



Московский Государственный Университет
им. М.В. Ломоносова

БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

119899, Россия, Москва, Ленинские горы. Тел.: (095) 9392776; факс 9394309

Утверждаю:
Декан Биологического факультета
МГУ им. М.В. Ломоносова
Профессор



М.В. Гусев

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

о результатах исследования бесконтактного влияния
Дунаевского Ильи Витальевича
на процессы, протекающие в цельной крови человека.

На кафедре биоорганической химии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова проведено исследование бесконтактного влияния Дунаевского Ильи Витальевича (далее – оператор) на цельную кровь человека. Исследовали влияние оператора на реакцию оседания крови человека, а также на окислительные метаболические процессы, сопровождаемые люминол- и люцигенин-зависимой хемилюминесценцией.

Экспериментальная часть.

Исследование влияния оператора на реакцию оседания крови человека.

На кафедре биоорганической химии разработан метод изучения динамики оседания крови человека – РОЭ-графия. В отличие от широко используемого гематологического теста СОЭ, который дает усредненное значение скорости оседания эритроцитов в набранной в специальную пипетку крови за 1 час, РОЭ-графия позволяет регистрировать детальную динамику оседания эритроцитов в течение многих часов с автоматической записью положения границы красная кровь/плазма каждые 30 сек. Для этого кровь, набранную в стандартную пипетку для измерения СОЭ, помещают в оптоэлектронный прибор «РОЭ-граф», сопряженный с компьютером. Результаты измерений выдаются в виде графиков зависимости положения границы от времени после начала измерений, а также дифференциального графика – РОЭ-граммы – зависимости мгновенных

скоростей (точнее, значение скоростей усредненных по 30-секундным интервалам) от времени после начала записи динамики оседания крови.

Стабилизированную цитратом натрия кровь амбулаторных больных с различными заболеваниями (сочетанные заболевания желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой системы, дыхательной системы, дерматиты) исследовали через 4 часа после взятия. Кровь помещали в 2 микроцентрифужные пробирки типа «Eppendorf» объемом 1.5 мл. В каждую пробирку вносили по 1 мл крови. Один образец подвергался бесконтактному воздействию оператора, второй (контроль) в это время удалялся от оператора на максимальное расстояние. После воздействия образцы инкубировались в темноте в течение часа, после этого кровь набирали в пипетки для определения СОЭ (по 2 пипетки на каждый образец) и устанавливали в РОЭ-граф.

