждую крупную трещину можно разбить на участки двух типов-радиальные и кольцевые.

-Участок трещины называется радиальным, если для каждой точки этого участка угол между касательной к трещине и радиус-вектором, проведенным из центра капли к этой точке, имеет величину от -45 до +45 градусов.

-Участок трещины называется кольцевым, если для каждой точки этого участка угол между касательной к трещине и радиус-вектором, проведенным из центра капли к этой точке, имеет величину от +45 до +135 градусов, или от -45 до -135 градусов.

Таким образом, все трещины можно разбить на два типа-радиальные и кольцевые участки. Можно построить зависимость от расстояния до центра капли количества радиальных и кольцевых участков трещин. При малых значениях радиуса преобладают радиальные трещины, при больших значениях радиуса преобладают кольцевые трещины. Радиус, при котором количество радиальных и кольцевых трещин совпадает называется радиусом изменения ориентации трещин.

Таким образом, можно получить следующие количественные параметры для трещин:

-общая (суммарная) длина всех трещин L_s ,

-суммарная длина радиальных L_r и кольцевых L_c участков трещин, $L_r + L_c = L_s$.

Более детальная информация об ориентации трещин получается из распределения трещин по углу ориентации. Трещины разбиваются на короткие отрезки. Строится диаграмма распределения трещин по углам. Угол отсчитывается между направлением трещины, и направлением радиуса из центра капли к центру данного отрезка трещины. Весь диапазон углов от 0 до 180 градусов разбивается на поддиапазоны по 10 градусов. Если угол находится в некотором поддиапазоне, то соответствующий счетчик увеличивается на единицу.

Признак наличия радиальных трещин (структура ромашки) является признаком нормы. Однако оказывается, что при большом объеме капли практически сыворотка крови любого пациента имеет вид ромашки. На самом деле имеет большое значение более тонкий признак-при каком объеме капли (при каком радиусе капли, радиусе радиальности) высохшая капля имеет структуру ромашки. Чем меньше радиус радиальности, тем лучше и устойчивее состояние пациента.

4-Расстояние между радиальными трещинами, число лепестков, число радиальных трещин. Еще одним количественным параметром является количество секторов, когда структура трещин имеет вид ромашки. При образовании секторов основную роль играют локальные свойства и процессы, происходящие в высыхающей капле. Таким образом, основной информативный параметр-абсолютное значение ширины сектора в микрометрах. Так как сектор имеет в начале дугобразную форму, а затем сужается к центру, то под шириной сектора понимается максимальная ширина, которая расположена при переходе дугобразной формы в сужающуюся форму. Чем больший радиус имеет исходная капля, тем большее количество секторов будет образовываться. Если разные капли имеют одинаковый радиус, то можно не измерять ширину секторов, а подсчитать общее количество секторов. Средняя ширина сектора обратно пропорциональна количеству секторов:

$N_s = C \cdot R / H_s$ - где N_s - количество секторов, C - некоторая константа, R - радиус капли, H_s - средняя ширина сектора. Количество секторов служит параметром, характеризующим вязкость капли в момент загустения.

Рассмотрим случай высыхания жидкости с границей в виде линии (вода занимает полуплоскость на стекле). При высыхании трещины будут идти в виде ромашки перпендикулярно границе (радиально сходящимися на бесконечности). При увеличении объема капли увеличивается радиус капли, и граница приближается по свойствам к полуплоскости, и трещины становятся все более радиальными. Расстояние между двумя трещинами (шаг растрескивания) определяется скоростью испарения воды, скоростью затвердевания геля, шириной фронта затвердевания - расстоянием между границами твердой и жидкой фазы. Чем больше градиент, тем короче фронт - тем меньше расстояние между радиальными трещинами.

5-Количество тройных трещин. Тройные трещины, в которых из одной точки расходятся три трещины, образуют отдельный класс. Причина их образования, как и для других трещин - остаточные напряжения. Но особенность образования тройных трещин состоит в том, что у них имеется центр, который служит начальной точкой трещинообразования. Это может происходить в т.случае, что в геле возникает центр кристаллообразования. В этом центре начинается рост кристалла. Растущий кристалл создает дополнительное кольцевое напряжение, которое и вызывает образование расходящихся трещин. Количество лучей (три или более) определяется уже свойствами геля. Чем прочнее гель - тем больше лучей будет исходить из центра. Обычно тройные трещины образуются на ранних стадиях дегидратации, когда гель не затвердел окончательно. Поэтому обычно образуется три расходящихся трещины.

2.7 от 65 до 90 мин. Движение фронта выпадения белков.

Через некоторое время после того, как у края капли образовались дугообразные трещины, и начали распространяться к центру, возникает фронт выпадения белков. Белки в виде темного осадка начинают выпадать от внутренней части дуговых трещин и фронт распространяется к центру капли в секторах. При образовании поперечных трещин и ячеек, фронт выпадения белков продолжает распространяться от трещин (краев ячеек) к центру ячеек. Если ячеек не образуется, то фронт распространяется по секторам к центру капли. Насыщенность осаждающихся белков не является постоянной. Вначале осадок имеет слабо коричневый цвет, затем осадок темнеет. В некоторых случаях после достижения максимального насыщения осадок опять начинает светлеть. Иногда наблюдаются чередующиеся слои - темные и светлые. Изменение насыщенности цвета осадка можно объяснить изменением скорости движения фронта осаждения и размером выпадающих агрегатов. Чем медленнее движение фронта - тем насыщеннее осадок.

При анализе осадка при большом увеличении видно, что он представляет собой крупные агрегаты, а не кристаллы.

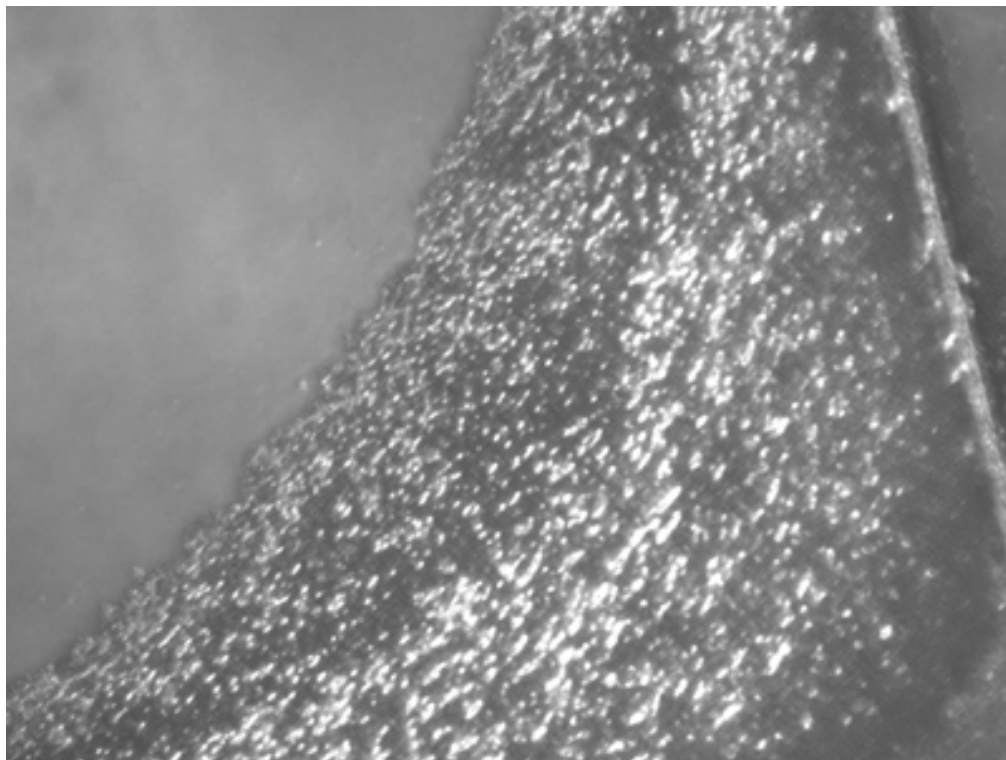


Рис. 2-7-1. Фронт выпадения осадка в ячейке. Видно изменение насыщенности осадка, с внутренней стороны-темный, с внешней стороны-более светлый. Поле зрения 0,1мм.

Если ячейки являются крупными, то выпадение белка формируется в виде узкой темной полосы.

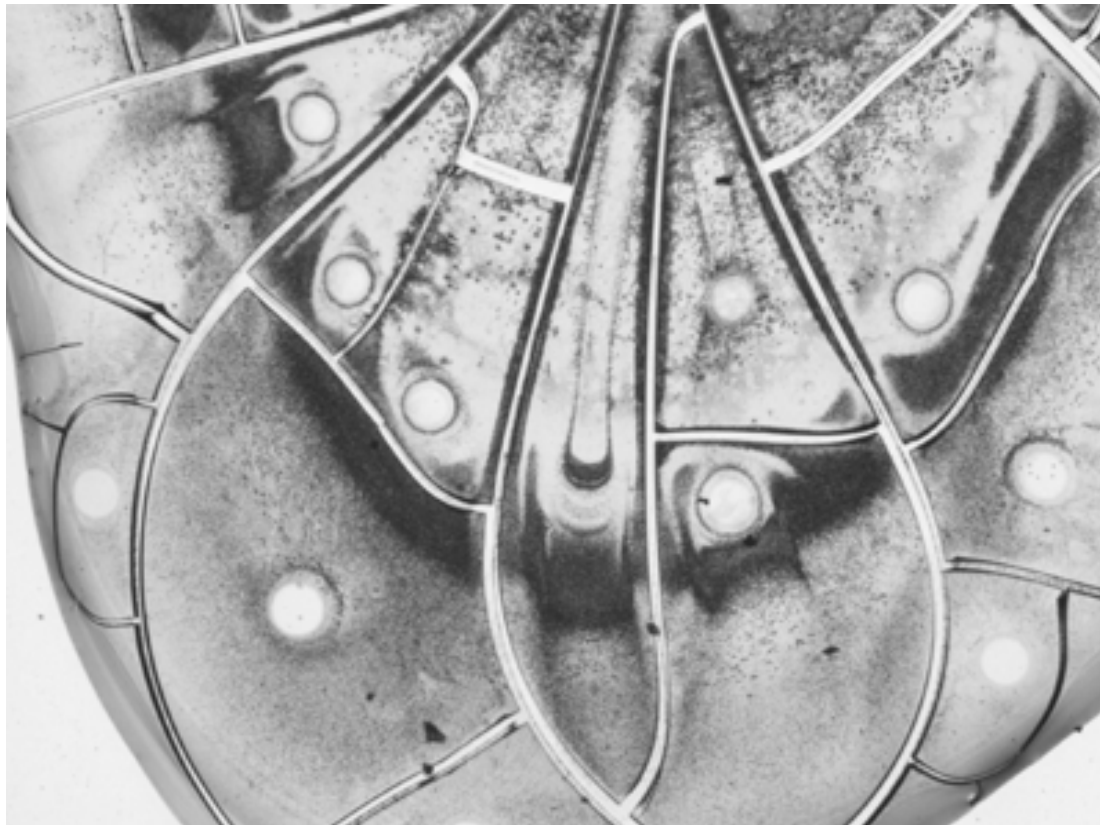


Рис. 2-7-2. Выпадение белкового осадка в виде узкой полосы. Ненормальное выпадение осадка в ячейках. Поле зрения 3мм.

Иногда наблюдается выпадение осадка синего цвета. Обычно это происходит с внешней стороны белкового осадка.

Иногда наблюдается движение фронта в центре от краев трещин к центру секторов и от центра капли к краю капли. В этом случае цвет осадка является светло серым. Возможно, это выпадение соли в случае отсутствия мелких трещин.

2.8 от 65 до 80 мин. Образование псевдотрещин в центральной зоне.

Можно выделить два типа растрескивания геля-образование трещин и образование псевдотрещин. При достаточно сильных напряжениях, вызванных усадкой геля при испарении воды, происходит растрескивание геля-гель разрывается на две части трещиной от поверхности геля до дна. Если внешняя поверхность ячейки достаточно затвердела, а внутренние напряжения недостаточны сильные, то возникает другой тип растрескивания-образование псевдотрещин (зоны пониженной плотности).

Гель представляет собой трехмерную решетку, образованную молекулами белка. Когда много воды-молекулы белка изолированы гидратными оболочками и не связываются между собой. При испарении воды гидратные оболочки разрушаются, и молекулы белка сближаются на расстояния, достаточные для образования связей, и трехмерной структуры. В ячейках трехмерной решетки геля находятся молекулы воды с соли.

Образование псевдотрещин связано с тем, что под действием напряжений происходит изменение однородной структуры геля. Гель как бы разрывается, но не до конца. В некоторых местах, ослабленных по каким-то причинам, происходит расширение ячеек геля. Гель как бы растягивается в разные стороны от вертикальной плоскости, в направлении сил напряжения. Если бы не было высокомолекулярных компонент в геле, и если бы силы были достаточно сильными, то образовалась бы трещина. А так образуется только частичное уменьшение плотности (растяжение) относительно вертикальной плоскости. Пространство псевдотрещины заполняется молекулами воды и соли.

Псевдотрещины узкие-образуются после образования обычных трещин. Эти трещины узкие и имеют четкие границы. Псевдотрещины в основном являются внутренними трещинами. Когда псевдотрещина очень большая, она иногда имеет выход на внешнюю поверхность. На верхней поверхности капли над псевдотрещиной имеется небольшое углубление, в котором часто образуется полоска кристаллов соли. Если ячейку с псевдотрещиной перевернуть, то на нижней поверхности ячейки под псевдотрещиной так же иногда видна тонкая полоска кристаллов соли.

Так как псевдотрещина заполнена молекулами воды и соли, то она имеет показатель преломления, не совпадающий с показателем преломления окружающей среды. Псевдотрещина на просвет выглядит яркой линией.

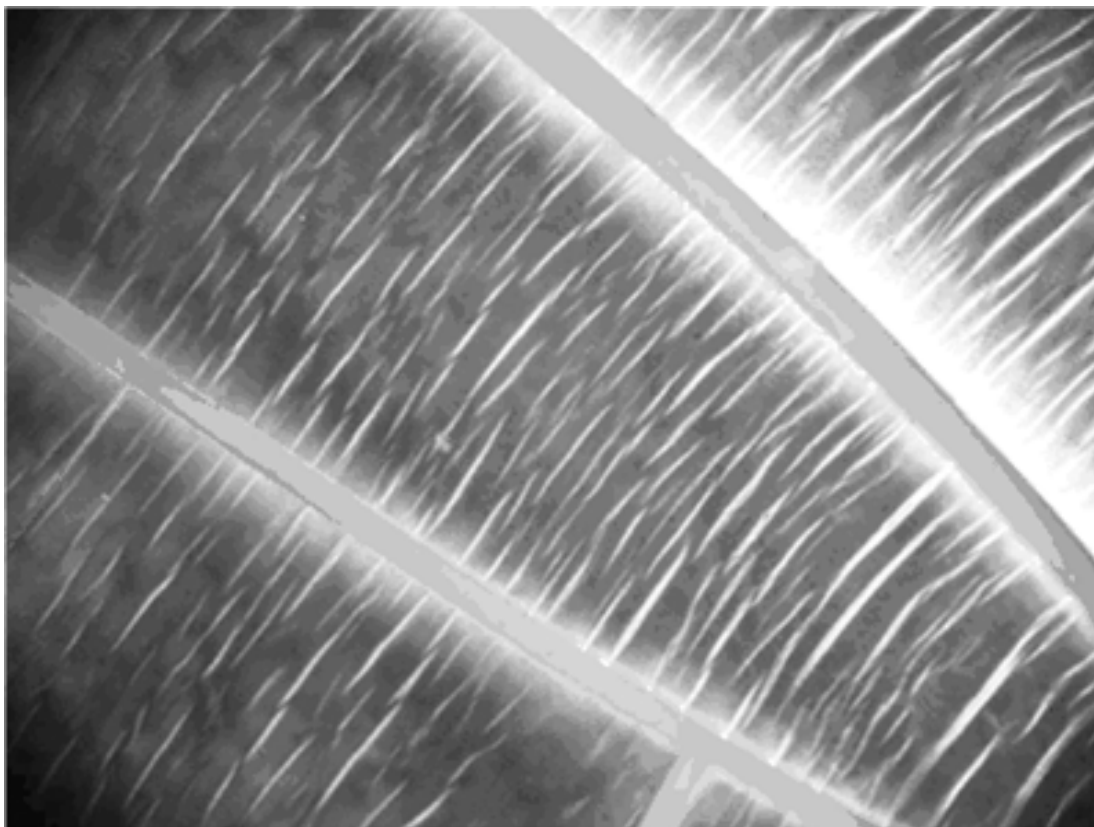


Рис. 2-8-1. Трещины (широкие) и псевдотрещины узкие (узкие и яркие). Поляризованный свет. Поле зрения 1мм.

-Псевдотрещины на границе ячеек всегда направлены перпендикулярно основным трещинам. Это объясняется тем, что остаточные напряжения в ячейках остались в направлении вдоль границ ячеек.

-У вытянутых радиальных ячеек псевдотрещины всегда направлены перпендикулярно оси ячеек, перпендикулярно боковым трещинам. Это соответствует направлению растяжения.

-Псевдотрещины образуются только в центральной зоне капли, так как там напряжения не достаточно сильные для образования обычных трещин.

-Псевдотрещины образуются на завершающем этапе высыхания капли. Псевдотрещины образуются после образования основных трещин, которые снимают основные напряжения.

-На поверхности капли над псевдотрещинами имеется небольшое углубление.

-При движении тубуса микроскопа сверху вниз псевдотрещины в начале кажется темными, а затем светлыми. Это говорит о том, что показатель преломления вещества в псевдотрещина меньше, чем в окружающей среде.

-В больших ячейках псевдотрещины имеют вид тройных лучей и розеток. Для больших ячеек нет выделенного направления действия сил напряжения, и поэтому образуются не линейные псевдотрещины, а тройные и искривленные.

-Иногда большие псевдотрещины выходят на поверхность и образуют маленькие трещины.

-Внутри ячейки преобладают псевдотрещины, перпендикулярные внешним трещинам. На верхней поверхности ячейки часто встречаются тройные трещины, выходящие из одной точки.

-В центральной части капли псевдотрещины имеют вид дуг и розеток.

-Причина образования псевдотрещин-снятие напряжений в тонком слое в центральной части капли, который быстро затвердевает.

Трещины образуются когда имеются большие напряжения, большая твердость, большие смещения. Псевдотрещины образуются когда имеются малые напряжения, небольшая твердость и маленькие смещения.

Структура псевдотрещин в центральной части капли.

После того, как радиальные трещины сомкнулись в центральной части капли, начинается образование псевдотрещин. Псевдотрещины начинают расти перпендикулярно радиальным трещинам. Если расстояние между радиальными трещинами небольшое, то псевдотрещины образуют отрезки между радиальными трещинами. Если расстояние между радиальными трещинами большое, то при росте псевдотрещины загибаются и образуют розетки.

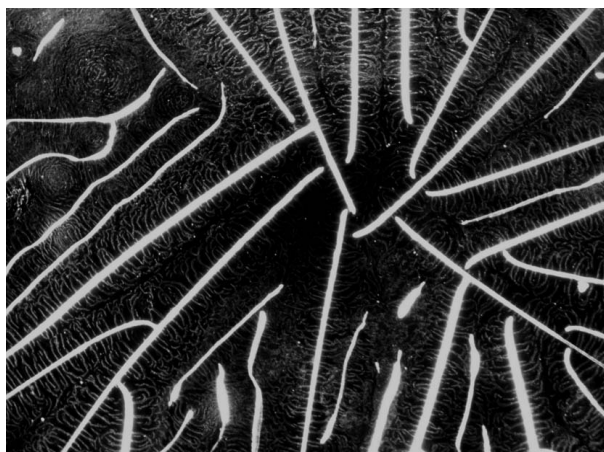
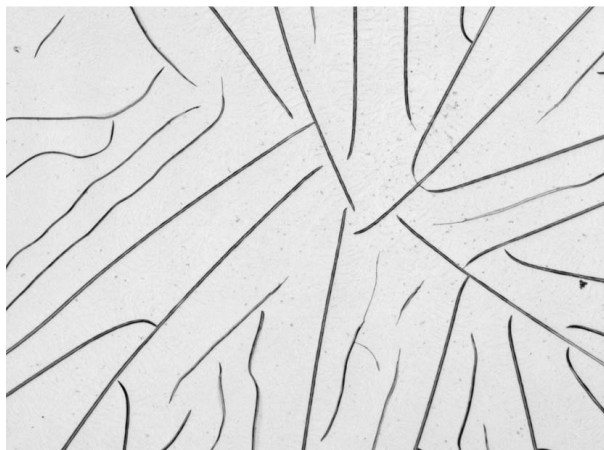


Рис. 2-8-2. Трещины и узкие псевдотрещины. Светлое поле, темное поле, фазовый контраст. Поле зрения 2мм.

В областях, где нет трещин, псевдотрещины образуют характерные структуры в виде розочек. Рост такой структуры начинается от какой то неоднородности во все стороны. Розетка состоит из центра, от которого в разных направлениях отходят псевдотрещины (от трех до

шести лучей). Псевдотрещины видны в проходящем свете в виде светлых полос. Трещины в проходящем свете видны в виде темных полос. Псевдотрещины расположены по высоте в средней части высохшей капли, и не выходят на верхнюю поверхность. На верхней поверхности имеется лишь небольшое углубление над псевдотрещиной. Над некоторыми псевдотрещинами на поверхности происходит формирование кристаллов соли.

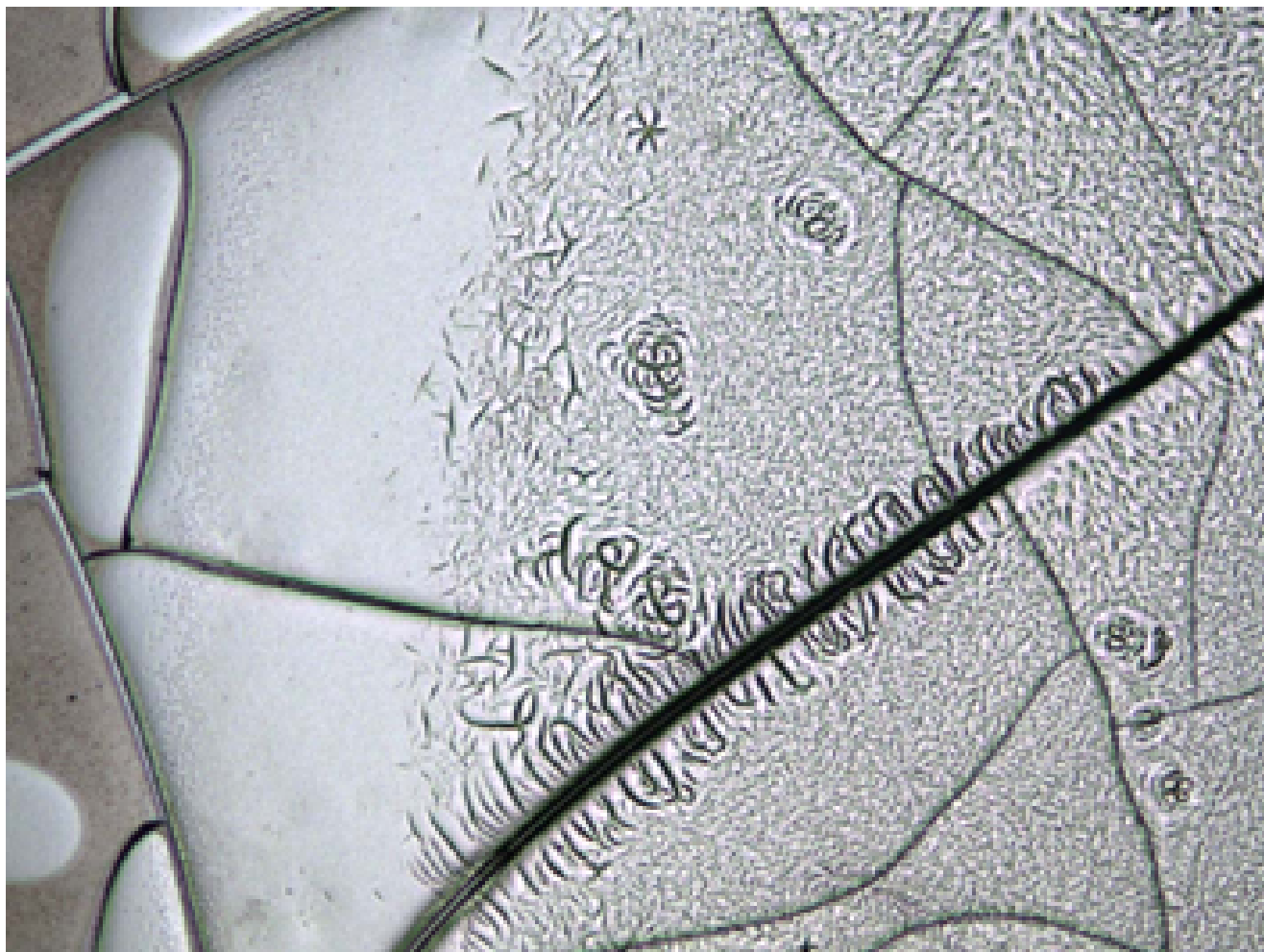


Рис. 2-8-3. Трещины и псевдотрещины в виде розочек. Светлое поле. Поле зрения 2мм.

На формирование структуры центральной зоны влияют следующие параметры: скорость испарения связанной воды, скорость затвердевания сыворотки, скорость нарастания напряжений, скорость роста трещин, величина градиента вязкости (плотности) при движении фронта затвердевания. Образование розеток начинается на неоднородностях после того, как твердость геля в центральной части достигла определенной величины. Если скорость испарения связанной воды (скорость затвердевания) высокая-то образуется много центров образования розеток, и формируется много маленьких розеток. Если скорость испарения связанной воды не очень высокая, то образуется несколько больших розеток.

Если нет центров кристаллизации, если область однородна, то образуются поле отдельных дугообразных псевдотрещин.

В центральной зоне возможны различные варианты в зависимости от комбинации значений двух признаков:

- типы основных трещин первого порядка (совсем нет трещин, есть радиальные трещины, есть неупорядоченные трещины с различной ориентацией, кольцевые трещины),
- типы псевдотрещин (совсем нет псевдотрещин, псевдотрещины в виде дуг, псевдотрещины в виде розеток).

2.9 от 65 до 80 мин. Кристаллизация соли.

2.9.1 Кристаллизация соли на поверхности в центральной зоне.

Кристаллизация начинается там, где выполняются следующие два условия-имеется локальное повышение концентрации и имеются центры кристаллообразования. В зависимости от различных условий структура кристаллического осадка соли в центральной части может быть различной. Эта структура определяется следующими параметрами:

1-высота пленки сыворотки в центральной части капли,

2-количеством соли, имеющейся в центральной части капли. Это количество зависит от исходного количества соли в капле (оно всегда практически постоянно), и от скорости гелеобразования (при большой скорости гелеобразования соль не успевает диффундировать в центральную область и остается в геле),

3-скоростью затвердевания пленки.

В итоге возможны следующие типы кристаллизации соли в центральной части капли:

1-отсутствие кристаллов соли, прозрачная центральная область. Это происходит при быстром гелеобразовании, когда соль не успевает диффундировать в центральную часть. Кристаллов соли так же не образуется при малом радиусе капли.

2-кристаллизация вдоль прямых псевдотрещин. Это происходит, когда в центральной зоне имеются часто расположенные радиальные трещины.

3-кристаллизация вдоль коротких дугообразных псевдотрещин, в виде розочек. Это происходит, когда в центральной области образовались псевдотрещины.

4-в центральной области образуется небольшое количество больших ячеек, в которых кристаллы соли образуют радиальную многолучевую дендритную структуру, которая растет от некоторого центра ячейки.

5-кристаллизация в виде сплошной тонкой корки кристаллов соли на поверхности. При наблюдении в режиме темного поля на общем темном фоне капли видна светлая пленка на поверхности, состоящая из мелких кристаллов. Так же видна очень яркая область из крупных кристаллов соли, которые локализованы в поверхностном и подповерхностном слое капли.

6-кристаллизации в виде сплошной корки (сплошной дендрит) больших кристаллов соли.

При наблюдении на просвет центральная область не прозрачна и выглядит мутной из-за наличия кристаллов. Особенно четко выявляется структура кристаллов соли при наблюдении в режиме темного поля. Морфология и строение корки кристаллов прежде всего определяется строением трещин.

Кристаллизация при наличии в центральной зоне радиальных трещин.

После того как радиальные трещины сомкнулись в центре капли, это означает, что завершился процесс испарения свободной воды и в центре капли расположен затвердевающий гель с повышенной концентрацией соли. В центральной зоне капли образовалась тонкая пленка геля, в которой очень мало альбумина и очень много соли. Так как в этой пленке находится практически вся соль из исходной капли, то концентрация соли очень высокая. Выпадение соли начинается не сразу после испарения жидкой фазы, так как соль находится в геле, а не в растворе. Еще некоторое время происходит испарение связанной воды из геля. Кристаллизация начинается над псевдотрещинами, отходящими перпендикулярно радиальным трещинам, и от различных неоднородностей, расположенных в центральной части капли. Границы трещин и неоднородности являются центрами кристаллизации. Фронт кристаллизации соли очень быстро движется от центра к краю капли. Весь процесс кристаллизации соли происходит за несколько минут. Это объясняется тем, что кристаллизация происходит сразу во всей центральной зоне, которая является тонкой и практически однородной по составу.

Кристаллизация при отсутствии в центральной зоне радиальных трещин.

Если в центральной зоне не образовалось трещин, то центрами кристаллизации являются различные неоднородности. В этом случае кристаллизация распространяется концентрически в разные стороны от этих центров. Происходит быстрый рост дендритных псевдотрещин. В

местах с повышенной концентрацией соли над псевдотрещинами сразу же происходит образование дендритов соли. Если концентрация соли достаточно высокая, то дендрит соль при росте образует сплошную корку. Но эта корка изначально образовалась при росте дендрита. Через некоторое время расширяющиеся области смыкаются. В результате вся центральная область оказывается состоящей из ячеек с дендритами псевдотрещин и соли.

2.9.2 Кристаллизация соли на поверхности в переходной зоне.

После быстрой кристаллизации соль в центральной части капли, начинается медленная кристаллизация соли на поверхности переходной зоны. Ближе к центру капли образуется сплошная пленка кристаллов, а дальше от центра капли образуются отдельные кристаллы. В краевой зоне не происходит образования кристаллов на поверхности, так как в этой зоне альбумин быстро затвердел и нет испарения. В переходной зоне соль кристаллизуется из пара, из молекул соли, которые вылетели из геля и обратно осели на поверхность. В связи с этим кристаллы имеют правильное строение. Кристаллизация соли на поверхности происходит на неоднородностях. Можно выделить два типа кристаллизации соли на поверхности.

-кристаллизация на протяженном объекте (кристаллизация на поверхностных микротрещинах и на псевдотрещинах). Образуются изогнутые полоски кристаллов.

-кристаллизация на точечных неоднородностях. Образуются округлые агрегаты в виде розочек.

Структура образования кристаллов соли на поверхности высохшей капли определяется, в основном, структурой псевдотрещин. Псевдотрещины заполнены водой и солью, поэтому они являются центрами кристаллообразования соли на верхней и на нижней поверхности ячеек. Но на нижней поверхности ячеек образуется только очень тонкая полоска соли, а на верхней поверхности образуется широкая полоса кристаллов соли.

Если концентрация соли в некоторой области была высокой, то образуются толстые дендриты соли, или даже целые области (корка), покрытые кристаллами соли.

На поверхности капли в промежуточной и краевой зоне соль кристаллизуется в виде сплошного слоя, в виде отдельных агрегатов, и в виде розочек.

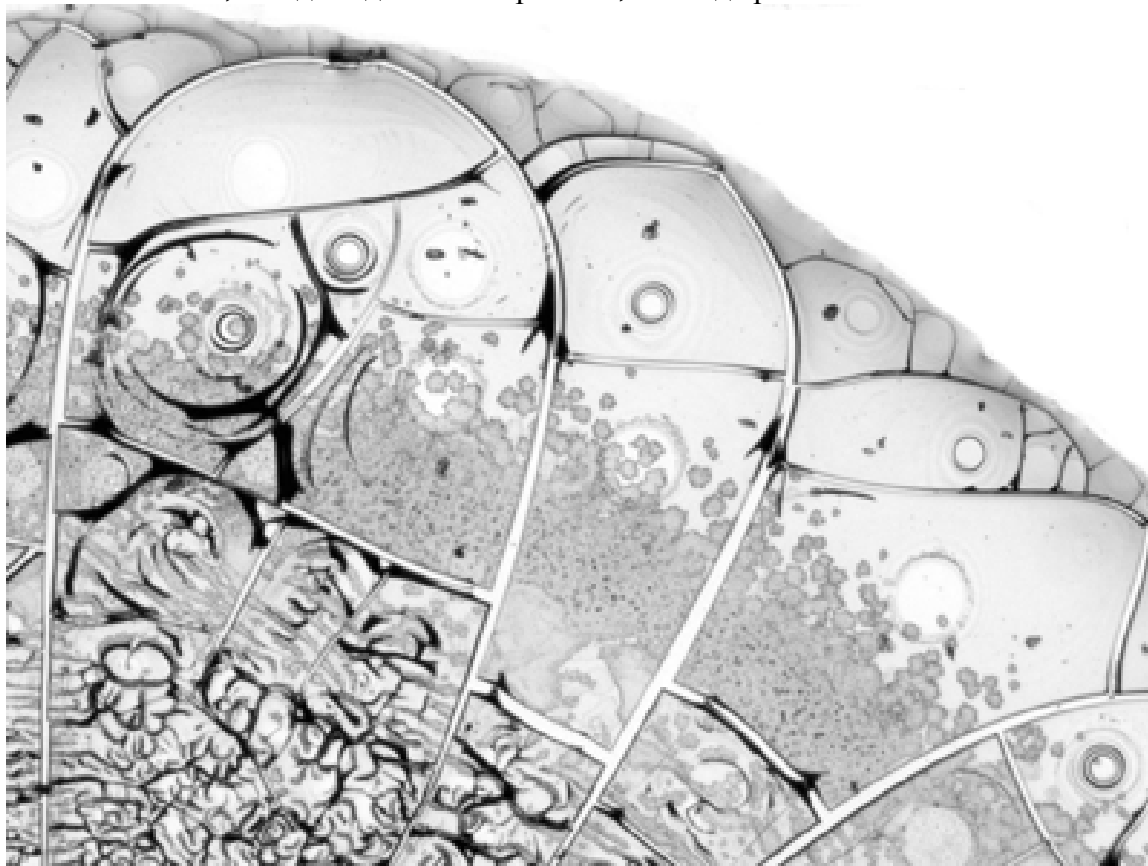


Рис. 2-9-1. Кристаллы соли на поверхности капли. Поле зрения 3,5мм.

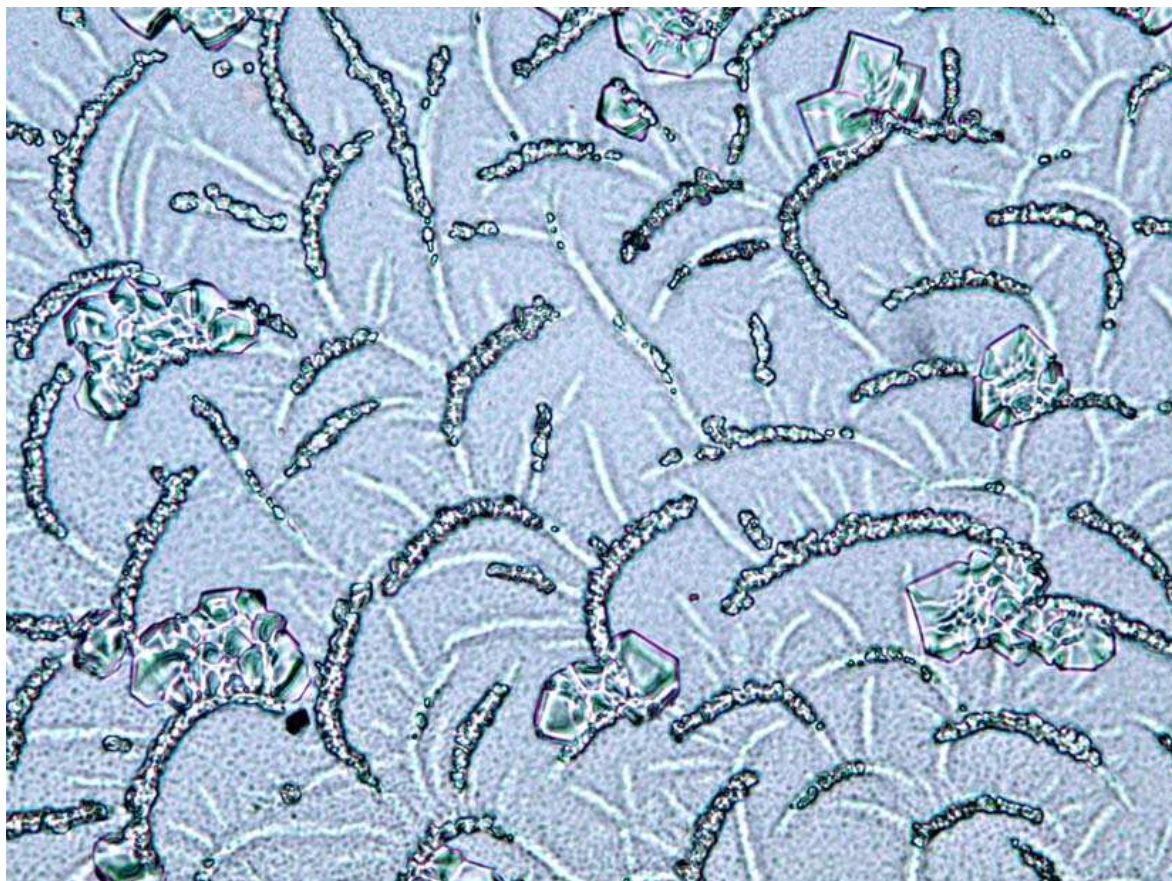


Рис. 2-9-2. Видно два типа кристаллов соли. Поле зрения 0,3мм.

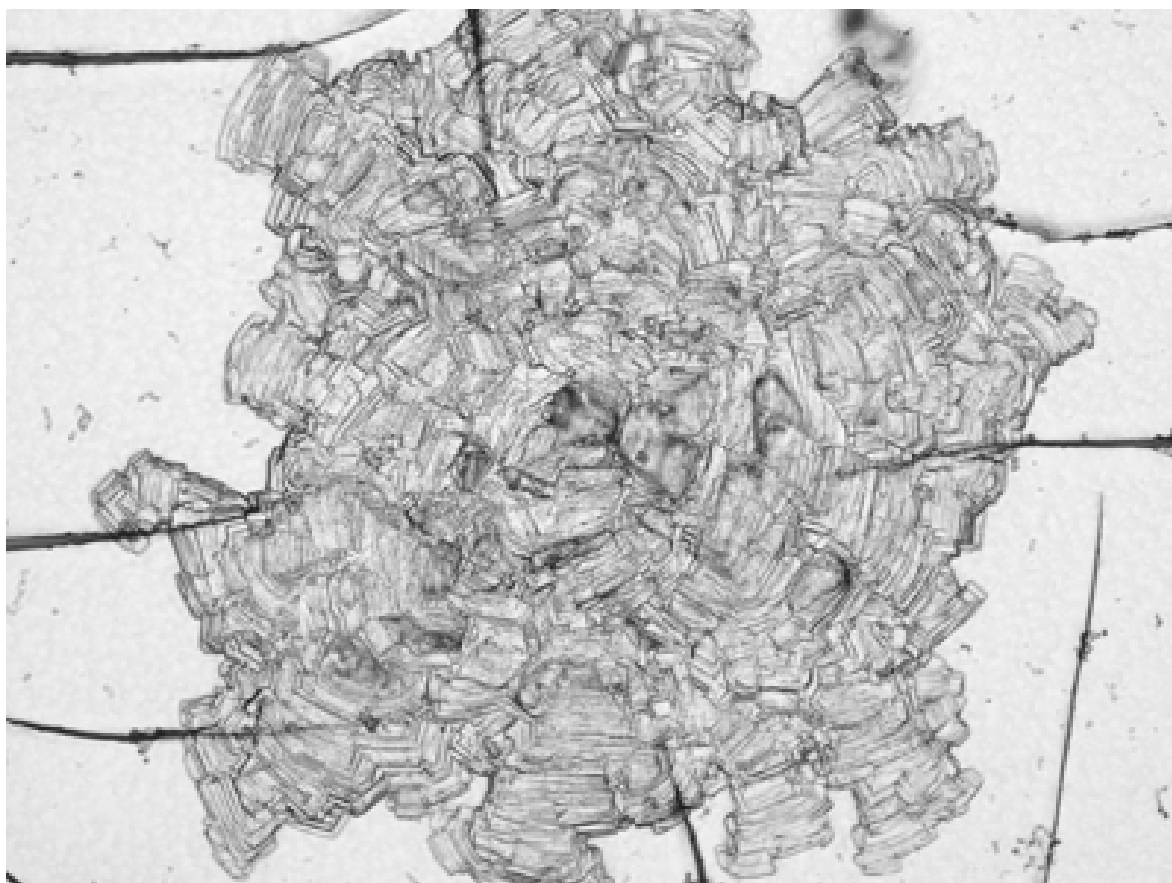


Рис. 2-9-3. Крупный агрегат кристаллов соли на поверхности. Поле зрения 0,5мм.

В краевой зоне кристаллов на поверхности ячеек нет. При наблюдении глазом на просвет краевая зона прозрачна. Чем ближе к центру, тем больше появляется одиночных кристаллов на поверхности. На верхней поверхности ячеек в переходной зоне находятся одиночные кристаллы соли. В центральной части высохшей капли на поверхности образуется сплошная область (корка) из кристаллов соли. При наблюдении глазом на просвет центральная область не прозрачна и выглядит мутной из-за наличия кристаллов.

В переходной зоне кристаллы соли образуются на верхней и на нижней поверхности ячеек. Кристаллы группируются вдоль линий, образованных псевдотрещинами. Псевдотрещины являются центрами кристаллизации.

На верхней поверхности псевдотрещины имеют в основном слабо изогнутый вид. Псевдотрещины имеют хаотический вид, короткие дугообразные отрезки, тройное ветвление. В краевой части капли псевдотрещины перпендикулярны основным радиальным трещинам. В широких (больших) ячейках в центральной части псевдотрещины направлены хаотично, или циркулярно вокруг некоторого центра, расположенного в центральной части ячейки.

На нижней поверхности ячейки отсутствует правильная структура микротрещин. На нижней поверхности нет напряжений, она жестко связано с поверхностью стекла.

Кристаллизация соли происходит на верхней поверхности капли. Объяснить образование кристаллов на поверхности можно несколькими причинами.

1-При испарении воды капля усыхает. Вода, насыщенная солью, выдавливается на поверхность. Вода испаряется, а соль выпадает в виде кристаллов.

2-При дегидратации, когда капля начинает загустевать, на ее поверхности еще остается вода в жидкой фазе, насыщенная солью (пленка жидкости). При ее испарении соль кристаллизуется на поверхности капли.

3-Кристаллизация на поверхности происходит из испарившейся воды.

В дальнейшем начинается образование отдельных мелких кристаллов.

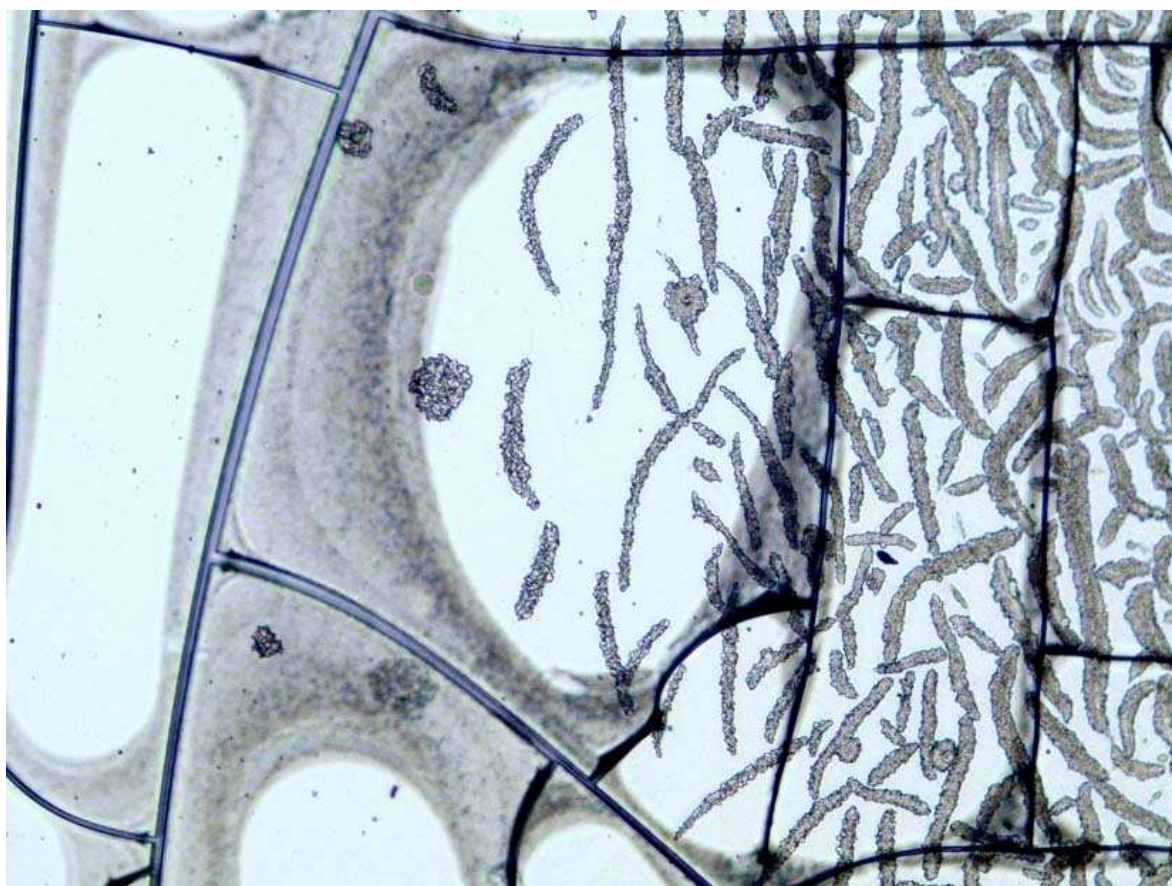


Рис. 2-9-4. Кристаллы соли на верхней поверхности ячейки и осадок белка на нижней поверхности ячейки. Поле зрения 1,5мм.

Дальше от центра и ближе к краю капли находится зона одиночных кристаллов-кристаллы соли образуют отдельные островки на поверхности, с крупным кристаллом в центре и с мелкими пластинами вокруг него, часто в виде розочек. Чем дальше от центра, тем меньше одиночных кристаллов на поверхности.

В краевой зоне кристаллов соли нет. На просвет эта область прозрачна. В переходной зоне имеется три типа кристаллов-соль, альбумин, липиды.

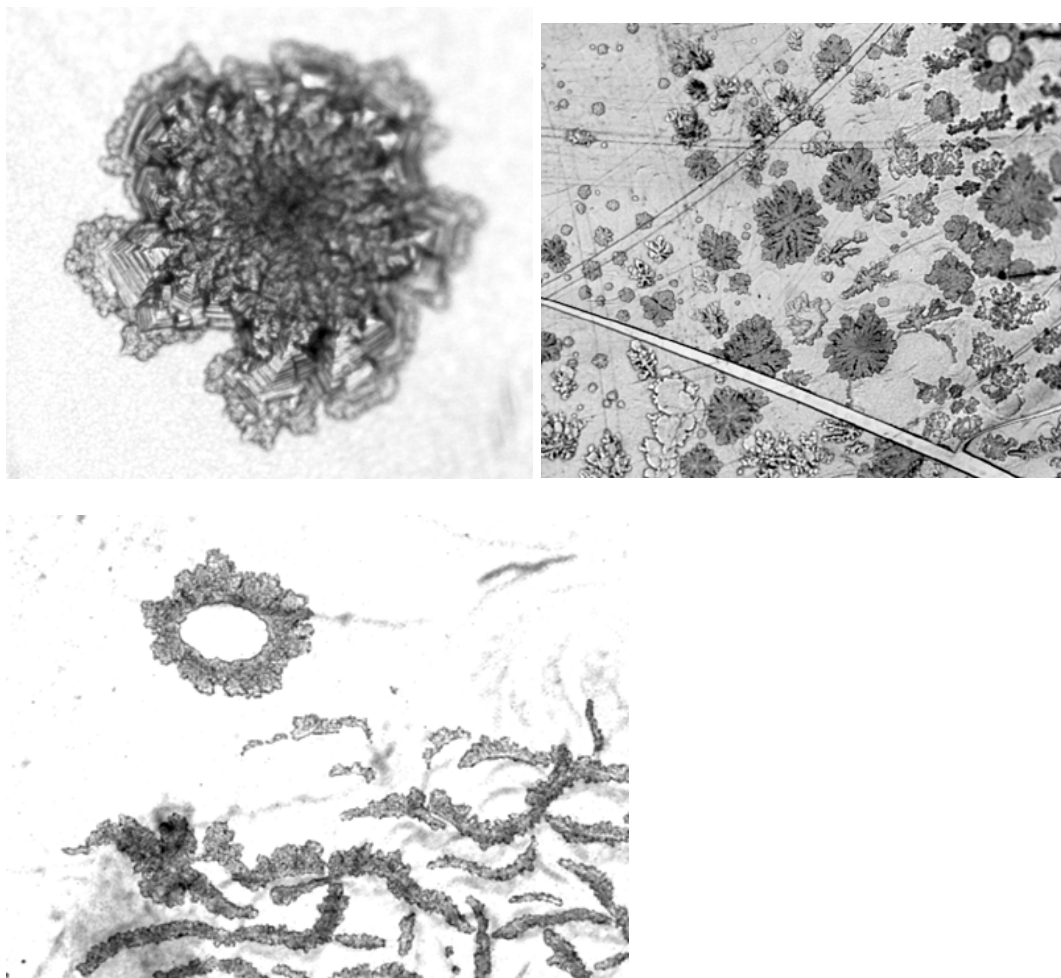


Рис. 2-9-5. Различные типы кристаллов на поверхности ячеек.

1-агрегат с кристаллическим краем-поле зрения 1мм,

2-Два типа агрегатов, светлые (соль) и темные (липиды), поле зрения 3м,

3-Веточки и агрегат с дыркой, поле зрения 1мм,

2.10 от 60 до 80 мин. Формирование ячеек.

Вдоль трещин осаждаются темно-коричневый осадок-белки. Белки осаждаются на верхней и нижней поверхности высыхающей капли. Ширина осадка растет, и в центре ячеек образуются круглое ядро. Осаждение белков можно объяснить эффектом высаливания. Белки выпадают в осадок при повышении концентрации солей. Высаливание белков осуществляется в следующей последовательности (по мере повышения концентрации соли): вначале выпадает фибриноген, затем глобулины, и в последнюю очередь выпадают альбумины.

2.10.1-Типы ячеек.

Ячейка представляет собой прямоугольный фрагмент высохшей капли, ограниченный со всех сторон трещинами. Можно выделить несколько типов ячеек:

- 1-краевые, маленькие, в виде кругового сектора без ядра. Диагностическим признаком в таких ячейках является наличие краевых трещин в виде лесенки.
- 2-краевые, большие, в виде кругового сектора с ядром.
- 3-серединные, в виде квадрата, с ядром.
- 4-внутренние, прямоугольные, вытянутые от центра к краю, с ядром.

В зависимости от толщины высохшей ячейки можно выделить следующие типы ячеек:

- 1-толщина от 0мм до 0,1мм-при такой толщине высохшей капли трещины вообще не образуются, и таких ячеек не бывает,
- 2-безъядерные (толщина от 0,1мм до 0,3мм)-ячейки без ядра,
- 3-частично-ядерные (толщина от 0,3мм до 0,6мм)-ячейки с осаждением белка тонким слоем вдоль границы ячейки,
- 4-ядерные (толщина от 0,3мм до 0,6мм)-ячейки с круглым ядром в центре ячейки,
- 5-ядерные с трещинами (толщина от 0,6мм до 0,8мм)-ячейки с ядром и трещинами около ядра,
- 6-белковые (толщина от 0,8мм и более)-толстые ячейки темно-желтого цвета, в которых концентрические трещины вокруг центральной части,
- 7-ячейки со скрытым ядром-ячейки, в которых видно осаждение белка ровным слоем без видимого ядра в центре. Однако, если от наблюдения в светлом поле перейти к наблюдению в поляризованном свете, то будет видно темное ядро в центре ячейки.

Таким образом, можно предположить, что ядро-это прозрачная компонента, например альбумин. Поляризационными свойствами обладает осадок вокруг центрального ядра. Некоторые высказывают мнение, что центральное круглое ядро-это прилипшая ко дну часть ячейки. При большом увеличении и при наблюдении с обратной стороны, можно увидеть, что это не так. Ячейка остается прикрепленной к стеклу гораздо большей поверхностью, чем центральное кольцо.

2.10.2-Динамика усыхания и деформации ячеек.

После того, как в результате образования радиальных и поперечных трещин образовалась ячейка, она начинает жить самостоятельной жизнью. Процесс дегидратации в ней происходит автономно. Таким образом, изучая структуру ячейки после дегидратации, можно судить о составе ячейки.

Испарение воды из ячейки осуществляется с верхней поверхности и через поверхность боковых трещин. Ячейка в начальной стадии имеет консистенцию геля, и никаких конвекционных потоков жидкости в ней нет. Затвердевание ячейки происходит с верхней поверхности и с боков. Образуется внешняя жесткая оболочка и гелеобразная сердцевина. Так как верхняя поверхность ячейки при высыхании сжимается, то края ячейки немного приподнимаются.

Иногда наблюдается как бы двойное изображение языковых структур в ячейке. Этот эффект связан со сдвигом ячейки. При усыхании объем ячейки уменьшается. В широкой трещине между двумя ячейками можно видеть длинный бугорок вдоль средней линии трещины. Это выпадение осадка в месте образования трещины. Разные края соседних ячеек обычно расположены на разных расстояниях от линии образования трещины. Чем больше ячейка-тем сильнее ее сжатие, тем сильнее сдвиг от линии образования трещины. Однако ячейки сжимаются не симметрично. Если рассмотреть четыре границы ячейки, то их сдвиг от начального положения может быть различным. Величина сдвига определяется тем, с какой силой ячейка сцеплена с подложкой. В разных местах сила сцепления различна. Сила сцепления зависит от чистоты поверхности стекла в разных местах и от локального состава капли. Сцепление по краям в местах выпадения белка ослаблено, так как сцепление ячейки со

стеклом осуществляется через прослойку выпавших агрегатов, которые имеют рыхлую структуру.

Ячейка сжимается, и сдвигаются белки, выпавшие на дно ячейки. В связи с этим при наблюдении в микроскоп можно наблюдать удвоение рисунка языков. Виден след белка выпавшего на предметное стекло, а над ним на небольшом удалении виден аналогичный рисунок-след белка, расположенного на нижней поверхности сжавшейся ячейки. Так как видно два отдельных фрагмента, то можно предположить, что сдвиг ячейки происходит путем скольжения двух слоев друг относительно друга. Величина сдвига равняется величине раскрытия щели (величине сдвига границы ячейки от первоначального положения). Ядро ячейки, центральная круглая прозрачная часть, - никогда не сдвигается. Отсюда можно сделать вывод, что в этом месте самое сильное сцепление со стеклом. Так как сцепление осуществляется между чистым веществом (альбумином) и стеклом. Деформация ячейки происходит в радиальном направлении по направлению к центру ячейки-к ядру. При этом величина смещения ячейки пропорциональна удаленности от ядра. Чем дальше от ядра-тем сильнее смещение. При отслаивании высохшей капли от предметного стекла, на стекле остаются следы от выпавших кристаллов.

Сдвинутые рисунки расположены на разных уровнях. Расстояние от нижнего рисунка до верхнего рисунка примерно такое же, как расстояние от верхнего рисунка до верхней поверхности капли (высота капли). Происходит отслоение ячейки. Если есть сдвиг-значит, есть отслоение ячейки.

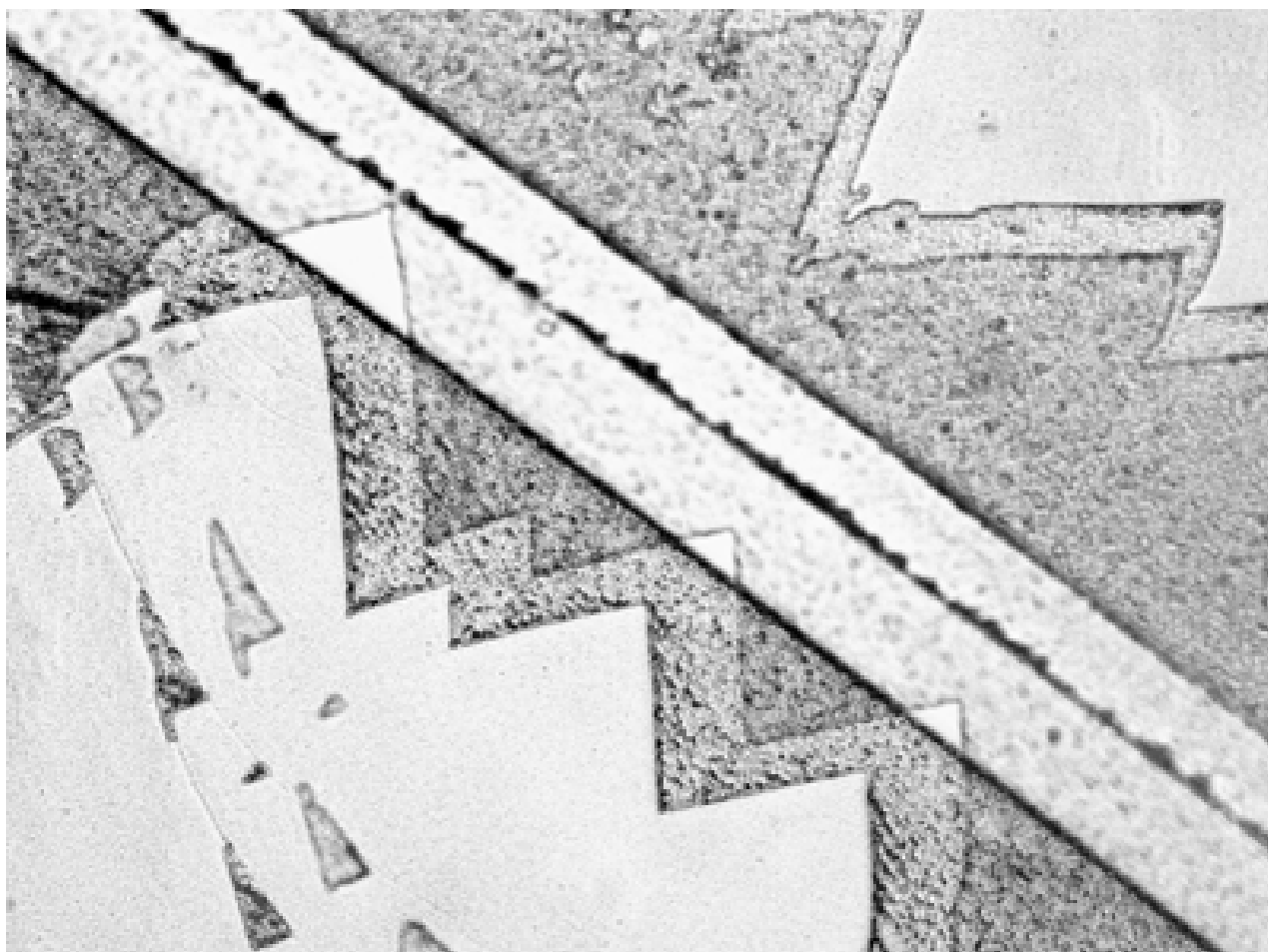


Рис. 2-10-1. Удвоение рисунка. Виден отпечаток осадка на поверхности стекла и осадок на дне ячейки. Поле зрения 0,7мм.

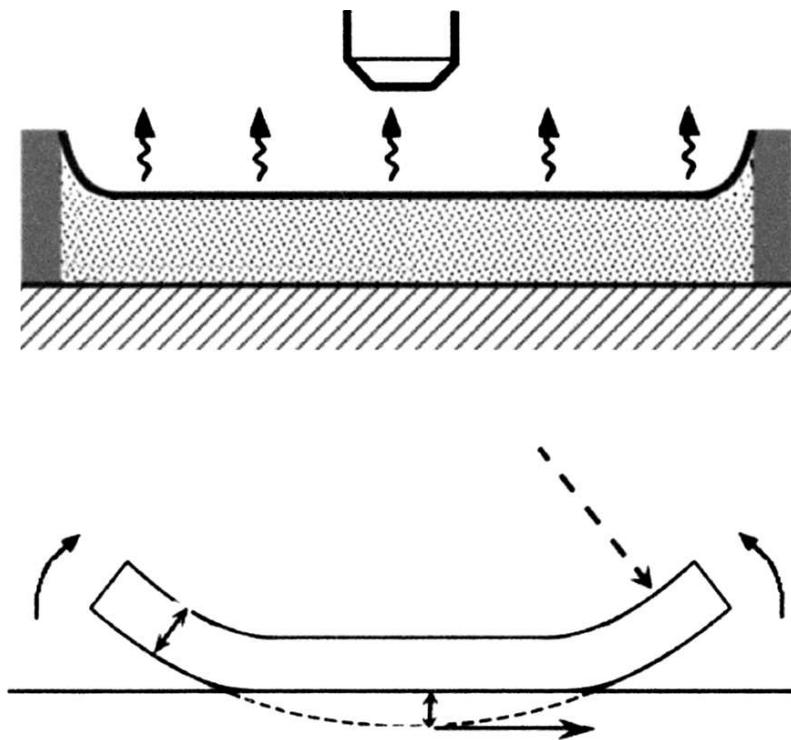


Рис. 2-10-2. Процесс образования и усыхания ячеек (Pauchard L. Europhys. Lett. 2006. Vol. 74(1). P.188.). Исследовались процессы в высыхающем слое коллоидного геля (водная суспензия частиц латекса диаметром 15нм при объемной доле коллоидной фазы 30%).

2.10.3 Выпадение осадка по краю ячеек.

После образования ячейки (после образования радиальных и поперечных трещин) сразу начинается процесс выпадения коричневого осадка. Процесс образования осадка начинается от краев ячейки. Фронт выпадения осадка движется к центру ячейки. На начальном этапе скорость движения фронта большая. Затем скорость движения фронта замедляется. Движение фронта осуществляется скачками. В некоторый момент на границе фронта кристаллизации выпадает узкая полоска белковых агрегатов. Затем некоторое время проходит без изменений. Затем процесс повторяется.

-Иногда зона выпадения агрегатов однотонная, одного бурого цвета.

-Иногда можно выделить две зоны выпадения агрегатов-темную внешнюю и более светлую внутреннюю,

-Иногда темные и светлые полосы чередуются.

-Иногда агрегаты не выпадают, а образуется тонкая прозрачная пленка на дне ячейки с круглым ядром в центре. Эта конфигурация видна только при косом освещении.

-Иногда нет ни агрегатов, ни тонкой пленки, только прозрачная ячейка.

В центре ячейки расположено прозрачное ядро. От ядра к центру капли идет светлая полоса (прозрачная, с малым количеством осадка). От ядра в сторону от центра капли идет темная полоса. Вдоль боковых сторон ячейки-серые полосы. Языковые структуры образуются либо в темной полосе, либо в боковых серых полосах.

В центральной части ячейки образуется круглая зона без кристаллов-ядро ячейки.

Осадок вокруг ядра бывает двух типов-прозрачный и в виде агрегатов. Прозрачный осадок образуется даже при дегидратации капли чистого альбумина. Осадок в виде агрегатов бывает однородным, одного цвета, или неоднородным-светлые и темные полосы вокруг ядра. Если состояние белков в норме, то в центре ячейки имеется прозрачное ядро, а по краю на дне ячейки выпадают в осадок комплексы белок-липид равномерным однородным слоем. Осадок в виде агрегатов бывает двух типов-светло-желтый и темно-коричневый. В скрещенных поляроидах цвет изменяется на темно-коричневый и зеленый соответственно. Темный осадок

обладает свойством оптической анизотропии. Можно предположить, что это липопротеины и липиды. Темно-желтый осадок-глобулины.

Выпавшие кристаллы обладают оптической анизотропией. В скрещенных поляроидах проявляется структура темных и светлых секторов. Этот эффект вызывается двумя причинами. Первое-в состав выпадающих кристаллов входят липиды. Второе-кристаллы выпадают постепенно в виде дуг окружности, и образуют концентрические структуры вокруг центра ячейки-структуру сферолита, который дает изображение мальтийского креста.

Если в сыворотки крови находились красные эритроциты, то при движении фронта выпадения осадка к центру ячейки на границе фронта происходит почернение и распад эритроцитов. Это говорит о том, что на этом фронте происходит резкое изменение фазового состояния сыворотки.

В нижней и верхней поверхности ячейки выпадают кристаллы соли в виде отдельных кристаллов или в виде нитей

Если ранее высохшую каплю поместить под микроскоп, то происходит нагревание капли осветителем микроскопа, и возобновляется процесс выпадения агрегатов белка в ячейках. При повышенной температуре выпадение белка усиливается. Получается, что выпадение белка осуществляется уже из твердой фазы.

Если ячейка внутренняя, она имеет вытянутую форму. В таких ячейках возникают продольные и поперечные образования. Это не трещины, а линии напряжения.

При усыхании трещины между ячейками расходятся, и образуется зазор. При усыхании капли края ячеек приподнимаются, так как верхняя поверхность капли усыхает сильнее, чем нижняя. Это вызывает деформацию-более сильное стягивание верхней поверхности ячейки. Усыхание капли аналогично растрескиванию верхнего слоя глины на солончаках. Нижняя поверхность высохшей капли скреплена с предметным стеклом не очень плотно. Об этом можно судить по двум причинам:

- если капля долго хранится, то ячейки самопроизвольно отскакивают (в связи с продолжающимся усыханием, сжатием и напряжениями),
 - если рядом с каплей капнуть спирт, то он затекает под каплю, и можно наблюдать процесс заполнения спиртом пространства под ячейками.
-

2.10.4 Ядро ячеек.

Ядром ячейки называется прозрачная круглая область в центре ячейки. Можно выделить следующие виды ядер:

- правильное круглое ядро в центре ячейки,
- вытянутое ядро,
- имеется тонкий ободок осадка вдоль границы ячейки,
- ядро совпадает с ячейкой, нет выпадения осадка в ячейке.

Особенности структуры ядра:

- 1-ядро всегда прозрачно,
- 2-вокруг ядра имеется прозрачный осадок, или осадок в виде агрегатов,
- 3-в ядре нет трещин, а вокруг ядра в толстых ячейках образуются трещины.
- 4-при фазовом методе наблюдения ядро имеет вид выпуклой линзы.
- 5-граница ядра иногда имеет четкий вид, а иногда границы не видно. В этом случае наличие ядра можно обнаружить только при косом освещении.
- 6-границей ядра является осадок, выпавший на дне ячейки. Граница ядра-это круг на дне ячейки.
- 7-сверху, над ядром на верхней поверхности ячейки, могут находиться кристаллы соли.
- 8-средний диаметр ядер в высохшей капле является одним из количественных параметров оценки структуры капли.
- 9-ядро возникает при дегидратации чистого альбумина. В этом случае ядро окружено прозрачной полосой. Коричневого осадка вокруг ядра не образуется.

10-при длительном хранении высохшая сыворотка отлетает, по краю ячейки остаются следы кристаллов, а в зоне ядра следов не остается.

11-если в сыворотке крови присутствуют эритроциты, то при высыхании они распределяются на краю ячейки, и уходят из ядра ячейки (выталкиваются).

12-интерференционные полосы возникают вокруг ядра. Внутри ядра интерференционные полосы не возникают. Значит поверхность над ядром-плоская.

Как и почему образуются ядра?

Ядро представляет собой разреженный гель, разрыв структуры геля, аналог псевдотрещины. Образно говоря, ядро ячейки-это дырка от бублика. После образования ячейки в результате растрескивания геля ячейка начинает затвердевать с боков и с верхней поверхности. В середине ячейка еще жидкая. При дальнейшем испарении воды через боковую и верхнюю поверхность гель еще сильнее затвердевает, и должен сократиться в размере. Однако внешний каркас ячейки жесткий. Тогда происходит разрыв структуры геля в центральной части ячейки. Трехмерный каркас геля альбумина уходит к краю, а в центре ячейки образуется круглая область с пониженной плотностью сетки геля. Эта область заполняется молекулами воды и соли. Так как ячейка имеет малую высоту, то образовавшаяся область имеет вид линзы. В центре ячейки появляется область в виде линзы, заполненная водой и солью. Концентрация белка в этой области очень маленькая. Это и есть ядро ячейки. Из-за малой концентрации белка в ядре трещины в ядре не образуются. При косом освещении хорошо видно форму этой линзы. Так как в области ядра практически нет ничего кроме воды, то никаких осадков в области ядра не образуется.

Отношение площади ядра к площади ячейки является важным параметром. Чем больше ядро-тем меньше белка в ячейке.

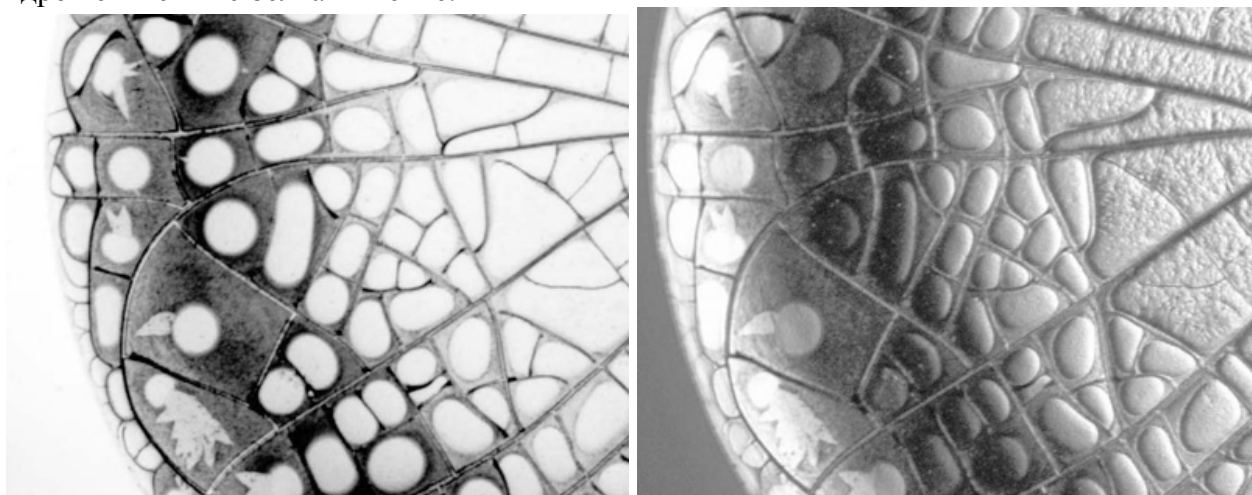


Рис. 2-10-3. Ядра ячеек при прямом и косом освещении. Поле зрения 4мм.

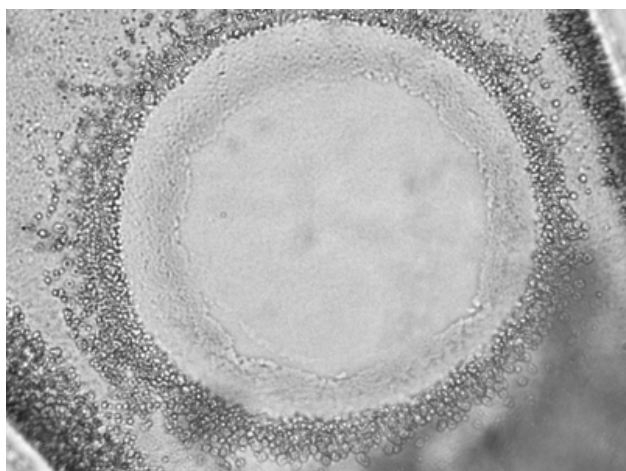


Рис. 2-10-4. Структура ядра ячейки. Поле зрения 0,2мм.

2.10.5 Образование языковых структур в ячейках.

При отклонении состояния сыворотки крови от нормы возможны различные аномальные виды осаждения агрегатов-языковых структур (полосы и ковры Серпинского, языки Арнольда). Образование языковых структур связано с нарушениями нормального состояния белков в плазме крови. Выпадение темного компонента начинается от внешнего края ячейки и имеется фронт,двигающийся к центру ячейки. Если скорость затвердевания геля высокая, то в геле быстро возникают напряжения. При достижении напряжения некоторого порогового значения происходит разрыв структуры геля. Разрыв всегда возникает в некоторой точке, в которой имеется неоднородность. В точках неоднородности всегда создается повышенное значение напряжения. При продвижении фронта осаждения, осадок образуется только в области, в которой сохранилась структура геля. От точки разрыва формируется расходящаяся область (язык), которая заполнена молекулами воды, соли, и одиночными молекулами белка. Эта область однородна, прозрачна, и никакими оптическими методами не выделяется. Ее видно только из-за того, что у нее по бокам образуется осадок. Фронт выпадения осадка продвигается дискретными скачками. На границе между светлым компонентом (языком) и темным компонентом от точки завершения очередного скачка фронта кристаллизации обычно отходит возникающая дугообразная трещина в сторону темного компонента. Эта трещина снимает возникающие напряжения. Это так называемые языковые трещины. Они образуют группу параллельных дугообразных трещин, расходящихся от края языковой структуры.

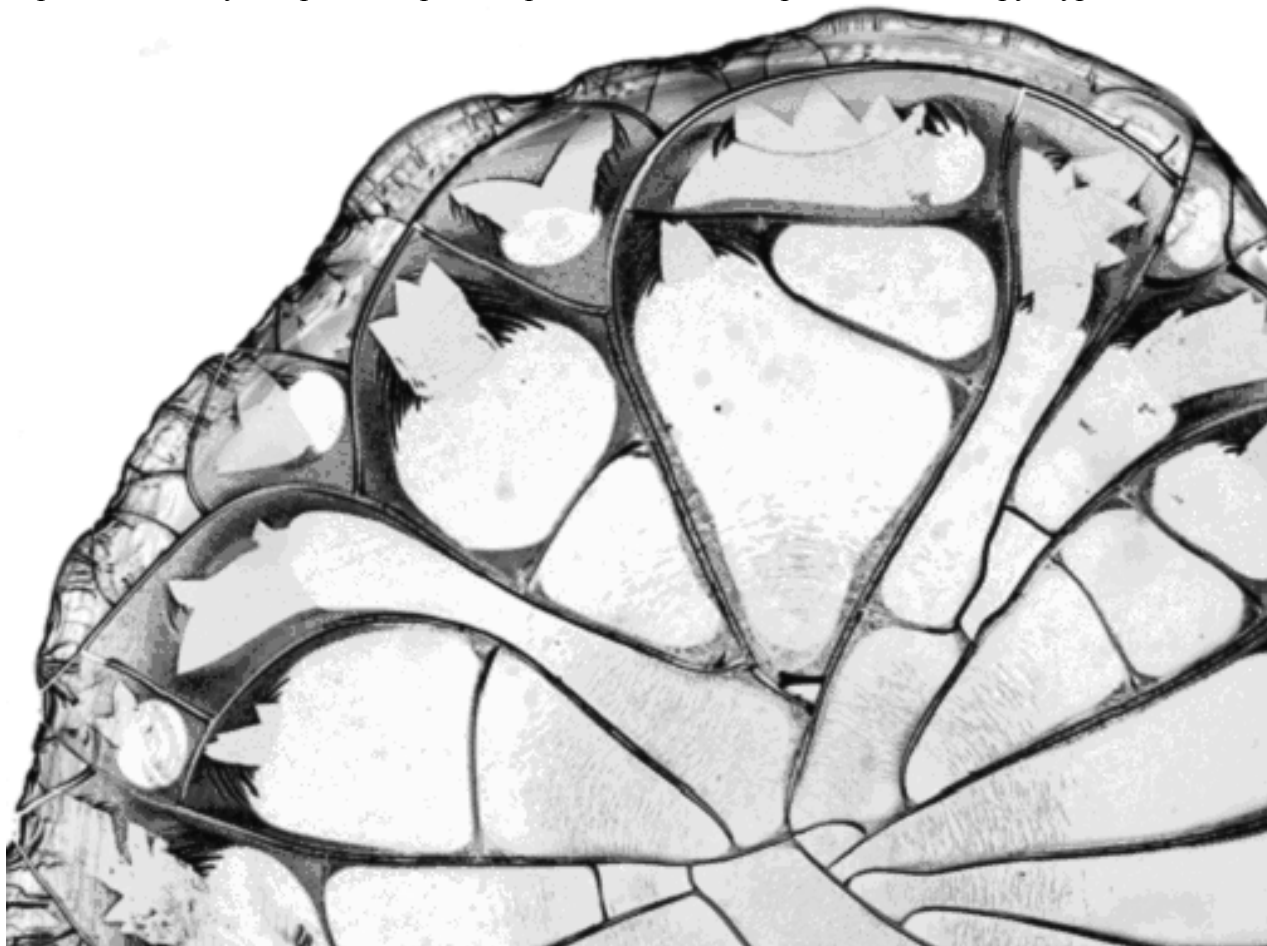


Рис. 2-10-5. Языковые структуры. Поле зрения 5мм.

При некоторых условиях вместо сплошного языка происходит образование так называемых ковров Серпинского. Их возникновение можно объяснить следующим образом. Вначале возникает языковая структура. Если концентрация белка достаточно высокая, и гель достаточно вязкий, то перед фронтом движения разрыва геля происходит возрастание

концентрации белка. При достижении некоторого критического значения снова происходит формирование трехмерной структуры геля, и язык обрывается. Снова начинается осаждение белка по всему фронту. Но так как условия образования языка сохранились (высокое напряжение и высокая вязкость геля) то происходит возникновение нового разрыва структуры геля и образование нового языка. Таким образом, возникает языковая структура в виде ковров Серпинского. Ковры Серпинского имеют структуру фракталов.



Рис. 2-10-6. Треугольник Серпинского

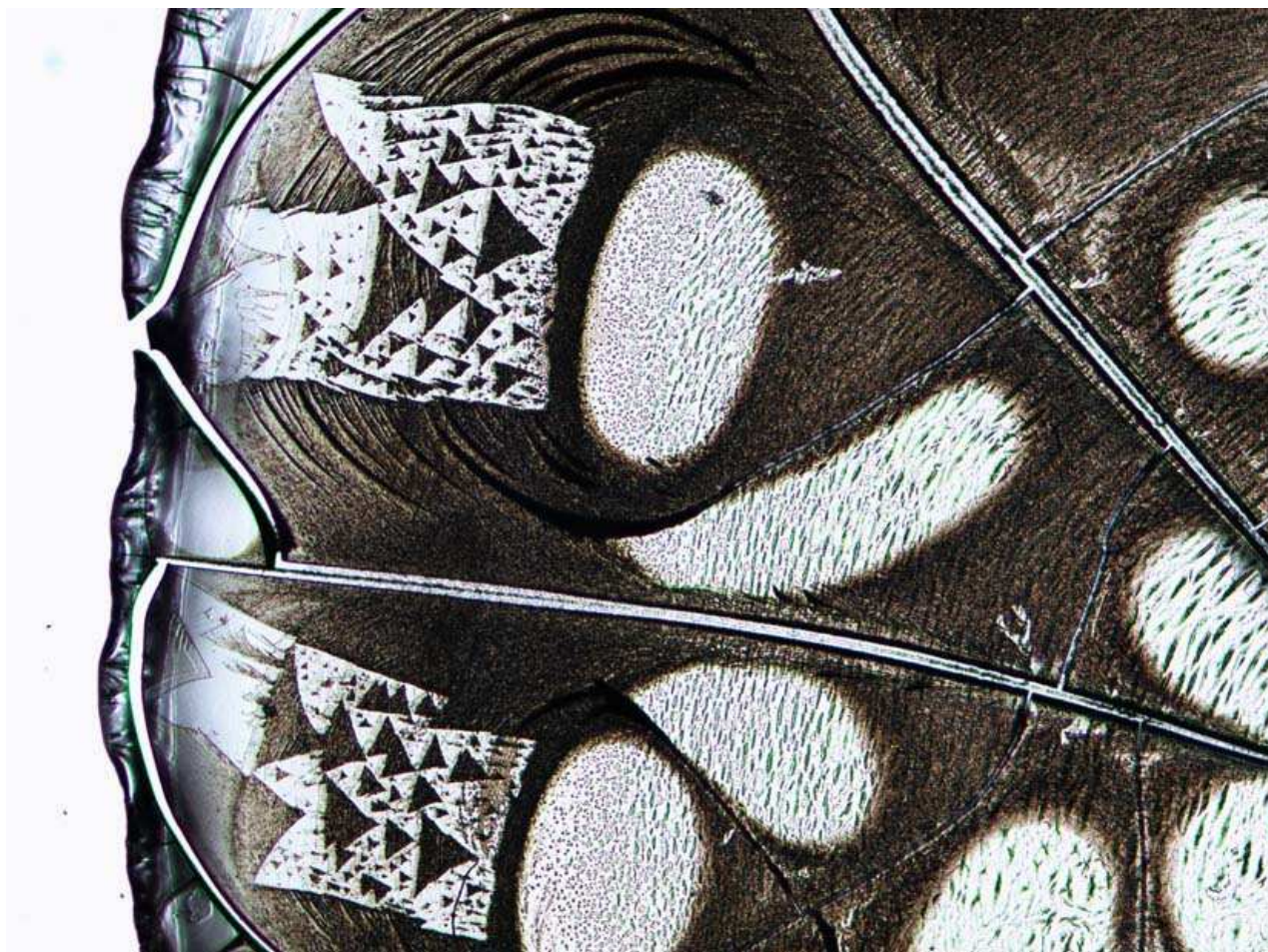


Рис. 2-10-7. Ковер Серпинского в высохшей капле. Поле зрения 3мм.

2004-Нижний Новгород-НГМА

Потехина Ю.П. Котова О.В. Густов А.В.

Способ диагностики рассеянного склероза. Патент 2242759. 2004.+

Исследуют плазму крови методом открытой капли. Каплю плазмы предварительно высушивают на предметном стекле. Затем анализируют структуру полученной фазии под микроскопом. При наличии в центральной зоне фазии аномальных структур типа ковров

Серпинского диагностируют рассеянный склероз. Способ прост и доступен и позволяет ускорить диагностику рассеянного склероза.

Шатохина С.Н. Шабалин В.Н. Мишуровская Т.С. Жемчугин Д.Е.

Способ оценки состояния больного после переливания эритроцитарной массы при критических состояниях. Патент 2464031. 2012.+

После переливания больному эритроцитарной массы производят забор крови и готовят пробу сыворотки крови больного для исследования методом клиновидной дегидратации. При выявлении в краевой зоне фации структуры типа «языка» оценивают дальнейшую динамику состояния больного как благоприятную, а при их отсутствии-как неблагоприятную, вплоть до летального исхода.

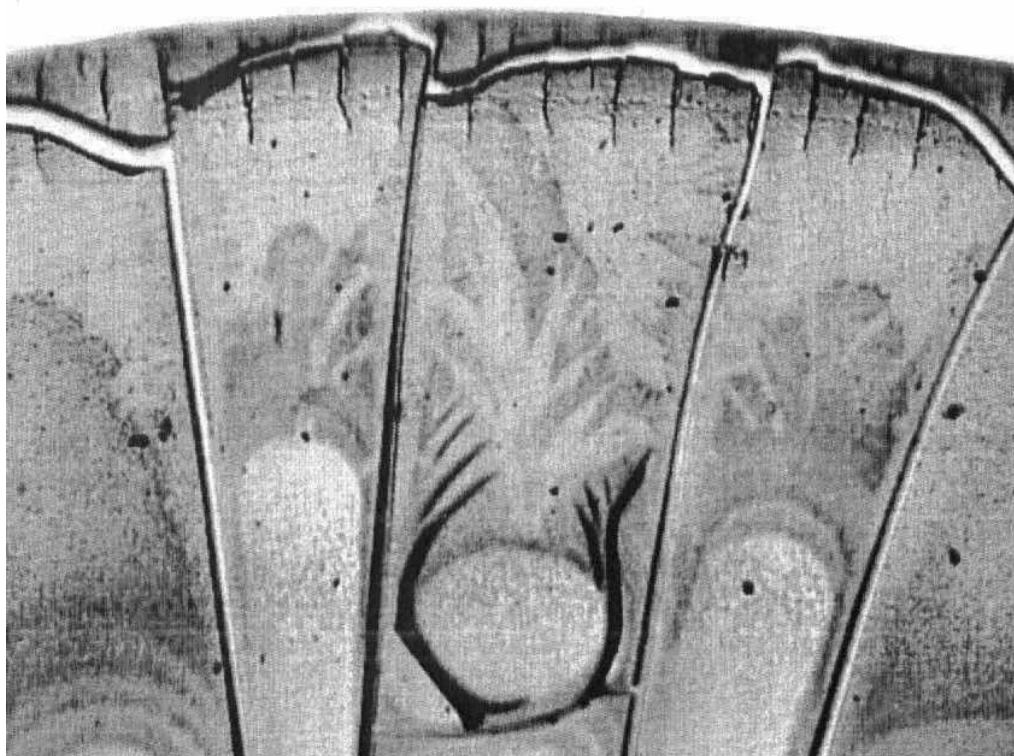


Рис. 2-10-8. Языковые структуры.

2.10.6 Образование листьев.

Листья образуются в ячейках в виде осадочных структур вдоль радиальных трещин. Образование листьев происходит на начальном этапе дегидратации. Образование листьев связано с начальной фазой выпадения коричневого осадка (глобулинов). Как правило, листья образуются на самом краю капли у радиальных трещин, не имеющих закругление, и выходящих перпендикулярно к краю капли. В этом случае ячейка получается незавершенной (отсутствует одна из четырех ограничивающих трещин). Это нарушает процесс нормального выпадения осадка, и образуются листья. Если глобулинов достаточное количество, то листья расширяются, и сливаются.



Рис. 2-10-9. Структура типа «лист» в сформированной капле. Поле зрения 2мм.

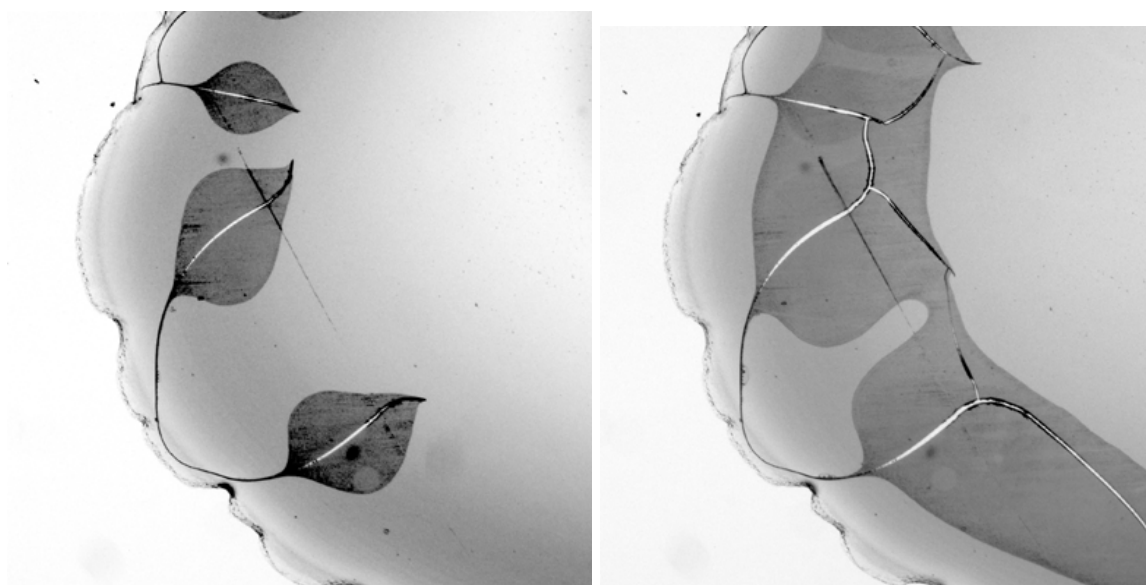


Рис. 2-10-10. Динамика формирования листьев. Снимки сделаны через 60 и 70 мин после начала дегидратации. Поле зрения 2мм.

Шатохина С.Н. Шабалин В.Н. Балканов А.С.

Способ оценки поражения стенок сосудов ионизирующим излучением при проведении лучевой терапии. Патент 2379688. 2010.+

Способ определения поражения организма ионизирующим излучением при проведении лучевой терапии включает микроскопическое исследование сыворотки крови до и после облучения, при этом каплю наносят на прозрачную поверхность, высушивают при 20-25°C и относительной влажности 55-60%, через 2-3 суток пробы микроскопируют. При выявлении 2-кратного увеличения количества структур в форме листа в пробе после облучения по сравнению с пробой до облучения оценивают поражение стенок сосудов как незначительное. При 3-9-кратном увеличении количества структур в виде листа после облучения говорят о выраженном склерозировании сосудов. Использование способа позволяет диагностировать и дифференцировать больных по степени тяжести и на основании этого своевременно начать соответствующее медикаментозное лечение.

Шатохина С.Н. Балканов А.С. Петрушкина Н.Н.

Способ лечения злокачественной глиомы головного мозга. Патент 2402360. 2010.+

После удаления опухоли ежедневно внутримышечно вводят глюкокортикоиды и проводят лучевую терапию. До начала облучения и в процессе лечения через каждые 7-10 дней сыворотку крови наносят на прозрачную поверхность, высушивают при 20-25°C и относительной влажности 55-60% и исследуют микроскопическую картину фации сыворотки крови. При появлении в пробе в процессе облучения структур в форме листа или увеличении их количества по сравнению с пробой до облучения менее чем в 2 раза дополнительно вводят трентал внутривенно в дозе 100-200 мг дважды в неделю. В случае увеличения количества таких структур в пробе в 2 и большее число раз вводят трентал внутривенно в дозе 200-300 мг дважды в неделю и актовегин в дозе 400 мг ежедневно. Препараты вводят до завершения курса лучевой терапии.

2.10.7 Образование трещин в ячейках.

Если толщина ячейки достаточно большая (больше 0,6мм) то начинается растрескивание альбумина. Появляются дугообразные трещины вокруг ядра ячейки. Если толщина ячейки еще больше (более 0,8мм) то образуются спиралевидные и сферические трещины вокруг ядра. При испарении воды из ячейки происходит затвердевание с верхнего края ячейки и с боков со стороны трещин. Внутренняя область ячейки более богата водой и более жидкая. При дальнейшем испарении воды внутренняя часть усыхает, и ее объем уменьшается. Так как внешняя часть затвердела и не может сжаться, то происходит отслаивание внутренней части от внешней, и образуется сферическая или кольцевая трещина. Затем внутренняя часть опять усыхает, и возникает следующая трещина, и т.д. Если структура ячейки однородна, то возникают концентрические трещины. Обычно образуется трещина в виде спирали, которая по мере сжатия внутренней части закручивается внутрь ячейки. Существуют трещины, которые закручиваются по часовой стрелке, и существуют трещины, которые закручиваются против часовой стрелки. Выделенного направления нет. Это напоминает винтовую дислокацию при росте кристаллов.

Причиной образования дугообразных трещин так же является уменьшение объема геля при испарении связанной воды. Дугообразные трещины возникают когда ячейка недостаточно толстая. Если бы не было прилипания ячейки к стеклу, то ячейка свернулась бы в виде чашки. Если раскапывать на пластик, то ячейки отскакивают и сворачиваются в виде чашек. Если нет сворачивания, то в ячейке возникают концентрические напряжения. Эти напряжения и вызывают возникновение дугообразных трещин. Чем толще ячейка-тем более сильное напряжение возникает, и тем большее число трещин образуется. В тонких ячейках, в которых напряжение маленькое, дугообразных трещин не возникает. Количество трещин определяется не только толщиной геля, но и концентрацией белка.

Механизм образования дуговых трещин. При возрастании напряжения трещинообразование начинается в некоторой точке, точке зарождения трещины. Эта точка должна удовлетворять двум условиям: напряжение в этой точке должно быть достаточно большим, а прочность геля в этой точке должно быть достаточно малым. Как правило, такими точками максимального напряжения являются различные неоднородности и включения, имеющиеся в геле. Трещина после возникновения начинает распространяться перпендикулярно градиенту напряжения, т.е. по дуге. Когда трещина совершит один оборот, она вернется не в ту же точку, из которой она возникла, а в более близкую к центру ячейки точку. Это вызвано тем, что за один оборот трещины изменилась картина напряжений. Таким образом, получается закручивающаяся к центру спираль.

Если ячейка имеет не квадратную форму, а вытянутую, то возникают не спирали а отдельные дуги.



Рис. 2-10-11. Концентрические трещины в ячейке. Поле зрения 0,3мм.

Завершение первого этапа дегидратации:

- Коричневое кольцо смыкается в центре и пропадает.
- Исчезает выпуклая жидкая капля в центре высыхающей капли.
- Высохшая капля принимает форму тора.
- Радиальные трещины доходят до центра и смыкаются.

Этот момент служит точкой отсчета во временной шкале, к которой привязываются другие события. Заканчивается испарение свободной воды. В дальнейшем начинает испаряться связанная вода из геля. Продолжается образование поперечных трещин. В дальнейшем все процессы происходит в направлении от границ трещин и от верхней поверхности капли, так как они являются границей капли с внешней средой. От трещин начинается кристаллизация, так как трещины служат центрами кристаллообразования. Через поверхность трещин происходит дальнейшее испарение воды. Процессы дальнейшего загустения и кристаллизации развиваются от трещин по направлению к центру ячеек. Это процесс особенно хорошо наблюдать на нижней поверхности капли. Для этого можно использовать инвертированный микроскоп, или просто перевернуть стекло с высыхающей каплей нижней поверхностью вверх. Процесс кристаллизации от трещин удобно наблюдать в режиме темного поля.

2.10.8 Интерференционные кольца.

При специальном освещении (отраженный свет) над ячейками можно наблюдать интерференционные кольца. Центр интерференционных колец находится в центре ячейки. Интерференционные кольца видны даже тогда, когда ячейка прозрачна и в ней не видно ядра.

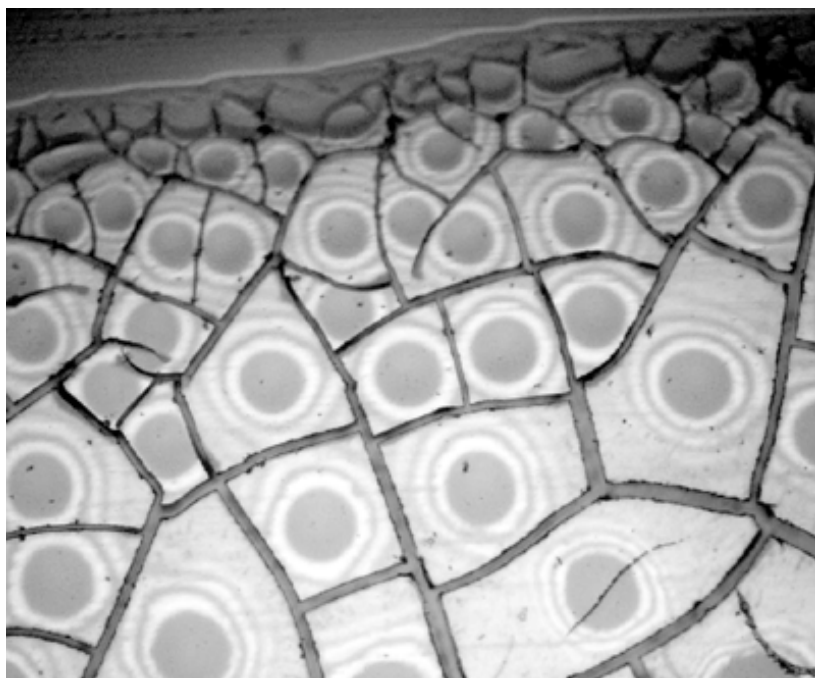


Рис. 2-10-12. Видны интерференционные кольца в ячейках, хотя ядер в ячейках не видно. Отраженный свет. Поле зрения 2мм.

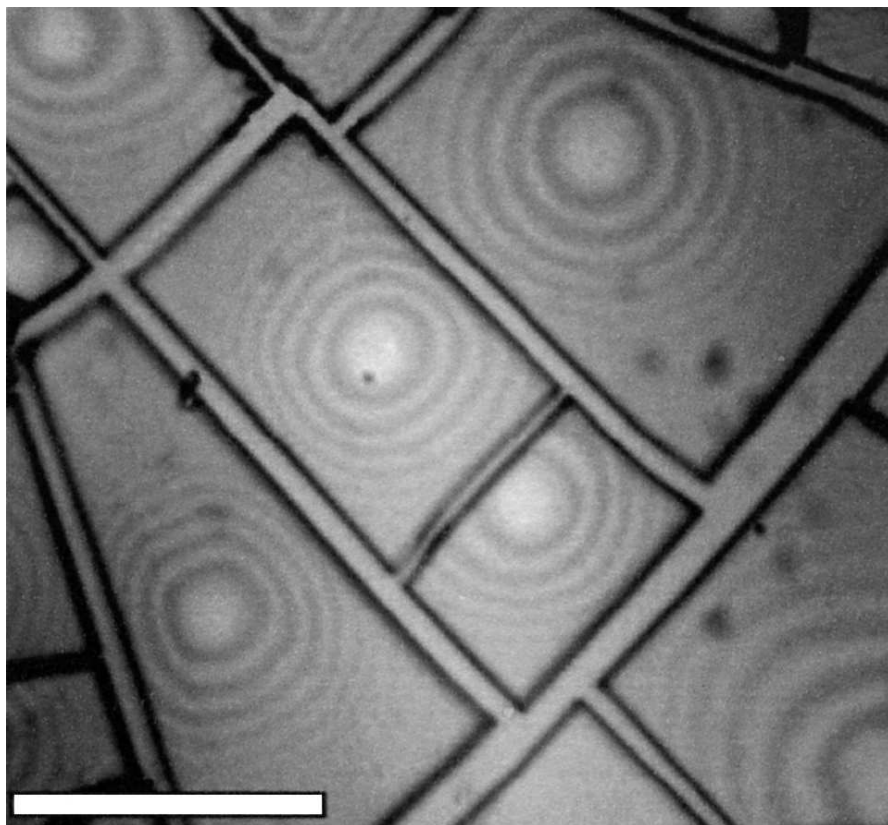


Рис. 1-10-13. Интерференционные полосы в ячейках (Pauchard L./ Europhys. Lett. 2006. Vol. 74(1). P.188).

Для объяснения эффекта возникновения интерференционных колец возможно несколько моделей.

1-Прослойка воздуха. Возникновение интерференционных полос объяснялось отслоением геля от подложки и проникновением воздуха в щель между гелем и подложкой. Воздух замещает испаряющуюся воду (отделяющуюся от геля) в силу капиллярности.

2-Прослойка воды. Гель сжался, но не совсем оторвался от подложки. Между гелем и подложкой осталась прослойка воды.

3-Градиент оптической плотности. Обычно интерференционные кольца возникают из-за изменения длины оптического пути (клин). В случае ячейки длина оптического пути не меняется, толщина ячейки постоянна. Изменяется показатель преломления среды. У ядра ячейки показатель преломления маленький, там мало белков. За пределами ядра показатель преломления возрастает, так как возрастает концентрация белков. Следовательно, возрастает набег фазы и возникают интерференционные кольца.

Третий этап-затвердевание.

2.11 от 80 мин до 7 дней. Усыхание капли.

Начинается усыхание высушенной капли. Через три часа после раскапывания внешний край капли (ячейки с ядрами) затвердевают полностью. При скалывании острым скальпелем отлетают кА целые пластинки. Средняя и внутренняя часть капли не скалываются, а сдвигаются как пластилин. Значит, в этих областях сыворотка еще находится в гелеобразном, а не твердом состоянии. Испаряется оставшаяся связанная вода. Происходит окончательное затвердевание всей капли в средней и центральной зоне. Образовавшиеся ячейки усыхают и сжимаются. Трещины, разделяющие области-расширяются. Результирующая высота сухой капли составляет одну десятую от исходной высоты капли, так как вода составляет 90% капли.

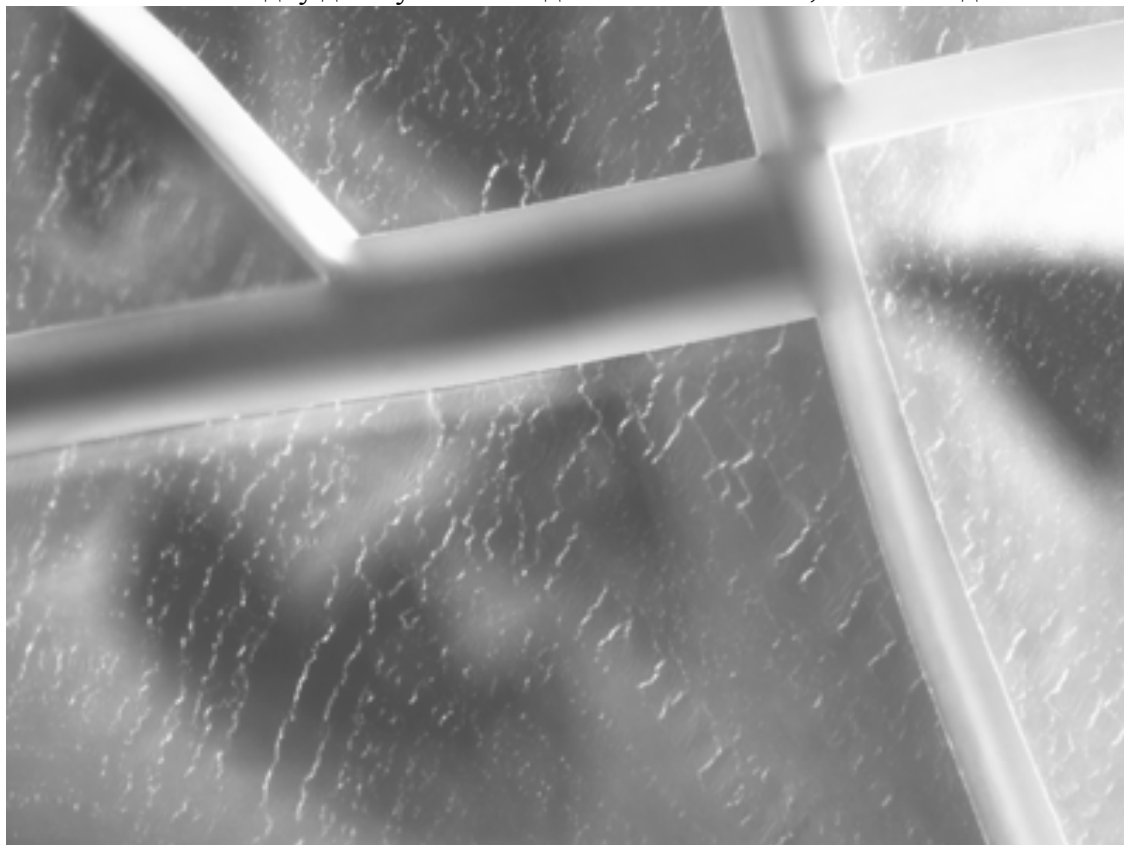


Рис. 2-11-1. Расхождение трещин при усыхании ячеек. Фокусировка на верхней поверхности ячеек. Боковое освещение. Поле зрения 1мм.

2.12 от 3 до 7 дней. Кристаллизация липидов.

При перераспределении компонент сыворотки крови на начальном этапе, липиды и липопротеины оказываются сосредоточенными в основном в переходной зоне. Альбумин оттесняет липиды от края, а соли оттесняют липиды от центра. Через несколько дней после начала дегидратации начинается кристаллизация липидов в виде темно коричневого осадка. Кристаллизация липидов происходит на верхней поверхности капли. Это объясняется тем, что еще на стадии жидкой капли и геля липиды собираются на поверхности раздела жидкость-воздух. Так как липиды являются поверхностно-активными веществами, гидрофобными. В тонком слое на верхней поверхности капли имеется повышенная концентрация липидов, и в этой пленке происходит кристаллизация липидов. Липиды кристаллизуются в виде отдельных агрегатов, зерен.

Имеется два типа кристаллизации:

- в виде небольших агрегатов, которые в скрещенных поляроидах видны в виде мальтийского креста, а при обычном освещении в виде прозрачных точек.
- в виде больших агрегатов, которые в поляризованном свете ярко светятся, а при обычном освещении имеют вид темных пятен.

В капле можно наблюдать коричневый осадок двух типов-светло коричневый и темно коричневый. Темно коричневый осадок, который в поляризованном свете ярко светится-образован белками (липопротеинами) и липидами. Темный осадок, который в поляризованном свете не светится-образован белками (гамма глобулинами).

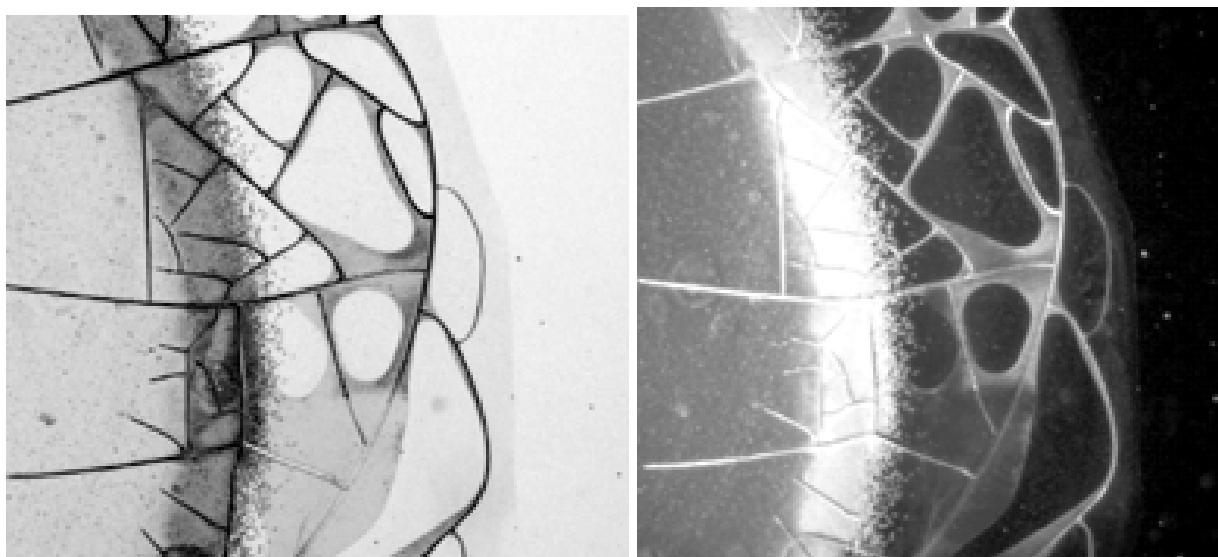


Рис. 2-12-1. Кольцевая зона липидов в проходящем и в поляризованном свете. Поле зрения 3мм.

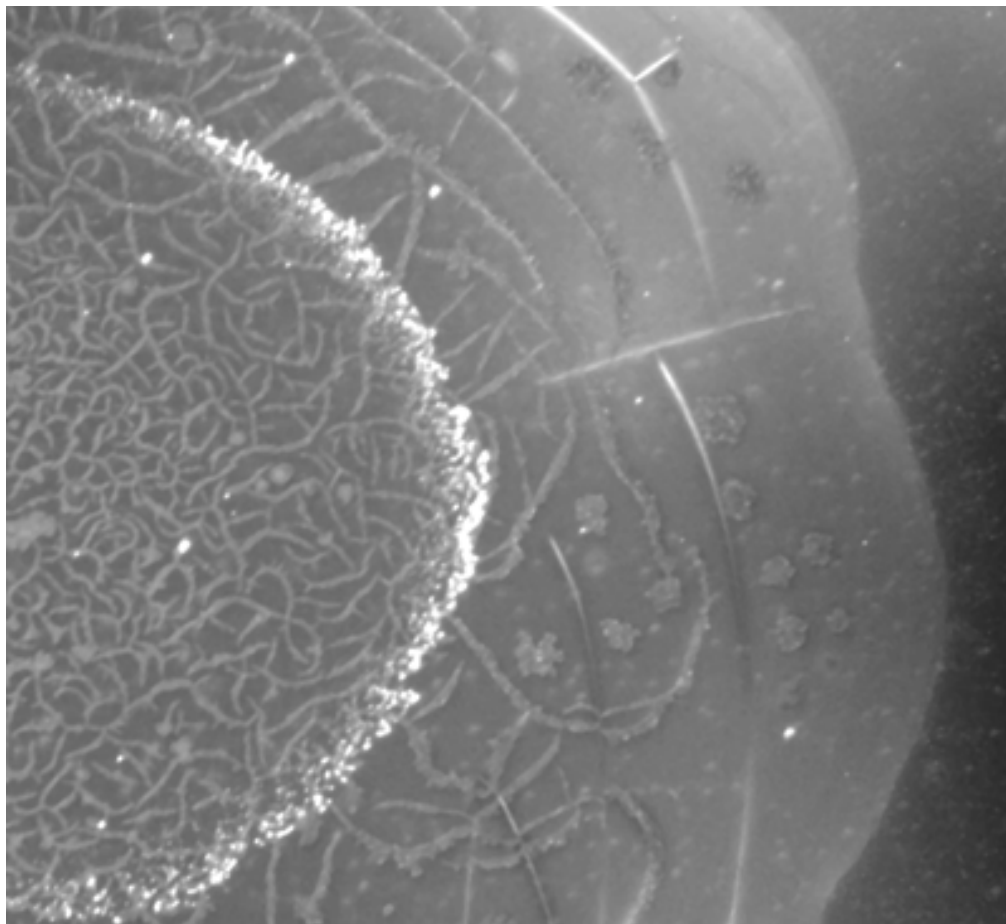


Рис. 2-12-2. Локализация кристаллов липидов в переходной зоне. Поляризованный свет. Поле зрения 4мм.

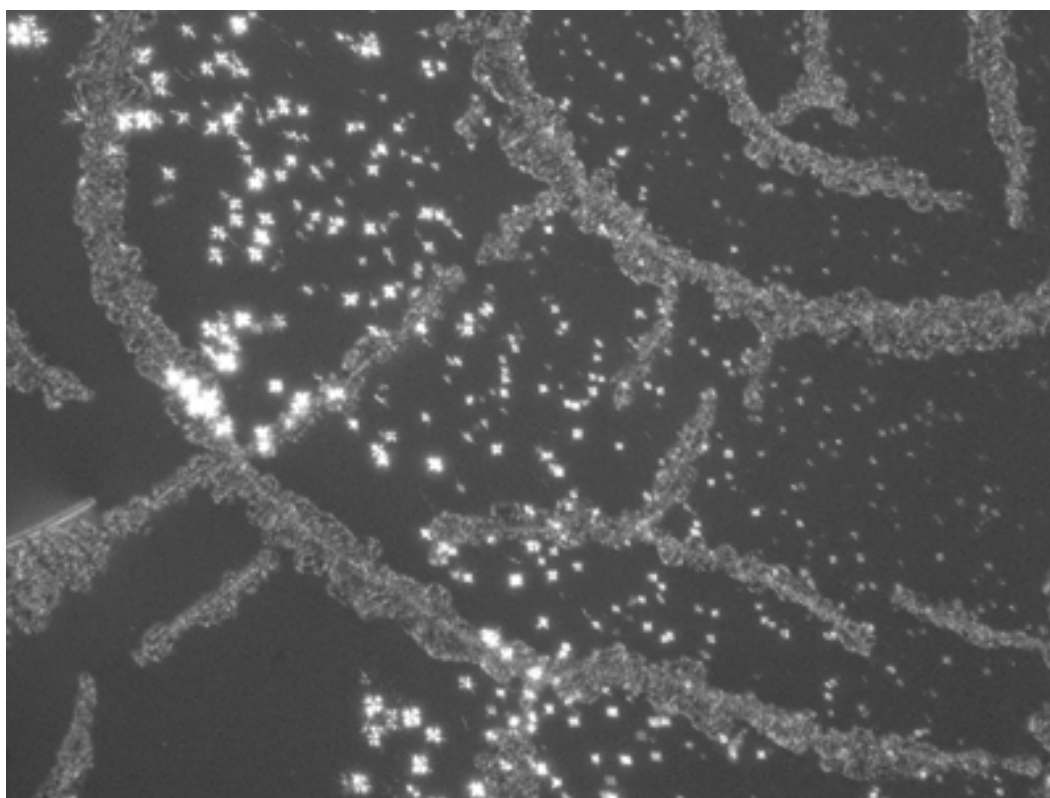


Рис. 2-12-3. Мелкие кристаллы липидов в поляризованном свете. Поле зрения 1мм.

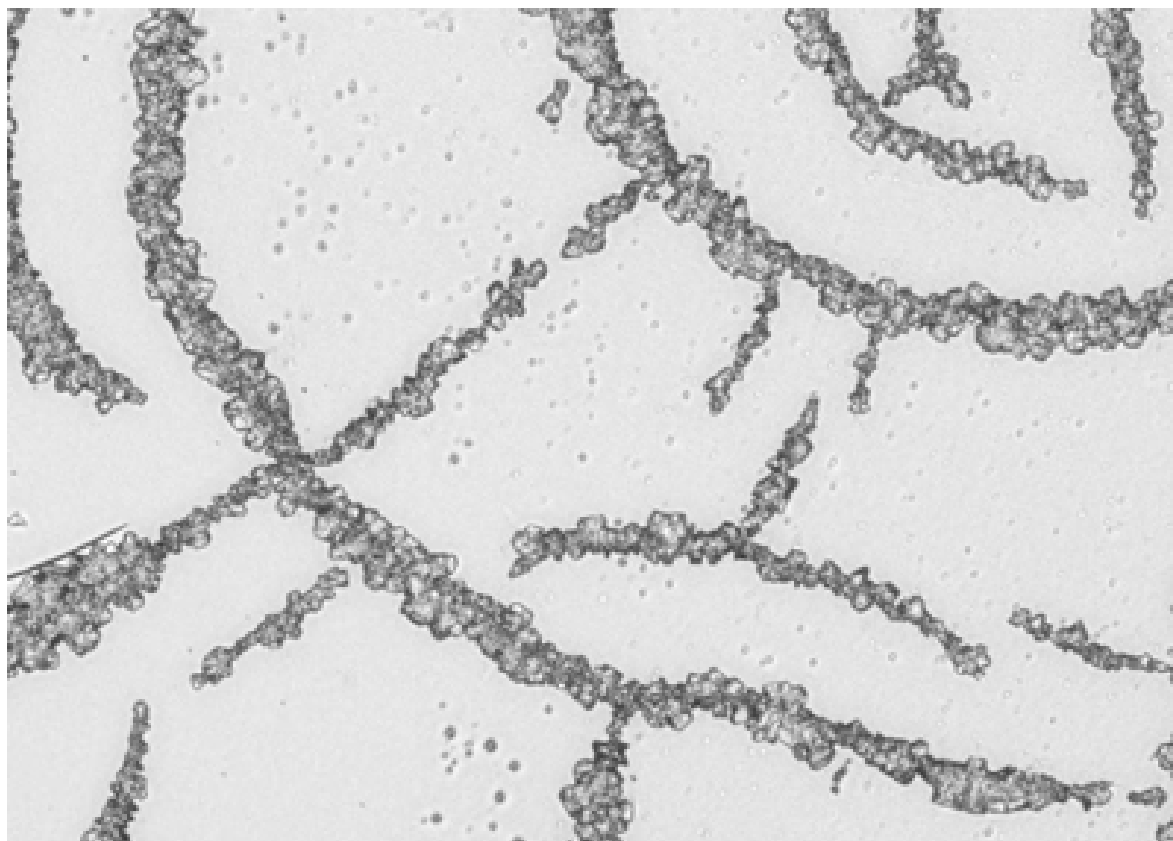


Рис. 2-12-4. Мелкие кристаллы липидов (точки) при обычном освещении. Кристаллы вдоль трещин-кристаллы соли. Поле зрения 1мм.

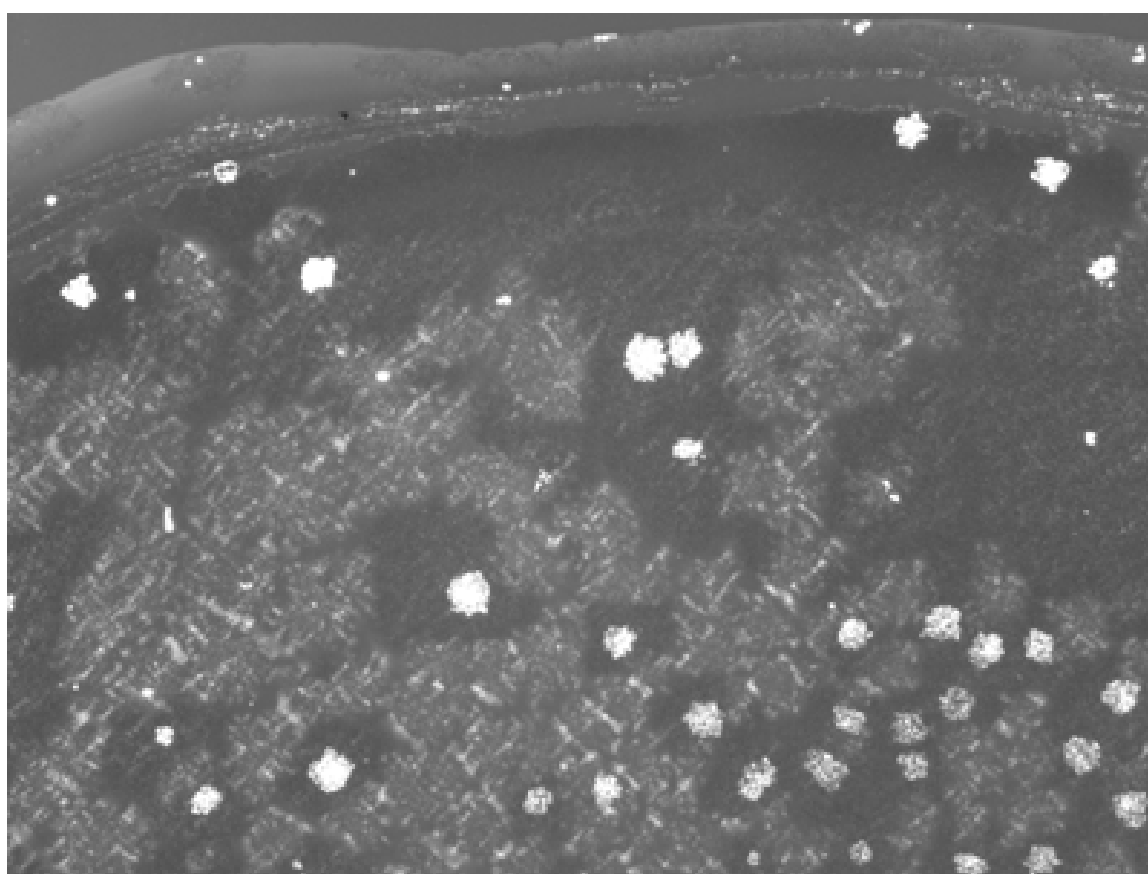


Рис. 2-12-5. Крупные агрегаты липидов. Поляризованный свет. Поле зрения 2мм.

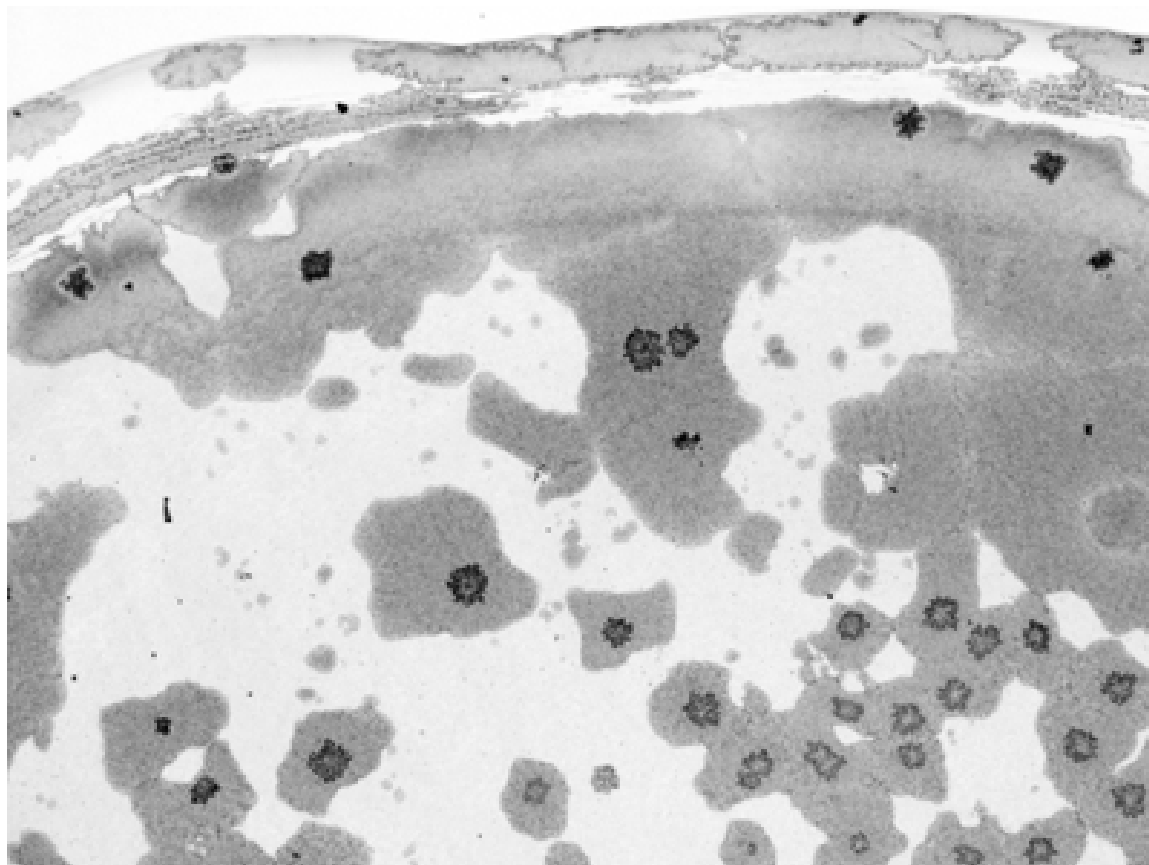


Рис. 2-12-6. Крупные агрегаты липидов. Обычное освещение. Поле зрения 2мм.

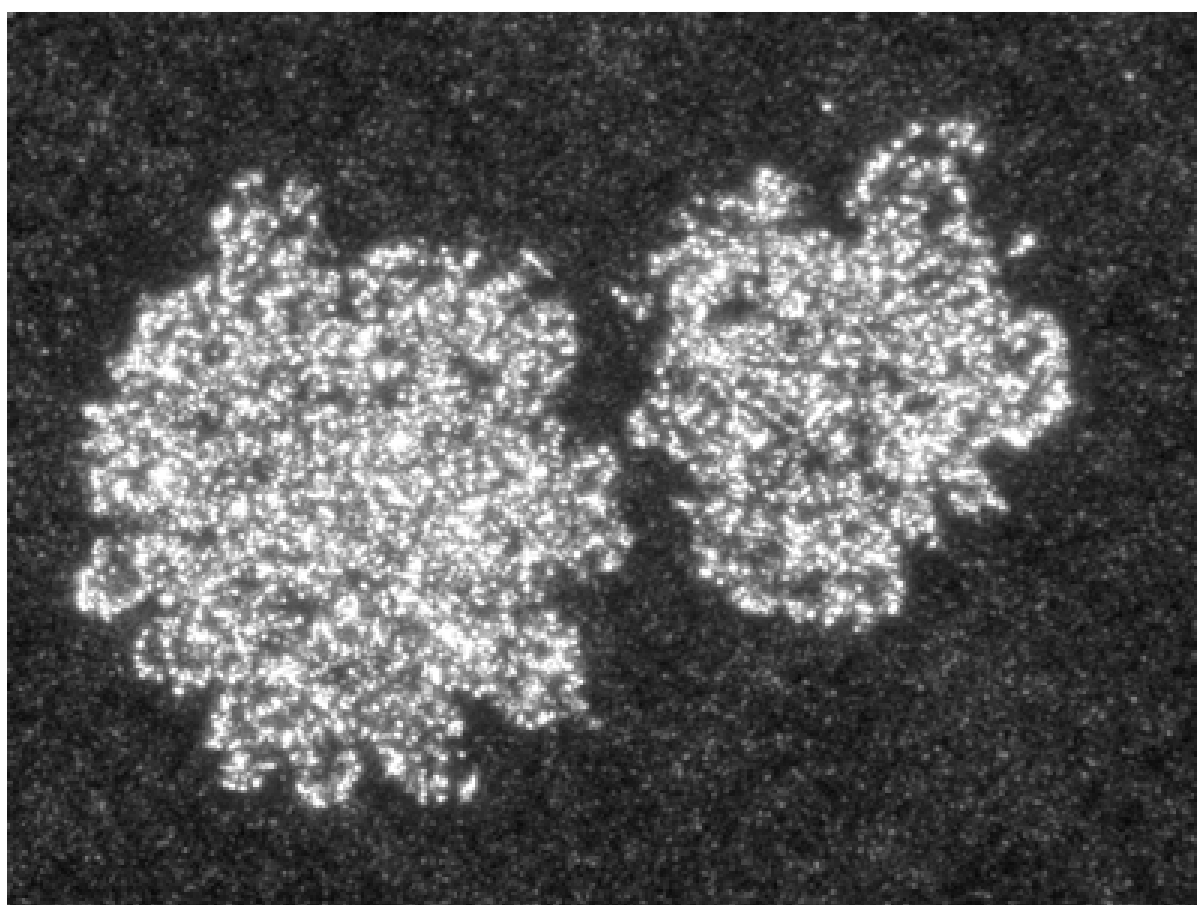


Рис. 1-12-7. Крупные агрегаты липидов. Поляризованный свет. Поле зрения 0,5мм.

2.13 от 3 до 7 дней. Внешняя кристаллизация.

Внешней кристаллизацией называется кристаллизация веществ из пара на поверхности стекла вокруг высохшей капли. Встречаются различные типы кристаллов.

1-Точечные кристаллы. Это кристаллы соли.



Рис. 2-13-1. Кристаллы внешние точечные. Темное поле. Поле зрения 0,7мм.

2-Игольчатые кристаллы. Это кристаллы уратов.



Рис. 2-13-2. Кристаллы внешние иглы. Темное поле. Поле зрения-0,7мм.

3-Нитевидные кристаллы.



Рис. 2-13-3. Кристаллы внешние нитевидные. Темное поле. Поле зрения-1,5мм.

2.14 от 7 дней до бесконечности. Перекристаллизация.

В течение недели завершаются все основные процессы, но процессы изменения в капле не прекращаются никогда. Происходит только замедление процессов.

Затвердевание. Через 14 дней после раскапывания не вся капля затвердевает. За две недели затвердевает только краевая зона капли. Центральная зона сохраняет форму геля. Это легко проверить с помощью тонкой иглы. При касании иглой краевой зоны образовавшиеся ячейки отскакивают как твердые пластинки. При проведении иглой по центральной зоне остается след от иглы как в пластилине.

Напряжения, отслаивание. В высохшей капле остаются сильные остаточные напряжения, сжимающие каплю. Под действием этих напряжений ячейки отслаиваются от стеклянной подложки. Если каплю высушить на целлофановой пленке, то пленка под действием напряжений в высохшей капле сморщится. Если высушить каплю на поверхности пластмассы, то после высыхания капля довольно быстро отскочит и скрутится. Это объясняется тем, что сцепление высохшей капли с пластмассой гораздо слабее, чем сцепление капли со стеклом. Если капля сохнет на стекле, то отслаивания произойдет не сразу, так как у сыворотки хорошее сцепление со стеклом. Но с течением времени все равно происходит отслаивание ячеек от стекла.

Перекристаллизация. При быстром высыхании вещества в высохшей сыворотки крови оказываются распределенными в пространственной матрице из альбуминового геля. Затем начинается процесс перекристаллизации, и из геля постепенно начинают образовываться кристаллы отдельных компонент. Так как в геле диффузия гораздо медленнее, чем в растворе, то процессы кристаллизации являются очень длительными. Процесс кристаллизации продолжается и месяц, и год.

При длительном хранении в краевой зоне (в осадке на дне по краям ячеек) происходит образование овальных агрегатов, которые в поляризованном свете ярко светятся. Скорее всего, это липиды или липопroteины.

При длительном хранении при повышенной влажности на поверхности стекла и высохшей капли образуется множество тонких дендритов. Скорее всего, это плесень, мицелии грибов.

Глава 3. Структура высохшей капли.

Определения:

Ячейка-часть высохшей капли, с четырех сторон ограниченная трещинами.

Сектор-часть высохшей капли между двумя соседними радиальными трещинами.

Ядро-центральная часть ячейки в форме круга.

3.1 Зоны.

В сухой капле можно выделить три зоны:

1-краевая, внешняя, периферийная (белковая зона),

2-переходная, средняя зона (белки, липиды, соли),

3-внутренняя, центральная (солевая зона).

Структура высохшей капли имеет два уровня иерархии-структура самой капли, и структура ячеек. Структура самой капли формируется на первом этапе дегидратации. Структура капли имеет строение в виде кольцевых образований и трещин. Эта структура определяется прежде всего перераспределением белка и соли в зависимости от расстояния до центра капли. Структура ячеек определяется на заключительном этапе дегидратации.

Особенно четко структура капли проявляется при раскапывании капли большого объема, например, 100 мкл.

Таблица 1-5. Характеристики различных зон в капле.

Зона	Краевая	Переходная	Центральная
Средний радиус	7мм	5мм	4мм
Состав	1-Альбумин-прозрачный толстый валик 2-Агрегаты белка-осадок на дне капли	1-Альбумин-прозрачная пленка средней толщины 2-Глобулин-осадок на дне капли 3-Соль-отдельные кристаллы на поверхности и на дне капли	1-Альбумин-прозрачная тонкая пленка 2-Соль-сплошная корка кристаллов на поверхности капли
Форма поверхности	Выпуклый валик	Наклонная	Плоская
Структура поверхности	Гладкая	Шероховатая	Шероховатая
На просвет	Прозрачная	Светлая, мутная	Темная, мутная
Темнопольное освещение	Темная	Светлая,	Яркая светлая
Отражение	Блестящая	Матовая	Матовая
Псевдотрещины	нет	есть	есть
Кристаллы соли	нет	есть	есть
Коричневый осадок	есть	нет	нет

Таблица 1-6. Наблюдение зон невооруженным глазом.

Зона	Боковое освещение	Наблюдение на просвет
Краевая	блестящая	Прозрачная
переходная	-	Темно серая
центральная	матовая	Светло серая

1-Краевая зона. Краевая зона представляет собой выпуклый валик, расположенный на внешнем краю капли. Объем краевой зоны (высота валика и ширина валика) пропорциональна количеству белка, содержащегося в капле. Краевая зона состоит в основном из белка-альбумина. Самый край краевой зоны представляет собой узкую прозрачную полоску. Полоска прозрачна и в проходящем и в отраженном свете, и в режиме темнопольного освещения. Это означает, что полоска однородна и не содержит мелких агрегатов. В этой области очень мало трещин, так как она имеет малую высоту. Ближе к центру начинается область, содержащая микровключения. Это область светится в отраженном свете и в режиме темнопольного освещения. Чем ближе к центру-тем выше концентрация соли в среде, и поэтому свойства среды изменяются. Краевая зона прозрачна при наблюдении в проходящем свете. При наблюдении в темнопольном режиме вся зона заполнена очень мелкими агрегатами. Иногда на верхней поверхности видны небольшие частицы, скорее всего это мелкие кристаллы соли.

Валик является высохшим гелем белка. За валиком к центру идет ровная площадка высохшего геля с малой концентрацией белка. Если переход валика в горизонтальную поверхность резкий-значит, белок сильно отделился. Если переход валика в горизонтальную поверхность плавный-значит, имеется плавный переход, и нет резкого отделения белка.

Под валиком часто имеет место выпадение коричневого осадка (белка) в ячейках. В режиме темнопольного наблюдения этот осадок виден в виде ярких белых точек на темном фоне. Это говорит о том, что белок выпал в виде агрегатов, которые сильно рассеивают свет. Таким образом, получаем, что характеристикой состояния белка являются следующие параметры: размер валика, величина коричневого осадка в светлопольном режиме наблюдения, величина яркой белой полосы в темнопольном режиме наблюдения.

2-Переходная зона. В переходной зоне при движении от края к центру уменьшается концентрация белка, и увеличивается концентрация соли. Поверхность плоская, шероховатая. Кристаллы соли расположены на верхней поверхности высохшей капли, и имеют вид агрегатов из плоских кристаллов.

Можно выделить несколько зон кристаллов соли:

- нет кристаллов в краевой зоне,
- появляются изолированные кристаллы в переходной зоне,
- появляются агрегаты кристаллов в виде линий вдоль трещин в переходной зоне,
- появляется сплошная корка кристаллов соли в центральной зоне.

Между краевой и центральной зоной иногда образуется кольцо. В проходящем свете кольцо выглядит коричневым с четкими внутренним и внешним краями. В темнопольном режиме кольцо ярко светится, так как состоит из большого числа мелких агрегатов, которые хорошо рассеивают свет.

3-Центральная зона. Центральная зона представляет собой сплошное поле кристаллов соли сверху над тонкой пленкой белка. Внешняя поверхность зоны-плоская, шероховатая поверхность кристаллов соли. Форма области-круглая с ломаной границей. Форма границы определяется неравномерным распределением соли при кристаллизации. На просвет центральная зона имеет темный вид, не прозрачна. На отражение центральная зона имеет яркий светлый вид, так как боковые поверхности кристаллов соли хорошо отражают свет.

Образование кристаллов соли на верхней поверхности капли начинается с центра кристаллизации, в качестве которой может быть пылинка. Затем рост осуществляется с двух сторон-сверху из пара испаряющегося раствора и снизу за счет присоединения атомов Na и Cl из находящегося снизу пересыщенного раствора соли.

Можно определить следующие характерные морфометрические параметры капли:

R1-исходный радиус капли,

R2-радиус, при котором высота белкового валика максимальна ($h(r)=\max$, первая производная функции $h(r)=0$),

R3-радиус, при котором валик переходит в плато (первая производная функции $h(r)$ минимальна)-радиус центральной зоны,
R4-радиус изменения ориентации трещин R-трещин, при котором концентрические трещины переходят в радиальные,
R5-радиус, при котором появляются кристаллы соли на поверхности,
R6-радиус, при котором кристаллы соли образуют сплошной покров,
R7-внутренний радиус темного кольца выпавших белков.

3.2 Структуры различного уровня.

При дегидратации капли возникают различные структуры. Можно ввести понятие-уровень структуры. Чем меньше уровень структуры-тем на более раннем этапе образовалась структура. Структуры высоких уровней при своем образовании нарушают структуру более низких уровней. Трещины более высокого уровня упираются в трещины более низкого уровня.

Образовавшиеся в высохшей капле структуры имеют следующие уровни:

- 1-й уровень-краевой валик, морщины, осадок в виде течений на дне капли,
- 2-й уровень-концентрические следы движения фронты жидкой фазы на верхней поверхности капли,
- 3-й уровень-дуговые краевые и радиальные трещины,
- 4-й уровень-поперечные трещины,
- 5-й уровень-ячейки,
- 6-й уровень-темный осадок и языковые структуры в ячейках,
- 7-й уровень-псевдотрещины,
- 8-й уровень-кристаллы соли.

Локализация структур:

Верхняя поверхность капли: кристаллы соли, кристаллы липидов, псевдотрещины,

Нижняя поверхность капли: морщины, темный осадок в ячейках.

3.3 Типы трещин.

Большинство структурных элементов высохшей капли-это трещины. Можно сказать, что структура капли-это структура трещин. Не трещинами являются только некоторые элементы, например: осадок белка, языковые структуры, морщины и кристаллы соли на поверхности капли. Все остальное-это трещины.

Условия образования трещин. Основной причиной образования трещин является уменьшение объема геля при испарении воды. При уменьшении объема геля в геле возникают напряжения. Основными параметрами, определяющими структуру трещин, являются скорость нарастания напряжения, и скорость релаксации напряжения.

Скорость нарастания напряжения определяется скоростью испарения (сколько воды испаряется в единицу времени), и коэффициентом сжатия. Коэффициент сжатия определяет, на сколько уменьшится объем геля при испарении фиксированного объема воды. Если коэффициент сжатия равен нулю (не происходит изменения объема геля при испарении воды), то напряжений не возникает, и трещины не образуются. Если коэффициент сжатия большой, то уже при небольшом испарении воды возникают напряжения и трещины.

Скорость релаксации зависит от состояния среды. Если среда жидкая, то скорость релаксации высокая, и напряжения не образуются. Если среда твердая, то скорость релаксации равна нулю, релаксации не происходит, напряжение возрастает до критического напряжения, при котором происходит разрыв (разрушение) среды. При загустении сыворотки скорость релаксации убывает до нуля (время релаксации напряжений возрастает до бесконечности). Скорость релаксации прежде всего определяется динамической вязкостью среды и граничными условиями. В загустевающей сыворотке напряжения возникают вследствие сжатия (усыхания)

сыворотки. Если бы сыворотка была в изолированном пространстве, то она просто уменьшилась в объеме без образования трещин. Образование трещин происходит вследствие того, что сыворотка находится прикрепленной к поверхности стекла и не может сжиматься. В связи с этим возникают напряжения и растрескивание.

На начальном этапе высыхания сыворотки сыворотка является жидкой. Скорость релаксации напряжений-высокая, и больше скорости нарастания напряжений. При этом трещины не образуются. Самое интересное начинается, когда сыворотка загустевает, скорость релаксации напряжений уменьшается, а скорость нарастания напряжений растет. В некоторый момент напряжения в сыворотке не успевают релаксировать, и начинается рост напряжений в сыворотке.

Процесс разрушения среды при росте напряжений в среде определяется свойствами среды. Прежде всего, отметим, что в среде возникают напряжения, стремящиеся сжать среду. Но это не внешнее сжатие, а усадка, сжатие самой среды. Рассмотрим три случая.

1-Среда жидкая или вязкая. Нет растрескивания, так как высокая скорость релаксации.

2-Среда твердая. Нет релаксации. При достижении критического значения напряжение происходит образование трещины, разрушение среды.

3-Самый интересный случай-среда гелеобразная, структурированная, например, раствор высокомолекулярных соединений. При достижении некоторого критического значения происходит образование псевдотрещин. Разрушается структура геля, но не происходит разрушения среды. Образуется трещина без раскрытия, заполненная растворителем, стенки которой стянуты волокнами структуры сети.

Рассмотрим различные режимы образования трещин в зависимости от скорости гелеобразования и скорости высыхания (время гелеобразования и время высыхания). При проведении стандартной методики дегидратации время высыхания для разных образцов сыворотки одинаковое. А время гелеобразования зависит от состава и состояния сыворотки.

Возможны три случая:

1-время гелеобразования гораздо больше времени высыхания (скорость гелеобразования маленькая)-это стандартный случай. При высыхании центральная часть капли остается жидкой, и образуются радиальные трещины.

2-время гелеобразования сравнимо с временем высыхания. В этом случае на поверхности капли образуется корочка геля. Растрескивание хаотическое.

3-время гелеобразования гораздо меньше времени высыхания (скорость гелеобразования высокая). Капля практически сразу переходит в фазу геля. Растрескивание происходит концентрическими трещинами.

Можно выделить следующие варианты растрескивания в центральной области:

1-Радиальные трещины, разбивают центральную область на сектора,

2-Прямоллинейные трещины через все поле с произвольной ориентацией, разбивают центральную область на многоугольники с прямолинейными границами,

3-Сеть тонких трещин, которые являются продолжением основных трещин, и разбивают центральную область на многоугольники с изогнутыми границами,

4-Жгутовые трещины, и дугообразные псевдотрещины между ними,

5-Нет крупных трещин, только мелкие дугообразные псевдотрещины.

Образование трещин в центральной области определяется, прежде всего, толщиной белковой пленки, которая образовалась в центральной части капли.

1-Пленка очень тонкая. В этом случае трещин не образуется, так как не возникает сильных напряжений. Очень тонкая пленка образуется, если объем капли меньше 3 мкл.

2-Токая пленка. В этом случае образуются отдельные многолучевые трещины.

3-Толстая пленка. Возможны два варианта. Если соли мало, то образуются прямые трещины (радиальные или произвольной ориентации). Если соли много, то образуются загнутые (жгутовые) трещины.

Можно выделить несколько типов трещин в зависимости от условий образования.

1-Трещины типа 1-это глобальные трещины, пересекающие всю каплю, и образовавшиеся на ранней стадии. Условия образования-образуются в толстом слое сжимающегося геля с фиксированным дном.

Они состоят из следующих групп трещин:

- аркообразные-расположены в краевой зоне,
- радиальные-расположены в промежуточной и центральной зоне. Являются продолжением дугообразных трещин и проходят до центра капли, формируют сектора в структуре капли.
- поперечные-образуются между радиальными трещинами. Формируют границы ячеек.
- косые-длинные трещины, которые образуются когда нет радиальных трещин (при патологии),

2-Трещины типа 2-дуговые, кольцевые, концентрические, спиральные-образуются в краевой зоне белкового валика, в ячейках, при растрескивании белка. Условия образования-образуются в толстом кубике геля с затвердевшими боковыми сторонами.

Для образования кольцевых трещин необходимо, чтобы толщина ячейки была больше некоторой критической величины. Дуги бывают незамкнутыми, замкнутыми (кольцевыми), спиралевидными. По мере увеличения толщины слоя белка (толщины ячейки): когда белок тонкий-нет трещин, потом образуются дуговые трещины, кольцевые, спиральные. Если толщина белка очень большая, то образуются сферические трещины, в виде вложенных сфер. Разновидностью трещин типа 2 являются языковые трещины. Они образуются в ячейках в виде параллельных дуговых трещин при образовании языков. Языковые трещины это дуговые трещины, которые отходят от языков.

Концентрические трещины образуют шаровую отдельность, очень характерную для лав, изливающихся в море. При этом происходит быстрое охлаждение и быстрое затвердевание.

3-Трещины типа 3-штриховые трещины-короткие трещины, которые возникают в углах ячеек, и образованы путем растрескивания краев основных трещин типа 1. Как правило, это наклонные трещины, видны не в виде линий, а в виде треугольников.

4-Трещины типа 4-гребешковые трещины, трещины в виде лесенки. Они расположены в тонкой кольцевой зоне на самом краю капли. Образуются на самом раннем этапе. Условия образования-образуются в клиновидном слое застывшего геля.

Трещины в центральной области капли.

5-Трещины типа 5-дендритные трещины, расположены в центральной области капли. Условия образования-образуются в тонком слое геля. Образуют разветвленный дендрит, растущий из некоторого центра.

6-Трещины типа 6-жгутовые трещины, расположены в центральной области капли. Обычно образуют области в виде колец. Иногда являются изогнутым продолжением основных радиальных трещин. Это основные структурообразующие трещины в центральной зоне в случае, если в центральной зоне нет радиальных трещин.

Разновидность жгутовых трещин-трещины в виде рыбьей чешуи. Это большие концентрические трещины, с центром в центре капли, которые состоят из отдельных дуг. Эти трещины появляются при нарушении липидного обмена.

7-Трещины типа 7-многолучевые трещины. Это тонкие короткие трещины в центральной зоне, часто из одной вершины выходит три трещины, или две трещины под углом, Эти трещины появляются при эндогенной интоксикации, вызванной почечной недостаточностью. Трехлучевые трещины образуются в центральной области при произвольном растрескивании.

Шатохина С.Н. Шабалин В.Н.

Способ диагностики застойных явлений во внутренних органах. Патент 2207569. 2003.+

Проводят микроскопическое исследование биологических тканей. При этом жидкую среду внутреннего органа в объеме 0,01-0,02 мл наносят в форме капли на обработанное 0,02%-ным раствором лецитина предметное стекло, высушивают при температуре 18-30°C в течение 18-24 ч и относительной влажности 55-60% и при выявлении в высушенной капле трехлучевых трещин диагностируют застойные явления в органе.

8-Псевдотрещины узкие-закругленные, дугообразные узкие псевдотрещины, расположенные в центральной области капли. Условия образования-образуются в геле, насыщенном высокомолекулярными соединениями. В области без радиальных трещин образуют розочки. Образуются под прямым углом к радиальным трещинам.

9-Псевдотрещины широкие-широкие структуры разуплотнения геля. Обычно не видны. Для визуализации необходимо внесение в сыворотку некоторого наполнителя, например, эритроцитов.

Шатохина С.Н. Мишуровская Т.С. Цодиков Г.В. Шабалин В.Н.

Способ дифференциальной диагностики язвенного колита и болезни Крона. Патент 2251694. 2005.+

Сыворотку крови наносят на обезжиренное предметное стекло в количестве 0,01-0,02 мл в форме капли, высушивают при температуре 18-30°C в течение 18-24 часов и при выявлении на поверхности высушенной капли соединенных между собой широких, ломаных трещин и отходящих от них в разных направлениях, мелких тупиковых трещин диагностируют язвенный колит. Способ обеспечивает быстроту и простоту осуществления.

Шатохина С.Н. Шабалин В.Н.

Способ определения поражения организма ионизирующим излучением. Патент 2366948. 2009.

Способ определения поражения организма ионизирующим излучением заключается в том, что проводят микроскопическое исследование сыворотки крови, при этом каплю наносят на поверхность предметного стекла, высушивают при температуре 20-25°C и относительной влажности 55-60%, затем готовят вторую пробу, для чего 0,25-0,5 мл сыворотки крови выдерживают в течение 20-30 часов при температуре +5-+8°C, каплю этой пробы высушивают при аналогичных условиях. Через 7-10 суток микроскопируют и при выявлении коротких дугообразных трещин в промежуточной зоне фации сыворотки крови обеих проб диагностируют поражение организма ионизирующим излучением в сроки до 3 месяцев, а при наличии той же картины в капле сыворотки крови только второй пробы-поражение организма ионизирующим излучением от 3 месяцев до нескольких лет. При отсутствии коротких дугообразных трещин в промежуточной зоне обеих фаций сыворотки крови-отсутствие поражения организма ионизирующим излучением.

Локализация трещин:

- Гребешковые трещины-краевое кольцо,
- Дугообразные трещины-краевая зона капли,
- Радиальные трещины-промежуточная зона капли,
- Псевдотрещины, розетки-центральная зона капли.

Таблица 1-7. Типы трещин.

Тип	Название	Локализация	Образование		
1	Глобальные	Вся капля	3		
2	Круговые	Ячейки	4		
3	Гребешковые	Самый край капли	2		
4	Псевдотрещины узкие	Центральная область	5		
5	Дендритные	Центральная область	5		
6	Жгутовые	Центральная область	5		
7	Псевдотрещины широкие	Вся капля	1		

Трещины можно разбить на два типа, первичные и вторичные. Первичные трещины образуются на начальном этапе дегидратации, и определяют структуру ячеек. Это, как правило, длинные и широкие трещины. Вторичные трещины образуются на более позднем этапе дегидратации. Они, как правило, более короткие и узкие. Часто они разбивают структуры ячеек, образованных на более ранних этапах дегидратации.

Если в сыворотке остался фибрин (не докрутили или не отстояли сыворотку крови) то растрескивания не происходит, волокна фибрина сцепляют гель и не дают растрескиваться.

Причины образования трещин:

- трещины образуются при дегидратации, при сжатии геля,
- трещины образуются при хранении-при хранении продолжается процесс дегидратации,
- трещины образуются при перепадах температуры-при перепадах температуры образуются мелкие трещины в краевой зоне. Например, если препарат внести зимой с улицы в комнату. Трещины образуются в результате неоднородностей в строении ячеек. У ячеек более жесткая поверхность и более мягкая середина.

3.4 Напряжения в высохшей капле.

При высыхании капли в ней возникают напряжения. Величина напряжения пропорциональна скорости испарения и толщине геля. Часть напряжений снимается за счет образования трещин, а часть остается. Напряженное состояние прозрачного твердого тела наблюдают с помощью поляризационного метода. В скрещенных поляроидах все поле наблюдения становится темным, а в местах напряжения наблюдаются светлые области, свечение. Интенсивность свечения пропорциональна величине напряжения. В высохшей капле основная часть напряжений сосредоточена в краевой белковой области. В этой области наиболее толстый слой альбумина, и поэтому наиболее сильные напряжения. В основном напряжения расположены вдоль края ячеек (светлые полосы вдоль трещин). Иногда ярко светится целая ячейка. Это говорит о том, что ячейка имеет сильные напряжения, но она еще не растрескалась.



Рис. 3-4-1. Напряжения вдоль трещин в высушенной капле. Поляризованный свет. Поле зрения 3мм.

3.5 Методы определения состава высохшей капли.

3.5.0-Метод лазерной атомно-эмиссионной спектроскопии.

Проводилось исследование распределения различных элементов по радиусу капли. Для этой цели в исходную каплю добавлялись некоторые соли, а затем регистрировалось распределение этих солей по радиусу. Соли с большим коэффициентом диффузии (соли CaCl) концентрируются в центральной зоне капли. Соли с малым коэффициентом диффузии (соли AlCl , MgCl) концентрируются в краевой зоне капли.

Белоруссия, Минск, БГУ.

Чинь Н.Х. Танин А.Л. Пашковская И.Д. Булойчик Ж.И. Нечипуренко Н.И. Зажогин А.П. Исследование пространственного распределения микроэлементов в высушенных каплях альбуминов и белков методами лазерной атомно-эмиссионной многоканальной спектроскопии. Конференция Минск. 2011. с.461-463.+

Чинь Н.Х. Патапович М.П. Пашковская И.Д. Булойчик Ж.И. Нечипуренко Н.И. Танин А.Л. Зажогин А.П. Исследование пространственного распределения микроэлементов в высушенных каплях белков методами лазерной атомно-эмиссионной многоканальной спектроскопии. Астрахань. 2012. с.185-188.+

Чинь Н.Х. Патапович М.П. Пашковская И.Д. Булойчик Ж.И. Нечипуренко Н.И. Танин А.Л. Зажогин А.П. Исследование радиального распределения катионов Ca , Mg в высохших на бумажных фильтрах каплях белка методом локальной лазерной атомно-эмиссионной спектроскопии. Астрахань. 2012. с.189-191.+

Чинь Н.Х. Патапович М.П. Фам Уиен Тхи Пашковская И.Д. Булойчик Ж.И. Нечипуренко Н.И. Танин А.Л. Зажогин А.П. Исследование влияния температуры на радиальное распределение катионов Са, Mg в высохших на бумажных фильтрах каплях белка методом локальной лазерной атомно-эмиссионной спектрометрии. Астрахань. 2012. с.193-196.+

3.5.1-Рентгеноспектральный микроанализ (РСМА).

1989-Майданник Виталий Григорьевич (Киев, КНМУ)

Клинико-экспериментальное изучение развития пиелонефрита и комплексное лечение его у детей. Диссертация доктора медицинских наук. Киев. 1989. а+

Проводилась кристаллизация мочи тезиографическим методом с использованием спиртового раствора хлорной меди. Образовавшиеся кристаллы исследовали с помощью оптического микроскопа, и с помощью растрового электронного микроскопа марки «Stereoscan S4-10» фирмы «Canbridge Instruments Co.» Англия, с применением микрорентгеноспектрального анализа. Структуру образовавшихся кристаллов изучали на универсальном рентгеновском дифрактометре ДРОН 3.0 с фокусировкой по Брегу-Брентано в монохроматизированном Со излучении. Спектральный анализ кристаллов проводили на приборе КСВУ-1 в Институте Физики АН УССР. Натрий и калий в составе кристаллов выявляли с помощью плазменного фотометра «Flamephotometer 234» (США), калий и магний-методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии на приборе фирмы «Beckman» (США), органические вещества (мочевина, креатини)-при помощи автоматического анализатора «Hitachi 706» (Япония).

1990-Казахстан, Семипалатинск, ГМИ.

Хайбуллин Т.Н. Корина Р. Б. Рубцов В.И.

Рентгеноструктурный анализ кристаллограмм на основе амиоуксусной кислоты. Конференция молодых ученых Семипалатинского медицинского института. Семипалатинск. 1990.

1995-Москва, МОНИКИ

Шатохина Светлана Николаевна

Диагностическое значение кристаллических структур биологических жидкостей в клинике внутренних болезней. Диссертация доктора медицинских наук. Москва. 1995.

Рентгеноструктурный анализ фазового состава высушенных образцов мочи и почечных камней больных уролитиазом проводили на рентгеновском дифрактометре ДРОН-3 отечественного производства (НПО "Буревестник").

Шатохина Светлана Николаевна

Диагностическое значение кристаллических структур биологических жидкостей в клинике внутренних болезней. Диссертация доктора медицинских наук. Москва. 1995.

С помощью рентгеноспектрального микроанализа изучалось распределение различных элементов (Na, Mg, Si, P, S, Cl, K, Ca, Zn) по радиусу высушенной капли мочи. Было получено, что концентрация Na в центре выше, чем на краю капли (в центре капли больше солей). Фосфора и серы больше на краю капли (за счет фосфора и серы, входящих в структуру белков). Рентгеноспектральный микроанализ. Исследование структуры и состава высушенных образцов мочи, а также определение компонентов мочевых камней выполняли на приборе "Camebax" фирмы "Сатеса" (Франция), представляющем собой микроанализатор, снабженный оптическим (x400) и электронным сканирующим (до x4000) микроскопами. Анализ проводили с применением системы "LinK" QX2000 фирмы "Link Analytical Limited" (Англия).

Рентгеноструктурный анализ фазового состава высушенных образцов мочи и почечных камней больных уролитиазом проводили на рентгеновском дифрактометре ДРОН-3 отечественного производства (НПО "Буревестник").

Шабалин В.Н. Шатохина С.Н.

Способ определения состава солей мочи при уролитиазе. Патент 2043634. 1995.

Для определения состава солей мочи при уролитиазе исследуют краевую зону кристаллизации капли мочи методом рентгеноспектрального анализа.

Девяткин А.А. Шатохина С.Н. Малов В.М. Шабалин В.Н. Ерошевская Е.Б.

Результаты рентгеноспектрального микроанализа дегидратированных образцов водянистой влаги на различных стадиях развития старческой катаракты «Современные технологии хирургии катаракты-2003». Сборник научных статей под редакцией Х.П. Тахчиди. Москва. 2003. с.104-109.

Шатохина С.Н. Зар В.В. Волошин В.П. Канаев А.С. Шабалин В.Н.

Способ определения дегенеративно-дистрофических изменений в хрящевой ткани сустава. Патент 2441236. 2012.+

Предлагается способа определения дегенеративно-дистрофических изменений в хрящевой ткани сустава. Сущность способа заключается в том, что проводят исследования фации синовиальной жидкости путем рентгеноспектрального микроанализа. Определяют процентное содержание Na, Mg, Si, P, S, Cl, K, Ca, Zn по всей площади фации. При выявлении 0,5-0,7% фосфора и 1,8-2,0% кальция от общего процентного распределения в указанном спектре химических элементов диагностируют дегенеративно-дистрофические изменения в хрящевой ткани на доклинической стадии.

2003-Дасаева Л.А. Шилов Е.М. (ММА)

Опыт применения «Литос-теста» и рентгеноспектрального микроанализа мочи в лабораторной диагностике мочекаменной болезни. Нефрология. 2003. №7. с.228-229.

2003-Самара, СГМУ

Девяткин А.А. Шатохина С.Н. Малов В.М. Шабалин В.Н. Ерошевская Е.Б.

Результаты рентгеноспектрального микроанализа дегидратированных образцов водянистой влаги на различных стадиях развития старческой катаракты «Современные технологии хирургии катаракты-2003». Сборник научных статей под редакцией Х.П. Тахчиди. Москва. 2003. с.104-109.

Девяткин А.А. Шабалин В.В.

Результаты рентгеноспектрального микроанализа фаций слезной жидкости и водянистой влаги у больных старческой катарактой. III-я Всероссийская научно-практическая конференция «Функциональная морфология биологических жидкостей». Москва. 2004. с.21-22.

2009-Пермь, ПГМА

Пьянкова О.Б. Карпунина Т.И.

Использование морфологического, рентгеноспектрального и рентгеноструктурного анализа фаций биологических жидкостей в дифференциальной диагностике механической желтухи. Конференция Курск. 2009. с.158-160.

Карпунина Н.С. Туев А.В. Волынцев А.Б. Аминова И.И.

Рентгеноструктурный и рентгеноспектральный анализ фаций сыворотки крови в диагностике сердечно-сосудистых заболеваний. Российский кардиологический журнал. 2011. №6. с.63-68.

Изучены рентгеноструктурные свойства фаций сыворотки крови больных различными формами ИБС, гипертонической болезнью, ХСН с их одновременным рентгеноспектральным анализом. Фации подвергали микрофотосъемке в растровом электронном микроскопе S-3400N, спектральный состав исследовали с помощью рентгеновской энергодисперсионной приставки.

Карпунина Н.С.

Морфологический и спектральный анализ фаций сыворотки крови при некоторых сердечно-сосудистых заболеваниях в сочетании с персистирующей хламидийной инфекцией. Здоровье семьи-21 век. 2011. №4. с.5.+

Каплю сыворотки крови объемом 4 мкл наносили на предметное стекло с алюминиевым напылением и высушивали. Затем капля исследовалась в растровом электронном микроскопе S-3400N с рентгеновской энергодисперсионной приставкой для электронного микроанализа INCA ADD009 фирмы Oxford.

2010-Москва, Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии. Карпова Елена Александровна

Клинико-рентгенографическая диагностика и оперативное лечение пульпита коренных зубов у собак. Диссертация кандидата ветеринарных наук. Москва. 2010.

Методом микрорентгеноспектрального анализа исследовался состав ротовой жидкости собак. Показано, что основой состава дендритов является комплексная соль (KNaCl). Микрорентгеноспектральный анализ и растровая электронная микроскопия ротовой жидкости проводили на электронном сканирующем микроскопе Tescan Vega II XMU производства Чехии, оснащенного системой рентгеновского микроанализа INCA 450 GSR, производства фирмы Oxford Instruments (Великобритания), при увеличении до 15 000 крат.

2011-Армения

Авакян Л.А. Бадалян Г.Р. Арутюнян А.В. Андриасян Л.Г.

Содержание некоторых химических элементов в различных участках кристаллической сети ротовой жидкости у здоровых и больных гингивитом. Вестник стоматологии и челюстно-лицевой хирургии. 2011. т.8. выпуск 2. с.5-9. +

2011-Москва, НИИ Геронтологии

Шатохина С.Н. Кузнецова В.С. Шабалин В.Н.

Маркер дискогенных заболеваний нервной системы в цереброспинальной жидкости. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С.Корсакова. 2011. №12. с.4-8.+

Кристаллограмма цереброспинальной жидкости исследовалась методом обратно рассеянных электронов с помощью рентгеноспектрального микроанализа (РСМА) на электронно-зондовом микроанализаторе Superprob-8100 (Япония). Определялось соотношение органических и неорганических составляющих в образовавшихся кристаллах. В норме кристаллы соли имели вид пирамид, и органические компоненты распределялись по границе пирамид. При патологии кристаллы соли имели дендритное строение в виде крестов, и органические компоненты распределялись равномерно по всему объему кристалла.

2012-Пермь, ПГМА

Карпунина Н.С. Волынцев А.Б. Туев А.В. Аминова И.И.

Способ диагностики сердечно-сосудистых заболеваний. Патент 2441598. 2012.

Кровь забирают в вакуумную пробирку, центрифугируют, затем надосадочную жидкость наносят на предметное стекло, покрытое алюминиевой фольгой. Получают фации методом клиновидной дегидратации, фотографируют их с использованием сканирующего электронного микроскопа. Анализируют изображения, оценивая выраженность зон кристаллизации-центральной, промежуточной и периферической, а также тип кристаллов, с одновременным рентгеноспектральным изучением карты распределений элементов по площади. При расширении периферической зоны с появлением в ней сферических кристаллов и декальцинацией в центре диагностируют стабильную стенокардию. При декристаллизации периферической зоны наряду с расширением центральной и весовым процентом фосфора

>0,5% определяют инфаркт миокарда. При отсутствии четкого зонального распределения, увеличении числа радиальных трещин, смещении основной массы кристаллов из центральной зоны в периферическую наряду с весовым процентом углерода >10%, отсутствием магния и кальция в центре, выявляют гипертоническую болезнь.

Метод ЯМР.

Михайленко Л.П. Морозов Е.В. (Красноярск, ИХиХТ)

ЯМР-исследования процессов в высыхающей капле коллоидного алмаза. Конференция. Астрахань. 2012.

3.5.2 Метод масс-спектрометрии.

2011-Department of Biomedical Engineering and Environmental Sciences, National Tsing Hua University, Hsinchu, **Taiwan**.

Hsieh HF1, Chang WS, Hsieh YK, Wang CF. Using dried-droplet laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry to quantify multiple elements in whole blood. Anal Chim Acta. 2011 Aug 5;699(1):6-10. doi: 10.1016/j.aca.2011.05.002. Epub 2011 May 11.

В статье описывает единый порядок для прямого анализа и определения различных элементов в высушенных образцов крови на фильтрационной мембране с использованием лазерной абляции в сочетании с индуктивно связанной плазменной спектрометрии (LA-ICP-MS). С помощью этой техники, одновременно проводилось количественное определение 13 элементов в цельной крови: Be, Mn, Co, Ni, Tl, Bi, Sb, Pb, Cu, Zn, Ba, Mg, и Cd.

3.5.3 Метод ИК и КР спектроскопии.

В краевой зоне сухой капля сыворотки крови зарегистрированы сильные полосы поглощения, характерные для белков.

2002-Москва, РМАПО

Солохин А.А. Гайворонская В.И. Кандауров Р.В. Персичкин А.А.

Инфракрасная спектроскопия сухого остатка кристаллограмм ликвора при различных патологических состояниях. Судебно-медицинская экспертиза. 2002. №5. с.5-7.

2003-Красноярск, КГМА

Прахин Е.И. Проваров А.С. Сизых А.Г. Реушев М.Ю. Бороздун С.В.

Применение метода инфракрасной спектроскопии для исследования образцов мочи в виде высушенной капли. Успехи современного естествознания. 2003. №10. с.93. Исследовались сухие капли мочи, полученные методом открытой капли. Для исследования использовался ИК-микроскоп модели “InspectIR Plus” фирмы “SpectraTECH” (США) на базе ИК-спектрофотометра с Фурье преобразованием модели “Impact 400” фирмы “Nikolet”(США).

2006-Казахстан, Астана, Казахский Национальный Медицинский Университет

Тургунбаева Сауле Интыкбаевна.

Инфракрасная спектроскопия и кристаллография сыворотки крови при лечении гнойных синуситов с использованием ЯМИК-метода. Диссертация кандидата медицинских наук. Астана. 2006.

2008-Казахстан, Караганда, ГМУ

Клюев Д.А.

Изучение возможности применения методов тизмографии и инфракрасной спектроскопии для диагностики и прогноза некоторых патологических состояний. 2008.

2012-Ульяновск, УГУ

Миков С.Н. Клочков В.В. Селиванова О.С.

Применение лазерной спектроскопии комбинационного рассеяния света для определения совместно с методом Литос состава камнеобразующих солей при мочекаменной болезни. 2012.+

2013-Москва, МИФИ

Гончуков С.А. Лонкина Т.В.-МИФИ

Баграташвили В.Н. Минаева С.А.-ИПЛИТ Троицк

Сундуков А.В. Мигманов Т.Э.-МГМСУ

Ладеманн Ю. Дарвин М.Е.-Берлин

Спектроскопия комбинационного рассеяния патологических клеток спинномозговой жидкости. Медицинская физика. 2013. №2(58). С.9-101.

Определена пространственная локализация лейкоцитов, бактерий и эритроцитов на кристаллической картине высушенной капли спинномозговой жидкости (СМЖ). Определены и идентифицированы характерные линии в спектре комбинационного рассеяния СМЖ, которые свидетельствуют о наличии патологических клеток и могут служить для оперативной диагностики менингита мозга при использовании простой процедуры подготовки образца для спектроскопических измерений.

3.5.4 Поляризационная микроскопия.

Поляризационная микроскопия позволяет определять вещества, обладающие свойством оптической анизотропии. В переходной зоне в поляризованном свете видны ярко светящиеся агрегаты, образованные липидами.



Рис. 3-5-1. Капля в поляризованном свете, поле зрения 15мм.

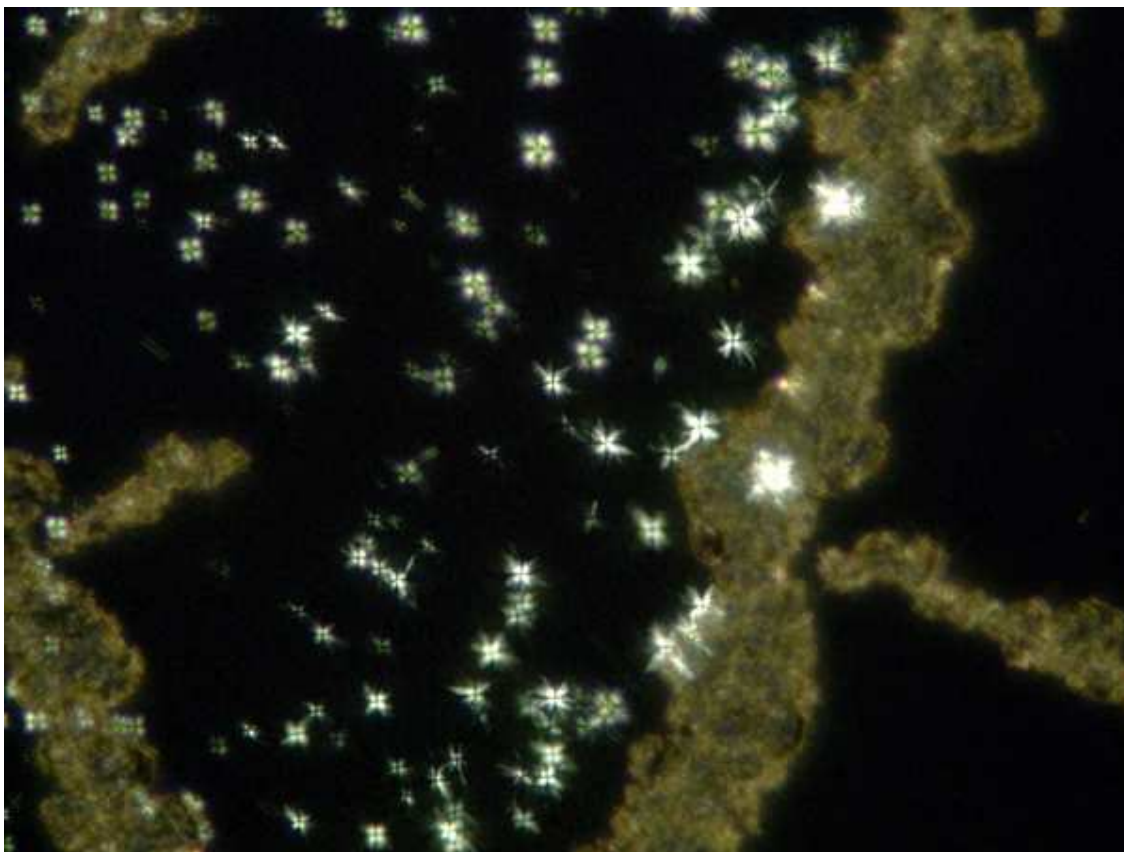


Рис. 3-5-2. Капля в поляризованном свете, поле зрения 3мм.

3.5.5 Флуоресцентная микроскопия.

Разные компоненты сыворотки обладают разной флуоресценцией. В краевой зоне капли видна яркая флуоресценция белков.

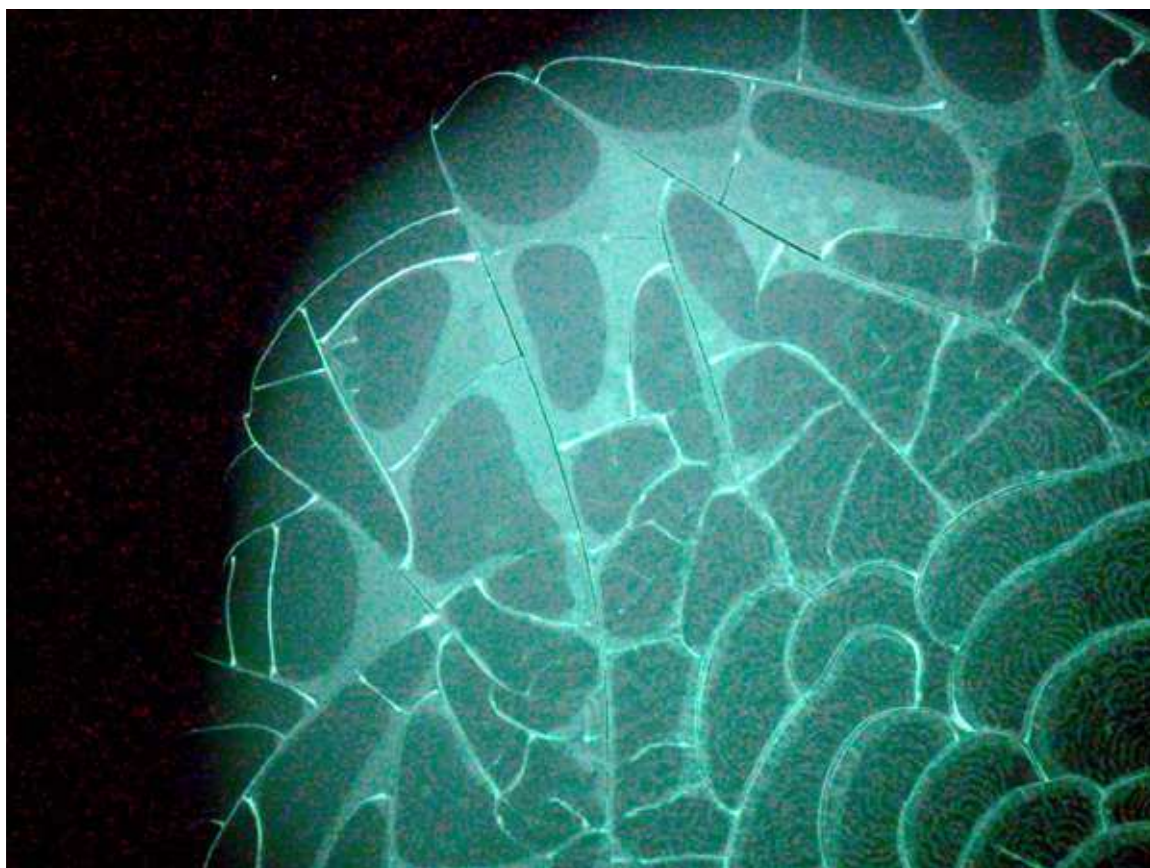
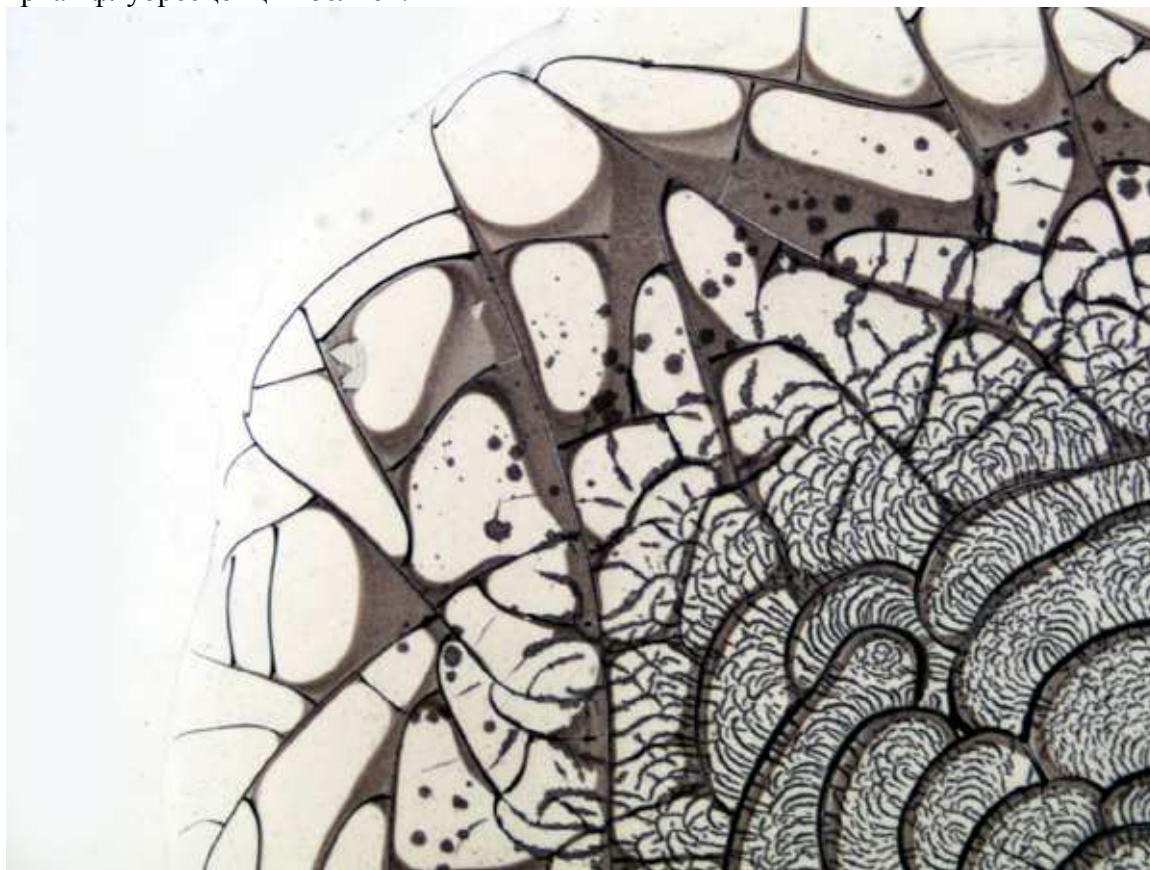


Рис. 3-5-3. Капля в режиме светлого поля и в режиме флуоресценции. Поле зрения 4мм.

3.5.6 Окрашивание.

Добавим в сыворотку крови краситель, который окрашивает какой-то компонент сыворотки крови. Сыворотка крови окрасится равномерно, так как все компоненты в исходной сыворотке распределены равномерно. Высушим каплю окрашенной сыворотки крови. Окажется, что в некоторых местах высушенной капли окраска будет сильнее, где больше данного компонента, или слабее, где меньше данного компонента.

Таблица 1-8. Окраски различных компонент в капле:

№	Окраска	Что красит	Краевая зона	Переходная зона	Центральная зона
1	Толуидиновый синий	белок	+		
2	Амидо черный	глобулины		+	+
3	Альциановый голубой	иммуноглобулины			+

На основе применения метода окрашивания получается, что белки в высохшей капле располагаются в следующем порядке от края к центру:

-альбумин,
-альфа-глобулины-липопротеины ЛПВП
-бета-глобулины-липопротеины ЛПНП
-гама-глобулины-иммуноглобулины.

Получается, что процесс структурирования белков при дегидратации капли происходит аналогично процессам высаливания белков нейтральными солями.

2005-Нижний Новгород, ННИИТО

2005-Камакин Н.Ф. Мартусевич А.К. О вариантах выполнения хромокристаллографии биологических жидкостей организма человека. В кн. Профессионализм и образование. Мат. научно-практической конференции. Кирово-Чепецк. 2005. с.65-72.

2009-Мартусевич А.К. Воробьев А.В. Камакин Н.Ф. Зимин Ю.В. Метод хромокристаллоскопии в свете биокристалломики: сущность, роль, перспективы. Вестник Нижегородского Университета. 2009. №1. с.78-83. В работах введено понятие хромокристаллоскопия-как специальный метод исследования процессов кристаллизации путем использования красителей. Выделяются три модификации метода:

1-системная хромокристаллоскопия, когда краситель вводится в раствор до начала кристаллизации.

1982-Шишкин С.С. Использование связывания красителей для количественного определения содержания белка в растворах (обзор). Вопросы медицинской химии. 1982. т.28. №5. с.134-141.

2005-Саратов, СГУ

2005-Кулябина Т.В. Кочубей В.И. Влияние взаимодействия индоцианинового зеленого с плазмой крови на процесс ее кристаллизации. SFM-2005. Саратов. 2005.+ В работе краситель добавлялся в плазму крови до начала процесса дегидратации.

2008-Нижний Новгород, НГМА

2008-Обухова Л.М. Сравнительный анализ применения красителей для выявления белков при исследовании биологических жидкостей методом клиновидной дегидратации. Вестник НГУ. 2008. №2. с.103-106.

2008-Обухова Л.М. Контрощикова К.Н. Определение локализации групп белков в высохшей капле сыворотки крови при помощи красителей. Биология. Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. 2008. №3. с.116-119.

2009-Обухова Л.М. Контрощикова К.Н. Способ определения локализации белков в высохшей капле сыворотки (плазмы) крови. Патент 2376602. 2009. Сыворотка крови окрашивалась концентрированным раствором амидочерного и толуидинового синего. Способ заключается в том, что проводят исследование плазмы крови методом клиновидной дегидратации и определение белков в краевой зоне высохшей капли. Для этого предварительно к исследуемой жидкости добавляют концентрированный раствор амидочерного 10В или толуидинового синего в соотношении 3:1, перемешивают, высушивают каплю материала на горизонтально расположенном стекле при комнатной температуре в течение 18-24 часов и анализируют с помощью светового микроскопа. При этом иммуноглобулины определяют в центре капли, липопroteиды в промежуточной зоне капли и альбумины по краю высохшей капли.

2010-Казахстан, Караганда, КГМУ,

2010-Кусаинова Д.С. Исследование плазмы крови больных гломерулонефритом методом окрашенной клиновидной дегидратации. 2010. Для окрашивания плазмы крови использовали амидочерный 10В.

2-постдегидратационна хромокристаллоскопия-когда краситель наносится на уже высушенный образец.

Нижний Новгород, ИПФ

2004-Яхно Т.А. Яхно В.Г. Санин А.Г. Санина О.А. Пелюшенко А.С. Белок и соль. пространственно-временные события в высыхающей капле. Журнал технической физики. 2004. т.74. выпуск 8. с.100-108. В работе высушенные капли сыворотки крови фиксировали 10 минут в метаноле при температуре +4 °С, после чего окрашивали следующими красителями:

1-альциановым синим для выявления гликозаминогликанов и кислых мукополисахаридов,
2-реактивом Шиффа-йодной кислотой (ШИК-реакция) для выявления гликопротеинов.

3-фоновая хромокристаллоскопия, когда краситель предварительно наносится и высушивается на подложке, а затем на него наносится дегидратируемое вещество.

3.5.7 Растворение.

Если на высохшую каплю капнуть растворитель, который растворяет одни компоненты, и не растворяет другие, то можно выяснить локализацию компонент. При использовании различных растворителей наблюдается различный результат, так как растворимость различных компонент в различных растворителях различается. При нанесении растворителя удобно использовать каплю, которая при нанесении будет иметь диаметр, равный диаметру сухой капли. Центр капли растворителя должен находиться на краю сухой капли. Две капли наполовину перекрываются. В этом случае удобно сравнивать, что было до нанесения растворителя, и что стало после нанесения растворителя.

Таблица 1-9. Сравнение различных растворителей.

Растворитель	Альбумины	Глобулины	Липиды	NaCl
Вода	хорошо	-	плохо	Хорошо (375 г/л)
Спирт этиловый	-	-	+	-
Спирт + вода	+	-	+	+

Спирт метиловый	-	-	+	1,4%
Эфир	-	-	хорошо	-
Хлороформ	-	-	хорошо	-
Бензин	-	-	хорошо	-
Керосин	-	-	+	-
Ацетон	-	-	+	-
Глицерин	+	-	+	немного
NaCl	+	+	-	-

3.5.8 Метод хроматографии.

С помощью бумажной хроматографии можно анализировать состав сложных биожидкостей.

Глава 4. Теоретическое моделирование процессов, протекающих в высыхающей капле.

4.1 Движение границы капли жидкости при испарении.

1-Если сила сцепления слабая, то не происходит залипания границы, и при испарении капля сжимается с сохранением формы и краевого угла. Капля сжимается под действием сил поверхностного натяжения.

2-Если сила сцепления имеет среднее значение, то сжатие капли происходит скачками. В каждом из положений уменьшается высота капли, но краевой угол остается постоянным.

3-Если сила сцепления сильная, то происходит залипание границы. При испарении высота капли уменьшается. Это вызывает уменьшение краевого угла. Но краевой угол должен оставаться постоянным. В результате возникает течение жидкости от центра капли к краю для поддержания постоянства краевого угла.

В качестве подтверждения этого закона может служить тот факт, что краевой угол у высохшей капли сыворотки крови равен краевому углу жидкой капли сыворотки крови.

4.1.1 Испарение капли чистой воды. Гистерезис смачивания.

Первичным тестовым раствором является вода. При испарении идеально чистой воды на идеально гладкой поверхности происходит постепенное испарение воды и плавное движение границы капли к центру. Форма капли сохраняется, но уменьшаются размеры. После полного испарения следов на подложке не остается.

В реальных условиях все гораздо сложнее. На процесс испарения оказывают существенное влияние два следующих обстоятельства-наличие примесей в воде и неоднородность поверхности подложки. Из-за наличия примесей (растворенных веществ) в воде после испарения капли остается осадок. Можно выделить два типа примесей-растворенные вещества и нерастворимые микрочастицы. Количество нерастворимых микрочастиц можно определить с помощью нефелометра, по степени рассеивания света (интенсивность конуса Тиндаля). Чем больше количество примесей-тем больше количество осадка. Процесс выпадения примесей в осадок состоит из трех этапов. На первом этапе происходит выпадение в осадок имеющихся нерастворимых частиц. На втором этапе по мере испарения воды происходит повышение концентрации примесей. В некоторый момент концентрация достигает критического значения и происходит образование микрокристаллов (частичек) растворенного вещества. В результате наличия конвекционных потоков в испаряющейся капле происходит перемешивание капли и перераспределение частиц. На третьем этапе происходит оседание частиц на дно и образование осадка. Образование осадка (оседание частиц) происходит на границе капли. При идеальной поверхности подложки осадок равномерно распределяется по мере плавного продвижения границы. При наличии неоднородностей на поверхности подложки движение границы происходит скачками, и образуется система вложенных колец из осадка. Таким образом, получается, что на внешнем кольце выпадают в осадок нерастворимые частицы. Заметно выпадают слаборастворимые вещества, которые кристаллизуются в первую очередь. Затем выпадают сильно растворимые вещества, которые кристаллизуются в последнюю очередь. Следовательно, система вложенных колец осадка аналогична одному из видов хроматографического анализа. При хорошо подготовленной поверхности по структуре распределения осадка по радиусу можно судить о структуре и составе воды. Чем больше неоднородность в распределении осадка-тем больше неоднородность воды. Если предположить, что вода состоит из двух фаз-структурированной и неструктурированной, то произойдет перераспределение воды с разными свойствами в зависимости от радиуса. Можно предположить, что более подвижная неструктурированная вода окажется в краевой зоне, а структурированная вода-в центральной зоне. В результате высохшая капля будет состоять из двух зон-краевой и центральной.

Для усиления чувствительности метода можно добавить в воду мелкие частички, например, латексные или стеклянные шарики размером 10мкм. Эти частички не вносят изменений в конвективные потоки. Осадок частиц на дне четко выявляет структуру движения края при высыхании.

В реальных условиях поверхность подложки не является однородной, и не происходит образования вложенных колец. Происходит образование вложенных областей различной формы (не в виде колец). Форма областей определяется структурой неоднородностей на поверхности капли. Под неоднородность поверхности понимается неоднородность гидрофобности (смачиваемости) поверхности, например, наличие жирных пятен (следов от пальцев).

При испарении капли воды происходит постепенное уменьшение площади капли. Движение границы капли начинается в т.месте, где наиболее слабое сцепление капли с подложкой. На краю капли остается кольцо из частичек, которые были в капле. Движение границы испаряющейся капли происходит рывками. В местах загрязнений на поверхности стекла происходит задержка движения границы. При испарении воды уменьшается краевой угол, и возрастает сила, которая стягивает каплю. Стягивающая сила уравнивается силой сцепления границы капли с поверхностью стекла. Как только сила стягивания превышает силу сцепления, происходит отрыв границы и скачкообразное перемещение в новое положение. Чем больше величина скачка (чем больше перемещение границы), тем дольше пауза перед следующим скачком. В тех местах, в которых граница капли задерживалась на продолжительное время, происходит образование отложений частичек на границе. В результате получается система вложенных колец из выпавших частичек. На идеально гладком стекле при испарении воды капля сжимается постепенно, непрерывно, с сохранением краевого угла.

В зависимости от свойств поверхности, на которую происходит нанесение капли воды, можно выделить три случая.

1-Идеально гладкая поверхность. Идеально гладкая поверхность-это такая поверхность, на которой не происходит сцепление воды с поверхностью. Например, поверхность, покрытая тонким слоем жира. В этом случае при испарении капли происходит плавное равномерное перемещение границы капли к центру. В этом случае важным информационным параметром является зависимость радиуса капли от времени. В этой зависимости содержится информация о свойствах и структуре воды. Анализируются такие параметры как скорость перемещения границы, наличие точек перегиба.

2-Поверхность со сцеплением. Введем некоторый коэффициент C , который характеризует силу сцепления воды с поверхностью подложки. Основные причины возникновения сцепления воды с поверхностью-шероховатость и гетерогенность (неоднородность состава) поверхности. Шероховатость можно характеризовать фрактальной размерностью поверхности. Способ измерения силы сцепления воды с поверхностью состоит в измерении угла наклона предметного стекла с каплей, при котором капля начнет скатываться.

3-Реальная поверхность. Реальная (не подготовленная) поверхность является неоднородной. Скачки происходят не одновременно по всей границы, а только в местах наименьшего сцепления. В результате образуется не система вложенных окружностей, а система вложенных областей сложной формы. В этом случае сложно получить информацию о свойствах воды.

1930-Шемякин Ф.М. Ibid., 1930. №62. р.1357. Исследовались периодические наслоения, получаемые при медленном выпаривании на большом часовом стекле при температуре 30-40 градусов водопроводной воды. Периодические отложения в этом случае состоят из солей, растворенных в воде. Процесс происходит следующим образом. Большая капля воды медленно испаряется с поверхности, вследствие чего кривизна мениска все время уменьшается. Наконец, наступает такой момент, когда капля стягивается. При этом восстанавливается первоначальная кривизна мениска. При испарении на периферии капли, соприкасающейся со стеклом, отлагаются соли, растворенные в воде. Когда капля перемещается, то отложившаяся соль

образует кольцо по периферии площади, прежде занимаемой каплей. В дальнейшем процесс повторяется таким же образом. В результате получается система колец.

Журнал Общей Химии. 1931. т.1. с.455.

Шемякин Федор Михайлович (Москва) Изучение физико-химических периодических процессов методом физико-химического анализа. Диссертация доктора химических наук. 1940.

При испарении капли чистой воды на идеальной гладкой поверхности происходит постепенное уменьшение капли. При этом сохраняется постоянной форма капли и величина краевого угла.

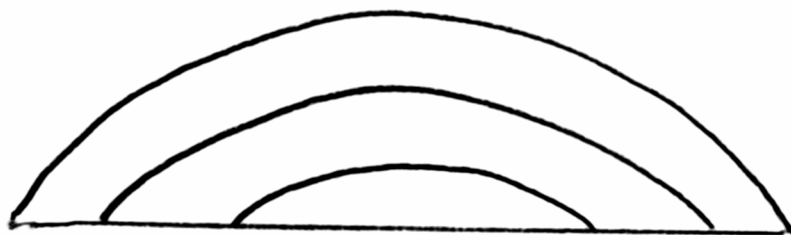


Рис. 4-1-1. Изменение формы капли от времени для чистой воды. Слабая сила сцепления воды с поверхностью. Случай идеальной поверхности, нет залипания границы. Величина краевого угла постоянна.

При высыхании капли воды на реальной поверхности происходит скачкообразное сжатие границы капли, связанное с явлением гистерезиса смачивания. Суть явления гистерезиса смачивания состоит в том, что величина краевого угла зависит от процесса нанесения капли на поверхность стекла. Краевой угол при натекании капли больше краевого угла при отекании капли. Величина гистерезиса определяется силой сцепления жидкости с поверхностью. Введем некоторый коэффициент C , который характеризует силу сцепления воды с поверхностью подложки. Основные причины возникновения сцепления воды с поверхностью – шероховатость и гетерогенность (неоднородность состава) поверхности. Шероховатость можно характеризовать фрактальной размерностью поверхности. Способ измерения силы сцепления воды с поверхностью состоит в измерении угла наклона предметного стекла с каплей, при котором капля начнет скатываться.

Сила сцепления является причиной гистерезиса смачивания. Величина, равная разности между значениями углов натекания и стекания равна величине гистерезиса, и пропорциональна силе сцепления. Для определения величины гистерезиса наносят каплю на плоское стекло. Смотрим на каплю сбоку и наблюдаем за левым краем капли. Начинаем плавно поднимать правый край стекла вверх. Величина угла подъема стекла, при котором левый край капли начнет смещаться, равна углу натекания. Снова наносим каплю, и начинаем плавно поднимать левый край стекла. Угол подъема, при котором левый край капли начнет смещаться, равен углу стекания капли. Сумма двух полученных углов равняется величине гистерезиса, и равна силе сцепления. Если оба угла равны нулю (капля стекает при малейшем подъеме стекла) значит, сила сцепления равняется нулю, поверхность идеально скользкая, нет трения.

Для воды, нанесенной на предметное стекло, углы стекания и натекания равны 12 градусов. Значит, гистерезис составляет 24 градуса.

Можно предположить, что величины углов натекания и стекания на однородной поверхности равны друг другу. Т.е. процесс стекания капли начинается одновременно с процессом натекания, т.е. левый и правый край капли начинают движение одновременно. На реальных поверхностях одновременного движения не происходит. Вначале начинает двигаться один какой-то край (левый или правый), а затем начинается движение другого края. Это

объясняется неоднородностью поверхности. Если на поверхности имеются неоднородности, то происходит задержка процесса стекания или натекания.

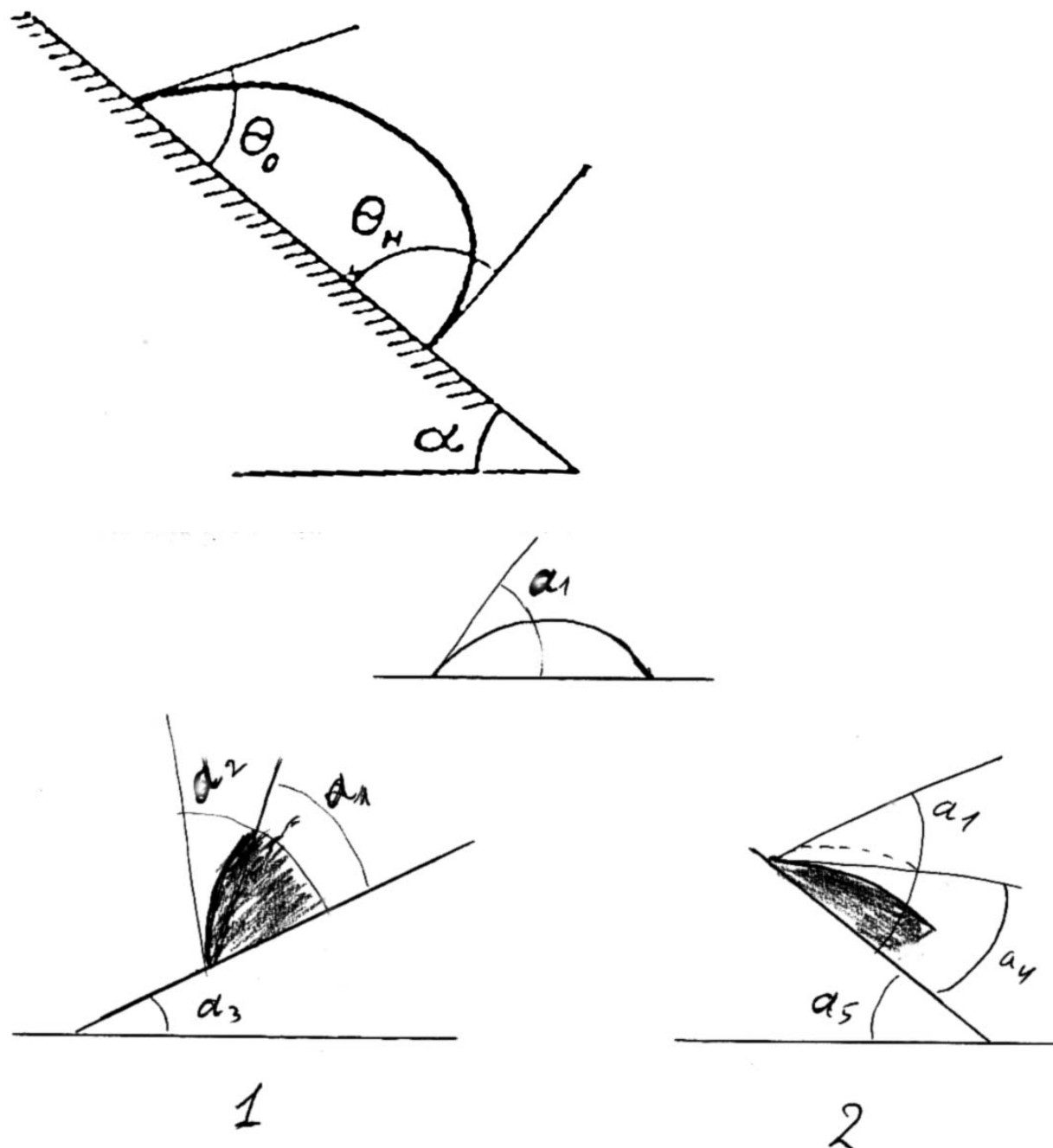


Рис. 4-1-2. Капля на наклонной поверхности.
1-определение угла натекания капли на поверхность.
2-определение угла стекания капли с поверхности.

При $C=0$ имеем идеально гладкую поверхность. При C равном некоторому критическому значению происходит полное сцепление воды с поверхностью, и не происходит сдвига границы капли. Аналогичный случай имеем место при испарении сыворотки крови. Граница капли остается постоянной. Но для воды не существует такой поверхности, чтобы при испарении граница капли оставалась на месте. В зависимости от величины C изменяется количество скачков границы при испарении капли. При $C=0$ количество скачков равно бесконечности, происходит плавное перемещение границы. Чем больше величина C , тем меньше число скачков при движении границы. Для увеличения точности определения свойств воды необходимо увеличение числа скачков. Чем больше число скачков-тем выше точность определения свойств

воды. Важным информационным параметром является зависимость величины скачка от номера скачка. Это аналог зависимости скорости смещения границы от времени.