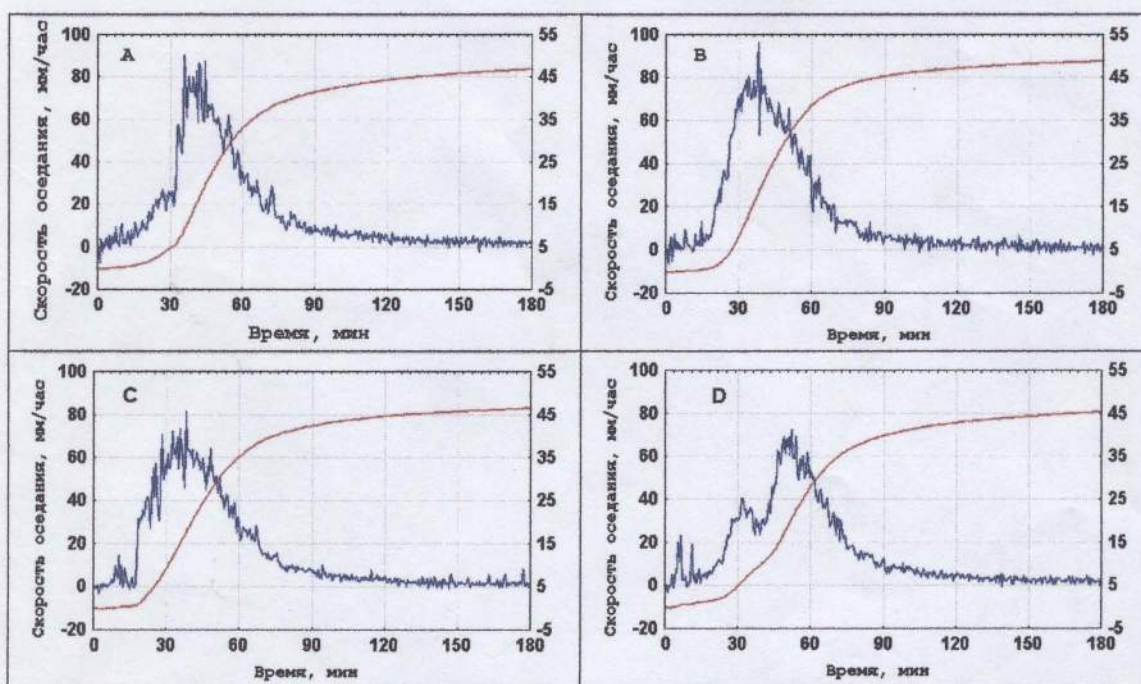


Рис. 1. РОЭ-граммы неразведенной крови пациента Т. А и В – контрольные образцы; С и D – обработанная оператором кровь.

На рисунке 1 представлены пары РОЭ-грамм для контрольной и обработанной оператором неразведенной крови. Из рисунка видно, что скорость оседания обработанной оператором неразведенной крови снижается по сравнению с контрольными образцами – происходит изменение динамики оседания. Для более наглядного представления изменения скорости оседания на рисунке 2 представлена гистограмма максимальных скоростей оседания для контрольной и обработанной оператором неразведенной крови.

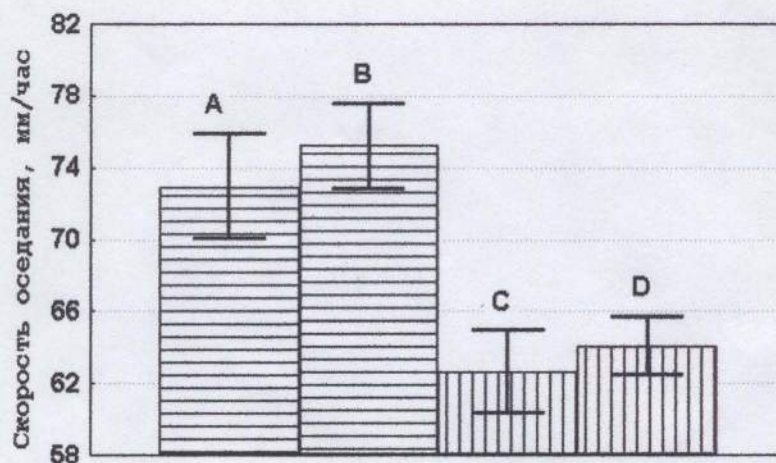
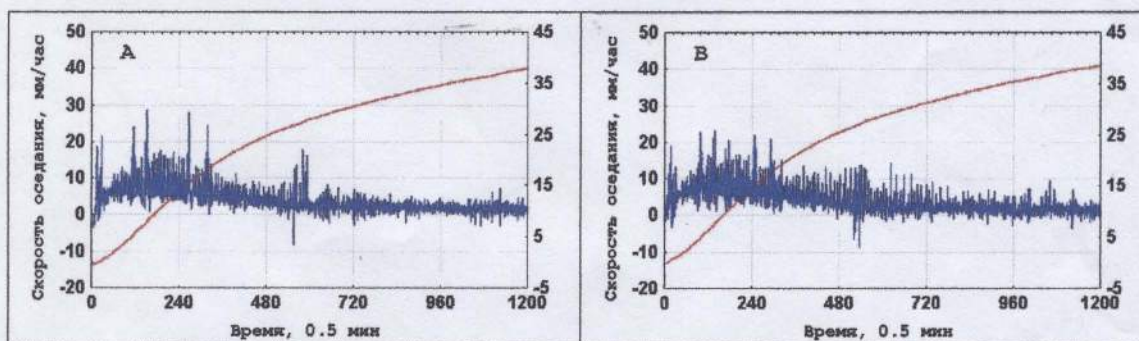


Рис.2. Максимальные скорости оседания неразведенной крови пациента Т. А и В – контрольные образцы; С и D – обработанная оператором кровь.