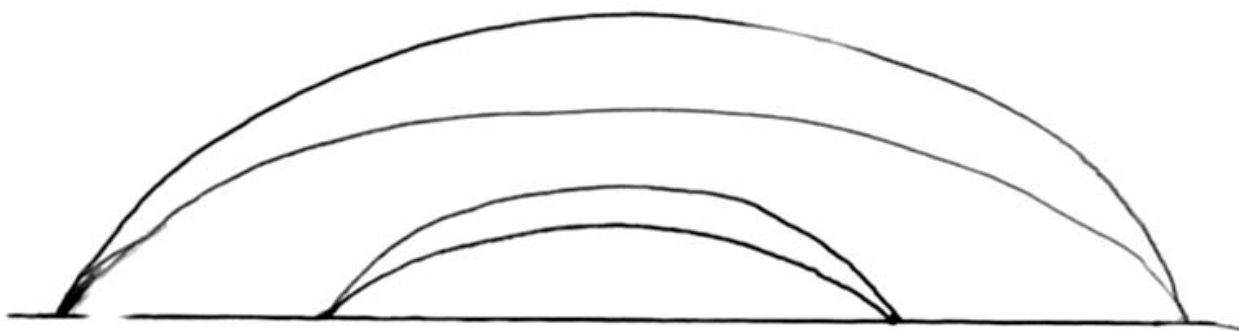


Рис. 4-1-3. Изменение формы капли воды на реальной поверхности. Периодически происходит залипание границы.

4.1.2 Испарение растворов солей.

При дегидратации воды методом открытой капли после ее испарения на стекле остается круг солей, содержащихся в капле. При этом соли распределены не равномерно по всему дну капли, а только в виде кольца вдоль внешней границы капли. Это означает, что на первом этапе испарения за счет внутренней конвекции на границу капли выносятся все частички, содержащиеся в капле, и они оседают в краевой застойной зоне.

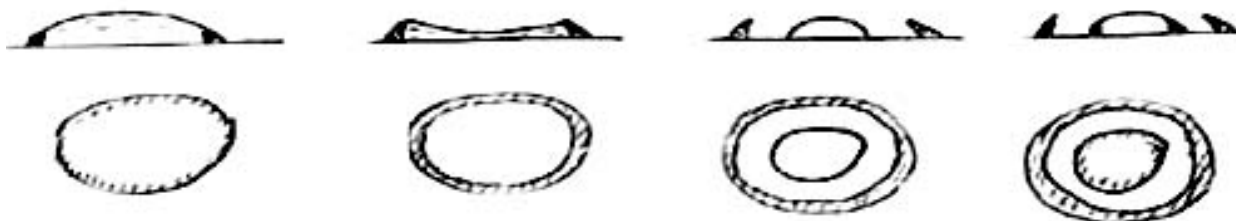


Рис. 4-1-4. Испарение капли раствора соли.

4.1.3 Испарение геля.

При испарении капли геля (вязкой жидкости) происходит залипание края. Высота капли постепенно уменьшается и образуется тонкий однородный затвердевший слой.

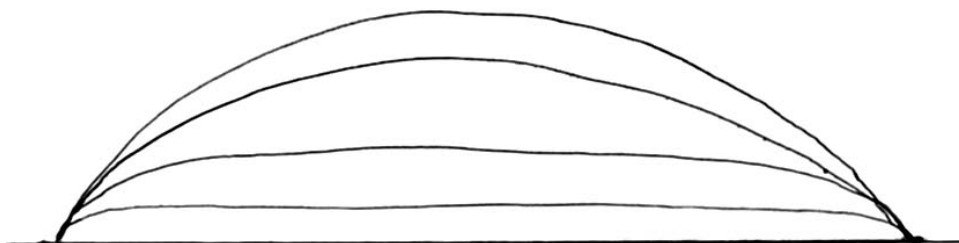


Рис. 4-1-5. Изменение формы капли от времени для вязкой жидкости (раствор сахара). Сильная сила сцепления, имеется залипание границы. Краевой угол остается постоянным.

4.1.4 Испарение капли белкового раствора (высокомолекулярного раствора).

При испарении капли белкового раствора основным эффектом является образование краевого белкового валика.



Рис. 4-1-6. Изменение формы капли от времени для раствора белка при отсутствии перемешивания (гипотетический случай). Имеется залипание границы (пиннинг).

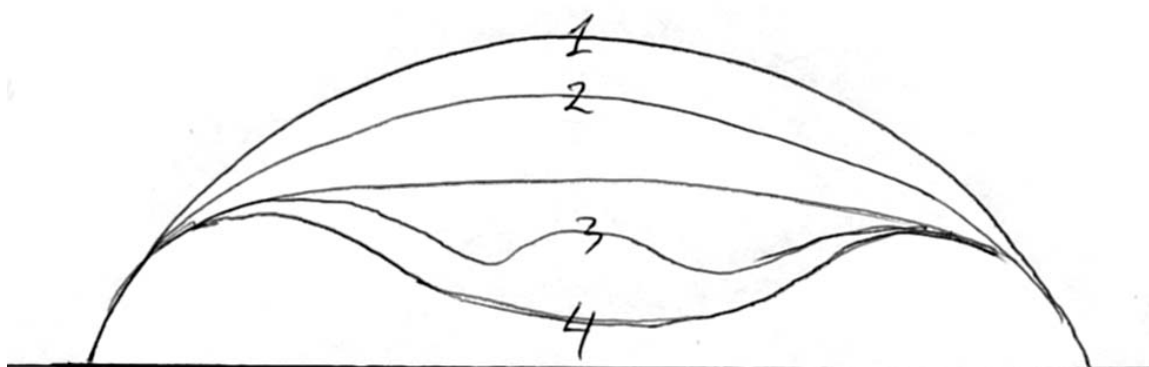


Рис. 4-1-7. Изменение формы капли от времени для сыворотки крови при наличии перемешивания.

1-0 минут-начало испарения,

2-60 минут-критическая точка, начинается сжатие жидкой фазы,

3-65 минут-сжатие жидкой фазы,

4-70 минут-прекратилось изменение формы капли.

1996-Parisse F. Allain C. (Cedex, France) Shape Changes of Colloidal Suspension Droplets during Drying. Journal de Physique II France, 1996, vol.6(7), p.1111-1119.+

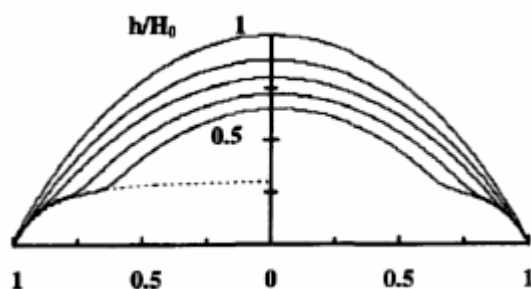


Рис. 4-1-8. Зависимость формы капли коллоидного раствора от времени (эксперимент).

4.1.5 Испарение коллоидного раствора.

При испарении коллоидного раствора основным процессом является образование краевого кольца из мелких частиц, которые образуются на внешней границе капли. Это так называемый эффект кофейных колец. Капля кофе представляет собой раствор коллоидных частиц размолотого кофе в воде. При испарении капли кофе на поверхности остается кольцо из частиц кофе. Изучению эффекта кофейных колец посвящено множество работ и статей.

Кристаллизация капли различных коллоидных растворов.

Кристаллизация кофе методом открытой капли.



Рис. 4-1-9. Кристаллограмма раствора кофе. Проходящий свет. Поле зрения 10мм.

Необходимо отметить, что при кристаллизации коллоидного раствора крупные частицы собираются в центральной зоне.

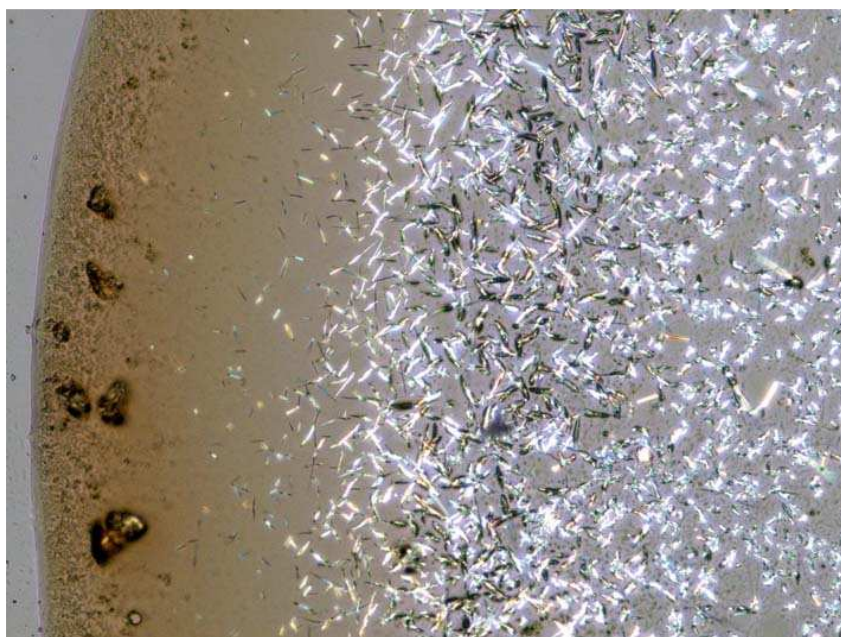


Рис. 4-1-10. Краевая зона кристаллограммы раствора кофе. Поляризованный свет. Поле зрения 1мм.

Краевая зона в основном не содержит частиц, она прозрачная и имеет гладкую поверхность. В промежуточной зоне находятся игольчатые кристаллы, которые ярко светятся в поляризованном свете.

Состав коллоидного раствора хорошо выявляется с помощью бумажной хроматографии.



Рис. 4-1-11. Хроматограмма капли раствора молотого кофе.

На хроматограмме капли молотого кофе видны две области, характерные для коллоидных растворов: центральная темная область коллоидных частиц и внешняя светлая область растворителя (воды). Кроме того, на хроматограмме можно выделить еще два тонких кольца.

-внешнее тонкое темное кольцо соответствует наличию в растворе кофе масел (жиров),
-тонкое темное кольцо в центральной части возникает из-за того, что за время впитывания капли (5 минут) в ней возникли течения от центра к краю, которые вынесли мелкие частица на внешнюю границу капли.

Раствор акварельной краски.

Состав акварели:

- 1-пигменты (тонкодисперсные порошки),
- 2-связующее-гуммиарабик, декстрин, вишневая или терновая камедь, животный клей, картофельная патока, мед
- 3-пластификатор (глицерин или инвертированный сахар),
- 4-поверхностно активное вещество-бычья желчь-позволяет легко разносить краску по бумаге, препятствует скатыванию краски в капли, антисептик-фенол, предохраняет краску от плесени.

Частицы краски сообразуют осадок в виде кольца по краю капли. Высохшая капля имеет следующие зоны:

- 1-широкая краевая зона. Поверхность-выпуклая и гладкая, на просвет-прозрачная,
- тонкая крайняя полоска (тонкое прозрачное кольцо), прозрачная, не содержит частиц.
- тонкая темная полоса коллоидных частиц,
- тонкая структурированная полоса коллоидных частиц. Частицы сгруппированы в области. По направлению к центру размер областей уменьшается, и формируется однородный слой частиц.

-однородная область мелких частиц,

2-большая центральная зона-слой мелких и крупных частиц. Поверхность-плоская и матовая, на просвет-матовая.

Мелкие коллоидные частицы образуют выпуклый бугор в краевой зоне капли. Крупные частицы собираются в центральной зоне капли.

Мелкие частицы угля в воде.

С краю капли образуется светлое кольцо, в котором очень мало частиц. На поверхности высыхающей капли частицы совершают постоянное движение, вызванное колебаниями препарата и движением воздуха над каплей.

1935-Москва, Шемякин Ф.М. Журнал Общей Химии. 1931. т.1. с.455.

Изучал периодические наслоения, получающиеся при выпаривании на часовом стекле при температуре 30-40 градусов водопроводной воды.

2011-Калининград, КГТУ

Брюханов В.В. Мыслицкая Н.А. Хитрин А.В. Иванов А.М.

Исследование процессов переноса в испаряющейся капле раствора наночастиц серебра. Известия Калининградского государственного технического университета. 2011. №20. с.18-24.

В работе показано, что в начальный момент коэффициент диффузии наночастиц выше в центре, чем на краю капли. Различие остается и через 15 мин испарения, однако оно значительно уменьшается.

4.2 Высыхание капли коллоидного раствора, эффект кофейного кольца (coffee-ring effect).

1959-Fuchs N.A. Evaporation and Droplet Growth in Gaseous Media. Pergamon. Oxford. 1959.

1985-de Gennes P.G. Wetting: statics and dynamics. Reviews of Modern Physics. 1985. 57. p.827.
Рассматриваются вопросы смачивания твердых поверхностей жидкостями.

1989-Peiss C.N., Evaporation of Small Water Drops Maintained at Constant Volume. Journal of Applied Physics. 1989. Vol.65. Issue 12. p.5235-5237.+

1992-Leger L. Joanny J.F. Liquid spreading. Reports on Progress in Physics. 1992. p.431-486.

1993-Dushkin C D, Yoshimura H and Nagayama K 1993 Nucleation and growth of two-dimensional colloidal crystals Chem. Phys. Lett. 204 p.455–460.

1999-Dushkin C D, Lazarov G S, Kotsev S N, Yoshimura H and Nagayama K 1999 Effect of growth conditions on the structure of two-dimensional latex crystals: experiment Colloid Polym. Sci. 277 p.914-930.

1993-Hisatake, K., Tanaka, S. Aizawa, Y., Evaporation of Water in a Vessel. Journal of Applied Physics. 1993. vol.73. Issue 11. p.7395-7401.+

1995-Kazuo Hisatake, Misako Fukuda, Junko Kimura, Mami Maeda and Yoshiko Fukuda. Experimental and theoretical study of evaporation of water in a vessel. Journal of Applied Physics. 1995. 77, p.6664-6674.+

1995-El Bediwi, A.B., Kulnis, W. J., Luo, Y., Woodland, D., and Unertl, W.N., "Distributions of Latex Particles Deposited from Water Suspensions" Mat. Res. Soc. Symp. Proc., 1995. 372. p.277-282.

1995-Eiki Adachi, Antiny S. Dimitrov, Kuniaki Nagayama. Stripe Patterns Formed on a Glass Surface during Droplet Evaporation. Langmuir. 11. p.1057-1060.+

1997-James Conway, Yeather Korns, Michael R. Fisch. Evaporation Kinematics of Polystyrene Bead Suspensions. Langmuir. 1997. 13. p.426-431.+

1997-Philip Ball. Fluid dynamics How coffee leaves its mark. Nature. 1997. vol.389. p.788.+

2002-Fischer B.J. Particle Convection in an Evaporating Colloidal Droplet. Langmuir 2002, vol.18, p.60-67.

2003-Routh A.F. UK

2003-BP Institute and Department of Chemical Engineering and Biotechnology, University of Cambridge, Pembroke Street, Cambridge CB2 3RA, UK. af10@cam.ac.uk

2003-Routh AF1, Zimmerman WB. The diffusion coefficient of a swollen microgel particle. J Colloid Interface Sci. 2003 May 15; 261(2): p.547-51.

2004-Lee WP, Routh A.F. Why do drying films crack? Langmuir. 2004 Nov 9; 20(23): p.9885-9888.

2013-Routh A.F. Drying of thin colloidal films. Rep Prog Phys. 2013 Apr; 76(4): p.046603.

2004-Abkarian M, Nunes J and Stone H A 2004 Colloidal crystallization and banding in a cylindrical geometry J. Am. Chem. Soc. 126 p.5978–5979.

2006-Hu H., Larson R.G. Marangoni effect reverses coffee-ring depositions. Journal of Physical Chemistry B. 2006; 110(14): p.7090-7094.

2006-J. Park and J. Moon, "Control of colloidal particle deposit patterns within picoliter droplets ejected by ink-jet printing," *Langmuir*, vol. 22, p.3506-3513, Apr. 2006.

2006-Smalyukh I I, Zribi O V, Butler J C, Lavrentovich O D and Wong G C L 2006 Structure and dynamics of liquid crystalline pattern formation in drying droplets of DNA *Phys. Rev. Lett.* 96 177801

2009-R. Bhardwaj, X. Fang, and D. Attinger, "Pattern formation during the evaporation of a colloidal nanoliter drop: a numerical and experimental study," *New Journal of Physics*, vol. 11, p.075020, July 2009.+

2009-Guangyin Jing, France (UPMC Univ Paris 06, Univ Paris-Sud, CNRS, Lab FAST, Bat. 502, Campus Univ, Orsay F-91405, France) Drying of colloidal suspension. 2009.

2009-Rajneesh Bhardwaj, Xiaohua Fang and Daniel Attinger. (USA) Pattern formation during the evaporation of a colloidal nanoliter drop: a numerical and experimental study. *New J. Phys.* 11 (2009) 075020.

2010-Bhardwaj R, Fang X, Somasundaran P, Attinger D. Self-assembly of colloidal particles from evaporating droplets: role of DLVO interactions and proposition of a phase diagram. *Langmuir*. 2010. 26(11): p.7833-7842.

2010-K. F. Baughman, R. M. Maier, T. A. Norris, B. M. Beam, A. Mudalige, J. E. Pemberton, and J. E. Curry, "Evaporative deposition patterns of bacteria from a sessile drop: Effect of changes in surface wettability due to exposure to a laboratory atmosphere," *Langmuir*, vol. 26, p.7293-7298, May 2010.

2010-S. Choi, S. Stassi, A. P. Pisano, and T. I. Zohdi, "Coffee-ring effect-based three dimensional patterning of Micro/Nanoparticle assembly with a single droplet," *Langmuir*, vol. 26, p.11690-11698, July 2010.

2009-Rajneesh Bhardwaj, Xiaohua Fang and Daniel Attinger. (Columbia University, USA) Pattern formation during the evaporation of a colloidal nanoliter drop: a numerical and experimental study. *New J. Phys.* 11 2009.+

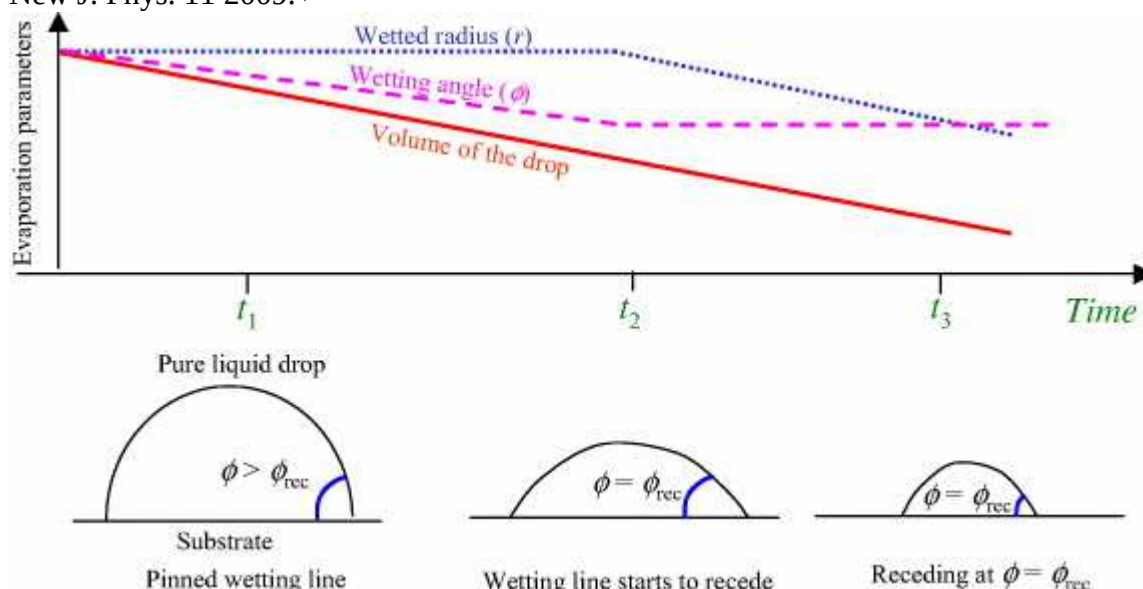


Рис. 4-2-1. Зависимость величины краевого угла от времени для капли чистой воды.

The liquid–air–particle receding angle and its role in the colloidal ring formation process:

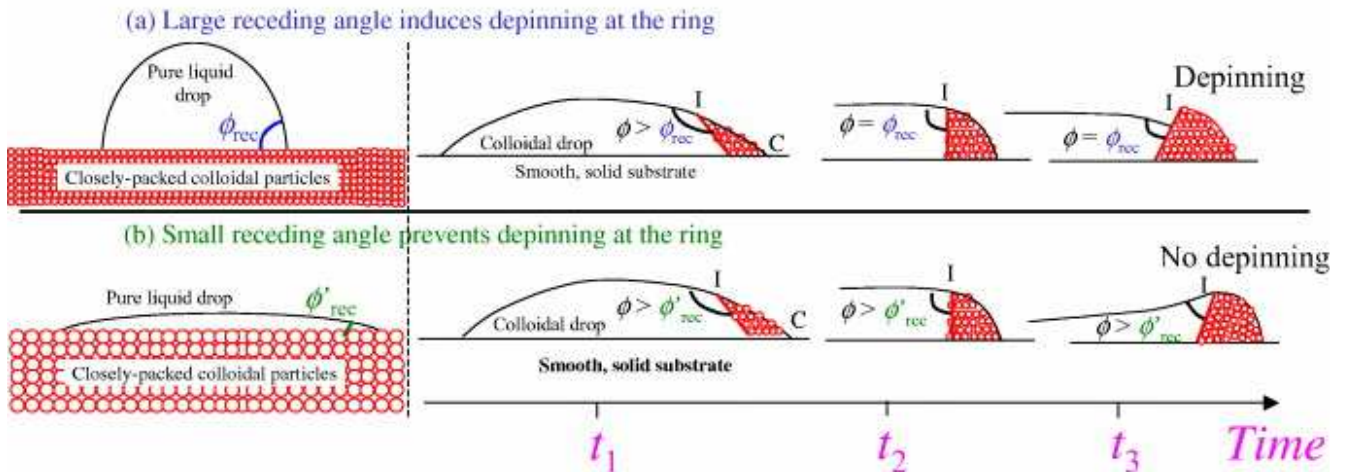


Рис. 4-2-2. Образование краевого валика.

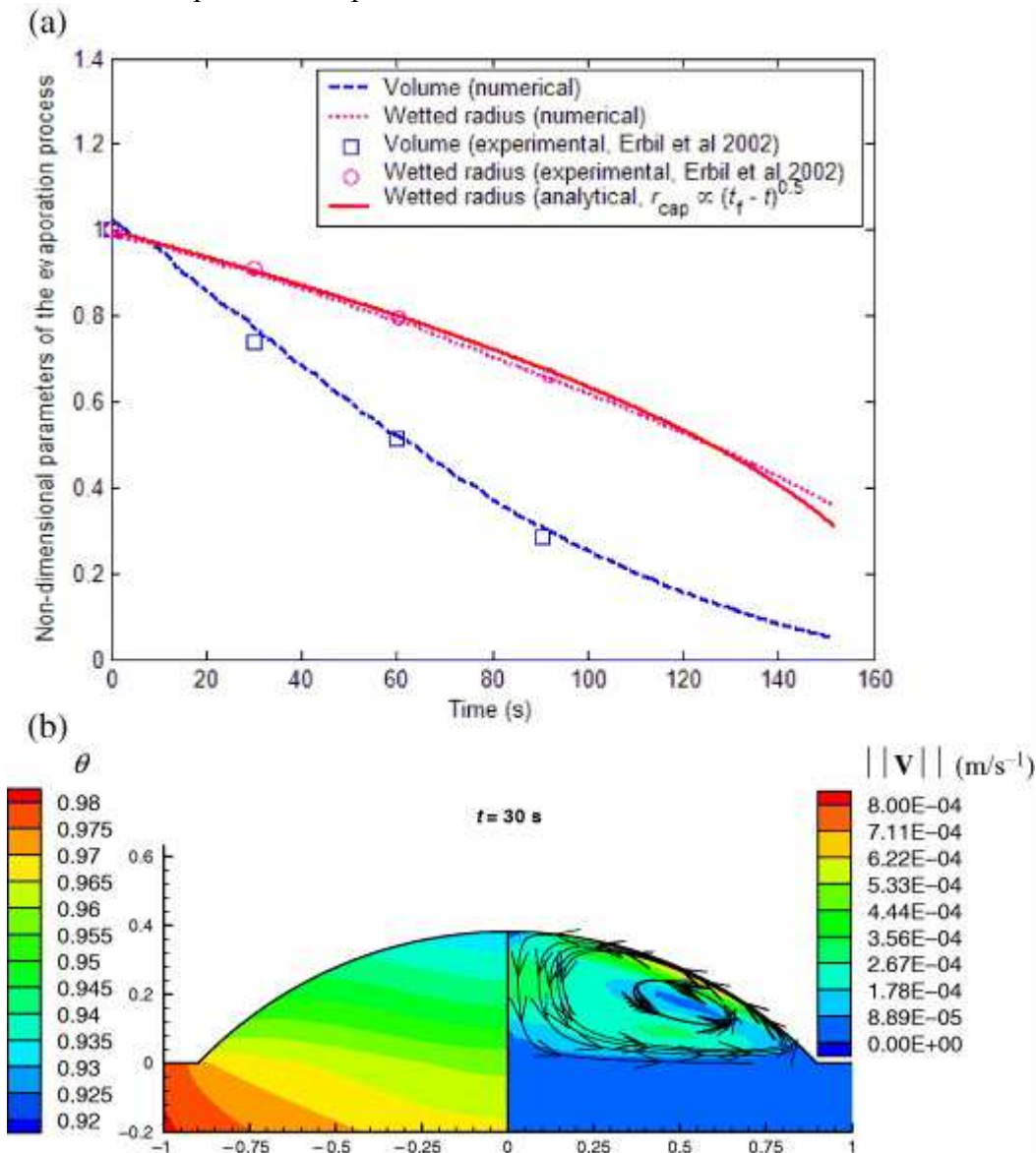


Рис. 4-2-3. Течения в капле.

2010-Xiaoying Shen, Chih-Ming Ho and Tak-Sing Wong (University of California, USA) Minimal Size of Coffee Ring Structure.

2010-NanoWeek, 10-17 мая 2010, No.108. «Кофейные кольца» помогают биосенсорам диагностировать болезни.

«Понимание перемещения микро-и наночастиц в пределах высыхающих капелек жидкости имеет большой потенциал для целого ряда технологических применений, включая самосборку наноструктур, нанесение покрытия на частицы, концентрацию и разделение биомолекул»,-говорит **Ши-Мин Хо** (Chih-Ming Ho), профессор Школы инженерии и прикладной науки Генри Сэмьюэли (Henry Samueli School of Engineering and Applied Science) и директор Центра изучения регуляции клетки (Center for Cell Control) Университета Калифорнии, Лос-Анджелес (University of California, Los Angeles, UCLA).

Чтобы определить наименьший размер капли, испарение которой еще сопровождается образованием кофейного кольца, ученые изготовили специальную поверхность, покрытую в шахматном порядке гидрофобными и гидрофильными материалами. На эту поверхность были помещены латексные частицы размером от 20 до 100 нанометров, находящиеся в воде. Частицы были близки по размерам к белковым маркерам заболеваний, которые распознаются биосенсорными устройствами. Ученые вымыли новую поверхность содержащей частицы водой. Оставшаяся вода «выстроилась» в виде капель на гидрофильных участках, как шашки на шашечной доске. Они повторяли эксперименты со все более мелкими ячейками, до тех пор пока феномен кофейного кольца больше не обнаруживался. Для частиц размером в 100 нанометров это происходит при диаметре капли около 10 микрометров, или примерно в 10 раз меньше толщины человеческого волоса. Начиная с этой отметки, вода испаряется раньше, чем частицы успевают переместиться к периметру.

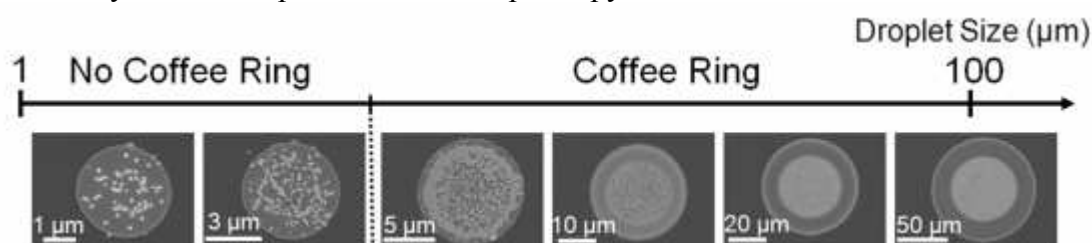


Рис. 4-2-4. Образование кофейных колец при увеличении размера капель. При использовании частиц размером 100 нанометров образуется самое маленькое кофейное кольцо диаметром около 10 микрометров.

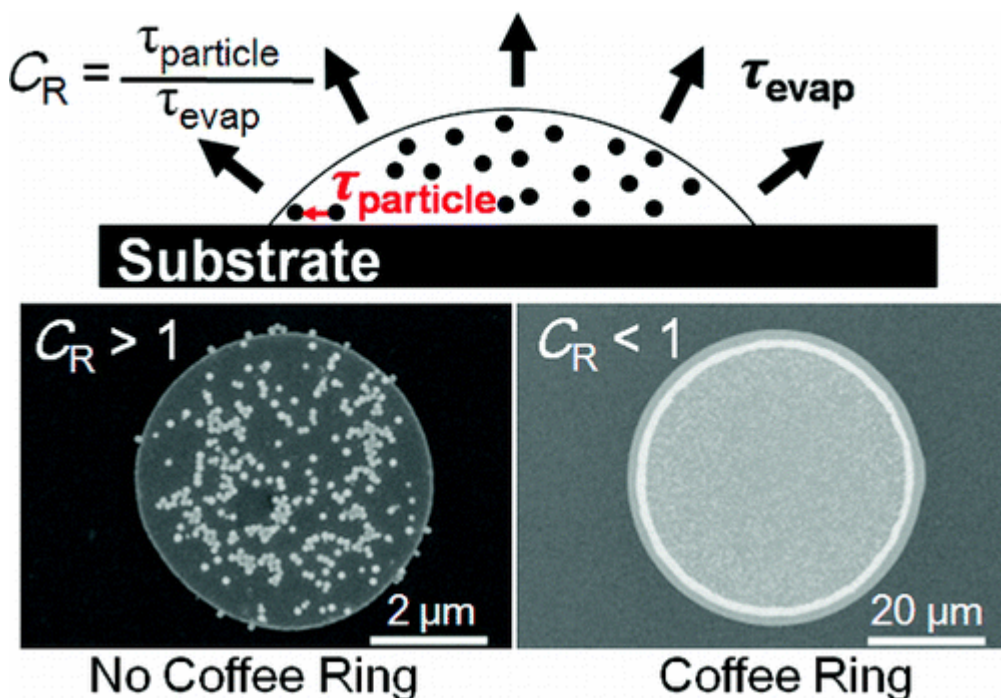


Рис. 4-2-5. Соотношение скорости испарения капли и скорости перемещения частиц.

2011-Физики из Пенсильванского Университета (США) (Peter Yunker и Arjun Yodh, University of Pennsylvania) исследовали испарение капли коллоидного раствора со сферическими и эллиптическими частицами.

В процессе высыхания края капель, находящихся на какой-нибудь ровной поверхности, «прикрепляются» к ней, и сокращение объёма жидкости сопровождается уменьшением не радиуса, а высоты капель. Вследствие этого жидкость движется от их центров к краям, увлекая за собой взвешенные в ней частицы; когда испарение заканчивается, на поверхности остаётся то самое «кофейное кольцо»-круговое скопление частиц. Вышесказанное справедливо для сферических частиц, которые не слишком сильно деформируют поверхность раздела между жидкостью и воздухом и свободно продвигаются к краям капель. «Если же частицы сделать эллипсоидальными, поверхность раздела должна становиться неровной, что стимулирует капиллярные взаимодействия между ними», говорит один из авторов работы Питер Юнкер (Peter Yunker). Тогда эллипсоиды, вынесенные к границе раздела воды и воздуха при испарении, образуют неплотные скопления, создадут «заторы», препятствующие движению других частиц, и равномерно распределятся по площади, занятой каплями.

В одном из опытов в воду добавлялось поверхностно-активное вещество, которое, концентрируясь на поверхности раздела фаз, снижает поверхностное натяжение. Как и следовало ожидать, эллипсоидальные частицы в таких каплях двигались более свободно, и «кофейные кольца» появлялись вновь.

P. J. Yunker and A. G. Yodh. Colloidal shape effects in evaporating drops. Conf. Physics of Complex Colloids.+

2011-T.-S. Wong, T.-H. Chen, X. Shen, and C.-M. Ho, “Nanochromatography driven by the coffee ring effect,” Analytical Chemistry, Mar. 2011. vol.83, p.1871-1873,

2012-S. Das, P. R. Waghmare, M. Fan, N. S. K. Gunda, S. S. Roy, and S. K. Mitra, “Dynamics of liquid droplets in an evaporating drop: liquid droplet coffee stain? effect,” RSC Advances, vol. 2, p.8390-8401, Aug. 2012.

2012-Siddhartha Das, Prashant R. Waghmare, Meng Fan, Naga Siva Kumar Gunda, Susanta Sinha Roy and Sushanta K. Mitra. Dynamics of liquid droplets in an evaporating drop: liquid droplet “coffee stain” effect. RSC Adv., 2012,2, p.8390-8401

2013-China, Pengzhan Sun, Renzhi M, Kunlin Wang, Minlin Zhong1, Jinquan Wei, Dehai W1, Takayoshi Sasaki and Hongwei Zhu. Suppression of the coffee-ring effect by self-assembling graphene oxide and monolayer titania. Nanotechnology Volume 24 Number 7. Pengzhan Sun et al 2013 Nanotechnology 24 075601 doi:10.1088/0957-4484/24/7/075601.

2013-A. Crivoi& Fei Duan. Three-dimensional Monte Carlo model of the coffee-ring effect in evaporating colloidal droplets. Scientific Reports 4, Article number: 4310. 2013.

2013- Marcus C. Lopesa and Elmar Bonaccorso. Influence of substrate elasticity on particle deposition patterns from evaporating water–silica suspension droplets. *Soft Matter*, 2013,9, 7942-7950.

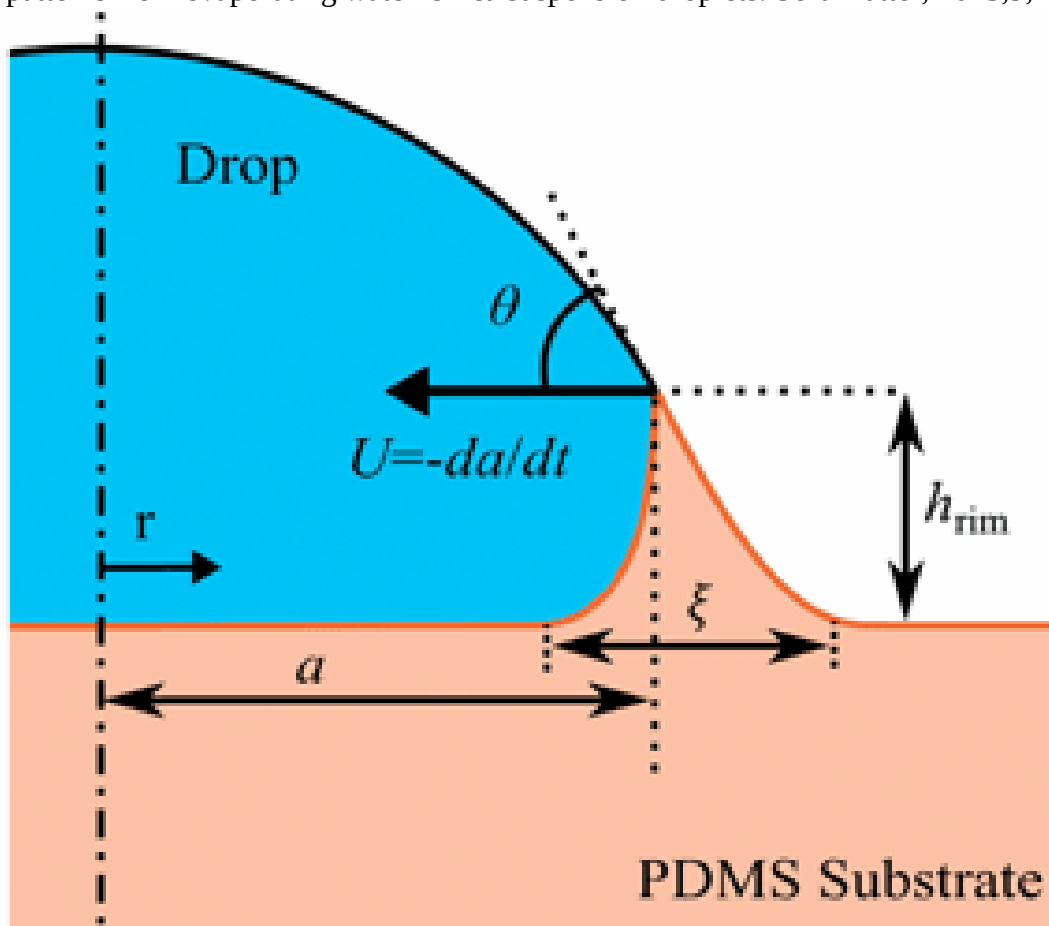


Рис. 4-2-6. Краевой эффект в капле.

2014-Yao Tang, Wei He, Shouxu Wang, Zhihua Tao and Lijuan Cheng. The superiority of silver nanoellipsoids synthesized via a new approach in suppressing the coffee-ring effect during drying and film formation processes. *Nanotechnology* Volume 25 Number 12. Yao Tang et al 2014 *Nanotechnology* 25 125602.

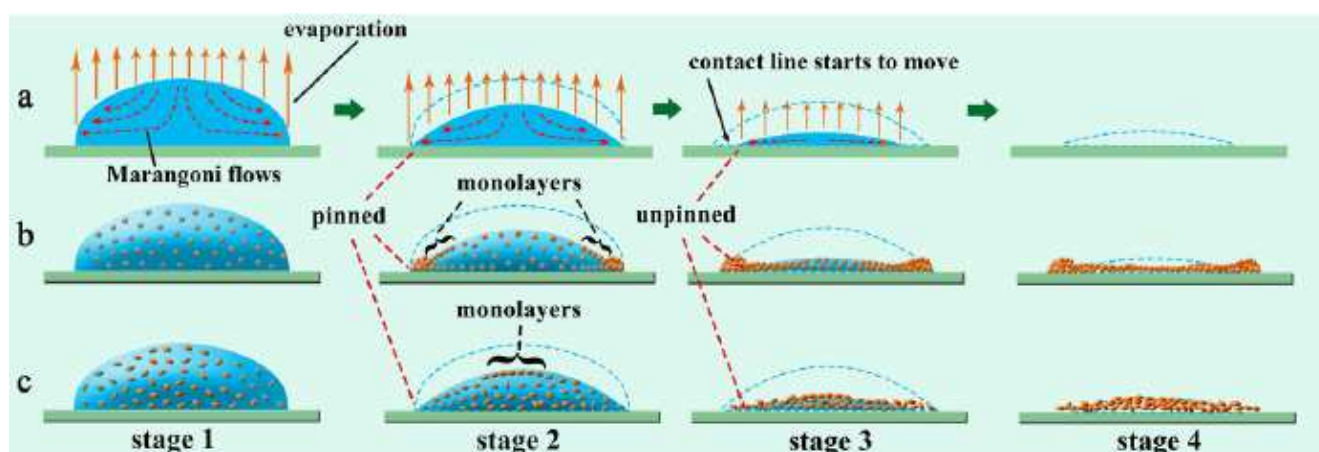


Рис. 4-2-7. Стадии высыхания капли. а-чистая вода, в, с-коллоидные растворы.

2015-Dugyala V.R., Basavaraj M.G. Evaporation of sessile drops containing colloidal rods: coffee-ring and order-disorder transition. *J Phys Chem B* 2015 Mar 5; 119(9): p.3860-3867.

<http://jfi.uchicago.edu/~tten/Coffee.drops/>

4.3 Исследование процессов, происходящих в испаряющейся капле.

1877-Максвелл (Maxwell) исследовал испарение сферической капли в бесконечном пространстве.

1882-Sreznevsky исследовал испарение полусферической капли, находящейся на плоскости.

1930-Михеев В.И. Причины расслаивания пересыщенных растворов. Записки ВМО. 1930. ч.59. с.303-307.

1977-R. G. Picknett and R. Bexon, "The evaporation of sessile or pendant drops in still air," Journal of Colloid and Interface Science, vol. 61, p.336-350, Sept. 1977.

1980-Н.К. Cammenga, "Evaporation mechanisms of liquids," Current topics in materials science, vol. 5, p.335-446, 1980.

1985-Heist R.H. Oscillatory nucleation of droplets in a cloud chamber. Perspectives in Computing. 1985. 5. p.20-31.

1991-Ehrhardt P. Davis S.H. Non-isothermal spreading of liquid drops on horizontal plane. Journal of Fluid Mechanics. 1991. 229, p.365-388.

1995-Eiki Adachi, Antony S. Dimitrov, Kuniaki Nagayama. Stripe Patterns Formed on a Glass Surface during Droplet Evaporation/ Langmul. 1995. 11. p.1057-1060.

1996-J. Drelich, J. D. Miller, and R. J. Good, "The effect of drop (bubble) size on advancing and receding contact angles for heterogeneous and rough solid surfaces as observed with sessile-drop and captive-bubble techniques," Journal of Colloid and Interface Science, vol. 179, p.37-50, Apr. 1996.

1997-Deegan Robert D, James Frank Institute Illinois, USA

-James Franck Institute, 5640 South Ellis Avenue, Chicago, Illinois 60637, USA-Email: ddeegan@cotnrol.uchicago.edu

1997-Deegan R.D. Bakajin O. Dupont T.F. Huber G. Nagel S.R. Witten T.A. Capillary flow as the cause of ring stains from dried liquid drops. Nature, vol. 389, 23 October 1997, p.827-829.++

2000-Deegan R.D. Bakajin O. Dupont T.F. Huber G. Nagel S.R. Witten T.A. Contact line deposits in an evaporating drop. Physical Review E. 2000. Vol. 62. p.756-765.+

2000-Deegan R.D. Pattern formation in drying drops. Physical Review. E. 2000. volume 61. №1. p.475-485.+

2002-Mougin K, Haidara H. Complex pattern formation in drying dispersions. Langmuir. 2002; 18(24): p.9566-9569.

2002-H. Y. Erbil, G. McHale, and M. I. Newton, Drop evaporation on solid surfaces: constant contact angle mode. Langmuir, vol. 18, no. 7, p.2636-2641, 2002.

2002-H. Hu and R. G. Larson, Evaporation of a sessile droplet on a substrate. The Journal of Physical Chemistry B, vol. 106, p.1334-1344, Feb. 2002.

2004-Mollaret R. Sefiane K. Christy J.R.E. Veyret D. Experimental and Numerical Investigation of the Evaporation into Air of a Drop on a Heated Surface. Chemical Engineering Research and Design, 2004, 82(A4). P.471-480.

2004-Manoj Gonuguntla, Ashutosh Sharma (India) Polymer Patterns in Evaporating Droplets on Dissolving substrates. Langmuir. 2004. 20. p.3456-3463.+

- 2004-Sommer AP, Ben-Moshe M, Magdassi S. Size-discriminative self-assembly of nanospheres in evaporating drops. *Journal of Physical Chemistry B*. 2004; 108(1): p.8-10.
- 2005-V. Dugas, J. Broutin, and E. Souteyrand, “Droplet evaporation study applied to DNA chip manufacturing,” *Langmuir*, vol. 21, p.9130-9136, Sept. 2005.
- 2005-Popov Yuri O. (Department of Physics, University of Chicago, 5640 S. Ellis Avenue, Chicago, Illinois 60637, USA) Evaporative deposition patterns: spatial dimensions of the deposit. *Physical Review E* vol.71, p.036313.+

- 2005-Dolz M. Nieto F. Ramirez-Pastor A.J. Dimer site-bond percolation on a square lattice. *Eur. Phys. J. B* 36, p.391 (2005).
- 2005-Dolz M. Nieto F. Ramirez-Pastor A. J. Site-bond percolation of polyatomic species. *Physical Review E* 2005, 72(1).

- 2007-T. T. Nellimoottil, P. N. Rao, S. S. Ghosh, and A. Chattopadhyay, “Evaporation-induced patterns from droplets containing motile and nonmotile bacteria,” *Langmuir*, vol. 23, p.8655-8658, Aug. 2007.
- 2007-Zhang J, Kim SK, Sun X, Lee H. Ramified fractal-patterns formed by droplet evaporation of a solution containing single-walled carbon nanotubes. *Colloids and Surfaces A*. 2007; 292(2-3): p.148-152.
- 2007- C. Poulard and P. Damman. Control of spreading and drying of a polymer solution from Marangoni flows. *EPL (Europhysics Letters)*. 2007. Volume 80. Number 6. p.64001.+
- 2007-Sukhanova A, Volkov Y, Rogach AL, et al. Lab-in-a-drop: controlled self-assembly of CdSe/ZnS quantum dots and quantum rods into polycrystalline nanostructures with desired optical properties. *Nanotechnology*. 2007; 18(18).
- 2007-Chon HC, Paik S, Tipton JB, Kihm KD. Effect of nanoparticle sizes and number densities on the evaporation and dryout characteristics for strongly pinned nanofluid droplets. *Langmuir*. 2007; 23(6): p.2953-2960.
- 2009-C.-H. Choi and C.-J. C. Kim, “Droplet evaporation of pure water and protein solution on nanostructured superhydrophobic surfaces of varying heights,” *Langmuir*, vol. 25, p.7561-7567, July 2009.
- 2009-Makiko Nonomura, Ryo Kobayashi, Yasumasa Nishiura, Masatsugu Shimomura (Japan) Periodic Precipitation during droplet evaporation on a substrate. *Hokkaido University. Letters*. 2009.
- 2009-Raymond M.A. Smith E.R. Liesegang J. Oscillation blood droplets-Implications for crime scene reconstruction. *Sci. Justice*. 1996. 36(3). P.161-171.
- 2009- Rajneesh Bhardwaj, Xiaohua Fang and Daniel Attinger. (USA) Pattern formation during the evaporation of a colloidal nanoliter drop: a numerical and experimental study. *New Journal of Physics*. 2009. vol.11 No.7. p.075020.+
- 2010-Kaya D., Belyi V.A., Muthukumar M. Pattern formation in drying droplets of polyelectrolyte and salt. *Journal of Chemical Physics*. 2010; 133(11).
- 2010-Gary Larson R.G., Alumnà López M, Lim D.W., Lahann J. Complex Protein Patterns in Drying Droplets. *MRS Proceedings*, 1273, 1273-MM03-0, 2010.

2010-Sefiane K. On the formation of regular patterns from drying droplets and their potential use for bio-medical applications. Journal of Bionic Engineering. 2010; 7(supplement): p.82-93.

2011-H. Gelderblom, A. G. Marin, H. Nair, A. van Houselt, L. Lefferts, J. H. Snoeijer, and D. Lohse, "How water droplets evaporate on a superhydrophobic substrate," Physical Review E, vol. 83, no. 2, p.026306, 2011.

2012-H. Y. Erbil, "Evaporation of pure liquid sessile and spherical suspended drops: A review," Advances in Colloid and Interface Science, vol. 170, p.67-86, Jan. 2012.

2013-Ranjini Bandyopadhyay. Novel Experimentally Observed Phenomena in Soft Matter. Journal of Physics. 2013. vol.81. No.1. p.3-34.+

4.4 Периодические процессы при кристаллизации (ритмическая кристаллизация).

- кольца Лизеганга (Liesegang ring),
- периодические коллоидные структуры,
- Слои Шиллера-коагуляционные осадки пластинчатых частиц,
- периодические физико-химические процессы,
- ритмическая кристаллизация,
- концентрическое строение минералов, агаты, сферолиты,
- концентрическое строение минеральных образований в организме (почечные камни),
- реакция Белоусова-Жаботинского.

1831-Немецкий химик Friedlieb Ferdinand Runge (1794-1867) изучал периодические химические реакции.

1896-Немецкий химик Лизеганг (Rafael Eduard Liesegang) (1869-1947) является первооткрывателем образования периодических колец (колец Лизеганга) происходящих при процессах самоорганизации в химических системах. Он не первым наблюдал этот эффект, но он первым осуществил целенаправленные исследования в этой области. Он развил учение о самоорганизации в неравновесных системах. Работая в химической лаборатории фотофабрики, он обнаружил, что при высыхании капли 20% раствора нитрата серебра AgNO_3 на фотопластинке, покрытой слоем смеси желатина и хромпика ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) образуется система концентрических колец, которые состоят из продукта реакции AgNO_3 и $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ -бихромата серебра. Кольца возникают в результате периодического осаждения различных соединений при диффузии в гелевых средах.

Кольца Лизеганга получают из неорганических солей. Способ получения колец Лизеганга следующий: желатин с примесью небольшого количества $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ выливают на стеклянную пластинку и затем в центр помещают каплю раствора AgNO_3 , который диффундирует в желатин и дает красный осадок двуххромовокислого серебра. Осадок получается не сплошным пятном, а в виде правильных концентрических колец.

1896-Liesegang R.E/ Naturwiss. Wochenscher., 1896. №11. p.353.

1897-Немецкий химик В.Оствальд (Wilhelm Fridrich Ostwald) (1853-1932) описал механизм возникновения колец Лизеганга на основе метастабильного состояния. Ostwald W. Lehrbuch der Allgemeinen Chemie (Engelmann, Leipzig, 1897).

1906-Веймарн Петр Петрович (1879-) Экстраординарный профессор Горного Института Императрицы Екатерины II, Приват-доцент Императорского СПб. Университета.

1906-Веймарн П.П. Коллоидное состояние как общее свойство вещества. // Журн. Русск. физ.-хим. общ. 1906. т.38.

1907-Веймарн П.П. Кристаллическое состояние-внутреннее свойство материи, СПб., 1907. с.37.

- 1910-Веймарн П.П. К учению о состоянии материи (основания кристаллизационной теории необратимых коллоидов). СПб. 1910. 188с.
- 1910-Веймарн П.П., Малышев Б.В. Журн. Рус. Хим. о-ва, 42, 484 (1910). Он обнаружил образование концентрических наслоений из коллоидных растворов на фильтровальной бумаге.
- 1911-Веймарн П.П. Значение коллоидной химии для различных отраслей естествознания. Вступительная лекция по Коллоидной Химии, прочитанная 12 Октября 1910 года в Императорском СПб. Университете.
- 1913-Веймарн П.П. Основы дисперсоидологической теории истинных растворов.-СПб: Книгоиздат. «Естествоиспытатель», 1913.
- 1925-Der Allgemeinhait der kolloidzustandes. Bd. 1:504S. Dresden, 1925.
-
- 1924-Schmabel. Neues Jahrb. Miner. 1924. 51. Ритмическая кристаллизация.
- 1925-Nouy P. du, "3rd Colloid Symposium Monograph". Дюнюи наблюдал периодическую кристаллизацию хлористого натрия в коллоидном растворе.
- 1926-Du Nouy P.L. 1926, 1928.
- 1927-Ernst Reunig. Neues Jahbr. Miner. 57. А. Ритмическая кристаллизация.
- 1928-Мокрушин С. Периодическая диффузия. Kolloid-Z. 1928. 44. с.32.
- 1930-Шаде Г. Периодичность и лучистость желчных, почечных и печеночных камней. Физическая химия во внутренней медицине. 1930. с.334-343, с.392-402.
- 1930-Thimann K.V. The effect of salts on the ionisation of gelatin. J Gen Physiol. 1930 Nov 20; 14(2): p.215-222.
- Эффект добавления хлорида натрия к желатиновым растворам показано с взаимоотношениях Donnan увеличить ионизацию желатин, увеличение полученного в кислых растворах, достигающих максимума при примерно 1/1000 молярной концентрации соли. Этот эффект объясняется образованием комплексных ионов. С аналогичным действием кальция и меди хлоридов эффективным объединения мощности из желатина для образования комплекса положительных ионов выводится.
- 1931- O.F. Tower, Edna E. Chapman. Liesegang Rings. J. Phys. Chem., 1931, 35 (5), p.1474-1476.
- 1933-Семенов Н.Н. К вопросу о соотношении между физическими и химическими процессами. Природа. 1933. №3-4. с.40-52.+
-
- Никифоров В.К. Институт Химии, Минск, Белорусская Академия Наук.
- 1935-Никифоров В.К. Действие света на неперодические реакции. Журнал Химической Физики. 1935. №32. с.585.
- 1935-Никифоров В.К. волновая теория действия излучения на периодические реакции. Коллоидный журнал. 1935. №1. с.138.
- 1936-Никифоров В.К. Рунцо А.П. О законе преломления. Коллоидный журнал. 1936. №2. с.229-238.
- 1936-Никифоров В.К. Рунцо А.П. О причинах отклонения от выражения $Lv=const$. Коллоидный журнал. 1936. №2. с.461-465.
- 1937-Никифоров В.К. Рунцо А.П. Действие температуры на периодические реакции. Коллоидный журнал. 1937. №3. С.45.
- 1937-Никифоров В.К. Рунцо А.П. Окаймленное осаждение в капиллярность. Коллоидный журнал. 1937. №3. с.889.
- 1938-Никифоров В.К. Харамоненко С.С. Волновое число периодической реакции $Ag_2Cr_2O_7$. Известия Физикохимии. 1938. №8. с.95.

1939-Харамоненко С.С. Действие гидролиза желатина на периодическое осаждение. Коллоидный журнал. 1939. №5. с.755.

Москва, Институт общей и неорганической химии, Коллоидно-электрохимический институт.
Шемякин Федор Михайлович.

1930-Шемякин Ф.М. Ibid., 1930. №62. p.1357. Исследовались периодические наслоения, получаемые при медленном выпаривании на большом часовом стекле при температуре 30-40 градусов водопроводной воды. Периодические отложения в этом случае состоят из солей, растворенных в воде. Процесс происходит следующим образом. Большая капля воды медленно испаряется с поверхности, вследствие чего кривизна мениска все время уменьшается. Наконец, наступает такой момент, когда капля стягивается. При этом восстанавливается первоначальная кривизна мениска. При испарении на периферии капли, соприкасающейся со стеклом, отлагаются соли, растворенные в воде. Когда капля перемещается, то отложившаяся соль образует кольцо по периферии площади, прежде занимаемой каплей. В дальнейшем процесс повторяется таким же образом. В результате получается система колец.

1929-Шемякин Ф.М. отметил отставание образующегося осадка вещества при реакции осаждения от границы распространения диффундирующего раствора, из которого осадок выделяется. Он назвал эту зону, расположенную между осадком и границей поля диффузии, «зоной отставания».

1946-Шемякиным предложена «хроматографическая теория образования ритмических структур осадков в гелях и водной среде (колец Лизеганга)». По этой теории ритмические отложения осадка получаются как результат автохроматографического процесса, когда образующийся осадок сам служит сорбентом для диффундирующего в гель электролита, чем создается зона отставания, и дальнейшее отложение осадка становится возможным только на некотором расстоянии от образовавшегося слоя осадка. При этом вначале образуется зона отставания,двигающаяся затем перед зоной осаждения, как в распределительной хроматографии.

Профессор, доктор химических наук Федор Михайлович Шемякин (07.01.1905-07.02.1981) 31 год (с 1950 по 1981 г.), заведовал Кафедрой аналитической химии в Московской медицинской академии им И.М. Сеченова. Основное направление работы сотрудников кафедры под руководством профессора Ф.М. Шемякина составляли исследования по методам физико-химического анализа лекарственных веществ, применению хроматографии к анализу лекарственных препаратов. Были разработаны хроматографические, электрохимические методы анализа алкалоидов, сульфаниламидов, соединений металлов, фотометрические методы анализа различных лекарственных веществ. На кафедре развивались исследования по обоснованию аналитической классификации катионов и анионов, исходя из периодического закона химических элементов. Начиная с 1950 г. на кафедре стали проводиться исследования по применению хроматографических методов в анализе-ионообменной, осадочной, распределительной, тонкослойной хроматографии (катионов ряда металлов, алкалоидов, сульфаниламидов, барбитуратов, кальцийсодержащих препаратов, биожидкостей, настоек лекарственных веществ).

Шемякин Ф.М. Изучал периодические наслоения, получающиеся при выпаривании водопроводной воды на часовом стекле при температуре 30-40 градусов.

1929-Шемякин Ф.М. ЖРФХО. ч.х. 1929. 61. с.1215.

1930-Шемякин Ф.М. Ibid., 1930. №62. p.1357.

1931-Шемякин Ф.М. Журнал Общей Химии. 1931. т.1. с.455(457).

1932-Шемякин Ф.М. Труды 6-го Менделеевского съезда. Харьков. 1932. т.2. с.233.

1933-Шемякин Ф.М. Никифоров В.К. Михалев П.Ф. Волновая теория периодических реакций. Журнал Общей Химии. 1933. №3. с.798.

1933-Михалев П.Ф. Шемякин Ф.М. Эмиссионно-волновая теория. Журнал Общей Химии. 1933. №3. с.1001-1004.

- 1934-Михалев П.Ф. Никифоров В.К. Шемякин Ф.М. Эмиссионно-волновая теория периодических реакций. *Kolloid-Z.* 1934. 66. с.197-200.
- 1934-Михалев П.Ф. Хемотаксис. Периодические процессы в коллоидных системах. *Журнал физической химии.* 1934. №5. с.820-823.
- 1934-Шемякин Ф.М. Эмульсионно волновая теория периодических реакций. **III.** *Журнал Общей Химии.* 1934. №4. с.444-451.
- 1934-Михалев П.Ф. Шемякин Ф.М. Волны в периодических реакциях. **V.** Исследование периодических реакций методом физико-химического анализа. *Журнал Общей Химии.* 1934. №4. с.1117.
- 1934-Шемякин Ф.М. Морфология химических реакций в геле. **VIII.** Действие кислоты и щелочи на образование колец Лизеганга и «радиальные розетки» в желатине и некоторые наблюдения при отсутствии геля. *Журнал Физической Химии.* 1934. №5. с.755.
- 1934-Михалев П.Ф. Шемякин Ф.М. Влияние органических веществ на периодичность реакции. *Журнал Физической Химии.* 1934. №5. с.750-754.
- 1935-Шемякин Ф.М. Фокина Е.З. Михалев П.Ф. Исследования периодических реакций с помощью физико-химического анализа. **VI.** *Журнал Общей Химии.* 1935. №5. с.1145-1157.
- 1935-Витт А.А. Шемякин Ф.М. Математическая теория периодических реакций. *Журнал Общей Химии.* 1935. №5. с.814.
- 1935-Витт А.А. Шемякин Ф.М. Математическая теория периодических реакций. *Acta phys.-chem.* 1935. №2. с.171-176.
- 1935-Шемякин Ф.М. Эмиссионно-волновая теория периодических реакций. **VIII.** *Журнал Общей Химии.* 1935. №5. с.943-949.
- 1935-Шемякин Ф.М. Кольца Лизеганга. *Коллоидный журнал.* 1935. №1, с.35-37.
- 1935-Михалев П.Ф. Математическая трактовка проблемы. *Коллоидный журнал.* 1935. №1. с.42-50.
- 1935-Шемякин Ф.М. Математическое описание периодических процессов. *Коллоидный журнал.* 1935. №1. с.142.
- 1935-Шемякин Ф.М. Михалев П.Ф. Исследование периодических реакций с помощью физико-химического анализа. *Труды Физикохимии.* 1935. №2. с.427.
- 1936-Шемякин Ф.М. Кольца Лизеганга. *Коллоидный журнал.* 1936. №2, с.259.
- 1936-Михалев П.Ф. Шемякин Ф.М. Возражения на статью В.К. Никифорова. *Коллоидный журнал.* 1936. №2. с.435.
- 1936-Шемякин Ф.М. Эмиссионно-волновая теория периодических реакций. **VII.** *Ученые записки МГУ.* 1936. №6. с.89-97.
- 1936-Шемякин Ф.М. Лазарева А.И. О волнообразных трещинах и периодической кристаллизации в желатиновом геле при реакции образования карбоната ртути. *Доклады АН СССР.* 1936. т.3(12). №8(103) с.371-373.+
- 1936-Шемякин Ф.М. К вопросу о периодических реакциях. *Доклады АН СССР.* 1936. т.4(13). №2(106) с.63-64.+
- 1936-Шемякин Ф.М. Отложения церия с морфием в водной среде. *Доклады АН СССР.* 1936. 14. с.113.?
- 1936-Шемякин Ф.М. Лазарева А.И. Исследование периодических осадений в водной среде в капиллярах для реакции образования карбоната бария, хрома меди и сульфата серебра. *Доклады АН СССР.* 1937. т.14. №8. с.513-516.+
- 1936-Шемякин Ф.М. Лазарева А.И. Сравнительное исследование периодических осадений в водной среде по методам Морзе и Оствальда. *Доклады АН СССР.* 1936. т.14. №8. с.517-520.+
- 1936-Шемякин Ф.М. Лазарева А.И. Гидроксид магния формирование в геле. *Известия АН СССР.* 1936. №40. с.599.?
- 1937-Шемякин Ф.М. Михалев А.Ф. О возможном механизме образования периодических прослоек льда при замораживании почвы в связи с вопросом о вечной мерзлоте. *Доклады АН СССР.* 1937. т.17. №8. с.401-403.+

- 1937-Михалев П.Ф. Шемякин Ф.М. Периодическая кристаллизация. Периодические наслоения при кристаллизации жидкого раствора NiSO_4 , CuI_2 и CuSO_4 . Журнал Физической Химии. 1937. №10. с.157.
- 1937-Михалев П.Ф. Шемякин Ф.М. **Пектография**. Периодические наслоения CuSO_4 на фильтровальной бумаге. Журнал Физической Химии. 1937. №10. с.159.
- 1937-Михалев П.Ф. Шемякин Ф.М. Периодическая седиментация. Журнал Физической Химии. 1937. №10. с.882.
- 1938-Михалев П.Ф. Периодические наслоения. Коллоидный журнал. 1938. №4. с.373.
- 1938-Шемякин Ф.М. Краузе В.Е. Изучение периодических реакций методом физического анализа. **XIII**. Журнал Общей Химии. 1938. №8. с.83.
- 1938-Шемякин Ф.М. Михалев П.Ф. Возможный механизм формирования периодических слоев льда при замерзании почвы и проблемы частичного замораживания. Коллоидный журнал. 1938. №4. с.369.
- 1938-Шемякин Ф.М. Михалев П.Ф. Физико-химические периодические процессы. Издательство АН СССР. 1938.+
- 1939-Михалев П.Ф. Шемякин Ф.М. Вычисление ограничений числа колец Лизеганга. Журнал прикладной химии. 1939. №12. с.536.
- 1939-Шемякин Ф.М. Михалев П.Ф. Метод получения периодических структур и определение константы периодичности. Коллоидный журнал. 1939. №5. с.655.
- 1939-Шемякин Ф.М. Михалев П.Ф. К теории колец Лизеганга. Доклады АН СССР. 1939. №25. №3. с.201-203.+
- 1940-Шемякин Федор Михайлович. Изучение физико-химических периодических процессов методом физико-химического анализа. Диссертация доктора химических наук. 1940.
- 1948-Шемякин Ф.М. Ритмическое осаждение при реакции в газовой фазе. Коллоидный журнал. 1948. №10. с.334.
- 1950-Шемякин Ф.М. Важность хроматографической абсорбции при формировании ритмических структур. Коллоидный журнал. 1950. №12. с.392.
- 1953-Шемякин Ф.М. Карпов А.Н. Медведева Н.К. Аптечное дело. 1953. №2. с.19.
- 1955-Шемякин Ф.М., Мицеловский Э.С., Романов Д.В. Хроматографический анализ. Введение в теорию и практику. Москва. Госхимиздат, 1955. 210с.+
- 1965-Шемякин Ф.М. Бердников К.М. (Москва, Институт общей и неорганической химии) Определение качества барбитуратов методом кристаллографии. Аптечное дело. 1965. №6. с.63.
- 1970-Шемякин Ф.М. Степин В.В. Ионообменный хроматографический анализ металлов. М. Металлургия. 1970. 392с.+

Кольца Лизеганга представляют собой по механизму образования вид осадочной хроматографии. Их особенность заключается в том, что,

- 1-объект исследования-неорганические соли,
- 2-для получения хроматограммы в центр пробы добавляют только каплю реагента, который реагирует с неорганической солью, уже помещенной на пластинку с гелем,
- 3-непрерывный поток элюента не используют.
- 4-используются два реагента, один из которых осадитель. Химическая реакция идет на гелевой поверхности, в результате которой получается новое химическое вещество.

- 1938-Черчес К.А. Преломление периодического осаждения Ag_2CrO_4 в напряженном желатине. Коллоидный журнал. 1938. №4. с.407.
- 1938-Пунтсо А.П. Действие капиллярности на константу периодичности. Коллоидный журнал. 1938. №4. с.413.

1939-Ермоленко Н.Ф. Левин С.А. Периодическое осаждение из раствора при испарении растворителя. Журнал общей химии. 1939. №9. с.965.

1940-Ермоленко Н.Ф. Левин С.А. Периодическое осаждение. **III**. Журнал Общей Химии. №10. с.1565.

1940-Овчаренко Ф.Д. Осаждение и периодическое отложение с помощью электролитической коагуляции в желатине соли CdS. Записки Института Химии АН СССР. 1940. 6. №3-4. с.307.

1949-Овчаренко Ф.Д. Периодическое осаждение хромата меди в агаре методом коагуляции. Коллоидный журнал. 1949. №11. с.260.

1946-Красильщиков А.И. Замечания относительно формирования колец Лезиганга. Журнал Общей Химии. 1946. №16. с.1359.

1948-Гарбузов А.И. Действие смешанного электролита на формирование периодического осаждения фосфата кальция в агаровом геле. Коллоидный журнал. 1948. №10. с.265.

1949-Афанасьев С. пространственное распределение осадка при кристаллизации взаимно диффундирующих компонент. Журнал Физической Химии. 1949.

1949-Тодес О.М. Математическое описание теории периодического осаждения. Журнал Физической Химии. 1949. №23. с.180.

1950-Дьячковский С.И. Ускорение формирования ритмического осаждения в желатине с помощью электрического поля. Коллоидный журнал. 1950. №12. с.392.

1953-Schaafs W. Rhythmic crystallization of several inorganic salts. Kolloid-Zeitschrift. 1954. 137. p.12.

1953 Schaafs W. Problem of rhythmic crystallization and periodic chemical reaction in colloid chemistry and biology. Kolloid-Zeitschrift. 1954. 137. p.121.

1954-Sole A. Die rhythmischen kristallisationen im influenzstadiogramm. (Rhythmic crystallization by a drop technique). Kolloid-Zeitschrift. 1954. 137(1). P.15-19.

1955-Kofler A. Melting and crystallization of solid solutions. Phenanthrene-Anthracene (in Deutsch). Monatsh. F. Chemie. 1955. 86. p.301.

1955-Packter A. The effect of crystallinity on rhythmic precipitation. J. Chem. Soc. 1955. 1180.

1965-Henisch H.K. Dennis J. Hanoka J.I. Crystals growth in gels. J. Phys. Chem. Solid. 1965. 26. p.493-500.

1968-Inaudy Bolivar E. Fetal membrane rupture diagnosis using the rhythmic crystallization test (in Spain). Rev. Obstet. Ginecol. Venez. 1968. 28(1). P.99-127.

1967-Anderson L.C., Brumberger H., Marchessault R.H. (Syracuse University, USA)
Morphology of Poly-L-alanine Spherulites. Nature 216, p.52-54. +

1970-Brumberger H. Rhythmic crystallization of poly-L-alanine. Nature. 1970. 227(257). P.490-491.

1962-Кузьменко Георгий Иванович (Одесса, Одесский институт инженеров морского флота).

1962-Кузьменко.Г.И., Семенов В.В. Волновые свойства йонов в электролитах. Изв. вузов СССР, Физика, №2, 1962. с.171-172.

1969-Кузьменко Г.И. О квазипериодических наложениях Лизеганга. УМ, №10, 1969, с.1760.

1969-Кузьменко Г.И. О применении аналогий диффузионного и квантового движений. Изв.вузов СССР, Физика, №5, 1969, с.56-61.

1975-Кузьменко Г.И. Применение волномеханических методов к описанию макроскопических конденсаций. РЖ Астрономия, №2, 51'. 197, 1975-9 с-Деп. в ВИНТИ Ю.УП.74, №2081.

1992-Кузьменко Георгий Иванович. Волномеханические методы в геофизике и геологии. Диссертация доктора физико-математических наук. Киев. 1992. Описана квантомеханическая теория периодических отложений.

1971-Morantz D.J. Mathur K.K. Periodic striations in crystals. J. Cryst. Growth. 1971. 11. p.1-5.

1971-Ефремов И. Ф. Периодические коллоидные структуры. Л. Химия, 1971. 192с.

2014-Полежаев А.А. Теория структур Лизеганга.

Полосчатые структуры в геологии.

Очевидную внешнюю аналогию ритмических полосчатых структур в некоторых магматических породах, например в сфероидальных диоритах, с процессом коллоидного ритмического осаждения можно, вероятно, понять при обобщенном применении гипотезы интерференции диффузионных волн Вольфганга Оствальда. Эти структуры согласуются также с первоначальными допущениями Лизеганга относительно подобных же явлений в изверженных породах, в вытянутых рудных телах и других образованиях. Подобная же ритмическая кристаллизация часто описывается в керамических продуктах, глазурях, эмалях и даже шлаках.

На основании накопленного опыта и имеющихся литературных данных можно констатировать, что колебания параметров, проявляющиеся в ритмически-слоистой неоднородности нарощенного материала, характерны для всех кристаллов кварца как отечественного, так и зарубежного производства. Это свидетельствует, с одной стороны, о несовершенстве систем управления процессом, с другой о ритмичности вхождения примеси, связанной, очевидно, с колебаниями параметров режима кристаллизации. Задача однозначной идентификации причин такой ритмической неоднородности до сих пор остается нерешенной.

4.5 Экспериментальные методы исследования процесса испарения капли.

Интерференционные методы исследования процесса испарения.

2009-Челябинск, ЮУрГУ.

2009-Ушаков В.Л. Пызин Г.П. Речкалов В.Г. Бескачко В.П.

Опоределение радиуса кривизны в вершине лежащей капли по наблюдениям картин интерференции. Вестник ЮУрГУ. 2009. вып.1. №22(155). С.91-96.

2010-Ушаков В.Л. Пызин Г.П. Речкалов В.Г. Бескачко В.П.

Оценка параметров интерферограмм, необходимых для определения радиуса кривизны в вершине лежащей капли. Вестник ЮУрГУ. 2010. вып.3. №30 (206). С.95-100.

2013-Ушаков Владимир Леонидович, Пызин Георгий Петрович, Бескачко Валерий Петрович.

Методика наблюдения малых движений поверхности лежащей капли в процессе ее испарения. Вестник ЮУрГУ. 2013. т.5. №2. с.117-122.+

2009-Саратов, СГУ.

2009-Лычагов В.В. Кальянов А.Л. Рябухо В.П. Низкокогерентная микроинтерферометрия внутренней структуры кристаллизовавшейся плазмы крови. Оптика и спектроскопия. 2009. т.107. №6. с.907-914.+

2010-Кальянов В.В.Смирнов И. Лычагов В.В. Рябухо В.П. Низкокогерентная интерферометрия кристаллизовавшейся плазмы крови. SFM-2010.

2010-Кальянов А.Л. Лычагов В.В. Малинова Л.И. Пайзиев А.А. Рябухо В.П. Изкокогерентная полнопольная интерферометрия объемной структуры кристаллизовавшейся капли солевого раствора белка. Компьютерная оптика. 2010, т.34, №1. с.90-100.+

4.6 Двумерная кристаллизация.

Двумерные кристаллы часто образуются при кристаллизации коллоидных растворов в тонком (мономолекулярном) слое на поверхности.

1917-Irving Langmuir, USA

Ирвинг Ленгмюр (Irving Langmuir) (1881-1957) вместе со своей ученицей Katarin Blodgett разработал метод формирования тонких пленок мономолекулярной толщины на поверхности воды (Langmuir-Blodgett method сокр. LB). Лауреат Нобелевской премии по химии в 1932 году «за открытия и исследования в области химии поверхностных явлений». При образовании пленки из стеариновой кислоты происходит кристаллизация пленки. Форма и структура кристаллов зависит от содержания примесей в воде. Таким образом, удалось зарегистрировать концентрацию примеси алюминия в воде при концентрации 1 к 500 миллионов.

1917-Langmuir, I. J. Am. Chem. Soc. 39 (1917) 1848-1906.+

1935-Blodgett, K.B. J. Am. Chem. Soc. 57 (1935) 1007.

1992-Denkov, N.D., Velev, O.D., Kralchevsky, P.A., Ivanov, I.B., Yoshimura, H., and Nagayama, K. (Faculty of Chemistry, University of Sofia, Bulgaria) Mechanism of Formation of Two-Dimensional Crystals from Latex Particles on Substrates. Langmuir, 1992. 8 p.3183-3190.

1992- Kralchevsky, P. A., Paunov, V. N., Ivanov, I. B. & Nagayama, K. J. Colloid Interface Sci. 1992. 151, p.79-94.

1993-Denkov N.D., Velvev O.D., Kralchevsky P.A. and Ivanov I.B. Two-dimensional crystallization Nature. 7 january 1993. vol.361. p.26.+

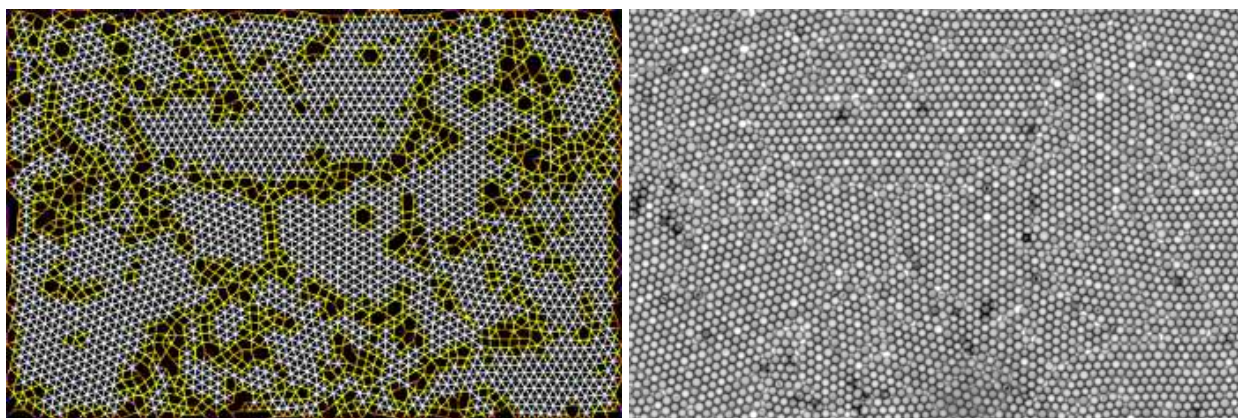


Рис. 4-6-1. Двумерный кристалл.

Глава 5. Выбор оптимальных условий дегидратации.

5.1 Управляемая дегидратация.

Метод дегидратации определяется условиями (параметрами), которые можно изменять (варьировать). Можно управлять следующими параметрами:

1-параметры, влияющие на форму капли и на динамику испарения:

- объем капли,
- площадь капли,
- высота капли,
- поверхностное натяжение,
- угол смачивания (гидрофобность поверхности, материал поверхности, на которой производится дегидратация)

2-параметры, влияющие на скорость испарения:

- условия испарения:
 - температура,
 - влажность,
 - скорость обдувания.
- состав сыворотки крови:
 - концентрация и состояние белков,
 - концентрация липидов.

Капля плазмы не является однородным раствором белков и веществ, и свойства плазмы в различных точках отличаются. Различия в свойствах в разных точках в истинных растворах связаны с флуктуациями плотности веществ вызванных движением молекул. В плазме крови все обстоит гораздо сложнее. Глобулярные молекулы белков и других веществ, находящихся в плазме крови, являются молекулами, окруженными гидратными оболочками. Молекулы белков и других веществ объединяются в кластеры, комплексы большого размера. Размер и структура этих комплексов не фиксирована, а очень динамично изменяется. Локальные свойства плазмы в различных областях определяются размером и структурой этих комплексов.

Большую роль для формирования структур капли имеет перемешивание, структура конвекционных потоков. Чем сильнее перемешивание, тем лучше разделение компонент. Перемешивание обеспечивает перенос и разделение компонент сыворотки. Следующие условия кристаллизации не являются оптимальными:

- если капля тонкая, то она быстро высыхает, и не происходит перемешивания,
- если капля толстая и большая по площади, то перемешивание осуществляется только внутри локальных зон конвекции, и белок не выносится на периферию капли.

При оптимальных условиях зоны конвекции имеют радиальную структуру, и перемешивание осуществляется от краев к центру.

Основным параметром, определяющим структуру капли, является скорость испарения. Управлять скоростью испарения можно путем изменения температуры, влажности, скоростью обдувания. При замедлении испарения происходит упрощение структуры капли. Напряжения, возникающие в геле, при медленном испарении, успевают релаксировать. Таким образом, получаем, что при повышенной влажности будет образовываться меньше трещин, и структура капли упростится.

Не существует единой универсальной методики выполнения операции дегидратации на все случаи жизни. В зависимости от того, какие компоненты структуры капли необходимо выявить, необходимо модифицировать процедуру дегидратации.

Основная задача состоит в том, чтобы выбрать параметры, при которых информативность высохшей капли была максимальной. Под информативностью можно понимать количество различных структур в высохшей капле.

Вторая задача состоит в достижении максимальной оперативности диагностики. Сократить время постановки диагноза от нескольких часов до нескольких минут. Необходимо выбрать

параметры так, чтобы максимальная информативность достигалась за минимальное время, минимизировать время испарения.

Один из вариантов методики испарения состоит не в выборе одного какого-то режима испарения, а комбинированный (программный) режим испарения. Например, первый этап испарения свободной воды (наиболее длительный) можно проводить быстро. Для этого устанавливается высокая температура, низкая влажность, и обдувание теплым воздухом.

Второй этап испарения (формирование геля), можно проводить медленно. Для этого устанавливается пониженная температура, повышенная влажность, и нет обдувания. В результате применения такой методики сокращается время и увеличивается информативность.

Таблица 2-1. Управление временем испарения.

Уменьшение времени испарения	Управляемый параметр	Увеличение времени испарения
увеличить	температура	уменьшить
уменьшить	влажность	увеличить
увеличить	обдувание	уменьшить

5.1.1 Управление формой капли.

Форма капли определяется различными параметрами:

V-объем капли,

h-высота капли,

S-площадь основания капли,

r-радиус капли,

a-краевой угол,

p-поверхностное натяжение,

-концентрация белка.

Эти параметры связаны формулами $V=c \cdot h \cdot S$, где c-некоторая константа, $S=R \cdot R$.

5.1.2 Зависимость формы капли от объема капли.

Будем раскапывать капли одной и той же сыворотки (постоянство состава) на один и тот же тип поверхности (предметное стекло одной и той же марки) (постоянство поверхности раскапывания). При растекании капли по стеклу капля принимает определенную форму. При малом объеме капли капля принимает сферическую форму. При большом объеме капли капля принимает форму лужицы с плоской поверхностью. При дальнейшем увеличении объема для описания капли больше подходит термин-тонкий слой сыворотки (пленка сыворотки). Объем, при котором форма капли переходит от сферической к плоской верхней поверхности, называется критическим объемом. Соответствующие радиус, площадь и высота капли так же называются критическими. Критическая высота определяется коэффициентом поверхностного натяжения. При раскапывании сыворотки крови на поверхность стекла критический объем равен 100 мкл, критический радиус равен 6мм, критическая высота равна 1мм.

Для изучения формы капли проводятся следующие эксперименты:

-зависимость радиуса капли от объема капли. Радиус капли возрастает вначале пропорционально корню кубическому от объема капли, а потом пропорционально корню квадратному от объема капли

-зависимость высоты капли от объема капли. При малых объемах капли высота капли пропорциональна объему капли. Как только высота капли достигает критического значения, она остается постоянной и не зависит от объема капли.

При раскапывании капли на стекло форма контактной поверхности со стеклом очень часто отличается от круга. Это связано с двумя причинами:

-чистота поверхности стекла. Если поверхности стекла касались пальцами, то на поверхности остаются жировые следы, которые ухудшают смачивание и искажают форму капли.

-неоднородность капли. Состав капли не является однородным. Это влияет на процесс растекания капли по поверхности.

В связи с этим более точно измерять площадь капли на цифровом изображении капли. Радиус капли определять через площадь, как радиус эквивалентного круга, имеющего такую же площадь.

Таблица 2-2. Зависимость высоты капли от объема капли:

Объем капли, мкл	2,5	5	10	20	30	60	100	150	200	250
Диаметр,мм	3	4	5	7	8	10	13	20	22	24
Высота,мм до начала дегидратации	0,15	0,2	0,3	0,6	0,75	0,90	1,0	1,0	1,0	1,0
Высота бугра,мм после дегидратации	0,037	0,04	0,05	0,06	0,08	0,09	0,1	0,1	0,1	0,1
Высота центральной части после дегидратации,мм				0,03						

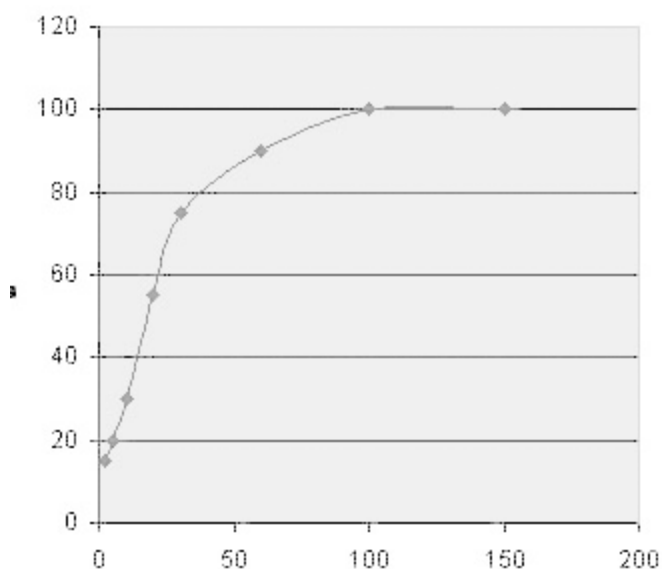


Рис. 5-1-1. Зависимость высоты капли (100=1мм) от объема капли (в миллилитрах).



Рис. 5-1-2. Изменение формы капли при увеличении объема капли.



Рис. 5-1-3. Зависимость формы капли от объема.

Зависимость формы капли от силы тяжести.

2009-Brutin D., Zhu Z.Q., Rahli O., Xie J.C., Liu Q.S., Tadrist L., Sessile Drop in Microgravity: Creation, Contact Angle and Interface, Microgravity Science Technology, 2009. 21 (1), p.67-76.

2010-Brutin D., Zhu Z.Q., Rahli O., Xie J.C., Liu Q.S., Tadrist L., Evaporation of ethanol drops on a heated substrate under microgravity conditions, Microgravity Science and Technology, Vol. 22 (3), p.387-395, 2010.

2012-Diana A., Castillo M., Brutin D., Steinberg T., Sessile Drop Wettability in Normal and Reduced Gravity, Microgravity Science and Technology, Online First, 2012.

2010-Москва, ИПМ.

2010-Шабалин В.В. Кистович А.В. Чашечкин Ю.Д. Механизм формирования краевого валика в высыхающей капле биожидкостей. Журнал технической физики. 2010. т.80. вып.4 с.41-46. В работе получена формула кривой, описывающей форму капли. Показано, что форма капли лишь незначительно отличается от сферической поверхности. Если капля очень маленькая, то преобладают силы поверхностного натяжения, и капля принимает сферическую форму. Если капля очень большая, то преобладают гравитационные силы, и капля принимает форму лужи.

2011-Новосибирск, Институт теплофизики,

2011-Барташевич Мария Владимировна. Динамика и теплообмен в ручейковых течениях и каплях жидкости. Диссертация кандидата физико-математических наук. Новосибирск. 2011.

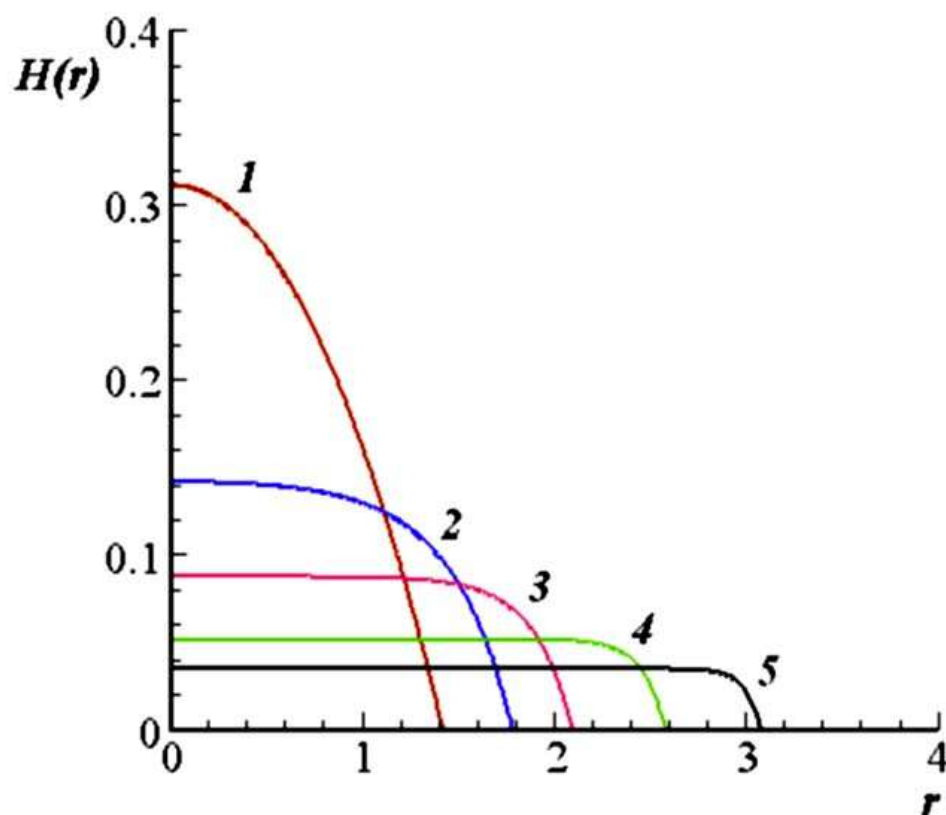


Рис. 5-1-4. Форма капли в зависимости от силы тяжести при краевом угле смачивания 25 градусов. Объем капли 100мкл. 1-невесомость.

2012-Тамбов, ТГТУ.

2012-Ильин Е.А. Пахомов А.Н. Профиль капли жидкости, высыхающей на твердой подложке. Конференция 2013. с.169-170. В работе теоретически рассчитывается и экспериментально измеряется профиль капли жидкости на твердой поверхности при различных углах смачивания.

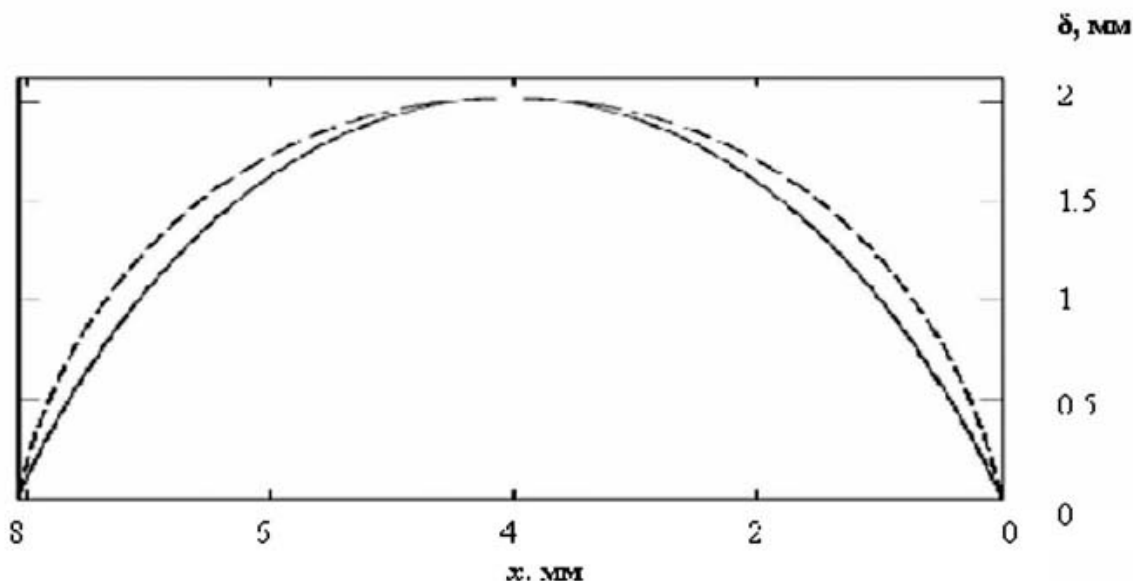


Рис. 5-1-5. Форма капли жидкости на поверхности, сплошная линия-профиль сегмента шара, пунктирная линия-профиль капли. Диаметр капли-8мм. Высота капли-2мм.

После высыхания капли, оставшаяся высота составляет одну десятую часть от исходной высоты капли. Если высота исходной капли будет 1мм, то высота высохшей капли будет 0,1мм. Это объясняется тем, что вода составляет 90% массы капли.

Одна из модификаций метода дегидратации капли сыворотки это метод перевернутой капли. Капля наносится на предметное стекло, а затем предметное стекло переворачивается. При малых объемах капли структуры обычной и перевернутой капли очень похожи. Однако, объяснение конвекционных потоков из-за охлаждения верхней поверхности капли, в случае перевернутой капли не работает.

При больших объемах капли зависимость формы капли от объема сильно различается для обычной и перевернутой капли.

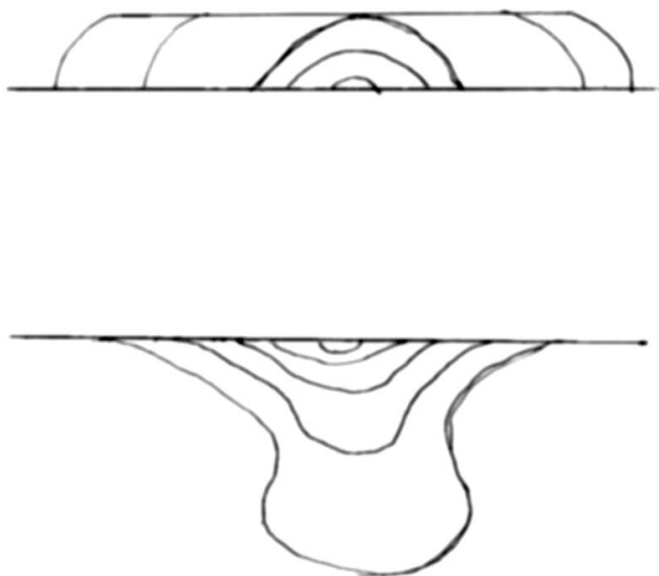


Рис. 5-1-6. Зависимость формы обычной и перевернутой капли от объема капли.

5.1.3 Зависимость диаметра капли от поверхностного натяжения.

Чем выше поверхностное натяжение сыворотки крови-тем меньше диаметр капли при раскапывании на поверхность стекла.

Если раскапывать разные образцы сыворотки одинакового объема на одну и ту же поверхность, то диаметр капель будет различным. Различия диаметров вызвано различием поверхностного натяжения различных образцов сыворотки. Поверхностное натяжение существенным образом зависит от состава сыворотки.

-Некоторые компоненты понижают поверхностное натяжение (иммуноглобулины G и M). Наличие поверхностно-активных веществ снижает поверхностное натяжение. В сыворотке крови поверхностно-активными веществами являются липиды. Но липиды в сыворотке крови находятся не в свободном состоянии, а в составе липопротеинов. Поэтому концентрация липидов слабо влияет на величину поверхностного натяжения сыворотки крови. Повышение содержания желчных и жирных кислот понижает поверхностное натяжение в моче и сыворотке крови.

-Некоторые компоненты сыворотки повышают поверхностное натяжение (фибринектин). Увеличение вязких компонент (сахар) увеличивает поверхностное натяжение. Увеличение содержания неорганических солей повышает поверхностное натяжение жидкости.

Поверхностное натяжение различных веществ (при температуре 20 градусов):

сыворотки крови-0,056 н/м,

воды-0,07286 н/м,

молоко-0,05 н/м,

моча-0,066 н/м,

этиловый спирт-0,027 н/м-очень маленькое поверхностное натяжение, спирт легко и быстро проникает в клетки.

Поверхностное натяжение измеряется с помощью двух типов методов:

-статические методы (статическое поверхностное натяжение) когда установилось равновесие,

-динамические методы (динамическое поверхностное натяжение) в момент формирования поверхности.

У абсолютно чистых жидкостей (чистая вода) статическое и динамическое поверхностное натяжение совпадают. Для растворов с поверхностно активными веществами статическое и динамическое поверхностное натяжение различаются. Статическое поверхностное натяжение всегда ниже динамического поверхностного натяжения. Время, в течение которого поверхностный слой достигает равновесного состояния (динамическое поверхностное натяжение переходит в статическое поверхностное натяжение) для сыворотки крови составляет 30 мин.

Статическое поверхностное натяжение крови человека-55-57 н/м у мужчин, 59-62 у женщин.

Динамическое поверхностное натяжение крови человека-67-77 н/м.

Динамическое поверхностное натяжение сыворотки крови меньше, чем плазмы крови.

Измерения динамического поверхностного натяжения кровяной плазмы дают значения, несколько превышающие поверхностное натяжение чистой воды. Такие цифры получаются однако лишь при очень чистом приготовлении плазмы. Самый незначительный гемолиз эритроцитов вызывает падение поверхностного натяжения; прибавление 0,1% НЬ понижает его на 12-14 дин. Динамическое поверхностное натяжение кровяной плазмы подвергается б. или м. значительным колебаниям при различных заболеваниях. Наиболее резкое его уменьшение наблюдалось при анафилактическом шоке. При самом легком шоке это уменьшение составляло около 3 дин, при смертельных дозах-5-8 и даже 10 дин. Кровяная сыворотка имеет меньшее динамическое поверхностное натяжение, чем плазма. Стагмометрическое определение дает

для нее у человека по одним авторам 68-69, по другим- 67,5 дин/си. Если динамическое поверхностное натяжение крови может представлять известный интерес, в некоторых случаях даже как диагностический признак, то следует все же помнить, что для соприкасающихся с кровью клеточных поверхностей решающее значение должно иметь ее статическое пограничное натяжение.

Известным приближением к этой величине служит статическое поверхностное натяжение. Статическое поверхностное натяжение крови значительно ниже динамического. Согласно Бринкману (Brinkman) его значения для оксалатной плазмы составляют в среднем 55,4-57,2 у мужчин, 59,2-61,5 дин/см у женщин. Как показал дю Ноуи (du Noiiy), различие между статической и динамической величиной поверхностного натяжения, сравнительно небольшое в чистой сыворотке, резко возрастает при ее разбавлении физиол. раствором NaCl, достигая максимума при определенной концентрации сыворотки, равной обычно приблизительно 10^{-4} . При этой концентрации статическое поверхностное натяжение не превышает еще исходного значения, между тем как динамическое приближается к П. н. чистого солевого раствора. Вследствие этого свежеприготовленный раствор при стоянии (в течение 2 часов) дает максимальное падение поверхностного натяжения, соответствующее переходу от динамического натяжения к статическому. При явлениях иммунизации дю Ноуи обнаружил характерные изменения величины этого максимального падения. После введения антигенов одновременно с выработкой антител наблюдалось возрастание этой величины, благодаря чему оказывалось возможным при помощи чисто физического метода отличать иммунную сыворотку от нормальной. Чем больше капиллярноактивных коллоидов содержится в сыворотке, тем выше разбавление, при котором получается описываемое максимальное падение величины натяжения со временем. Это разбавление может таким образом служить мерой содержания капиллярноактивных веществ в сыворотке. Понижая поверхностное натяжение раствора, коллоиды крови могут в то же время препятствовать его дальнейшему снижению другими веществами с большей капиллярной активностью; последние адсорбируются кровяными коллоидами и извлекаются ими из раствора. Так например при прибавлении к крови небольшого количества олеиновокислого натрия поверхностное натяжение падает лишь на очень короткий срок и быстро (уже через несколько минут) возвращается к своей первоначальной величине.

Динамическое поверхностное натяжение плазмы крови существенно изменяется при различных заболеваниях. При образовании опухолей поверхностное натяжение понижается. Снижение поверхностного натяжения крови связано с тяжелым течением патологических процессов в организме. Повышение поверхностного натяжения по времени совпадает с клиническим улучшением состояния пациентов и нормализации лабораторных показателей. С возрастом поверхностное натяжение сыворотки крови уменьшается.

Зависимость величины поверхностного натяжения от температуры. С увеличением температуры поверхностное натяжение уменьшается, и становится равным нулю при достижении критической температуры (температура фазового перехода).

При температуре 18 градусов статическое поверхностное натяжение сыворотки крови равно 57-58 н/м. При температуре 38 градусов статическое поверхностное натяжение сыворотки крови равно 46-47 н/м.

Таблица 2-3. Зависимость поверхностного натяжения воды на границе с воздухом (мН/М) от температуры (в градусах).

Темпер.	0	5	10	15	20	25	30	40	50	60	70	100
Натяж.	74,64	74,92	74,22	73,49	72,75	71,97	71,18	69,6	67,9	66,2	64,4	37

Вода с низким коэффициентом поверхностного натяжения является более биодоступной, и лучше усваивается клетками. Клетки в нашем теле должны быть полностью смочены водой, чтобы происходил обмен веществ и вывод токсинов, которые образуются в результате метаболизма, и усвоение питательных веществ. Если клетка не смочена, питательные вещества и токсины не проникают через её поверхность. Поскольку клетки покрыты протеиновыми

липидными мембранами-которые являются жировыми кислотами (а как мы знаем, жир и вода не смешиваются)-важно, чтобы поверхностное натяжение воды вокруг наших клеток было достаточно низким, чтобы обеспечить её проникновение через мембраны.

Значение величины поверхностного натяжения является важным диагностическим параметром для диагностики различных заболеваний.

1995-Украина, Донецк, ДНМУ

1995-В.Н. Казаков, О.В. Синяченко, В.Б. Файнерман и др. Динамическое поверхностное натяжение крови и мочи человека. Актуальні питання педагогіки, експериментальної та клінічної медицини. Донецьк, 1995. т.2. с.36-38.