Такой эффект (снижение скорости оседания и улучшение динамики оседания неразведенной крови после воздействия оператора) наблюдался неоднократно на крови больных различными заболеваниями.

Помимо исследования действия оператора на цельную кровь человека было исследовано также влияние оператора на физиологический раствор. Для этого физиологический раствор помещали в 2 стеклянных флакона по 6 мл. Один образец физ. раствора подвергался бесконтактному воздействию оператора, второй (контроль) в это время удаляли от оператора на максимальное расстояние. При этом оператору сообщалось, к какой крови будет добавлен данный физ. раствор. После воздействия обе порции физ. раствора находились в течение 1 часа в темном месте на большом расстоянии друг от друга. Затем кровь разводили контрольным и опытным физ. раствором в соотношении 2:1 (кровь:физ. раствор) или 1:1, набирали в пипетки для определения СОЭ (по 2 пипетки на каждый образец) и устанавливали в РОЭ-граф.

На Рис.3. представлены пары РОЭ-грамм крови больного Х. Разведенной контрольным и обработанным оператором физ. раствором (Разведение 2:1)



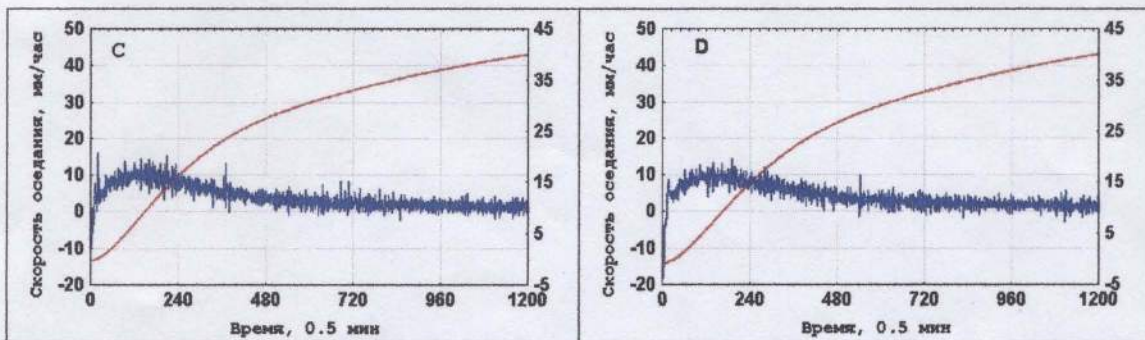


Рис. 3. РОЭ-граммы крови больного X, разведенной на 33% контрольным физ. раствором (А и В) и физ. раствором, обработанным оператором (С и D)

Видно, что формы этих графиков сильно различаются за счет того, что размах колебаний скорости оседания в контрольной крови гораздо выше, чем в крови обработанной оператором. Увеличение размаха колебаний мгновенных скоростей оседания крови свидетельствует о возрастании степени размытости границы между оседающими клетками и плазмой. Из полученных нами ранее данных анализов множества РОЭ-грамм здоровых доноров и больных с различными патологиями и с различной тяжестью заболевания, следует, что, чем лучше общее состояние здоровья донора, тем позже возникают колебания в ходе оседания крови, разведенной физиологическим раствором, тем ниже амплитуда пиков, тем меньше степень размытости границы между оседающей красной кровью и плазмой. Напротив, чем более тяжелое общее состояние здоровья пациента, тем раньше возникают колебания и тем выше амплитуда пиков. Таким образом, можно сделать вывод, что воздействие оператора на физиологический раствор превратило его в некоторый биорегулятор для данной крови и его добавление к этой крови привело к сдвигу формы РОЭ-граммы в направлении, характерном для крови здоровых доноров.