1998-Казаков В.Н. Синяченко О.В. Файнерман В.Б. Миллер Р. Ермолаев М.В. Йоос П. Мюллер Г. Динамическое поверхностное натяжение крови и синовиальной жидкости при ревматоидном артрите. Терапевтический архив. 1998. №1. с.46-49.

Оценка динамического поверхностного натяжения (ДПН) сыворотки крови (СК) синовиальной жидкости (СЖ) при различных вариантах течения ревматоидного артрита (РА). Материалы и методы. Обследовали 43 больных РА и 63 практически здоровых людей. Определяли ДПН СК и СЖ в компьютеризированном тензиометре, а также некоторые биохимические параметры крови. Результаты. Показатели ДПН СК больных РА существенно превосходили норму, а одни показатели (р и Рз) ДПН СЖ достоверно не отличались от нормы, тогда как другие (Р] и у) оказались значительно сниженными. В зависимости от вариантов течения имелись некоторые различия в этих изменениях ДПН и содержанием иммуноглобулинов, микроглобулина, а также липидов крови. Заключение. Оценка ДПН СК и СЖ может быть полезной для дифференциальной диагностики, определения степени активности РА, прогноза его течения и эффективности лечения.

2003-Герасимов И.Г. Файнерман В.Б. Зайцев И.А. и др. Модельный расчет динамического поверхностного натяжения водных растворов некоторых белков и биологических жидкостей // Журнал физической химии. 2003. т.77, №4. с.748-752.

2003-Лыков А.А. Динамика показателей межфазной тензиометрии у больных с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки. Архив клинической и экспериментальной медицины. 2003. т.12. №1. с.20-23. Динамический показатель преломления сыворотки крови здоровых мужчин равен 0,069 н/м.

2010-Клименко Т.М. Левченко Л.А. Герасимов И.Г. Использование тензиометрии в ранней диагностике внутриутробных пневмоний у недоношенных. Здоровье ребенка. 2010. №5.

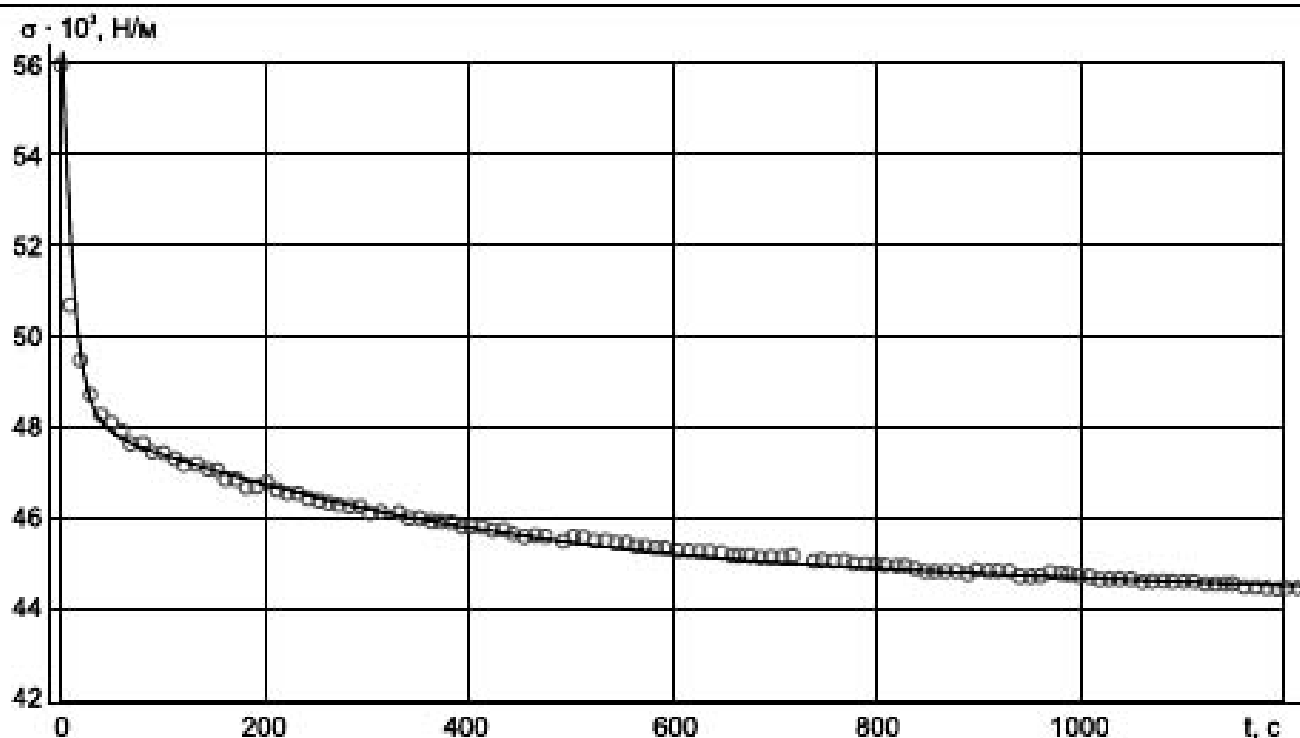


Рис. 5-1-7. Зависимость динамического поверхностного натяжения сыворотки крови от времени (в секундах).

2000-Томск, ТПУ

2000-Аристов А.А. Рыбаков А.Н. Оптимизация метода получения образующей поверхности и определения поверхностного натяжения капельных биопроб. Шестая Международная научно-практическая конференция студентов, аспирантов и молодых ученых “Современные техника и технологии”. Сб. статей. Томск. Изд-во ТПУ. 2000. с.397-399.

2004-Минск, БГУ

2004-Филимонов М.М. Новиков Д.А. Поверхностное натяжение биологических жидкостей. 2004. 20с.

2007-Нижний Новгород, ИФП

2007-Т.А. Яхно. В.В. Казаков. А.Г. Санин. О.Б. Шапошникова. А.С.Чернов. Динамика фазовых переходов в высыхающих каплях растворов белков сыворотки крови человека. Журнал технической физики. 2007. т.77. №4. с.123-127.

2007-Москва, МГА ветеринарной медицины и биотехнологии

2007-Михалева И.В. Физиолого-биохимическое значение исследований поверхностного натяжения крови лошадей и модельных систем. Диссертация кандидата биологических наук. Москва. 2007. 134с. В работе изучается поверхностное натяжение липид-белок-солевых систем.

2012-Новосибирск, НГМУ

2012-Верещагин Е.И. Волков И.В. Бондаренко И.В. Стрельцова Е.И. Коэффициент поверхностного натяжения сыворотки крови как один из критериев оценки эндогенной интоксикации и тяжести критических состояний. Медицина и образование в Сибири. 2012. №6. В норме коэффициент поверхностного натяжения сыворотки крови мужчин и женщин составляет 0,067 н/м.

5.1.4 Выбор материала поверхности, на которой проводится дегидратация.

Тестировались различные материалы для использования в качестве подложки для проведения дегидратации капли. Материал подложки определяет два параметра:

-В зависимости то смачиваемости сывороткой материала подложки (гидрофобности подложки) изменяется краевой угол капли, и следовательно, изменяется форма капли. Если материал гидрофильный, то поверхность хорошо смачивается водой, краевой угол маленький, и капля имеет маленькую высоту и большой радиус. Если материал гидрофобный, то поверхность плохо смачивается водой, и капля имеет большую высоту и малый радиус.

-В зависимости от силы взаимодействия молекул сыворотки с поверхностью материала подложки изменяется сцепление высохшей капли с подложкой.

Раскапывание можно проводить на различную поверхность:

-**Стекло.** Обычно дегидратацию проводят на стеклянной подложке. Сыворотка хорошо растекается по поверхности стекла, и имеет сильное сцепление со стеклом.

-**Металлическая фольга.** При раскапывании капли на металлическую поверхность (алюминиевая фольга) капли после высыхания отскакивают вследствие слабого сцепления высохшей сыворотки с металлом.

-**Целлофан.** При раскапывании капли на целлофановую пленку происходит сильная деформация пленки. Это вызвано относительно сильным сцеплением сыворотки с целлофаном, сильным деформирующим усилием, возникающим при дегидратации сыворотки, и гибкостью целлофановой пленки. При малых объемах капли деформации маленькие, при больших объемах капли деформации сильные.

Краевые углы для смачиваемости водой различных веществ (в градусах):

кварц-0, слюда-0, малахит-17, стекло-20, медь-20, тальк-52, никель-52, графит-55, анодированный алюминий-75, платина-75, серебро-81, золото-87, пчелиный воск-89, полистирол-91, парафин-106, фторопласт-108.

Важным случаем подложки является обычная бумага. Бумага для принтеров является достаточно плотной, и капля практически не впитывается. Однако, в бумагу впитывается свободная вода, находящаяся в сыворотке. Это приводит к изменению режима дегидратации. В некотором смысле это эквивалентно более быстрому испарению воды.

При обработке стеклянной поверхности различными веществами можно увеличить гидрофобность (краевой угол).

Таблица 2-4. Значение краевого угла для воды и цитратной крови.

Обработка	Вода.	Кровь
Обычное стекло	12	18
100%(CH ₃) ₂ SiCl ₂ + 0% CH ₃ SiCl ₃	86	78
20%(CH ₃) ₂ SiCl ₂ + 80%CH ₃ SiCl ₃	97	84
40%(CH ₃) ₂ SiCl ₂ + 60%CH ₃ SiCl ₃	83	92
60%(CH ₃) ₂ SiCl ₂ + 40%CH ₃ SiCl ₃	103	90
80%(CH ₃) ₂ SiCl ₂ + 30%CH ₃ SiCl ₃	97	100
0%(CH ₃) ₂ SiCl ₂ + 100%CH ₃ SiCl ₃	91	87
Парафиновая поверхность	104	102

Величина краевого угла имеет большое значение при формировании структур капли. Угол смачивания определяет ширину застойной зоны, в которой нет конвекции, и в которой идет осаждение белков. Если высота капли меньше некоторой критической величины (примерно 1мм), то не формируется структура кольцевых трещин в ячейках альбумина. Если величина угла смачивания более 80 градусов, то отсутствует застойная зона, и вся капля формируется при одинаковых условиях и образуется один толстый слой альбумина. Если величина угла смачивания от 20 до 80 градусов, то присутствует застойная зона, и возникают кольцевые структуры. Если величина угла смачивания менее 20 градусов, то вся капля формируется практически при одинаковых условия, и образуется тонкий слой альбумина. Таким образом, можно сделать вывод, что существует некоторое оптимальное значение угла

смачивания (примерно 45 градусов) при котором формирование структуры капли будет наиболее информативным.

Материал подложки влияет не только на смачиваемость и на величину краевого угла. Большое значение имеет взаимодействие поверхности материала с молекулами белка для образования различных структур в поверхностном слое между материалом подложки и сывороткой. Оказывается, если предметное стекло, на которое наносится сыворотка, предварительно обработать раствором лецитина, то количество образуемых структур методом закрытой капли увеличится в два раза по сравнению с обезжиренным предметным стеклом.

Если дегидратацию проводить на поверхности, которая плохо смачивается биожидкостью (например, дегидратация сыворотки крови на металлической фольге), то через некоторое время после начала дегидратации, когда испарится свободная вода, сыворотка загустевает. При дальнейшем испарении связанной воды начинает происходить деформация всей капли, капля отстает от подложки и сгибается в виде бабочки. Затем сухая капля полностью отскакивает от подложки.

1994-Екатеринбург-Институт кардиологи.

Габинский Я.Л. Яковлев Ю.Р. Яковлева С.В.

Текстурный атлас. Инфаркт миокарда и информационно-аналитические возможности поляризационной микроскопии. Екатеринбург. (Екатеринбургский Инфарктный Центр).1994. 56с. В работе проводилось исследование кристаллизации на различных поверхностях.

1998-Москва-МГСУ

Барер Г. М. Денисов А. Б. Михалева И. Н. Кристаллизация ротовой жидкости. Состав и чистота поверхности подложки. Бюллетень экспериментальной биологии. 1998. т.126. №12. с.693-696.

Барер Г.М. Денисов А.Б. Михалева И.Н. Ревокатова И.П.

Кристаллизация ротовой жидкости при различных условиях. Проблемы нейростоматологии и стоматологии. 1998. №1. с.4-6.

В работе проводилась сравнительная кристаллизация на трех различных поверхностях:

- 1) предметное стекло;
- 2) пластмасса, при этом применялись планшет плоскодонный для выращивания культур клеток-"Nunclo" диаметром 30мм, фирма "Delta" (Дания) и чашка с крышкой Петри (пластмасса лабораторная ТУ 64-2-19-79) диаметром 40мм производства завода медицинских полимеров (Ленинград);
- 3) пластина монокристаллического кремния

В книге (Барер Г.М. Денисов А.Б. Кристаллографический метод изучения слюны. Москва. ВУНМИЦ Росздрава. 2008.) имеются специальные главы:

4.2.3 Влияние различных поверхностей на кристаллизацию ротовой жидкости.

4.2.4 Влияние различных видов пластмасс способов их обработки на формы кристаллизации ротовой жидкости.

Денисов А.Б.

Микрокристаллизация слюны, новые методические подходы. Стоматология. 2007. том. 86. №5. с.20-23.

В работе предлагается усовершенствование метода кристаллизации путем проведения кристаллизации на пластиковой подложке.

«Обосновано использование в качестве подложки, на которой происходит процесс обезвоживания и образования микрокристаллов, медицинского прозрачного пластика (все предыдущие авторы использовали стекло). Многолетние исследования механизма кристаллизации на поверхности привели к созданию и развитию такой мощной отрасли индустрии, как электроника. Суть принципа в следующем. Гетерогенная поверхность может служить матрицей, формирующей кристалл соли. Это происходит тогда, когда совпадают

сингонии (конфигурация элементарной ячейки) кристалла материала поверхности и кристаллизующегося на ней вещества.

-Уфимцев В.Б. Акчурина Р.Х. Физико-химические основы жидкофазной эпитаксии. М: Металлургия 1983.

-Херман М. Полупроводниковые сверхрешетки: Пер. с англ. М: Мир 1989;240.

Наше нововведение существенно повысило качество кристаллизации».

2003-Москва, НИИ Геронтологии

Шатохина С.Н. Шабалин В.Н.

Способ диагностики бактериального инфицирования органов мочеполовой системы. Патент 2208229. 2003.

Проводят микроскопическое исследование средней порции мочи, при этом сразу после мочеиспускания мочу в объеме 0,01-0,02 мл наносят в форме капли на прозрачную поверхность из пластика, высушивают при температуре 18-30°C и относительной влажности 55-60% в течение 18ч, и при выявлении на поверхности высушенной капли тонких параллельных, линейных структур диагностируют бактериальное инфицирование органов мочеполовой системы.

2004-Смоленск, СГМА

Быстревская А.А. Деев Л.А. Зависимость структуропостроения слезной жидкости от вида раздражителя и качества подложки. Материалы III Всероссийской научно-практической конференции «Функциональная морфометрия биологических жидкостей». Москва. 2004. с.17-19.

2013-Москва, Первый МГМУ им. Сеченова, кафедра судебной медицины

Нагорнов М.Н. Леонова Е.Н. Башкирева Е.А. Холл И.В.

Специфика морфологии капель крови на сухой и влажной не впитывающей поверхности. Избранные вопросы судебно-медицинской экспертизы. Хабаровск, 2013. №13. с.144-146.

Целью исследований является изучение морфологии капель крови на сухой и на влажной смачиваемой невпитывающей поверхности. Проводилось несколько экспериментов. 1-нанесение капли крови объемом 20 мкл на поверхность сухого обезжиренного стекла. 2-капли крови наносилась на поверхность предварительно смоченную поверхность стекла. В каждой группе экспериментальных наблюдений исследовалась морфология следов крови по следующим показателям: форма, контур, диаметр следов, наличие и отсутствие зубцов и выступов по контуру, их количество и длина.

В 1-й серии экспериментальных наблюдений при падении капель крови с высоты 10 см следы имели округлую форму, ровный контур, зубцов (выступов) по краю не отмечалось, диаметр следа составил $d = 1,2 \pm 0,05$ см.

Во 2-й серии экспериментальных наблюдений при падении капель крови с высоты 10 см следы имели округлую или овальную форму с мелко и крупноволнистыми краями. Следует отметить, что с увеличением диаметра следа край имел более крупноволнистый характер. По краю некоторых капель имелись линейные и полосовидные выступы. Линейные выступы имели длину до 0,4 см, полосовидные-длину от 0,2 до 0,3 см, ширину от 0,1 до 0,4 см. Вершины полосовидных выступов были закругленными или П-образными. По краю насчитывалось до 5-9 выступов. Выступов треугольной формы не наблюдалось. Диаметр следа: $d = 1,6 \pm 0,02$ см.

На влажной слеодообразующей поверхности за счет ее большей смачиваемости образующиеся следы крови имеют большие размеры. Для этих следов характерны специфические морфологические признаки: крупноволнистый край за счет секторального и распространенного растекания, а также линейные и полосовидные выступы в результате локального растекания. На влажной поверхности регистрировалось меньшее количество треугольных зубцов, характерных для капель на сухой поверхности.

Специально подготовленные поверхности для нанесения капли биожидкости.

Обычно для кристаллизации капля жидкости наносится на очищенную и обезжиренную стеклянную поверхность. Но существуют специальные методы исследования кристаллизации, когда производят подготовку поверхности специальным образом.

1-В книге Габинский Я.Л. Яковлев Ю.Р. Яковлева С.В. Текстурный атлас. Инфаркт миокарда и информационно-аналитические возможности поляризационной микроскопии. Екатеринбург. Екатеринбургский Инфарктный Центр.1994. описывается метод закрытой капли для кристаллизации биожидкостей. Биожидкости наносятся на стекло, предварительно обработанное лецитином. В результате проведенных сравнительных экспериментов показано, что площадь образовавшихся структур примерно в два раза больше на поверхности, обработанной лецитином, по сравнению с чистой поверхностью. В результате обработки поверхности стекла лецитином изменяется взаимодействие компонент сыворотки крови с поверхностью стекла, и создаются более благоприятные условия для их кристаллизации. Создание на поверхности стекла гидрофобной лецитиновой пленки способствует стандартизации условий кристаллизации и наиболее эффективного текстуробразования. Этот метод был предложен D.M. Small (1977).

2-Окраска сыворотки. Окраска сыворотки применяется для выявления распределения различных компонент сыворотки в капле. Один из методов окраски сыворотки состоит в предварительном нанесении и высушивании красителя на стекло. Затем капля для кристаллизации наносится на стекло, покрытое тонким высушенным слоем красителя.

3-При использовании тизиографического метода проводят кристаллизацию кристаллообразующего вещества на высушенном слое исследуемой биожидкости. Например, для исследования кристаллизация секрета предстательной железы. Методика по И. И. Ильину, Ю. Н. Ковалеву (Ильин И.И. Ковалев Ю.Н. Тест кристаллизации секрета простаты в диагностике хронического простатита. Урология и нефрология. 1971. №2. с.40-43.) заключается в следующем. Каплю секрета предстательной железы наносят на тщательно обезжиренное стекло и высушивают при комнатной температуре, затем добавляют каплю изотонического раствора натрия хлорида и высушивают при комнатной температуре повторно, микроскопируют при малом и большом увеличении.

5.1.5 Управление площадью капли.

Один из способов управления площадью капли-выбор материала, на который производится раскапывание. На хорошо смачиваемом материале (гидрофильном) площадь капли будет большой. На плохо смачиваемом материале (гидрофобном) площадь капли будет маленькой. Если материал фиксирован (стандартное предметное стекло), то существует другой способ управления площадью капли.

-Увеличение площади капли (уменьшение высоты). Капля наносится на стекло, и размазывается до достижения необходимой площади. При увеличении площади капли (при неизменном объеме) происходит уменьшение высоты капли. Ширина белковой зоны остается постоянной, а высота белкового валика уменьшается. При малой высоте капли (большой площади) происходит нарушение конвекционных течений и нарушаются нормальные условия для перемешивания и формирования структур капли.

-Уменьшение площади капли (увеличение высоты). Уменьшение площади достигается нанесением капли на стекло, на котором заранее нарисованы круги необходимой площади. Круги рисуются специальным гидрофобным карандашом, который создает валик, через который раскапываемая капля не растекается. При увеличении высоты (уменьшении площади)

происходит уменьшение центральной зоны, так как ширина белкового валика остается постоянной и растет его высота. При некоторой высоте капли происходит смыкание белкового валика в центре и пропадает центральная зона.

При изменениях площади капли (при постоянном объеме капли) будет изменяться угол смачивания.

В пространстве двух параметров V, S (объем и площадь) имеется некоторая область реализуемых значений. Можно маленький объем сыворотки размазать по большой площади, но нельзя большой объем жидкости нанести на маленькую площадь. Для каждого значения площади объем может принимать значения от нуля до некоторого максимального значения, пропорционального площади, $V_{\max} = c \cdot S$.

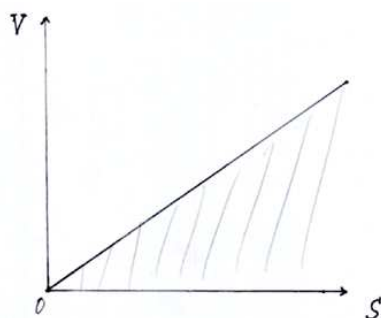


Рис. 5-1-8. Область реализуемых значений для площади и объема капли.

1-Случай малой площади капли, площадь капли порядка 25мм²:

- если высота маленькая, образуется прозрачная капля без трещин,
- если высота большая, образуется капля белка.

2-Случай средней площади капля, площади капли порядка 100мм²:

Таблица 2-5. Различные варианты формы капли.

Форма капли	Малый угол	Средний угол	Большой угол
Большая высота	В3А1 -не реализуется	В3А2 -есть ромашка -есть кольцевые тр. -нет соли	В3А3 -нет ромашки -есть кольцевые тр. -капля альбумина
Средняя высота	В2А1 -нет ромашки -нет кольцевых тр.	В2А2 -есть ромашка, -есть кольцевые тр.	В2А3 -нет ромашки -есть кольцевые тр. -капля альбумина
Маленькая высота	В1А1 -нет ромашки -нет кольцевых тр. -прозрачная капля	В1А2 -нет ромашки -нет кольцевых тр.	В1А3 -нет ромашки -нет кольцевых тр. -капля альбумина

При раскапывании обычным способом мы имеем варианты В2А2 или В2А1.

Описание различных вариантов:

В1А1-ничего не формируется, прозрачная капля без трещин.

В2А1-если имеется более сильное смачивание. Формирование трещин не упорядочено, нет ромашки.

В3А1-не реализуется.

В1А2-тонкий слой альбумина с малым количеством трещин. Нет кольцевых трещин в ячейках.

В2А2-если поверхность стекла правильно подготовлена. Формируются трещины в виде ромашки. Формируется центральная солевая зона.

В3А2-имеется кольцевая структура, не прорисовывается центральная зона солей.

В1А3-получается маленькая капля альбумина без трещин.

В2А3-получается средняя капля альбумина.

В3А3-получается толстая капля альбумина с кольцевыми трещинами

3-Случай большой площади капли, порядка 300мм²:

-если высота мала-образуется прозрачная капля с произвольной сетью трещин,

-если высота большая-образуется ячейки альбумина с кольцевыми трещинами.

Различные режимы управляемой дегидратации:

1-Если необходимо создать каплю со структурой ромашки, необходимо обеспечить большой угол между каплей и поверхностью стекла (предварительная обработка стекла).

2-Если необходимо создать каплю без трещин, и без выпадения белков-необходимо обеспечить малый угол между каплей и стеклом (размазанная капля).

3-Если необходимо создать каплю с большим числом трещин-дегидратация производится быстро, при повышенной температуре и пониженной влажности.

4-Если необходимо создать каплю без трещин-дегидратация производится медленно, при пониженной температуре и повышенной влажности.

5-Если необходимо более точную структуру краевой зоны-дегидратация производится в вогнутом часовом стеклышке.

В зависимости от соотношения высоты и площади капли изменяется режим дегидратации. Если зафиксировать объем капли и увеличивать площадь (метод размазанной капли), то при увеличении площади структуры проявляются слабее. Если фиксировать объем капли и уменьшать площадь (наносить каплю в кольцо все более меньшего размера до некоторого критического) то будет увеличиваться толщина осевшего слоя альбумина, и будет увеличиваться растрескиваемость.

Другой вариант исследования-фиксирована площадь капли, капля раскапывается в кольцо. Если объем капли маленький, и она не заполняет все кольцо-каплю размазывают. При увеличении объема до некоторого критического объема капли кольцо будет ограничивать растекание и площадь будет оставаться постоянной.

Можно ввести в рассмотрение параметр A равный отношению высоты капли к диаметру капли.

При $0 < A < 0,1$ -режим размазанной капли.

При $A = 0,1$ -собственная форма капли, обычный режим.

При $0,1 < A < 0,3$ -капля в круге, обычная форма высохшей капли.

При $0,3 < A < 0,4$ -капля в круге, толстая капля, проявляется только белок.

При $0,4 < A < 0,5$ -капля в круге, толстая капля, в центре высохшей капли бугор из белка.

При $A = 0,5$ -капля имеет вид полусферы, угол смачивания-90 градусов.

Два основных параметра, которыми можно управлять-это объем капли и площадь капли. Площадь капли задается следующим образом. Если требуемая площадь больше стандартной, то капля размазывается до требуемой площади (размазанная капля). Если требуемая площадь меньше стандартной, то капля наносится в кольцо, нанесенное на предметное стекло (ограниченная капля).

При фиксированном объеме капли по мере уменьшения площади можно выделить следующие случаи:

-размазанная капля:

1- $S_1 < S$ -тонкая прозрачная пленка,

2- $S_2 < S < S_1$ -тонкая пленка с трещинами

3- $S_3 < S < S_2$ -структуры с ячейками

4-S=S3-стандартный структуры

-ограниченная капля:

5-S4<S<S3-структуры с ячейками

6-S5<S<S4-гора белка в центре

7-S<S5-не реализуется из-за растекания капли.

5.1.5.1 Тонкая капля (размазанная капля), дегидратация в тонком слое.

Метод состоит в том, что на предметное стекло наносится капля объемом 50 мкл. Диаметр капли на стекле составляет 10мм. Капля размазывается наконечником дозатора до диаметра 20мм. Таким образом, создается тонкая капля с малым углом смачивания. Имитируется сильно смачиваемая поверхность. На сильно смачиваемой поверхности тонкая капля создается без размазывания. В случае тонкой капли режим испарения капли существенно изменяется. Капля постепенно стягивается к центру в форме сегмента сферы, оставляя на поверхности стекла тонкую пленку альбумина. При высыхании тонкая пленка альбумина покрывается мелкими трещинами, а центральная часть капли высыхает в обычном режиме.

При дегидратации большой размазанной капли образуется три области:

1-внешняя, тонкая, прозрачная, плоская, без трещин или с тонкими трещинами-это зона испарения слабо связанной воды с малой концентрацией белков.

2-средняя, более толстая, прозрачная желтоватая, с трещинами, небольшое увеличение высоты (небольшой валик)-это зона испарения плазмы с высокой концентрацией белков,

3-внутренняя, чуть меньшей толщины, мутная, с трещинами, с кристаллами соли-это зона испарения плазмы с высокой концентрацией солей.

Отдельный вопрос составляет исследование кристаллизации в тонких пленках. Процесс кристаллизации зависит от многих параметров: материал подложки, чистота поверхности, гладкость (полировка) поверхности, температура поверхности, толщина наносимой пленки, скорость и длительность испарения. В зависимости от условий кристаллизации для одного и того же вещества могут быть получены пленки с различной структурой: аморфные, поликристаллические, монокристаллические.

5.1.5.2 Капля с отростком.

Модификация метода размазанная капля-метод капля с отростком. Капаются обычная капля, а затем с помощью наконечника дозатора производится отведение части капли на небольшое расстояние. Капля принимает форму круга с отростком. В этом отростке происходят процессы испарения, резко отличающиеся от процессов в основной капле. Таким образом, на одной капле мы производим сразу два режима дегидратации. В отростке образуется тонкая прозрачная пленка без трещин очень маленькой высоты. Можно предположить, что это слабо связанная вода с низкой концентрацией белков. При высыхании отросток получается прозрачным, с низкой высотой и без трещин. Если величина отростка достаточно большая, то он ведет себя как отдельная капля. В центре отростка выпадают соли, а вокруг-прозрачное кольцо.

5.1.5.3 Толстая капля (ограниченная капля).

Метод состоит в том, что на предметном стекле наносится круг диаметром 10мм с помощью гидрофобного карандаша. Обычно такой диаметр имеет капля объемом 30 мкл. Но так как гидрофобная граница не дает капле растекаться, то в эту область можно накапать гораздо больший объем сыворотки крови-до 60 мкл. При этом высота капли составит 2мм. При высыхании такой капли на всей поверхности образуют толстые ячейки из альбумина желтого цвета и концентрическим растрескиванием. Если толщина капли больше некоторого порога, то в центре капля образуется бугор из высохшего альбумина.

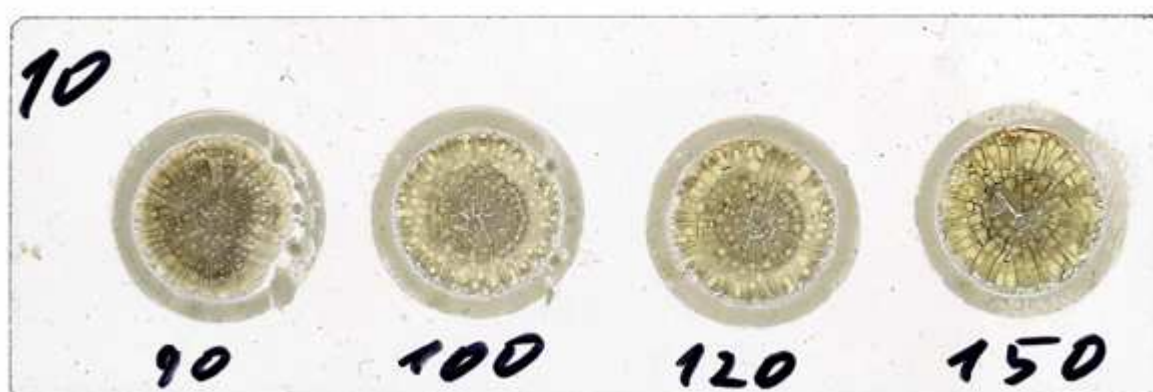
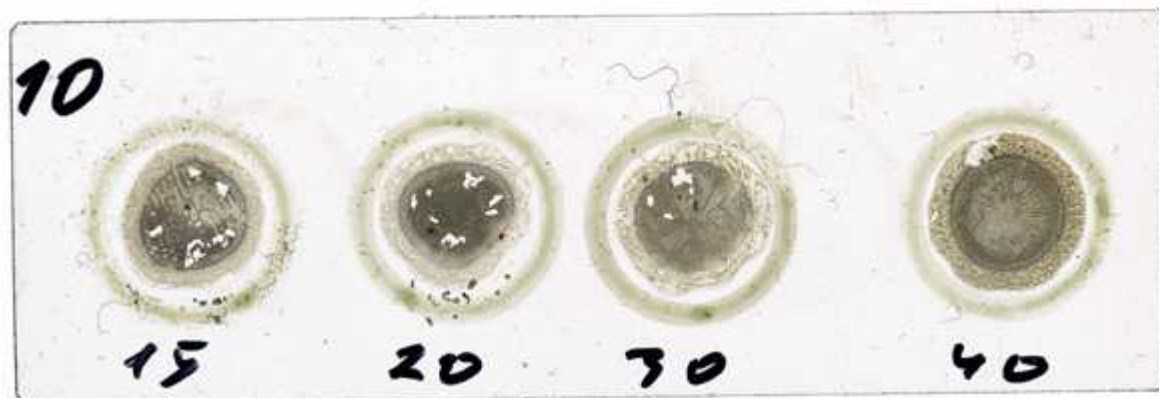


Рис. 5-1-9. Кристаллизация капель различного объема в круге диаметром 10мм.

Большая капля.

Если налить много сыворотки крови (более 500 мкл) на большое стекло (или в чашку Петри, при условии, что капля не касается краев), то получается большая капля (лужа). Капля имеет постоянную высоту, не зависящую от объема. На краю капли не образуется валика, как на малых каплях. Однако белковая структура по краю имеется, и ширина белковой зоны постоянна и не зависит от объема капли. Ширина белковой зоны определяется только высотой капли (примерно 2мм), и составляет примерно 3мм.

5.1.6 Формирование различных структур в зависимости от объема капли.

Сыворотка крови является коллоидным раствором, имеющим сложный состав. При испарении воды происходит кристаллизация многокомпонентного коллоидного раствора. Основная задача состоит в том, чтобы подобрать метод кристаллизации, который бы позволил получить максимальное количество информации о составе и свойствах исходной сыворотки крови. Особенность решаемой задачи состоит в том, что для кристаллизации имеется небольшой объем жидкости, ориентировочно 1 миллилитр. В связи с этим рассматривается задача кристаллизации одной капли биожидкости.

Для изучения структуры капли необходимо выработать оптимальный метод дегидратации. Оптимальным методом дегидратации является такой метод, при котором происходит максимальное структурирование капли. Оптимальные условия кристаллизации должны удовлетворять следующим условиям:

- максимальное разделение компонент биожидкости,
- образование краевого валика максимальной высоты,
- максимальное выделение солей в центральной зоне,
- максимальную структурированность трещин,
- наличие единой зоны конвекционных потоков.

Таблица 2-6. Формирование различных структур в зависимости от объема капли.

Объем капли, мкл	5	10	15	20	25	30	35	50	100	150
Диаметр капли, мм	4	5	6	7	8	9	10	11	13	20
Ширина белкового валика, мм	0,25	0,5	0,5	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
Белковый валик	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0
Трещины	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ячейки	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Соли в центре	+	+	+	+				-	-	-
Белок осадок	-	-		+	+	+	+	+	+	+
Языковые структуры	-	-		0				+	+	+
Кольцевые трещины в ячейках	-	-	-	-				0	+	+
Морщины	-	-		0				+	+	+

0-Белковый валик образуется при любом объеме капли.

1-Трещины имеют четкую структуру при объеме капли более 15 мкл.

2-Ячейки имеют четкую структуру при объеме капли более 20 мкл.

3-Соли проявляются в центральной части капли тем лучше, чем меньше объем капли.

4-Языковые структуры проявляются тем лучше, чем больше объем капли.

5-Черви проявляются при объеме капли более 10 мкл.

Таким образом, получается, что нет единого наилучшего объема раскапываемой капли. Наиболее оптимальным объемом для выявления различных структур является объем 20 или 25 мкл. Самым оптимальным методом является раскапывание нескольких капель разного объема:

- 2,5 мкл-для выявления солей,
- 25 мкл-для выявления структуры трещин и ячеек,
- 50 мкл-для выявления языковых структур.

Если объем капли меньше 5 мкл, то капля затвердевает в виде прозрачного кольца. Из структур образуется только краевой валик.

Для выявления различных структур капли оптимальные условия различны. Не существует условий кристаллизации, при которых одинаково хорошо проявляются все структуры капли. Но можно подобрать условия, при которых проявляется максимальное количество структур. Наиболее оптимальным значением объема капли для максимального проявления различных структур является объем 20 мкл.

Разумеется, что данные параметры являются усредненными по многим наблюдениям. Появление отдельных структур зависит от количества различных компонент в сыворотке. В зависимости от концентрации различных компонент различные структуры проявляются при различных значениях объема капли. На самом деле наиболее информативным параметром является минимальный объем капли, при котором появляется заданная структура.

Принципиальное изменение условий перемешивания происходит, когда объем капли превышает критический объем. В этом случае форма капли становится не сферической, а плоской.

Основные структуры капли определяются наличием белка. Формирование структур белка определяется двумя основными параметрами: количество белка в капле, и площадь основания капли. Количество воды не определяет структуры, так как вода все равно испарится, много ее в капле или мало. Однако можно исследовать структуры капли не в пространстве параметров количество белка и площадь, а в пространстве параметров концентрация белка и объем капли. Количество белка в капле пропорционально концентрации белка, а площадь капли пропорциональна объему капли.

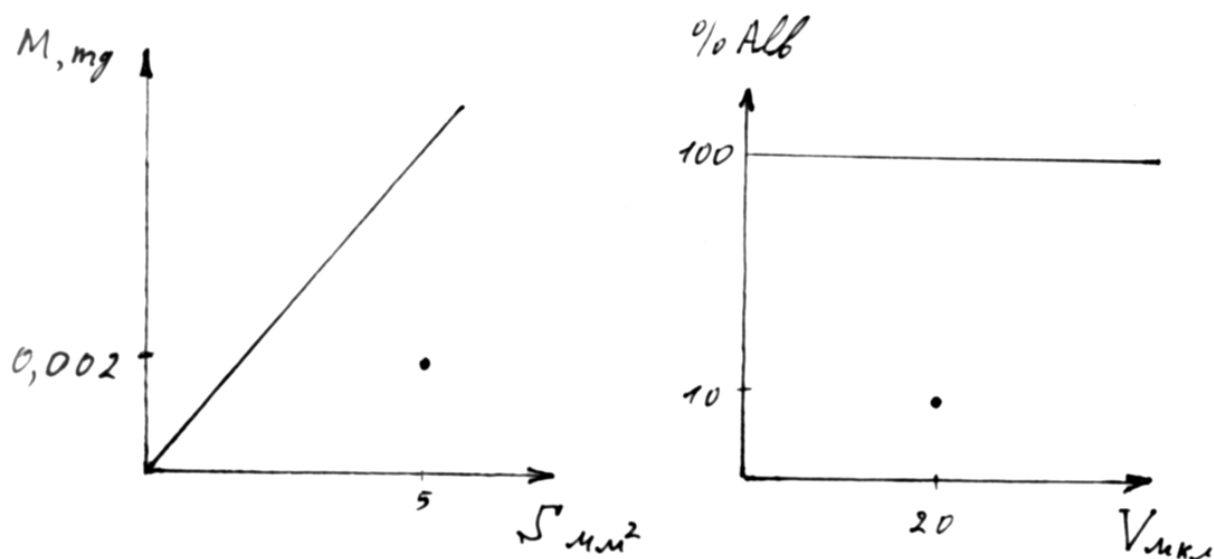
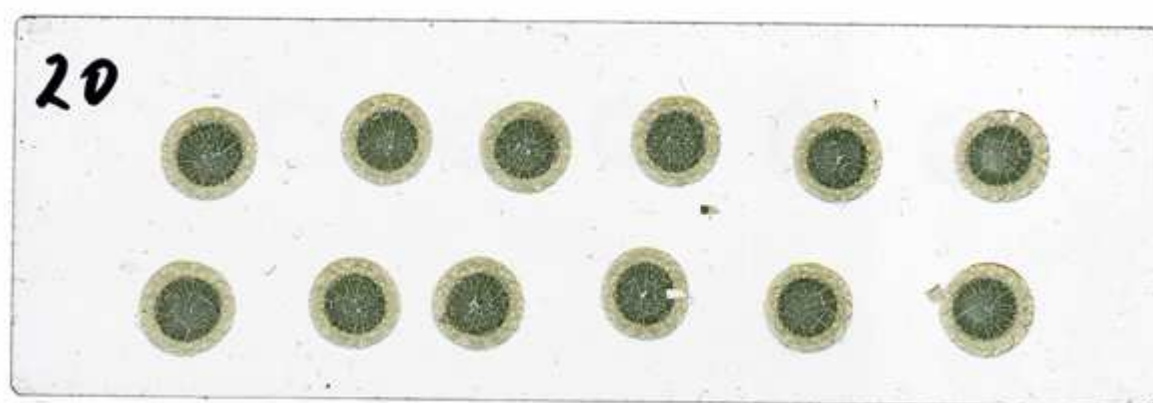
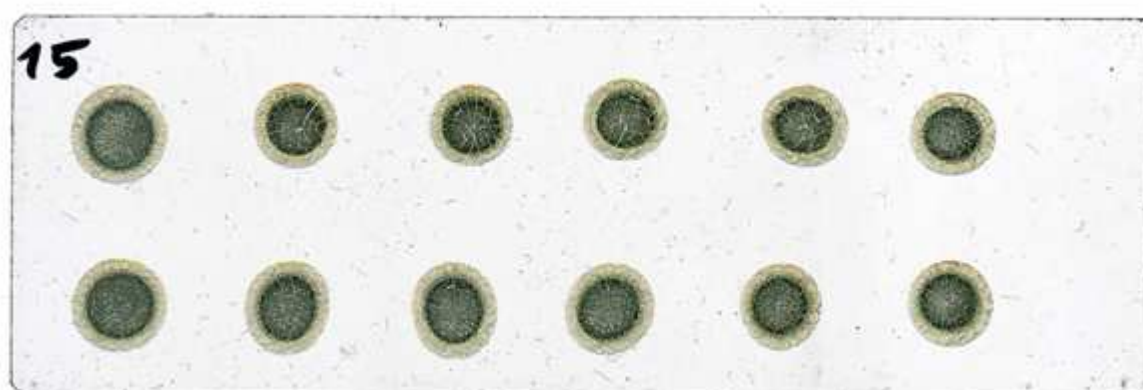


Рис. 5-1-10. Реализуемые соотношения параметров капли-объем и процентное содержание альбумина.



Рис. 5-1-11. Формирование структур при разных объемах капли.



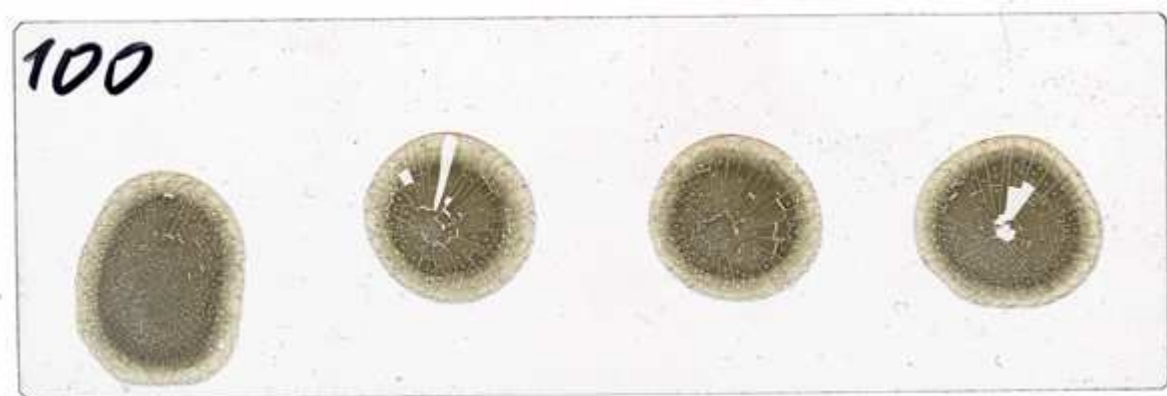
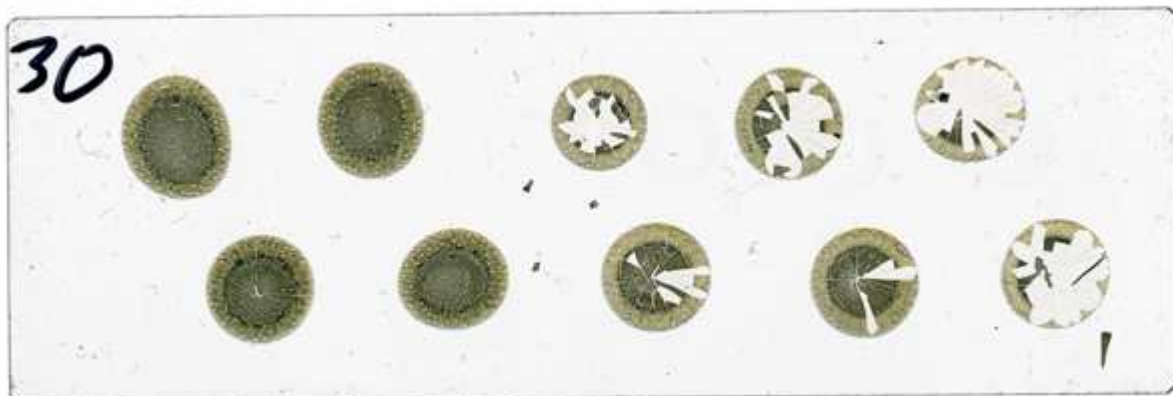


Рис. 5-1-12. Формирование структур при разных объемах капли.

5.2 Испарение капли при нормальной температуре.

5.2.1 Динамика испарения капли жидкости на плоской поверхности.

Динамика испарения описывается следующими функциями:

- 1-зависимостью массы капли (объема капли) от времени.
 - 2-зависимость скорости испарения от времени. Функция зависимости скорости испарения от времени является первой производной от функции зависимости массы капли от времени.
- Время, через которое масса капли перестанет изменяться, называется временем испарения.
Конечная масса вещества, оставшееся после испарения воды, называется массой сухого остатка.

Скорость испарения (C1)-количество жидкости, переходящей в пар за единицу времени с единицы площади свободной поверхности. Интенсивность испарения (C2)-масса жидкости, испаряющаяся в единицу времени. $C2=C1 \times S$ где S-площадь поверхности жидкости.

Скорость испарения зависит от следующих параметров:

- от свойств испаряющейся жидкости (теплота испарения),
- от температуры окружающей среды,
- от температуры жидкости,
- от влажности воздуха,
- от скорости движения воздуха над поверхностью,
- от атмосферного давления,
- от радиуса кривизны поверхности.

Таблица 2-7. Изменение скорости испарения при увеличении значения различных параметров.

Параметр	Скорость испарения	Время испарения
Температура воздуха	увеличивается	Уменьшается
Температура капли	увеличивается	Уменьшается
Скорость движения воздуха		
Радиус капли	уменьшается	увеличивается
Влажность	уменьшается	увеличивается

Скорость испарения не зависит от площади поверхности жидкости.

Время испарения зависит только от скорости испарения (C) и высоты капли (H): $T=C/H$

Метод регистрации массы вещества при различных процессах называется гравиметрическим методом. Метод регистрации изменения массы вещества при испарении-термогравиметрический метод.

Для изучения динамики процесса испарения измеряется зависимость массы капли от времени. На основе этой зависимости строится зависимость скорости испарения от времени. Для измерения зависимости массы капли от времени стекло с нанесенной каплей помещают на прецизионные весы, и регистрируют показания весов через определенный промежуток времени. Приведем результаты одного из экспериментов (масса капли в миллиграммах, с интервалом времени-5 минут): 602, 571, 538, 501, 473, 449, 418, 389, 355, 323, 291, 259, 229, 200, 171, 144, 119, 101, 88, 78, 72, 69, 67, 67.

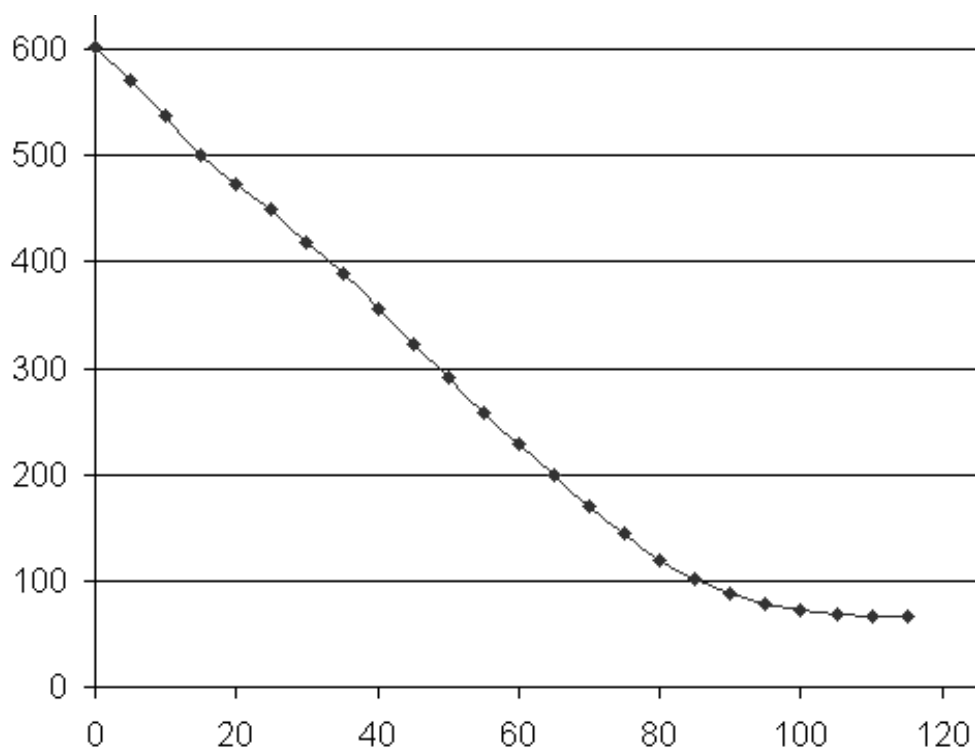


Рис. 5-2-1. Зависимость массы капли от времени.

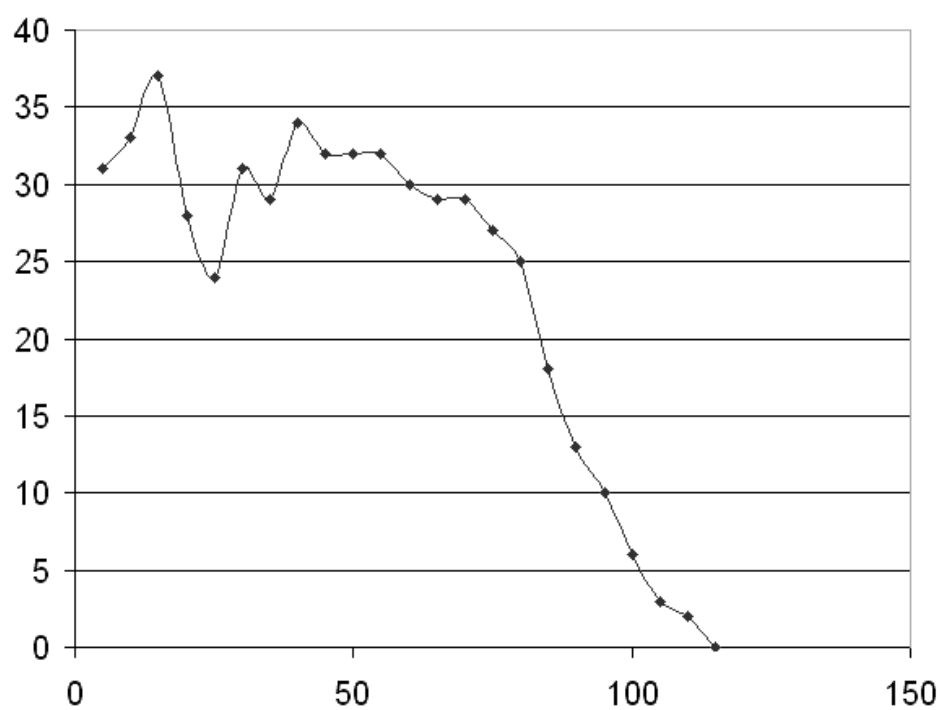


Рис. 5-2-2. Зависимость скорости испарения от времени (эксперимент).

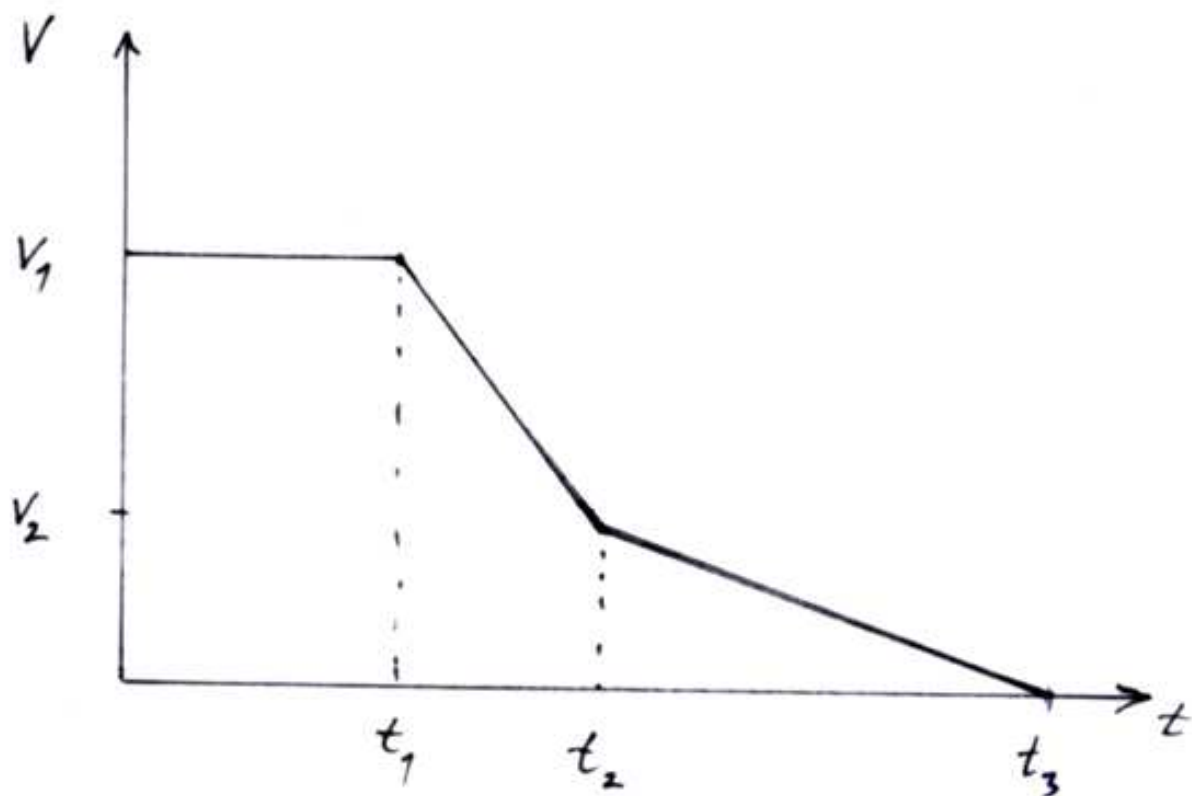


Рис. 5-2-3. Зависимость скорости испарения от времени (теория). T_1 -время начала уменьшения площади жидкой фазы. T_2 -время полного испарения жидкой фазы. T_3 -время полного испарения. V_1 -скорость испарения свободной воды. V_2 -скорость испарения связанной воды.

Динамика испарения состоит из нескольких этапов.

1-Первый этап испарения. Происходит испарение свободной воды со всей поверхности капли. Скорость испарения высокая и постоянная. Капля сохраняет форму сферической поверхности. Происходит уменьшение высоты капли и уменьшение краевого угла. Происходит повышение плотности белка в краевой зоне капли. Ориентировочно через 60 минут концентрация белков в краевой зоне достигает критического значения.

Если рассмотреть заполнение пространства шарами (глобулярными молекулами), то плотность шаров составит 0,740 от общего объема. Объем величиной 0,26 останется заполненным жидкостью. Таким образом, получаем, что в критический момент в краевой зоне испарится вся связанная вода и останется 0,26 объема свободной воды в пустотах между сферическими агрегатами.

2-(время T_1) Второй этап испарения. В краевой зоне начинает происходить затвердевание белка. На поверхности капли образуется загустевшая пленка в виде гибкой корочки. Жидкая фаза сыворотки начинает стягиваться к центру. Площадь испарения уменьшается. Скорость испарения уменьшается пропорционально площади испарения. Ориентировочно через 10 минут испаряется вся жидкая фаза.

3-(время T_2) Жидкой фазы больше нет, происходит испарение связанной воды. Продолжительность-ориентировочно 10 минут. Скорость испарения постепенно уменьшается, так как образуется твердая внешняя оболочка капли, препятствующая испарению.

4-(время T_3) Прекращается испарение. Масса капли больше не изменяется. Число вылетевших молекул воды сравнялось с числом вернувшихся молекул воды.

График зависимости скорости испарения от времени представляет собой ступенчатую функцию с тремя ступеньками-скорость испарения свободной воды (из жидкой фазы), скорость испарения связанной воды (из фазы геля), отсутствие испарения.

Зависимость динамики испарения от объема капли.

Динамика процесса испарения практически не зависит от объема капли. Зависимость массы капли от времени имеет одинаковый характер. При увеличении объема капли изменяется только масштаб графика-пропорционально объему капли увеличиваются начальная и конечная масса капли, а так же время испарения. Увеличение параметров происходит до некоторого предела, критического объема, при котором капля принимает не форму полусферы, а форму плоского слоя. Критический объем капли равен 100 мкл. При дальнейшем увеличении объема капли время испарения не увеличивается, и остается постоянным.

Таблица 2-8. Зависимость времени начала (T1) и конца (T2) гелеобразования и времени испарения (T3) от объема капли (в мкл) в минутах.

T	Объем капли (мкл)	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
T1	Начало гелеобр. (мин)	30	40	50	60	65	70	75	80	85	90	100	110
T2	Конец гелеобр. (мин)	40	50	60	70	75	80	85	90	95	100	110	120
T3	Время испарения	50	60	70	80	85	90	95	100	105	110	120	130

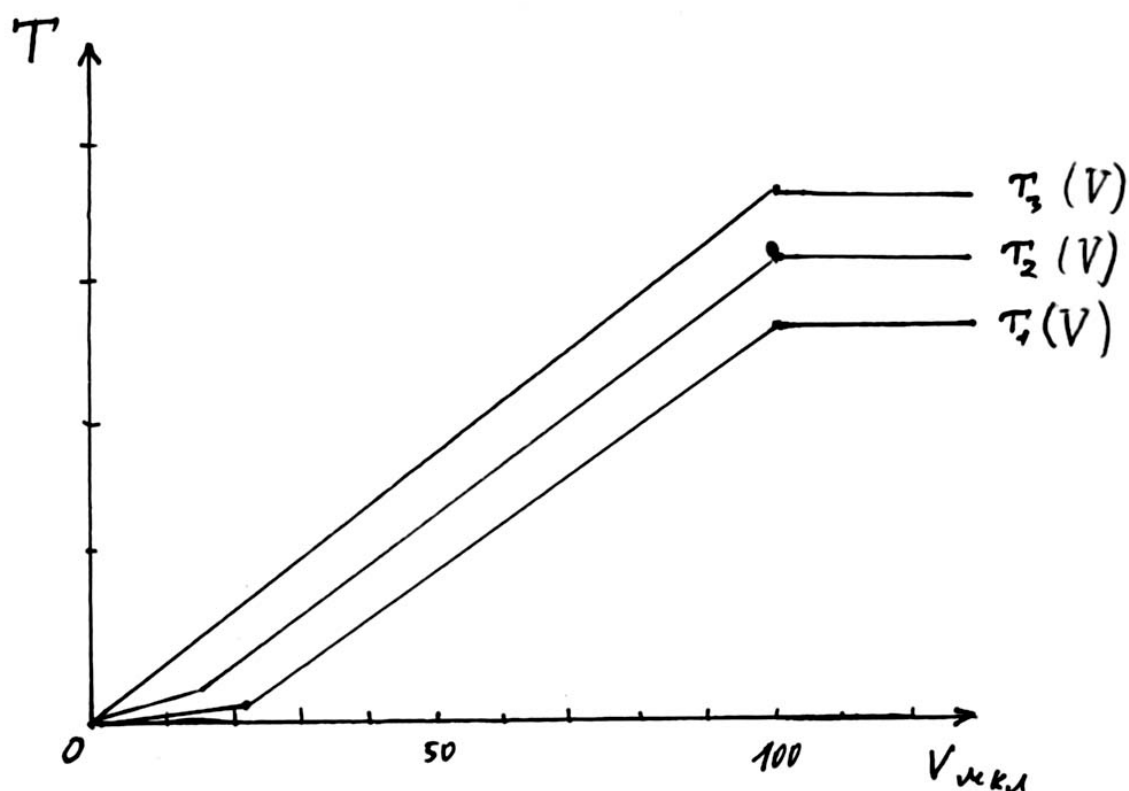


Рис. 5-2-4. Зависимость времени начала гелеобразования (T1) конца гелеобразования (T2) и времени испарения от объема капли. Объем 100 мкл-это критический объем капли, больше которого высота капли не изменяется.

Анализ полученной таблицы показывает, что при увеличении объема капли увеличивается только продолжительность первого (подготовительного) этапа дегидратации-испарение слабосвязанной воды и достижение концентрации белка, необходимой для

гелеобразования. Продолжительность двух завершающих этапов (гелеобразование и затвердевание) имеет практически постоянную продолжительность-10 минут.

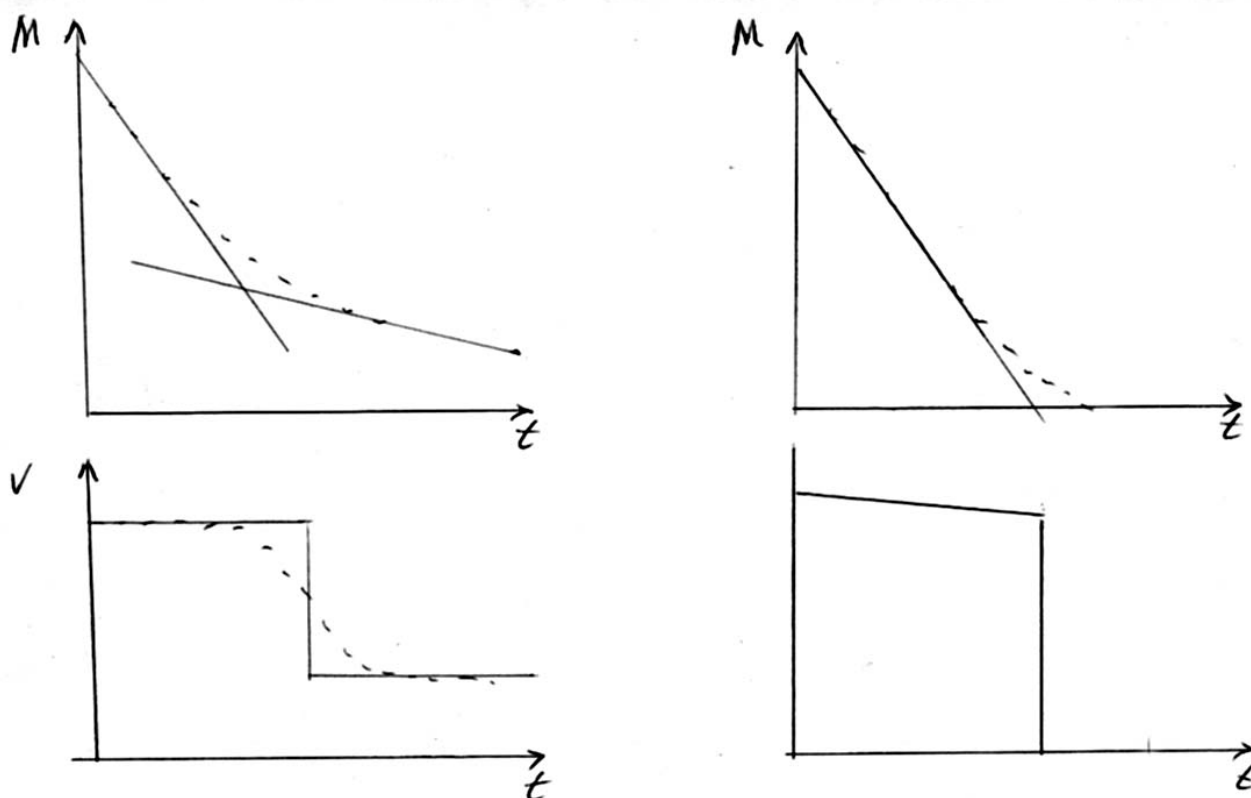


Рис. 5-2-5. Зависимость массы капли от времени и скорости испарения от времени.

1-Фаращук Н.Ф, 2004-предположение что существует два типа воды, свободная и связанная, которые испаряются с разной скоростью, коллоидный раствор.

2-Бараш Л.Ю. 2009-для случая чистой воды, когда имеется только свободная вода.

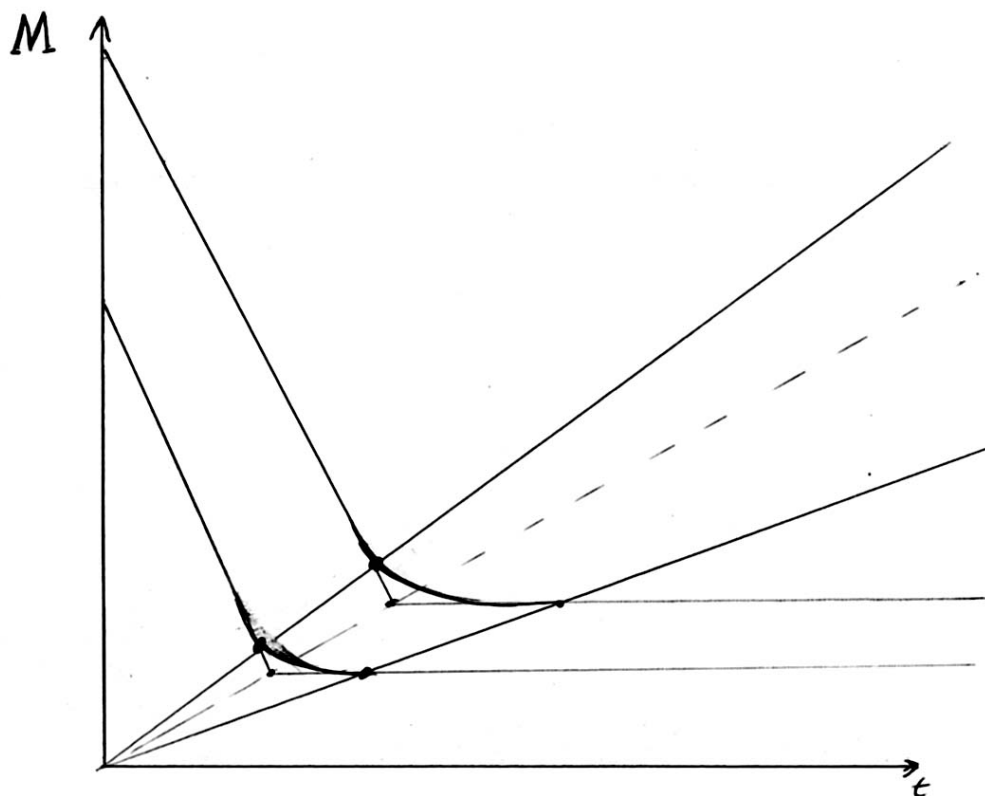


Рис. 5-2-6. Зависимость массы капли от времени.

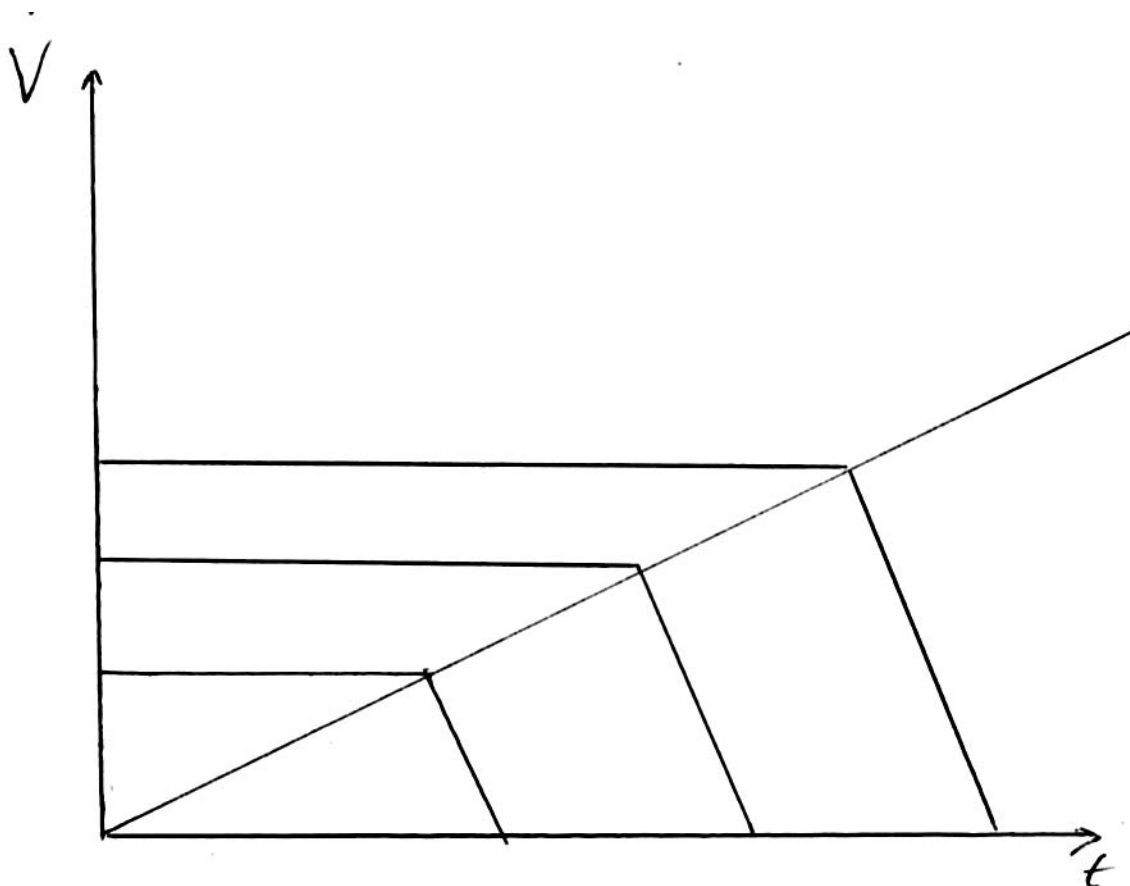


Рис. 5-2-7. Зависимость скорости испарения от времени для капель разного объема. Вначале капля испаряется с постоянной скоростью. Когда вся свободная вода испарится, начинается плавное уменьшение скорости испарения.

5.2.2 Литература по динамике испарения капли жидкости.

1877-Максвелл исследовал процессы испарения капель в газообразной среде. В статье «Диффузия», написанной в 1877 году Максвелл рассмотрел случай испарения сферической капли.

1882-Срезневский В. ЖРФХО, 1882. 14, 420, с.483.

Срезневский В. исследовал скорость испарения капель различных жидкостей, нанесенных на плоскую верхушку цилиндрического столбика диаметром 1,8-3,6мм. Скорость испарения измерялась по изменению контура капли. Каплю наблюдали с помощью горизонтального микроскопа с окулярной сеткой. Он получил, что скорость испарения обратно пропорциональна радиусу капли $R \times V = \text{Const}$. Чем меньше радиус капли, тем выше скорость испарения.

1934-Р.Уайтлоу-Грей, Х. Паттерсон. Дым. Госхимиздат М. 1934. с.149.

В работе исследовалась зависимость площади поверхности испаряющейся капли воды от времени. Капля радиусом 1-2мм наносилась на чашку кварцевых микровесов.

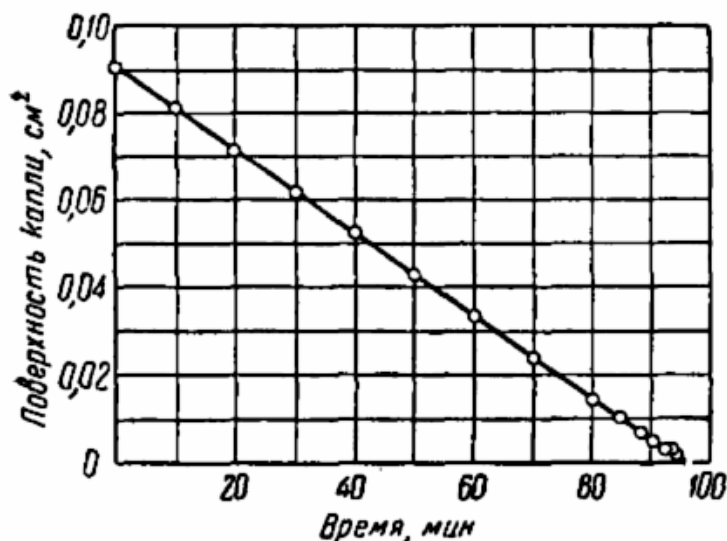


Рис. 5-2-8. Зависимость поверхности испаряющейся капли воды от времени.

1958-Фукс Н.А. Испарение и рост капель в газообразной среде. Москва, АН СССР. 1958. 91с.

2003-Яхно Т.А. Яхно В.Г. Санин А.Г. Санина О.А. Пелюшенко А.С. Усватов В.А. Кутяйкин В.Г. «Высыхающая капля» новая технология интегральной оценки качества жидких продуктов. Партнеры и конкуренты. 2003. №4. с.29-33.+

2004-Украина, Киев, КНМУ.

2004-Луговской Э.В. Актан О.Ю. Макогоненко Е.М. Вербинская Г.Н. Коробко О.В. Британ А.В. Применение метода испаряющейся капли для исследования молекулярного механизма полимеризации фибрина. 2004. Проводился сравнительный эксперимент по испарению капли буферного раствора, и капли того же раствора, в котором проводилась полимеризация фибрина в реакции фибриногена с тромбином. Была создана специальная установка по регистрации процесса испарения капель. Регистрировалась зависимость площади капли от времени. Было получено, что в первые две минуты испарения из раствора с фибрином практически не происходит, что объяснялось связыванием молекул воды с молекулами фибрина, которые образовывали трехмерную сеть из протофибрилл, промежутки между которыми были заполнены водой.

2011-Украина, Херсон, Херсонский национальный технический университет.

2011-Семенченко О.А. Новиков В.А. Новикова Л.В. Влияние температуры дегидратации на структуру фазы и водного раствора. Технологии органических и неорганических веществ. 2011. №4 6. 52.

2011-Белоруссия, Минск, ИТМО.

2011-Саверченко В.И. Фисенко С.П. Ходыко Ю.А. Испарение пиколитровых бинарных капель на подложке при пониженном давлении. Астрахань. 2012. с.113-116. В работе изучается процесс испарения пиколитровых капель водного раствора этанола при различных концентрациях этанола. Испарение производится в вакууме с латунной подложки при температуре 28 °С. Диаметр капель на подложке от 20 до 1000мкм.

2009-Москва, Институт теоретической физики.

2009-Бараш Лев Юрьевич. Испарение и динамика лежащей на подложке капли. Диссертация кандидата физико-математических наук. Москва. 2009.

2011-Новосибирск, Институт теплофизики.

2011-Барташевич Мария Владимировна. Динамика и теплообмен в ручейковых течениях и каплях жидкости. Диссертация кандидата физико-математических наук. Новосибирск. 2011.

2013-Москва, МЭИ.

2013-Романов Алексей Сергеевич. Особенности тепломассообмена капель жидкостей при взаимодействии с перегретыми мезоструктурированными и наноструктурированными поверхностями. Диссертация кандидата технических наук. 2013.

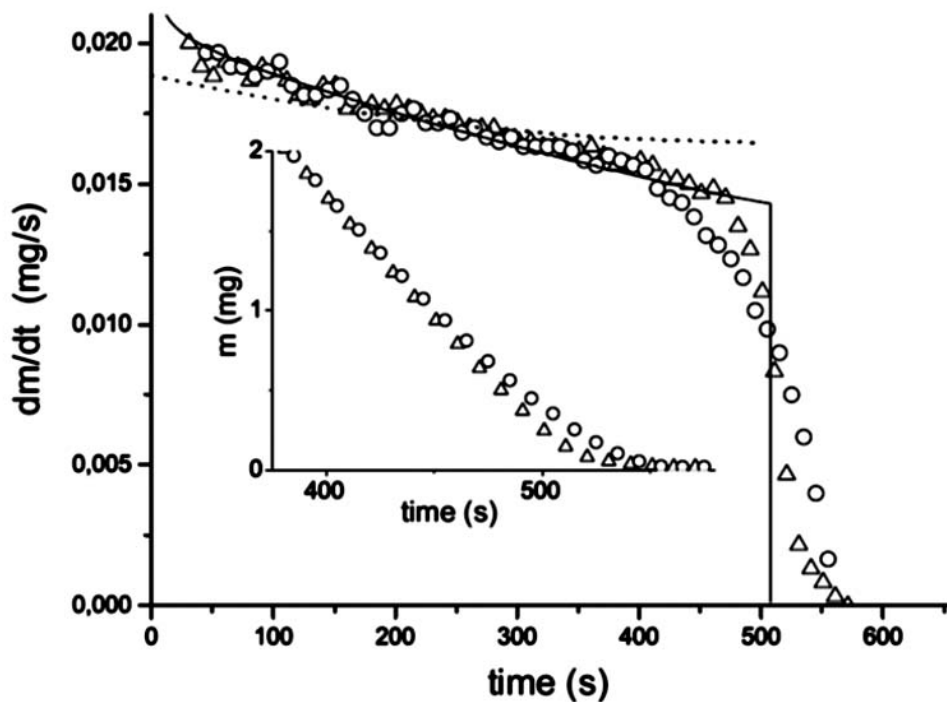


Рис. 5-2-9. Зависимость скорости испарения капли и массы капли объемом 10 мкл от времени. Кружки-капля толуола. Треугольники-раствор наночастиц золота.

5.2.3 Время испарения капли.

На время испарения влияют два основных фактора-условия испарения (температура и влажность) и состав сыворотки. Если условия испарения поддерживаются постоянными, то изменения времени испарения определяются изменениями состава сыворотки. На время испарения влияют следующие компоненты сыворотки:

-белки (концентрация и состояние). При увеличении концентрации белков время испарения уменьшается (уменьшается количество свободной воды).

-липиды (поверхностно-активные вещества). При увеличении концентрации липидов они образует на поверхности капли более плотную пленку, и время испарения воды увеличивается.

Время испарения (время полного высыхания жидкой фазы) является важным диагностическим признаком при диагностике различных заболеваний. Увеличение времени испарения (уменьшение скорости испарения) свидетельствует о нарушении процесса агрегации белков, т.е. о нарушении структуры белков.

На динамику испарения влияют различные факторы. Например, наличие на поверхности капли пленки поверхностно-активных веществ, имеющихся в сыворотке (липидов). Получается, что испарение осуществляется через пленку. В связи с этим скорость испарения воды будет существенно меньше по сравнению со скоростью испарения с поверхности капли чистой воды. Скорость испарения уменьшается примерно в полтора раза. При испарении капли чистой воды поверхность капли очень подвижна. При малейшем движении воздуха над каплей происходит перемещение поверхностной пленки с расположенными на ней пылинками и частицами.

Некоторое несовпадение зависимости времени испарения от объема капли при разных экспериментах объясняется тем, что эксперименты проводились в разных условиях (различные температура и влажность окружающей среды). При фиксированных параметрах (объем капли, температур и влажность) и при распыливании одной и той же сыворотки (постоянный состав) результаты измерения времени испарения для большого числа капель будут распределены по нормальному закону. Временем испарения следует считать среднее значение по большому числу экспериментов. Вариации времени испарения вызваны следующими причинами:

-различный объем капель, наносимых дозатором,

-различная площадь капель, вызванная различием в свойствах поверхности в различных местах,

-небольшое различие в составе сыворотки капель, так как сыворотка не однородна.

2009-Нальчик-Кабардино-Балкарская государственная сельскохозяйственная академия

Дохов М.П. Расчет времени испарения дисперсных частиц. Фундаментальные исследования. 2006. №10. с.65-66.

Дохов М.П. Кокоева М.Н.

Влияние размера и краевого угла на продолжительность времени испарения капель воды. Успехи современного естествознания. 2009. №10. с.50-51.

В работе приведены результаты расчета при величине краевого угла от 30 до 180 градусов, и радиус капли от 1мм до 5мм. Для сыворотки крови краевой угол равен 15 градусов.

5.2.4 Масса сухого остатка

При регистрации динамики испарения капли очень важным является отношение массы исходной капли к массе высушенной капли. В литературе приводятся данные, что вода составляет 90% сыворотки крови. На основе этого можно предположить, что отношение массы исходной капли к высушенной равно $=100/(100-90)=100/10=10$. Экспериментально получено, что обычно это отношение равняется 9. Величина этого отношения хорошо согласуется с количеством белка в сыворотке крови.

5.2.5 Зависимость формы капли от времени.

Зависимость формы капли в начальный момент времени определяется следующими факторами:

- сила тяжести,
- сила поверхностного натяжения,
- смачиваемость поверхности.

В результате формируется капля с выпуклой поверхностью и с определенным краевым углом. Смачиваемость определяет краевой угол. Высота капли пропорциональна силе поверхностного натяжения и обратно пропорциональна силе тяжести.

Изменение формы капли при испарении определяется следующими факторами:

- сила сцепления капли с поверхностью,
- сила поверхностного натяжения.

Общий закон: при испарении капли величина краевого угла остается постоянной.

Факт постоянства краевого угла вытекает из того, что краевой угол определяется только характером взаимодействия жидкости с поверхностью, и поэтому остается постоянным.

Измерения показали, что краевой угол застывшей капли совпадает с краевым углом исходной капли.

Разумеется, этот закон имеет место для капель (когда высота в центре больше высоты с краю), и не работает для тонких слоев. Если жидкость нанесена на поверхность тонким слоем (постоянной высоты), то нет притока жидкости из центра, и краевой угол может уменьшаться.

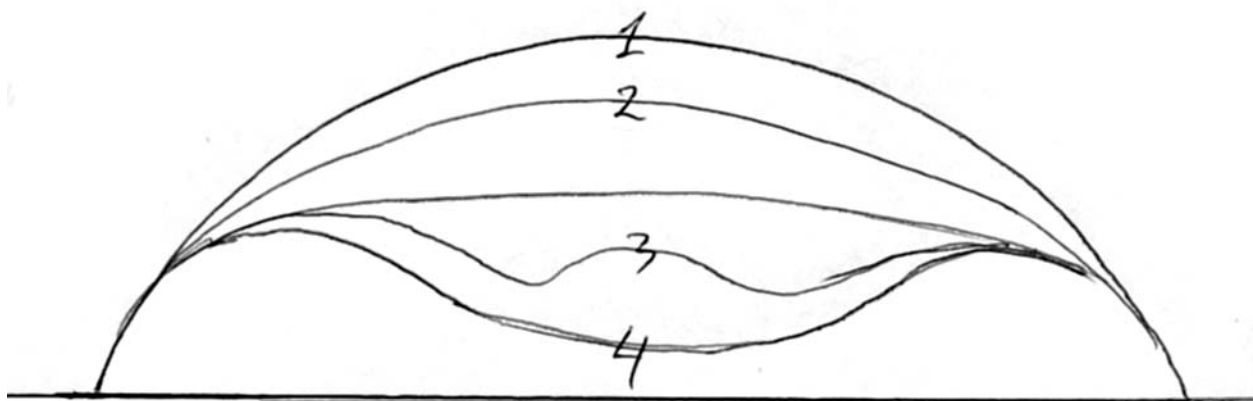


Рис. 5-2-10. Изменение формы капли от времени для сыворотки крови при наличии перемешивания.

1-0 минут-начало испарения,

2-60 минут-критическая точка, начинается сжатие жидкой фазы,

3-65 минут-сжатие жидкой фазы,

4-70 минут-прекратилось изменение формы капли.

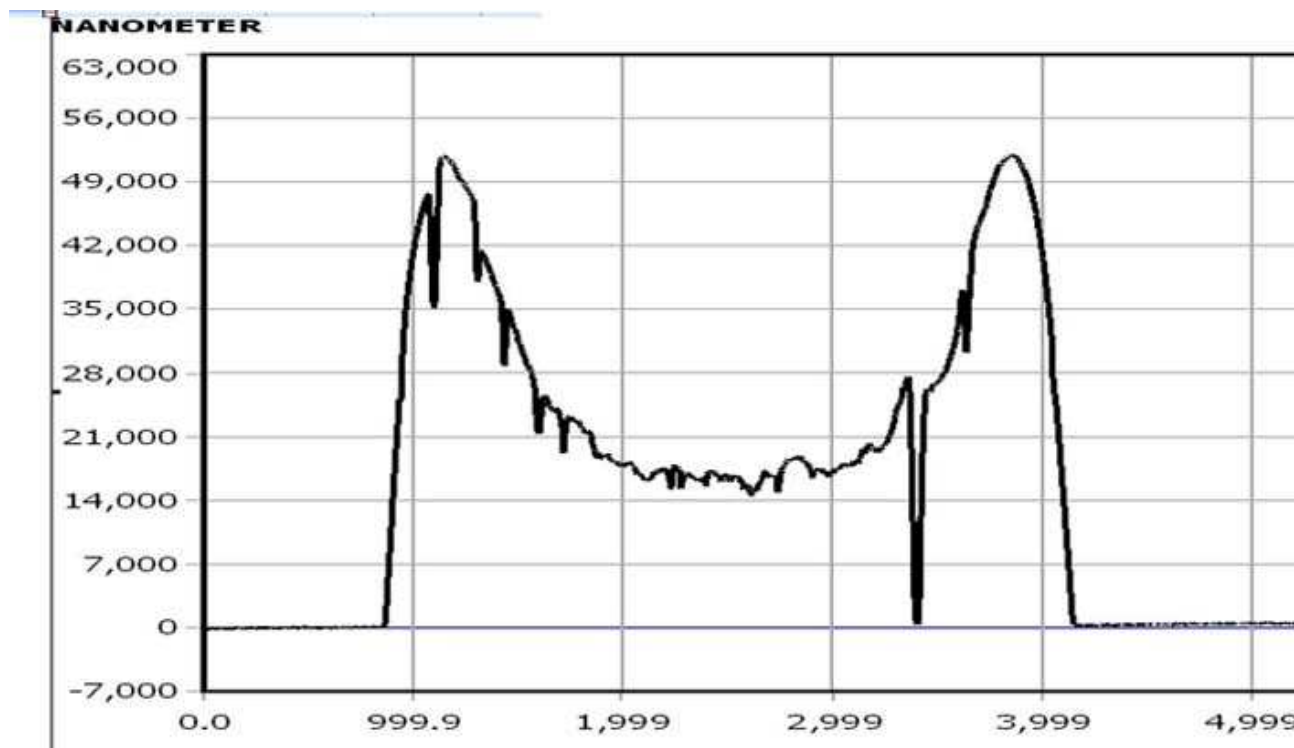


Рис. 5-2-11. Профилограмма высохшей капли сыворотки крови. По оси X-координата точки сканирования в миллиметрах, по оси Y-высота капли в микрометрах (от 0 до 63микрометра). Провал в профилограмме до нуля это трещина в структуре капли.

Объем капли-10 мкл.

Диаметр капли-3мм,

Высота краевого валика 52мкм.

Расстояние от края капли до положения максимума краевого валика-0,2мм.

Из профилограммы видно, что валик имеет не симметричную форму, крутой край (0,2мм) и плавный спад к центру (1,5мм).

Тангенс угла наклона края валика составляет $50\text{мкм}/200\text{мкм}$ и равен 0,25, что соответствует 15 градусам. Этот угол равен краевому углу смачивания для сыворотки на стекле. Таким образом, получается, что край капли затвердевает в своем исходном состоянии без уменьшения высоты.

Зависимость формы высохшей капли от соотношения концентраций белка и соли.

2013-Ziye Xiong (University of Pittsburg) Pattern formation in drying drops of colloidal solutions. Dissertation. 2013.+ Исследовались профилограммы высушенной капли диаметром 30мкм раствора лизоцима при различной концентрации добавленной соли NaCl. При повышении концентрации соли более 0,1% не образуется внешнее кольцо из белка. Чем выше концентрация соли, тем меньше ширина внешнего кольца белка.

На полученных графиках показано: а-оптический микроскоп, б-атомно-силовой микроскоп, с-3-D изображение с атомно силового микроскопа, d-профилограмма. Диаметр капли 30мкм.

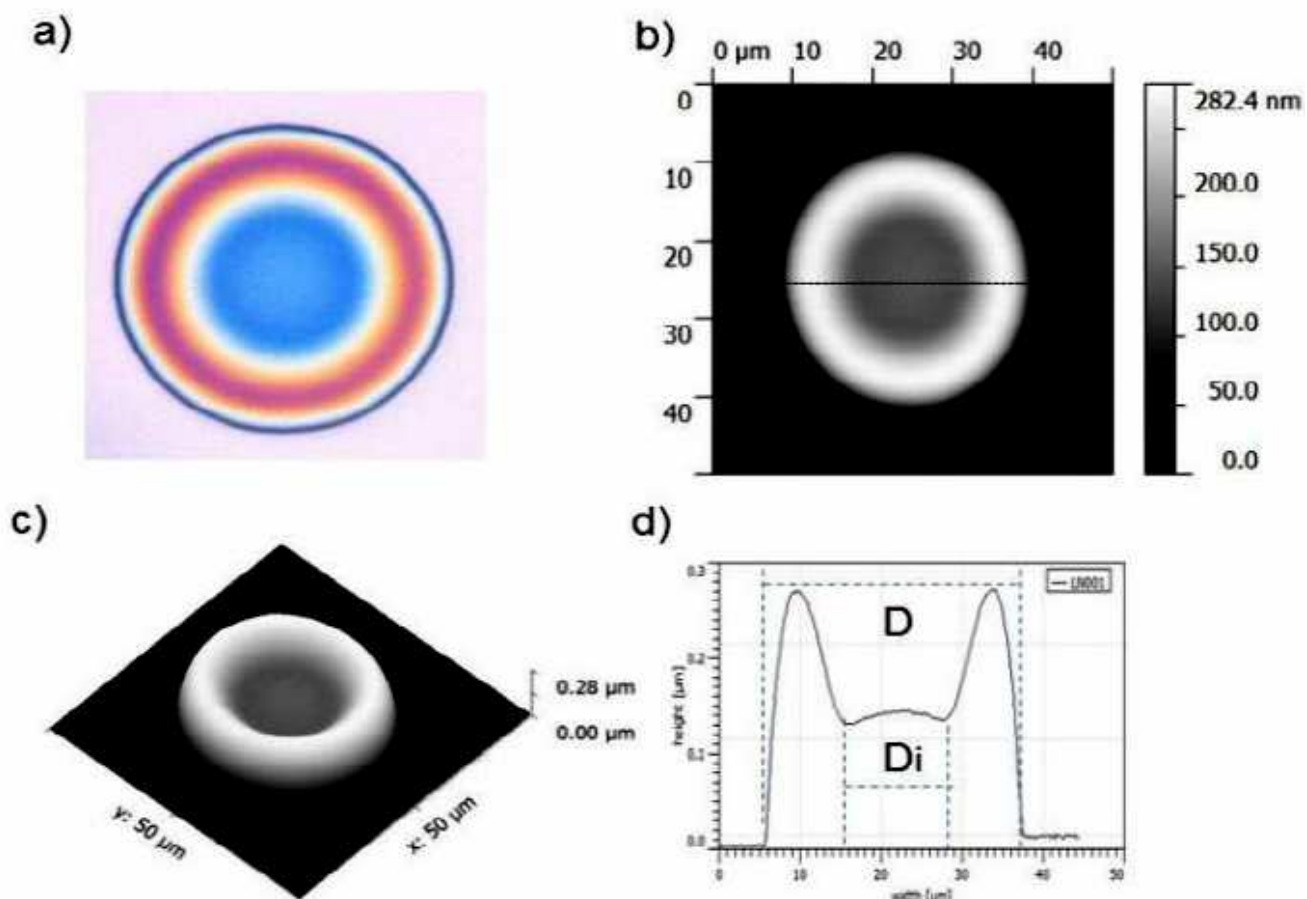


Рис. 5-2-12. Профилограмма высохшей капли раствора лизоцима и 0,01% NaCl.

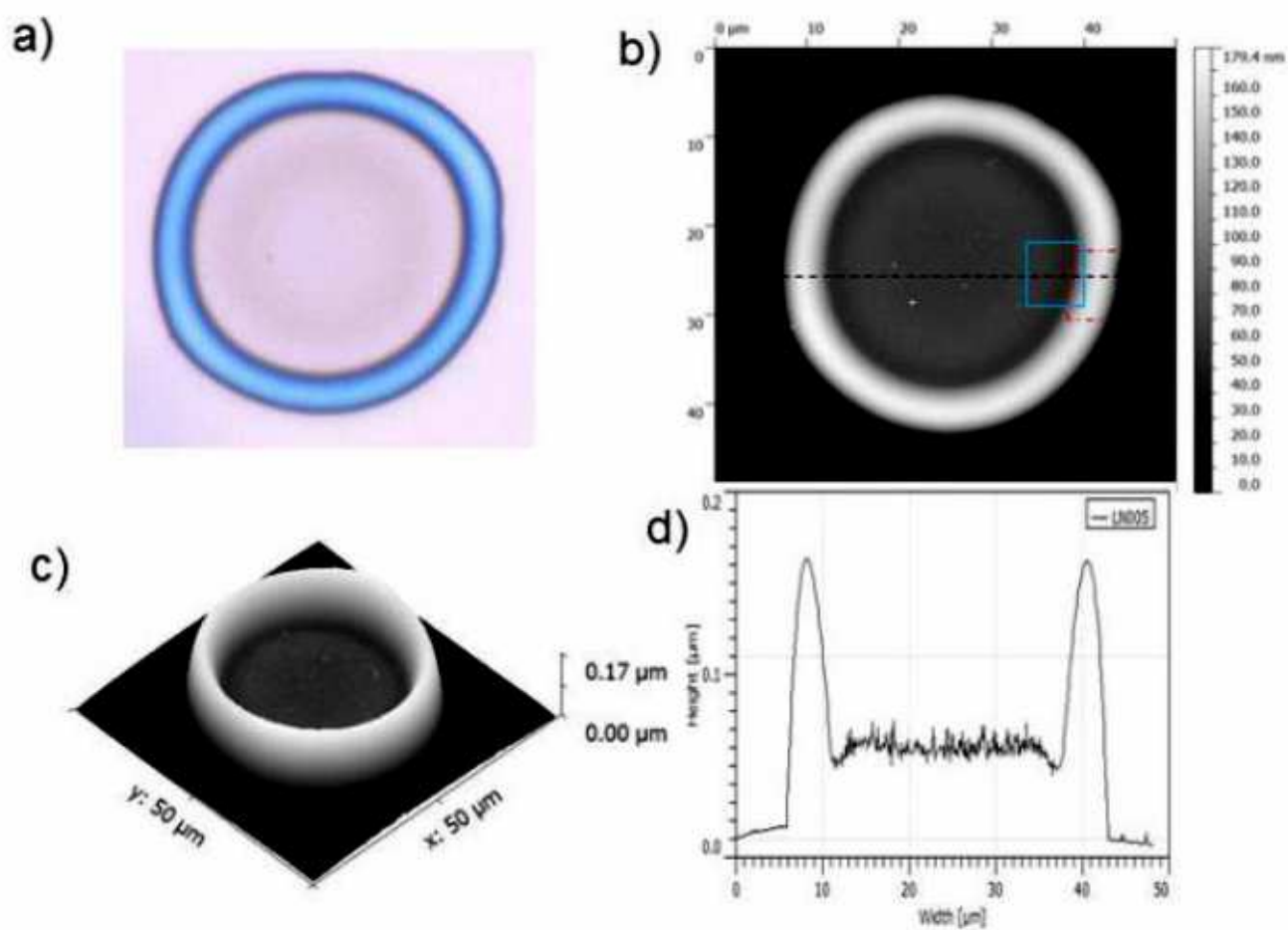


Рис. 5-2-13. Профилограмма высохшей капли раствора лизоцима и 0,05% NaCl.

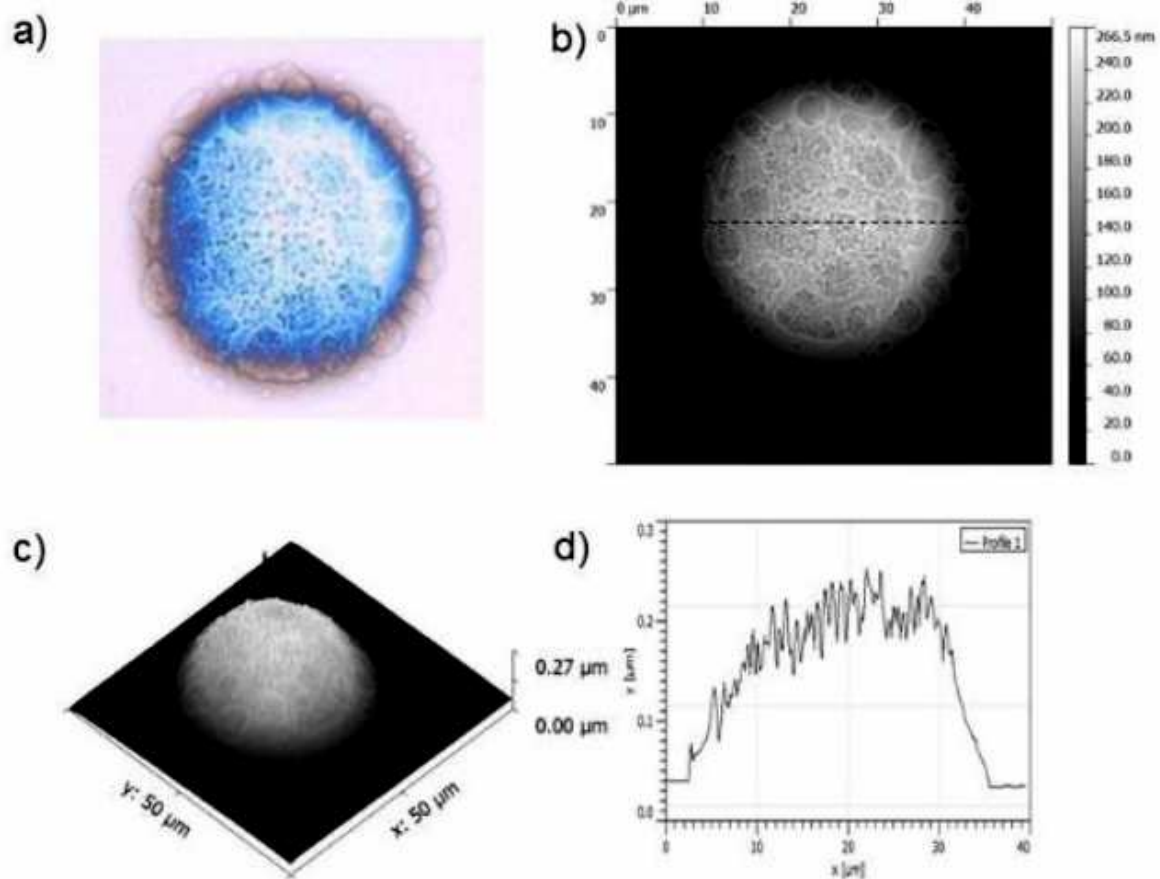


Рис. 5-2-14. Профилограмма высохшей капли раствора лизоцима и 0,1% NaCl.

При испарении капль большого диаметра (50мкм) внешнее белковое кольцо образуется при концентрации соли NaCl 0,25%.

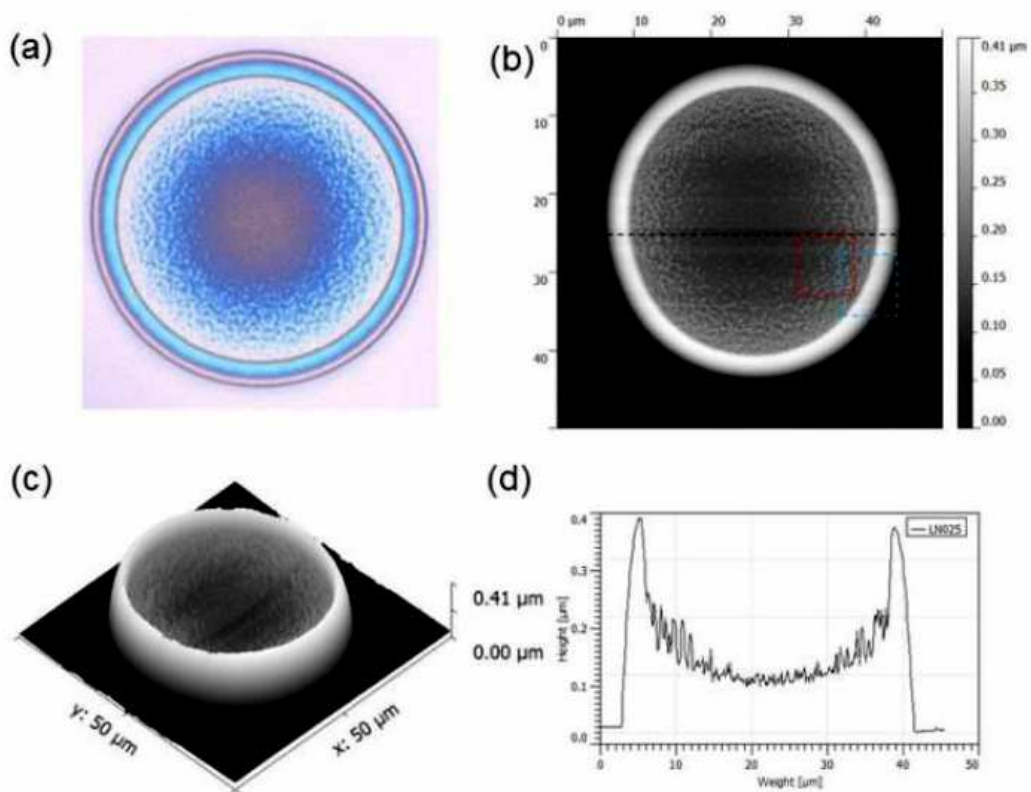


Рис. 5-2-15. Профилограмма высохшей капли раствора лизоцима и 0,25% NaCl. Диаметр капли 50мкм.

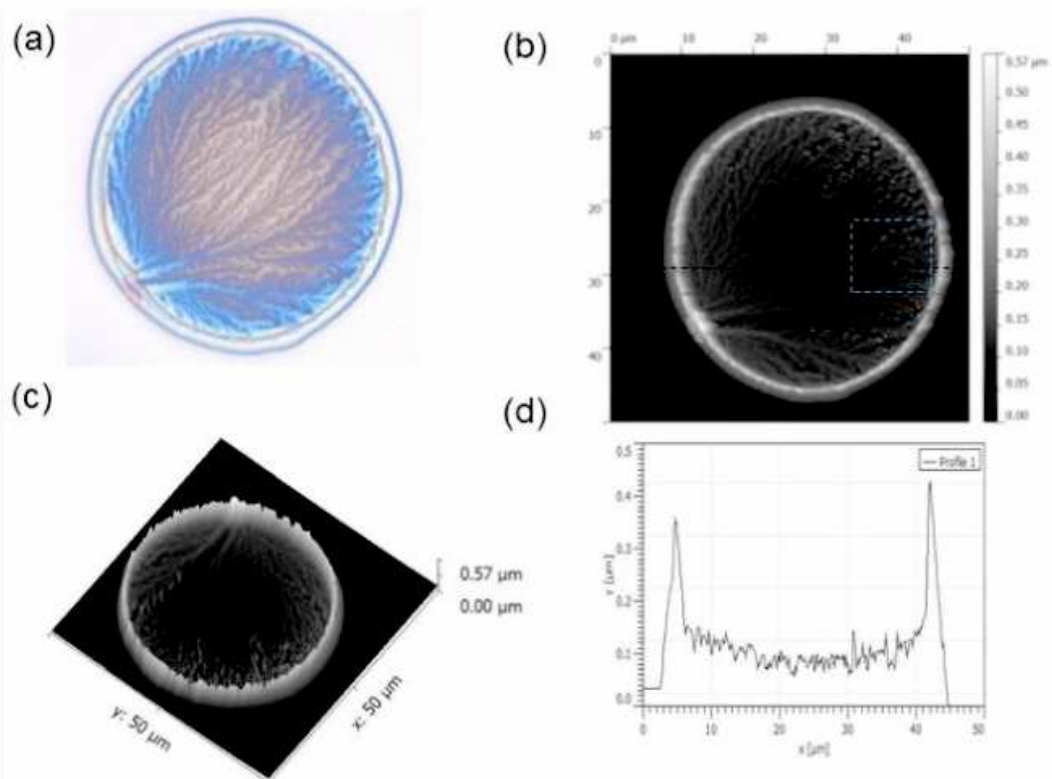


Рис. 5-2-16. Профилограмма высохшей капли раствора лизоцима и 0,5% NaCl. Диаметр капли 50мкм.

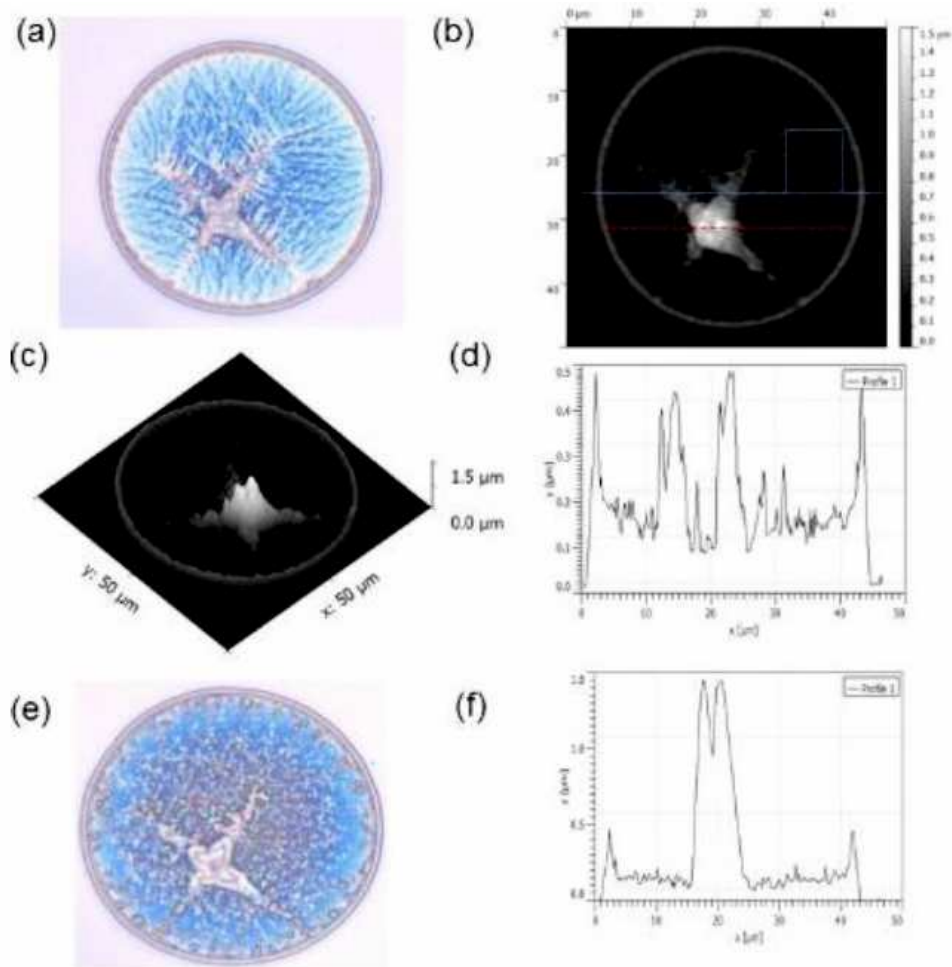


Рис. 5-2-17. Профилограмма высохшей капли раствора лизоцима и 1,0% NaCl. Диаметр капли 50мкм. Две проыфилограммы проведенные в разных местах.

5.2.6 Диагностические параметры формы капли.

Геометрические параметры размеров и формы капли являются важными диагностическими параметрами.

1-Диаметр капли. При раскапывании капель разных образцов сыворотки одного и того же объема, диаметр капель будет различным. Диаметр капли определяется смачиваемостью. Один из компонентов, влияющий на смачиваемость-жиры (липиды). Чем больше липидов-тем меньше смачиваемость, тем меньше диаметр капли. Возможно влияние на диаметр и других параметров.

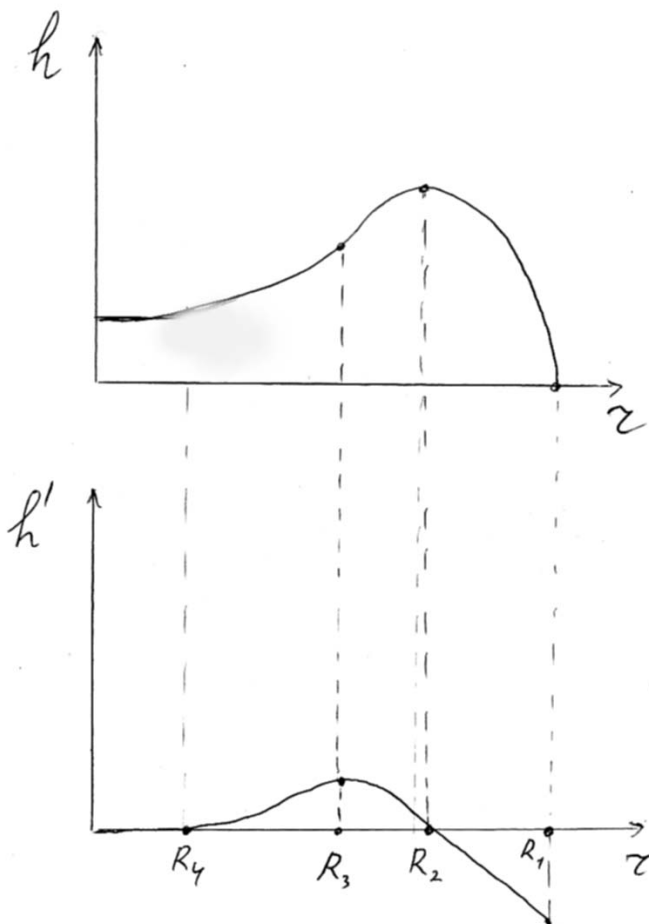


Рис. 5-2-18. График зависимости высоты капли от радиуса (расстояния до центра капли)- $h(r)$, и график первой производной от функции $h(r)$.

R_1 -радиус капли,

R_2 -радиус, при котором высота белкового валика максимальна,

($h(r)=\max$, первая производная функции $h(r)=0$),

R_3 -радиус, при котором валик переходит в плато,

(первая производная функции $h(r)$ максимальна)

R_4 -радиус плоской области в центре капли, радиус центральной зоны,

2-Высота высохшей капли. Высоту высохшей капли легко определять с помощью микроскопа. Устанавливается объектив с большим увеличением (60x), который имеет малую величину глубины резкости. Производится фокусировка на поверхность капли, и затем производится фокусировка на поверхность стекла. Разница в значении отсчетов на микровинте управления перемещением столика по высоте пересчитывается (после калибровки) в высоту капли в миллиметрах. Производится измерение двух параметров высоты-высота валика h_1 и высота в центральной части капли h_2 .

Сумма $C1=h1+h2$ пропорциональна массе сухого остатка капли. Так как основную массу сухого остатка составляет белок, то величина $C1$ пропорциональна содержанию белка. Если $C1$ больше некоторого среднего значения $C0$, определяемого экспериментально, то количество белка в сыворотке повышено. Если $C1$ меньше $C0$, то количество белка понижено.

Отношение $C2=h1/h2$ так же является важным диагностическим параметром. Так как в краевой зоне находятся альбумины, а в центральной зоне находятся глобулины, то можно предположить, что $C2$ будет пропорционально альбумин/глобулиновому коэффициенту, отношению массы альбумина к массе глобулинов в сыворотке крови.

3-Ширина краевой зоны (ширина белкового валика). Ширина краевой зоны пропорциональна массе сухого остатка, пропорциональна общему количеству белка, пропорциональна концентрации белка.

Определение количества белка в сыворотке крови.

Чем больше белка в сыворотке крови-тем шире краевая зона. Таким образом, на основе измерения ширины краевой зоны можно определять количество белка. При понижении количества белка краевая зона уменьшается, а при повышении количества белка краевая зона увеличивается. Содержание белка определяется как отношение ширины краевой зоны к диаметру капли с некоторым постоянным коэффициентом пропорциональности. Значение коэффициента пропорциональности зависит от типа высушиваемой биожидкости и от методики дегидратации.

Шатохина С.Н. Теодор И.Л. Макурина Т.В. Выборов М.П. Помазков Ю.В. Яковлев С.А. Могутов А.В. Мирошников А.Н.

Способ определения белка в биологической жидкости. Патент 1681182. 1991.+

Каплю исследуемой жидкости наносят на стекло, далее ее высушивают при 18-30 $^{\circ}$ C. В сухом образце определяют ширину и диаметр краевой зоны, которая имеет более однородный рисунок и четко определяется от центра, заполненного солевыми кристаллами. Содержание белка определяют по формуле: $C = K \times D1/D2$, где c -концентрация белка (г/л), $D1$ -ширина краевой зоны,мм, $D2$ -диаметр капли,мм, K -калибровочный коэффициент.

Зависимость формы высохшей капли от концентрации белка.

Для изучения зависимости формы капли от концентрации белка производится испарение тестовых растворов с различной концентрацией белка. Так как концентрация белка мало влияет на коэффициент поверхностного натяжения, то форма исходной капли раствора белка (площадь капли на поверхности) не будет зависеть от концентрации белка. От концентрации белка будет зависеть ширина и высоты краевого валика. Ширина и высота краевого валика будут возрастать пропорционально концентрации белка.

Отметим, что для капли чистой воды не происходит фиксации границы, и капля сжимается по мере испарения воды и уменьшения объема капли. Однако, добавление к капле воды любого сколь угодно малого количества белка приводит к фиксации границы капли при испарении.

Процесс испарения выглядит следующим образом. При испарении воды уменьшается объем капли за счет уменьшения высоты. Внешняя граница капли остается фиксированной с постоянным краевым углом. Течение жидкости от центра к краю обеспечивает постоянный приток жидкости и белка к краю. С краю капли образуется небольшой бугор из белка. Наступает некоторый момент, когда высота капли уменьшилась до некоторого критического значения (испарилась вся свободная вода и осталась только связанная вода)(при котором происходит гелеобразование растворенного белка). Происходит изменение режима испарения и вся капля одновременно загустевает.

5.2.7 Двойная фация.

Иногда наблюдается структура высохшей капли как бы состоящая из двух зон-двойная фация. На просвет эта структура видна слабо. Особо четко эта структура наблюдается при косом освещении. Это связано с тем, что двойная фация-это структура рельефа, а не содержимого высохшей капли. Краевой участок имеет небольшую высоту, а затем образуется обычный валик из белка. Двойная фация представляет собой скачек границы при испарении капли, аналогичный скачкам границы при испарении чистой воды. Если для воды скачки границы наблюдаются всегда, то для сыворотки скачки границы наблюдаются очень редко. Причина возникновения скачка границы для сыворотки (причина возникновения двойной фации) состоит в нарушении нормальных свойств сыворотки. Скачок возникает при ослаблении сцепления границы капли с поверхностью стекла. Это связано с нарушением структуры белков, которые обеспечивают сцепление сыворотки с поверхностью стекла.

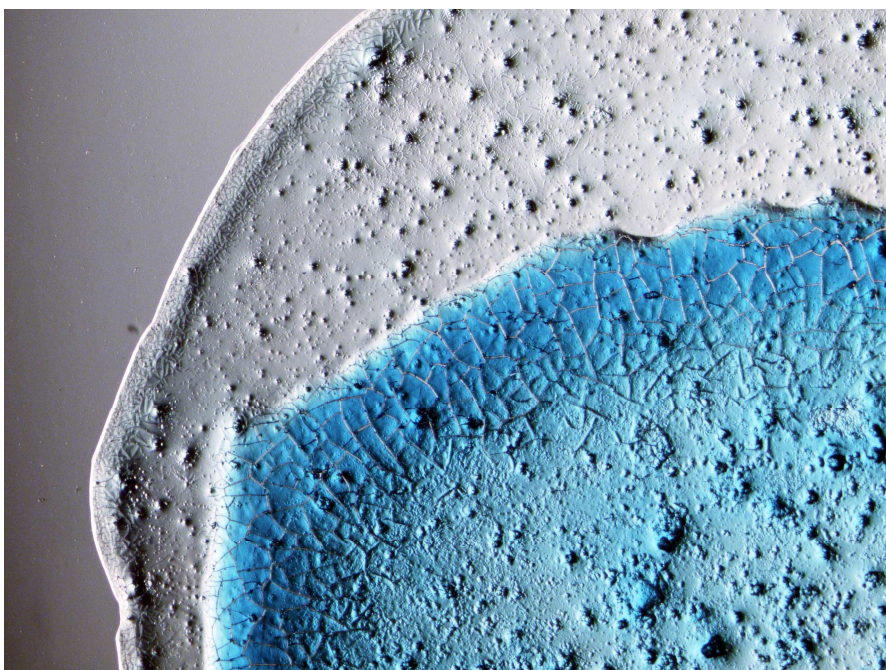


Рис. 5-2-19. Двойная фация высохшей капли сыворотки крови. Сыворотка подкрашена. Боковое освещение. Поле зрения 5мм.

5.3 Испарение капли при повышенной температуре.

Дегидратацию можно проводить при нормальной, повышенной или пониженной температуре. Обычно дегидратацию проводят при комнатной температуре.

Раскапывание на нагретую поверхность. Предполагается, что температура воздуха, стекла и капли совпадают. Эта методика является общепринятой. Дегидратацию при повышенной температуре можно проводить различными способами:

- раскапывание на стекло при комнатной температуре, а затем помещают стекло с каплей на нагретый термостатируемый столик.
- стекло заранее находится на термостатируемом столике, и раскапывание осуществляется на горячее стекло,
- обдувание теплым воздухом.

Температура, при которой происходит дегидратация, является вторым очень важным параметром. Необходимо иметь в виду, что:

100 °С-закипает вода,

60 °С-при этой температуре происходит денатурация белка (альбумины денатурируют при температуре 67 °С, глобулины денатурируют при температуре 69-75 °С).

36,6 °С-температура человеческого тела, это нормальная температура для крови, и это нормальная температура для дегидратации капли.

21 °С-обычная комнатная температура, при которой обычно проводит дегидратацию капли сыворотки.

0 °С-вода кристаллизуется.

Таким образом, получаем, что рабочий диапазон температур для дегидратации составляет от 21 до 60 °С. При повышении температуры время дегидратации уменьшается. При температуре выше 100 °С капля испаряется мгновенно.

При увеличении объема капли время испарения растет. При увеличении объема капли время испарения будет возрастать до тех пор, пока высота капли не достигнет максимального (критического) значения (100 мкл). При дальнейшем увеличении объема капли время испарения изменяться не будет.

Необходимо отметить, что при повышенной температуре происходит денатурация белков. Температура денатурации альбумина-70 градусов.

Таблица 2-9. Зависимость времени испарения капли (в минутах) от объема капли и от температуры (при обычной влажности):

Объем капли (мкл)	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
Радиус капли (мм)	4	4,5	5	6	7	8	8,5	9	9,5	10	10,5	11
25 °С	60	80	100	120	140	160	180	200	220	240	260	280
30 °С	18	20	24	31	40	45	50	55	60	65	70	75
35 °С	15	18	20	25	30	31	32	34	36	38	40	42
40 °С	10	14	17	19	21	23	24	25	26	27	30	33
45 °С	7	10	12	14	16	17	18	19	21	22	23	24
50 °С	6	8	9	10	13	14	15	17	18	19	21	21
60 °С	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
70 °С	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
80 °С	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

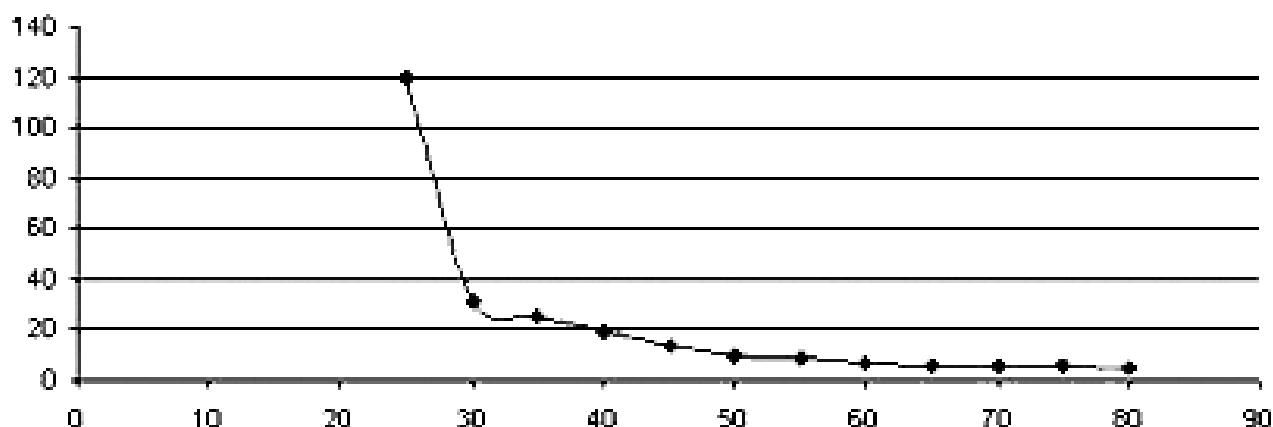


Рис. 5-3-1. Зависимость времени испарения (в минутах) от температуры (°С) для капли объемом 20 мкл.

В работе исследовали зависимость времени дегидратации капли тестовых растворов от температуры.

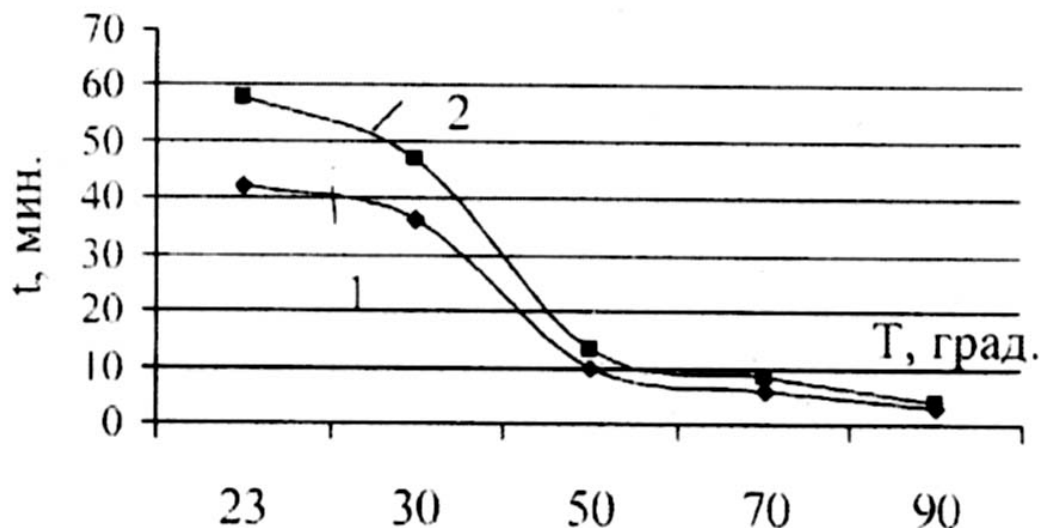


Рис. 5-3-2. Зависимость времени дегидратации от температуры. 1-раствор хлорида натрия. 2-раствор хлорида натрия с альбумином.

На основе приведенного графика можно сделать вывод, что для ускорения процесса испарения воды (для более оперативного получения результатов анализа для диагностики заболеваний) удобно проводить испарение при температуре 36 °C. При более высокой температуре будет происходить нарушение структуры белка, а при более низких температурах резко возрастет время испарения.

На самом деле для структурообразования капли важна не сама температура дегидратации, а скорость испарения. В зависимости от соотношения двух скоростей-скорости испарения и скорости гелеобразования будет существенно меняться структура капли. Скорость гелеобразования является неуправляемым параметром, и зависит от концентрации компонент сыворотки крови. Значит необходимо управлять скоростью испарения. Управляя скоростью испарения мы тем самым управляем структурой трещинообразования.

Скорость испарения определяется следующими параметрами:

- температура, чем выше температура, тем выше скорость испарения,
- влажность (давление пара над поверхностью), чем выше влажность, тем меньше скорость испарения,
- скорость потока воздуха над поверхностью (есть или нет обдувание). При обдувании капли время испарения сократится, так как скорость испарения пропорциональна скорости движения воздуха над поверхностью капли. Каплю специально обдувают теплым воздухом.
- Для увеличения скорости испарения (уменьшения времени испарения) необходима пониженная влажность (проводить дегидратацию в эксикаторе) и наличие обдувания.
- Для уменьшения скорости испарения (увеличения времени испарения) необходима повышенная влажность и отсутствие обдувания. Путем сильного повышения влажности можно добиться того, что испарение станет очень медленным, и время испарения можно сделать сколь угодно большим.

При слабом повышении температуры ускоряется испарение и ускоряются все процессы кристаллизации. Общая структура капли не изменяется.

При температуре 32 °С особенностей не возникает.

При температуре 36 °С иногда для капель объемом 30 мкл происходит образование бугра в центре капли из белка.

При температуре 40 °С бугор в центре для малых капель (объемом 0,5 или 1,0 или 2,5 мкл) не образуется. Если объем капли более 5 мкл-то в центре образуется бугор. При объеме капли более 30 мкл общая структура капли сохраняется (радиальные трещины, по краям-ячейки), но в центре появляется бугор из белков. При дегидратации под крышкой (повышенная влажность) при температуре 40 °С белок собирается в центре, если объем капли больше 40 мкл.

При температуре 50 °С за 10 минут в капле формируются три зоны:

-Внешнее плоское кольцо, много трещин в виде ромашки, оседает белок.

-Среднее более высокое кольцо, трещин меньше, белка нет.

-В середине капли-бугор застывшего альбумина темно-желтого цвета.

При дегидратации при температуре выше 70 °С в результате дегидратации получается очень тонкая капля с радиальными трещинами, а в центре огромная капля-высохший альбуминовый пузырек. При этом вся капля быстро собирается в центре (кроме тонкой пленки), и затем шарообразная капля в центре начинает затвердевать.

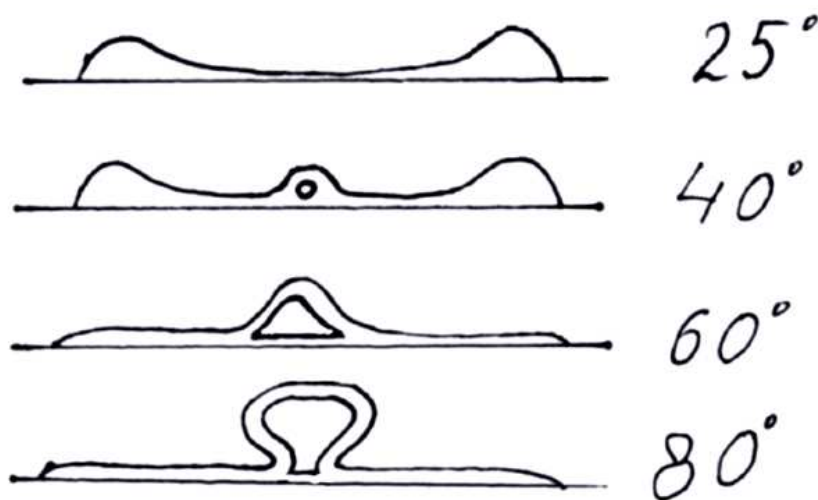


Рис. 5-3-3. Зависимость формы высохшей капли от температуры испарения.

Таким образом, в пространстве параметров V,T (объем, температура) существует некоторая область, соответствующая оптимальной дегидратации (V-от 10 до 40 мкл, T-от 22 до 40 °С).

Рассмотрим причину образования бугра в центре капли. При испарении при нормальной температуре воздух, растворенный в сыворотке, постепенно выходит через поверхность капли. При высокой температуре на поверхности капли быстро образуется загустевшая корочка толщиной 0,1мм. Воздух, выделяющийся из сыворотки, собирается в виде пузырька под этой корочкой. Так как вся капля еще не затвердела, пузырек воздуха растет и поднимает за собой верхнюю корочку как пленку. Высохшая капля представляет собой тонкий слой растрескавшегося альбумина, а в центре большая затвердевшая сферическая капля-воздух внутри альбуминовой корки.

При повышенной температуре сцепление высохшей капли со стеклом очень слабое, и капли легко отслаиваются от стекла.

Таблица 2-10. Зависимость давления паров воды от температуры:

Температура, град	0	10	20	30	40	60	80	100
Давление, мм рт ст	4,58	9,2	17,5	31,8	55,3	149,4	355	760

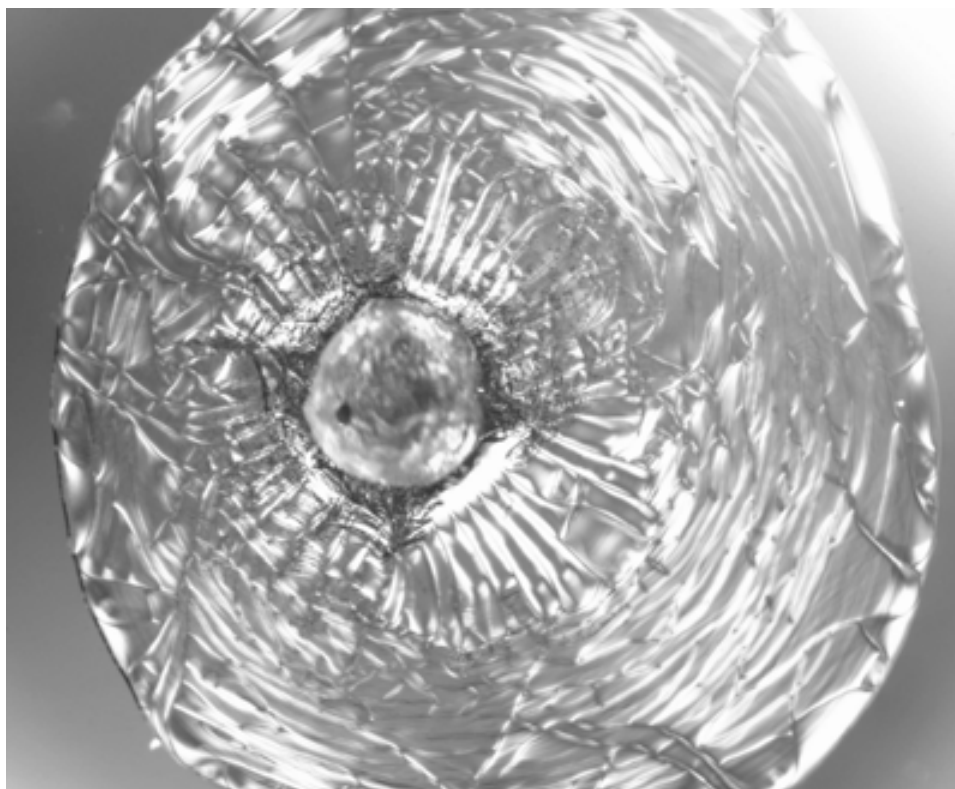


Рис. 5-3-4. Дегидратация капли при температуре 60 °С. В центре капли виден большой бугор альбумина. Поле зрения 8мм.

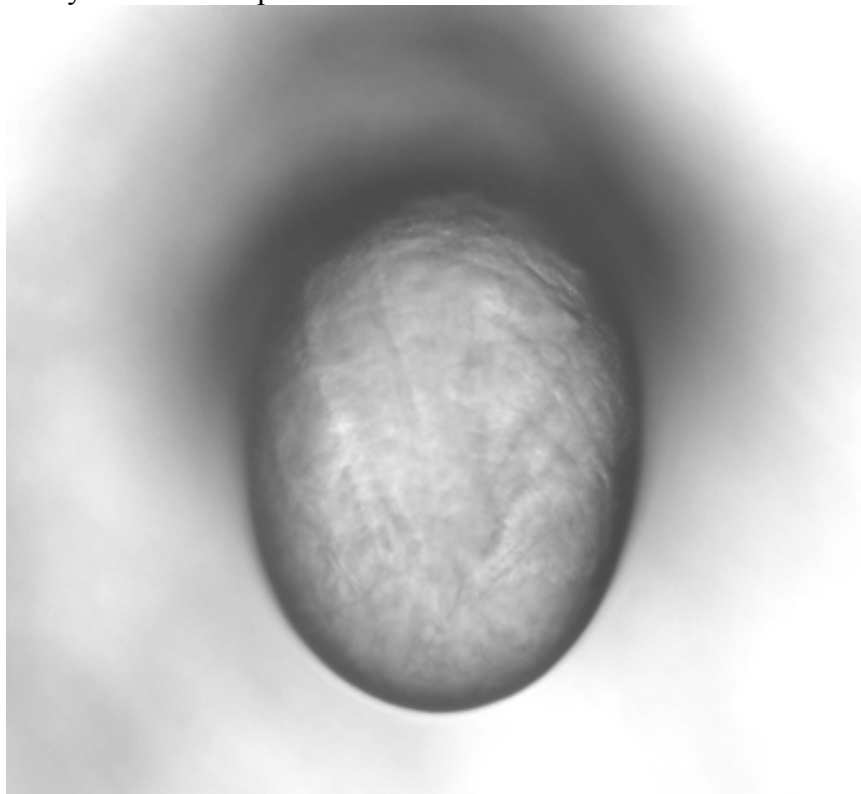


Рис. 5-3-5. Бугор альбумина в центре капли, высушенной при температуре 60 °С. Поле зрения 3мм.



Рис. 5-3-6. Срез бугра в центре капли сыворотки, высохшей при температуре 80 °С. Видно строение тонкостенного пузырька. Поле зрения 3мм.

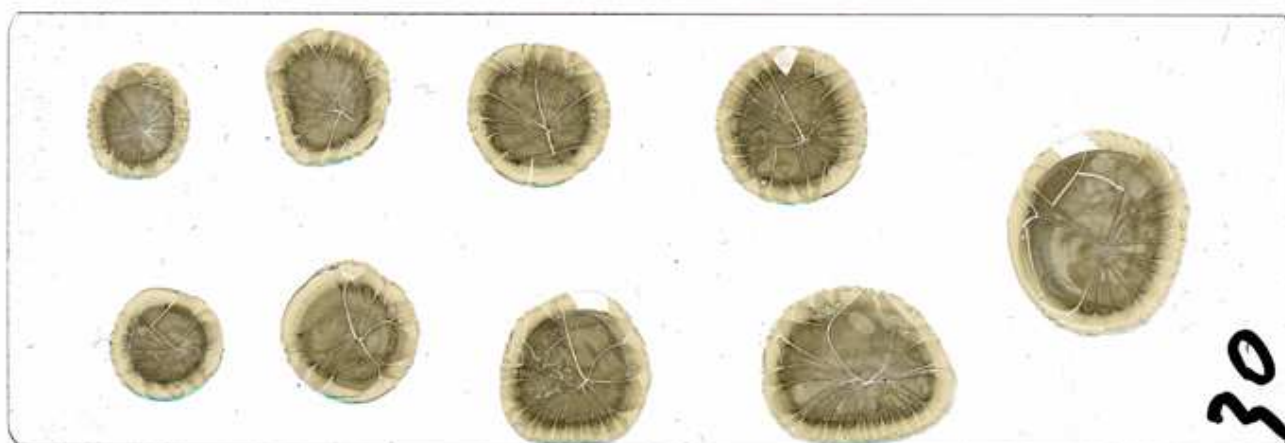


Рис. 5-3-7. Кристаллизация при температуре 30 градусов.

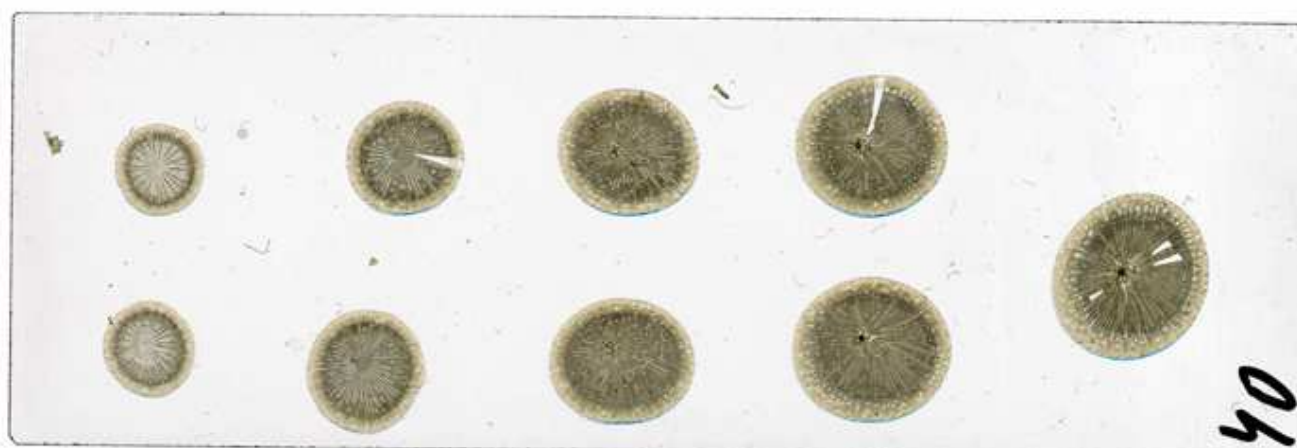


Рис. 5-3-8. Кристаллизация при температуре 40 градусов. Началось стягивание белка к центру.

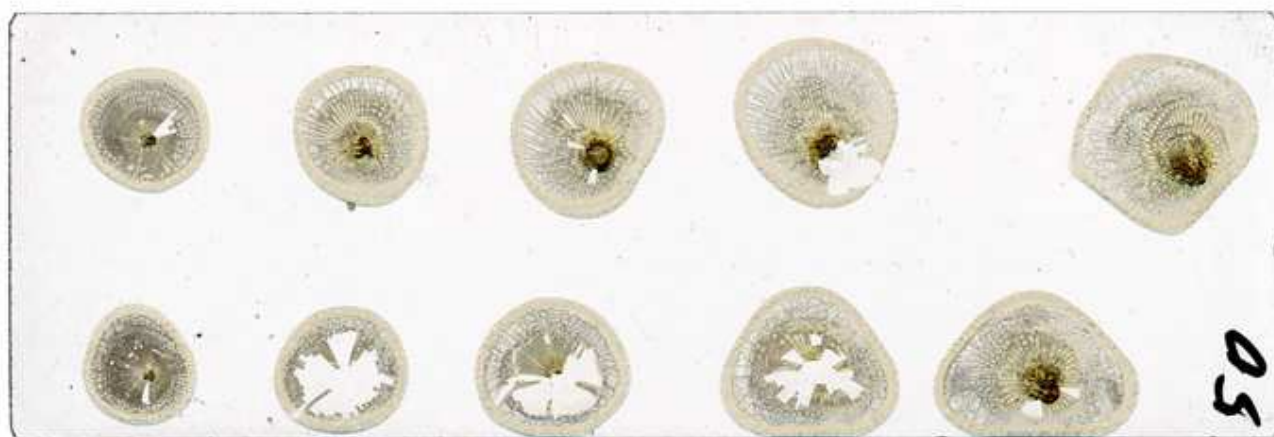


Рис. 5-3-9. Кристаллизация при температуре 50 градусов.

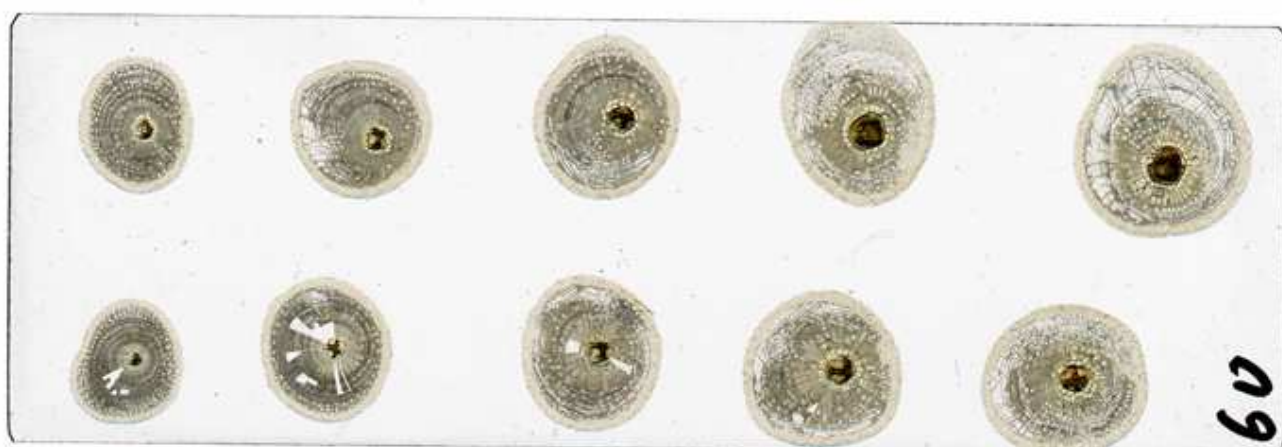


Рис. 5-3-10. Кристаллизация при температуре 60 градусов.

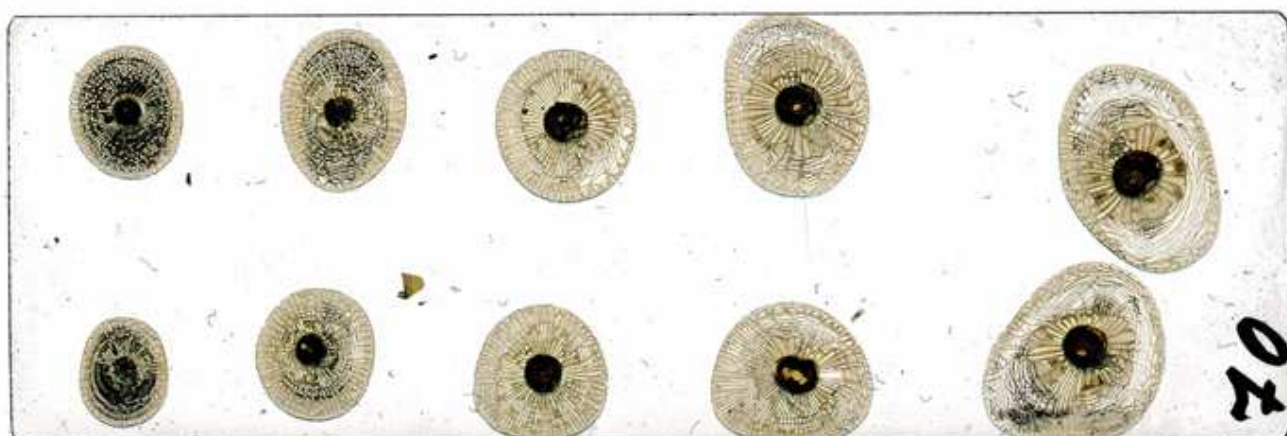


Рис. 5-3-11. Кристаллизация при температуре 70 градусов.



Рис. 5-3-12. Кристаллизация при температуре 80 градусов. Произошло практически полное стягивание всего белка к центру.

Рапис Е.Г. Гасанова Г.Ю. Автоволновой процесс в динамике фазового перехода в пленке белка. Журнал технической физики. 1991. т.61. №4. с.62-71.+

В работе сравниваются результаты кристаллизации капли раствора яичного белка при температуре +27 и +37 °С. Отмечается, что при +37 °С происходит более интенсивное растрескивание и образование ячеек (практически до самого центра капли). Растрескивание принимает более симметричный вид. Так же отмечалось более интенсивное спиральное растрескивание внутри ячеек при температуре 37 °С.

5.4 Испарение капли при пониженной температуре.

Дегидратацию при пониженной температуре можно проводить различными способами:

- раскапывание на стекло при комнатной температуре. Затем помещают стекло с каплей на охлажденный термостатируемый столик.
- Стекло заранее находится на термостатируемом столике, и раскапывание осуществляется на охлажденное стекло.
- испарение в холодильнике, при этом температура составляет от 3 до 8 °С,
- испарение на охлаждаемом термостоліке или на элементе Пельтье в режиме охлаждения. В этом случае можно управлять температурой.

При пониженной температуре существенными являются следующие процессы: уменьшается скорость испарения воды из капли, и уменьшается скорость диффузии веществ в капле. Капля высыхает медленнее, и структура капли изменяется. При пониженной температуре улучшаются условия для кристаллизации соли, в центральной зоне капли много крупных одиночных кристаллов соли. При пониженной температуре ухудшаются условия агрегации белка. Белок слабо выражен на периферии капли. Хорошо видны ядра в ячейках.

1961-Рапис Е.Г. Гасанова Г.Ю. Автоволновой процесс в динамике фазового перехода в пленке белка. Журнал технической физики. 1991. т.61. №4. с.62-71.+

В работе изучается кристаллизация капли раствора яичного белка в холодильнике при температуре +1 и +2 °С. Структура капли была аналогична норме, но размер ячеек был больше, а количество ячеек уменьшалось. Уменьшалось так же спиральное растрескивание в центре ячеек.



Рис. 5-4-1. Структура замороженной капли.

Испарение капли в зависимости от температуры.

2008-F. Girard, M. Antoni, S. Faure, and A. Steinchen, "Influence of heating temperature and relative humidity in the evaporation of pinned droplets," Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, vol. 323, p.36-49. June 2008.

2011-J.-H. Kim, S.-B. Park, J. H. Kim, and W.-C. Zin, "Polymer transports inside evaporating water droplets at various substrate temperatures," The Journal of Physical Chemistry C, vol. 115, p.15375-15383. Aug. 2011.

2013-Y.-C. Hu, Q. Zhou, Y.-F. Wang, Y.-Y. Song, and L.-S. Cui, "Formation mechanism of microflows in aqueous poly(ethylene oxide) droplets on a substrate at different temperatures," Petroleum Science, vol. 10, p.262-268. June 2013.

2014-Vahid Bazargan. Effect of substrate cooling and droplet shape and composition on the droplet evaporation and the deposition of particles. Dissertation. 2014.

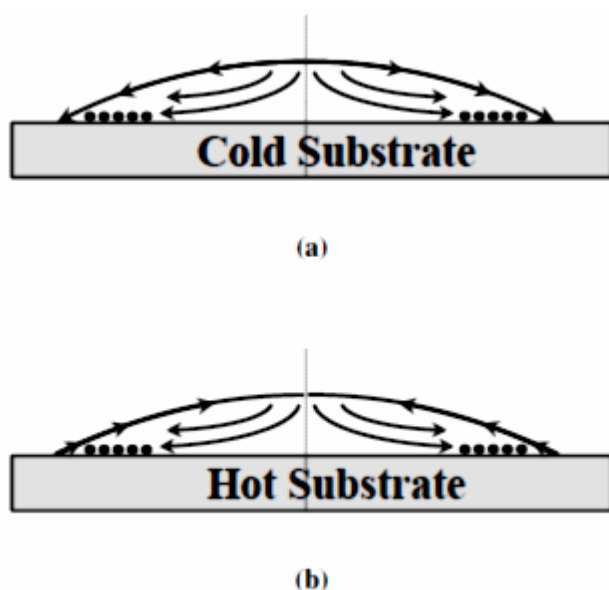


Рис. 5-4-2. Различные потоки Marangoni при холодной и горячей подложке.

5.5 Управление влажностью.

Скорость испарения зависит от влажности. Чем больше влажность-тем меньше скорость испарения. Нормальной влажностью при температуре 20 °C считается относительная влажность воздуха от 40% до 60%. При такой влажности время испарения капли объемом 20 мкл составляет 60 минут. Если проводить испарение в эксикаторе, в котором влажность близка к нулю, время испарения сократится. Если накрыть стекло с каплей чашкой Петри, то влажность под чашкой Петри увеличится, и время испарения увеличится. При увеличении влажности-время испарения будет увеличиваться. При 100% влажности испарение не будет происходить, время испарения равно бесконечности, капля никогда не испарится.

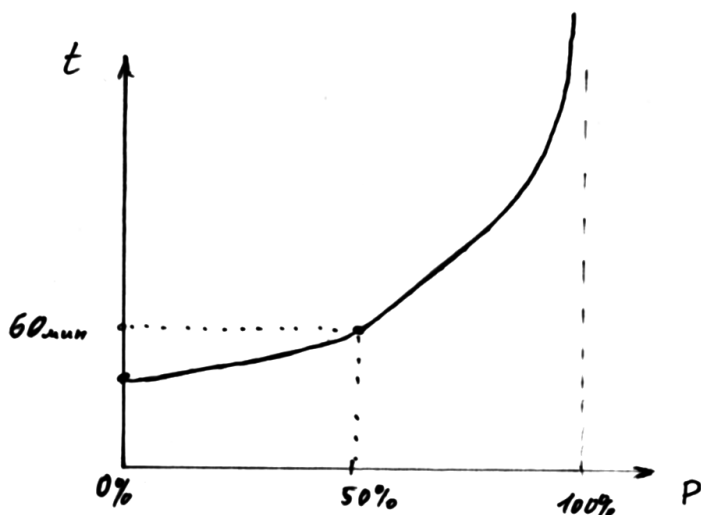


Рис. 5-5-1. Зависимость времени испарения капли от относительной влажности воздуха.

Таблица 2-11. Абсолютная влажность воздуха (г/м³) в зависимости от температуры (градусы)

Температура, градусы	-30	-20	-10	0	10	20	30	40	50	60	70	80
Абсолютная влажность	0,29	0,81	2,1	4,8	9,4	17,3	30,4	51,1	83,0	130	198	293

Вопросы кристаллизации биожидкости (молока) рассматривают при изучении пищевых продуктов. При охлаждении молока происходит отвердевание и кристаллизация молочного жира в жировых шариках. При дальнейшем замораживании происходит кристаллизация воды. При быстром замораживании (-22°С) происходит образование мелких равномерно распределенных кристаллов льда. Максимальное кристаллообразование происходит при температуре от -2 до -8 °С. При медленном замораживании не замороженной остается около 4% свободной и 3,5% связанной воды. При медленном замораживании происходит частичная или полная денатурация белков. При длительном хранении быстро замороженного молока происходит его перекристаллизация.

5.6 Управление обдуванием.

При обдувании скорость испарения возрастает, а время испарения уменьшается. Если нет движения воздуха над поверхностью капли, то через некоторое время влажность воздуха над поверхностью капли становится близкой к 100%, и испарение воды существенно замедляется. Это происходит, если стекло с каплей воды накрыть чашкой Петри. Время испарения капли под чашкой Петри существенно возрастает. Можно предположить, что обдувание эквивалентно 0% влажности, так как обдувание удаляет все молекулы воды, вылетевшие с поверхности капли.

Возможны два варианта обдувания-обдувание воздухом с комнатной температурой, и обдувание теплым воздухом. Обдувание теплым воздухом может привести к нарушению конвекционных потоков, так как изменится распределение температур между нижней и верхней поверхностью капли.

Для обдувания очень удобно использовать обычный фен для сушки волос. У фена существует два режима обдувания-с включенным и с выключенным нагревателем. При включенном нагревателе имеется возможность регулировки температуры обдуваемого воздуха. Характерные времена испарения капли объемом 20 мкл:

90 мин-под чашкой Петри,
60 мин-испарение на открытом воздухе,

20 мин-при обдувании холодным воздухом,
10 мин-при обдувании теплым воздухом.

Применение обдувание при кристаллизации рассматривалось в работе
Камакин Н.Ф. Мартусевич А.К. К методике тезиокристаллоскопической биожидкостей.
Клиническая лабораторная диагностика. 2002. №10. с.3.

2011-Нижний Новгород-НИИТО

Воробьев А.В. Мартусевич А.К. Погодин И.Е. Перетягин С.П. Гришина А.А.

Способ диагностики ожоговой токсемии. Патент 2424521. 2011.

Сущность способа диагностики ожоговой токсемии заключается в том, что сыворотку крови больного в объеме 100-200 мкл наносят на предметное стекло и проводят дегидратацию препарата в потоке теплого воздуха при температуре 40-50°C и влажности 20-30% в течение 15-20 минут в горизонтальном положении. Фацию сравнивают с паттерном ожоговой токсемии по показателям: индекс структурности, кристаллизуемость, тип взаимодействия кристаллических и аморфных структур, степень деструкции фации, равномерность распределения кристаллических и аморфных элементов фации, степень выраженности ячеистости фации, выраженность отдельных зон кристаллизации, выраженность краевой белковой зоны и рельефность текстуры. При совпадении не менее шести из девяти значений критериев с паттерном сравнения диагностируют ожоговую токсемию.

5.7 Управление составом капли.

Составом капли можно управлять, биожидкости можно разбавлять (разводить) или концентрировать. Так же можно проводить кристаллизацию тестовых растворов с различным содержанием изучаемого компонента.

1. Зависимость формы капли от концентрации белка.

Если фиксирована площадь основания капли, то форма капли определяется только количеством белка в данной капле. Чем больше белка-тем выше и шире внешний белковый валик.

Проведем три сравнительных эксперимента.

1-Стандартный случай. Капля 10% раствора альбумина объемом 20 мкл. Диаметр капли на стекле будет 10мм.

2-Размазанная капля. Капля 20% раствора альбумина объемом 10 мкл. Каплю наносят на стекло (ее диаметр 6мм) и размазывают до диаметра 10мм.

3-Сжатая капля. На стекле гидрофобным карандашом ограничивают круг диаметром 10мм и наносят каплю 5% раствора альбумина объемом 20 мкл.

После дегидратации все три капли будут иметь одинаковую форму и структуру. В этих экспериментах будет различаться только время дегидратации (60, 40 и 80 минут соответственно).

От концентрации белка (точнее от высоты краевого валика) будет зависеть растрескивание и образование ячеек. Ячейки образуются, если высота валика превышает некоторую величину.

Из этого эксперимента следует, что если предварительно проводить концентрирование сыворотки путем нагревания, то процесс кристаллизации можно ускорить.

Исследование процессов дегидратации капли раствора яичного белка с различной концентрацией рассматривается в работе:

Рапис Е.Г. Гасанова Г.Ю. Автоволновой процесс в динамике фазового перехода в пленке белка. Журнал технической физики. 1991. т.61. №4. с.62-71.

2. Разведение сыворотки водой (H₂O). Например, при разведении сыворотки крови водой в два раза, в два раза уменьшается процентное содержание всех компонент сыворотки. Если после разведения раскапывать тот же объем сыворотки, то получается, что на той же площади капли (площадь капли зависит от объема и не зависит от состава) будет содержаться в два раза меньше компонент. Структура высохшей капли существенно изменится. Интересным является следующий вопрос-при какой минимальной концентрации белка начинает происходить залипание границы и образование белкового валика? Известно, что при концентрации белка от 9% и выше белковый валик образуется. При разведении сыворотки в 10.000 раз (концентрация белка 0,001%) образуется тонкий валик белка по краю капли. Валик из белка образуется при любой степени разведения. Белок всегда собирается на краю капли в виде валика. Ширина и высота валика пропорциональны количеству белка.

При слабом разведении немного увеличивается центральная область, и лучше проявляется структура солей. При дальнейшем разведении сыворотки вначале пропадают структуры в центральной зоне. Соли формируют структуры в узкой полоске между белковым валиком и пустой центральной зоной. Радиальные трещины образуются только с краю капли и не доходят до центра капли. Затем пропадают ячейки в краевой зоне. Затем пропадают все трещины в краевой зоне. Белковый валик становится однородным и гладким. Следом за ним располагается тонкое кольцо структур соли. При очень сильном разведении структуры соли пропадают. Белковый валик становится очень тонким. В белковом валике появляются морщины около различных частиц, попавших в высыхающую сыворотку.

Разведение сыворотки эквивалентно моделированию пониженного содержания белков в крови.

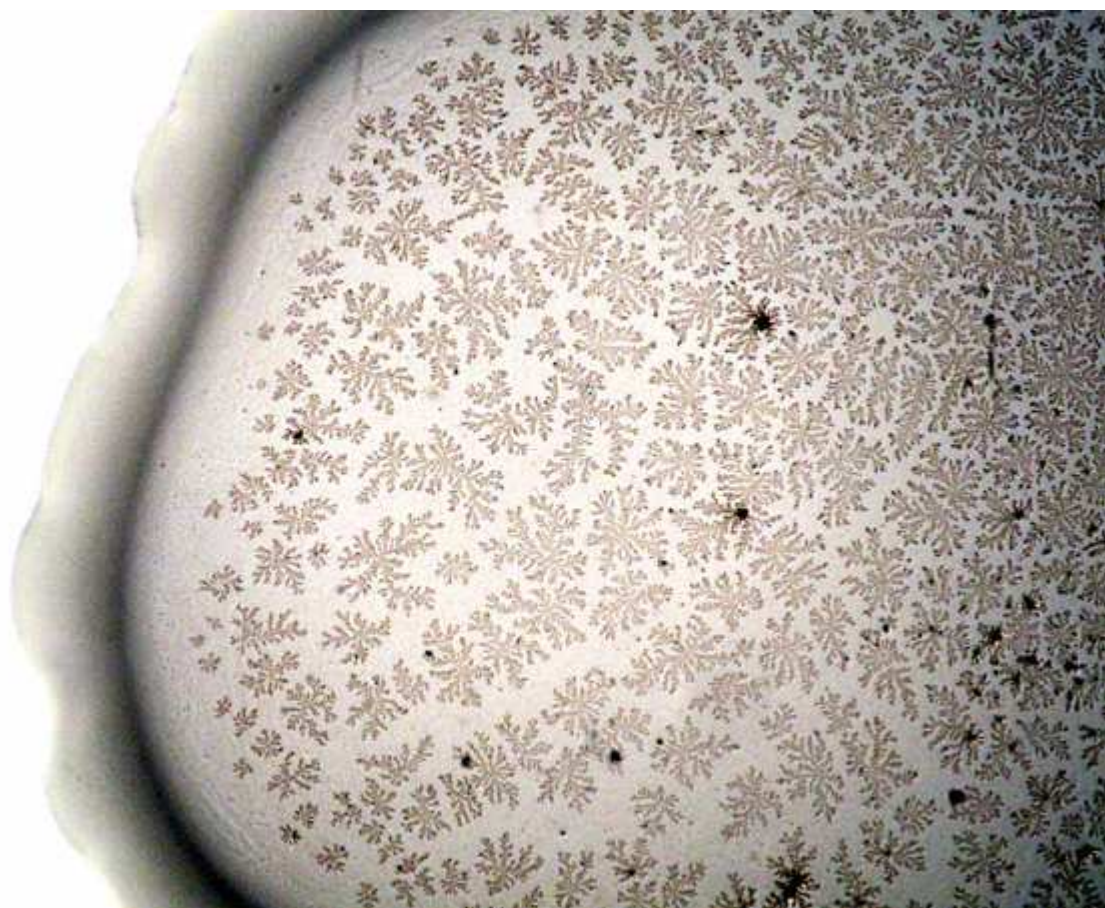


Рис. 5-7-1. Кристаллизация сыворотки крови, разведенной водой в соотношении 1:8.

3. Концентрирование сыворотки. Концентрацию компонент в сыворотке можно увеличить, если перед раскапыванием выпарить некоторое количество воды. Если выпарить половину объема сыворотки, то концентрация компонент возрастет в два раза. Однако стоит учитывать, что нельзя проводить выпаривание при высокой температуре, так как произойдет разрушение компонент и изменение структуры сыворотки.

Концентрирование сыворотки эквивалентно моделированию повышенного содержания белков в крови.

Разведение и концентрирование изменяют физические свойства сыворотки.

-Изменение удельного веса (плотности). При разведении сыворотки водой плотность линейно уменьшается от плотности сыворотки 1,025 г/см³ до плотности воды-1,0 г/см³. При выпаривании плотность сыворотки возрастает.

-Изменение вязкости. При разведении сыворотки водой вязкость уменьшается от вязкости сыворотки (1,2 условных единиц) до вязкости воды (1,0 условных единиц). При дегидратации вязкость сыворотки возрастает.

4. Добавление соли (NaCl). При добавлении соли существенно изменится соотношение белков и соли. Структура капли так же изменится. Метод добавления соли в каплю сыворотки называется методом тизиографии, и используется как самостоятельный метод.

При изменении состава сыворотки происходит изменение поверхностного натяжения. Поверхностное натяжение зависит от концентрации липидов и иммуноглобулинов, которые ведут себя как поверхностно-активные вещества. Альбумин так же снижает величину поверхностного натяжения. Можно упорядочить различные компоненты по степени снижения поверхностного натяжения следующим образом: вода-альбумин-иммуноглобулины-липиды.

Если зафиксировать объем капли и тип поверхности, на которой производится раскапывание, то в зависимости от величины поверхностного натяжения будет изменяться площадь капли.

Величина краевого угла пропорциональна величине поверхностного натяжения.

При увеличении концентрации липидов поверхностное натяжение и краевой угол уменьшаются.

При уменьшении поверхностного натяжения и краевого угла площадь капли увеличивается.

Следовательно, получаем, что при увеличении концентрации липидов площадь капли увеличивается. Таким образом, получаем, что значение площади капли определяется концентрацией липидов, и является важным диагностическим параметром. Для диагностики область значений площади капли разбивается на три диапазона:

-если площадь капли S меньше чем S_1 ($S < S_1$) ($S_1 = 5 \text{ мм}^2$), то диагностируется пониженное содержание липидов,

-если площадь капли находится в диапазоне между S_1 и S_2 ($S_1 < S < S_2$) ($S_2 = 9 \text{ мм}^2$), то диагностируется норма,

-если площадь капли больше S_2 ($S_2 < S$), то диагностируется повышенное содержание липидов.

Адсорбционный слой на поверхности раздела раствор-воздух является областью повышенной концентрации белков. Чем больше молекулярная масса, тем сильнее молекулы концентрируются на границе раздела. При этом высокомолекулярные компоненты (иммуноглобулины) вытесняют более низкомолекулярные молекулы альбумина с поверхности.

Если раскапывать много капель одной и той же сыворотки, то площадь различных капель будет распределена по нормальному закону. Разброс значений составляет 3%. Непостоянство площади капель обусловлено небольшим различием в составе капель, неоднородностью поверхности, на которую происходит раскапывание, небольшие изменения объема капли, наносимой дозатором.

Если раскапывать капли различной сыворотки (фиксированы объем капли и тип поверхности), то площадь капель так же будет распределена по нормальному закону. Однако разброс значений площади станет гораздо больше-10%. Этот разброс значений прежде всего определяется составом капли (концентрация липидов).

5.8 Различные методы дегидратации.

Кристаллизация на наклонной поверхности.

Капля раствора наносится на предметное стекло, расположенное под углом к плоской поверхности стола. В этом случае можно наблюдать как происходит кристаллизация в слое жидкости с переменной толщиной.



Рис. 5-8-1. Кристаллизация на наклонной поверхности.

При угловой дегидратации информативность высушенной капли существенно зависит от краевого угла и от высоты капли. Для получения достоверных данных о состоянии сыворотки крови можно раскапывать несколько капель с разной высотой и с разными краевыми углами. Но это неудобно, и был разработан метод наклонной дегидратации, которые позволяет на одной капле реализовать различные режимы испарения и кристаллизации. Метод наклонной дегидратации состоит в следующем: капля объемом 50 мкл наносится на предметное стекло. Диаметр капли на стекле составляет 10мм. Капля размазывается наконечником дозатора до диаметра 15мм. Затем под один из концов предметного стекла подкладывается прокладка, и конец стекла поднимается на 20мм. Капля принимает форму клина-сверху тонкая, снизу-толстая. В данной капле реализуются различные краевые углы-от острого угла в верхней части капли, до тупого угла в нижней части капли. Реализуется переменная толщина, тонкая вверху и толстая внизу. Таким образом, на одной капле реализуются различные режимы дегидратации.

После высыхания капли выделяются несколько зон. В центре-соли. Внизу-белковая зона, толстые ячейки альбумина с ядрами и трещинами вокруг ядер. С краю с боков-самая интересная зона-зона проявления глобулинов, выпадение в осадок светло коричневого налета.

Углом скатывания называется угол, на который необходимо наклонить поверхность, для начала скатывания капли жидкости. Для сыворотки крови на стекле угол скатывания равен 20 градусам. Таким образом получаем, что максимальный угол для наклонной дегидратации составляет 20 градусов. В наших экспериментах угол скатывания равен 12 градусов.

Различные модификации метода:

- 1-нанесение капли на горизонтальное стекло, а затем приподнимание края стекла.
- 2-Нанесение капли на наклонное стекло. Два варианта, капля останется неподвижной или начнет скатываться.
- 3-нанесение капли на наклонное стекло и небольшое размазывание капли по направлению вниз.
- 4-нанесение жидкости в наклонную чашку Петри.

В верхней части капли формируется тонкая пленка белка. Структура пленки не однородна. Пленка имеет волнистую структуру. Это говорит о том, что процесс сжатия капли (движения верхней границы) происходит не непрерывно, а скачками. Происходит балансировка двух противодействующих сил:

- сила сцепления капли с поверхностью, которая стремится удержать границу капли на месте,
- сила сжатия, которая стягивает каплю и стремится сдвинуть границу капли вниз.

При испарении воды сила сжатия капли отрывает границу и сдвигает ее вниз. При этом сила сжатия ослабевает. Когда сила сжатия сравняется с силой сцепления, движение границы останавливается. После этого снова начинает возрастать сила сжатия. При достижении определенной величины опять происходит сдвиг границы вниз. При этом имеет значение гистерезис, зависимость величины сцепления от величины краевого угла.

1-Большие углы наклона (от 12 до 90 градусов).

При больших углах наклона происходит скатывание капли. Образуется однородная тонкая пленка капли на поверхности стекла, которая очень быстро загустевает. Реализуется метод дегидратации тонкой пленки биожидкости. Этот метод интересен тем, что микрорельеф поверхности пленки отражает неоднородность структуры биожидкости. Если биожидкость однородна, то поверхность пленки ровная. В реальной пленке биожидкости можно наблюдать наличие агрегатов различного размера, которые создают возвышения над ровной поверхностью пленки. Можно выделить два типа неоднородностей на поверхности пленки:

1-отдельные агрегаты. Отдельные агрегаты образуют небольшие возвышения над поверхностью с резкой границей. Агрегаты представляют собой фрагменты сыворотки с жесткой трехмерной структурой и сильной связью молекул внутри агрегата.

2-волны. Волны представляют собой плавные изменения высоты пленки. Волны представляют собой неоднородности трехмерной структуры белка со слабыми связями между молекулами.

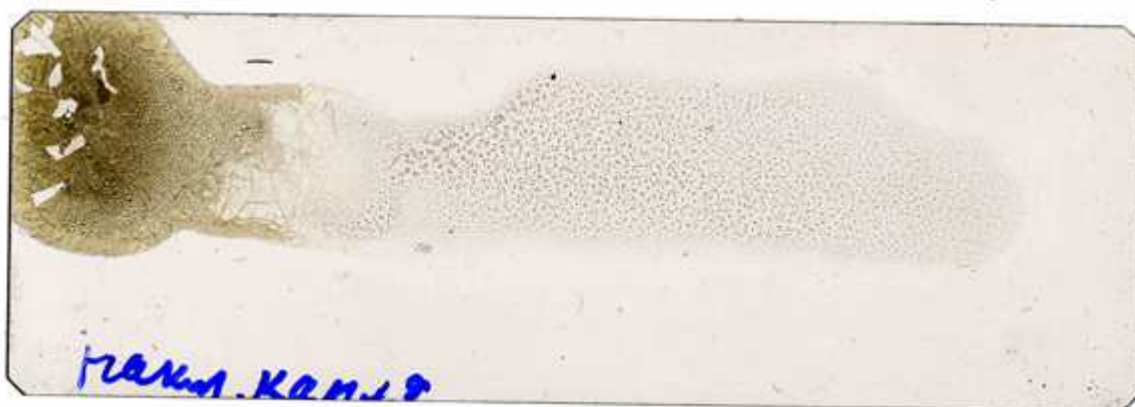


Рис. 5-8-2. Кристаллизация на наклонной поверхности.

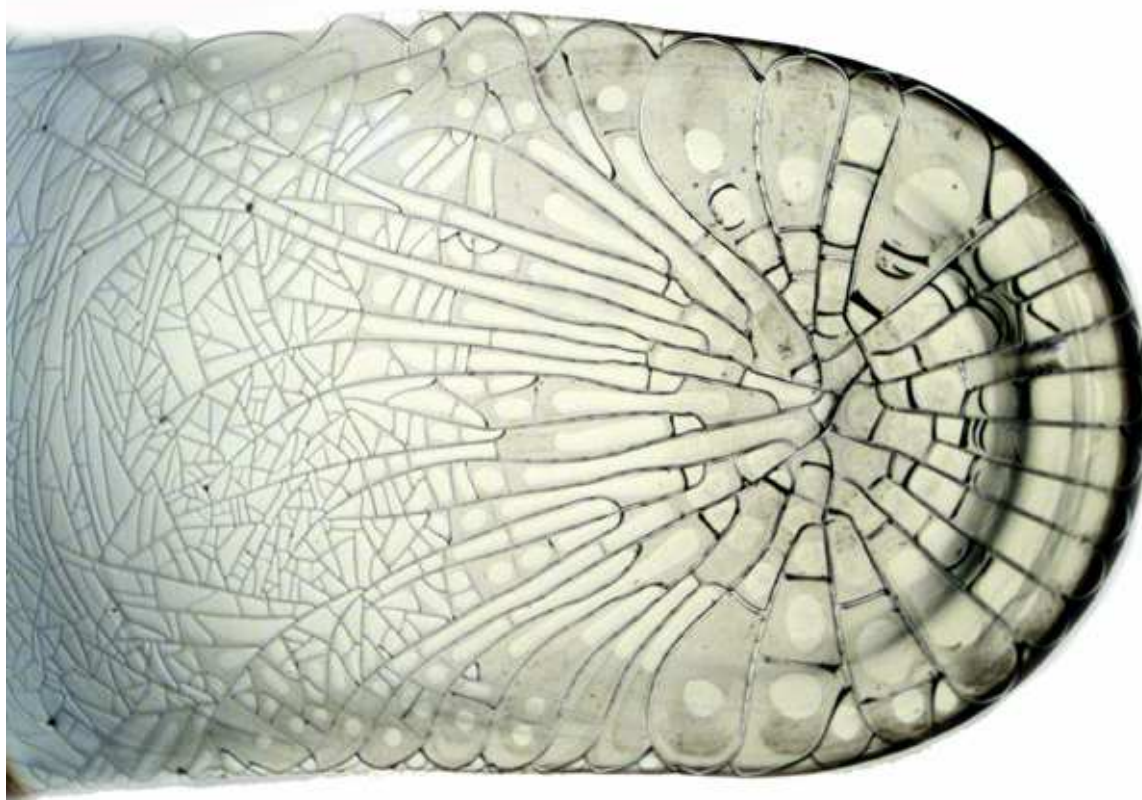


Рис. 5-8-3. Кристаллизация на наклонной поверхности с большим углом наклона.

2-Средние углы наклона (от 7 до 12 градусов).

При средних углах наклона нижний край капли фиксируется и при дальнейшем испарении воды не перемещается. Верхний край капли постепенно смещается вниз. При высыхании капли в верхней части капли образуется несколько зон.

1-верхняя широкая прозрачная зона. Эта зона по структуре аналогична тонкой пленке, которая образуется при быстром стекании капли под большим углом. Эта пленка представляет собой раствор мономеров альбумина в свободной воде.

2-средний узкая прозрачная слегка мутная зона. Эта зона по структуре аналогична тонкому прозрачному краевому слою при обычной дегидратации. Это область однородного раствора мелких агрегатов альбумина.

3-широкая мутная зона. Это зона крупных агрегатов белков.

4-основная зона капли. Это зона в которой происходит дегидратация обычным образом.



Рис. 5-8-4. Кристаллизация на наклонной поверхности.

3-Малые углы наклона (от 0 до 7 градусов).

Принципиальных изменений в динамике кристаллизации не происходит. Меняется форма белкового валика. С той стороны капли, которая выше, белковое кольцо уже и ниже обычного. С той стороны капли, которая ниже, белковое кольцо шире и выше обычного.

Другой подход состоит в раскапывании капли на горизонтальную поверхность, с последующим наклоном через некоторое время (время задержки наклона) предметного стекла на некоторый угол. Если производить наклон через несколько минут после раскапывания (5 минут), то величина угла скатывания возрастет, так как произойдет более сильное сцепление капли с поверхностью. Величина силы сцепления возрастает от некоторой начальной величины до некоторой максимальной величины за время порядка 10 минут.

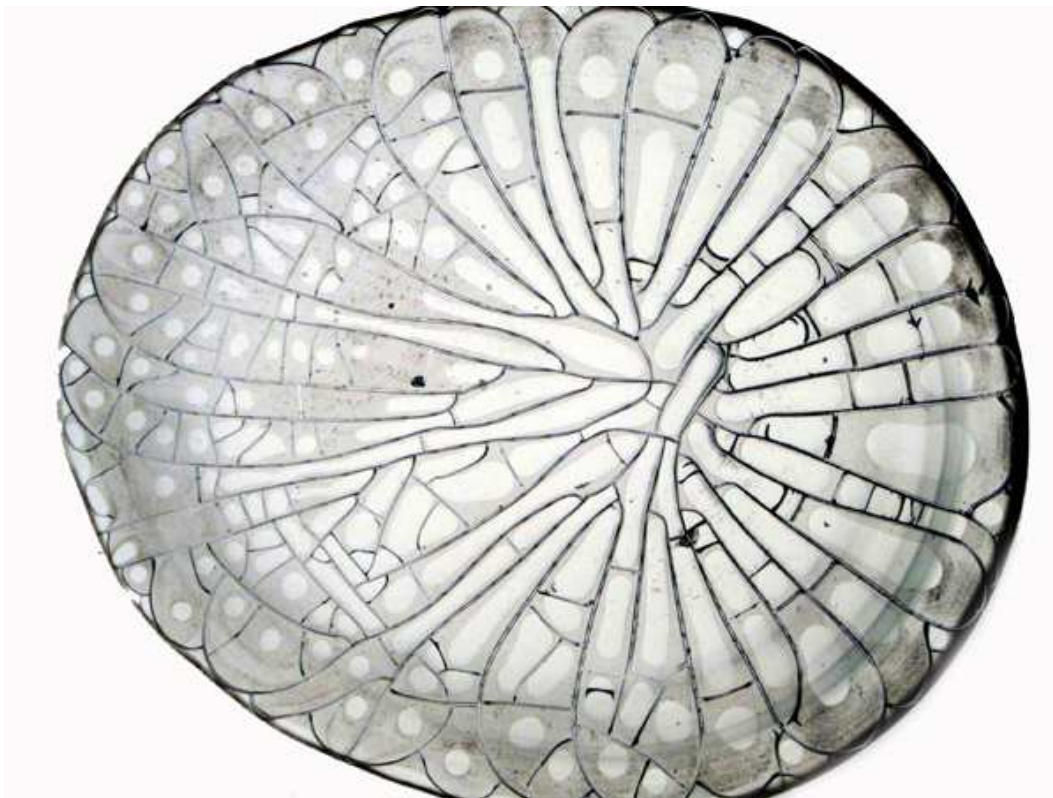


Рис. 5-8-5. Кристаллизация на наклонной поверхности с малым углом наклона.

Перевернутая капля.

Если каплю поместить на стекло, а затем стекло перевернуть, то капля окажется на нижней поверхности стекла. При наблюдении сверху в этом случае так же наблюдаются течения. По верхней поверхности течение направлено от центра к краю. По нижней поверхности капли течение направлено от края капли к центру. Испарение воды осуществляется с нижней поверхности капли, значит, нижняя поверхность капли холоднее, чем верхняя поверхность. Объяснить течения с помощью Рэлеевской модели конвекционной неустойчивости не получается. Течения можно объяснить помощью модели Марангони за счет поверхностного натяжения. Возникшие течения вызывают неоднородность температуры на поверхности капли. Это приводит к неоднородности поверхностного натяжения на поверхности капли. Жидкость на поверхности движется от более горячих областей к более холодным, так как поверхностное натяжение уменьшается с повышением температуры.

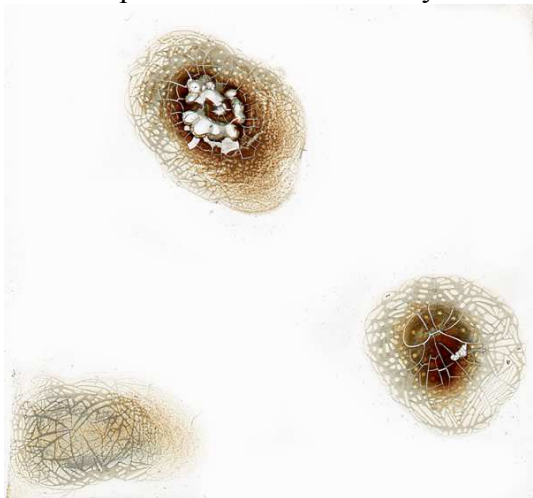


Рис. 5-8-6. Кристаллизация методом перевернутой капли.

Вакуумная сушка.

1977-Москва, 4-е Главное управление МЗ СССР.

Неретин В.Я. Кирьянов В.А. Кристаллографический метод исследования спинномозговой жидкости при заболеваниях центральной нервной системы. Советская медицина. 1977. №7, с.96-103. В работе описан тезиографический метод исследования спинномозговой жидкости. Для выращивания кристаллов была использована вакуумная техника. Путем поясничного прокола из подпаутинного пространства извлекают 2 мл ЦСЖ. К 10 мл 1% спиртового раствора $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, налитого в пробирку, капельно при постоянном встряхивании добавляют 2 мл ликвора. Полученную смесь оставляют в обычных условиях при комнатной температуре на 15 мин, затем пропускают ее через тонкопористый или беззольный фильтр. Образовавшийся фильтрат переливают в чашку Петри и ставят в вакуумный сушильный шкаф для кристаллизации на 12 ч при температуре 36-37°C, при давлении в вакууме 160-170 мм рт. ст. Образовавшиеся кристаллы фотографируют через микроскоп с помощью фотонасадки с увеличением в 40-60 раз.

Неретин В.Я. Кирьянов В.А.

Кристаллографический метод при заболеваниях центральной нервной системы. Методические указания. Москва. 1977. 9с.+

Исследование ликвора проводилось методом тезиографии. К 2 мл ликвора добавляют при постоянном встряхивании 10 мл 1% спиртового раствора $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Полученный раствор пропускают через беззольный фильтр. Фильтрат переливают в чашку Петри и ставят в вакуумный сушильный шкаф для кристаллизации при температуре 36 градусов на 12 часов.

1987-Пермь-ПГМА

Савина Л.В. Вакуумная ксерогелеграфия-как способ наблюдения за сывороточной системой крови. Лабораторное дело. 1987. №8. с 578-579.

Капли сывотки наносятся на дно чашки Петри, накрываются второй чашкой Петри и на 1,5 часа помещаются в вакуумную камеру, давление в которой устанавливается 0,5 мм рт.ст. начальная температура 25 °С.

Савина Л.В. Светлов Ю.Г. Тимофеева Л.А. Перескоков В.Н.

Способ получения микропрепарата сывотки крови. Патент 1742723. 1992.+

Сущность изобретения: 1-6 капель сывотки крови исследуемого лица отдельно объемом 0,01-0,03 мл каждая наносят на предметное стекло, помещенное в чашки Петри. Затем капли высушивают под вакуумом при создании давления в диапазоне от 100 до 5 мм ртутного столба, температура 18-22 градусов, в течение 30-40 мин. Положительный эффект: возможность наблюдения одновременно за солевой и белковой компонентами.

Савина Л.В.

Структурообразование сывотки крови в условиях вакуума. Клиническая лабораторная диагностика. 1999. №11 с 48.+

Савина Л.В. Самсыгин В.Ю. Яковенко М.С.

Диагностическая значимость исследования морфологических структур, образующихся при вакуумной сушке сывотки крови, при заболеваниях с иммунной патологией. Клиническая лабораторная диагностика. 1999. с.18-23

Изучалась вакуумная сушка капель сывотки крови. Капли высушивались в вакуумной камере при давлении 0,1 мм ртутного столба и при температуре 22 °С. Время высушивания-1 час.

Савина Л.В. Павлицук С.А. Шуляк Л.И. Кузнецова Е.А.

Способ экспресс-диагностики гипер-бета 2-микрोगлобулемии. Патент 2259565. 2005.+

Для осуществления способа капли сыворотки крови наносят на дно чашки Петри в количестве от 8 до 10, накрывают второй чашкой Петри, помещают в вакуумную камеру при создании в ней давления 0,1-0,5мм рт.ст. $T=+18-20^{\circ}\text{C}$, высушивают на протяжении 1-1,5 часа, микроскопируют в проходящем свете. При наличии в препарате спиральных агрегатов цепочечно-ориентированных или разреженных диагностируют гипер-бета 2-микроглобулинемию.

2009-В компания BevShots реализуется проект "Как выглядят различные напитки под поляризационным микроскопом". Капля напитка наносилась на предметное стекло и высушивалась в вакуумном пространстве. По сути, готовое изображение-это кристаллизованные углеводы, распавшиеся на сахар и глюкозу.

2011-Белоруссия-Минск-ИТМО

Саверченко В.И. Фисенко С.П. Ходыко Ю.А.

Испарение пиколитровых бинарных капель на подложке при пониженном давлении. Астрахань. 2012. с.113-116.

В работе изучается процесс испарения пиколитровых капель водного раствора этанола при различных концентрациях этанола. Испарение производится в вакууме с латунной подложки при температуре 28°C . Диаметр капель на подложке от 20 до 1000мкм.

Сублимационная сушка.

Сублимационная сушка осуществляется в специальных сублимационных камерах. Препарат вначале замораживается, а затем осуществляется сублимационная возгонка воды в вакуум. Вода из твердого состояния сразу переходит в парообразное состояние. При сублимационной сушке сохраняются химические и биологические свойства препаратов, но структурные свойства сыворотки пропадают.

Кристаллизация в тонком слое.

При кристаллизации в тонком слое на поверхность предметного стекла наносится тонкий слой исследуемого вещества. Для этого на поверхность стекла наносится маленькая капля вещества, и размазывается по поверхности стекла. При этом методе вода испаряется, и на поверхности стекла формируется рельеф, создаваемый макрокомпонентами, содержащимися в сыворотке крови.

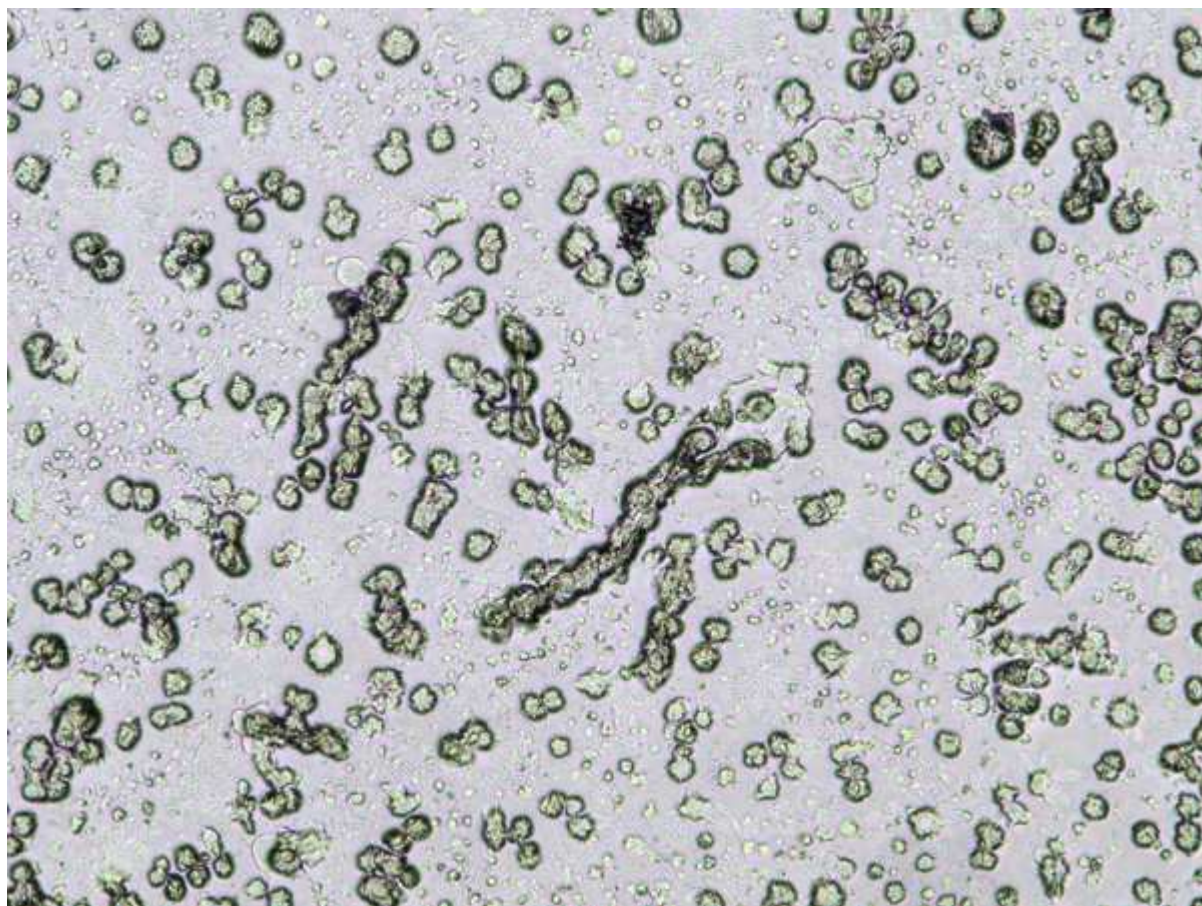


Рис. 5-8-7. Тонкий слой, проходящий свет, поле зрения 1мм.



Рис. 5-8-8. Тонкий слой, боковое освещение, поле зрения 1мм.

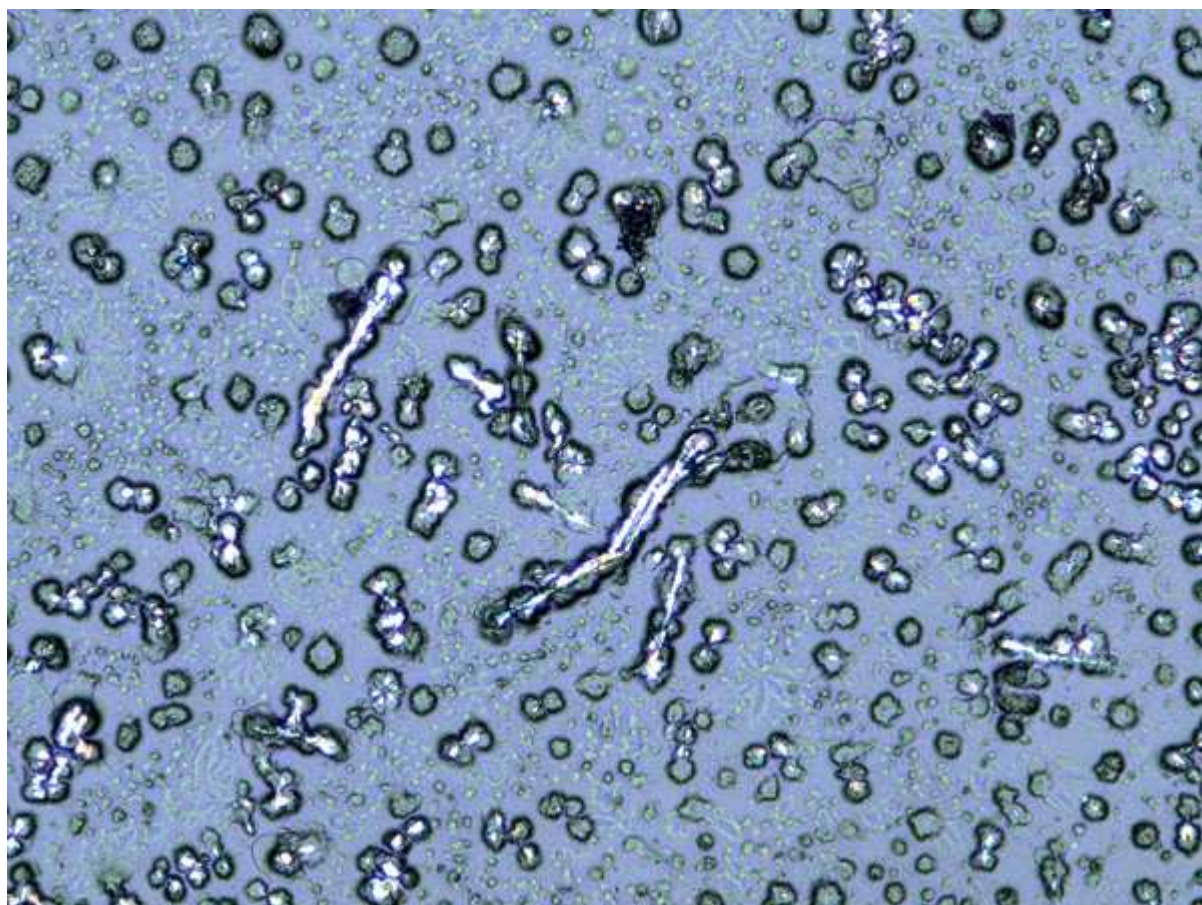


Рис. 5-8-9. Тонкий слой, поляризованный свет, поле зрения 1мм.

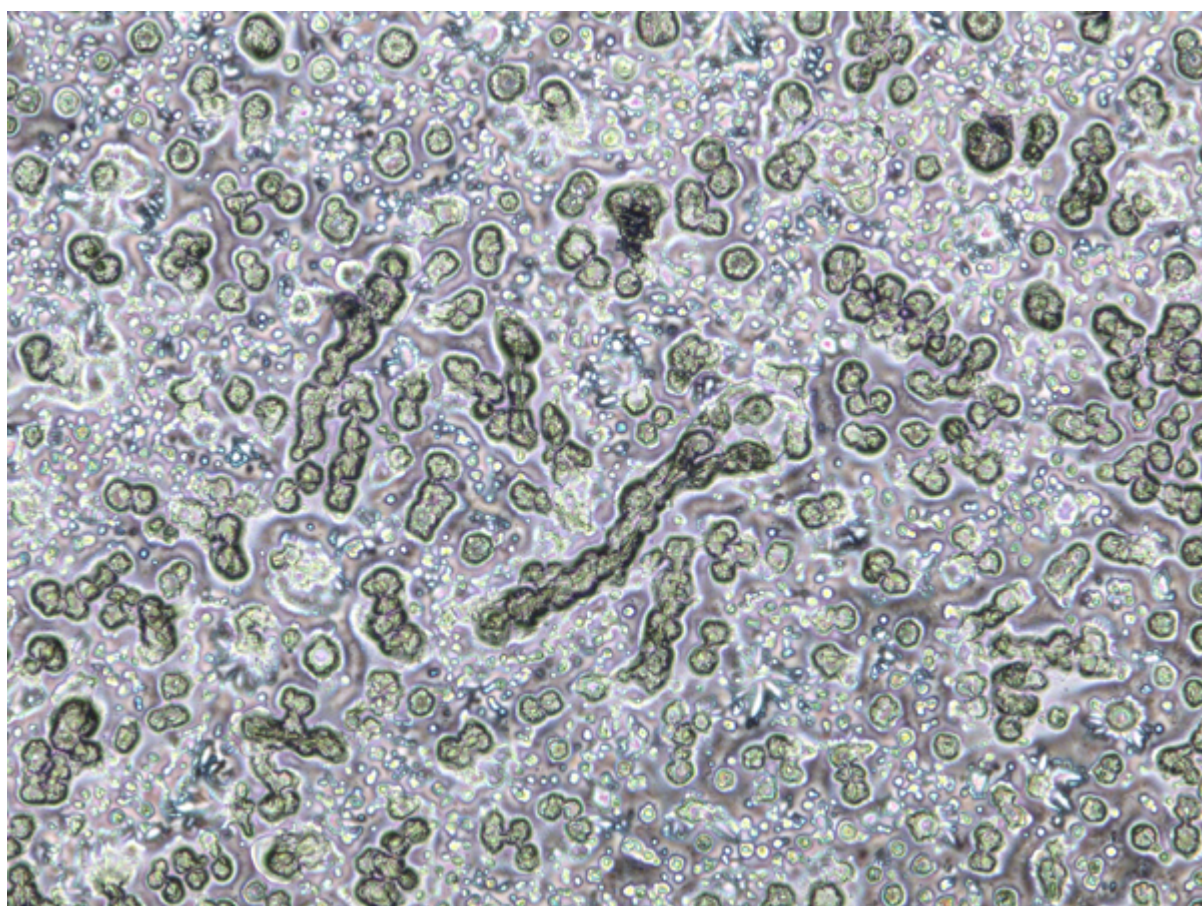


Рис. 5-8-10. Тонкий слой, фазовый контраст, поле зрения 1мм.

Можно выделить несколько типов макрообъектов, содержащихся в сыворотке крови.

1-мелкие глобулярные структуры, наблюдаемые как мелкие серые шарики.

2-крупные глобулярные структуры, для которых можно различить их форму и структуру поверхности.

3-крупные глобулярные структуры, которые светятся в поляризованном свете.

4-продолговатые, вытянутые структуры, которые светятся в поляризованном свете. Можно предположить, что эти структуры имеют волокнистое строение.

Глава 6. Диагностика заболеваний по структуре высохшей капли сыворотки крови.

6.1 Преимущества диагностики методом кристаллизации капли сыворотки крови.

1. **Комплексность.** Преимуществом кристаллографических методов является целостность, комплексность и интегральность оценки состояния сыворотки крови. Прежде всего, оценивается общее состояние крови (организма). При этом можно оценить степень отклонения состояния от нормы.
 2. **Функциональность.** Метод позволяет оценивать функциональное состояние компонент, а не количественное, как в биохимических методах. Например, количество альбумина может быть в норме, но молекулы альбумина могут иметь нарушенную третичную или четвертичную конфигурацию. В этом случае биохимический анализатор покажет норму, однако альбумин не может выполнять свои функции.
 3. **Структурность.** Метод позволяет оценивать структуру сыворотки крови, а не только ее состав. Дело в том, что структурные изменения в сыворотке проявляются на более ранней стадии заболеваний, чем количественные изменения. Это позволяет выявлять заболевания на более ранней стадии.
 4. **Универсальность.** Метод позволяет проводить диагностику большого числа заболеваний и нарушений, происходящих в организме человека.
 5. **Устойчивость организма.** Метод позволяет оценивать не только текущее состояние организма, но и устойчивость этого состояния.
 6. **Оперативность.** Результаты диагностики можно получить в течение одного часа.
 7. **Дешевизна.** Для диагностики не требуется расходных материалов.
 8. **Доступность.** Диагностику может проводить специалист со средней квалификацией. Для диагностики не требуется наличие дорогостоящего оборудования.
 9. **Экономичность.** Для диагностики различных нарушений достаточно одной капли.
 10. **Безболезненность.** Для пациента можно сделать процедуру диагностики более безболезненной, и брать кровь на диагностику не из вены, а из пальца. Для диагностики достаточно 20 мкл сыворотки крови. В капле крови, взятой из пальца, содержится 50 мкл сыворотки.
 11. **Устойчивость метода.** Структура высохшей капли является довольно устойчивой при изменении условий кристаллизации (объем капли, температура, влажность, способ забора крови).
 12. **Скрининговые обследования.** Большинство обследуемых пациентов являются здоровыми, и имеют стандартное строение высушенной капли сыворотки крови. Однако у некоторых пациентов имеются отклонения в структуре капли от нормы. В связи с тем, что метод кристаллизации является оперативным и дешевым, то данный метод можно применять для скринингового обследования всех пациентов, обратившихся в клинику. Среди всех пациентов выделять группу риска, у которых структура капли отличается от нормы. Пациентов из группы риска необходимо направлять на более детальное обследование.
 13. **Мониторинг состояния.** Кристаллографический метод позволяет проводить мониторинг состояния пациентов как при скрининговых обследованиях так и в процессе лечения.
 14. **Повторяемость.** Стекло с высохшей каплей может храниться очень долго. При необходимости можно в любой момент времени провести повторный анализ структуры капли, провести дополнительное исследование структуры капли, сравнить структуры капли с ранее полученными каплями от данного пациента. Возможность многократного исследования высохшей капли.
 15. **Перспективность метода.** Метод позволяет выявлять трудно диагностируемые заболевания (например, кандидоз).
-

6.2 Разработка методов диагностики.

Теперь переходим к самому важному разделу-диагностика. Ради этого было необходимо привести все предварительные исследования. Изучение процессов, происходящих при дегидратации капли имеет следующую основную цель-понять, как связан состав капли сыворотки крови со структурой капли, полученной в результате дегидратации.