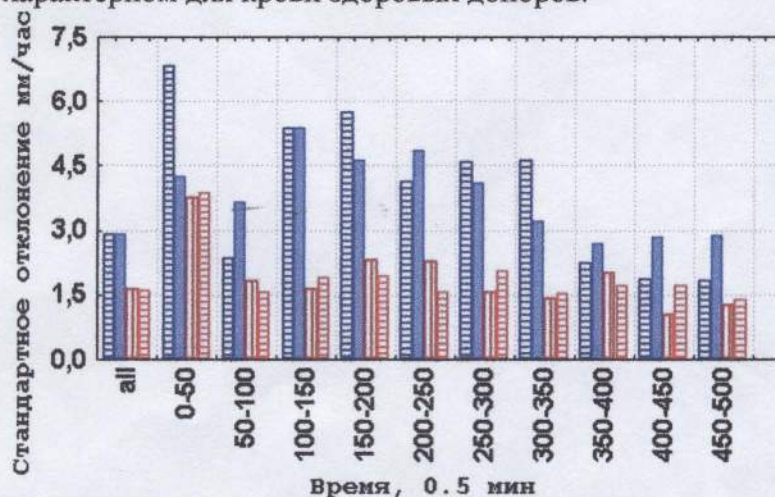


Рис. 4. Сравнение стандартных отклонений от среднего значения скорости оседания эритроцитов для 25 минутных интервалов РОЭ-грамм крови больного X, разведенной контрольным и обработанным оператором физ. раствором. Синие столбики – стандартные отклонения для контрольной крови, красные столбики – для экспериментальных образцов.

Доказательства количественных различий в интенсивности осцилляций между контрольной и обработанной оператором кровью приведены на Рис. 4. Для количественной характеристики размаха (амплитуды) осцилляций скорости относительно среднего значения РОЭ-граммы были математически обработаны для устранения основного тренда (медленного увеличения, а затем снижения скорости) и линеаризованная кривая была статистически обработана так, чтобы определить стандартное отклонение среднего для всей кривой, а также для последовательных временных отрезков по 25 минут. Чем выше значение стандартного отклонения (ось ординат), тем сильнее размах колебаний скорости. Из приведенных гистограмм видно, что стандартные отклонения среднего в крови, разведенной контрольным физ. раствором выше, чем в крови, разведенной физ. раствором, обработанном оператором, причем основные различия приходятся на начальный этап оседания крови и достигают максимума (трехкратное отличие стандартных отклонений среднего) в интервале 50-75 минут (гистограммы 100-150).

На крови другого больного С. проведенный таким же образом эксперимент дал похожие результаты. На Рис. 5. представлены РОЭ-граммы крови больного С. разведенной контрольным физ. раствором и пара РОЭ-грамм крови, разведенной физраствором, обработанным оператором. (Разведение 2:1)