В данном случае имеется две задачи: прямая и обратная.

1-Прямая задача-зная состав (свойства) капли определить вид высушенной капли. Эта задача решается экспериментально. Проводятся эксперименты по высушиванию капель различного модельного состава, например, раствор чистого альбумина, альбумин и соль, соль, холестерин, мочева кислота и т.д.

2-Обратная задача-по структуре высушенной капли определить ее состав (свойства). Эта задача решается путем сравнения с модельными растворами.

Результат дегидратации, структура высушенной капли, определяется двумя параметрами-составом (свойствами) сыворотки условиями дегидратации.

Как уже описывалось ранее, меняя условия дегидратации, можно более четко выделять отдельные свойства сыворотки, усиливать проявление и выявляемость нужных диагностических признаков. Для диагностики необходимо выбирать наиболее инвариантные свойства высушенной капли. Это такие свойства, которые в минимальной степени зависят от условий дегидратации, и в максимальной степени зависят от состава сыворотки крови.

6.3 Что такое заболевание?

В медицинской энциклопедии (1928 г.) приводится следующее определение: «Болезнь, понятие, трудно поддающееся определению. Трудность заключается, главным образом в том, что невозможно делить людей на абсолютно здоровых и абсолютно больных. Поэтому обычно даваемое определение как отклонение от нормы, будучи понятным абсолютно, по существу не выдерживает критики. Абсолютной нормы не существует. То, что является нормой в одних условиях, является ненормальным при других условиях. Не все отклонения являются болезнью.»

Иногда дают другое определение: болезнь-это состояние организма, которое наступает при нарушении соответствия между ним и окружающей его внешней средой. Однако и это определение является относительным.

Из медицинской энциклопедии (1991г.): «Болезнь, это состояние организма, характеризующееся повреждением органов и тканей в результате патогенных факторов, развертыванием защитных реакций, направленных на ликвидацию повреждений; обычно сопровождается ограничением приспособляемости организма к условиям окружающей среды и снижением или потерей трудоспособности. Заболевание-это факт возникновения болезни у отдельного человека.»

Можно выделить следующую цепь взаимосвязанных понятий:

- 1-Симптомы,
- 2-Состояние организма (заболевание),
- 3-Состав, свойства, состояние сыворотки крови,
- 4-Биохимические анализы сыворотки крови,
- 5-Структура высушенной капли сыворотки крови.

Врач прежде всего видит симптомы заболевания, которые в некоторой степени характеризуют заболевание. В результате заболевания изменяется состояние и состав сыворотки крови. Эти изменения иногда можно зарегистрировать с помощью биохимических анализов. Структура высушенной капли так же отражает состояние и состав сыворотки крови и связана со значениями биохимических анализов.

Можно дать следующее определение:

заболевание-это длительное пребывание организма в состоянии, отличающееся от нормального состояния более чем не некоторое пороговое значение.

-В качестве длительность отклонения можно ориентировочно принять два дня.

-Нормальным состоянием называется среднее значение всех возможных регистрируемых параметров организма (биофизические, биохимические, различные анализы), усредненные за определенный период времени. Проводится мониторинг параметров и определяется допустимый интервал колебаний для каждого параметра.

У человека может быть не одно заболевание, а несколько. Одно и то же заболевание может давать различные осложнения. Таким образом, встает очень важный вопрос-а что же мы диагностируем. Можно, конечно, за основу классификации заболеваний взять МКБ-10. Но это не является лучшим решением.

Возникает важный вопрос-что считать заболеванием. Не каждое отклонение в состоянии организма является заболеванием. Можно ввести понятие степень изменения состояния организма (степень отклонения от нормы). Состояние организма-это состояние сложной системы, которое в некотором приближении можно описать некоторой точкой в некотором многомерном пространстве состояний. Организм-динамическая система, и соответствующая точка не находится в покое, а совершает постоянное движение и описывает некоторую траекторию в пространстве состояний. Имеются суточные колебания состояния, сезонные колебания состояния. Если человек поел или понервничал, то его состояние изменится. Но через некоторое время состояние вернется в норму. В пространстве состояний можно выделить некоторую область-область нормы. Если траектория состояния находится в области нормы-то человек здоров. Если траектория состояния выходит за пределы области нормы-человек заболел. Колебания состояний происходят относительно некоторого среднего положения, которое называется нормой. Если состояние организма выходит за пределы данной области (если отклонение от нормального состояния превышает некоторое пороговое значение)-то считаем, что организм вышел из нормального состояния. Можно ввести второе значение порога, более высокое, и считать, что если отклонение превышает это значение, то состояние организма-заболевание (патология). Необходимо отметить, что с возрастом среднее состояние организма (норма) изменяется.

Состояние организма условно можно разделить на физическое состояние (состояние тела) и психическое состояние (состояние души) (спокойное состояние, состояние стресса, состояние паники, состояние страха). В дальнейшем предполагается, что психическое состояние находится в норме и речь идет только о физическом состоянии. На самом деле физическое и психическое состояния очень тесно связаны. Причиной многих физических проблем могут быть душевные проблемы, и многие проблемы физического состояния можно решать путем управления психическим состоянием.

Некоторые считают, что состояние души может влиять на процессы кристаллизации. Например, кристаллизация воды в виде снежинки зависит от того, как к ней относились.

Состояние организма зависит от вида деятельности: сон, спокойное бодрствующее состояние, физическая нагрузка, занятие спортом, состояние голода.

Состояние организма зависит от окружающей среды: в комнате, на морозе при охлаждении организма, в жаре при перегреве организма, в бане. Понятие нормальное состояние подразумевает, что организм находится в бодрствующем спокойном состоянии при нормальной комнатной температуре и влажности. Тонкость состоит в том, что состояние организма не определяется только значениями физиологических параметров. Например, если у человека высокая температура (не нормальное состояние), то можно принять лекарство и сбить температуру. Температура стала нормальной, но это не означает, что стало нормальным состояние организма.

Если имеются отклонения некоторых биохимических параметров (например, повышено содержание глюкозы), и в результате медикаментозного лечения привели содержание глюкозы в норму-это не всегда означает, что мы вылечили больного, привели его состояние в норму.

Нормальное состояние организма изменяется с возрастом. Вопрос-старость, это болезнь или нормальное состояние организма. Интересный момент исследований-как возраст пациентов отражается на состоянии высохшей капли. Конечно, когда пациент пожилой, и все системы

организма работают не нормально, структура капли неправильная. Но можно ли выделить какие то признаки, которые коррелированы с возрастом? Имеется предположение, что истинный биологический возраст организма коррелирует с наличием пластинчатых структур в сыворотке крови, образованных холестерином.

Сила воздействия на организм-реакция организма.

Организм постоянно подвергается внешним воздействиям. При разной степени воздействия на организм происходит различная реакция. При очень слабом воздействии состояние организма не изменяется, нет реакции. Реакция организма не зависит линейно от силы воздействия. Иногда наблюдается сильная реакция организма на сверхслабые воздействия. Если сила воздействия превышает некоторое пороговое значение, включаются различные механизмы ответной реакции.

С понятием заболевания связаны следующие понятия:

- 1-причины заболевания,
- 2-проявление заболевания (симптомы),
- 3-диагноз, описание заболевания (что нарушено, неправильно функционирует),
- 4-локализация заболевания, какой орган функционирует не нормально, какая подсистема организма дала сбой, какой обменный процесс нарушен.
- 5-степень заболевания,
- 6-осложнения, вызванные заболеванием,
- 7-лечение заболевания,
- 8-мониторинг состояния, динамика хода лечения

1-Причина. Причина заболевания может быть одна, а может быть несколько. Как правило, заболевание наступает при стечении ряда причин, например-наличие инфекции и ослабленная иммунная система. Необходимо восстановить всю причинно-следственную цепочку: при каких обстоятельствах возникло заболевание, что послужило причиной, какие изменения в организме произошли, какие процессы запустились, в какой стадии находятся процессы.

2-Симптомы. Симптомы-это субъективные ощущения пациента. Заболевание может протекать скрытно, без явно выраженных симптомов. Например, камни в печени могут не вызывать никаких симптомов, ни их иногда можно выявить ультразвуковыми методами диагностики, и диагностикой по сухой капле. Одно и то же заболевание может проявляться через разные симптомы. Разные заболевания могут приводить к одинаковым симптомам.

3-Диагноз. Полный диагноз-это полное описание состояния всех подсистем организма. Для каждой подсистемы необходимо указать степень отклонения от нормы. Мы все больны, но в разной степени. Нет здоровых пациентов, есть недообследованные пациенты:). Заболеваний может быть несколько, и они могут находиться в разных стадиях. Прежде чем начинать лечение, необходимо получить как можно более точный диагноз. К сожалению, существующие методы диагностики не могут обеспечить 100% достоверность диагноза. Иногда истинную причину смерти удастся выяснить только не секционным столе.

4-Локализация. При заболевании прежде всего выясняется, что заболело, какая подсистема организма функционирует неправильно.

5-Степень. Заболевание-это с одной стороны состояние, а с другой стороны это процесс. Заболевание может находиться в различных состояниях-болезненное состояние, пограничное состояние, болезнь, тяжелая форма заболевания, хроническая форма заболевания.

Стадии заболевания:

- начальная стадия, бессимптомный доклинический период,
- период клинко-анатомических проявлений,
- острая стадия,
- завершающая стадия-выздоровление или хроническое заболевание.

Чтобы сказать, что не работает, необходимо по крайней мере знать, что может не работать. Огласите весь список, пожалуйста!:))

Если диагностика производится на основе анализа функционирования отдельных функциональных подсистем организма, то необходимо иметь хотя бы грубую функциональную схему организма. Например, можно выделить следующие группы заболеваний:

- расстройства психики,
- травмы,
- отравления,
- заболевания сердечно-сосудистой системы,
- заболевания костей и суставов,
- нарушение обменных процессов (белки, углеводы, липиды).

Врач может судить о состоянии организма по двум параметрам-симптомы и данные различных анализов. Но одни и те же симптомы могут быть вызваны различными заболеваниями. Большую роль имеет человеческий фактор, процесс интерпретации данных. Опытный врач по одним и тем же симптомам и анализам поставит более правильный диагноз. Заболевание не описывается только симптомами. Если мы устранили симптомы, это не означает, что вылечено заболевание.

В диагностике состояния организма можно выделить следующие направления:

1-определение текущего состояния организма-это обычные методы диагностики.

Необходима разработка диагностических признаков и критериев.

2-определение динамики состояния организма-в каком направлении происходит изменение состояния. Определение динамики состояния организма определяется путем мониторинга-регулярное определение параметров состояния через определенный интервал времени. Определение динамики изменения состояния является необходимым для предсказания и предупреждение заболеваний. Это так называемая предиктивная (предсказательная) медицина. Как гласит китайская мудрость болезнь необходимо лечить за 3 года до ее возникновения, а не за 3 дня до конца. Нет возможности лечить сразу ото всех заболеваний. Необходимо определять слабые звенья в организме. Необходима разработка прогностических признаков, критериев. Отбор группы риска при массовом обследовании пациентов.

3-определение устойчивости состояния организма. Рассмотрим этот вопрос более подробно.

6.4 Определение устойчивости состояния организма.

Можно рассмотреть два способа определения устойчивости организма.

1-Сила воздействия-величина отклонения. Это зависимость степени отклонения состояния от нормы в зависимости от силы воздействия. Устойчивость состояния организма можно так же характеризовать той степенью воздействия некоторого фактора, которое вызывает отклонение от состояния на заданную величину. Разумеется, устойчивость-это не характеризуется одним числом, а является набором характеристик, определяющих устойчивость отдельных подсистем организма. Знание устойчивости организма необходимо для принятия решения о необходимой силе воздействия на организм-о методе лечения. Необходимо ли лечить организм или он сам в течение определенного времени вернется в нормальное состояние. Необходимо ли применять сильное медикаментозное лечение, или достаточно просто выспаться.

2-Сила воздействия-время нормализации. Можно охарактеризовать устойчивость состояния как время, в течение которого организм вернется в нормальное состояние при некотором фиксированном воздействии (отклонении). Некоторые параметры физиологической устойчивости организма можно измерять. Например, существует динамический тест на глюкозную нагрузку. Человеку дают усиленную дозу глюкозы, и регистрируют динамику изменения содержания глюкозы в крови. На основе анализа кривой содержания глюкозы можно сделать вывод о том, как быстро глюкоза усваивается и как быстро выводится.

Для оценки устойчивости организма принципиально уметь количественно оценить степень отклонения состояния организма от нормы. Это можно легко определить на основе анализа параметров структур высохшей капли сыворотки крови.

Устойчивость состояния организма можно проверять двумя путями:

1-Прямой путь. Воздействие осуществляется на весь организм. Регистрируется реакция организма. Изменение состояния организма можно определять путем анализа структуры высохшей капли сыворотки крови.

Примеры различных воздействий на организм:

-изменение температуры (повышение и понижение). Данное воздействие можно варьировать по степени воздействия изменяя температуру и длительность воздействия.

-физические нагрузки. Метод воздействия физическими нагрузками особенно актуален для оценки состояния спортсменов, для оценки выносливости.

2-Косвенный путь. Воздействие осуществляется на сыворотку крови. Проводится дегидратация исходной капли и параллельно дегидратация нескольких капель той же сыворотки крови, подвергнутой внешнему воздействию разной степени. Данный метод является более удобным, так как на сыворотку можно воздействовать более широким набором факторов, которые не применимы к человеку. Например, замораживание. Каплю можно заморозить, а человека-нежелательно.

Шабалин В.Н. Шатохина С.Н. Шабалин В.В.

Способ оценки состояния гомеостаза. Патент 2147124. 2000.+

Проводят сравнительное исследование зональных структур высушенных капель биологической жидкости до и после ее экспозиции при 4-8°C в течение 18-24 ч, и по параметрам зональных структур суточной капли определяют состояние гомеостаза как нормальное или патологическое, а по степени идентичности параметров зональных структур исходной капли со структурами суточной оценивают состояние гомеостаза как устойчивое или неустойчивое

6.5 Что такое норма.

Можно определить степень заболевания как степень отклонения от нормы. Пусть производится мониторинг состояния пациента по некоторому набору параметров. Тогда под нормой можно понимать среднее значение параметров за период, когда пациент не болел. Необходимо учитывать, что каждый из измеряемых параметров не является константой, а имеет периодический характер изменений. Существует различные циклы изменения параметров. Основными циклами изменения параметров являются суточный (изменение параметров в течении суток) и сезонный (в зависимости от времени года). Соответственно норма является не числом, а функцией, зависящей от времени суток и от времени года. Для женщин существует месячная цикличность (кристаллизация слюны). Необходимо так же отметить, что норма является индивидуальным понятием. Значение нормальных значений параметров свое для каждого пациента. Хотя, различия между нормой для разных пациентов обычно являются небольшими.

Важно количество параметров, контролирующих состояние организма. Чем больше число контролируемых параметров-тем более точно определяется состояние организма. С помощью метода дегидратации капли сыворотки крови можно контролировать около десяти параметров (диаметр капли, правильность растрескивания, ширину белкового валика, наличие морщин, наличие языков, ...). Эти параметры отражают состав и состояние крови, которые в свою очередь отражают состояние организма. Для диагностики состояния организма необходимо определить понятие норма в пространстве этих параметров. При мониторинге состояния пациента производится измерение степени отклонения измеряемых параметров от нормы.

6.6 Изучение динамики состояния пациента.

Значение биохимических показателей являются индивидуальными. Предположим, что в течение нескольких лет какой то биохимический параметр принимал одно значение (с учетом колебаний и точности измерений), а потом при очередном обследовании этот параметр стал принимать другое значение. Это означает, что в организме произошли какие-то изменения. Если раньше он был здоров, то скорее всего заболел, даже если оба значения старое и новое находятся в диапазоне нормальных значений.

При постоянном мониторинге, при контроле за состоянием здоровья в особых случаях изменение параметров свидетельствует об изменении состояния организма. Мониторинг можно проводить путем анализа структуры капли. Если при очередном обследовании произошло изменение структуры капли, значит, произошли изменения в организме.

Изменение структуры капли позволяет судить о ходе лечения пациента, насколько его состояние приближается к норме. Можно судить об эффективности препаратов. Если назначили какой-то препарат, а изменений не происходит, то возможно препарат не эффективен для данного пациента.

Синчихин С.П. Коколина В. Ф. Аюпова А. К.

Способ прогнозирования родовой деятельности. Патент 2268465. 2006.+

Для прогнозирования родовой деятельности заявленным способом за 3-5 дней до родов сыворотку крови беременной наносят в форме капли на поверхность предметного стекла в количестве 0,02 мл, высушивают при температуре 18-25°C в течение 18-24 часов, после чего производят микроскопию полученных образцов. При наличии умеренного уровня структуропостроения и радиально-симметричного рисунка фации прогнозируют развитие хорошей родовой деятельности в предстоящих родах. При наличии крайне низкого уровня структуропостроения и отсутствии радиально-симметричного рисунка фации прогнозируют нарушение родовой деятельности, требующее оперативного завершения родов. Способ позволяет в дородовой период выявить беременных женщин с высоким риском нарушений родовой деятельности, которые не будут поддаваться фармакологической коррекции, и выбрать наиболее рациональный метод родоразрешения.

Аюпова А.К. Рыжкова О.А. Гоголева А.Г. Урляпова Н.Г. Карпасюк В.К. Стрельцова Е.Н.

Способ контроля эффективности лечения хронических микобактериозов. Патент 2354971. 2009.

Способ контроля эффективности лечения хронических микобактериозов осуществляется путем микроскопического исследования морфологической картины высушенных образцов сыворотки крови до начала и в процессе лечения. Для этого проводят сравнительный анализ контрольного образца нативной сыворотки крови и опытного образца сыворотки крови, подвергнувшегося воздействию электромагнитного поля на наличие патологических элементов: бляшек и/или складок белковой зоны и/или языковых и/или листовидных структур, при этом увеличение в опытном образце по сравнению с контролем количества патологических элементов свидетельствует об неэффективности лечения, а уменьшение-об эффективности лечения хронических микобактериозов.

Тарасова Л.Г. Стрельцова Е.Н.

Способ прогнозирования репаративного процесса в легочной ткани при туберкулезе легких у детей. Патент 2398236. 2010.+

сыворотку крови наносят на поверхность предметного стекла в объеме 0,1-0,2 мл в форме капли, высушивают при комнатной температуре, микроскопируют и определяют тип листовидных структур по формуле $K=Ш/Д$ где К-коэффициент выраженности листовидной структуры, Д-продольный размер (длина) «листа», Ш-поперечный размер (ширина) «листа». При наличии листовидных структур 3 или 2 типа до начала специфической терапии или через 2 месяца от ее начала и концентрации АТК более 0,3 ед. оптической плотности либо при наличии листовидных структур 3 типа и концентрации АТК в пределах 0,2-0,3 ед. оптической плотности прогнозируют формирование у больного выраженных остаточных изменений в легочной ткани.

При наличии 1 или 2 типа листовидных структур через 2 месяца лечения и при концентрации АТК менее 0,2 ед. оптической плотности либо при отсутствии «листов» при концентрации АТК более 0,3 ед. оптической плотности прогнозируют умеренные и обратимые склеротические изменения в легочной ткани.

Стрельцова Е.Н. Степанова Н.А. Голубкина С.А.

Способ прогнозирования развития лекарственно-устойчивого туберкулеза легких. Патент 2434582. 2011.+

В первые 3-5 дней после поступления в стационар в качестве факторов риска при балльной оценке определяют: бактериовыделение, клиническая форма туберкулеза; распространенность туберкулезного процесса в легких; категория; контакт с больным туберкулезом, злоупотребление; социальный статус пациента, пол; возраст; табакокурение; давность флюорографического обследования; тип структуропостроения фаций сыворотки крови, совокупность патологических маркеров некробиоза в фации сыворотки крови. Подсчитывает сумму баллов и при сумме 1-7 баллов вероятность развития ЛУ ТБ оценивается как низкая, 8-12-умеренная, 13-19-высокая.

Шатохина С.Н. Завьялов В.М. Шабалин В.Н.

Способ оценки эффективности лечения больных с атеросклеротической ишемией нижних конечностей. Патент 2244929. 2005.

Изобретение относится к медицине, в частности к лабораторному методу исследования, а именно к способу оценки эффективности лечения больных с атеросклеротической ишемией нижних конечностей, включающему микроскопическое исследование образцов сыворотки крови из бедренной и локтевой вен, при котором образец из бедренной вены берут со стороны поражения, исследование проводят до и после лечения, при этом образцы сыворотки крови наносят на обезжиренное предметное стекло в количестве 0,01-0,02 мл в форме капель, высушивают при температуре 18-30°C в течение 18-24 часов, и если набор патологических признаков в образце из бедренной вены после лечения возрос или не изменился по сравнению с образцом до лечения, а морфологическая картина сравниваемых образцов из локтевой вены не изменилась или изменилась в сторону ухудшения, то лечение эффективно. Если набор патологических признаков в образце из бедренной вены после лечения уменьшился по сравнению с образцом до лечения, при этом морфологическая картина сравниваемых образцов из локтевой вены изменилась в сторону ухудшения, то лечение эффективно.

Шатохина С.Н. Панасенко В.И. Селиваненко В.Т.

Способ оценки эффективности восстановления сердечного ритма с помощью искусственного водителя ритма. Патент 2304777. 2007.+

Сущность способа заключается в том, что исследуют кровь больного, отобранную до и после операции, а также в течение 3-5 суток после операции через промежутки времени отбирают дополнительные пробы крови. Сыворотку из всех проб, по мере отбора, наносят в количестве 0,01-0,02 мл на предметное стекло в форме капли, высушивают при температуре 17-25°C в течение 18-20 часов, проводят микроскопию и определяют количество радиальных трещин в морфологической картине высушенных капель, находят отношение количества радиальных трещин в высушенных каплях из проб, отобранных после операции, к количеству трещин в капле из пробы, отобранной до операции, и при значении этого отношения от 1,2 до 2 в течение 3-5 суток после операции делают вывод об эффективном восстановлении сердечного ритма.

Шатохина С.Н. Шабалин В.Н. Мишуровская Т.С. Жемчугин Д.Е.

Способ оценки состояния больного после переливания эритроцитарной массы при критических состояниях. Патент 2464031. 2012.+

После переливания больному эритроцитарной массы производят забор крови и готовят пробу сыворотки крови больного для исследования методом клиновидной дегидратации. При

выявлении в краевой зоне фации структуры типа «языка» оценивают дальнейшую динамику состояния больного как благоприятную, а при их отсутствии-как неблагоприятную, вплоть до летального исхода.

Шатохина С.Н. Захарова Н.М. Мишуровская Т.С. Цодиков Г.В. Шабалин В.Н.
Способ оценки эффективности лечения язвенного колита. Патент 2447440. 2012.

Одновременно проводят микроскопическое исследование двух проб сыворотки крови, которые в виде капель наносят на поверхность предметного стекла, одну из них высушивают для получения фации, а другую накрывают покровным стеклом и дегидратируют при температуре 24-25°C, и при повторном исследовании через 7 дней от начала лечения при появлении в фации частично упорядоченных радиальных трещин, а в составе текстур второй пробы параллельных линий оценивают лечение как эффективное.

6.7 Установление взаимосвязи: от биохимии-к структуре капли.

Проводится изготовление препаратов по фиксированной методике, и к каждому препарату прикладываются данные биохимических анализов. Затем полученное множество препаратов разбивается на группы. В первую группу отбираются препараты, у которых все показатели в норме. Это условно здоровые пациенты. Оставшиеся препараты разделяются на группы в соответствии с тем, какой биохимический параметр не соответствует норме. По каждому параметру группа препаратов разбивается на две подгруппы-в одной группе препаратов параметр меньше нормы, в другой группе параметр превышает норму.

Можно выделить следующие биохимические параметры, по которым идет группировка препаратов:

- 1-Общий холестерин,
- 2-липопротеиды низкой плотности,
- 3-липопротеиды высокой плотности,
- 4-триглицериды,
- 5-белок общий,
- 6-глюкоза,
- 7-мочевая кислота,
- 8-мочевина,
- 9-билирубин общий,
- 10-креатинин,

Когда в каждой группе наберется достаточное количество препаратов (более 100), происходит поиск закономерностей. Необходимо выделить такие признаки и структурные элементы в высушенных каплях, которые с одной стороны присутствуют для одних веществ, а с другой стороны отсутствуют для других веществ.

Для решения данной задачи используется следующий метод. Выделяется 20 структурных элементов, описывающих структуру высушенной капли.

В качестве примера можно рассмотреть следующие признаки:

- 1-для открытой капли: степень выраженности ромашки, количество радиальных трещин, количество не радиальных трещин, наличие трещин в виде лесенок, количество секторов, количество ячеек, наличие морщин, наличие ковров Серпинского, наличие кристаллов соли в центральной части,...
- 2-для закрытой капли: количество кристаллов виде игл, количество крупных сферолитов, количество мелких сферолитов, количество нитевидных структур, площадь фазы 1, площадь фазы 2, наличие прямоугольных кристаллов,...

Строится таблица, в которой число строк соответствует количеству веществ, и число столбцов соответствует количеству признаков. Для каждого вещества подбирается ориентировочно 100 препаратов, у которых содержание данного вещества выше нормы, а содержание остальных веществ в норме. Для каждого препарата вычисляется степень наличия для каждого признака. Все значения признаков нормированы: 0-нет признака, 1-максимальное

значение признака. Вычисляются значения таблицы F_{ij} -среднее значение признака j для препаратов, в которых превышено значение вещества i .

Затем для каждого вещества i величины F_{ij} упорядочиваются по убыванию, и получаем значения информативности признаков для диагностики данного вещества. Выбираем несколько наиболее информативных признаков и используем их для диагностики количества данного вещества в сыворотке крови.

Часто по данным биохимических анализов за пределами нормы находится не один, а несколько параметров. Ориентировочно, из 1000 анализов: 600-норма, 200-1 параметр не норма, 100-2 параметра не норма, 60-3 параметра не норма, 40-более трех параметров не норма. Случаи, когда вне нормы имеется несколько параметров, рассматриваются отдельно.

Например, содержание белка в крови очень сильно связано со структурой капли. Чем больше альбумина-тем более правильная структура трещин в виде ромашки. Например, если альбумина меньше 43 г/моль-то ромашки нет. Если альбумина больше 43 г/моль-то ромашка есть.

6.8 Установление взаимосвязи: от диагноза-к структуре капли.

Задача поиска взаимосвязи решается путем группировки препаратов в соответствии с диагнозом заболевания. Затем среди препаратов, соответствующих одному заболеванию, выделяются структурные элементы капли, которые имеются в данной группе, и отсутствуют в других группах. Данный структурный элемент будет служить диагностическим признаком данного заболевания. Трудность данного подхода состоит в том, что количество различных заболеваний достаточно велико. В соответствии с МКБ-10 их несколько тысяч. Выход из положения состоит в том, что выбирается ограниченное число наиболее распространенных заболеваний, и работа осуществляется только по ним. Например, атеросклероз, диабет, ишемическая болезнь сердца,... (Однако необходимо иметь в виду, что иногда диагноз не соответствует истинному заболеванию.)

Метод решения задачи.

-Формируем список из наиболее важных диагностируемых заболеваний. Например: ИБС (ишемическая болезнь сердца), атеросклероз, интоксикация, воспаление, простудное заболевание, опухоль,

-Формируем список структурных элементов капли, признаков на основе которых будет производиться диагностика.

Строится таблица, в которой число строк соответствует количеству заболеваний, и число столбцов соответствует количеству признаков. Для каждого заболевания подбирается ориентировочно 100 препаратов, у которых диагностировано данное заболевание, и других заболеваний нет. Для каждого препарата вычисляется степень наличия для каждого признака. Все значения признаков нормированы: 0-нет признака, 1-максимальное значение признака. Вычисляются значения таблицы F_{ij} -среднее значение признака j для препаратов, в которых диагностировано заболевание i .

Затем для каждого вещества i величины F_{ij} упорядочиваются по убыванию, и получаем значения информативности признаков для диагностики данного заболевания. Выбираем несколько наиболее информативных признаков и используем их для диагностики данного заболевания.

6.9 Установление взаимосвязи: от структуры капли-к диагнозу.

Структура высушенной капли крови отражает состав сыворотки крови, который в свою очередь отражает состояние организма (заболевание). Структура капли определяется составом и состоянием сыворотки крови. Любое заболевание и отклонение в состоянии организма мы выявляем только через изменения в сыворотке, связанные с этим заболеванием. В структуре высушенной капли сыворотки крови мы видим не заболевание, а проявление патологических

процессов в виде изменения физико-химических свойств сыворотки крови. Более точно-видим изменение состояния надмолекулярных структур сыворотки крови.

Взаимосвязь понятий: состав и состояние сыворотки крови. Можно предположить, что строение высушенной капли определяется не только составом сыворотки крови, но и ее состоянием. При этом под состояние сыворотки крови понимается не только ее состав, но и другие характеристики и свойства. Например, вода может находиться в различных состояниях, хотя химически это одна и та же вода, но имеющая различное пространственное расположение молекул. В понятие состояния сыворотки можно включать энергетическое состояние. Некоторые считают, что кроме химического состава структура высушенной капли определяется еще энергетическим состоянием сыворотки крови. Энергетическое состояние сыворотки отражает общее состояние организма. Энергетическое состояние никак не регистрируется биохимическими методами.

На самом деле решается сложная задача-не просто определить состав сыворотки, а поставить диагноз, оценить состояние организма и функционирование отдельных подсистем организма. Эти задачи похожи, но не совпадают. Много различных соотношений в составе сыворотки могут соответствовать нормальному состоянию организма. Одна и та же форма и структура капли может соответствовать различным заболеваниям. Одно и то же заболевание может проявляться в различных формах и структурах капли.

Это не означает, что вообще нет никакой взаимосвязи между типом заболевания и структурой капли. Это только означает, что язык структуры капли состоит не из тех терминов, которыми пользуется врач при постановке заболевания, а соответствует некоторым другим понятиям.

Например, при атеросклерозе возникают ковры Серпинского. Однако это не означает, что ковры Серпинского являются диагностическим признаком атеросклероза. Ковры Серпинского являются диагностическим признаком процессов воспаления, которые имеют место при атеросклерозе.

Вопрос в том, какие состояния организма отражаются в состоянии высушенной капли. Для диагностики по высушенной капле, как и для каждого метода диагностики, существуют свои плюсы и минусы. Например, методом высушенной капли можно диагностировать микозы, которые биохимическими методами диагностировать очень сложно.

Например, если произошла травма, то изменится структура капли. Но причиной изменения состава крови станет не сама травма, а ответная реакция организма на травму. С помощью анализа структуры капли можно судить о состоянии обменных процессов в организме:

- состояние белкового обмена,
- состояние липидного обмена,
- состояние углеводного обмена.

Например, можно судить о гиперхолестеринемии-повышенном содержании холестерина. Можно судить о гиперурекемии-повышенном содержании мочевой кислоты. С одной стороны, регистрируя гиперурекемию, можно разбираться с причинами (богатая пуринами пища или внутренние нарушения). С другой стороны можно прогнозировать развитие мочекаменной болезни, если это состояние сохраняется в течении длительного периода времени.

Для исследования препараты делаются от всех пациентов (больных и здоровых), которые сдают кровь из вены. Затем все полученные препараты раскладываются на группы в соответствии с наличием сходных структурных элементов. В одну группу объединяются препараты, на которых капли выглядят похожим образом, или имеют сходные особенности. Затем выясняется из истории болезни, чем болеет основная группа пациентов с одинаковым структурным элементом, и этот признак считается диагностическим для данного заболевания. Преимущества этого пути-выявляются все заболевания, о которых можно судить по структуре капли. Недостаток-отсутствие полного математического описания всех структурных элементов высушенной капли, по которым можно проводить диагностику.

Тем более, пока не существует деления структурных элементов на две группы, которые характеризуют свойства капли и условия дегидратации соответственно.

Дальнейшее развитие метода состоит в том, что на основе анализа большого количества препаратов формируется как можно более полный список признаков (структурных элементов, особенностей), которые встречаются в высушенных каплях сыворотки крови. Эти признаки можно рассматривать как буквы некоторого алфавита, или слова некоторого языка, на котором описывается капля.

Большинство признаков являются качественными, с нормированными значениями от 0 до 1. Например-признак «структура трещин имеет вид ромашки» может принимать два значения (0-нет ромашки, 1-есть ромашка), ибо промежуточное значение между 0 и 1 как степень похожести вида трещин на ромашку.

При анализе препаратов для каждого препарата вычисляются значения всех N найденных признаков. Каждый препарат в этом случае отображается точкой в N-мерном пространстве. В этом пространстве определяется метрика (мера сходства между препаратами). Затем стандартными методами кластерного анализа (методами таксономии) выделяются группы сходных препаратов.

Для каждой найденной группы препаратов выписываю диагнозы заболеваний для соответствующих пациентов. Выбирают наиболее часто встречающиеся диагнозы. Можно сделать вывод, что найденная комбинация значений признаков соответствует данному заболеванию.

Стандартной ошибкой является следующий метод.

Создается 100 препаратов здоровых людей, и 100 препаратов людей с каким то заболеванием AAA. Обнаруживается, что какой-то признак ССС отсутствует у здоровых людей и присутствует у больных людей. На основе этого делается вывод, что признак ССС является диагностическим для заболевания AAA. И если на препарате обнаруживается признак ССС, то ставится диагноз-заболевание AAA.

Ошибка состоит в том, что велика вероятность того, что существует другое заболевание BBB, которое так же вызывает появление признака ССС. Следовательно, на основании появления признака ССС можно говорить лишь о том, что может быть имеется заболевание AAA, а может быть имеется другое заболевание.

6.10 Диагностические маркеры.

На основе анализа морфологии высушенной капли можно производить диагностику различных заболеваний. Морфология капли описывается наличием или отсутствием различных структурных элементов высушенной капли-диагностических маркеров. Структурные элементы оставляют алфавит, или язык, на котором капля рассказывает о состоянии организма.

Таблица 3-1. Структурные элементы в высохшей капле сыворотки крови. Зоны: 1-краевая зона, 2-переходная зона, 3-центральная зона.

Маркеры заболеваний	Описание	Зона 1	Зона 2	Зона 3	Причины возникновения	Связь с заболеваниями
0-Общее строение фации		1	2	3		
Двойная фация		+				Эндогенная интоксикация
Ширина зон	1-Белковая (краевая) зона 2-Переходная зона 3-Солевая (центральная) зона	+	+	+	Ширина краевой зоны пропорциональна концентрации белка	

Усиленная пигментация						Процессы распада
1-Трещины						
Общая структура фации, структура трещин	1-Радиальная (преобладают радиальные трещины) 2-Иррадиальная (много косых трещин) 3-Циркулярная (преобладают циркулярные трещины)	+	+	+	Анизотропия возникает в результате различного соотношения скорости испарения и скорости гелеобразования	В норме- радиальные трещины. При наличии отклонений от нормы, увеличивается доля нерадиальных трещин.
Гребешковые структуры	Линейная трещина с отходящими с одной стороны мелкими трещинами	+			Растрескивание	
Трещины «серебра»	Ряд мелких радиальных трещин на краю ячеек	+			Растрескивание	Нарушение эластичности сосудов, гипертоническая болезнь
Жгутовые трещины				+		Хроническая гипоксия и ишемия
Трехлучевые трещины				+		Застойные явления в головном мозге
Штриховые трещины		+	+			Нарушение микроциркуляции мозга
Косые трещины		+				
Широкие трещины		+			Высокое содержание белков большой молекулярной массы	Склероз
Тупиковые трещины						
2-Структуры						
Листья	Растрескивание (осадок) вдоль радиальных трещин 0-отсутствие 1-слабые (видны в темном поле) 2-сильные (видны в светлом поле)	+				Склеротическое поражение кровеносных сосудов
Бляшки	Округлые образования	+			Наличие продуктов интоксикации	Эндогенная интоксикация
Складки-		+			Наличие	Прием

морщины					белково-аминокислотных агрегатов	белковой пищи
Языковые структуры (Ковры Серпинского, языки Арнольда)			+			Воспаление
Мицелии	Агрегаты, нити (в поляризованном свете)	+	+	+	Мицелии гриба Candida находятся в сыворотке крови	Кандидоз
Дендриты, кристаллы				+		Кристаллы NaCl
Пигментация вокруг ядра ячейки						Желчекаменная болезнь

Считается, что в норме структура трещин капли имеет радиальное строение. Чем сильнее отклонения от радиального строения-тем сильнее нарушения в организме. При этом обычно капля имеет симметричное строение. Однако, встречаются случаи, когда капля имеет асимметричное строение-половина капли имеет вид ромашки (что соответствует норме), а на второй половине капли полностью отсутствует радиальное строение (что говорит о патологии).

Компоненты сыворотки крови:

- Хлорид натрия (соль)-дендриты, пластины.
- Холестерин-сферолиты.
- Эфиры холестерина-капли, мальтийский крест в скрещенных поляроидах,
- Триглицериды-ветвистые дендриты.
- Фосфолипиды (лецитин)-аморфные скопления, капли с мальтийским крестом.
- Мочевая кислота, моноурат натрия-иглы.

Диагностические маркеры, определяемые разными авторами.

- 1-Морщины, бляшки-интоксикация (Шатохина),
- 2-Языки Арнольда и ковра Серпинского-воспалительные процессы (Шатохина),
- 3-Листья-склеротические повреждения кровеносных сосудов (Шатохина),
- 4-Двойная фация-хроническая интоксикация (Шатохина),

Структуры трещин:

- 1-Отсутствие радиальных трещин-патология (Шатохина),
- 2-Гребешковые структуры-при спазмах сосудов, гипертоническая болезнь, нарушение микроциркуляции (Шатохина), атеросклероз, хроническая ишемическая болезнь сердца (Савина),
- 3-Дуговые трещины-нарушение эластичности сосудов (трещины «серебра»-Шатохина)
- 4-Жгутовые трещины-гипоксические и ишемические процессы в тканях (Шатохина),
- 5-Трехлучевые трещины-застойные явления (Шатохина), эндогенная интоксикация (Обухова),
- 6-Трещины «рыбья чешуя»-нарушения липидного обмена (Обухова).

6.11 Примеры диагностики различных заболеваний.

1. Диагностика микозов, кандидоз (candida). При наблюдении в поляризованном свете при кандидозе в капле видно свечение аморфных образований, которые являются спорами или мицелием грибов Candida. Аморфные образования могут быть локализованы в любой зоне капли. Наиболее вероятная локализация-переходная зона.

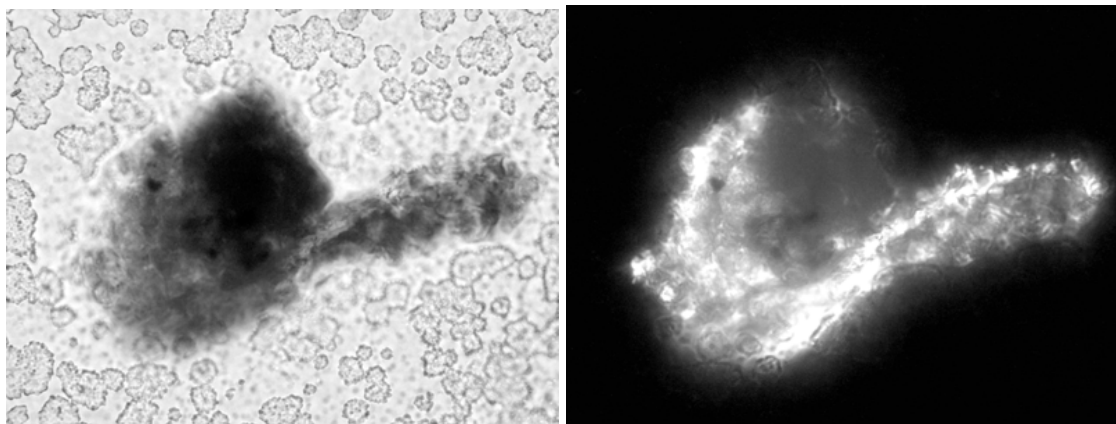


Рис. 6-11-1. Кандидоз. Грибница. Освещение светлое поле и поляризованный свет. Поле зрения 0,3мм.

Тот факт, что изображения микозов выглядят аналогичным образом подтверждается наблюдением различных препаратов (мазок) от больных с установленным диагнозом-кандидоз.

2. Гиперхолестиренемия. При повышении холестерина в крови при краевой гидратации возникают кристаллы в виде сферолитов.

3. Гиперурикемия. При повышении содержания мочевой кислоты в крови возникают кристаллы в виде иголок. На самом деле мочевая кислота в крови существует в виде моноурата натрия, и биохимическими методами диагностируется не содержание мочевой кислоты, а содержание моноурата натрия. Причины повышения уровня мочевой кислоты: лейкозы, повышенное потребление пищи богатой пуринами. Следствия повышения уровня мочевой кислоты: подагра, мочекаменная болезнь.

1995-Москва-МОНИКИ

Шабалин В.Н. Шатохина С.Н. Дутов В.В. Трапезникова М.Ф. Морозов А.Н. Мирошников А.Н. Макушкин Л.Г. Способ диагностики пиелонефрита. Патент 2033614. 1995.+

Сущность изобретения: каплю мочи высушивают в течение не менее 40 мин на стеклянной подложке и при наличии полной непрозрачной кристаллизации капли в сочетании с положительной реакцией на наличие белка диагностируют калькулезный пиелонефрит.

Шатохина С.Н. Шабалин В.Н.

Способ диагностики застойных явлений во внутренних органах. Патент 2207569. 2003.+

Проводят микроскопическое исследование биологических тканей, при этом жидкую среду внутреннего органа в объеме 0,01-0,02 мл наносят в форме капли на обработанное 0,02%-ным раствором лецитина предметное стекло, высушивают при температуре 18-30°C в течение 18-24 ч и относительной влажности 55-60%. При выявлении в высушенной капле трехлучевых трещин диагностируют застойные явления в органе.

Шатохина С.Н. Мандрыгина Е.Л. Шабалин В.Н.

Способ диагностики стадий дисциркулярной энцефалопатии. Патент 2207570. 2003.+

Берут сыворотку крови, выдерживают в пробирке в течение 18-24 ч при 5-8°C, наносят на поверхность предметного стекла в количестве 0,02 мл в форме капли и высушивают не менее 24 ч при 20-25°C и относительной влажности 60-70% и при наличии штриховых трещин в краевой зоне капли диагностируют 1-ю стадию заболевания, при наличии серповидных образований в центральной зоне капли и единичных токсических сгустков в краевой-2А стадию, при наличии серповидных образований в краевой зоне, множественных токсических сгустков-2Б стадию заболевания, при "раздвоении" капли, наличии пакетов серповидных образований в краевой и центральной зонах, большого количества токсических сгустков-3 стадию заболевания.

Шатохина С.Н. Шабалин В.Н.

Способ диагностики гиперплазии клеток организма. Патент 2234856. 2004.+

Берут пробу сыворотки крови в объеме 0,01-0,02 мл, наносят на предметное стекло, высушивают при температуре 18-30 градусов и относительной влажности 55-60% в течение 48-72 ч, и при выявлении участков параллельных линий диагностируют гиперпластический процесс клеток организма.

Шатохина С.Н. Мишуровская Т.С. Цодиков Г.В. Шабалин В.Н.

Способ дифференциальной диагностики язвенного колита и болезни крона. Патент 2251694. 2005.+

Сыворотку крови наносят на обезжиренное предметное стекло в количестве 0,01-0,02 мл в форме капли, высушивают при температуре 18-30°C в течение 18-24 часов и при выявлении на поверхности высушенной капли соединенных между собой широких, ломаных трещин и отходящих от них в разных направлениях, мелких тупиковых трещин диагностируют язвенный колит. Способ обеспечивает быстроту и простоту осуществления.

Шатохина С.Н. Щербина Т.В. Шабалин В.Н.

Способ дифференциальной диагностики хронического бескаменного и калькулезного холецистита. Патент 2289134. 2006.+

Осуществляют микроскопическое исследование сыворотки крови, которую забирают натощак после 12-часового голодного ночного перерыва, высушивают на предметном стекле при относительной влажности 55-65% в количестве 0,01-0,02 мл в форме капли. При наличии мелких треугольных образований вокруг конкреций в краевой зоне капли диагностируют хронический бескаменный холецистит, а при наличии зернистости и мелких треугольных образований вокруг конкреций в краевой зоне капли-калькулезный холецистит.

Шатохина С.Н. Щербина Т.В. Шабалин В.Н.

Способ диагностики стеатоза печени. Патент 2292043. 2007.

Исследуют сыворотку крови, взятую строго натощак, выдерживают ее в течение 24 часов при температуре 5-8°C, затем наносят ее на поверхность обезжиренного стекла в форме капли в количестве 0,01-0,02 мл, высушивают при температуре 18-30°C при относительной влажности 55-65% в течение 18-24 часов и при наличии, по крайней мере, одного участка просветления вдоль радиальных трещин в виде лакун в краевой зоне фации диагностируют стеатоз печени без элементов воспаления, а при выявлении дополнительно структур треугольной формы белого цвета в краевой зоне фации диагностируют стеатоз печени с элементами воспаления.

Шатохина С.Н. Щербина Т.В. Шабалин В.Н.

Способ диагностики дисфункции желчного пузыря. Патент 2292044. 2007.

Сыворотку крови наносят в количестве 0,01-0,02 мл в форме капель на предметное стекло, высушивают при температуре 18-30°C при относительной влажности 55-65% в течение 18-24 часов и проводят микроскопические исследования. При усилении пигментации желто-коричневого цвета вокруг конкреций в краевой зоне во второй пробе диагностируют гипокинезию желчного пузыря.

Шатохина С.Н. Шабалин В.Н. Чугунова О.Л. Трубникова Л.И. Албутова М.Л. Таджиева В.Д. Способ диагностики кандидозной септицемии. Патент 2173459. 2001.+

Исследуют сыворотку крови, которую наносят в объеме 0,01-0,02 мл в форме капли на поверхность предметного стекла, высушивают при 18-30°C в течение 28-24 ч, просматривают образец при скрещенных поляризаторах и при выявлении анизотропных образований в виде фрагментов псевдомицелия и очаговых скоплений, диагностируют кандидозную септицемию.

2000-Пермь-ПГМИ

Савина Л.В. Павлищук С.А.

Способ дифференциальной диагностики обменных нарушений. Патент 2148254. 2000.

Проводят забор периферической крови, размещают ее между изотропными пластинками и после высушивания под микроскопом определяют метаболические сдвиги по картине кристаллизации. При наличии радиально-лучистых кристаллов диагностируют гиперхолестеринемию, разветвленных дендритов-гипертриглицеридемию, пластинчатых агрегатов и ледяных узоров-диспротеинемию, а при наличии фибриллов-гипергликопротеидемию.

Савина Л.В. Павлищук С.А. Самсыгин В.Ю.

Способ определения гипер-бета-эндорфинемии. Патент 2150111. 2000.+

Сыворотку крови наносят на предметное стекло, накрывают покровным, сушат при 37-38°C, выдерживают на открытом воздухе 1,5-2 ч. В поляризованном свете определяют в препарате кристаллы зерен, лучей и/или звездчатые агрегаты пестрой окраски и по их наличию определяют гипер-бета-эндорфинемию.

Савина Л.В. Павлищук С.А. Готовцева Л.П. Самсыгин В.Ю.

Способ диагностики гиперпролактинемии. Патент 2174682. 2001.+

Сыворотку крови наносят на предметное стекло, накрывают покровным, сушат при температуре 37-38°C на протяжении 1,5-2 час, выдерживают на открытом воздухе 0,5-1 час, затем исследуют в проходящем свете (микроскопируют в биологическом микроскопе) и при наличии в препарате кристаллов в форме ветвящихся ламелей и/или сплошной сетки из ветвящихся ламелей диагностируют гиперпролактинемию.

Савина Л.В. Павлищук С.А. Самсыгин В.Ю. Болотова Е.В.

Способ дифференциальной диагностики обменных нарушений. Патент 2176790. 2001.+

Сыворотку крови наносят на предметное стекло, накрывают покровным, сушат при температуре 37-38°C, выдерживают на открытом воздухе 1,5-2 ч, изучают в поляризованном свете и при наличии кристаллов-веерообразных дендритов определяют гипероксалемию; друз, дендритоподобных сферолитов-гиперкреатинемию; оолитоподобных сферолитов-гиперкальциемию; мелкозернистых агрегатов-гиперглицинемию; перистых лучей-гиперурикемию; крестообразных сферолитов-гиперхолестеринемию.

Савина Л.В. Павлищук С.А. Готовцева Л.П. Мазуркевич О.В. Белоножкин С.Л. Шевелева Н.А.

Способ диагностики гиперсекреции фоллитропина и лютропина. Патент 2177620. 2001.+

Способ осуществляют путем высушивания капель сыворотки крови между двумя стеклянными пластинками в контролируемых условиях с последующим микроскопированием в проходящем свете. При наличии в образцах папоротникообразных кристаллов диагностируют гиперсекрецию фоллитропина (ФСГ), при наличии дендритов широко-и платообразно-разветвленных диагностируют гиперсекрецию лютропина (ЛГ). Способ позволяет повысить достоверность контроля за гиперсекрецией ФСГ и ЛГ, снижает трудозатраты.

Савина Л.В. Павлищук С.А. Самсыгин В.Ю. Елисеева Л.Н. Нужная И.А. Кузнецова В.В. Готовцева Л.П. Глушанова В.А.

Способ определения гипердофанемии и гиперсеротонемии. Патент 2187110. 2002.

Способ включает высушивание капель сыворотки крови между двумя стеклянными пластинками в контролируемых условиях с последующим микроскопированием в проходящем свете. При наличии в препарате кристаллов: штриховых, радиально-лучевых и звездчатых определяют гипердофанемию, платообразных агрегатов-гиперсеротонемию.

Савина Л.В. Кокуева О.В. Яковенко М.С. Готовцева Л.П. Самсыгин В.Ю.

Способ диагностики гиперэластаземии. Патент 2195660. 2002.+

Сыворотку крови наносят на кварцевую подложку, накрывают покровным стеклом, сушат при 37-38°C, выдерживают на открытом воздухе 3,5-4 ч, затем исследуют в проходящем свете и при наличии в препарате агрегаций из прямоугольных и призматических кристаллов определяют гиперэластаземию.

Савина Л.В. Павлищук С.А. Болотова Е.В. Лукошникова Т.В.

Способ определения гиперацетилхолинемии. Патент 2212665. 2003.+

Сыворотку крови пациента наносят на кварцевую подложку толщиной 10мм, накрывают покровным стеклом, сушат при 37-38°C на протяжении 1,5-2 ч, выдерживают на открытом воздухе 3-4 ч, затем исследуют в проходящем свете и при наличии скелетных кристаллов: клиновидных-узких, широких, определяют гиперацетилхолинемию.

Савина Л.В. Павлищук С.А. Самсыгин В.Ю. Болотова Е.В. Готовцева Л.П. Бондаренко Н.Н. Клыкова Л.Н.

Способ экспресс-диагностики гиперкортизолеми. 2216023. 2003.

Сыворотку крови больного наносят на предметное стекло, накрывают покровными стеклами, сушат при T=37-38°C, выдерживают на открытом воздухе 2,5-3 ч, затем микроскопируют в проходящем свете и при наличии в препарате скелетных папоротникообразных кристаллов определяют гиперкортизолемию.

Савина Л.В. Кокуева О.В. Яковенко М.С. Никольская Л.Ф.

Способ диагностики гиперферментемии при нарушении внешнесекреторной функции поджелудочной железы. Патент 2216734. 2003.+

Сущность способа: исследуют сыворотку крови больного, нанесенную на предметное стекло, покрытую покровным и высушенную при 37-38°C в течение 1,5-2 ч. Образовавшиеся в сыворотке крови больного кристаллы сопоставляют с кристаллами модельных композитов, которые предварительно получают путем обогащения сыворотки крови здорового человека ферментами трипсином, амилазой, липазой. При наличии кристаллов в виде ячеистой или дендритной сеток диагностируют гипертрипсинемию, при наличии субпараллельных ламелей-гиперамилаземию, при наличии пузырьковых камер с отростками-гиперлипаземию.

Савина Л.В. Павлищук С.А. Болотова Е.В. Самсыгин В.Ю. Лукошникова Т.В. Кузнецова В.В. Готовцева Л.П.

Способ диагностики гипергистаминемии. Патент 2223495. 2004.+

Сущность изобретения: сыворотку крови наносят на предметное стекло, накрывают покровным, сушат при T=37-38°C, выдерживают на открытом воздухе 2-2,5 ч, затем исследуют в поляризованном свете с кварцевым компенсатором и при наличии в сыворотке крови кристаллов: перистых дендритов и/или незавершенных перистых сферолитов, завершенных перистых сферолитов диагностируют гипергистаминемию.

1998-Екатеринбург НИИ Фтизиопульмонологии

Туринцев Б.Б. Скорняков С.Н.

Способ диагностики активности туберкулеза. Патент 2112985. 1998.

У обследуемого берут венозную кровь, выделяют из нее сыворотку, из которой готовят препараты, и проводят их микроскопическое исследование в поляризованном свете. При наблюдении в препарате радиально-лучистых структур, дендритов или кристаллов диагностируют активный туберкулез.

2000-Екатеринбург-Центр охраны здоровья

Леканова С.С. Лихачева Е.И.

Способ диагностики силикоза. Патент 2183328. 2000.+

Исследуют методом поляризационной микроскопии кристаллообразующую способность сыворотки крови и оценивают в баллах количество темных ветвистых дендритов, дендритов-папоротников и дендритов-папоротников массивных. При сумме их выше 3,92 единицы диагностируют силикоз.

Морозова Н.Г. Исаева Т.А. Лезвинская Е.М.

Способ диагностики псориаза. Патент 2233122. 2004.+

Пробу сыворотки крови в объеме 20-25 мкл, наносят на поверхность предметного стекла в виде капли, высушивают в течение 18-24 ч при температуре 20-30, и при выявлении на поверхности высушенной капли краевой-аморфной зоны, промежуточной-с единичными, рассеянными скобообразными структурами и центральной-с округлыми структурами неправильной формы с пустотами и выемками, размещенными на фоне аморфной поверхности центральной зоны, диагностируют псориаз.

2004-Нижний Новгород-НГМА

Потехина Ю.П. Котова О.В. Густов А.В.

Способ диагностики рассеянного склероза. Патент 2242759. 2004.+

Исследуют плазму крови методом открытой капли. Каплю плазмы предварительно высушивают на предметном стекле. Затем анализируют структуру полученной фации под микроскопом. При наличии в центральной зоне фации аномальных структур типа ковров Серпинского диагностируют рассеянный склероз. Способ прост и доступен и позволяет ускорить диагностику рассеянного склероза.

Котова О.В. Потехина Ю.П. Нистратова М.П.

Способ диагностики гиперпарапротеинемии. Патент 2273026. 2006.+

Способ диагностики гиперпарапротеинемии заключается в том, что сыворотку крови исследуют методом клиновидной дегидратации, при этом каплю сыворотки предварительно высушивают на предметном стекле и затем анализируют структуру полученной фации под микроскопом. При наличии в центральной и/или промежуточной зонах фации аномальных сетчатых радиальных структур диагностируют среднюю степень выраженности парапротеинемии. При наличии отдельнолежащих «глыбок» и/или «глыбок», расположенных по краям трещин в центральной зоне фации, диагностируют высокую степень выраженности парапротеинемии.

Беляков К.М. Потехина Ю.П. Липатов К.С.

Способ установления уремического генеза полиневропатии. Патент 2314527. 2008.+

Каплю плазмы предварительно высушивают на предметном стекле и затем анализируют структуру полученной фации под микроскопом. При наличии сочетания двух признаков-трещин под углом или параллельных краю, а также морщин периферической зоне фации-делается заключение о том, что полиневропатия имеет уремический генез.

Беляков К.М. Потехина Ю.П.

Способ установления паранеопластического генеза полиневропатии. Патент 2315304. 2008.

Каплю плазмы предварительно высушивают на предметном стекле и затем анализируют структуру полученной фации под микроскопом. При наличии сочетания двух признаков-

волнообразных трещин в центральной зоне фации и морщин в периферической зоне фации делается заключение о том, что полиневропатия имеет паранеопластический генез.

Щербатюк Т.Г. Занозина О.В. Клинцева Е.С. Занозина Ю.А. Потехина Ю.П.

Способ диагностики декомпенсации сахарного диабета 2 типа. Патент 2478958. 2013.

Способ включает нанесение образца сыворотки крови объемом ~0,010 мл на предметное стекло, дегидратацию нанесенного образца сыворотки крови в течение 24 часов до получения фации и последующее проведение исследования морфологической картины полученной фации под микроскопом в проходящем свете. Декомпенсацию сахарного диабета 2 типа у больного диагностируют при наличии в морфологической картине фации языковых микроструктур в количестве более 6-ти.

Беляков К.М. Потехина Ю.П. Липатов К.С.

Способ установления уремического генеза полиневропатии. Патент 2314527. 2008.

Сущность способа: плазму крови исследуют методом клиновидной дегидратации, при этом каплю плазмы предварительно высушивают на предметном стекле и затем анализируют структуру полученной фации под микроскопом. При наличии сочетания двух признаков-трещин под углом или параллельных краю, а также морщин периферической зоне фации-делается заключение о том, что полиневропатия имеет уремический генез.

Беляков К.М. Потехина Ю.П.

Способ установления паранеопластического генеза полиневропатии. Патент 2315304. 2008.+

Каплю плазмы предварительно высушивают на предметном стекле и затем анализируют структуру полученной фации под микроскопом. При наличии сочетания двух признаков-волнообразных трещин в центральной зоне фации и морщин в периферической зоне фации делается заключение о том, что полиневропатия имеет паранеопластический генез.

Фирсова В.Г. Потехина Ю.П. Паршиков В.В.

Способ прогнозирования исхода острого панкреатита. Патент 2442984. 2010.+

Каплю плазмы предварительно высушивают на предметном стекле, а затем анализируют структуру полученной фации под микроскопом. При наличии сочетания двух признаков-сети трещин в периферической зоне фации и кристаллов в виде дендритов, ветвящихся под углом 60 или 90 градусов, в центральной зоне, либо при наличии феномена "двойной фации" делают заключение о том, что вероятность летального исхода острого панкреатита максимальна.

Фирсова В.Г. Потехина Ю.П. Паршиков В.В.

Способ определения тяжести острого панкреатита. Патент 2453841. 2012.+

Каплю плазмы предварительно высушивают на предметном стекле, затем анализируют структуру полученной фации под микроскопом и при наличии сочетания двух признаков-гиперпигментации периферической зоны фации и серповидных образований в этой же зоне-делают заключение о том, что панкреатит имеет тяжелое течение.

2011-Астрахань-АГМА

Левитан Б.Н. Умерова А.Р. Аюпова А.К. Абжалилова Д.М.

Способ диагностики токсического поражения печени. Патент 2426492. 2011.

Наносят 0,01 мл сыворотки крови в форме капли на поверхность предметного стекла, высушивают в условиях рабочей комнаты. Полученный образец микроскопируют и по наличию триады морфологических признаков, включающей гиперпигментацию фации, многолучевые трещины и темно-коричневый налет, в виде полиморфных структур, располагающихся по ходу многолучевых трещин, судят о токсическом поражении печени.

2011-Нижний Новгород-НИИТО

Воробьев А.В. Мартусевич А.К. Погодин И.Е. Перетягин С.П. Гришина А.А.

Способ диагностики ожоговой токсемии. Патент 2424521. 2011.

Сущность способа диагностики ожоговой токсемии заключается в том, что сыворотку крови больного в объеме 100-200 мкл наносят на предметное стекло и проводят дегидратацию препарата в потоке теплого воздуха при температуре 40-50°C и влажности 20-30% в течение 15-20 минут в горизонтальном положении. Фацию сравнивают с паттерном ожоговой токсемии по показателям: индекс структурности, кристаллизуемость, тип взаимодействия кристаллических и аморфных структур, степень деструкции фации, равномерность распределения кристаллических и аморфных элементов фации, степень выраженности ячеистости фации, выраженность отдельных зон кристаллизации, выраженность краевой белковой зоны и рельефность текстуры. При совпадении не менее шести из девяти значений критериев с паттерном сравнения диагностируют ожоговую токсемию.

6.12 Диагностика интоксикации.

1992-Казахстан, Шымкент, НИИ гигиены

Орманов Намазбай Жаппарович

Разработка и внедрение методов ранней диагностики хронической интоксикации соединениями фосфора. Диссертация доктора медицинских наук. Алма-ата. 1992.

Орманов Н.Ж. Мендибаев К.Б. Адильбекова Д.А.

Методы кристаллографического исследования биологических субстратов при хронической интоксикации соединениями фосфора и свинца. Методические рекомендации. Шымкент. 1992. 12 с.

2000-Екатеринбург, УГМА

Кузнецов Н.Н. Скопинов С.А. Вершинина Г.А. Аболина Т.Б.

Кристаллоскопический способ диагностики эндогенной интоксикации у детей. Патент 2158923. 2000.+

Способ может быть использован в медицине, а именно для оценки степени тяжести синдрома эндогенной интоксикации (СЭИ) у детей. Проводят подсчет количества двулучепреломляющих кристаллов (ДЛПК) в образцах плазмы без и с добавлением ингибитора протеаз (эпсилон-аминокапроновой кислоты-ЭАКК) и измеряют площадь дендрита ингибитора протеаз, и при количестве ДЛПК в образцах цитратной плазмы от 15 до 300 и площади дендрита ЭАКК 243-291мм² диагностируют I степень СЭИ, при ДЛПК от 301 до 1000 и площади дендрита ЭАКК 242-162мм² II степень, при ДЛПК от 1001 до 5000, площади дендрита ЭАКК от 15 до 1000-III степень, при ДЛПК в образцах плазмы без ингибитора от 5000 до 15000 и в образцах с ингибитором от 1000 до 15000 и площади дендрита ЭАКК от 80мм до полного исчезновения-IV степень СЭИ. Способ позволяет повысить информативность и точность при оценке степени тяжести СЭИ у детей.

Жданова Т.В. Назаров А.В. Кузнецов Н.Н. Вершинина Г.А. Зуева Т.В. Новиков С.В. Загволкина В.А. Адеева М.А.

Кристаллографические характеристики плазмы в комплексной клинико-лабораторной оценке эндогенной интоксикации у больных с различными стадиями хронической почечной недостаточности. 2-я Конф Москва. Моники. 2001. с.26-28.

Кузнецов Н.Н. Вершинина Г.А. Скопинов С.М. с соавт.

Опико-поляризационные и рефрактометрические методы в оценке степени тяжести синдрома эндогенной интоксикации у детей. Сб. научных трудов 2-й всероссийской научно-практической конференции «Морфология биологических жидкостей в диагностике и контроле эффективности лечения». Москва. 2001. с.30-33.

2003-Казахстан, Алмата

Байдаулет И. О.

Кристаллографические свойства спинномозговой жидкости при хронической интоксикации неорганическими соединениями фосфора. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С.Корсакова. 2003. т.103. №6. с.50-52.

2005-Казахстан, Караганда, КГМУ

Абдрахманова Ю.Э.

Тезиография сыворотки крови крыс при интоксикации несимметричным диметилгидразином. Материалы Межд. науч.-практ. конф. посвящ. 55-летию КГМА: «Повышение эффективности государственного регулирования в сфере обращения лекарственных препаратов». -Караганда.- 2005. с.5-6.

Абдрахманова Ю.Э. Позднякова Е.В.

Тезиографическая картина сыворотки крови при интоксикации несимметричным диметилгидразином. Матер. научно-практ. конф. «Актуальные проблемы экологии и природопользования в Казахстане и сопредельных территориях». Павлодар, 2006. с.7-9.

Муравлева Л.Е. Абдрахманова Ю.Э. Ключев Д.А. Утибаева Р.А.

Морфотипы тезиограмм крови крыс-отъемышей при острой интоксикации несимметричным диметилгидразином. Фундаментальные исследования. 2008. 2. с.39-41.

2006-Краснодар, КГМА

Савина Л.В. Яковенко М.С. Мингалева Е.А. Климеенко Е.Ф. Кравцова Н.А. Конько Н.П.

Способ экспресс-диагностики эндогенной интоксикации. Патент 2280865. 2006.

Сыворотку крови в каплях наносят на предметные стекла, каждую каплю накрывают покровными стеклами и сушат при $t=+20-24^{\circ}\text{C}$ на протяжении 1-1,5 часа, выдерживают на открытом воздухе 1,5-2 часа, затем микроскопируют в проходящем свете, в поляризованном и в поляризованном свете с кварцевым компенсатором. При изучении препарата в проходящем свете и наличии в нем кристаллов: (и/или)-скелетных, ступенчатых, узловатых фибрилл, прямоугольно разветвленных агрегатов диагностируют гиперглобулинемию, при исследовании препарата в поляризованном свете и наличии в нем оптически активных кристаллов-радиально-лучистых сферолитов определяют гиперхолестеринемию, игловидных-гиперурикемию, ветвящихся дендритов-гиперкреатининемию; при исследовании препарата в поляризованном свете с кварцевым компенсатором и наличии в нем кристаллов пестрой окраски: (и/или)-пластин, веерообразных пластин диагностируют гиперпутресцинемию; овоидных зерен гиперфенилаланинемию; (и/или)-друз, многогранников и призм-гипергистидинемию; цепочечно-ориентированных агрегаций из зерен-гипертриптофанемию; сферолитов с отростками-гиперизолейцинемию; агрегатов из зерен-гипербилирубинемию.

2007-Москва, НИИ хирургии крови

Арендаренко А.К. Гаврилов А.О. Королев М.Л.

Способ диагностики острой интоксикации. Патент 2296326. 2007.+ Способ диагностики острой эндогенной интоксикации включает приготовление гемолизата эритроцитов путем разведения отмытых эритроцитов в дистиллированной воде в соотношении 1:1, который выдерживают в течение 1-2 часа при температуре $20-25^{\circ}\text{C}$, после чего наносят на поверхность предметного стекла в количестве 0,01-0,03 мл, высушивают в течение 24-27 часов при температуре $18-30^{\circ}\text{C}$ и относительной влажности окружающей среды 55-60%. Проводят микроскопическое исследование и при обнаружении в пространстве трещин центральной и периферической зон высушенной капли аморфных субстанций диагностируют острую интоксикацию. Использование данного способа позволяет в ранние сроки установить наличие маркера острой токсемии различной этиологии и определить лечение.

2008-Ромашкина Р.У. Машков А.Е. Гаврилов А.О. Касьянова И.В. Тренина Л.В.

Способ определения интоксикации при гнойно-воспалительных заболеваниях у детей. Патент 2317546. 2008.+
Для определения интоксикации при гнойно-воспалительных заболеваниях у детей каплю сыворотки крови наносят на поверхность предметного стекла, высушивают при температуре 20-25°C в течение 18-24 часов, микроскопируют. При обнаружении в белковой зоне высушенной капли разбитых трещинами кусков, ограниченных по периметру перпендикулярными трещинам игольчатыми столбиками и состоящих из рельефных конкреций, поверхность которых образована извилистыми и криволинейными линиями, определяют интоксикацию при гнойно-воспалительных заболеваниях у детей.

2007-Астрахань, АГМА

Стрельцова Е.Н. Рыжкова О.А.

Определение выраженности структурных маркеров интоксикации и уровня молекул средней массы в сыворотке крови больных туберкулезом Астраханский медицинский журнал. 2007. №4. с.52-56.

Стрельцова Е.Н. Рыжкова О.А.

Структурные маркеры интоксикации и средние молекулы у больных туберкулезом. Российский медицинский журнал. 2009. №1. с.33-36.

Умерова Аделя Равильевна

Синдром эндогенной интоксикации при хронических гепатитах и циррозах печени. Патогенез, диагностика, лечение. Диссертация доктора медицинских наук. Астрахань. 2010.

2007-Нижний Новгород, НГМА

Обухова Л.М. Ведунова М.В. Конторщикова К.Н. Добротина Н.А.

Морфофизиологический анализ плазмы крови при эндогенной интоксикации. Вестник НГУ. 2007. №6. с.104-107.

Эделев Н.С. Конов А.С. Обухова Л.М.

Способ диагностики отравления наркотическими и или сильнодействующими веществами. Патент 2332666. 2008.+

Для осуществления способа определяют рН сыворотки крови, а также исследуют сыворотку крови методом клиновидной дегидратации, для чего каплю сыворотки крови высушивают на горизонтально расположенном предметном стекле при комнатной температуре в течение 18-24 часов, а затем анализируют структуру полученной дегидратированной капли в световой микроскоп. При значениях рН сыворотки крови ниже 6,8 и наличии штриховых трещин в центральной зоне дегидратированной капли диагностируют отравление наркотическими и/или сильнодействующими веществами.

Эделев Н.С. Конов А.С. Обухова Л.М.

Информационно-методическое письмо «Предварительная диагностика отравлений наркотическими и (или) сильнодействующими веществами методом клиновидной дегидратации» 5с.

Эделев Н.С. Конов А.С. Обухова Л. М.

Применение метода клиновидной дегидратации для диагностики отравлений наркотическими веществами. Нижегородский медицинский журнал. 2008. №3. с.150-151.+

Эделев Н.С. Конов А.С. Обухова Л.М.

Применение клиновидной дегидратации при судебно-медицинской экспертизе смертельных отравлений наркотическими и сильнодействующими веществами. Судебная экспертиза. 2008. №5.

Обухова Л.М. Эделев Н.С. Конов А.С. Яхно Т.А. Шапошникова О.Б.
Некоторые параметры сыворотки крови при отравлении наркотическими веществами. Иваново. Конференция 2008.

Обухова Л.М. Безруков М.Е. Петченко А.С.
Определение токсичности водных сред методом клиновидной дегидратации. Иваново. Конференция 2008.

Обухова Л.М. Которщикова К.Н.
Структурная организация белков плазмы крови при интоксикации организма. Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. 2009. №6 с.73-78.

Обухова Л.М. Безруков М.Е.
Способ определения токсичности водных сред. Патент 2369867. 2009.+

Способ включает забор пробы водной среды, ее фильтрацию, коррекцию pH до физиологических значений и последующий ее анализ, причем к одной объемной части исследуемой пробы водной среды добавляют две объемные части 10% раствора бычьего сывороточного альбумина, перемешивают, помещают каплю полученного материала на предметное стекло и высушивают при комнатной температуре в течение 18-24 часов, анализируют структурный макропортрет дегидратированной капли с помощью светового микроскопа и при наличии характерных особенностей в виде штриховых, параллельных, концентрических, многолучевых, закругленных и круглых трещин в виде черной сети, в виде рыбьей чешуи, морщин, линий Валнера и языков Арнольда определяют токсичность водных сред. Достигается быстрота, достоверность и упрощение определения.

Обухова Л.М. Ведунова М.В. Которщикова К.Н. Эделев Н.С. Конов А.С.
Способ диагностики эндогенной интоксикации организма, способ определения степени тяжести эндогенной интоксикации организма и способ определения этиологии эндогенной интоксикации организма. Патент 2378991. 2010.+

Для выявления эндогенной интоксикации организма исследуют сыворотку или плазму крови методом клиновидной дегидратации и при наличии особенностей из ряда: штриховых, параллельных, концентрических, многолучевых, закругленных и круглых трещин, трещин в виде черной сети, в виде рыбьей чешуи, морщин, линий Валнера и языков Арнольда диагностируют эндогенную интоксикацию. Для оценки степени тяжести эндогенной интоксикации организма определяют наличие совокупности характерных особенностей по десятибалльной шкале и по размеру площади, занимаемой указанными особенностями. Воспалительный характер эндогенной интоксикации определяют при наличии закругленных, круглых трещин в центральной зоне дегидратированной капли. При наличии трещин в виде черной сети в ее центральной зоне определяют некротический характер эндогенной интоксикации. Нарушения липидного обмена определяют по выявлению трещин в виде рыбьей чешуи в промежуточной зоне. При наличии многолучевых трещин в центральной зоне определяют эндогенную интоксикацию, вызванную почечной недостаточностью. Способ повышает точность диагностики эндогенной интоксикации организма.

Обухова Лариса Михайловна
Роль протеинов в формировании структурного макропортрета плазмы крови при интоксикации организма. Диссертация доктора биологических наук. 2010.

2008-Уфа, БГМУ

Чемикосова Т.С, Гуляева О.А.

Морфологическая картина ротовой жидкости как диагностический тест для доклинической оценки профессиональной интоксикации. Пародонтология. 2008. №1. с.710.

Чемикосова Т.С. Гуляева О.А.,

Диагностика профессиональных интоксикаций на производстве по составу слюны. 2013.

2009-Нижний Новгород, НГМА

Потехина Ю.П. Кизова Е.А. Щербатюк Т.Г. Бузоверя М.Э. Щербак Ю.П.

Способ диагностики эндогенной интоксикации. Патент 2395087. 2009.

Для осуществления способа каплю смешанной слюны высушивают и осуществляют анализ структуры полученной фации под микроскопом. О низкой степени выраженности эндогенной интоксикации судят по наличию темной пигментации в самом центре центральной зоны фации. О средней степени выраженности эндогенной интоксикации судят по наличию темной пигментации в виде кольца по краю центральной зоны фации. О высокой степени выраженности эндогенной интоксикации судят по наличию темной пигментации по всей центральной зоне фации. Способ прост и доступен в осуществлении.

Бузоверя М.Э. Шишпор И.В. Гребенников А.С. Щербак Ю.П. Потехина Ю.П. Кизова Е.А. Разработка неинвазивного способа диагностики эндогенной интоксикации. Материалы I Международной конференции «Процессы самоорганизации в высыхающих каплях многокомпонентных жидкостей: эксперименты, теории, приложения». Астрахань. 2010. с.162-171.

2012-Астрахань, АГТУ

Каниева Н.А. Козлова Н.В. Абдуллаева Д.Р.

Структурирование сыворотки крови и гомогенатов органов рыб в современных экологических условиях и в эксперименте при нефтяной интоксикации. Астрахань. 2012. с.45-47.+

6.13 Диагностика лейкозов.

Нижний Новгород, НГМА, Кафедра педиатрии и неонатологии ФПККВ

Воробьева Валентина Андреевна-зав кафедрой, дмн, профессор

Воробьев Александр Викторович (-)

Воробьев А.В. Воробьева В.А. Нештакова Н.Л. Воробьева И.Г.

Тезиграфическая диагностика острого лимфобластного лейкоза у детей. Нижегородский медицинский журнал. 2002. №2. с.61-64.+

Киров, Кировский НИИ Гематологии и переливания крови (КНИИГ и ПК)-Поздеев Николай Маркович. Использование кристаллоскопии для выявления острого лейкоза у мышей линии AKR. 2012.

Нижний Новгород, НИИТО

Мартусевич А.К. Костяева А.А. Ковалева Л.К.

Структуризация сыворотки крови мышей в норме и при экспериментальном лимфолейкозе. Астрахань. 2012. с.89-93.+

6.14 Фазовый характер изменений состава крови.

1990-Гаркави Л.Х. Квакина Е. Уколова М.А. Адаптационные реакции и резистентность организма. Ростов-на-Дону. Изд. Ростовский Университет. 1990.

Рассматриваются закономерности системного ответа организма на воздействие различных по силе раздражителей. Был показан фазовый характер изменений состава крови, который они обозначили как реакции тренировки, активации, переактивации и стресса. Для указанных реакций были описаны изменения, происходящие в различных системах организма.

Глава 7. Диагностика онкологических заболеваний методом кристаллизации биожидкостей.

7.1 Диагностика онкологических заболеваний методом кристаллизации сыворотки крови.

7.1.1 Диагностика онкологических заболеваний путем кристаллизации сыворотки крови методом закрытой капли.

1997-Пермь-ПГМА

Савина Л.В. Туев А.В.

Способ диагностики злокачественных новообразований. Патент 2097765. 1997.

Сущность изобретения: исследуют сыворотку крови. 3 капли сыворотки крови наносят на предметное стекло, вводят в каждую каплю 0,05-0,1% раствора глютаминовой кислоты, накрывают покровными стеклами, сушат при температуре 35-38 °С на протяжении 1-2 ч, выдерживают на открытом воздухе 1-2 ч, затем проводят кристаллоскопическое исследование в поляризованном свете и при наличии в препарате радиально-лучевых, или коротко-или длинноразветвленных дендритных кристаллов или их сочетаний диагностируют злокачественное новообразование.

2010-Москва, НИИ Геронтологии

Шатохина С.Н. Шабалин В.Н.

Способ диагностики злокачественных новообразований. Патент 2235323. 2004.

Получают сыворотку крови, высушивают ее при комнатной температуре и затем ее исследуют, при этом наносят на предметное стекло 0,01-0,02 мл сыворотки крови, а высушивание осуществляют под покровным стеклом при относительной влажности 55-60% в течение 72-96 часов, и исследование проводят при микроскопии в поляризованном свете. При выявлении анизотропных сферолитов с единичными мелкими разноцветными включениями в центральной части сферолита диагностируют доклиническую стадию злокачественного роста в организме, при выявлении анизотропных сферолитов с выраженными цветными включениями диагностируют раннюю стадию злокачественного новообразования.

Шабалин В.Н. Шатохина С.Н.

Маркеры злокачественного роста в морфологической картине биологических жидкостей человека. Вопросы онкологии. 2010. т.56. №3. с.293-300.

Шатохина С.Н. Шабалин В.Н.

Способ определения степени риска злокачественного роста. Патент 2413941. 2011

Отбирают сыворотку крови, термостатируют при температуре 37°С в течение 20-30 мин, затем каплю сыворотки крови помещают под покровное стекло и высушивают в течение 7-10 суток и микроскопируют под покровным стеклом при комнатной температуре и влажности 55-60%. При выявлении мелких сферолитов, расположенных за пределами границ крупных анизотропных сферолитов, на границе крупных анизотропных сферолитов или внутри границ крупных сферолитов, определяют слабую, умеренную или высокую степени риска злокачественного роста соответственно.

Шатохина С.Н. Захарова Н.М. Дедова М.Г. Самбулов В.И. Шабалин В.Н.

Мофологический маркер прогрессии новообразований при раке гортани. Вопросы онкологии, 2013. №2. с.66-70.

Кутушов М.В.

Спектры поглощения, люминесценции и степени поляризации плазмы крови у здоровых и больных. Журнал. «Мир фармации и медицины». №21 (218) 04.06.2007г. с.12.

7.1.2 Диагностика онкологических заболеваний путем кристаллизации сыворотки крови методом открытой капли.

1991-Москва, МОНИКИ.

Жестовский В.К. Шатохина С.Н. Яковлев С.А.

Жидкокристаллические и кристаллические структуры в диагностике опухолей головного мозга. Методические рекомендации МЗ РСФСР. Москва. 1991. 11с.

2010

Шабалин В.Н. Шатохина С.Н.

Маркеры злокачественного роста в морфологической картине биологических жидкостей человека. Вопросы онкологии. 2010. т.56. №3. с.293-300.

Многочисленные клинические и экспериментальные данные свидетельствуют о том, что злокачественной трансформации предшествует длительный период изменений, связанных с усиленной хронической пролиферацией. Это относится к таким фоновым (предраковым) состояниям, как дисплазия, гиперплазия, эрозия и другим видам патологии, обусловленным усилением пролиферативного режима ткани. Можно сказать, что тайна рака скрыта в предраке. Однако основные закономерности предрака и механизмы трансформации предрака в рак еще не расшифрованы, несмотря на то, что за последние два десятилетия происходит открытие все новых и новых онкогенов и опухолевых супрессоров. К настоящему времени известно около сотни потенциальных онкогенов (клеточных и вирусных) и около двух десятков опухолевых супрессоров. Обнаружено, что механизм действия вирусных онкогенов связан с активацией клеточных протоонкогенов (ретровирусы) или инактивацией опухолевых супрессоров (ДНК-содержащие вирусы). Следует отметить, что долгое время знания о каждом из онкогенов или опухолевых супрессоров представлялись дискретными, т.е. в значительной мере не связанными между собой. Только в самые последние годы стала вырисовываться общая картина, показывающая, что подавляющее большинство известных протоонкогенов и опухолевых супрессоров являются компонентами нескольких общих сигнальных путей, контролирующих клеточный цикл, дифференцировку клеток, целостность генома, морфогенетические реакции, апоптоз. Оценка действия многих составляющих в сложнейшей цепи механизмов перехода пролиферативных реакций в злокачественный рост представляет большой интерес для морфологов, изучающих интегральную картину системной и локальной организации биологических жидкостей человека при их переводе в твердую фазу. Получаемая при этом сухая пленка капли биологической жидкости (фация), являясь «тонким срезом неклеточной ткани», дает возможность: переводить информацию молекулярного уровня на макроуровень, доступный для наблюдения и дальнейшего изучения; выявлять патологический процесс на самой ранней стадии биохимических нарушений, т.е. задолго до клинических проявлений заболевания; регистрировать этапы течения патологического процесса в различные периоды наблюдения (суточный, месячный, годовой и т.д.), объективно устанавливая при этом фазы обострения, ремиссии, реакцию на лечение, тенденцию к обратному развитию опухоли. Цель исследования заключалась: в поиске маркеров злокачественного роста в морфологической картине сыворотки крови и мочи больных со злокачественными новообразованиями различной локализации и степени злокачественности; в разработке динамического контроля за маркерами малигнизации у лиц с доброкачественными опухолями и предраковыми состояниями.

Шатохина С.Н. Шабалин В.Н.

Способ определения степени риска злокачественного роста. Патент 2413941. 2011.+

Шатохина С.Н. Захарова Н.М. Дедова М.Г. Самбулов В.И. Шабалин В.Н.

Мофологический маркер прогрессии новообразований при раке гортани. Вопросы онкологии. 2013. №2. с.66-70.

Динамическое наблюдение 32 больных раком гортани, получавших лучевую и комбинированную терапию, проводилось с помощью диагностической технологии «Литос-

система», включающей определение состава морфотипов сыворотки крови методом краевой дегидратации биологических жидкостей. Из 32 больных у девяти на фоне проводимого лечения, наблюдался продолженный рост опухоли. При этом у семи из этих девяти больных впервые были выявлены особые микросферолиты, которые характеризовались наличием «волнистых» структур. Подобные «волнистые» микросферолиты можно рассматривать как предвестник продолжающегося роста опухоли, так как вслед за их появлением обнаруживались и признаки клинического прогрессирования опухоли. По-видимому, появление в крови больного упомянутых «волнистых» структур является результатом выброса в кровь качественно новых макромолекул, вырабатываемых более злокачественным клоном опухолевых клеток.

2001-Москва-МОНИКИ

Назарова Лариса Олеговна

Структурные методы исследования слезной жидкости в диагностике злокачественных новообразований и воспалительных заболеваний органов зрения. Диссертация кандидата медицинских наук. Москва. 2001.

Назарова Л.О. Шатохина С.Н. Прокофьева Г.Л. Сергушев С.Г. Шабалин В.Н.

Способ диагностики злокачественных новообразований органа зрения. Патент 2205405. 2003.

Проводят микроскопическое исследование слезной жидкости, при этом слезу берут атравматично в объеме не менее 0,25 мл, встряхивают ее в течение 2 минут, наносят 0,01-0,02 мл на поверхность предметного стекла в форме капли, высушивают при температуре 20-30°C в течение 1-2 часов и при наличии в краевой зоне капли очагов деструкции с неравномерной пигментацией по их контуру диагностируют злокачественное новообразование органа зрения.

2004-Ростов на Дону-Ростовский научно исследовательский онкологический институт

Леонтьева Д.В. Куркина Т.А.

Особенности структуропостроения фаций крови на этапах роста саркомы.

Сидоренко Ю.С. Сергостьянц Г.З. Шихлярова А.И. Алаухова А.А.

Региональные отличия морфотипов фаций сыворотки крови при хирургическом лечении рака легкого. Кон. Москва. 2004. с.84-85.

Сидоренко Ю.С. Григоров С.В. Шихлярова А.И.

Структурные особенности ликвора при аутоликворхимиотерапии опухолей головного мозга. Конференция Москва. 2004. с.86-88.

Сидоренко Ю.С. Шихлярова А.И. Сергостьянц Г.З.

Региональные особенности морфологии крови больных раком легкого: процессы самоорганизации в динамике хирургического лечения и аутогемотрансфузии. Вестник Южного научного центра РАН. 2005. т.1. №4. с.64-72.

Шихлярова А.И. Максимов Г.К.

Новый интегральный показатель состояния адаптивных процессов при проведении хирургического, лучевого и лекарственного лечения рака с использованием аутосред организма. Актуальные вопросы теоретической, экспериментальной и клинической онкологии». М. 2006. с.407-416.

Леонтьева Д.В. Шихлярова А.И. Куркина Т.А.

Изменение морфоструктуры сыворотки крови у крыс-опухоленосителей под влиянием магнитных и электрических полей. Сибирский онкологический журнал. Приложение №1. 2009. с.121-122.+

Шихлярова А.И. Луганская Р.С. Кучкина Л.П. Лисутин А.Э. Босенко Е.С.

Изменение структуры фаций сыворотки крови при оценке системных и локальных процессов при рецидивах рака молочной железы. Материалы VI съезда онкологов и радиологов стран СНГ. Душанбе. 1-4 октября 2010. с.76.

Шихлярова А.И.

Патогенетические параллели морфоструктурных изменений в опухоли и жидких средах организма на этапах злокачественного роста. Материалы VI съезда онкологов и радиологов стран СНГ. Душанбе. 1-4 октября 2010. с.44.

Сидоренко Ю.С. Неродо Г.А. Голотина Л.Ю. Ушакова Н.Д. Меньшенина А.П. Шихлярова А.И. Куркина Т.А. Леонтьева Д.В.

Способ прогнозирования эффективности противоопухолевого лечения. Патент 2411913. 2011.+

Шихлярова А.И. Максимов Г.К. Куркина Т.А. Светицкая Я.В. и др.

Морфологические изменения биологических жидкостей как критерий прогноза эффективности противоопухолевой терапии на аутосредах. Известия ВУЗ. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. Спецвыпуск. 2011. с.108-111.

Шихлярова А.И. Куркина Т.А. Саркисянц К.С.

Компьютерная диагностика состояния жидких сред организма в оценке эффективности лечения онкопатологии.+

Шихлярова А.И. Непомнящая Е.М. Машурова С.А. Протасова Т.П. Куркина Т.А.

Морфологические особенности твердотельных пленок сыворотки крови у больных с метастазами сарком мягких тканей. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2013. №7. с.62-65.+

2004-Пенза

Мещанинов И.В.

Клиническая значимость исследования морфологии биологических жидкостей человека в общей врачебной практике при онкологических заболеваниях. Конференция Москва. 2004. с.80.

2007-Астрахань-АГМА

Дикарева Л.В. Шварёв Е.Г. Шрамкова И.А. Аюпова А.К.

Метод клиновидной дегидратации и оценка состояния эндометрия у больных гормонозависимыми опухолями матки. Сибирский онкологический журнал. Томск, 2007. №1.с. 129.

2010-Израиль

Кутушов М.В.

Теоретические основы диагностики онкозаболеваний по плазме (сыворотке) крови. 2010.+

2011-Белоруссия, Гомель, Институт радиобиологии НАН Беларуси

Луковская Н.Д. Шафорост А.С.

Методы флуоресцентных зондов и клиновидной дегидратации в оценке состояния транспортной системы сывороточного альбумина у онкологических больных при лучевой терапии. Сибирский онкологический журнал. 2011. Приложение 1.с.71-72.

2011-Нижний Новгород-НГМА

Обухова Л.М. Алясова А.В. Конторщикова К.Н. Терентьев И.Г. Горшкова Т.Н. Никифорова О.Н.

Структурные и биохимические характеристики плазмы крови человека при эпителиальных злокачественных опухолях. Вестник новых медицинских технологий. 2011. т.18. №4. с.27-30.+

При эпителиальных злокачественных новообразованиях на начальной стадии отмечены нарушения белкового и минерального гомеостаза плазмы крови. При исследовании плазмы крови методом клиновидной дегидратации обнаружены морфологические маркеры канцерогенеза и метастазирования, связанные с нарушениями биохимических параметров. Показана возможность использования метода клиновидной дегидратации для выявления онкологических заболеваний.

Обухова Л.М. Алясова А.В. Горшкова Т.Н. Конторщикова К.Н. Терентьев И.Г. Никифорова О.Н. Способ диагностики злокачественных солидных опухолей и их отдаленных метастазов. Патент 2456602. 2012.

Сыворотку (плазму) крови исследуют методом клиновидной дегидратации и изучают полученный структурный макропортрет. При наличии в центральной зоне аморфных образований или кристаллов в виде зерен, а также микротрещин в виде черной сети и черных прямых трещин, выходящих в промежуточную зону, и/или наличии в промежуточной и/или краевой зонах у-образных трещин диагностируют злокачественное солидное новообразование. При наличии в промежуточной и/или краевой зонах параллельных микротрещин в виде гребня диагностируют наличие отдаленных метастазов злокачественного солидного новообразования.

7.1.3 Диагностика онкологических заболеваний путем кристаллизации сыворотки крови тизиографическим методом в открытой капле.

1952-A.Selawry-Lippold исследовала методом тизиографии сыворотку крови 500 больных раком с различной локализацией и выявила некоторые закономерности. кристаллографические исследования крови 500 больных раком различной локализации, В 83% случаев наблюдался ряд однотипных канцероматозных изменений в картине кристаллов. Эти изменения в первую очередь касались характерных поперечных форм и наслоений одних кристаллических форм на другие. Статья «Кристаллизация хлорида меди в естествознании и медицине», Штутгарт, 1957.

1952-Jung H.-тизиографическое исследование крови для диагностики рака.

1981-Москва-МОНИКИ

Каликштейн Д.Б. Мороз Л.А. Черняков В.Л.

Значение тизиографического метода исследования мочи. Лабораторное дело. 1981. №2. с.79-81.

Методом тизиографии мочи выявлялись опухолевые заболевания почек.

Теодор И.Л. Шатохина С.Н. Макаренко П.П.

Характеристика кристаллографической картины базалиом. Пролиферативные заболевания кожи. Республиканский сб. науч. тр. МОНИКИ. Москва. 1985. 40-42.

Мороз Л.А. Каликштейн Д.Б

Кристаллографический метод исследования биологических субстратов.

Методические рекомендации МЗ РСФСР. МОНИКИ. Москва. 1986. 23с. Методом тизиографии исследовали вытяжки из опухолевой ткани. В качестве кристаллообразующего вещества использовали CuCl_2 . Выявлена зависимость кристаллографического рисунка от гистологического строения опухоли. Для астроцитомы характерны очень короткие лучи, расходящиеся в различных направлениях из множественных центров кристаллизации. При

олигодендроглиомах лучи кристаллов крупные, прямые, темного цвета, расположенные в определенном геометрическом порядке.

2004-Нижний Новгород-НГМА

Воробьев А.В. Воробьева В.А. Нештакова Н.Л. Воробьева И.Г.

Способ диагностики заболеваний рака крови. Патент 2250747. 2003.

Способ включает информационный перенос с биологической жидкости обследуемого человека на носитель, который затем соединяют на предметном окне с кристаллообразующим раствором, высушивают полученный раствор в течение 24 часов в темном помещении при комнатной температуре, после чего анализируют рисунок полученной кристаллограммы, при наличии в рисунке участков со структурой “улитка” диагностируют у обследуемого наличие острого лимфобластного лейкоза.

2009-Москва-МОНИКИ

Балканов Андрей Сергеевич

Злокачественная глиома головного мозга: возрастные особенности, новые подходы к диагностике и лечению. Диссертация доктора медицинских наук. Москва. 2010. 153 с.а+

2010-Тверь-ТГУ

Смирнов Ю.М. Курбатова Л.А,

Способ диагностики опухолевых заболеваний и заболеваний центральной нервной системы. Патент 2441241. 2010.

Сущность способа заключается в том, что в каплю ликвора пациента вводят раствор нингидрина и дополнительно добавляют экстракт спиртовой вытяжки иммуностимулирующих растений-омелы, василистника или барвинка, высушивают смесь методом тизиграфии. Далее проводят визуальный анализ полученных кристаллов. Использование способа позволяет с высокой точностью диагностировать опухоли головного мозга.

2011-Караганда-КТМУ

Земляницына В.А. Скромта В.Б. Муравлева Л.Е.

К вопросу поиска новых методов скрининг-диагностики. Онкохирургия. 2011. том.3. №2. с.31-32. Диагностика рака пищевода методом тизиграфии сыворотки крови.

Земляницына В.А. Скромта В.Б. Муравлева Л.Е.

Динамика тизиграфической картины плазмы крови больных раком пищевода на фоне комбинированного лечения. Онкохирургия. 2011. том.3. №2. с.32.

Казахстан-Шымкент-КНИИ онкологии и радиологии.

Якубова М.Б. Байназарова А.А. Радько В.И.

Кристаллографическая диагностика при раке шейки матки.

В работе использовался раствор аминокислотной кислоты при тизиграфии сыворотки крови для диагностики рака шейки матки.

-Pfeiffer.E, ‘Sensitive Crystallization Processes’, Anthroposophic Press, New York, 1975.

-Gruner OC. Experience with the Pfeiffer crystallization method for diagnosis of cancer. J Canadian Med Assoc 1940; 43: p.99-106.

-Gulati SP, Sachdeva OP, Sachdeva A, Adlakha RP, Kakkar V. Crystallization test for detection of head nad neck cancer. ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec 1994; 56: p.283-286.

-Kuczowski J, Zaorski P, Betlejewski A. Crystallization test in patients with head and neck neoplasms. *Otolaryngol Pol* 1995; 49 Suppl 20: p.121-124.

-Sabarth E, Williams HN. Sensitive crystallization process as demonstration of formative forces in the blood. 2 nd ed. Spring Valley, New York: Anthroposophic Press; 1975.

-Quadeer A. New approach for detection of malignancy by crystallization test. Ph.D. thesis for (medicine) degree in Anatomy, Nagpur University, 1988.

-Shaikh SI. Crystallization test for detection of malignancy in the female genital tract. Dissertation for MS (Anatomy). Dr. Babasaheb Marathwada University, Aurangabad, May 1992.

2013-Индия

Sarode SC, Sarode GS, Barpande S, Tupkari JV. Efficacy of crystallization test for screening of oral squamous cell carcinoma with clinico-pathological correlation. *Indian J Dent Res* 2013;24: p.464-467.



Рис. 7-1-1. Тезиограмма крови на основе хлорида меди при плоскоклеточном раке ротовой полости.

7.1.4 Диагностика онкологических заболеваний путем кристаллизации сыворотки крови тезиографическим методом в закрытой капле.

1997-Пермь-ПГМИ

Савина Л.В. Туев А.В.

Способ диагностики злокачественных новообразований. Патент 2097765. 1997.+

Три капли сыворотки крови наносят на предметное стекло, вводят в каждую каплю 0,05-0,1% раствора глютаминовой кислоты, накрывают покровными стеклами, сушат при t 35-38°C на протяжении 1-2 ч, выдерживают на открытом воздухе 1-2 ч, затем проводят кристаллоскопическое исследование в поляризованном свете и при наличии в препарате радиально-лучевых, или коротко-или длинноразветвленных дендритных кристаллов или их сочетаний диагностируют злокачественное новообразование.

7.2 Диагностика онкологических заболеваний методом кристаллизации слюны.

1988-Москва-Институт океанологии

Харченко С.В. Корнеева А.Г. Ветров А.А.

Кристаллические структуры ротовой жидкости, природа и свойства. Известия АН СССР. Серия биологическая. 1988. №3. с.450-454.+

Харченко С.В. Корнеева А.Г. Ветров А.А.

Изменение состава ротовой жидкости человека при злокачественных новообразованиях. Известия АН СССР. Серия биологическая. 1988. №4. с.524-530.+

2006-Москва-Московский государственный медико-стоматологический университет

Денисов А.Б. Пушкарь Д.Ю. Денисов С.А.

Использование кристаллогенных свойств слюны для ранней диагностики рака предстательной железы. Бюллетень экспериментальной биологии. 2006. т.141. №8. с.208-211.

2006-Пермь-ПГМА

Кислых Ф.И. Майстренко Е.М.

Кристаллографическое исследование слюны в комплексной диагностике опухолей слюнных желез. Конференция Москва. 2006.

2007-Москва-НИИ Геронтологии

Агапова Елена Владимировна

Морфологическое и биохимическое исследование ротовой жидкости при заболеваниях пищеварительного тракта у лиц среднего и пожилого возраста. Диссертация кандидата медицинских наук. Москва. 2007. 107с. а+

7.3 Диагностика онкологических заболеваний методом кристаллизации мочи.

1989-Москва-Московский Онкологический институт имени П.А.Герцена

Александрова Л.А. Михайлов А.М. Мамонтов А.С. Соколова И.И.

Опыт использования тизиграфического метода в онкологии. Советская медицина. 1989. №8. с.83-84

7.4 Диагностика онкологических заболеваний методом кристаллизации слезы.

1992-Караганда-КГМА

Тюриков Ю.А. Покоева Т.В.

Кристаллографический метод исследования слезной жидкости в диагностике новообразований Офтальмологический журнал 1992. №4. с.223-226.

Тюриков Ю.А. Покоева Т.В.

Способ определения локализации злокачественного образования. Патент 2080596. 1997.

Сущность изобретения: в кристаллограмме слезы определяют количество мелких игольчатых кристаллов, располагающихся между более крупными различной формы. При их количестве 8 и менее диагностируют злокачественное новообразование в органах зрения, 15-120-в области шеи или головы, а более 150-в легких или желудочно-кишечном тракте.

2001-Москва, МОНИКИ

Назарова Лариса Олеговна

Структурные методы исследования слезной жидкости в диагностике злокачественных новообразований и воспалительных заболеваний органов зрения. Диссертация кандидата медицинских наук. Москва. 2001.а+

2003-Москва, Моники

Назарова Л.О. Шатохина С.Н. Прокофьева Г.Л. Сергушев С.Г. Шабалин В.Н.

Способ диагностики злокачественных новообразований органа зрения. Патент 2205405. 2003.

Проводят микроскопическое исследование слезной жидкости, при этом слезу берут атравматично в объеме не менее 0,25 мл, встряхивают ее в течение 2 минут, наносят 0,01-0,02 мл на поверхность предметного стекла в форме капли, высушивают при температуре 20-30°C в течение 1-2 часов и при наличии в краевой зоне капли очагов деструкции с неравномерной пигментацией по их контуру диагностируют злокачественное новообразование органа зрения.

7.5 Диагностика онкологических заболеваний методом кристаллизации различных биожидкостей.

1991-Москва, МОНИКИ

Шатохина С.Н.

Структурно-оптические параметры спинномозговой жидкости у больных с опухолями головного мозга. В сборнике научных трудов института повышения квалификации руководящих работников и специалистов. Химки. 1991. Вып.5. с.89-91.

2010-Пермь, ПГМА

Смирнов Ю.М. Курбатова Л.А,

Способ диагностики опухолевых заболеваний и заболеваний центральной нервной системы. Патент 2441241. 2010.

Сущность способа заключается в том, что в каплю ликвора пациента вводят раствор нингидрина и дополнительно добавляют экстракт спиртовой вытяжки иммуностимулирующих растений-омелы, василистника или барвинка, высушивают смесь методом тезиграфии. Далее проводят визуальный анализ полученных кристаллов.

2011-Ростов-на-Дону, НИИ онкологии

Сидоренко Ю.С. Неродо Г.А. Голотина Л.Ю. Ушакова Н.Д. Меньшенина А.П. Шихлярова А.И. Куркина Т.А. Леонтьева Д.В.

Способ прогнозирования эффективности противоопухолевого лечения. Патент 2411913. 2011.+

Для прогнозирования эффективности противоопухолевого лечения исследуют экссудат из брюшной полости. Методом фильтрационной детоксикации получают белковый концентрат асцитической жидкости, используемый для экстракорпоральной инкубации с цитостатиками и проведения внутрибрюшинной химиотерапии. Предварительно определяют тип структуропостроения твердотельной фазы концентрата и устойчивость системных и подсистемных признаков. Сохранение физиологически устойчивого радиального или частично радиального типа фазы концентрата асцитической жидкости с формированием мономорфных отдельностей и конкреций является прогностическим признаком максимальной эффективности аутоасцитохимиотерапии-полной регрессии опухоли. Патологически неустойчивый иррадиальный и циркулярный тип фазы белкового концентрата с полиморфными структурами отдельностей и конкреций определяет прогноз эффективности лечения в виде частичной регрессии опухоли. Патологически устойчивая структура с иррадиальным, циркулярным типом и типом «двойной фазы» без сохранения подсистемных признаков конкреций и отдельностей указывает на соответствие эффекту стабилизации опухолевого роста.

7.6 Диагностика рака молочной железы.

2010-Ростов-на-Дону, НИИ Онкологии

Шихлярова А.И. Луганская Р.С. Кучкина Л.П. Лисукин А.Э. Босенко Е.С.

Изменение структуры фаций сыворотки крови при оценке системных и локальных процессов при рецидивах рака молочной железы. Материалы VI съезда онкологов и радиологов стран СНГ. Душанбе. 1-4 октября 2010. с.76.

Машурова С.А. Кечеджиева С.М. Салатов Р.Н. Шихлярова А.И. Аушева Т.В.

Некоторые особенности системной самоорганизации сыворотки крови у больных с опухолями мягких тканей и молочной железы с отдаленными метастазами. Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки. 2011. №4. с.117-121.

7.7 Сравнение различных методов диагностики.

Диагностику состояния организма на основе анализа крови применяют уже давно. С возникновением новых технологий и с накоплением новых знаний возникают новые методы диагностики по состоянию крови. Можно выделить следующие методы:

- 1-Биохимический метод исследования крови-общепринятый метод,
- 2-СОЭ-скорость оседания эритроцитов-общепринятый метод,
- 3-Дегидратация сыворотки крови на предметном стекле-широко изучаемый метод,
- 4-Дегидратация цельной крови на предметном стекле (тест Боленга),
- 5-Исследование живой крови под микроскопом (гемосканирование),
- 6-Спектральные методы исследования крови (оптическая спектроскопия, БИК-спектроскопия, ИК спектроскопия, КР-Рамановская спектроскопия),
- 7-Люминесцентная спектроскопия,
- 8-ЛКС-лазерная корреляционная спектроскопия.
- 9-Рефрактометрия-измерение показателя преломления биожидкостей.

Разумеется, не существует универсального или лучшего метода. Каждый из методов имеет свои достоинства и недостатки. Все методы взаимно дополняют друг друга. Все методы являются взаимодополняющими а не взаимоисключающими. У каждого метода имеются свои преимущества и недостатки. Наиболее полная оценка состояния крови получается только при комплексном использовании различных методов.

Однако, необходимо заметить, что при возникновении заболеваний или различных отклонений в состоянии организма, вначале происходят изменения физических свойств крови, изменяется структура белков и альбумина. Следовательно изменяются физические свойства крови-вязкость, показатель преломления, спектральные свойства. Только когда развитие заболевания переходит на более сильную стадию, начинают происходить биохимические изменения в крови. Таким образом получаем, что диагностирование на основе измерения физических свойств крови позволяет выявлять отклонения организма от нормального состояния на более ранних стадиях.

7.7.1 Сравнение диагностики методом дегидратации с биохимическими методами.

Биохимические методы диагностики очень мощные, но необходимо понимать разницу между мощностью метода и практическим применением метода. С помощью биохимических методов можно провести диагностику очень многих заболеваний, но имеются некоторые тонкости.

1-Стоимость. Диагностика каждого параметра при биохимических исследованиях стоит дополнительных реагентов, значит дополнительных денег. Диагностика методом дегидратации не требует реагентов, стоимость затрат-это стоимость предметного и покровного стекла-

примерно 2 рубля. Для диагностики методом дегидратации нет необходимости приобретать дорогостоящее оборудование. Диагностику можно производить на обычных микроскопах, которые уже имеются в каждой лаборатории.

2-Оперативность. Проведение биохимических анализов-длительная процедура.

Диагностика методом дегидратации-оперативна, диагноз можно поставить в течении одного часа.

3-Комплексность. Так как диагностика каждого параметра это дополнительная стоимость анализа, то нет возможности для всех пациентов производить диагностику по всем параметрам. Врачу приходится ограничивать количество параметров, назначаемых на обследование. К сожалению, не всегда удастся правильно угадать параметры, значения которых находятся вне нормы. При диагностике по сухой капле нет необходимости назначать параметры исследования, диагностика всегда происходит по всем параметрам. Структура капли сама выявляет отклонения от нормы. Например, при кристаллизации можно сразу наблюдать область с эфирами холестерина. Стандартными методами проанализировать количество эфиров холестерина сложно.

4-Оценка результатов анализа. Стандартное принятие решения осуществляется по одному параметру-норма или нет. Более точным является разбиение области значения параметра на три области-норма, слабые отклонения от нормы, патологические отклонения.

Еще более точным подходом является учет пола и возраста пациента при оценке значения параметра. Это связано с тем, что нормальные значения различны для мужчин и женщин, а так же зависят от возраста.

Для диагностики некоторых нарушений в функционировании организма необходимо судить не по величине одного какого-то параметра (норма или нет), а оценивать значения нескольких параметров одновременно. Возможны случаи, когда каждый отдельный параметр находится в норме, а их комбинация-соответствует некоторой патологии.

Пример 1. При ХС=6,48, ЛПВП-1,04-оба показателя находятся в норме, а индекс атерогенности равен 5,23, что значительно превышает норму.

Пример 2. На трехфазной диаграмме вода-холестерин-лецитин имеется только маленькая область, в которой холестерин растворим. При остальных комбинациях параметров холестерин выпадает в осадок.

При анализе структуры капли мы судим не о концентрации отдельных компонент, а о процессах, которые происходят в организме. Прежде всего можно судить о процессах кристаллизации различных веществ, которые являются причинами многих заболеваний.

5-Точность. Биохимические анализаторы обеспечивают достаточно высокую точность определения концентрации отдельных веществ. Хотя на основе метода определения концентрации-проведение химической реакции и фотометрическое определение концентрации результата, можно предположить, что точности более 10% вряд ли удастся достигнуть.

Методом дегидратации можно выявлять малые концентрации веществ. Но дело в том, что способность кристаллизоваться зависит не только от концентрации вещества, но и от того, в каком состоянии и в каких связях находится данное вещество в сыворотке крови. Поэтому точности трудно сравнивать.

6-Интегральная оценка состояния организма. Даже если все параметры в норме, нельзя сказать, что человек здоров. При диагностике по сухой капле можно судить об общем состоянии организма, о степени отклонения состояния от нормы. Возможно так же судит об устойчивости этого состояния.

У метода кристаллизации необходимо отметить следующую особенность-отсутствие идентичности результатов. Отсутствует именно идентичность, а не воспроизводимость. Это означает, что если раскапать 10 капель одной и той же сыворотки крови, то результаты кристаллизации будут несколько различаться. Это объясняется тем, что на результат кристаллизации оказывает влияние очень много факторов-чистота поверхности стекла (она разная в различных местах), сама процедура нанесения капли, с какого места в пробирке произвели забор капли микродозатором, и т.д. В одних случаях может произойти образование сферолитов, а в других случаях сферолиты не образуются. Важным фактором является большая

неоднородность состава крови. Если в крови начинают происходить какие-то патологические процессы, то изменяется (портится) не вся кровь сразу. Часть крови-нормальная, а часть крови имеет некоторые отклонения по структуре. Более того, степень отклонения можно определять по доле отклонений в количестве проанализированных капель. Например, если морщины образовались только в одной из десяти раскапанных капель, то степень отклонения маленькая. Если же морщины образовались во всех десяти случаях-то степень отклонения от нормы очень высокая. Получается, что чем большее количество капель сыворотки крови некоторого пациента будет проанализировано, тем более достоверную оценку его состояния можно получить.

7.7.2 Дополнительные изображения.

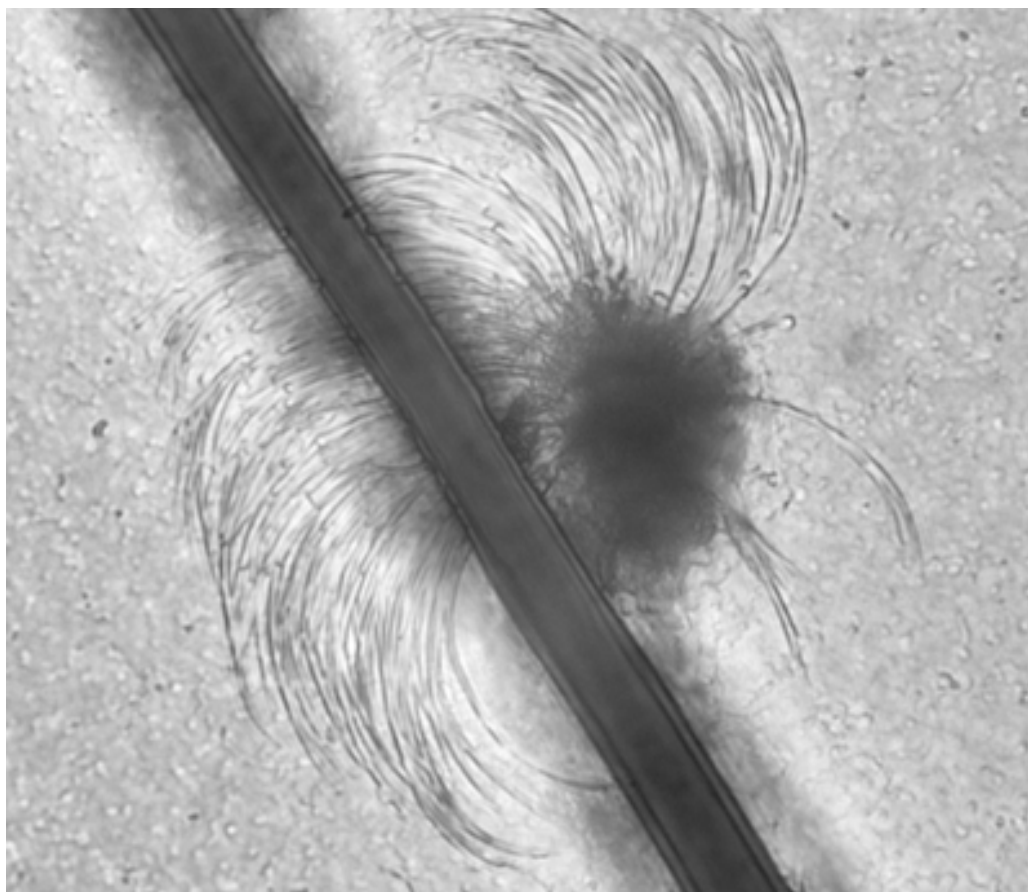


Рис. 7-7-1. Неизвестный объект, застыл в геле и был рассечен трещиной. Поле зрения 0,2мм.

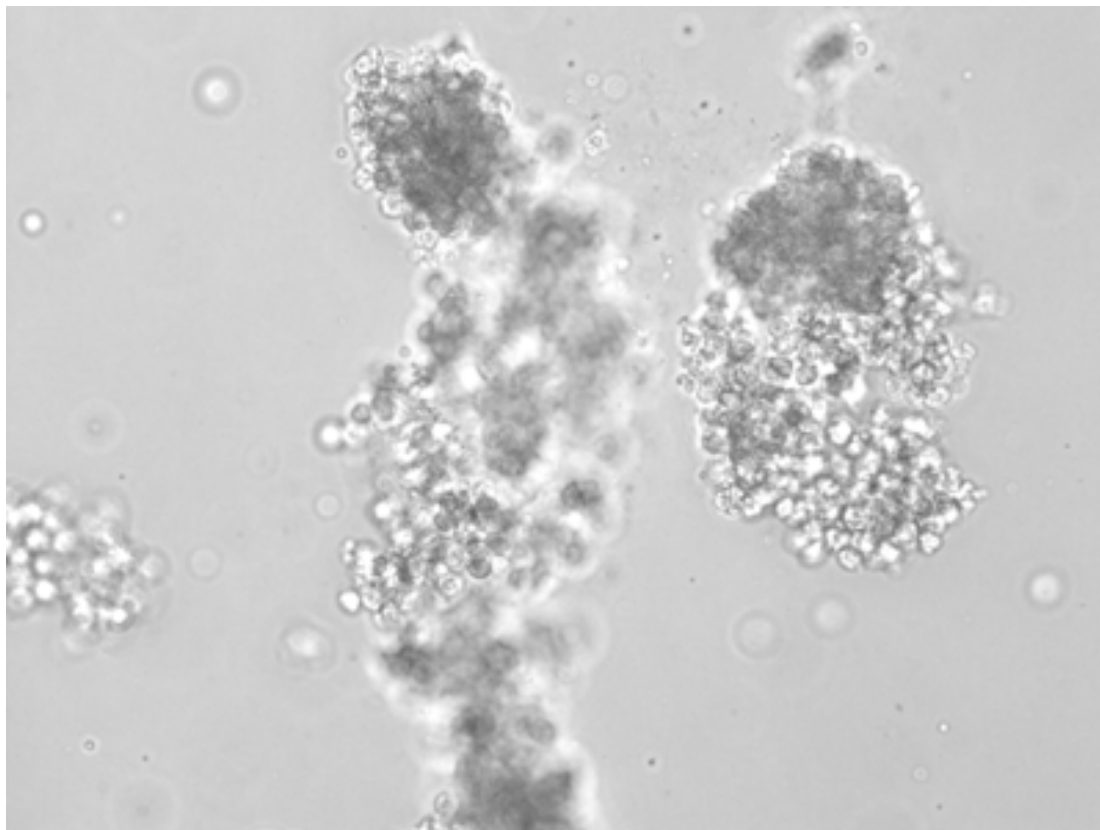


Рис. 7-7-2. Агрегаты. Поле зрения 0,7мм

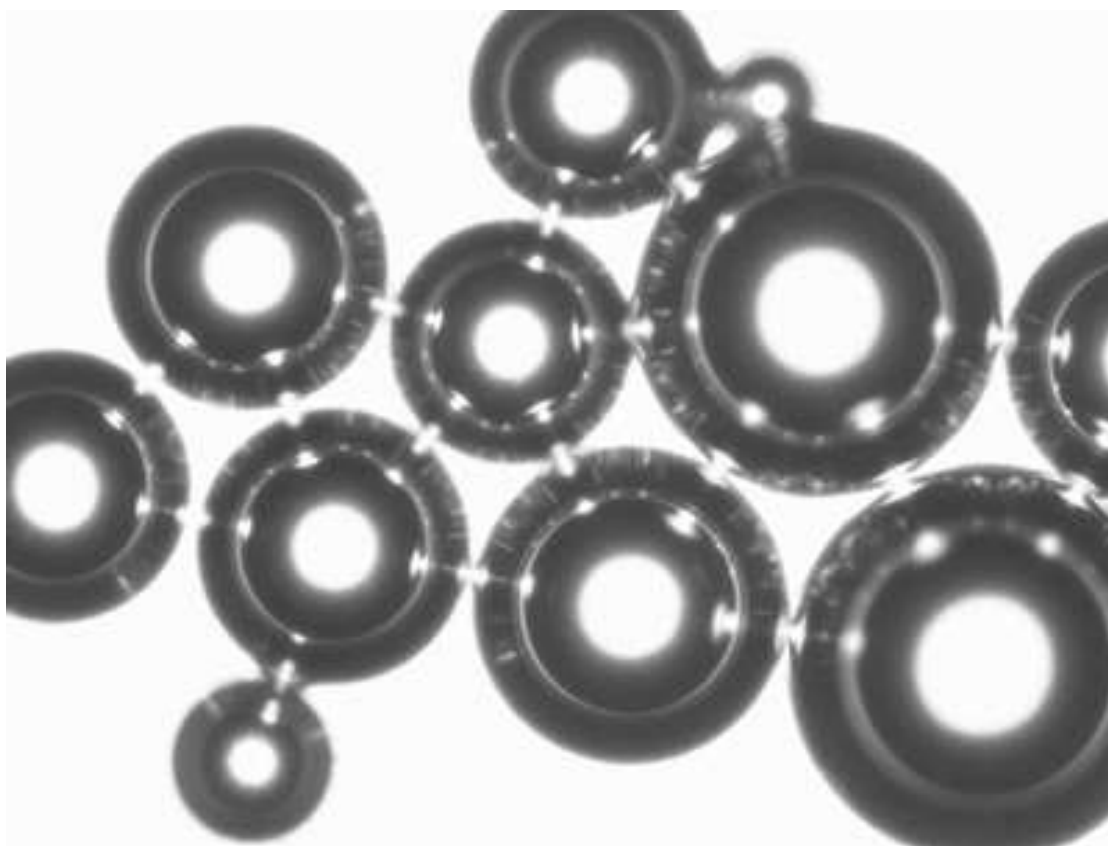


Рис. 7-7-3. Пузырьки воздуха в капле сразу после раскапывания. Поле зрения 1,5мм.

Глава 8. Исследование капли высушенной крови, Dry Blood Analysis, HLB test, Bolen test.

Методика проведения теста по исследованию капли высушенной капиллярной крови. Палец для взятия крови очищают с помощью спирта, и прокалывают скарификатором. Капля свежееобразованной крови выдерживается 20-60 секунд на кончике пальца, где был осуществлен прокол кожи.

Очень важным моментом является процесс нанесения капли на стекло. Наносимая капля не должна быть очень толстой. Если капля достаточно толстая, то капля больного раком может иметь нормальную структуру. Если прокол слабый, то необходимо дополнительное сильное нажатие на палец для получения достаточного количества крови. Это приводит к наличию большого количества сыворотки в капле. Это в свою очередь приводит к образованию светлых зон в структуре капли, которые аналогичны тем, что появляются при заболеваниях раком.

От 8 до 10 капель крови наносят на предметное стекло и дают высохнуть. Обычно процесс высыхания капли занимает 5-10 минут. Слайд затем исследуют под микроскопом при 10х или 20х кратном увеличении, и анализируют структуру кластеров эритроцитов и образований фибрина. У здоровой крови формируется равномерная структура без светлых полей полимеризованного белка, с однородной красно-розовой окраской.

Было обнаружено, что структура капли здоровых пациентов и пациентов с онкологическими заболеваниями значительно отличаются. Чем более однородна структура высохшей капли, тем более нормальное состояние. Если в структуре капли имеются нарушения однородной структуры-это свидетельствует об отклонении от нормального состояния.

Некоторые считают, что структура капли крови как голограмма отражает состояние различных органов (аналогично строению рисунка газа в иридологии). Капли так же отражают временные аспекты. Первая капля отражает состояние в текущий день. Последние капли отражают состояние пациента многие месяцы или даже годы тому назад.

В некоторых работах проводилось сравнительное исследование теста Болена и других тестов. Оказалось, что результаты теста Болена коррелируют со стандартным седиментационным тестом (СОЭ-скорость оседания эритроцитов). Однако, проведение теста Болена гораздо проще, чем выполнение теста СОЭ.

Тест положителен не только при развитии опухоли, но и у беременных. Биохимической основой его оказалось повышение в крови содержания фибриногена, что придает высохшим на стекле отпечаткам капель нативной крови особую форму-«лагун». У здоровых людей отпечатки на стекле сплошные.

Структура высохшей капли крови связана с различными свойствами крови:

- Седиментационный тест, СОЭ-скорость оседания эритроцитов,
- свертываемость крови,
- агрегационная способность эритроцитов, связанная с изменениями антигенного, фосфолипидного и олигосахаридного состава мембран эритроцитарных и других типов клеток, развивающимися в процессе онкопатогенеза.
- реологические свойства крови, вязкость крови,
- структура и свойства белков (альбумина) в плазме крови,
- наличие и количество молекул средней массы в сыворотке крови,
- концентрация и свойства фибрина в сыворотке крови,
- окислительно-восстановительный потенциал крови,

Известно, что мембраны эритроцитов связывают эндотоксины плазмы крови.

-Смирнов И.Ю. Левин В.Н. Здюмаева Н.П. Метод сравнительной оценки адсорбированных белков на поверхности эритроцитов по данным импедансной спектроскопии. Клиническая лабораторная диагностика. 2004. №11. с.42-45.

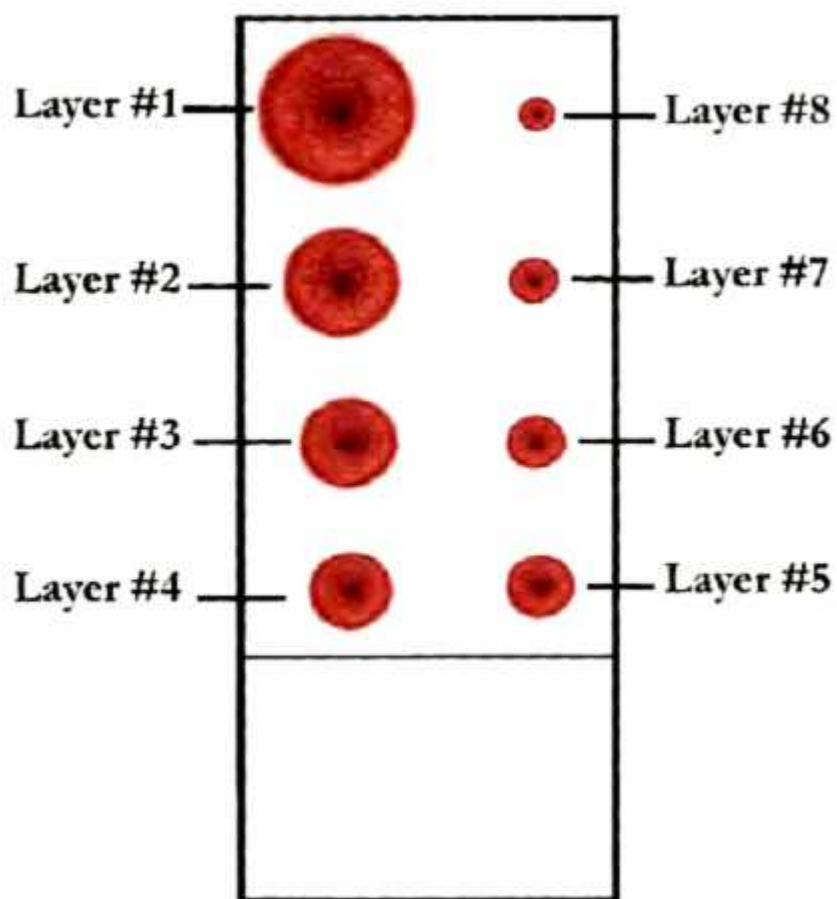


Рис. 8-1-1. Структура препарата для проведения теста Болен.

Тест Болен применяется в Европе с 1920-х годов, и в настоящее время применяется в сотнях клиник в различных странах: Германия, Франция, Швейцария, Голландия, Скандинавия, Италия, Португалия, США, Бразилия, Канада, Мексика.

8.1 Диагностика по капле цельной крови. Тест Болен.

-Тест Болен-HLB Test-капля крови высушивается на предметном стекле.

Используются три варианта расшифровка аббревиатуры HLB,

-Dr. Heinz Heitan, Dr. Phillipe de LaGarde, Dr. H. Leonard Bolen,

-H. Leonard Bolen,

-Heitan-LeGuard-Bradford.

Для метода исследования капли высушенной крови в различных работах используют различные названия:

-Bolen Test-Тест Болен,

-HLB Test,

-DBA Test-Dried Blood Analysis,

-DBCA-Dry Blood Cell Analysis,

-Dry Layered Blood Analysis-многоуровневый анализ высохшей крови,

-Dried-Layer-Blood-Test,

-DLT-Dried Layer Test,

-Bradford Peripheral Blood Assessments,

-Bradford Blood Test,

-Peripheral Coagulation Assessment,

-HLB Peripeheral Blood Assessment,

-HLB-Gerinnungstest,

-Bolen-Heitan-Test,

-OST (Oxidative Stress Test)-тест окислительного стресса-Schwerdtle & Arnoul, 1990,

-Clot Retraction Blood Test,

-Dry Blood Imaging.

-Haemoview-Test,

-Blood Crystallization Test,

-BPA-Blood Pattern Analysis.

Иногда используется аббревиатура PPP, которая расшифровывается различным образом:

PPP-Polymerized protein puddles

PPP-Platelete poor plasma

PPP-Patterns& white "protein pool".

1920-Enderlein, (Germany)

Немецкий ученый Gunter Enderlein (1872-1968) в 1920 году заметил, что нарушения в состоянии организма вызывают нарушения узора в капле высохшей крови.

1939-Emanuel Goldberger, (New York, USA)

Работы по изучению высохшей капли крови начинает в 1939 году Dr. med. Emanuel Goldberger, MD, Kings County Hospital Brooklyn, N. Y. Он использует таст на высыхание капли крови как экспресс тест для определения скорости оседания эритроцитов.

1939-E. Goldberger. A rapid bedside test for measuring sedimentation test. New York State. J. Medicine. May. 1. 1939. p.367-369.+

В работе выделяются следующие причины, влияющие на структуру высохшей капли:

1-скорость седиментации эритроцитов

2-время коагуляции,

3-степень агглютинации эритроцитов,

4-скорость высыхания капли крови.

1942-Gruner Oskar Cameron, (Montreal, Canada)

1942-Gruner O.C. A Study of the Blood in Cancer. Montreal. Renouf Publ. Company. 1942. cg. II. p.17.

1946-Gruner O.C. A Study of the Blood in Cancer. 2nd ed. Montreal. Renouf Publ. Company. 1946. cg. II. p.17.

1949-Gruner O.C. Postscript to 2nd edition: The Blood in Cancer. P.83. Montreal. 1949. Renouf Publishing Company.

1950-Gruner O.C. Guide-Book for making the microscopic study of the blood for the detection of Cancer, 1950.

1930-Dr. Heitan and Dr. La Garde, (USA)

Доктор Dr. Heitan and Dr. И его ученик La Garde представили тест в 1930-х годах.

1942-Н. Leonard Bolen (USA)

С 1930-го по 1950-й годы **Dr. Bolen**-хирург в Massachusetts General Hospital описал процедуру диагностики по капле высушенной крови (после обучения в Европе у личных врачей президента Дуайта Эйзенхауэра-**Dr. Heitan** and **Dr. La Garde**). В 1942 году американский хирург Н. Leonard Bolen (Massachusetts)-использовал кристаллизацию капли цельной крови для диагностики раковых заболеваний (HLB blood test-тест Болена). Он высушивал каплю крови на фольге.

1942-Bolen, H. L.: The Blood Pattern as a Clue to the Diagnosis of Malignant Disease, J. Lab. & Clin. Med. 27: p.1522-1536, **1942**;

1944-Bolen, H. L.: Diagnostic Value of Blood Studies in Malignancy of the Gastrointestinal Tract. American Journal Surg. Med. New Series. Vol. LXIII, No. 3. p.316-323, **1944**; +

1950-Bolen H.L. Diagnostic value of the blood pattern in cancer. Am J Surg. **1950** Nov; 80(5): 505-513.

1952-Bolen H.L. The blood pattern in presymptomatic malignancy of the gastrointestinal tract. The American Journal of digestive diseases. **1952** May; 19(5): p.127-130.+

1953-Bolen H.L. A review of experience with the blood pattern test from 1939 to 1953. American Journal Surg. **1953** Feb; 87(2): p.205-210.

Таблица 4-1. Обзор применения теста Болена за период 1942-1953 год.

Date	Authors	No. of Patients with (?) Cancer	Percentage with Positive Pattern
1942	Bolen ¹	140	91.4
1943	Girón ³	150	90.4
1943	Coltman ⁴	35	97.0
1949	Gruner ⁵	2,500	98.8
1950	Norman and Slicher ⁶	350	97.0
1950	Finnegan et al. ⁷	25	53.0
1950	Black and Speer ⁸	100	80.0
1950	Inkley et al. ⁹	100	88.0
1950	Bolen ¹⁰	198	96.5
1950	Lind and Ashley ²⁰	346	63.5
1951	Hawk et al. ²	157	97.0
1951	Nickel et al. ¹¹	48	100.0
1952	Slicher ¹²	not stated	circa 97.0
1952	Wainrach ¹³	125	80.0
1952	Cerroni and Doni ¹⁴	30	100.0
1952	Papaloukas ¹⁵	3,633 (total cases seen)	98.73
1952	White et al. ¹⁶	75	46.7
1952	Vaughn et al. ¹⁷	43	81.4
1952	Gruber and Huppertz ¹⁸	15	100.0
1953	Schmidt-Ueberreiter ²¹	123	86.0

В дальнейшем **Dr. Heinz Heitan** и его ученик **Philippe Lagarde** продолжили развитие метода. Они создали "Microphotographic Analysis in Color" для выявления рака и беременности. Немецкий врач Dr. Heinz Heitan сообщил об этом методе на конференции рака в Вене в 1954 году.

1950-Hawk Bray O. (Department of Surgery and Medicine, St. Louis University School of Medicine, St. Louis, Mo. USA)

1950-Hawk, B. O. Inkley John J. Thoma George E.

An Evaluation of the Blood Droplet Pattern in Malignancy (Preliminary Report). The Bulletin, St. Louis Univ. Hospital, 2: p.78-81, 1950.

1950-Finnegan J.V. Brockland I. Muether R.O. Hawk B.O. Inkley J.J. Thoma G.E.

Comparison of Huggins' tests with sedimentation rate, Weltmann reaction, and the Bolen test in cancer. J Lab Clin Med. 1950 May; 35(5): p.708-712.

1950-Hawk, B. O. Inkley, J. J. and Thoma, G. E.

Experience with the Bolen Test in St. Louis University Hospitals, Tumor Teaching Conference Report No. 91, Firmin Desloge Hospital, St. Louis, July 13, 1950.

1950-Inkley J.J. Hawk B.O. Thoma G.E.

An Evaluation of the Blood Droplet Patterns in Malignancy (Preliminary Report). The Bulletin, St. Louis U. Hospital. 2: p.78-81. 1950.

1951-**Bray O. Hawk**, George E. Thoma, John J. Inkley

An Evaluation of the Bolen Test as a Screening Test for Malignancy. Cancer Research 1951; 11: p.157-160.+

Таблица 4-2. Применение теста Болена различными авторами.

**RESULTS REPORTED IN THE LITERATURE OF THE
BLOOD PATTERN IN MALIGNANCY**

Year	Author	No. cancer patients	Per cent positive pattern
1942	Bolen (2)	140	91
1943	Giron (5)	150	90
1943	Coltman (3)	35	97
1950	Inkley <i>et al.</i> (6)	100	88
1950	Finnegan <i>et al.</i> (4)	25	53
1950	Black and Speer (1)	100	80
1950	Present paper	157	87

1943-Coltman H.B. (USA)

-Coltman H.B. The Pattern of a Dried Drop of Blood in Malignancy. Hahnemannian Monthly, 78: p.299-307. 1943.

1943-Giron M.A.

-Giron M.A. Thesis: La Eritrosedimentation en cota gruesa como guia en el diagnostico del cancer. Guatemala. July. 1943.

1950-Norman N.P. Slicher A.M. (New York, USA)

-N. Philip Norman, Anna M. Slicher. A practical and inexpensive "screen test" for cancer. American Journal Digestive Diseases 1950. February. 17 (2). p.31-37. +

Проведено обследование 350 пациентов. Изучена структура 4.000 капель сухой крови. Получено совпадение с клиническими диагнозами в 97% случаев.

-Slicher A/M/ A simple screen test for cancer. American Journal M. Technol. 18: p.23-26. 1952.

1950-Lind H.

-Lind H. Ashley O. Limitations of blood smear examination by the Bolen technique for the detection of malignancy. Laboratory Digest. April. 1950.

**1951-Allen C. Nickel, Richard Berger, Phyllis Brickley
(Caylor-Nickel Clinic, Bluffton, Indiana, USA)**

-Nickel A.C. Berger R. Brickley P.

The "Bolen test" in the diagnosis of neoplasms. American Journal Digestive Diseases 1951 May; 18(5): p.150-151.+

1952-Cerroni L. Doni C, (Napoli, Italy)

-Cerroni L. Doni C. Bolen test in malignant neoplasms. *Progresso Medico* (Napoli). 1952 May 15; 8(9): 260-263.

-Cerroni L. Doni C. "II. Bolen test in malignant neoplasms". *Prog Med* (Napoli). 1952 9, 260, 1952.

Проводили сравнительное исследование двух тестов: тест Болена, и СОЭ-скорость оседания эритроцитов. Показано, что высокая скорость оседания эритроцитов соответствует положительному тесту Болена. Отмечается, что проведение теста Болена более просто, чем СОЭ.

-Cerroni L. Doni C. Abstract. *Progr. Med. Napoli*. 8: 257-288. 1952. *J.A.M.A.* 150: 1054. November 8. 1952.

1952-Fort Howard, Maryland, USA

-Beverly H. White, Robert R. Rector, Joseph M. Miller, William A. Oktavec. The Bolen test for cancer. *American Journal of Surgery*. September. 1952. p.356-357.+

1952-Bourgoism, (France)

1953-Bourgois: Blood crystallization in cancer. *L'Homeopathie France*. (1953, 12, 01) 06/1952 May; 40(5): p.291-300.

1954--Bourgois. *Diagnostic Procece et Traitement du Cancer*. Paris 1954.

1952-Gruber H.L. Huppertz A.

Beitrag zur Carcinomdiagnose durch Bolen-Test. *Arztliche Wochenschrift* 1952 Nov 28; 7(48): p.1130-1132. The Bolen test in diagnosis of carcinoma.

1952-Szegvari M.

Szegvari M. Usefulness of the Bolen-test in cancer screening examinations. *Orv Hetil*. 1952 Jul 27; 93(30): p.872-874.

1952-Departments of Surgery and Physiology, Stritch School of Medicine of Loyola University, Mercy and Cook County Hospitals, Chicago, USA

Vaughn Arkell M. Metzner Wesley R. Annan Cornelius M.

An evaluation of the Bolen blood pattern test for detecting cancer. *Am. J. Surg*. 1952. Dec; 84(6): p.641-645.

1952-Wainrach S. (Uruguay)

Wainrach S. Bolen's test in the diagnosis of cancer; clinical application and use in mass screening. *Arch Urug Med Cir Espec*. 1952 May; 40(5): p.406-419.

Wainrach S. El test de Bolen para el diagnostico del cancer-su aplicacion a la clinica y al studio de colectividades. *Arch. Urug. De med. cir. Y especialido*, 40: p.3-16, 1952.

1952-White B.H. Rector R.R. Miller J.M. Oktavec W.A. Jr. (USA)

The Bolen test for cancer. *Am. J. Surg*. 1952 Sep; 84(3): p.356-357.

1953-Schmidt-Ueberreiter E. The value of the blood pattern method. *Med. Klin*. January. 1953.

1953-Bialkowska J., (Poland)

Usefulness of Bolen's test in early diagnosis of cancer. *Pol Arch Med Wewn*. 1953;23(4a): p.541-542.

1953-De Barbosa NC. (Brasil)

The Bolen test. *Rev Bras Med*. 1953 May;10(5): p.322-328.

1953-Dovifat B.

Efficacy of Bolen's carcinoma test in the clinical diagnosis. Z Krebsforsch. 1953; 59(4): p.496-515.

1953-Gerke J.:

On a new test for early diagnosis of carcinoma. Zahnarztl Welt. 1953 Sep 10; 8(17): p.413-416.

1953-Hilpoltsteiner H.Jr.

Evaluation of Bolen's blood tests. Med Monatsschr. 1953 Dec; 7(12): p.789-790.

1953-Osten W.:

Critical considerations on Bolen's cancer test. Z Krebsforsch. 1953; 59(3): p.310-5.

1953-Pribilla W, Richarz G, Sigrist M. (Germany)

Results with Bolen's test. Munch Med Wochenschr. 1953 Nov 20; 95(47): p.1273.

1953-Sommer F.

Evaluation of Bolen's dried blood test in genital carcinoma in women. Zentralbl Gynakol. 1953; 75(39): p.1545-1549.

1953-Schmidt-Uberreiter E. (Medizinische Klinik, Munich, Germany)

Value of the Bolen's blood drop test in diagnosis of the cancer. Medizinische Klinik (Munich). 1953 Jan 30; 48(5): p.138-141.

1953-Schmidt-Uberreiter E.

Comparative study of three laboratory methods used in the diagnosis of cancer; urine precipitation, blood sedimentation and Bolen test. Medizinische Klinik (Munich). 1953 May 8; 48(19): p.659-664.

1954-Schmidt-Uberreiter E. Peer R.

Bolen's test in blood donors. Medizinische Klinik (Munich). 1954 Jan 8; 49(2): p.71-73.

1953-Bonenfant J.L. (Canada)

Evaluation of the Bolen test in detection of cancer. Union Med Can. 1953 Sep; 82(9): p.1004-1006.

1955-Bonenfant J.L.

Evaluation of the Bolen test in relation to erythrocyte sedimentation rate. Union Med Can. 1955 Apr; 84(4): p.401-404.

1954-Baemer J. Voigt E.

Diagnostic value of Bolen's blood drop test in cancer. Krebsarzt. 1954 Jun; 9(3): p.161-164.

1954-Dihlmann W. (Germany)

Importance of the Bolen test in general practice. Z Arztl Fortbild (Jena). 1954 Nov 1; 48(21): p.727-728.

1954-Engel G. (Germany)

Our test results with the blood coagulation sample by Bohlen. Dtsch Gesundheitsw. 1954 Dec 16; 9(50): p.1505-1511.

1954-Glockner U.

Diagnosis of carcinoma and Bolen test. Zentralbl Chir. 1954; 79(19): p.791-798.

1954-Gunthner W. (Munich, Germany)

Experience with the Bolen test. Munch Med Wochenschr. 1954 Feb 19; 96(8): p.202-203.

1954-Kuppi H.

Comparative study of blood sedimentation reaction and Bolen's test as a contribution to the cancer diagnosis. Z Gesamte Inn Med. 1954 Mar 1; 9(5): p.242-248.

1954-Pajkrtova B. (Czechoslovakia)

Bolen test in diagnosis of malignant neoplasms. Casopis Lekarů Ceských 1954 Jul 9; 93(28): p.773-775.

1954-Paschen H.W.

The usefulness of the Bolen's test for the gynecologist in early diagnosis of the cancer. Arztl Forsch. 1954 Oct 10; 8(10): I/ p.463-468.

1954-Szysko S, Plewinski G. (Poland)

Diagnostic value of Bolen's test. Pol Tyg Lek (Wars). 1954 Aug 9; 9(32): p.1002-3.

1954-Wynne E.S., Gott C.L., Russell W.O.:

Microbiological studies of blood in cancer. Cancer Res. 1954 Nov; 14(10): p.745-748.

1955-Dr. Kristen Austerheim, (Patological Department, Gade Institute. University of Bergen, Norway)

1955-K. Austerheim. Blood test for cancer. Foreign letters. J.A.M.A. June 25. 1955. p.685.+

В работе проводилось сравнение трех диагностических тестов: 1-Black's méthylène blue test, 2-the Black-Kleiner-Bolker heat turbidity test, 3-the Bolen test.

1955-Heitan H.

The diagnostic significance of the blood drop examination in the microscopic color picture of cancer patients. Hippokrates. 1955 Apr 15; 26(7): p.223.

1955-Huttl T, Csillag A, Horvath L, Vadasz J. (Hungary)

On the significance and causes of the variability in pattern of the dried drop of blood; Bolen's test. Acta Med Acad Sci Hung. 1955; 8(3-4): p.309-322.

1955-Longo G. Blandino G. (Italy)

The Bolen test in diagnosis of malignant neoplasms; changes caused by radiotherapy. Minerva Medica. 1955. Jul. 14.

1955-Ochmann G. (Germany)

The value of Bolen's dry blood test in cancer diagnosis. Dtsch Gesundheitsw. 1955 Apr 7; 10(14): p.517-521.

1955-Prochazka M.

Bolen test in everyday medical practice. Prakt Lek. 1955 Aug 20; 35(15-16): p.372-373.

1955-Scheleger D. (Germany)

The usefulness of the blood pattern test for the dental practice. Dtsch Stomatol. 1955 Apr; 5(4): p.210-3. German.

1955-Zum Winkel K. (Germany)

Hematological diagnosis of cancer, Fonti method. Dtsch Gesundheitsw. 1955 Dec 1; 10(48): p.1566-8.

1956-Fazzini ML. (Italy)

Control of Black's and Bolen's tests in patients with cutaneous cancer. Ann Ital Dermatol Sifilogr. 1956 Jan-Dec; 11(1-6): p.78-83.

1956-Gerlich N. Wolf H.J.

Evaluation and usefulness of Bolen blood pattern test in internal diseases. Z Gesamte Inn Med. 1956 Aug 1; 11(15): p.681-686.

1956-Orlando E. D'Antuono G. Del Minno R.

The Bolen test and erythrocyte sedimentation rate. Arch Patol Clin Med. 1956; 32(5): p.374-382.

1956-Seliger H.

Simple test for the diagnosis of carcinoma metastasis. Z Gesamte Inn Med. 1956 Jul 1; 11(13): p.621.

1956-Sinigaglia D.

Value of the Bolen test in diagnosis of neoplasms. Arch Ortop. 1956 Sep-Oct; 69(5): p.491-501.

1957-Braun W. (Germany)

Value of Bolen's test in early diagnosis of carcinoma based on dermatological observations. Dtsch Gesundheitsw. 1957 Jul 25; 12(30): p.913-915.

1958-Fridrich M. Koppermanne E. Petran K.

New diagnostic examinations by the Bolen blood coagulation test and its dependence on the fibrinogen level of the blood plasma. Arztl Forsch. 1958 Jun 10; 12(6): I/ p.273-289.

1959-Bolognesi C. (Italy)

Study on the relation between Bolen's test and blood protein disorder in carcinoma of the larynx. Otorinolaringol Ital. 1959; 28: p.459-465.

1959-Fanzago G. (Italy)

Diagnostic value of the Bolen test in obstetrics & gynecology. Minerva Ginecol. 1959 Feb 15; 11(3): p.107-111.

1959-**Juranyi R.**

On eosinophilia in the positive Bolen native blood coagulation test. Folia Haematol Int Mag Klin Morphol Blutforsch. 1959; 76: p.557-561.

1959-**Juranyi R.**

Experimental studies on healthy and diseased subjects by means of the Bolen thick-drop blood coagulation test. Folia Haematol Int Mag Klin Morphol Blutforsch. 1959; 76: p.223-231.

1962-**Frydl V. (Czechoslovakia)**

Critique of the Bolen test. Cas Lek Cesk. 1962 Sep 14; 101: p.1132-1133.

1962-**Frydl V.**

Criticism of Bolen's test. Z Gesamte Inn Med. 1962 Jul 1; 17: p.589-593.

1960-Scherer E, Hess F.

Current status and problems of cancer tests. Med Welt. 1960 Apr 30; 18: p.951-9.

1962-Micheelsk K.H.

Comparative studies on the Bolen test and the blood sedimentation reaction. Z Gesamte Inn Med. 1962 Feb 15; 17: p.166-168.

1962-Simoncelli C.

On the behavior of the Bolen test in some neoplasms of the cephalic region. Ann Laringol Otol Rinol Faringol. 1962 May-Jun; 61: p.346-354.

1964-Krueckemeyer K. (Germany)

On the histological test for tumor cells in the blood stream. Dtsch Med J. 1964 Nov 5; 15: p.720-723.

1964-Kuhlmey W.

Early diagnosis of carcinoma before clinical manifestations. Krebsarzt. 1964; 19: p.272-276.

1965-Scheller E.F. (Italy)

Possibility of an early diagnosis of cancer through hematologic means. Minerva Medica 1965 May 5; 56: p.1451-1452.

1966-Institute Onkologii, Gliwice, (Poland)

-R. Stiller-Winkler. R. Kuchcinski. Practical value of test of Bolen and Fonti in the diagnosis of neoplasms. Wiadomosci Lekarskie. 1966. XIX, 6, p.481-486.+

В работе проведено исследование 56 здоровых лиц и 54 больных раком. Проводилось два теста: тест Болена и тест Фонти. Оказалось, что тест Фонти не специфичен для опухолевых заболеваний. Тест Болена оказался сравнительно специфическим и технически простым. Поэтому он может найти применение как дополнительный тест при обследовании больных раком.

1966-Robert Bradford,(Chula Vista, California, USA)

В 1966 году Dr. Robert Bradford (1931-1982) (один из учеников Heitan и LaGarde's) усовершенствовал метод анализа сухой капли крови. Он создал и исследовал два функциональных микроскопических теста: Bradford Peripheral Blood Assessment (BPBA)-HLB & HRBM

-HLB test-Heitan/LeGuard/Bradford test-для высушенного образца крови,

-HRBM test-High Resolution Blood Morphology-для живого образца крови.

Эти тесты известны как Bradford Peripheral Blood Assessments и они позволяют выявлять метаболические факторы риска и оценивать окислительный стресс. Методики можно использовать в качестве биологических зондов в оценке интегративной терапии для хронических иммунологических заболеваний. Тесты приняты CLIA(Clinical Laboratory Improvement Amendments) с апреля 1966 года.

Robert Bradford является признанным лидером в области интегративной медицины.

-В 1972 году он основал комитет по свободе выбора в области медицины (Committee for Freedom of Choice in Medicine).

-В 1977 году он основал BRI-Bradford Research Institute, который специализировался на оценке и исследовании биологических и интегративных методов лечения дегенеративных и инфекционных заболеваний, иммунологических, экологических проблем и антивозрастной медицины.

-В 1996 году Robert W. Bradford и Gregory D. Yist запатентовали Variable Projection Microscope (BVPM). Суть изобретения состоит в том, что видеокамера крепится на микроскоп с помощью подвижного устройства, которое обеспечивает переменное увеличение.

-Bradford RW, Yent GD. Microscopy system. Patent No, 5,666,020. Oct 15, 1996.

-Robert W. Bradford, Henry W. Allen. Oxidology: The study of reactive oxygen toxic species (ROTS) and their metabolism in health and disease: the ROTS theory of degenerative disease and the HLB blood test. 1985. 248 p.

1968-Avitabile G, Licenziati M., (Napoli, Italy)

1968-Avitabile G, Licenziati M. The Bolen test in carcinoma of the larynx and in focal tonsillopathies. La Clinica Otorinolaringoiatr. 3: 1968 May-Jun; 20(3): p.235-242. +

1976-Sergel O.S.

1976-Sergel O.S. et all. Examination of blood according to Bolen's method in ambulatory practice. Therapeutic Archive. 1976.

1994-Robert O. Yang, (USA)

Американский доктор Dr Robert O. Young из Valley Center, Californis двадцать пять лет проводил исследования с каплей живой и высушенной крови. Он обучался у Dr. Robert Bradford в Bradford Institute. Он изучал метод темнопольной микроскопии у Dr. Maria Bleker в Essen (Germany). Он предложил новое направление-New Biology. Его выводы относительно применения Mycotoxic Oxidative Stress Test привели к более полному пониманию процессов в крови. В 1994 году он описал трансформацию эритроцитов в бактерии и бактерий в эритроциты.

<http://www.phmiraclemicroscopy.com/bios/young.html>

E-mail: phmiraclesecrets@aol.com

2002-Rubik B., (USA)

В США в Institute for Frontier Science, Oakland, CA, USA специалист Beverly Rubik провел большие исследования метода высушивания капли крови.

-Rubik B. Bioelectromagnetic medicine. Admin. Radiol. J. 1997. XVI: p.38-46.

-Rubik B. Sympathetic Resonance TechnologyTM: Scientific Foundation and Summary of Biologic and Clinical Studies, The Journal of Alternative and Complementary Medicine. December 2002, volume 8, number 6. p.823-856, +

www.clarus.com/articles/file_sOXaB3.pdf-ссылка на статью.

В работе исследуется метод симпатетического резонанса. Метод основан на воздействии на человека низкоуровневым ионизирующим магнитным полем. Для воздействия используется прибор Qlink ClearWave фирмы Clarus Products International (USA). Анализируется адаптация организма к стрессовым воздействиям. Изучалась структура живой капли крови и капли высохшей крови людей, повреждавшихся и не подвергавшихся воздействию прибора.

2003-Universit de Provence, Marseilles, France

Brutin David-<http://iusti.univ-provence.fr/document.php?pagendx=11635&project=iusti>

http://iut.univ-amu.fr/sites/iut.univ-amu.fr/files/brutin_david

Sobac B.-IUSTI, Aix-Marseille Université, UMR 6595 CNRS, Technopôle de Château-Gombert, 5 rue Enrico Fermi, 13453 Marseille, France. benjamin.sobac@polytech.univ-mrs.fr

Совместно со следующими организациями:

Pr. José Sampol, Laboratoire d'Hématologie-Faculté de Pharmacie-27 Bd Jean Moulin-13385 Marseille-France.

Dr. Boris Loquet, Laboratoire d'Analyses Médicale Bio 13-8 avenue de Chateau-Gombert-13013 Marseille-France.

2003-Brutin D. Drop impingement on a deep liquid surface: study of a crater's sinking dynamics, C.R. Mécanique.2003. Vol. 331, (1), p.61-67.

- 2009-Brutin D., Zhu Z.Q., Rahli O., Xie J.C., Liu Q.S., Tadrist L., Sessile Drop in Microgravity: Creation, Contact Angle and Interface, Microgravity Science Technology, 2009. 21 (1), p.67-76.
- 2010- D. Brutin and B. Sobac and B. Loquet and J. Sampol, Patterns Formation in Drying Drops of Blood, Journal of Fluid Mechanics, (2010).
- 2010- D. Brutin, B. Sobac, B. Loquet, J. Sampol. Patterns Formation in Drying Drops of Blood. Conference. 2011.+
- 2010-Brutin D., Zhu Z.Q., Rahli O., Xie J.C., Liu Q.S., Tadrist L., Evaporation of ethanol drops on a heated substrate under microgravity conditions, Microgravity Science and Technology. 2010. Vol. 22 (3), p.387-395.
- 2011-Brutin D. Sobac B. Loquet B. Sampol J. Pattern formation in drying drops of blood, Journal of Fluid Mechanics. 2011. Vol. 667, p.85-95.+
- 2011-Sobac B. Brutin D. Structural and evaporative evolutions in desiccating sessile drops of blood, Physical Review E, Vol. 84, 011603, 2011.
- 2011-Sobac B, Brutin D. Triple-line behavior and wettability controlled by nanocoated substrates: influence on sessile drop evaporation. Langmuir. 2011. Dec 20; 27(24): p.14999-5007.
- 2011-Brutin D. Sobac B. F. Rigollet, C. LeNiliot, Infrared visualization of thermal motion inside a sessile drop deposited onto a heated surface, Experimental Thermal and Fluid Science. 2011. Vol. 35, p.521-530.
- 2012-Diana A., Castillo M., Brutin D., Steinberg T., Sessile Drop Wettability in Normal and Reduced Gravity, Microgravity Science and Technology, Online First, 2012.
- 2012-Brutin D. Sobac B. Nicloux C. Influence of substrate nature on the evaporation of a sessile drop of blood. Journal of Heat Transfer. 2012. Vol. 134, p.061101.+
- 2012-Sobac B, Brutin D. Thermal effects of the substrate on water droplet evaporation. Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys. 2012. Aug; 86(2 Pt 1): p.021602. Epub 2012 Aug 20.
- 2013-W.Bou Zeid. J. Vicente. D. Brutin. Influence of evaporation rate on crack's formation of a drying drop of whole blood. Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects. 2013. 432. p.139-146.+
- 2013-Bouzeid W. Brutin D. Influence of relative humidity on spreading, pattern formation and adhesion of a drying drop of whole blood, Colloids and Surfaces A. 2013. vol. 430, p.1-7.
- 2014-Sobac B. Brutin D. Desiccation of a Sessile Drop of Blood: Cracks, Folds Formation and Delamination, Colloids and Surfaces A, 2014. vol. 448, p.34-44.

<http://iusti.univ-provence.fr/document.php?pagendx=11548&project=iusti>-сайт.

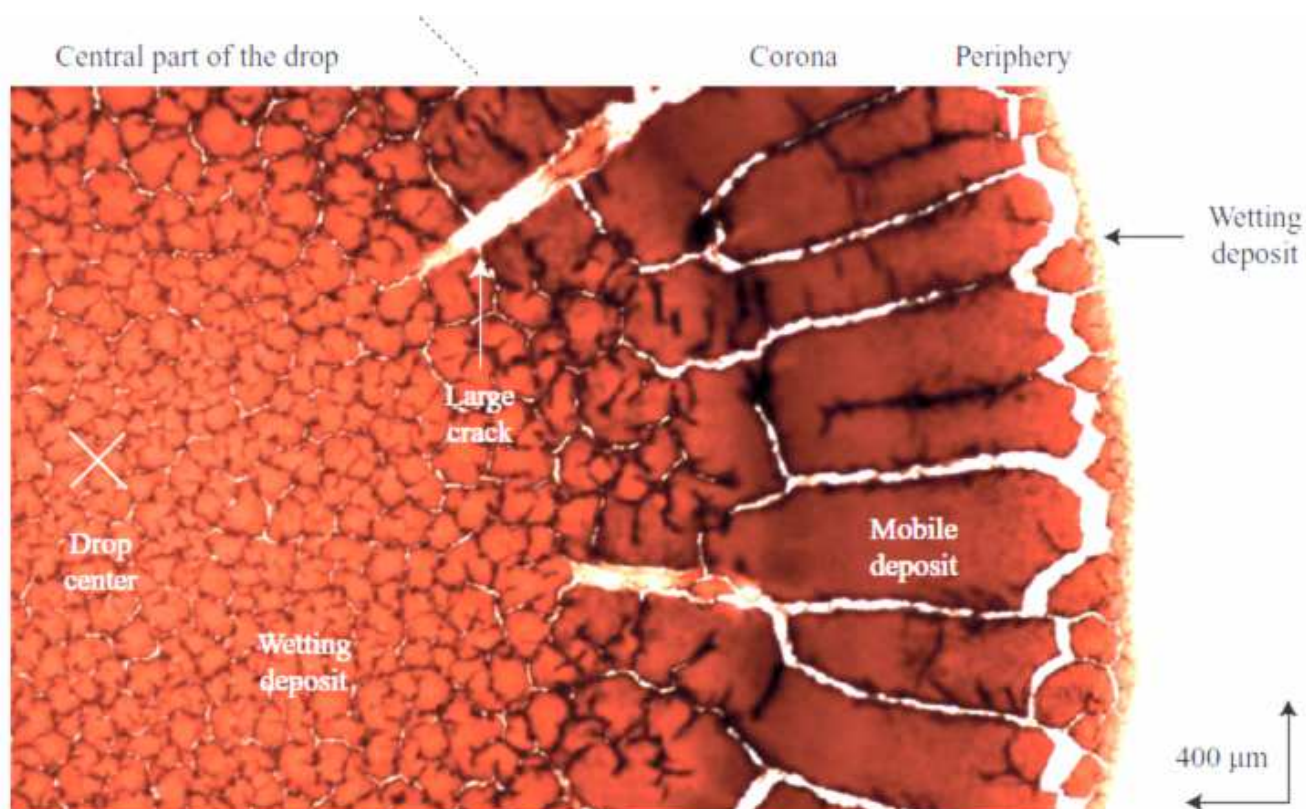


Рис. 8-1-2. Структур высушенной капли крови. Диаметр капли 5,9мм. Температура высушивания 22 градуса. Поле зрения изображения 4,6х3,1мм.

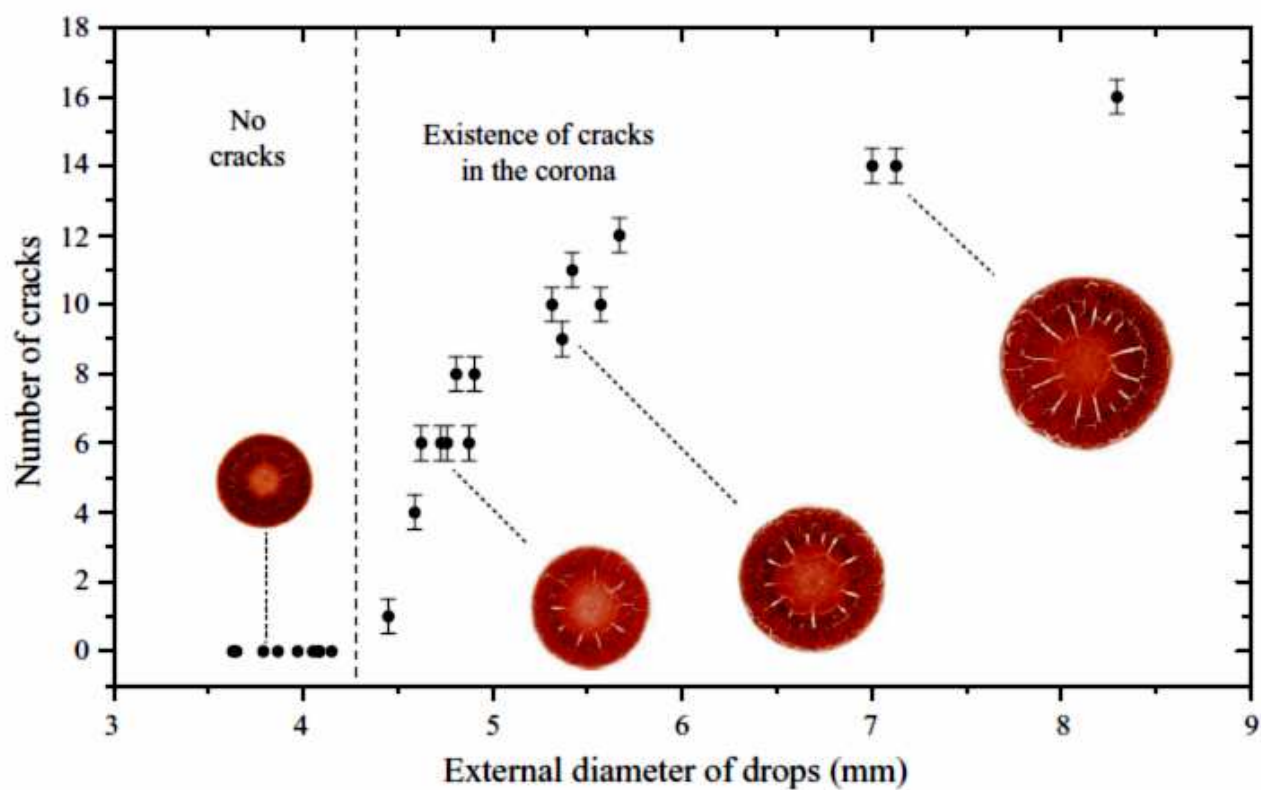


Рис. 8-1-3. Зависимость количества растрескиваний в капле от диаметра капли.

Для более тонкого анализа свойств крови необходимо раскапывать одновременно капли крови различного диаметра. Важными диагностическими характеристиками являются следующие:

- количество трещин в режиме насыщения, при диаметре капли 9мм,
 - динамика нарастания количества трещин в зависимости от диаметра капли, три характерных диаметра:
 - Д1-диаметр, при котором начинается образование трещин,
 - Д2-диаметр, при котором количество трещин достигает $\frac{1}{2}$ от максимального количества трещин,
 - Д3-диаметр, при котором достигается максимальное количество трещин.
-

2004-Aloisio T. Blood Never Lies. Llumina Press. 2004.

2005-von Depka Prondzinski M.: Blood coagulation disorders in oncological patients. Internist (Berl). 2005 Jan; 46(1): p.48-55.

2006-E. Krämer: Leben und Werk von Prof. Dr. phil. Günther Enderlein (1872-1968). Med. Diss. Frankfurt M. 2006. p.235

2006-Pozrikidis, C. 2006 Flipping of an adherent blood platelet over a substrate. J. Fluid Mech. 568, p.161-172.

2007-Park A.: The cancer test. Exposing a growing tumor's secrets may be as simple as drawing blood-and that can save lives. Time. 2007 Jun 25; 169(26): p.53.

2006-фирма Haemoview Science, Vienna, Austria

Фирма Haemoview Science предлагает тест Haemoview-Test-диагностика по капле высушенной крови. <http://haemoview.com>

1. Austrian Research Center Seibersdorf, Vienna, Austria

Siegfried Wassertheurer, Michael Landsiedl. Karoline Pablé

2. Medical University of Vienna, Austria

Verena Haudek, Christopher Gerner,

2006-Siegfried Wassertheurer, Michael Landsiedl, Verena Haudek, Christopher Gerner, Karoline Pablé: Digital Image Acquisition and Analysis Tools for Biomedical Research Applications, Microscopy and Analysis. July 2006, ©2006 John Wiley & Sons, Ltd.

2009-Lecture within the scope of the Cancer Congress in 2009 of the Austrian Society for Oncology: "Der Haemoview-Test in der Diagnose und im Therapieverlauf, Dr. Karoline Pablé"

2013-Michael Landsiedl, Siegfried Wassertheurer, Verena Haudek, Karoline Pablé, Wolfgang Köstler, Tamara Schiesser, Christopher Gerner: Digital Pattern Recognition of Blood Drops. 2013.

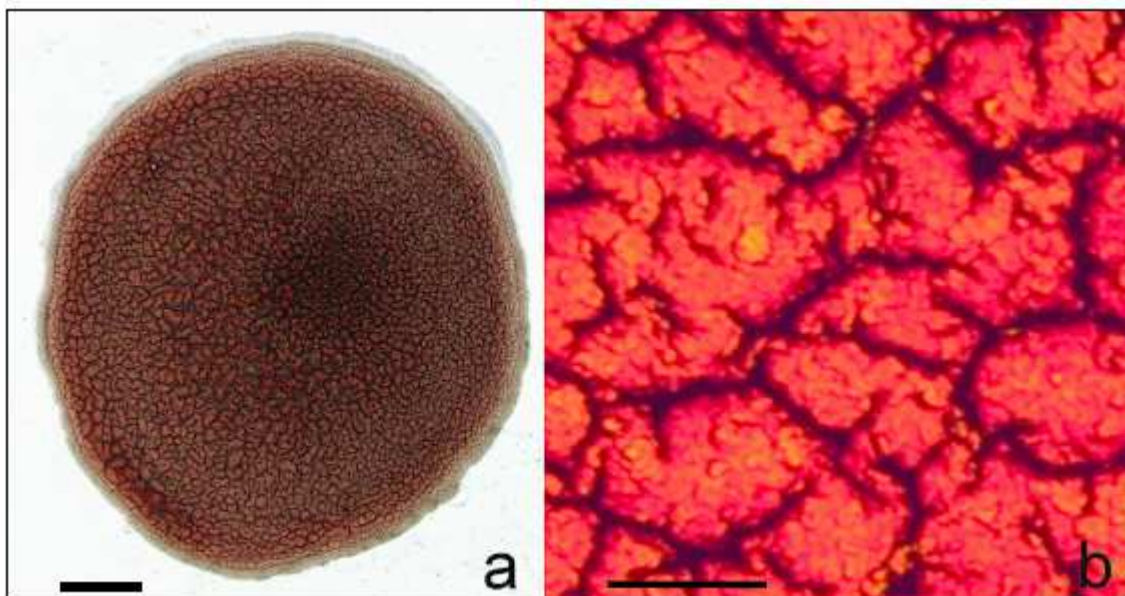


Рис. 8-1-4. Изображение высушенной капли. а-величина маркера 1мм, b-величина маркера 40мкм.

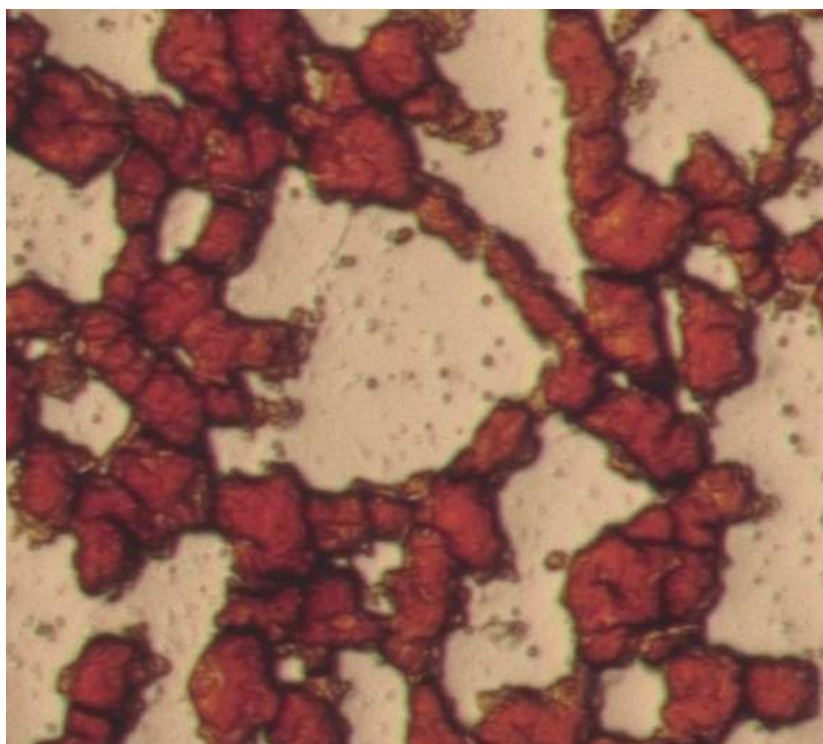


Рис. 8-1-5. Изображение высушенной капли при патологии.

2008-Rottweil, Германия

Студенты Annette Kolb and Katharina Sinner из гимназии Droste-Hülshoff-Gymnasium in Rottweil под руководством своего учителя Michael Lamberty провели исследования по влиянию музыки на структуру высохшей капли воды, слюны, крови и мочи. Для воздействия выбрали три типа музыкальных произведений-спокойная расслабляющая фортепианная музыка, мелодичная рок музыка и тяжелый рок (хэви метал). Студенты прослушивали определенную музыку в течении 30 минут. Затем они проводили забор слюны, крови и мочи. Кровь бралась из пальца. Капли наносились на стекло и высушивались.

-Р.М. Magazin-Welt des Wissens, issue June 2008, p.20



Рис. 8-1-6. Изменение структуры капли цельной крови под действием различной музыки.

2011-Berge, H.-Dept. of Human Biol. Univ. of Cape Town, Cape Town, South Africa
Taylor, D. ; Krishnan, S. ; Douglas, T.S.

2011-Berge H. Taylor D. Krishnan S. & Douglas T. (2011) Improved red blood cell counting in thin blood smears. In: 2011 IEEE International Symposium on Biomedical Imaging: From Nano to Macro, pp. 204-207. DOI: <http://dx.doi.org/10.1109/ISBI.2011.5872388>

2013-Finland

В Финляндии Droppi Veripalvelu Oy Finland исследованием капли сухой крови занимаются Mikko Vapa and Marko Vapa-firstname@dropper.fi.

-Mikko Vapa and Marko Vapa. Visual Patterns of Dry Blood as a Health State Indicator. <http://dl.dropbox.com/u/3302341/VisualPatternsofDryBlood.pdf>-ссылка на статью.

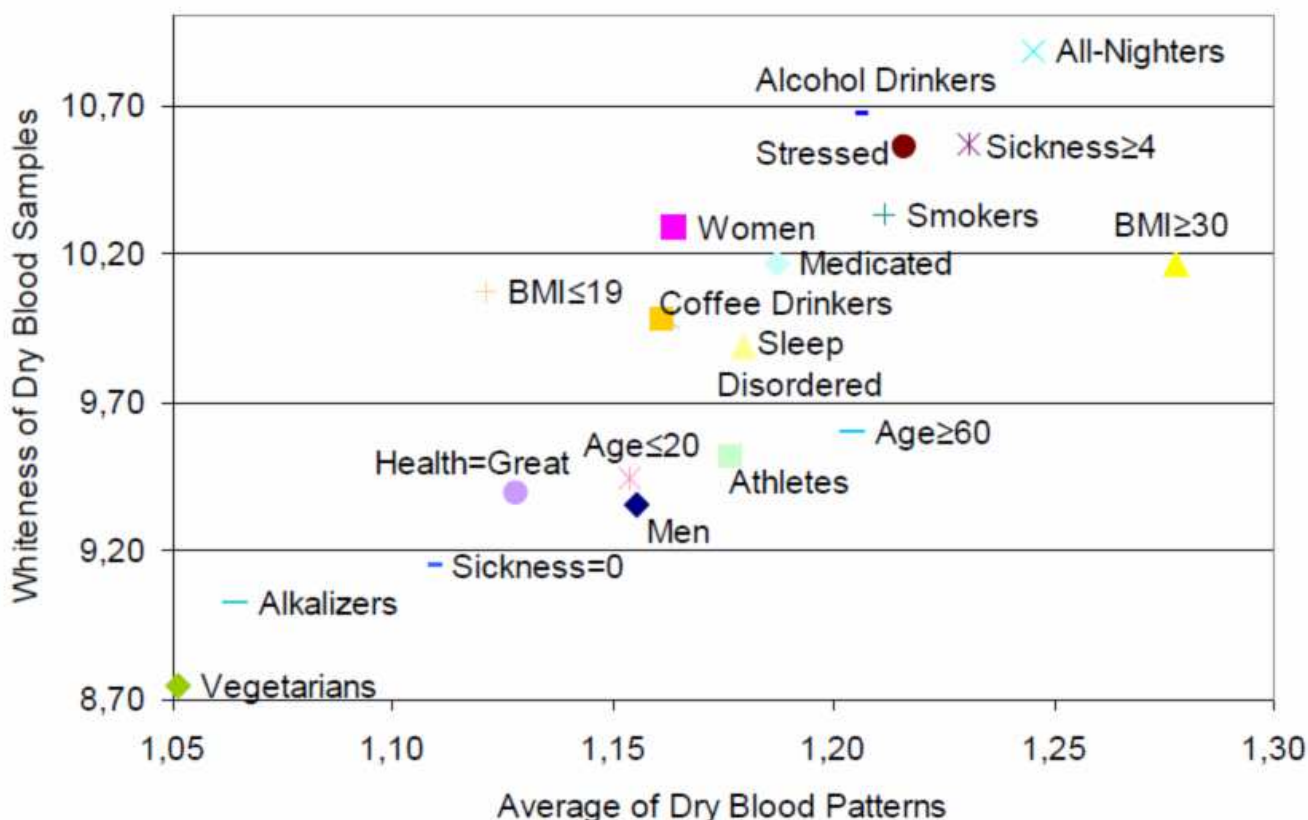


Рис. 8-1-7. Структуры капли высушенной крови для людей с различным образом жизни. У вегетарианцев самые низкие показатели по наличию различных структур в крови.

2013-University of Oulu, Finland

Специалист AKI Huttunen из University of Oulu написала магистерскую диссертацию по исследованию методики высушающей капли крови.

-Huttunen A. (2013) Determining the purity of dry blood using machine vision. Computer Science and Engineering, University of Oulu, Oulu, Finland. Master's thesis, 65p.
-Huttunen A. (2013) Kuivaveren puhtauden määrittäminen konenäön avulla. Oulun yliopisto, Tietotekniikan osasto. Diplomityö, 65s.

Karl Windstosser, Germany

Dr. med. Windstosser в течении 5 лет провел исследования образцов крови с помощью метода HLB у более чем 1000 пациентов.

-Windstosser K. Krebsgeschehen Rilling 1975 Heft 3

-Karl Windstosser, Germany

Polymorphic symbionts as potential cofactors in cancer process.

-Karl Windstosser, M.D

Professor Gunter Enderlein, doctor of philosophy creator of a new theory of bacteria and health.

Dr. Hellr провел 2000 исследований крови методом HLB.

Dr. Gerlich и Dr. Wolf провели обследование 1860 пациентов с различными клиническими диагнозами.

Dr. Friedreich Petran и Koppermann из Gessen University-применяют тест HLB для обследования онкологических больных.

Dr. Baumler проводил на 700 больных соответствие теста HLB и тест на коагуляцию.

Сравнительное исследование различных тестов для анализа крови:

1-Bolen Test-1942-Bolen H.L.

2-Huggins Test-1949-Huggins C.

-Huggins C. Miller G. Jensen E. Thermal Coagulation of Serum Proteins. II. Different Coagulation in Cancer and the Iodoacetate Index. Cancer Research. 9: 177. 1949.

Чарлз Хаггинс (1901-1997)-американский хирург и онколог. В 1966 году получил Нобелевскую премию «за открытие, касающееся гормонального лечения рака предстательной железы».

3-Black Test-1950-Black M.M.-USA

-Black Methylene blue Test

-Black-Kleiner-Bolker heat turbidity test

-Black M.M. Speer I.D. Chemical Test for Malignancy. Am. J. Clin. Path. 20: 446-453. 1950.

4-Sedimentation Rate (седиментационный тест, СОЭ-скорость оседания эритроцитов),

5-Weltmann reaction.

-1939-E. Goldberger. A rapid bedside test for measuring sedimentation test. New York State. J. Medicine. May. 1. 1939. p.367-369.+

1950-Finnegan J.V. Brockland I. Muether R.O. Hawk B.O. Inkley J.J. Thoma G.E.

Comparison of Huggins' tests with sedimentation rate, Weltmann reaction, and the Bolen test in cancer. J Lab Clin Med. 1950 May; 35(5): p.708-712.

1954-Kuppi H.

Comparative study of blood sedimentation reaction and Bolen's test as a contribution to the cancer diagnosis. Z Gesamte Inn Med. 1954 Mar 1; 9(5): p.242-248.

1955-Dr. Kristen Austerheim-Patological Department-Gade Institute-University of Bergen-Norway
-K. Austerheim. Blood test for cancer. Foreign letters. J.A.M.A. June 25. 1955. p.685.+
В работе проводилось сравнение трех диагностических тестов: 1-Black's méthylène blue test, 2-the Black-Kleiner-Bolker heat turbidity test, 3-the Bolen test.

1956-Fazzini ML. Italy
Control of Black's and Bolen's tests in patients with cutaneous cancer. Ann Ital Dermatol Sifilogr. 1956 Jan-Dec; 11(1-6): p.78-83.

1956-Orlando E. D'Antuono G. Del Minno R.
The Bolen test and erythrocyte sedimentation rate. Arch Patol Clin Med. 1956; 32(5): p.374-382.

1958-Fridrich M. Koppermanne E. Petran K.
New diagnostic examinations by the Bolen blood coagulation test and its dependence on the fibrinogen level of the blood plasma. Arztl Forsch. 1958 Jun 10; 12(6): I/ p.273-289.

1959-Bolognesi C.-Italy
Study on the relation between Bolen's test and blood protein disorder in carcinoma of the larynx. Otorinolaringol Ital. 1959; 28: p.459-465.

1962-Micheelsk K.H.
Comparative studies on the Bolen test and the blood sedimentation reaction. Z Gesamte Inn Med. 1962 Feb 15; 17: p.166-168.

Сайты.

<http://www.healingtrinity.com/id58.html>-сайт посвященный Dried Blood Analysis
<http://www.baytownnd.com/dried-blood-cell-analysis.php>

Книги по применению метода HLB.

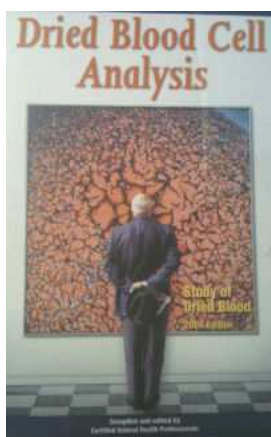


Рис. 8-1-8. Книга Dried Blood Cell Analysis. Study of Dried Blood.

Bauer J. и Rinne J. „Was ein Tropfen Blut erzählt. Das HLB-Praxisbuch“ Seh-Sam Verlag 2011
Rinne J. Dunkelfeld-Blutuntersuchung Tattva Viveka 20



Рис. 8-1-9. Книга Was ein Tropfen Blut erzählt. Das HLB-Praxisbuch. Edition Sonne, 2. Aufl. 2011, 108 S. 4-farbig, kartoniert. ISBN: 978-3-941806-03-0

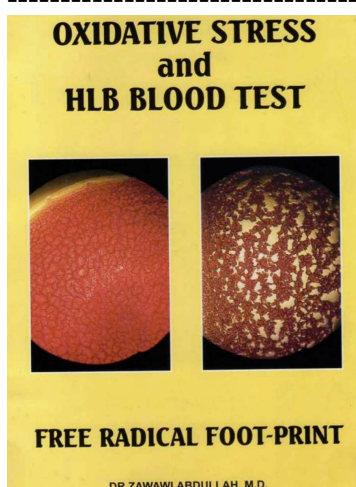


Рис. 8-1-10. Книга Oxidative stress and HLB blood test. Free Radical Foot-Print. Dr. Zawawi Abdullah, M.D.

8.2 Изучение кристаллизации препаратов крови в России.

В различных работах изучается кристаллизация различных препаратов крови:

- цельная кровь (тест Болена), эритроцетвесь,
- сыворотка крови,
- эритроцитарный гемолизат,
- лейкоцитарный гемолизат,
- тромбоконцентрат.

1957-Научный Центр акушерства, гинекологии и перинатологии им Кулакова В.И. РАМН, Гуртовой Борис Львович, проф. зав отделом
1957-Гуртовой Б.Л. Ахмеров В.З. Тест Болена при гинекологических заболеваниях. Акушерство и гинекология. 1957. Июль-Август. 1957. т.33. №4. с.74-79.

1970-Институт хирургии им. А.В. Вишневского
Сергель Ольга Сергеевна, Адамян Арнольд Арамович,
1970-Сергель О.С. Адамян А.А. Качков А.П. О значении капли Болена в диагностике рака легкого. Экспериментальная хирургия и анестезиология. 1970. №3 (№1). с.12-13.

1976-Сергель А. В, Крылова Г.М. Гончарова Т.Н. Применение теста Болен в гинекологической практике. Терапевтический архив. 1976. т.48. №8. с.132-135. (с.12-15).

1973-Пинская И.И. Сергеева Т.В. Диагностика рака на основе анализа капли высушенной крови (тест Болен). Хирургия. 1973. Март. 49(3). С.24.

1973-Pinskaia I.I, Sergeeva T.V. Diagnostic value of studying a dried drop of blood in cancer (Bolen test). Khirurgiia (Mosk). 1973 Mar; 49(3): p.24-27.

1994-НИИ Онкологии, Минск, Белоруссия, Григорович Николай Александрович

1994-Григорович Н.А. Круглый А.З. Круглый З.Л. и др. Вычислительная лабораторно-клиническая система для скрининга злокачественных новообразований. Мн. 1994. 47с.

1996-Григорович Н.А. Круглый А.З. Круглый З.Л. и др. Мед. новости. 1996. №1. с.16-18.

1999-Якутский Государственный Университет, Якутск

Абрамова Т.А. Кеершенгольц Б.М. Моров В.А.

Способ выявления «группы опухолевого риска» и скрининга ранних стадий опухолевых заболеваний. Патент 2137420. 1999.

Изобретение относится к медицине. Способ характеризуется тем, что вводят в комплекс только обоснованные с точки зрения онкопатогенеза тесты (тесты Болен, Короткоручко, флуоресцентный, аспириновый и реакция перекисного гемолиза эритроцитов). Оценку вклада каждого из тестов в общий результат комплекса проводят дифференцированно с учетом диагностической чувствительности и специфичности каждого теста на основе компьютерной номограммы обработки получаемых результатов и при результатах по тесту Болен > 10 ед. ПГЭ < 0,5 ед. или > 0,8 ед. по аспириновому тесту > 15 ед. по тесту Короткоручко > 7 ед. по флуоресцентному тесту > 0,91 ед. выявляют "группу опухолевого риска" и проводят скрининг ранних стадий опухолевых заболеваний. Изобретение обеспечивает повышение чувствительности способа.

Тест Болен, отражает степень агрегации эритроцитов, связанную с изменениями антигенного, фосфолипидного и олигосахаридного состава мембран эритроцитарных и других типов клеток, развивающимися в процессе онкопатогенеза.

2005-Москва, Научно-исследовательский испытательный комплекс хирургии крови РАМН.

2002-Епифанова Наталья Юрьевна

Методы хирургии крови в комплексном лечении некоторых заболеваний у больных пожилого возраста. Диссертация кандидата медицинских наук. Москва. 2002. 131 с.

В работе исследовалась структура высушенной капли цельной крови.

2005-Арендаренко Андрей Константинович

Влияние критических состояний на структурные элементы эритроцитов у пациентов различных возрастных групп. Диссертация кандидата медицинских наук. Москва. РНИИ Геронтологии. 2005. 177 с.

2005-Гаврилов А.О. Королев М.Л. Арендаренко А.К.

Морфологическая картина эритроцитарного гемолизата при критических состояниях. Вестник службы крови России. 2005. №1. с.22-26.

Материалом для исследования был выбран эритроцитарный гемолизат (ЭГ), состоящий из внутриклеточной жидкости эритроцитов и их лизированных мембран. Методика исследования состояла в том, что отмытые эритроциты, полученные из нестабилизированной

венозной и артериальной крови периферических отделов сосудистого русла, подвергались заданной осмотической дилуции дистиллированной водой в соотношении 1:1. После часовой инкубации при комнатной температуре (необходимой для деструкции мембран эритроцитов) содержимое пробирки оценивалось визуально. Готовый стандартный эритроцитарный гемолизат (абсолютно однородный, ярко рубиново-красного цвета, не образующий никаких взвешенных частиц и включений при интенсивном встряхивании), исследовался методом клиновидной дегидратации. Дегидратированные пленки (фации) ЭГ изучали с помощью стереомикроскопа MZ-12 «Leica» (Германия). Было проведено обследование ЭГ 129 больных, госпитализированных в состоянии шока различной этиологии.

2007-Арендаренко А.К. Гаврилов А.О. Королев М.Л. Способ диагностики острой интоксикации. Патент 2296326. 2007. Способ диагностики острой эндогенной интоксикации включает приготовление гемолизата эритроцитов путем разведения отмытых эритроцитов в дистиллированной воде в соотношении 1:1, который выдерживают в течение 1-2 часа при температуре 20-25°C, после чего наносят на поверхность предметного стекла в количестве 0,01-0,03 мл, высушивают в течение 24-27 часов при температуре 18-30°C и относительной влажности окружающей среды 55-60%. Проводят микроскопическое исследование и при обнаружении в пространстве трещин центральной и периферической зон высушенной капли аморфных субстанций диагностируют острую интоксикацию.

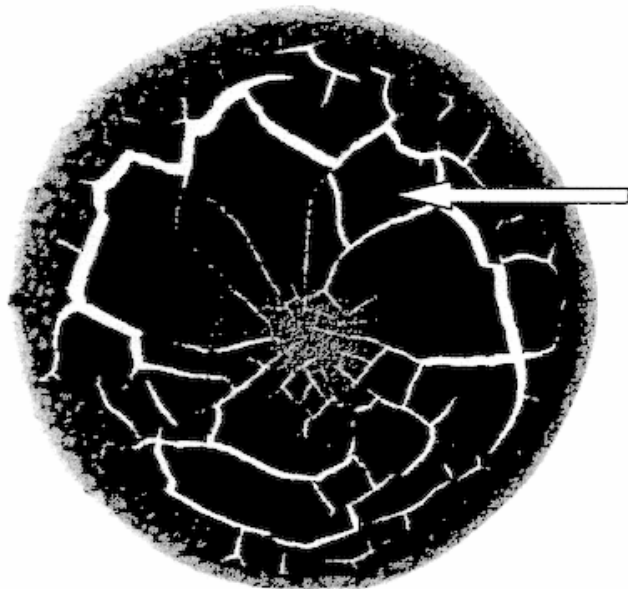


Рис. 8-2-1. Кристаллограмма капли крови.

2008-Калдыбаева Р.С. Гаврилов А.О. Самсонов А.Н. Плево Е.И. Ракишева А.С. Морфологическая картина эритроцитарного гемолизата у больных туберкулезом легких. Ежегодный сборник научных трудов. Подольск. 2008. с.36.

2010-Калдыбаева Роза Саулетбековна
Особенности морфологической картины крови, эритроцитарного гемолизата и ротовой жидкости у мужчин в пожилом и старческом возрасте больных туберкулезом легких. Дассертация кандидата медицинских наук. Самара. 2010.

2009-Тула, НИИНМТ.

2009-Хадарцев А.А. Потоцкий В.В. Диверсификация результатов научных открытий в медицине и биологии. т.1. Тула. 2009. 256 с.

В работе изучались свойства тромбоконтрата и донорской эритроувзеси с помощью тизиографического метода.

2009-Кидалов В.Н. Хадарцев А.А. Тезиография крови и биологических жидкостей. Тула. 2009. 244с. В книге рассматривается кристаллизация различных препаратов: цельная кровь, сыворотка крови, эритроцитарная взвесь, эритромаасса, аспират костного мозга, тромбоцитарный концентрат.

2009-Караганда, КГМА.

Кусаинова Д.С. Тулешова А.Ж. Колесникова Е.А. и др.

Способ тезиографического исследования лизата лейкоцитов. Информационный листок. №17. 2009-Караганда. НЦ НТИ. 2009. 4с. В работе тезиографическим методом исследуется лейкоцитарный гемолизат.

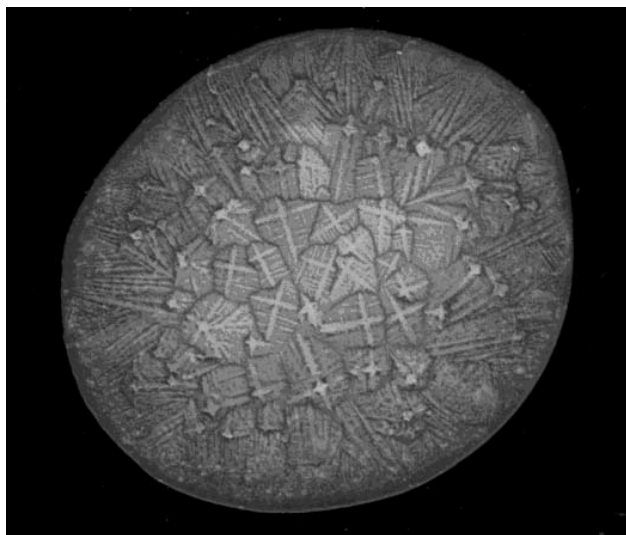


Рис. 8-2-2. Тезиограмма лизата лейкоцитов пациента с сочетанием хронического пиелонефрита и артериальной гипертензии.

2011-Иваново, ИГУ.

2011-Жарова М.А, Усольцева Н.В. Посисеева Л.В. Холодков И.В.

Упорядоченные структуры в открытых системах биологических жидкостей. Конференция. 2011. В работе исследуется кристаллизация цервикальной слизи, плазма и сыворотка крови, лейкоцитов крови, нейтрофилов периферической крови, спермы и фолликулярной жидкости.

2011-Беларуссия, Минск, НИИ Онкологии.

2011-Григорович Н.А. Григорович Т.М. Способ предварительной диагностики опухолевого заболевания. Патент Беларуси 16505. 2011. В патенте используется тест Болена.

2012-Тула, ТГУ

2012-Феофилова М.А. Значение кристаллографии крови для ранней диагностики миомы матки. 2012. Для изучения кристаллизации крови использован метод самопроизвольно высыхающей капли (метод клиновидной дегидратации) венозной крови из отмытых эритроцитов (50% эритроцитарная взвесь в 0, 9 % Na Cl). Эритроциты из пробирки отмывают однократно физиологическим раствором (объем эритроцитов-2-3 капли, объем физиологического раствора-10мл) на лабораторной центрифуге, в течение 5 мин, при 1500 оборотах. Доосадочная жидкость сливается, автоматическим дозатором набирается необходимое количество эритроцитов и наносится на предметное стекло. Объем капли 20 мкл. Все капли располагаются на одних и тех же тщательно обезжиренных, расположенных горизонтально предметных стеклах. В дальнейшем при 18-20°C, влажности 60-80% производится дегидратация микропрепарата до

появления начальной ТЗГ, как правило, не позже, чем через 30 мин после формирования тезиографической структуры.

2013-Феофилова М.А. Тезиография крови здоровых женщин. Вестник службы крови. 2013. №1. с.16-19. В работе исследуется тезиограмма крови. Капля венозной крови из отмытых эритроцитов доноров (50% эритроцитарная взвесь в 0.9% NaCl).

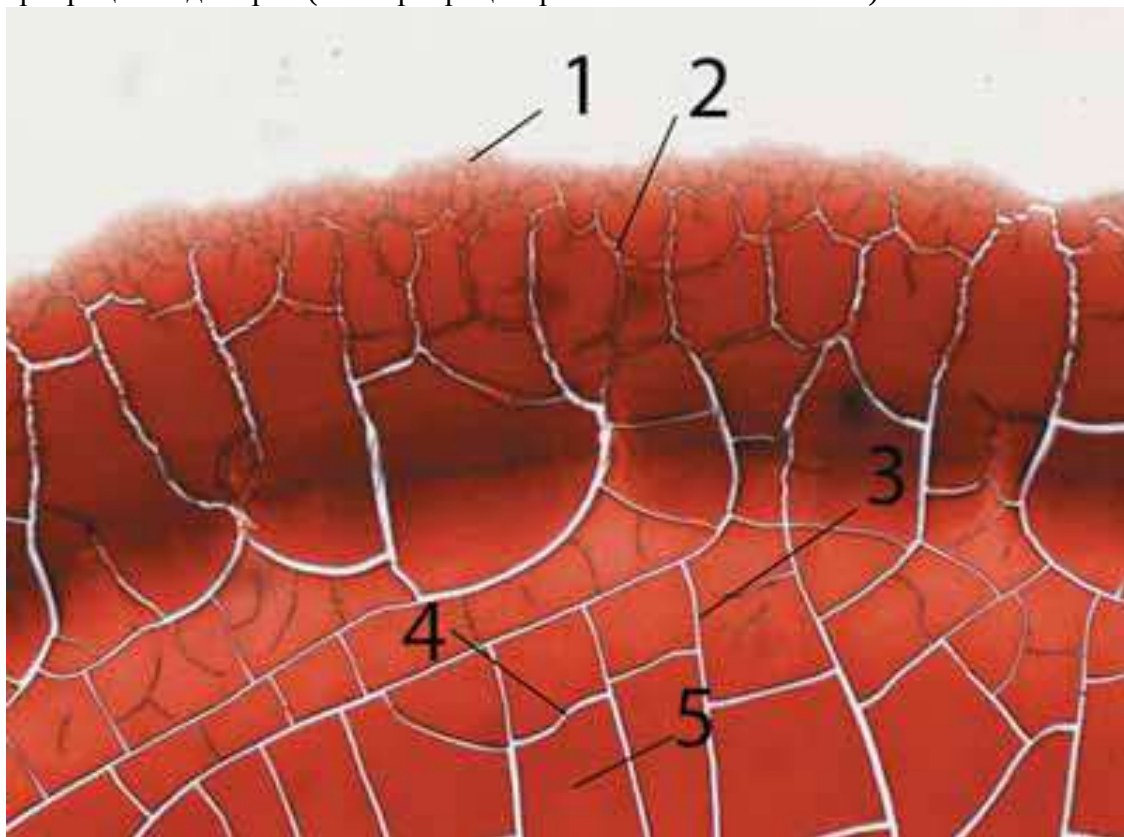


Рис. 8-2-3. Кристаллограмма крови. 1-светлая краевая область, 2,3, 4-биокристаллоиды, 5-полигональная пластина.

8.3 Примеры кристаллограмм высушенной капли крови.

В отличие от дегидратации капля сыворотки крови, в капле цельной крови содержится много эритроцитов. В связи с этим при дегидратации меньше проявляется структура компонент плазмы, а проявляется только общая структура крови. У здорового человека структура крови однородна, и при гидратации образуется капля с равномерной структурой.

При заболеваниях происходит нарушение однородности структуры крови. В плазме крови начинает происходить агрегация молекул белка и образуются кластерные структуры в виде фрагментов сети связанных молекул. При дегидратации эти фрагменты стягиваются, и одновременно они стягивают эритроциты, которые находятся в этих фрагментах сети. Происходит образование псевдотрещин-разрывов в структуре высохшей капли в виде участков без эритроцитов. Чем больше нарушений в структуре сыворотки крови-тем больше будет нарушений в структуре высохшей капли цельной крови.

Таким образом, тест Болен выявляет неоднородность плазмы крови на макроуровне. Для более информативного проведения теста необходимо проводить разведение цельной крови. В этом случае структура неоднородностей будет проявляться более четко.

Более общим является тест, когда проводят дегидратацию сыворотки крови с добавлением небольшого количества эритроцитов. В этом случае нет фибрина, и проявляется и структура сыворотки, и структура макро неоднородностей.

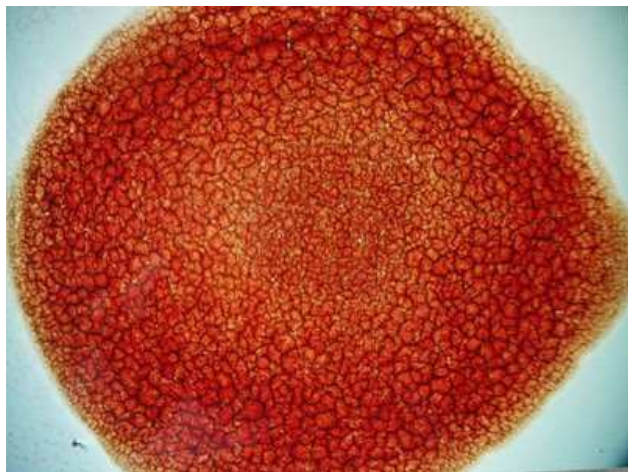


Рис. 8-3-1. Высохшая капля крови при проведении теста Болен.

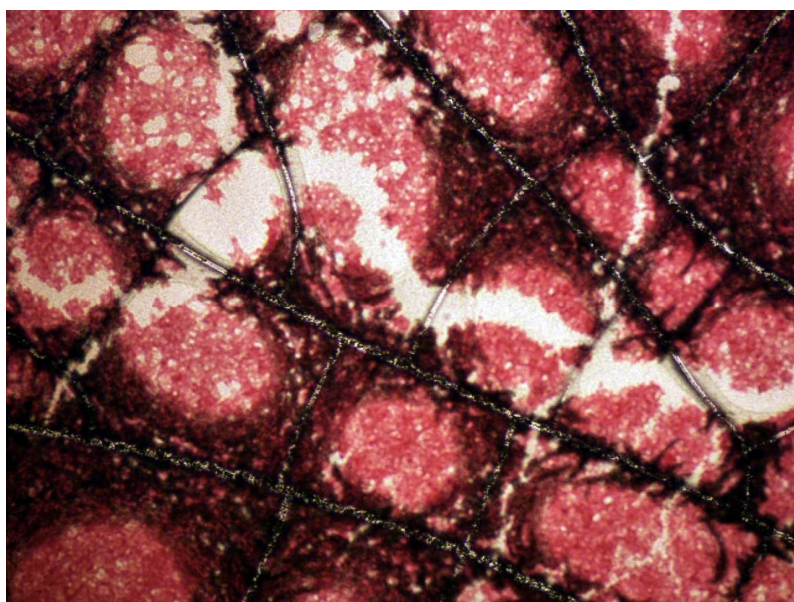


Рис. 8-3-2. Разрывы области эритроцитов в структуре высохшей капли.

Наличие разрывов в однородном поле эритроцитов свидетельствует о наличии макро-неоднородностей в структуре сыворотки крови. Эти неоднородности вызывают нарушение равномерного процесса дегидратации.

Необходимо отметить, что кристаллизация цельной крови отличается от кристаллизации сыворотки крови двумя основными признаками: наличием клеточных элементов (эритроцитов) и наличием фибриллярного белка фибрина.