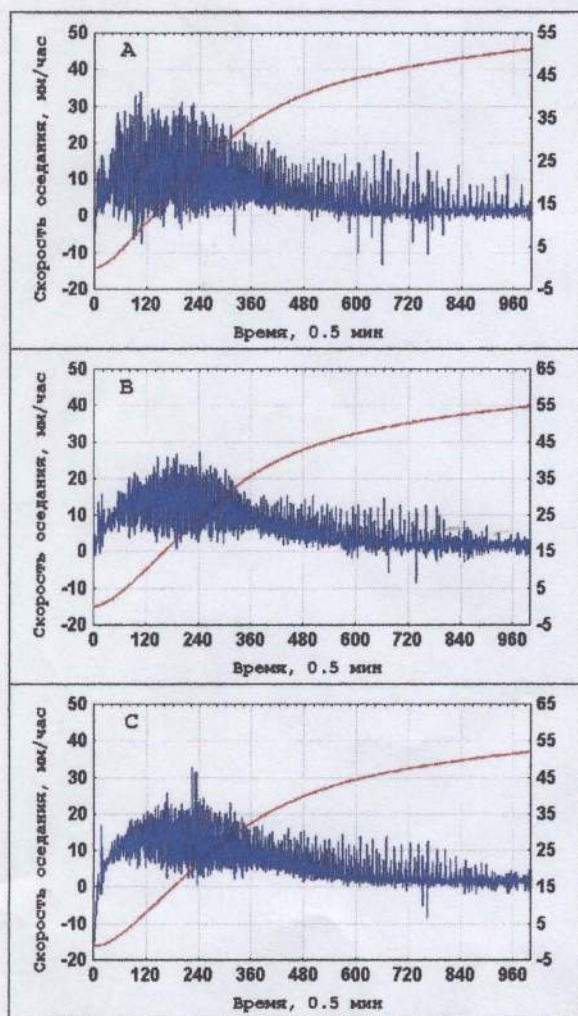


Рис. 5. РОЭ-граммы крови больного С. разведенной на 33% контрольным физ. раствором (А) и физ. раствором, обработанным оператором (В и С).

Здесь также размах колебаний скорости оседания в крови, разведенной контрольным физ. раствором гораздо выше, чем в крови, разведенной физ. раствором, обработанным оператором. Следует сказать, что для каждого больного физ. раствор заряжался особым, индивидуальным образом и физ. раствор, подготовленный для одного пациента, не оказывал никакого влияния на кровь другого пациента по сравнению с контрольным физ. раствором.

Стандартные отклонения от среднего значения скорости для крови больного С., разведенной контрольным физ. раствором и физ. раствором, обработанным оператором представлены на Рис. 6.

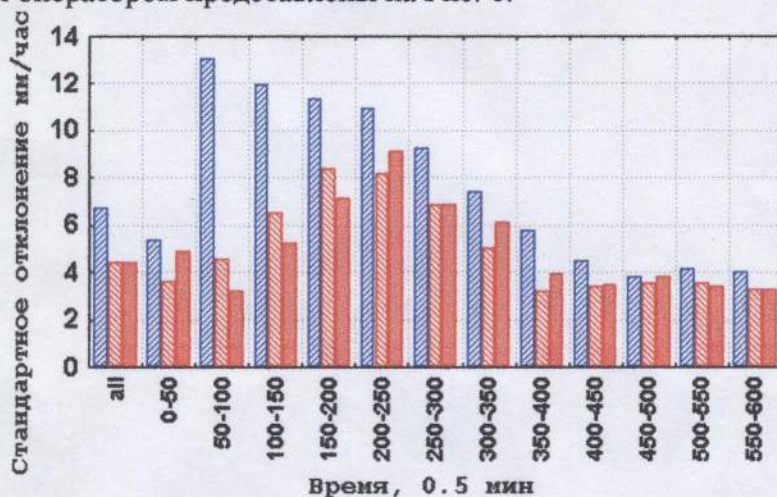


Рис. 6. Сравнение стандартных отклонений от среднего значения скорости оседания эритроцитов для 25 минутных интервалов РОЭ-грамм крови больного Х. Разведенной контрольным и обработанным оператором физ. раствором. Синий столбик – стандартное отклонение для контрольной крови, красные столбики – для экспериментальных образцов.

Для этого же больного было исследовано разведение крови физ. раствором на 50%. Результаты представлены на Рис. 7.

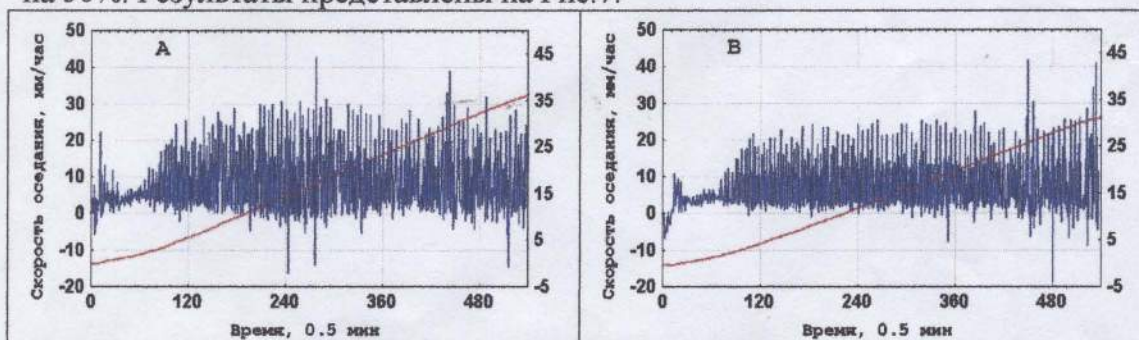


Рис. 7. РОЭ-граммы крови больного С., разведенной на 50% контрольным физ. раствором и физ. раствором, обработанным оператором.