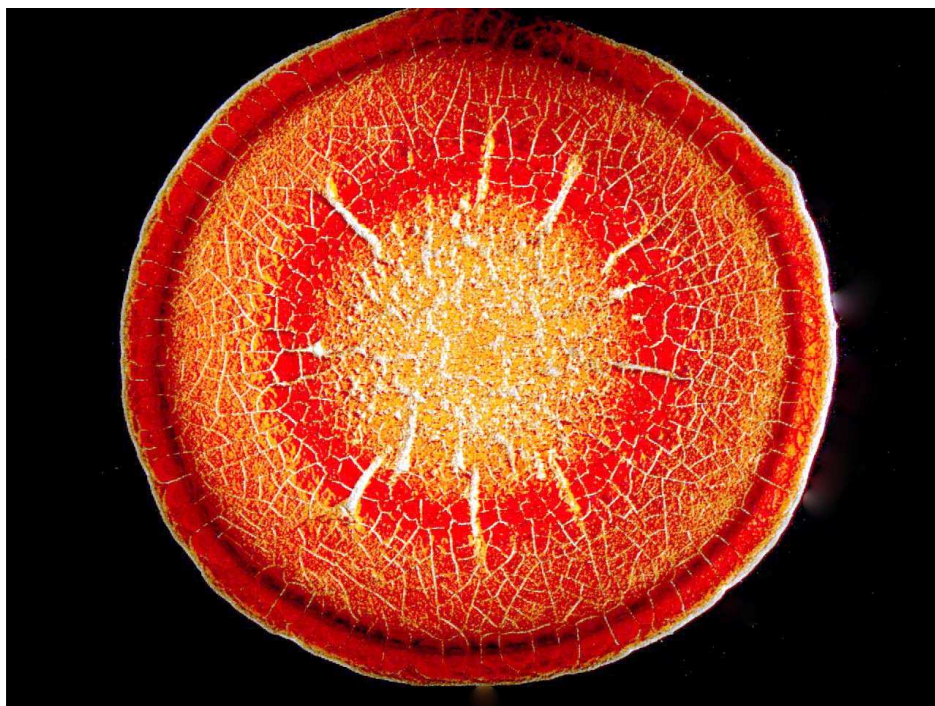


Рис. 8-3-3. Структура высушенной капли крови. Поле зрения 10мм. Проходящий и отраженный свет.

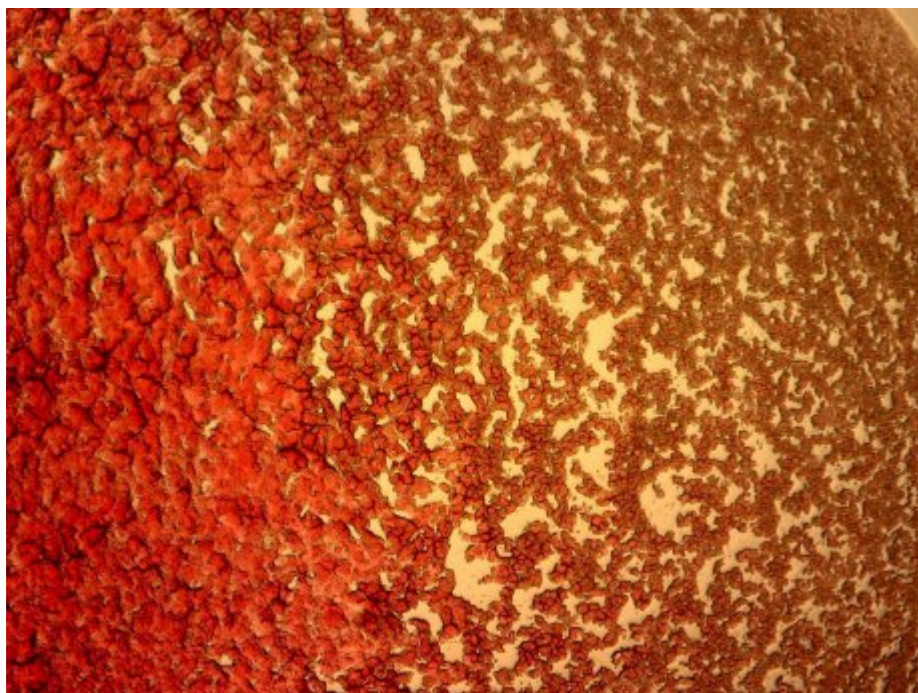


Рис. 8-3-4. Высушенная капля крови-тест на окислительный стресс (Dried Blood Analysis-oxidative stress test).

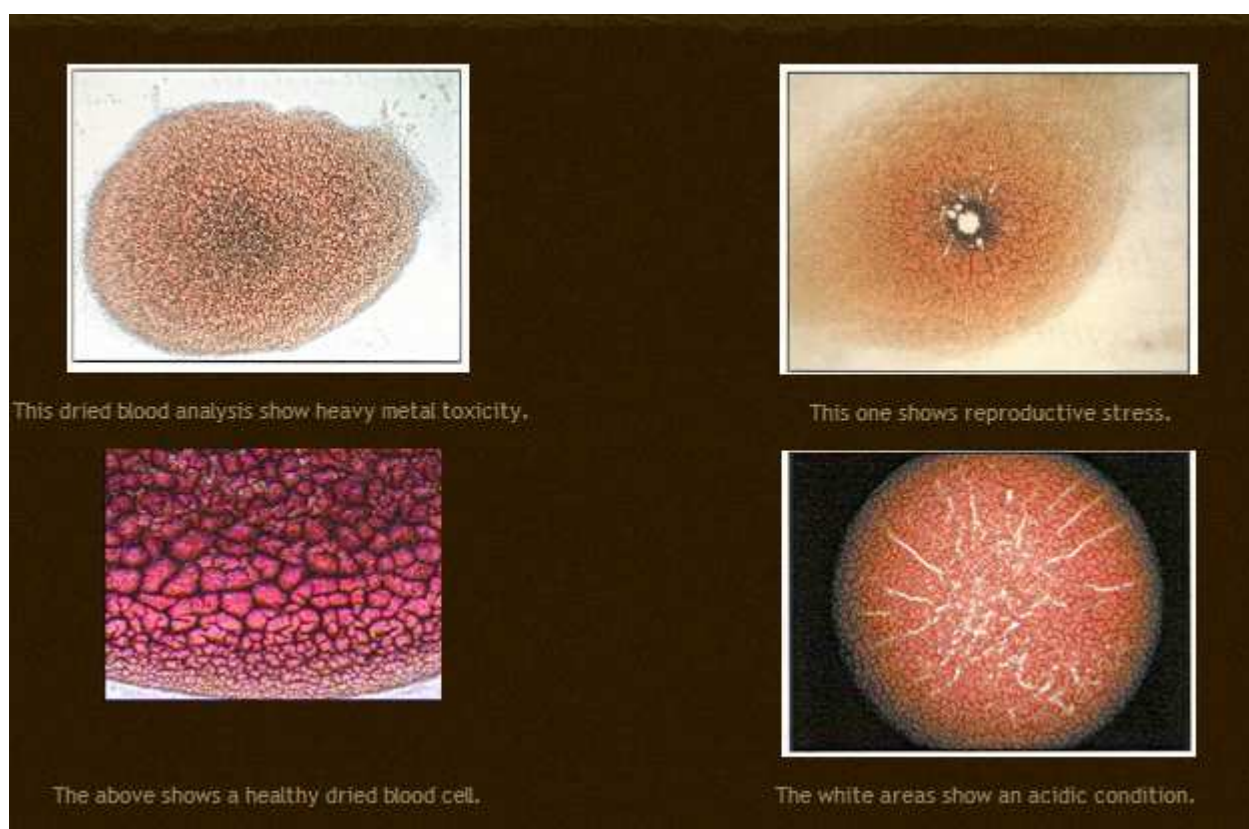


Рис. 8-3-5. Нарушения, выявляемые с помощью теста Dried Blood Analysis

1-отравление тяжелыми металлами,

2-репродуктивный стресс,

3-нормальное состояние, плотный фибрин без светлых трещин,

4-белые области-зоны повышенной кислотности, плохая свертываемость фибрина.

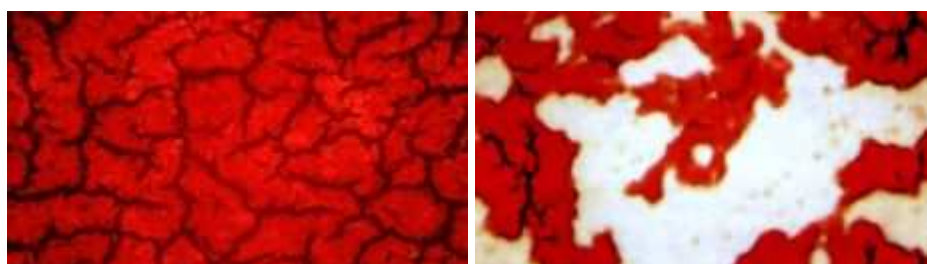
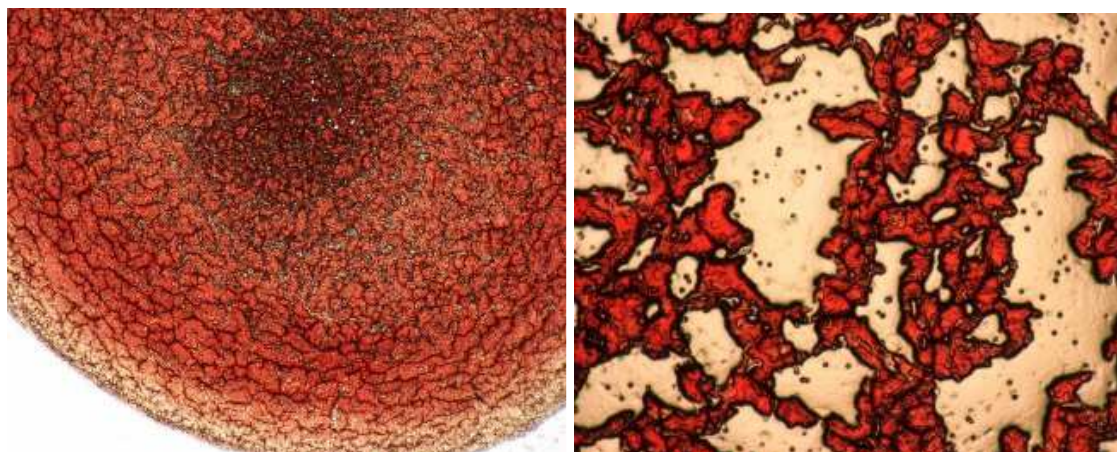


Рис. 8-3-6. Структуры высохшей капли крови в норме и при патологии.

Имеется предположение, что кольцевые зоны капли высушенной крови соответствуют различным нарушениям.

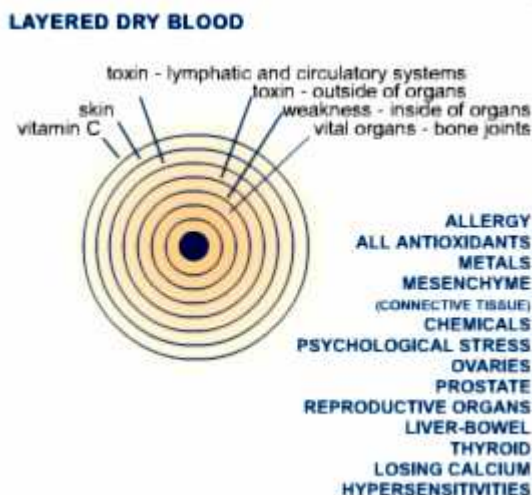


Рис. 8-3-7. Кольцевые зоны высушенной капли крови.

8.4 Метод высушивания капли крови на бумаге (dried blood spot testing, DBS)

Капля крови высушивается на фильтровальной бумаге. Бумага пропитывается специальными реактивами.

Четыре капли крови раскапывается на специальную карту в обозначенные места. Для сохранности активности ферментов образцы сначала должны быть высушены при комнатной температуре в течении четырех часов.

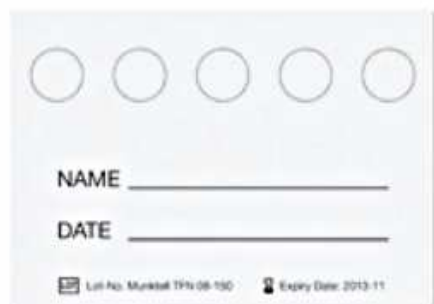
Пятна крови на фильтровальной бумаге используются для проведения генетического анализа, для скрининговых исследований, для обследования детей и пожилых людей. Преимущество метода состоит в простом способе получения образца крови и в отсутствии необходимости замораживать препарат при транспортировке для исследования.



Рис. 8-4-1. Карта для приготовления пятен крови.

Компания Munktelл предлагает большой ассортимент бумаги TFN для отбора проб крови и проведения скрининг-тестов у новорожденных (NBS). Образцы крови требуют использования

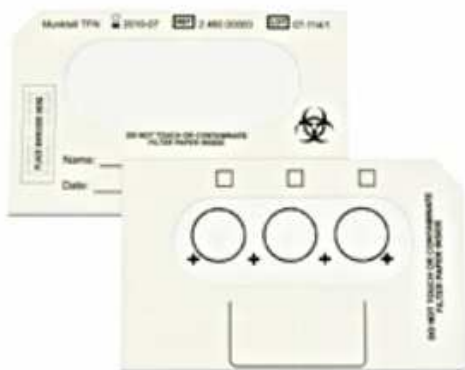
специальной фильтровальной бумаги, такой как Munktel TFN, для сохранения клеток, необходимых для неонатального скрининга. Сегодня несколько капель, взятых у новорожденного на тест-карты, позволяют врачам обнаружить и начать лечение на ранней стадии более 30 серьезных заболеваний. Бумага класса TFN соответствует требованиям стандартов Института Клинических и Лабораторных Стандартов (CLSI) 2007 «бумага для сбора крови новорожденных для последующего исследования, одобренный стандарт-пятое издание, публикация CLSI No LA4-A5».



Однорячейстая карточка новорожденного



Фильтровальная карточка с обложкой



Бумажная фильтровальная карта в картонной упаковке с окошком



Многорячейстая карточка с отрывной частью фильтровальной бумаги

Рис. 8-4-2. Различные типы бумаги для диагностики.

Литература по высушиванию капли крови на фильтровальной бумаге.

-Осин Н.С. Помелова В.Г. Бекман Н.И. Ларичева С.Ю.

Лантанидный иммунофлуоресцентный анализ общего тироксина в высушенных на бумаге пятнах крови. Клиническая лабораторная диагностика. 2004. №8. с.15-20.

Определение тироксина проводят в жидких образцах сыворотки крови или в элюатах из высушенных на специальной фильтровальной бумаге каплей цельной крови. Следует отметить, что второй вариант анализа имеет ряд несомненных преимуществ по сравнению с исследованием сывороток, таких как снижение травматичности процедуры забора крови, удобство транспортировки образцов, стабильность биоматериала при долгосрочном хранении, и практически используется в программах массового скрининга новорожденных на врожденный гипотиреоз.

Помелова В.Г. Осин Н.С.

Перспективы интеграции технологии сухого пятна крови в популяционные исследования здоровья и среды обитания человека. Вестник Российской Академии медицинских наук, 2007. №12. с.10-16.

Взятие крови на фильтровальную бумагу представляет собой минимально-инвазивный способ сбора, транспортировки и долгосрочного хранения проб, пригодных для постаmplификационного генетического анализа и выявления широкого спектра аналитов отличной от ДНК природы. По мнению T.McDade и соавт. можно выделить как минимум 45 аналитов, выявление которых в сухом пятне представляет наибольшую ценность для популяционных исследований. Среди них биомаркеры, характеризующие состояние эндокринной, сердечно-сосудистой, репродуктивной, иммунной систем организма, которые на современном уровне развития диагностических технологий могут быть выявлены в одной капле крови. В настоящее время технология сухого пятна крови интегрирована в несколько американских программ популяционных исследований детей старшего возраста, взрослых и пожилых людей.

1975-Irie M, Enomoto K, Naruse H.

Measurement of thyroid-stimulating hormone in dried blood spot. Lancet 1975; 2: p.1233-4.

1980-Fujimoto S, Kodama M, Suga H, Namikawa T, Namikawa T.

Measurement of antithyroid antibodies using the dried blood spot (author's transl). Horumon To Rinsho 1980; 28: p.1201-1203.

1983-Umehashi H, Hayashida T, Otomo S, Fujimoto S, Matsuda I.

The evaluation of measurement of TSH in blood spot on dried filter paper using enzymeimmunoassay. Horumon To Rinsho 1983; 31: p.169-172.

2008-Ramakrishnan Lakshmy, Ph.D.

Analysis of the Use of Dried Blood Spot Measurements in Disease Screening. J Diabetes Sci Technol. Mar 2008; 2(2): p.242-243.

Глава 9. Исследование капли живой крови (гемосканирование), Live Blood Analysis, LBA test.

9.1 История создания метода гемосканирования.

Гемосканирование-анализ капли живой крови. Для данного теста используются различные термины:

- Гемосканирование,
- LBA (Live Blood Analysis)-анализ живой крови,
- LBSA (Live Blood Cell Analysis),
- Live Blood Assay,
- Live blood microscopy
- Dark-field video microscopy,
- Peripheral Morphology Assessment (Live Blood Sample),
- Nutritional Blood Analysis,
- HRBM test-High Resolution Blood Morphology,
- Darkfield Microscopy Blood Test,
- Darkfield Blood Analysis-метод темнопольной микроскопии анализа крови,
- Darkfeald Diagnostics.

1683-Антони Ван Левенгук-изобретатель микроскопов, сделал множество открытий. Он первым описал эритроциты.

Еще в XIX веке для выявления спирохеты при сифилисе был предложен метод нативной микроскопии выделений из сифилом в темном поле. Это было связано с тем, что спирохета не растет на средах, а при обычной окраске она не выявлялась и, поэтому микроскопия в темном поле оказалось прекрасным диагностическим методом того времени, Очень важным элементом являлось исследование мазка сразу же после его забора. Правда, со временем появились более простые и доступные серологические методы исследования крови и, метод микроскопии в темном поле потерял свое значение, хотя используется до настоящего времени.

1912-Antoine Bechamp-France

Французский биолог, химик и профессор медицины Pierre Jacques Antoine Bechamp (1816-1908) исследовал живую кровь под микроскопом, исследовал свертывающую систему крови. Он назвал мельчайшие частицы в крови-микрозимы (myscrozumas). Считается, что микробная теория Paster является плагиатом теории Антуана Бешана о плеоморфизме.

-A. Bechamp. The Blood and its Third Anatimocal Elementt. 1912.

1916-Gunther Enderlein-Germany

Первые упоминания об исследовании «живой» крови в темном поле, появились в 1916 году. В это время немецкий зоолог Гюнтер Эндерлайн (Gunther Enderlein) (1872-1968), исследовал кровь животных, а также здоровых и больных людей в Bechamp School. Он пришёл к выводу, что многие патологические процессы в организме, тесно связаны с наличием в крови патогенных микроорганизмов-protits. Он также провёл параллель между различными физиологическими нарушениями и повышением кислотности крови. При микроскопии крови в темном поле Эндерлейн обнаружил биологические объекты, которые с течением времени изменяли свою морфологическую структуру, то есть эволюционировали в короткие сроки. Что поставило под сомнение теорию мономорфизма. В течение многих лет он проводил исследования и разработал теорию племорфизма, т.е. изменчивость простейших микроорганизмов по восходящему пути эволюционирования. По его версии в крови существуют биоценозные сообщества 4-х основных форм:

- 1-белковые коллоидные структуры,
- 2-микроорганизмы водорослевого типа,

3-грибковые формы

4-палочковидные бактерии.

Также еще тогда он установил, что при изменении питательной среды (крови) происходят изменения в структуре биоценоза с развитием агрессивных форм и обнаружил факт их инвазии в форменные элементы крови. Он назвал увиденные микроорганизмы «эндобионты» (endobionts).

В честь него назван метод «dark field microscopy according to Enderlein»-темнопольная микроскопия по Ендерлейну.

-Enderlein G. (1925), Bakterien-Cyclogenie, Verlag de Gruyter & Co Berlin. 1925.

-Blood Examination in Darkfield According to Prof. Dr. Gunther Enderlein: An Introduction of Some Monographs of the Author as Summarized by Dr. Med Maria-M. Bleker. Semmelweis-Verlag, 1993. 80 p.

-The first doctoral thesis on Professor Günther Enderlein. Book. Reichl Verlag St. Gall. 2006. 287p. ISBN-13: 978-3-87667-285-4.

Исследование микрочастиц крови современными методами было проведено

Ronald Ullmann, Biochemist, Calw, Germany.

A Modern Scientific Perspective On Prof. Dr. Enderlein's Concept Of Microbial Life Cycles.

Сайт-<http://www.bioresourceinc.com/articles/perspective.php>

1944-F.N. Robertson-Vancouver-Canada

-F.N. Robertson. Clinical and laboratory notes a test for carcinoma. Can. V. A. J. July 1944. vol. 51. p.54-59.+

1951-Немецкий врач Dr. med. Josef Issels проводил исследования живой крови в своей клинике. Он выделил три стадии ухудшения состояния крови, которые он назвал «дискразия класса I-III» "Dyskrasie Grad I-III". Он занимался проблемой исследования рака с позиции альтернативной медицины, а он определил заболевание раком как системное заболевание.

1955-Физик Dr. E. Farrensteiner и его жена Ms Christel изучали наличие различных микроорганизмов в живой крови.

-Farrensteiner, Farrensteiner: "Vorproben auf Carcinom im Dunkelfeld nach Erfahrungen aus der Praxis" Archiv der Internationalen freien Akademie IV,2 Verlag Dr. v. Brehmer, Bad Kreuznach 1955.

1986-Lowell JA. Live cell analysis: High-tech hokum. Nutrition Forum 3:81-85, 1986.

1990-Schwerdtle C. & Arnoul F.-Germany

Они описали-OST (Oxidative Stress Test)-тест окислительного стресса-Dry blood analysis.

--Schwerdtle C. & Arnoul F. Introduction into Darkfield Diagnostics, Hoya, Germany, Semmelweis-Verlag, 1990.

1993-Dr. Maria Bleker-Essen-Germany

Dr. Maria Bleker-специалист по темнопольной микроскопии, была учеником Gunther Enderlein.

-Blood Examination in Darkfield According to Prof. Dr. Gunther Enderlein: An Introduction of Some Monographs of the Author as Summarized by Dr. Med Maria-M. Bleker. Semmelweis-Verlag, 1993. 80 p.

1996-Robert Bradford-Chula Vista, California-USA

Dr. Robert Bradford (1931-1982) (один из учеников Heitan и LaGarde's).метод анализа сухой капли крови был усовершенствован. Он создал и исследовал два функциональных микроскопических теста: Bradford Peripheral Blood Assessment(BPBA)-HLB & HRBM

-HLB test-Heitan/LeGuard/Bradford test-для высушенного образца крови,

-HRBM test-High Resolution Blood Morphology-для живого образца крови.

Анализ живой крови производился с помощью запатентованного в 1996 году Robert W. Bradford и Gregory D. Yist-Variable Projection Microscope (BVPM). Суть изобретения состоит в том, что видеокамера крепится на микроскоп с помощью подвижного устройства, которое обеспечивает переменное увеличение.

-Bradford RW, Yent GD. Microscopy system. Patent No, 5,666,020. Oct 15, 1996.

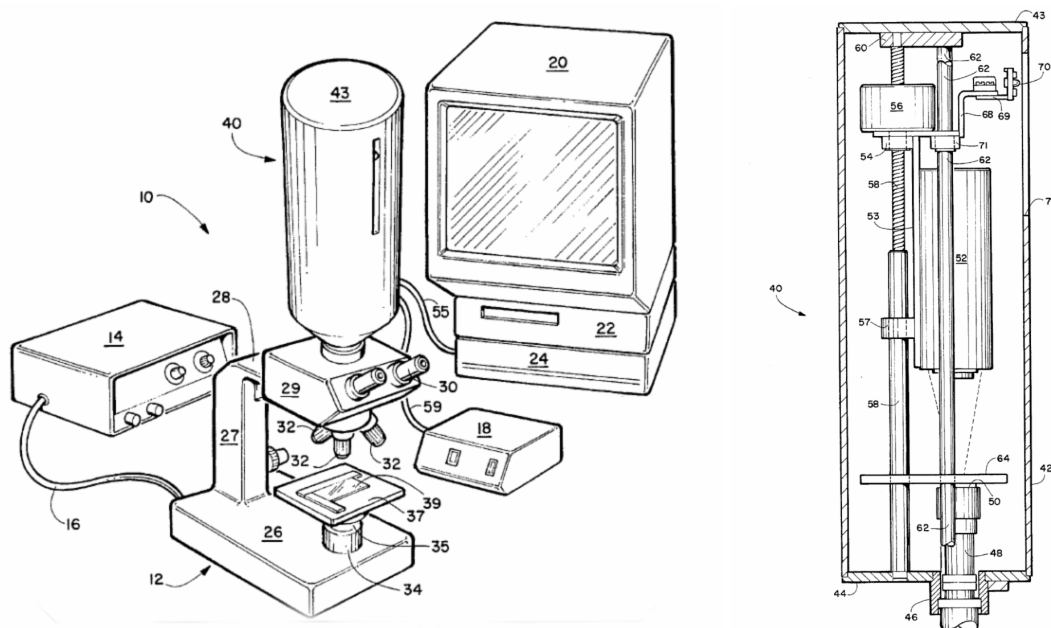


Рис. 9-1-1. Проекционный микроскоп Роберта Брэдфорда.

1996-Privitera J, Stang A. Silent Clots: Life's Biggest Killers. Lockstep Medicine's Conspiracy to Suppress the Test That Should Be Done in Emergency Rooms Throughout The World. Covina, Calif.: The Catacombs Press, 1996.

James R. Privitera, Jr. M.D. из Carolina,-один из специалистов по гемосканированию.

1996-Wlazelek A. Chiropractors cease blood cell show and tell. State restricts the use of magnified images to sell vitamins, supplements. The Morning Call, April 12, 1996, page B6.

1998-Курт Грейдж-USA

Доктор Курт Грейдж является одним из основателей гемосканирования, имеет степень магистра нутрициологии, доктора философии в нутрициологии и доктора натуропатии Университета Клейтона. В 1997 году использовал темнопольный микроскоп для анализа живой крови.

-Грейндж Курт. Гемосканирование-диагностика по капле крови. Доклад на конф. 2005.

-Грейндж Курт. Темнопольный микроскоп и его возможности в клинической практике. Натуральная фармакология и косметология. 2006. №3. с.40-48.

1998-<http://biomedx.com>-сайт фирмы Biomedx, которая поставляет комплексы для темнопольной микроскопии и проводит обучающие семинары.

2005-Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe, Justus-Liebig-Universität Giessen-Germany

-El-Safadi S1, Tinneberg HR, von Georgi R, Münstedt K, Brück F.

Does dark field microscopy according to Enderlein allow for cancer diagnosis? A prospective study. Forsch Komplementarmed Klass Naturheilkd. 2005 Jun;12(3):148-151. Epub 2005 Jun 23.+

2006-Department of Internal Medicine and Geriatrics, Kliniken Essen-Mitte, Essen, Germany.

Teut M, Lüdtke R, Warning A.

Reliability of Enderlein's darkfield analysis of live blood. Altern Ther Health Med. 2006 Jul-Aug;12(4):36-41.

2006-Stephen Barrett, MD, «Live Blood Cell Analysis: Another Gimmick to Sell You Something», December 29, 2006

2009-Zachary A. Rubin

Live Blood Analysis: New Diagnostic Method or Quackery? Case report and review of the literature. Proceedings of UCLA Healthcare. Volume 13 (2009) p.1-2.

2013-Доктор Hilbert Seeger из Таиланда создал специальный сайт-

<http://www.drseeger.com>-сайт Dr Hilbert Seeger “Live Blood Analysis in Dark Field”

Книги.

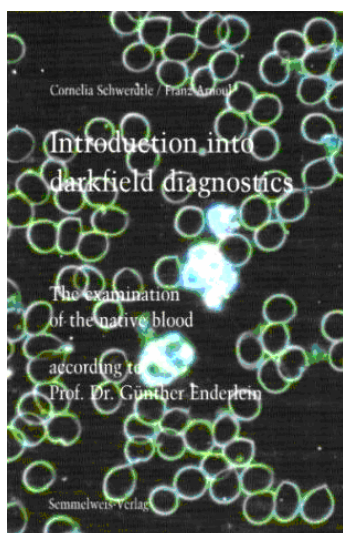


Рис. 9-1-2. Cornelia Schwerdtle, Franz Arnoul

Introduction Into Darkfield Diagnostics: The Examination of Native Blood According to Prof. Dr. Günther Enderlein. Semmelweis-Verlag, 2006. p.163.

ISBN: 3925524479-127\$

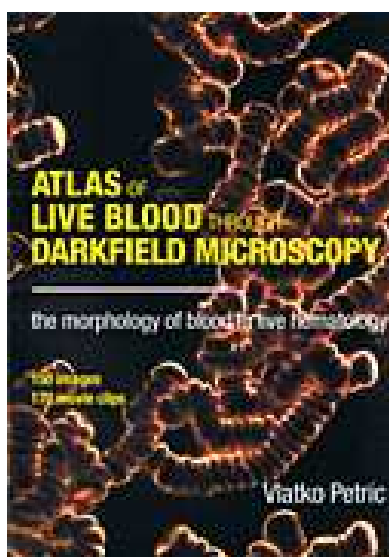


Рис. 9-1-3. Dr Vlatko Petric,

Atlas of Live Blood Through Darkfield Microscopy. 120p. 150 images. CD with 170 videos.

ISBN: 9780473151843-140\$

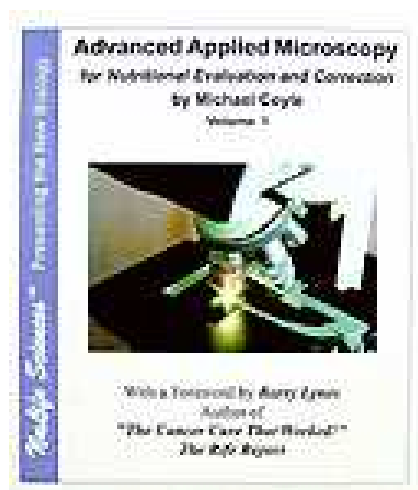


Рис. 9-1-4. Advanced Applied Microscopy for Nutritional Evaluation and Correction Volume 1. 310\$

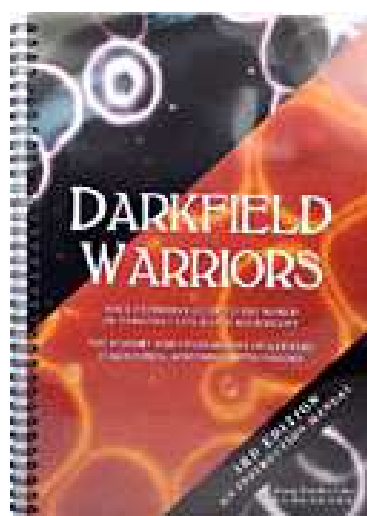


Рис. 9-1-5. Greg Fredericks. Darkfield Warriors ISBN: 9780957982604-165\$

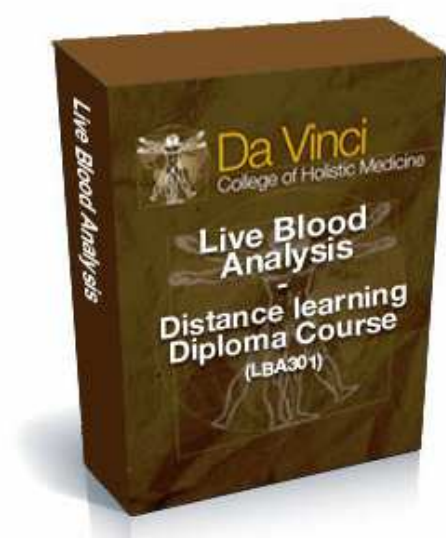


Рис. 9-1-6. Da Vinci. Live Blood Analysis Course. Distance learning Diploma Course (LBA301)-636 \$.

Da Vinci College of Holistic Medicine.

<http://www.collegenaturalmedicine.com/products/Live-Blood-Analysis-Course.html>

Сайты.

<http://www.betterblood.net/index.html>-сайт посвященный анализу живой крови

<http://betterblood.net/find.htm>-список лучших микроскопистов в разных странах, проводящих исследования живой крови (в США, Австралии, Канаде, Чехия, Финляндия, Греция).

<http://www.livebloodtest.com/live-analysis/dr-youngs-new-biology.html>

http://www.tarabookshop.com/category42_1.htm-книги по темнопольной микроскопии

<http://www.healthywifehappywife.com/6-day-live-blood-analysis-course>-сайт-шестидневные курсы по методу диагностики по живой капле крови. **Live Blood Analysis 6 days course**. Курсы проходят в Канаде. Стоимость обучения-1.720 долларов.

<http://www.healthhouse.ca/live-cell-microscopy-course.html>-Live Cell Training Course-четырёхдневные курсы в Канаде. Стоимость обучения-1.100 долларов.

9.2 Особенности метода гемосканирования.

В последнее время получил широкую известность новый метод исследования крови-гемосканирование. Этот метод часто называют методом диагностики по капле крови, или методом диагностики по капле живой крови. Этот метод не является универсальным методом диагностики. У каждого метода имеются свои достоинства и недостатки. Наиболее эффективно для диагностики комплексное применение различных методов.

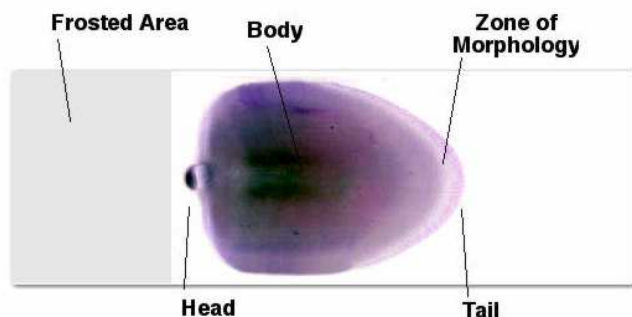


Рис. 9-2-1. Мазок крови, приготовленный стандартным образом.

Пробоподготовка. Приготовление препаратов для анализа.

Метод гемосканирования состоит в анализе капли цельной крови. Капля цельной крови наносится на поверхность предметного стекла, накрывается покровным стеклом и исследуется под микроскопом при большом увеличении. Большим преимуществом метода гемосканирования является отсутствие специальной пробоподготовки.

Необходимо отметить некоторые особенности пробоподготовки при гемосканировании.

1-При проведении гемосканирования рекомендуется проводить обезжиривание и стерилизацию предметных стекол.

2-Исследование препарата рекомендуется проводить на термостатируемом столике, у которого поддерживается температура +36 градусов.

3-Кровь для исследования должна вытекать из пальца на стекло самостоятельно, без надавливания.

4-Капля крови покрывается покровным стеклом и изолируется от внешней среды с помощью парафина.

В настоящее время существуют отработанные методы для исследования препаратов живых микроорганизмов под микроскопом.

1-Метод раздавленной капли (препарат давленная капля). Капля для анализа помещается на предметное стекло и накрывается покровным стеклом. При опускании покровного стекла на каплю следует прикоснуться ребром его к краю капли и, постепенно наклоняя, опустить, чтобы в капле не образовалось пузырьков воздуха. Капля должна быть небольшой и занять все пространство под покровным стеклом, но чтобы жидкость не выступала за края покровного стекла. Излишек жидкости, вышедшей из-под покровного стекла, удаляют полосками фильтровальной бумаги. Иногда, если препарат нужно рассматривать длительное время, края покровного стекла предварительно смазывают вазелином.

2-Метод висячей капли. Для этого используют предметное стекло со специальным углублением, с луночкой. Препарат готовят следующим образом: в центр покровного стекла помещают небольшую каплю жидкости с микроорганизмами, покровное стекло с каплей культуры накрывают предметным стеклом с лункой, предварительно смазав ее края тонким слоем вазелина, предметное стекло осторожно прижимают к покровному и быстро переворачивают препарат.

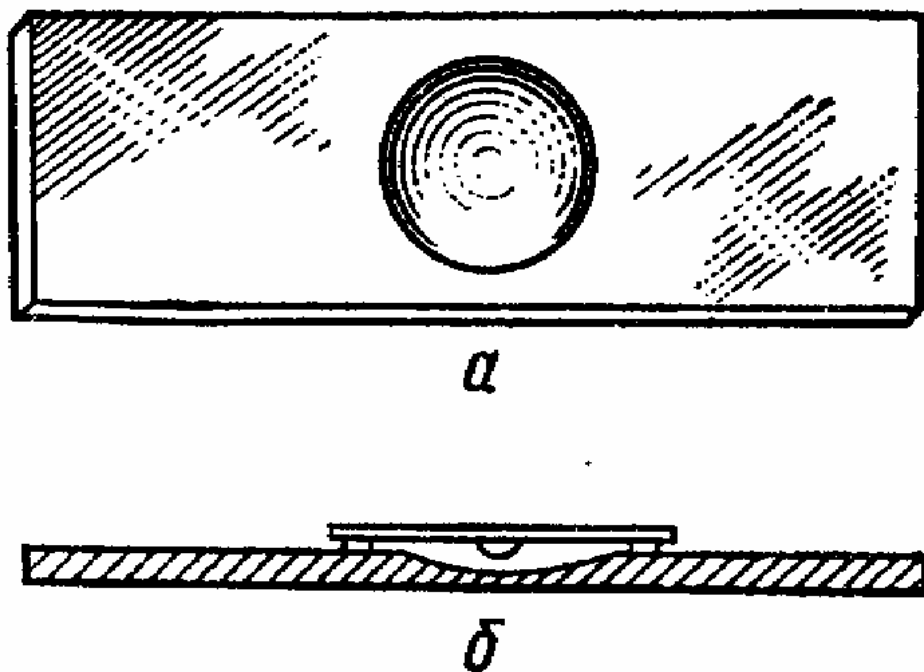


Рис. 9-2-2. Приготовление препарата методом висячая капля.

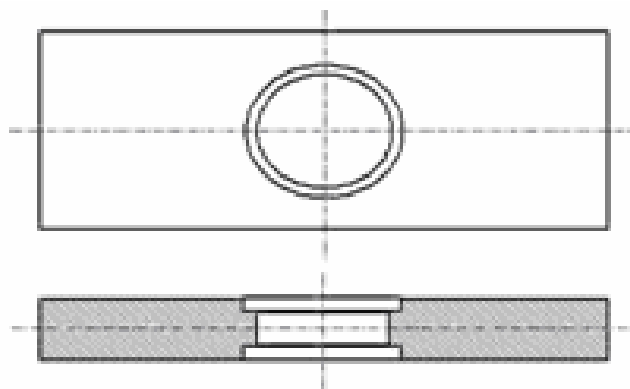


Figure 3. 1: aluminum slide used for live microscopy

Рис. 9-2-3. Алюминиевый слайд для наблюдения живых клеток под микроскопом.

Комплексное исследование капли крови.

1-Стандартный метод подготовки окрашенных препаратов крови для анализа.

При проведении стандартного анализа крови капля размазывается по предметному стеклу, высушивается и окрашивается. Метод гемосканирования отличается от стандартного метода гематологического анализа крови тем, что исследуется живая кровь и не производится окрашивание препарата крови.

При исследовании крови возможно проведение комплексного обследования путем применения трех методов. Комплексное исследование позволяет получить более полную информацию о состоянии пациента. На предметное стекло наносится две капли крови, одна из которых накрывается покровным стеклом.

1-Гемосканирование-анализируется живая капля крови под покровным стеклом.

2-Метод закрытой капли-анализируется кристаллограмма капли, высохшей под покровным стеклом.

3-Метод открытой капли-анализируется кристаллограмма капли не накрытой покровным стеклом.

Разновидностью метода гемосканирования является анализ сыворотки крови. Это позволяет более детально изучить мелкие компоненты крови. При исследовании сыворотки крови так же целесообразно проводить комплексное исследование тремя методами как и для капли цельной крови.

Режимы освещения препарата.

При гемосканировании возможно использование различных режимов освещения препарата:

1-режим светлого поля,

2-режим темного поля,

3-режим поляризационного освещения.

1-Режим светлого поля.

Режим светлого поля-это стандартный режим и он имеется на всех микроскопах. При работе в режиме светлого поля (проходящий свет, освещение препарата снизу) анализируется форма

эритроцитов и других клеточных элементов. Так же в режиме светлого поля можно наблюдать крупные включения.

2-Режим темного поля.

Режим темного поля специально используется в методе гемосканирования для выявления мелких компонент в крови. Для реализации метода темного поля микроскоп оснащается специальным темнопольным конденсором. При работе в режиме темного поля можно наблюдать наличие в крови мелких включений. Мелкие частицы при наблюдении в режиме темного поля видны как звездочки. Форма частиц не видна, но зато видно их количество, однородность распределения по полю зрения и динамика движения. Так как частицы очень маленькие, то они совершают броуновское движение в жидкости. В режиме темного поля так же видны более крупные частицы, которые совершают прямолинейные движения, и могут быть интерпретированы как микробы и бактерии.

В 1913 г. в целях повышения апертуры объектива микроскопа, Зигмонди предложил конструкцию щелевого иммерсионного ультрамикроскопа, в котором осветительный и наблюдательный объективы касались друг друга. **При этом наблюдения производились без кюветы, а раствор помещался непосредственно между объективами.** Объект освещается через узкую прямоугольную щель, расположенную сбоку. Изображение щели проектируется в зону наблюдения. В окуляр наблюдательного микроскопа видны светящиеся точки (дифракционные пятна) частиц, находящихся в плоскости изображения щели. Выше и ниже освещенной зоны присутствие частиц не обнаруживается.

Различные виды реализации режима темнопольной микроскопии подробно рассмотрены и проанализированы в книге «Методы контрастирования в микроскопии».

3-Поляризационный режим.

Поляризационный режим очень полезен для выявления в крови оптически неоднородных объектов, кристаллов. Режим поляризационного освещения реализуется довольно просто путем размещения в оптическом пути микроскопа двух поляризационных фильтров. Любой микроскоп можно быстро оснастить режимом поляризационного освещения.

4-Режим спектральной флуоресценции.

Различные микроорганизмы флуоресцируют в видимом диапазоне при возбуждении УФ светом с различными длинами волн. Имеются специальные таблицы соответствия длин волн различным микроорганизмам. Возможно проведение идентификации различных микрочастиц в живой крови с помощью флуоресцентного метода с перестраиваемой длиной волны УФ света при возбуждении флуоресценции. Данный метод был разработан в 1920 году Реймонд Райфом (Royal Raymond Rife).

Для исследования крови можно так же применять режимы фазового контрастирования, и интерференционного контрастирования. Однако для реализации этих методов контрастирования необходимо специальное оснащение микроскопов, и они имеют мало дополнительной информации. Поэтому данные методы контрастирования для анализа крови не используются.

9.3 Компоненты крови.

1-Молекулярные компоненты-основные компоненты сыворотки крови.

-Низкомолекулярные компоненты (вода-размер молекулы-0,28нм, и ионы).

-Молекулы средней массы-МСМ (средние молекулы-СМ)-по молекулярной массе занимают промежуточное положение между аминокислотами и белками сыворотки, масса от 500 до 5000 дальтон. Молекулы средней массы представляют собой олигопептиды, белковые токсины.

Содержание молекул средней массы является важным диагностическим признаком при эндогенной интоксикации организма.

-Высокомолекулярные компоненты-белки. Глобулярные белки:

-альбумин-масса 69.000 дальтон, размер молекулы-3,6нм,

-глобулин-масса 330.000 дальтон,

Фибриллярные белки: фибриноген, молекулярный вес 350.000 дальтон, размер молекулы 22нм.

В плазме крови содержится более 30 белков с молекулярной массой от 44.000 до 1.300.000 дальтон. 10% белков составляют 90% массы белков. Распределение белков по массе можно определить с помощью электрофореза на бумаге или в агаровом геле.

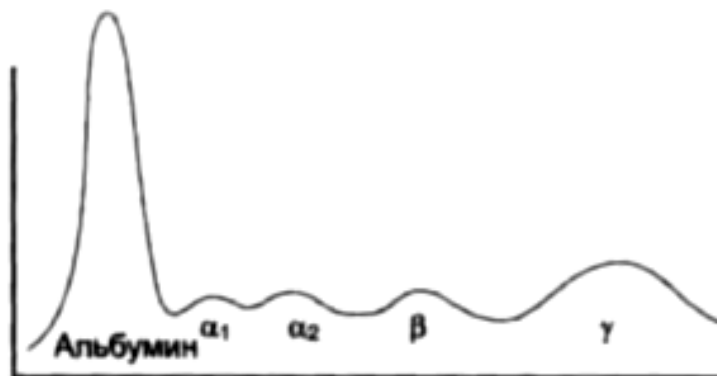


Рис. 9-3-1. Электрофореграмма белков сыворотки крови: альбумин, α1-глобулины, α2-глобулины, бета-глобулины, гамма-глобулины.

Альбумины-более полярные молекулы, чем глобулины,

Альбумины более легко связываются с молекулами воды и имеют относительно большую гидратную оболочку, чем глобулины.

Альбумины высаливаются в последнюю очередь.

2-Надмолекулярные компоненты.

Кроме молекулярных компонент присутствуют надмолекулярные структуры. Например, молекулы белков окружены гидратными оболочками. Гидратные оболочки представляют собой единое целое с молекулами. Гидратная оболочка ЛПНП-6000 молекул, триглицериды-39 молекул, ионы Na и Cl-6 молекул воды. Надмолекулярными структурами так же являются кластеры молекул воды.

Молекулы альбумина присутствуют в плазме в основном в виде соединений с различными веществами. Молекулы альбумина выполняют в крови транспортную функцию, они имеют на своей поверхности центры связывания, к которым присоединяются различные молекулы, лиганды. Молекулы альбумина присутствуют в сыворотке не только в виде мономеров, но и в виде димеров.

3-Липопroteины.

Более высокий уровень строения представляют липопroteины. Это целые комплексы, имеющие сферическую форму, и состоящие из оболочки и ядра.

-ЛПВП-липопротеины высокой плотности-5-12нм. Основной белок-АпоА-масса 435.000 дальтон.

-ЛПНП-липопротеины низкой плотности-18-25нм. Основной белок АпоВ-масса 3.200.000 дальтон.

-ЛПОНП-липопротеины очень низкой плотности-30-80нм.

-Хиломикроны-это самые большие из липопroteинов, имеют размеры от 75 до 1200нм. Хиломикроны синтезируются клетками кишечника в процессе всасывания экзогенных липидов,

и секретируются в лимфатические сосуды. Из них они попадают в кровь. Благодаря большому размеру хиломикроны вызывают сильное светорассеивание, поэтому плазма крови после приёма пищи всегда выглядит опалесцирующей или даже мутной в зависимости от уровня потреблённых с пищей жиров. Хиломикроны появляются в крови через один час после приема пищи. Максимальное количество хиломикрон в крови наблюдается через 6 часов после приема пищи. При 12 часовом голодании хиломикроны в крови отсутствуют.

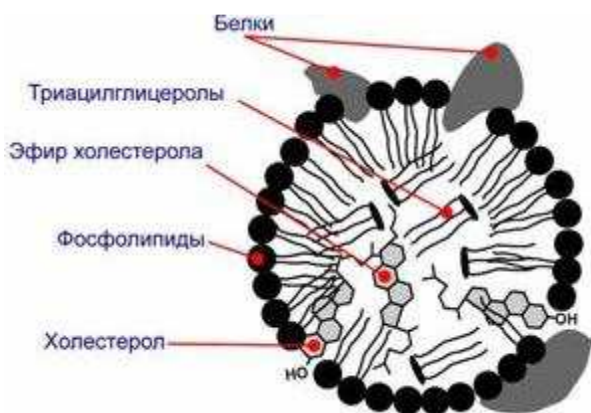


Рис. 9-3-2. Строение липопротеинов.

Липопротеины имеют одинарный слой внешней оболочки.

4-Везикулы, микросферы.

-Внеклеточные везикулы это крошечные внеклеточные пузырьки, которые выделяют клетки различных тканей или органов в окружающую их среду. Микровезикулы-100-1000нм. Микровезикулы представляют собой частицы сферической формы. Они образуются путем отпочковывания от клеток части мембран с некоторым содержимым. Строение микровезикулы-бислойная мембрана (часть клеточной мембраны) и содержимое. Микровезикулы создаются различными клетками крови-тромбоцитами, эритроцитами, лейкоцитами. Микровезикулы найдены в различных жидкостях организма, в том числе в плазме крови, моче, слюне, амниотической жидкости, грудном молоке и жидкости, накапливающейся при плевральном асците. Внеклеточные везикулы можно подразделить на четыре основных класса: 1-эктосомы, 2-экзосомы, 3-апоптотические тельца и 4-ретровирус-подобные частицы/микровезикулы.

1-Эктосомы (почкующиеся микровезикулы) представляют собой довольно крупные пузырьки (от 50 до 1000нм в диаметре). Они образуются путем выпячивания плазматической мембраны из клетки наружу с последующим отделением образовавшегося пузырька от мембраны клетки. Эктосомы выделяются различными клетками, включая клетки опухолей, полиморфноядерные лейкоциты, стареющие эритроциты и активированные тромбоциты.

2-Эндосомы (внутриклеточные везикулы)-это внутриклеточные органоиды в виде микрокапелек жидкости, отделенной от цитоплазмы **мембраной в виде липидного слоя**. Если содержимое эндосомы гидрофобное (капли жира), то эндосома имеет однослойную мембрану. Если содержимое эндосомы гидрофильное, то эндосома имеет двухслойную мембрану. При разрушении клеток крови везикулы могут попасть в кровь.

3-Апоптотические (апоптотические) Погибшие клетки при апоптозе распадаются на небольшие, фрагменты, окруженные мембраной, которые обозначаются как апоптотические тельца. Они имеют размер порядка 50-5000нм в диаметре и представляют собой фрагменты умирающих клеток. Апоптотические тельца распознаются и поглощаются (фагоцитируются) другими клетками благодаря молекулам фосфатидилсерина. В живой клетке фосфатидилсерин располагается на внутренней стороне мембраны. В процессе апоптоза фосфатидилсерин перемещается на внешнюю поверхность мембраны.

4-Микровезикулы.

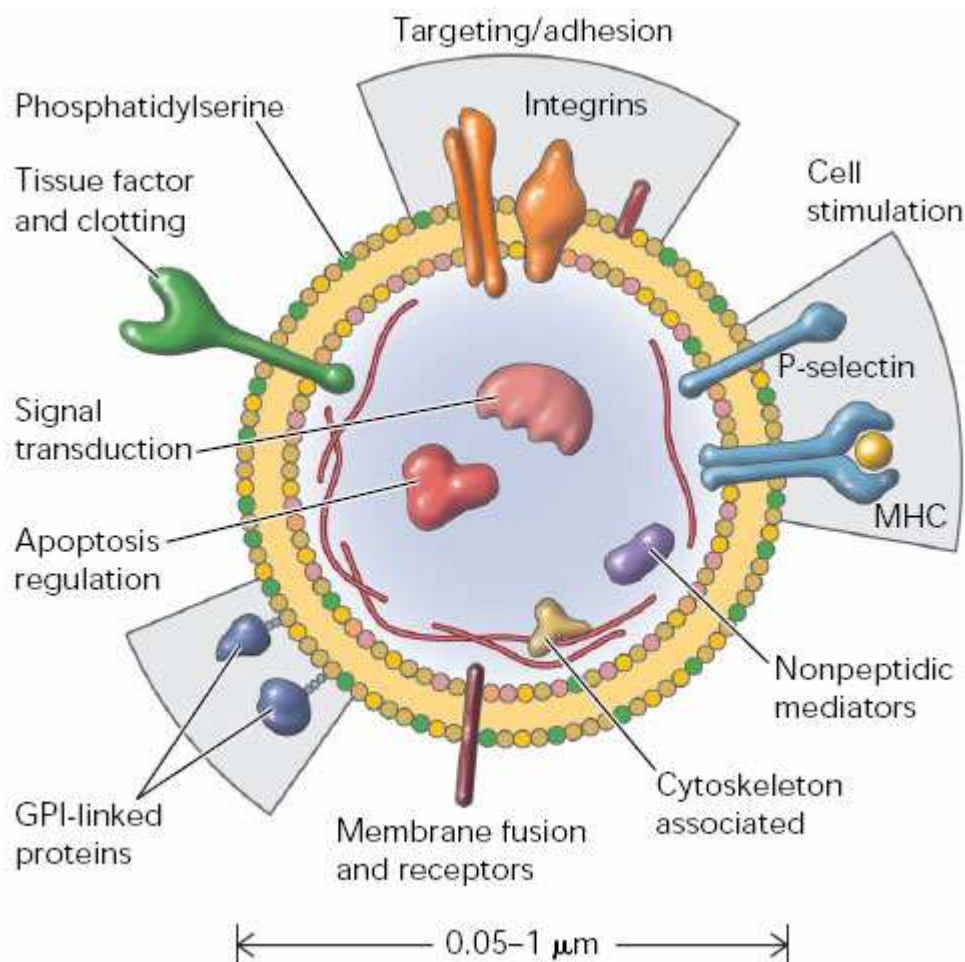


Рис. 9-3-3. Строение микровезикулы.

Зубаиров Д. М. Зубаирова Л. Д. Микровезикулы в крови. Функции и их роль в тромбообразовании. Монография. ГЭОТАР-Медиа, 2009. 168с.

5-Клеточный дебрис.

-Клеточный дебрис-неструктурированные частицы от разрушенных клеток, имеют размер от 100 до 2000нм.

6-Нонопузырьки.

Нанопузырьки образуются в результате температурных флуктуаций плотности из растворенных в сыворотке газов-кислорода и углекислого газа. Пузырьки имеют размер от 20 до 200нм. Пузырьки являются термодинамически метастабильными в результате адсорбции ионов на их поверхности. Граница воды и газовой фазы пузырьков заряжена отрицательно. Пузырьки снаружи окружены облаком противоионов. Снаружи на пузырек действует внешнее давление и поверхностное натяжение. Изнутри на пузырек действует кулоновское отталкивание адсорбированных ионов и движение молекул газа.

7-Сгустки.

Еще один тип образований-сгустки. Сгустки бывают микроскопические, размером несколько микрон, и макроскопические, размером несколько миллиметров. Неоднородности

сыворотки становятся хорошо видимыми, если перелить сыворотку в кювету с прямоугольными стенками. Становятся видным течение компонент с различной оптической плотностью.

Распределение частиц по размерам в сыворотке крови можно регистрировать с помощью метода ЛКС-лазерной корреляционной спектроскопии. Суть метода состоит в регистрации спектра колебаний интенсивности рассеянного света, вызванной броуновским движением частиц. Чем больше частицы-тем меньше частота флуктуаций. Данным методом регистрируется не физический радиус частиц, а так называемый гидродинамический радиус частиц. Например, если у частицы имеется гидратная оболочка, то регистрируется радиус частицы с гидратной оболочкой-гидродинамический радиус. Гидродинамический радиус молекулы гораздо больше размера молекулы.

Гидродинамический радиус альбумина-5-7нм, иммуноглобулин IgG-5-6нм, иммуноглобулин IgM-15-18нм, глобулины и ЛПВП-7-10нм, фибриноген-40-80нм.

Можно выделить следующие характерные размеры:

0-10нм-низкомолекулярные мономерные белки и продукту их гидролиза

11-30нм-глобулярные белки и низкомолекулярные липопротеиновые комплексы

31-70нм-более высокомолекулярные гликолипопротеиновые комплексы, рибонуклеопротеидные и дезоксинуклеопротеидные частицы а также самые низкомолекулярные иммунные комплексы

71-150нм-иммунные комплексы среднего размера

более 150нм-высокомолекулярные комплексы, возникающие при аллергии и аутоиммунной сенсibilизации организма.

8-клеточные элементы.

Тромбоциты имеют размер 1,5-3,5мкм,

Эритроциты имеют размер 7-10мкм,

Лейкоциты имеют размер 10-12мкм.

9-Микроорганизмы.

В плазме присутствуют микроорганизмы. В 1925 году, при микроскопии крови в темном поле немецкий зоолог Эндерлейн (Enderlein Gunther) (1872-1968) обнаружил биологические объекты, которые с течением времени изменяли свою морфологическую структуру, то есть эволюционировали в короткие сроки. По его версии в крови существуют биоценозные сообщества четырех основных форм:

1-белковые коллоидные структуры,

2-микроорганизмы водорослевого типа,

3-грибковые формы,

4-палочковидные бактерии.

Микроорганизмы можно наблюдать в свежераскапанной капле в режиме темного поля при увеличении 40х и выше. В сыворотке можно наблюдать множество светящихся частиц. Частички разных веществ совершают хаотическое, броуновское движение. Микроорганизмы совершают направленное движение, которое часто не совпадает с направлением общего потока движения остальных частиц.

Прионы-особый класс инфекционных агентов, представленных белками с аномальной третичной структурой и не содержащих нуклеиновых кислот. Прионы не являются живыми организмами, но могут размножаться, используя функции живых клеток.

Фаги-ультрамикроскопические паразитов микроорганизмов. По своему строению фаги не имеют аналогов среди других микроорганизмов. Они не могут быть отнесены ни к растениям, ни к животным. Обычно их определяют как вирусы микроорганизмов.

Вирусы-Неклеточный инфекционный агент, который может воспроизводиться только внутри живых клеток. Вирусы имеют размеры от 0,008 до 0,3мкм.

Бактерии-одноклеточные безъядерные микроорганизмы. Бактерии имеют размер 0,5-5мкм.

Микробы-Микроорганизмы-Одноклеточные: безъядерные (бактерии), эукариоты (грибы). Крупная инфузория имеет размер 500мкм.

Одни микроорганизмы могут быть обнаружены с помощью оптического микроскопа, другие различимы лишь под электронным микроскопом.

Максимальное увеличение оптического микроскопа достигает 3000. Он дает возможность различать частицы размером не менее 0,1-0,2мкм.

Современные электронные микроскопы обладают разрешающей способностью до 0,15нм и дают возможность видеть не только мельчайшие существа, но и тонкие структуры их клетки. Такой микроскоп позволяет увеличивать анализируемый объект в 750 000 раз.

При работе с микроорганизмами обычно используют увеличение оптического микроскопа в 1000-1500 раз, а электронного - в 30 000- 100 000 раз.

Бактериемия-нахождение микробов в крови. Бактерии попадают в кровь из различных очагов инфекции из различных органов, при укусах кровососущими насекомыми. Попадание микробов в кровь возникает при некоторых инфекционных болезнях-тиф, паратифы. Бактерии могут попадать в кровь при различных состояниях, но при нормальном иммунном ответе кровь здорового человека за счет лейкоцитов и гуморальных факторов защиты быстро нейтрализуются.

9.4 Что можно определить методом гемосканирования.

1. Состояние эритроцитов, их подвижность в плазме, степень агрегации (склеивание в "монетный столбик") и сладжирование (образование беспорядочной, сплошной агрегации). Анализируя состояние тромбоцитов, лимфоцитов и лейкоцитов, можно определить активность иммунной системы и способность организма к самовосстановлению, а также патологические изменения состава крови, приводящие к развитию многих заболеваний.

2. Наличие кристаллов холестерина, сахара, мочевой кислоты и др. включая дрожжевую и бактериальную инфекцию.

3. Состояние жидкой части крови (плазмы), степень её чистоты, наличие или отсутствие микроорганизмов, физиологических (холестерин) и/или патологических включений (в т.ч. недопереваренные остатки: волокна, пищевые красители и т.п.).

9.5 Изображения, полученные при гемосканировании.

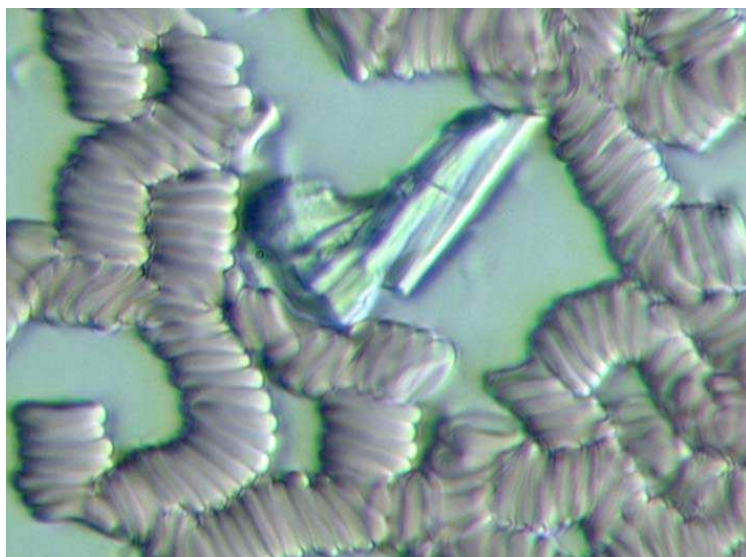


Рис. 9-5-1. Кристалл в крови. Светлое поле. Поле зрения 0,17мм (объектив 60х).

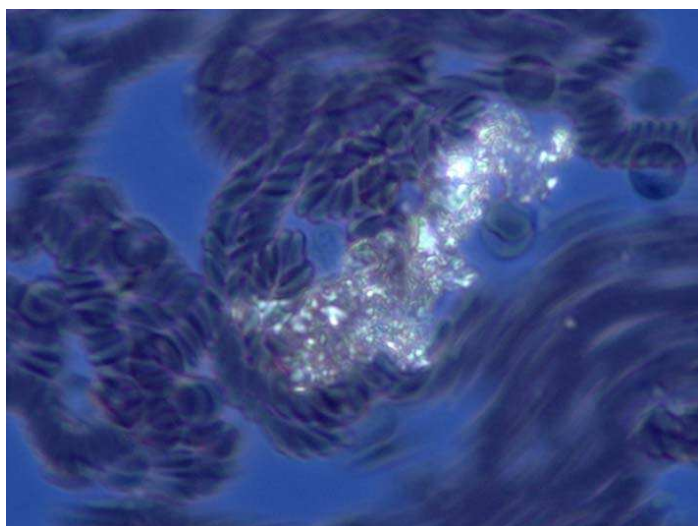


Рис. 9-5-2. Агрегаты липидов. Поляризованный свет. Поле зрения 0,25мм. (объектив 40х).



Рис. 9-5-3. Эритроциты и мелкие частицы. Темное поле. Поле зрения 0,17мм.



Рис. 9-5-4. Волокна фибрина.

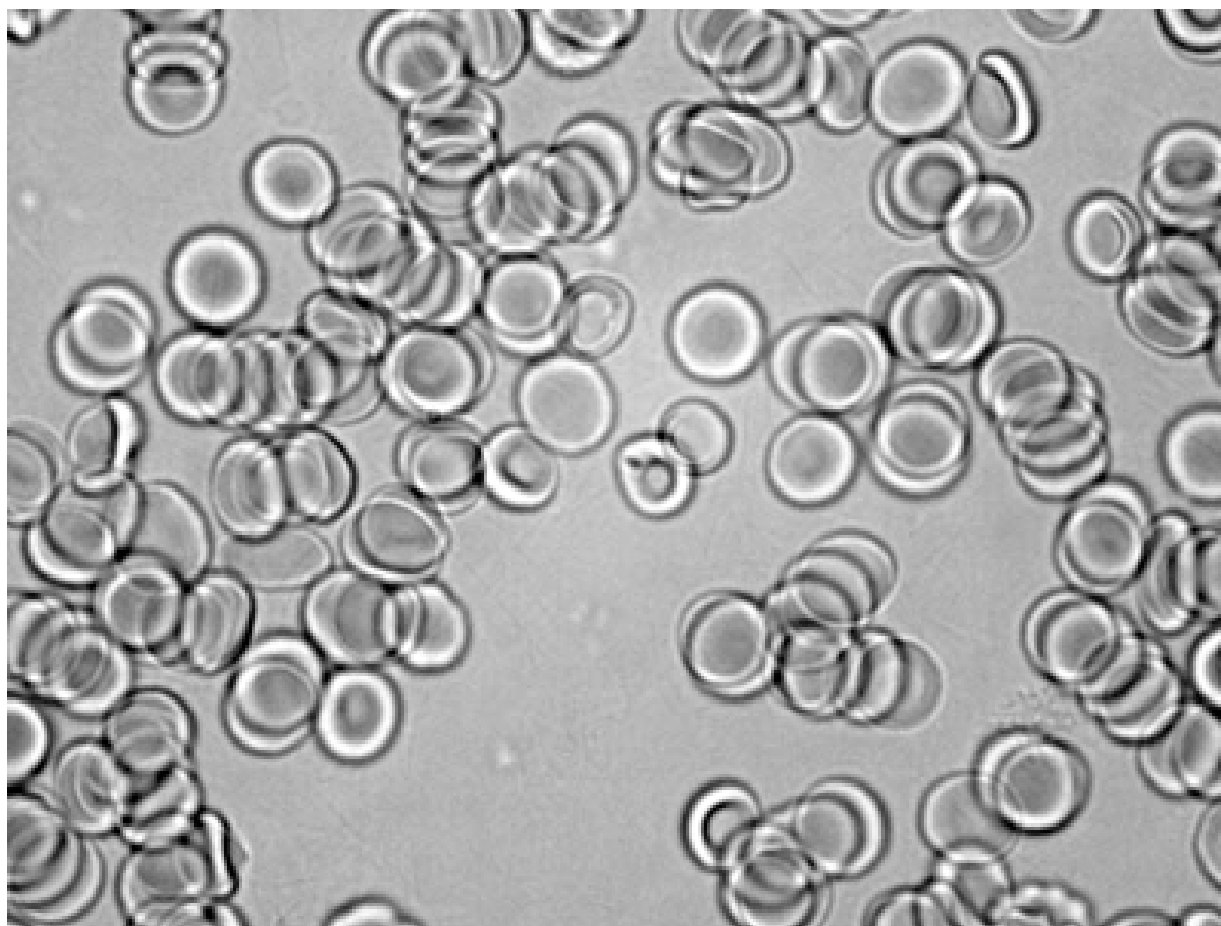


Рис. 9-5-5. Эритроциты крови. Режим светлого поля. Поле зрения 0,1мм.

9.6 Отечественная литература по гемосканированию.

Евдотьева М.Я. Срабионова В.Х. Хотеева Г.И.

Атлас клеток крови у детей при фазово-контрастной микроскопии. Москва. Медицина. 1967

Свищева Тамара Яковлевна

Атлас клеток крови и паразитов человека. Москва. Издательство «Диля». 2003. 128 с.

Свищева Тамара Яковлевна

Перспективная диагностика. Биорезонансная, световая, темнопольная, люминесцентная. Москва. Издательство «Диля». 2006. 250 с.

Алексеева Евгения Вениаминовна

Микромир в крови человека. Москва. Издательство «Новый Центр». 2003. 150 с.

Исследование клеток крови с помощью растровой электронной микроскопии.

Российского государственного медицинского университета

Кафедра профилактической и восстановительной медицины ФУВ ГОУ ВПО

Боженков Юрий Григорьевич-зав кафедрой, дмн, профессор

Шипова Елена Игоревна-терапевт, врач функциональной диагностики, иммунолог.

Боженков Ю.Г. Шипова Е.И.

Функциональное гемосканирование. Москва. Издательство «Эталон». 2008. 36 с.



Рис. 9-6-1. Книга по гемосканированию.

Морылева Ольга Николаевна, Анисимова О.О.

Атлас. Микроскопия нативной крови. Москва. 2009. 104 с.

Глава 10. Тезиография сыворотки крови, Blood Sensitive Crystallization.

10.1 Тезиография сыворотки крови методом открытой капли, зарубежные авторы.

При кристаллизации сыворотки крови с добавлением NaCl происходит образование крупных дендритов соли в центральной зоне.

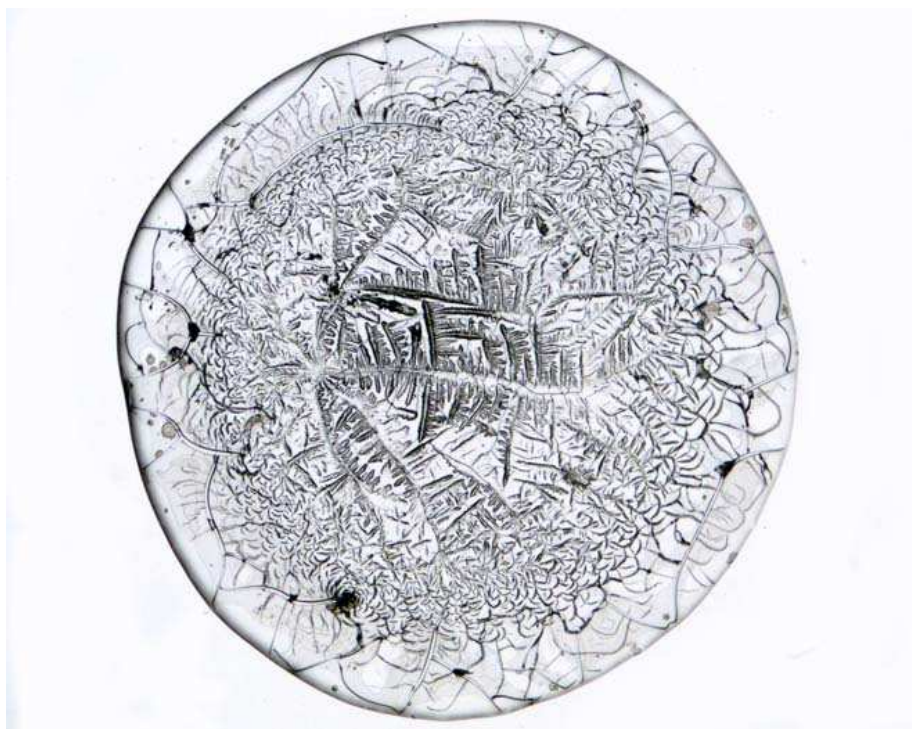


Рис. 10-1-1. Тезиограмма сыворотки крови. Проходящий свет. Поле зрения 5мм.

1907-Французский биолог Ледюк Стефан (LeDuc Stefan) (1855-1939) помещал капли крови на тонкий слой раствора соли, нанесенного на поверхность стекла. Он наблюдал потоки жидкости. -Leduc, St. in: Kopaczewski, W. Tr. de biocolloïdologie (Paris 1932).

1931-Wladislas Kopaczewski-Paris-France

Он считал, что различные кристаллы образуются в результате различной амплитудыдвигающихся молекул вещества. Различие в кристаллизации объясняется физическими, а не химическими причинами.

1931-Kopaczewski W. Point isoélectrique ou zones de labilité colloïdale? Protoplasma. 1931, Volume 13, Issue 1, p.405-420.

1933-Kopaczewski W. Role de la tension superficielle en biologie. Protoplasma. 1933, Volume 19, Issue 1, p.255-292.

1933-Kopaczewski, W. Traité de Biocolloïdologie, Gauthier-Villars, Paris, 1933, I, IV.

1934-Kopaczewski W. Traité de biocolloïdologie (Том 4. Выпуск 4.) Gauthier-Villars&Cie. 1934.

1936-Ehrenfried Pfeiffer (1899-1961), Dornach, Швейцария,

Немецкий ученый Пфайфер (Pfeiffer), ученик Штайнера, написал работу на степень доктора медицины по методу чувствительной кристаллизации хлорида меди. Он разработал аналитический метод на основе кристаллизации хлорида меди для исследования крови при диагностике рака. В 1937 году Pfeiffer уезжает в США и работает в Philadelphia's Hahnemann Medical College.

1968-Pfeiffer E.E, Sabarth E. Sensitive crystallization processes: A demonstration of formative forces in the blood, SteinerBooks. 1968. 108pages.

1975-Pfeiffer, Ehrenfried. Sensitive Crystallization Processes. A Demonstration of Formative Forces in the Blood. Anthroposophic Press, Spring Valley, NY. 1936 (second printing 1975), 59pages.

1975-Pfeiffer E.E, **Sabarth E.** Sensitive crystallization processes: A demonstration of formative forces in the blood, Anthroposophic Press, 1975 ASIN B00073467S. 61pages.

Если в пересыщенный раствор соли добавить некоторую биожидкость, то структура выпавших кристаллов отражает не только свойства самой соли, но и результат взаимодействия соли и биожидкости. Этот метод был назван «чувствительная кристаллизация».

1938-Begouing M.P. (Pris, France) Quelques resultats de la methode des cristallisations de Pfeiffer dans le diagnostic du cancer et de la tuberculose, Bulletin de l'Academie de Medecine. Paris. 1938. 102. Tome. 119. No. 25. p.746. Рассматривал вопросы диагностики рака с помощью метода чувствительной кристаллизации.

1939-Bechhold H. (Dresde, Germany) Die Kolloide in Biologie und Medizin, Theodor Steinkopff, Dresden, 1939.

1939-Trumpp J. and Rascher S. (Germany) Versuch einer Kristallographischen Karzinom-Diagnose. Muenchner Medizin. Wochenschrift 1939. No.14.

1939-Rascher S. and Trumpp J. Experiments with Crystallographic Carcinoma Diagnosis. Mu. Med. Woschr. 1939. 86. 14. 545. Диагностики карциномы с помощью метода кристаллографии.

1940-Isabel E. (France) La Cristallisation du Chlorure de Cuivre. Son application au diafnostics du cancer et de la tuberculose. 1940. Jouvre & Cie. Рассматривается применение чувствительной кристаллизации для диагностики рака и туберкулеза.

1940-Канада, Монреаль, McGill University

1940-Gruner O.C. Experience with the Pfeiffer crystallization method for the diagnosis cancer. Canadian Med Assoc. J. 1940. Aug. 43 (2). 99-106. +

1942-Gruner O.C. A Study of the Blood in Cancer. Renouf Publishing Co. Montreal. Canada. 1942.

Было проведено исследование 122 пациентов больных раком и диагноз подтвердился в 90%. При обследовании 35 здоровых пациентов правильный диагноз составил 91%.

1942-Англия, Runwell Hospital

R. Ström-Olsen, M.D. B.Sc, D.P.M. Physician Superintendent.

E. de C. Kite, M.B. Ch.B. LL.B. Late House Physician to the Hospital.

The Sodium Chloride Crystallization Test and its Relation to the Blood-C.S.F. Barrier.

The British Journal of Psychiatry (1942) 88: p.407-414.

1945-Kubina H. (Germany) Die Blutkristallisation nach Pfeiffer. Wissenschaftl. Haus Mitteilungen. 24 (1945). 8. 221. Рассматривались вопросы чувствительной кристаллизации крови.

1947-Krebs H. I(Germany) Ein Beitrag zur kristallographischen Carcinomdiagnostik nach E.E. Pfeiffer. Helvetica Churgica Acta. Vol. 14. 1947. Fask.3. Рассматривается применение чувствительной кристаллизации для диагностики рака.

1950-Pagnamenta C. Uber die Silikose. Zurcherische Arbeitsgemeinschaft zur Erforschung und Bekampfung der Silikose in der Schweiz. 1950. №2. s.46. Тезиографическая диагностика селикоза.

1950-**Dresden, Germany**

1950-Garn Wm.-Blutkristallreaktion auf pathologische Stoffwechselprodukte beim Karzinom. Archiv fuer Geschwulstforschung. Band 2. No0.3. Verlag Steinkopf. Dresden. 1950. Рассматривается кристаллизация крови для выявления продуктов метаболизма при карциноме.

1952-Alla Selawry-Lippold, Shtutgard, Germany

Alla Selawry родилась в 1913 году в Москве. Она была врачом, гомеопатом, антропософистом. В 1920 году ее семья переехала в Германию. После окончания в 1939 году University of Tubingen она работала с Ehrenfreund Pfiffer и разрабатывала методы медицинской диагностики на основе метода чувствительной кристаллизации (метода биокристаллизации). Она успешно развила метод и основала частную практику, которой успешно занималась до своей смерти в 1992 году. Она утверждала, что кристаллизация крови является наукой будущего. Она так же развивала гомеопатические методы лечения. Alla Selawry исследовала методом тезиографии (хлорид меди) сыворотку крови 500 больных раком с различной локализацией и выявила некоторые закономерности. кристаллографические исследования крови 500 больных раком различной локализации, В 83% случаев наблюдался ряд однотипных канцероматозных изменений в картине кристаллов. Эти изменения в первую очередь касались характерных поперечных форм и наслоений одних кристаллических форм на другие. В 1957 году было проведено 36000 серий исследований и изготовлено 140000 тестовых чашек Петри для кристаллизации.

Методика проведения кристаллизации. Состав раствора: 0,1-0,015 г крови, 1,2 г $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 6,0 мл дважды дистиллированной воды. Раствор наливался в чашку Петри диаметром 12 см и высушивался в термощкафу при температуре 28 градусов и относительной влажности 50-55 процентов. Продолжительность кристаллизации-10 часов.

1952-A.Selawry-Lippold исследовала методом тезиографии сыворотку крови 500 больных раком с различной локализацией и выявила некоторые закономерности. кристаллографические исследования крови 500 больных раком различной локализации, В 83% случаев наблюдался ряд однотипных канцероматозных изменений в картине кристаллов. Эти изменения в первую очередь касались характерных поперечных форм и наслоений одних кристаллических форм на другие. Статья «Кристаллизация хлорида меди в естествознании и медицине», Штутгарт, 1957.

1952-Selawry-Lippold A. The copper chloride crystallization test in the diagnosis of cancer. Med Klin (Munich). 1952 Jan 25; 47(4): p.107-111.

1954-Selawry A. Detection of heart and liver diseases by blood crystallization with copper chloride. Med Klin (Munich). 1954 Feb 26; 49(9): p.327-330.

1954-Selawry A. Detection of pulmonary and renal diseases by crystallizations of cupric chloride in blood. Hippokrates. 1954 Aug 31; 25(16): p.510-513.

1954-Selawry A. Confirmation of inflammation and tumors by hemocrystalligraphy with cupric chloride. Athena. 1954 Jan; 20(1): p.13-20.

1955-Selawry O. Ueber Querlagerungen im Blutkristallisationsbild gesunder und tumorkranker Menschen. Zeitschrift fuer Krebsforschung. 1955.

1956-Selawry A. написала главы XIII "Blood Crystallization as a diagnostic technique" в книге The Antroposophical approach to medicile. Husemann Wolf. 1956. 408p. (второе издание книги вышло в 1982 году).

1957-Selawry, A. and Selawry, O. Die Kupferchlorid-Kristallisationsmetode in Naturwissenschaft und Medizin. Gustav Fischer Verlag: Stuttgart, Germany. 1957. 222p.

1957-Alla Selawry, and Oleg Selawry: Copper Chloride Crystallization in Natural Science and Medicine. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1957.

1958-Selawry O. Crystallization of copper chloride with tumor extracts or blood of animals affected with cancer. Arch Geschwulstforsch. 1958; 12(4): p.368-379.

1960-Selawry A. Copper chloride crystallization as a reaction to the change of condition in living organisms. Hippokrates. 1960 Jul 31; 31: p.453-460.

1961-Selawry, A. Neue Einblicke in die Samenkeimung. Naturwissenschaftliche Sektion am Goetheanum, Dornach, Switzerland. 1961. No.3. 75p.

1962-Selawry A. Koepf H. Application of the diagnostic crystallization method for the investigation of quality of food and fodders. Bio-Dynamics. 1962, 1963, 1964, 1965.

1952-Sole A. исследовал кристаллизацию соли в сыворотке крови людей и животных.

1952-Sole A. Stagoskopie. Wiener klinische Wochenschrift. 1952. Band.64. №1. s.24.
1954-Sole A. Die Rhythmischen kristallisationen im influenzstadiogramm. (Rhythmic crystallization by a drop technique). Kolloid-Zeitschrift. 1954. 137(1). P.15-19.
1955-Sole A. Die Rhythmik im Influenzstadiogramm. Kolloid-Zeitschrift. 1955. Band.143. p.73-83
1957-Sole A. Untersuchung über die Bewegung der Teilchen im Stadiogramm und Influenzstadiogramm. Kolloid-Zeitschrift. 1957. Band.151.s.55-62.

1952-Jung H. Beiträge zur Kristallographischen Blutuntersuchung. Pharmazie. 7. H.10. 628-639.
1952. Тезиснографическое исследование крови для диагностики рака.

1952-Vogl A. Diagnosis of neoplastic diseases by copper chloride crystallization method. Med Klin (Munich). 1952 May 16; 47(20): p.689-90.
1955-Vogl A. Blood, copper chloride crystallization, diagnostic methods. Hippokrates. 1955 Jun 30; 26(12): p.380-381.

1953-Hamburg-Germany

1953-Lehmann F. Grube-Ueber die Beeinflussung der Kupferchlorid Kristallisation durch liquor cerebrospinalis. Dissertation. Hamburg. 1953. Диссертация посвящена применению метода чувствительной кристаллизации для исследования цереброспинальной жидкости.

1953-Bocconi G, Franceschetti L, Serra F. Induced crystalluria test in the study of the diuretic action of mineral water. Minerva Med. 1953 Nov 21; 44(93): p.1505-1507.

1954-Koch C. Feinbau und Entstehungsweise von Kristallstrukturen in getrockneten Tropfen hochmolekularsalzhaltiger Flüssigkeiten. Kolloid-Zeitschrift. 1954. Band 138. Helt 2. s.81-86.

1959-Bonn, Germany

1959-Beckmann, H. (1959): Über Keimbildung, Einkristallwachstum und Auffächerungswachstum von $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ in rein wässrigen und eiweißhaltigen Lösungen, **Dissertation** Universität Bonn.
Beckman H. из Боннского Университета исследовал кристаллизацию CuCl_2 в воде и в растворе белков.

1959-Kleber, W. and Steinike-Hartung, U. 1959. Ein Beitrag zur Kristallisation von Kupfer(II)-Chlorid-Dihydrat aus Lösungen. Zeitschrift für Kristallographie. 111: 213-234.

1961-Engqvist, E. Struktureveränderungen in Kupferchloridkristallisationsbild von Pflanzensubstanzen durch Alterung und Düngung. Lebendige Erde 3. 1961.

1970-Engquist M. Gestaltkraft des Lebendigen. Die Kupferchlorid-Kristallisation eine Methode zur Erfassung biologischer Veränderungen pflanzlicher Substanzen. Vittorio Klostermann. Frankfurt am Main. 1970.

1964-Голландский ученый Daems провел кристаллографическое исследование крови. Он проводил кристаллизацию $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ с добавлением гемолизированной крови. Были выявлены различия в форме кристаллов, полученных в присутствии крови здоровых людей, и больных с гипертрофией и карциномой простаты.

1964-Daems W.F. Thesigraphie. Chem. courant. 1964. v.63. 1970. p.15-17.

1965-Daems W.F. Thezigraphic analysis / Biol. chem. 1965. №9. p.4-5.

1964-Teichmann B. Germany

1964-Teichmann B. Huber R. On the effects of irradiated human serum on the crystallization forms of L-leucine. Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med. 1964; 8: p.297-298.

- 1964-Teichmann B. On the effectiveness of the crystallization of L-leucine in contact with sera from cancer patient as a means of cancer diagnostics. *Acta biologica et medica Germanica*. 1964; 13: p.758-768.
- 1965-Teichmann B. On the use of the crystallization test in cancer diagnosis. *Arch Geschwulstforsch*. 1965; 25(3): p.195-208.
- 1973-Teichmann B, Ziebarth D. The influence of lactic acid on crystallization patterns in cancer diagnosis. I. Cryoscopic measurements and studies on crystallization. *Arch Geschwulstforsch*. 1973; 42(1): p.41-49.
- 1973-Teichmann B, Ziebarth D. Effect of acid on crystallization tests in tumor diagnosis. Cryoscopic measurements and crystallization tests. II. Crystallization studies. *Arch Geschwulstforsch*. **1973**; 42(2): p.151-162.
-
- 1967-Petterson B-D. Beiträge zur Entwicklung der Kristallisationsmethode mit Kupferchlorid nach Pfeiffer. *Lebendige Erde*, 1967. 18, p.15-31.
-
- 1967-Williams H.V. (USA) The sensitive blood crystallization test in practice. *J. American Institute Homeopath*. 1967 Mar-Apr. 60(3), p.107-109.
-
- 1967-Nickel E. Die Reproduzierbarkeit der Sogenannten Empfindlichen Kupferchloridkristallisation. *Bull Soc frib Sci Nat* 57: 65-179, 1967-68
- 1968-Nickel, E. Die Reproduzierbarkeit der sogenannten "Empfindlichen Kupferchloridkristallisation. *Mineralog. Inst. d. Universität Freiburg, Germany*. 1968. 179p.
-
- 1980-Schudel P. Augstburger, F. Eichenberger, M. Vogtmann, H. and Matile, P.H. Kompost-und NPK-düngung zu Spinat im Spiegel empfindlicher Kristallisation und analytischer Daten. *Lebendige Erde*. 1980. 3: p.3-15.
- 1989-Enquist M. Qualitätsprüfung an Gemüse durch die Kupferchlorid-Kristallisationsmethode. *Forschungsring für biologisch-dynamische Wirtschaftsweise, Darmstadt*. 1989.
- 1990-Koopmans A. Pfeiffersche Blutkristallisation und Malignom-Bereitschaft. *Elemente der Naturwissenschaft*. 1990. 52: p.28-35.
- 1993-Nitschmann G. Gedanken zur empfindlichen Kristallisation mit Kupferchlorid ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). *Elemente der Naturwissenschaft*, 1993. 58, p.14-19.
-
- 1994-Marie-Therese Piva (France, Montpellier) Piva, M-T.Lumbroso.S. Sieso,V. Monnin. E. Mion, H. Blanc, F. and Mayde Bornier,B. **1994**. Cupric chloride crystallization with human blood study of pictures obtained in different pathologies. *Elemente der Naturwissenschaft*. 1994. 61(2):25-39.
-
- 1994-Shibata T**, Японии, Токио, Tokyo Woman's Medical University.
- 1994-Shibata T, Shirasaka R, Ogawa T, et al. Effect of human blood addition on dendritic growth of cupric chloride crystals in aqueous solutions. *Journal of Crystal Growth*. 1994; 142(1-2): p.147-155.
- 1996-Shibata T, Takakuwa Y, Tanaka A, Iguchi T, Kogure M, Ogawa T. Doping effect of human blood on surface microstructure of cupric chloride dendrites grown from aqueous solutions. *Journal of Crystal Growth*. 1996; 167(3-4): p.716-718.
- 1998-Shibata T. Tanaka, A. Kogure, M. Iguchi, T. and Ogawa, T. Crystallographic configurations of hydrated cupric chloride crystals grown from aqueous solutions with a small amount of diabetic blood added. In Cocude, M. (ed.), *Crystallisation workshop Paris 06/22/1998*. Commission for Scientific and Technical Research on Safety and Health in the Extractive Industries, French Ministry of the Economy, Finance and industry, pp35-37.Paris.
- 1998-Shibata T, Kogure M, Iguchi et al. Effects of Diabetics' Blood on the Growth of Hydrated Cupric Chloride Crystals from Aqueous Solutions. *J Tokyo Wom Med Univ*. 1998. 6-7: p.346-357.

1998-Shibata T, Takakuwa Y. Tanaka A. et al. Crystal structure of blue and green hydrated cupric chloride grown from aqueous solutions with and without human blood addition: single crystal X-ray diffraction analysis and differential scanning calorimetry (DSC). J. Tokyo Wom Med Univ 6-7: 358-369, 1998.

2000-Shibata T, Matsumoto S, Kogure M, et al. Effects of diabetic human blood addition on morphology of cupric chloride dendrites grown from aqueous solutions. Journal of Crystal Growth. 2000; 219(4): p.423-433.

1998-Haijo **Knijpenga** (Dipl.-Chem.). Dr.med. Damian Quero. Blood investigation using the method of sensitive crystallization according to E. Pfeiffer. 1998.

2005-Berlin, Germany.

2009-**Fritz, J.** Meißner, G. Athmann, M. Köpke, U. Untersuchung von Traubensaft mit den drei Bildschaffenden Methoden Kupferchloridkristallisation, Steigbildmethode und Rundfilterchromatographie. In: Mayer, J. Alföldi, T. Leiber, F. Dubois, D. Fried, P. Heckendorn, F. Hillmann, E. Klocke, P. Lüscher, A. Riedel, S. Stolze, M. Strasser, F. Heijden, M. Willer, H. (Eds.), Werte-Wege-Wirkungen: Biolandbau im Spannungsfeld zwischen Ernährungssicherung, Markt und Klimawandel Beiträge zur 10. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau, ETH Zürich, 11.-13. Februar 2009. Vol. 2: Tierhaltung, Agrarpolitik und Betriebswirtschaft, Märkte und Lebensmittel. Verlag Dr. Köster, Berlin, 2009. p.462-465.

2011-**Fritz, J.** Athmann, M. Köpke, U. Untersuchungen von Salatrauke (*Eruca sativa*) mit den drei Bildschaffenden Methoden Kupferchloridkristallisation, Steigbildmethode und Rundfilterchromatographie. In: Leithold, G. Becker, K. Brock, C. Fischinger, S. Spiegel, A.-K. Spory, K. Wilbois, K.-P. Williges, U. (Eds.), Es geht ums Ganze: Forschen im Dialog von Wissenschaft und Praxis. Beiträge zur 11. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau, Justus-Liebig-Universität Gießen, 15.-18. März 2011. Vol. 1: Boden, Pflanze, Umwelt, Lebensmittel und Produktqualität, Märkte und Lebensmittel. Verlag Dr. Köster, Berlin, 2011. p.394-397.

2013-Victor Sieso. Medical prospective utilisation of copper chloride crystallization in the presence of blood. 2013

10.2 Тезиография сыворотки крови методом открытой капли, Российские авторы.

1977-Москва, Моники

Сазонов А.М. Мороз Л.А. Каликштейн Д.Б.

Кристаллографический метод исследования в медицине Советская медицина. 1985. №6. 27-33. В качестве кристаллообразующего вещества использовались CuCl_2 и NaCl . В этой работе впервые описано применение NaCl в качестве кристаллообразующего вещества. В работе описано два метода кристаллизации:

-кристаллографический метод-кристаллизация CuCl_2 проводится в чашке Петри

-метод кристаллических налетов-мазок раствора NaCl наносится на предметное стекло.

Сыворотка крови и моча исследовались с целью выявления аллергического состояния.

1987-Шевердин Ю.П. Чумак П.Я.

Кристаллографическое исследование крови у больных острым панкреатитом. Клиническая хирургия. 1987. №11, с.64-65.

1993-Самара-Институт систем обработки изображений

Ильясова Н.Ю. Волкова С.Э.Карпеев С.В.Уваров Г.В.Устинов А.В. Храмов А.Г.

Оптико-цифровая система для анализа препаратов крови. Сб. Научное приборостроение, т.3, 1993, с.134-146.

1993-Рогожина Н.А. Социально-клинические аспекты рецидивов туберкулёза лёгких. Проблемы туберкулеза. 1993. №1. с.54-55.

Способ диагностики активности туберкулеза, включающий забор венозной крови, выделение сыворотки, приготовление из нее препаратов и их микроскопическое исследование в поляризованном свете (Рогожина Н.А. Причины реактиваций туберкулеза легких после хирургических вмешательств, проведенных у впервые выявленных больных на ранних сроках лечения и меры их профилактики. Диссертация степени кандидата медицинских наук. 1994). Критерием диагностики активности туберкулеза служит отношение количества жидких кристаллов типа сферолитов и дендритов в препарате сыворотки крови с раствором туберкулина в реополиглюкине к количеству жидких кристаллов этих же типов в препарате сыворотки крови с реополиглюкином. Способ доступен для широкого использования в клинической практике и не требует дорогостоящей аппаратуры и реактивов.

2003-Нижний Новгород, НГМА

Воробьев А.В. Воробьева В.А. Нештакова Н.Л. Воробьева И.Г.

Способ диагностики заболеваний рака крови. Патент 2250747. 2003.

Способ включает информационный перенос с биологической жидкости обследуемого человека на носитель, который затем соединяют на предметном окне с кристаллообразующим раствором, высушивают полученный раствор в течение 24 часов в темном помещении при комнатной температуре, после чего анализируют рисунок полученной кристаллограммы, при наличии в рисунке участков со структурой "улитка" диагностируют у обследуемого наличие острого лимфобластного лейкоза.

Кристаллизуется не биожидкость, а некоторый информационный носитель, на который переносится информация с биожидкости. Перенос информации с биологических жидкостей на "чистые" горошины молочного сахара осуществлялся при помощи медицинского диагностического прибора "DETA-PROFESSIONAL", который предназначен для проведения диагностики по методу Р.Фолля, подбора лекарственных препаратов индивидуально каждому пациенту, проведения биорезонансной терапии, а также для информационного переноса свойств различных препаратов на носители (воду, спирт, гранулы молочного сахара).

Затем гранулы молочного сахара с записанной на них информацией соединялись на предметном стекле с 0,1 мл кристаллообразующего 5%-ного водного раствора медного купороса. Предметные стекла с приготовленным раствором помещались в темное помещение при комнатной температуре на 24 часа. По истечении указанного времени, образованная

картина кристаллов изучалась под микроскопом при увеличении в 3,5 раза. При наличии в рисунке участков со структурой “улитка” диагностируют у обследуемого наличие острого лимфобластного лейкоза.

2009-Тула, НИИ новых медицинских технологи

Хадарцев А.А. Кдалов В.Н. Тезиография крови и биологических жидкостей, Тула, Тульский полиграфист, 2009.

2008-Казахстан, Караганда, КГМУ

Муравлева Л.Е. Молотов-Лучанский В.Б. Ключев Д.А. Кусаинова Д.С. Танкибаева Н.У. Омарова Г.А. Морфотипы тезиограмм плазмы крови больных хроническим пиелонефритом. Фундаментальные исследования. 2009. №10. с.21-24.

2009-Казахстан, Шымкент, ЮКМА

Шуашева. Е. А. Динамика тезиографической картины сыворотки крови больных с хроническим тонзиллитом, осложненным ревматической болезнью сердца. Российская оториноларингология. 2009. №2. с.175-177

2010-Нижний Новгород, ННИИТО

Мартусевич А.К. Симонова Ж.Г.

Исследование некоторых химических модуляторов кристаллогенных свойств биологических жидкостей. Успехи современного естествознания. 2010. №11. с.77-78.

В работе при кристаллизации сыворотки крови и мочи использовали 2,5, 5, 10, 20, 40% водные растворы фермента-лактатдегидрогеназы (1:1).

2012-Казахстан, Шымкент, КНИИ онкологии и радиологии.

Якубова М.Б. Байназарова А.А. Радько В.И. Кристаллографическая диагностика при раке шейки матки.

В работе использовался раствор аминоксусной кислоты для тезиографии сыворотки крови.

10.3 Тезиография сыворотки крови методом закрытой капли.

1994-Екатеринбург, Институт кардиологии.

Габинский Я.Л. Яковлев Ю.Р. Яковлева С.В. Текстурный атлас. Инфаркт миокарда и информационно-аналитические возможности поляризационной микроскопии. Екатеринбург. (Екатеринбургский Инфарктный Центр).1994. Описывается метод закрытой капли для кристаллизации биожидкостей. Биожидкости наносятся на стекло, предварительно обработанное лецитином. В результате проведенных сравнительных экспериментов показано, что площадь образовавшихся структур примерно в два раза больше на поверхности, обработанной лецитином, по сравнению с чистой поверхностью. В результате обработки поверхности стекла лецитином изменяется взаимодействие компонент сыворотки крови с поверхностью стекла, и создаются более благоприятные условия для их кристаллизации.

1997-Пермь, ПГМА.

Савина Л.В. Туев А.В. Способ диагностики злокачественных новообразований. Патент 2097765. 1997. В сыворотку крови добавляли 0,1% раствор глютаминовой кислоты. Исследования проводились методом закрытой капли. В работе исследуют сыворотку крови. 3 капли сыворотки крови наносят на предметное стекло, вводят в каждую каплю 0,05-0,1% раствора глютаминовой кислоты, накрывают покровными стеклами, сушат при температуре 35-38 градусов на протяжении 1-2 часов выдерживают на открытом воздухе, затем проводят кристаллоскопическое исследование в поляризованном свете и при наличии в препарате радиально-лучевых, или коротко-или длинноразветвленных дендритных кристаллов или их сочетаний диагностируют злокачественное новообразование.

2000-Екатеринбург, УГТУ.

Кузнецов Н.Н. Скопинов С.А. Вершинина Г.А. Аболина Т.Б.

Кристаллоскопический способ диагностики эндогенной интоксикации у детей. Патент 2158923. 2000. В сыворотку крови добавлялся ингибитор протеаз (эпсилон-аминокапроновой кислоты-ЭАКК). Исследования проводились методом закрытой капли. Измерялась площадь образовавшихся дендритов ЭАКК. В зависимости от площади дендрита диагностировалась различная степень интоксикации.

10.4 Teichman Crystallization Test.

Кристаллизационный тест Тикмана применяется в криминалистике для выяснения, являются ли пятна следами крови, или нет. Тест был предложен польским анатомом Ludwig Teichman в 1853 году. Посещая школу в Германии он исследовал реакции различных органических соединений в крови, и обнаружил кристаллы, которые образуются в результате одной из реакций. Эти кристаллы Teichmann были названы в честь Людвига Teichmann.

В этом тесте гемоглобин крови вступает в реакцию с уксусной кислотой и раствором хлорида натрия с образованием линейных и прямоугольных кристаллов. Этот тест подтверждает ли образец крови, на основе внешнего вида кристаллов Текмана.

10.5 Получение альбумина путем высушивания сыворотки крови.

1928-Панков П.И. Способ получения альбумина из крови. Авторское свидетельство №37153 от 18 декабря 1928 года. Патент **26024**. 1928.

1934-Голов А.И. Способ концентрирования сыворотки крови. Патент **37275**. 1934.

1941-Forrest E. Kendall. Stucies of human serum proteins. II. Crystallization of human serum albumin. 1940. J. Biol. Chem, 1941. 138. p.97-109.+

1942-Балаховский Розенберг Способ получения сухой кровяной сыворотки или плазмы. Патент **60743**. 1942.

1944-Воскресенский Н.И. Шеремет М.В. Способ получения альбумина и других белков из крови для технических целей. Патент **63664**. 1944.

1953-Голов А.И. Способ получения крови и сухой сыворотки крови для лечебных целей. Патент **96513**. 1953.

1953-Голов А.И. Способ изготовления сухой сыворотки крови. Патент **96514**. 1953.

1965-Гулый М.Ф. Дворникова П.Д. Печенова Т.Н. Способ получения кристаллического гемоглобина. Патент 174326. 1965.+

1973-Подольский М.В. Высушивание препаратов крови и кровезаменителей. Москва. Медицина. 1973.



Рис. 10-5-1. Агглютиноскоп (agglutinoscopum) это прибор, при помощи которого определяются реакции агглютинации и производится визуальная оценка осадка, образовавшегося в результате реакции при боковом освещении.

Заключение.

Рассмотрены новые (и старые, давно забытые) методы диагностики заболеваний. Преимущество описываемых методов состоит в простоте и оперативности. С помощью данных методов возможно выявление заболеваний на ранних стадиях. Возможно проведение мониторинга состояния пациентов до и после начала лечения. Возможен индивидуальный подбор лекарств и их дозировка. При дальнейшем изучении и совершенствовании описываемых методов возможна более точная оценка состояния человека.