При данном разведении опять повторился эффект снижения амплитуды колебаний, а, следовательно, степени размытости границы между оседающей красной кровью и плазмой после разведения крови физ. раствором, обработанным оператором. Доказательства количественных различий в интенсивности осцилляций представлены на Рис. 8.

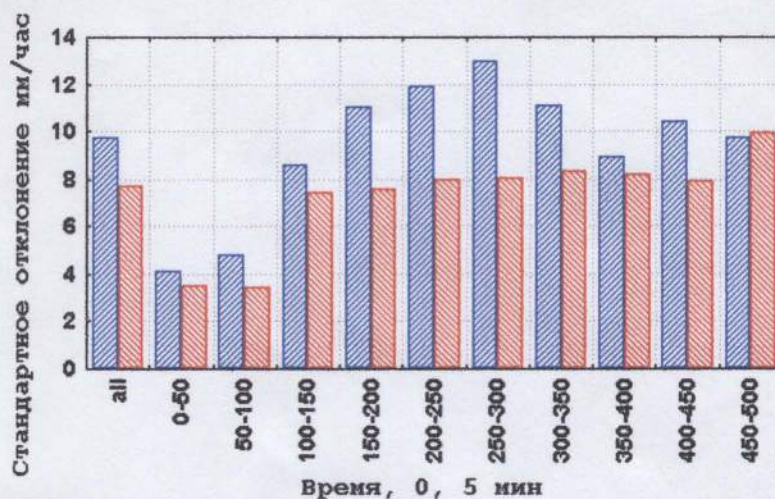


Рис. 8. Сравнение стандартных отклонений от среднего значения скорости оседания эритроцитов для 25 минутных интервалов РОЭ-грамм крови больного Х. разведенной на 50% контрольным и обработанным оператором физ. раствором. Синие столбики – стандартные отклонения для контрольной крови, красные столбики – для экспериментальных образцов.

Таким образом, результаты анализа динамики оседания крови свидетельствуют, что оператор может бесконтактно оказывать воздействие на цельную неразведенную кровь человека и на физ. раствор, превращая его в некоторый биорегулятор для определенной крови. При этом параметры крови, измеряемые методом РОЭ-графии, меняются в сторону нормализации ее состояния.

Исследование влияния оператора на люцигенин- и люминол-зависимую хемилюминесценцию цельной крови человека.

Влияние оператора на свойства крови человека исследовали также с использованием хемилюминесцентного анализа цельной неразведенной крови. Этот метод также как и метод РОЭ-графии был разработан на кафедре биоорганической химии. Установлено, что после введения в цельную неразведенную кровь человека некоторых люминофоров кровь начинает излучать фотоны в сине-зеленой области оптического спектра. В качестве люминофоров обычно используют люминол и люцигенин. Первый является зондом на продукцию в анализируемых образцах супероксидного радикала, второй – на наличие в них перекиси водорода и продуктов ее реакций, в частности продуктов окисления перекисью водорода ионов хлора в реакции, катализируемой ферментом миелопероксидазой. Интенсивность излучения может быть измерена с использованием высоко чувствительных счетчиков одиночных фотонов.

Интенсивность излучения в присутствии каждого из люминофоров зависит от физиологического состояния донора и от свойств самой крови, определяемой условиями и продолжительностью ее хранения после взятия. У здоровых доноров в свежей крови интенсивность люминол-зависимой хемилюминесценции (ЛМ-ХЛ) весьма низка, но она значительно возрастает при добавлении к крови стимуляторов неспецифического иммунного ответа (стимуляторов нейтрофилов), например, зимозана. В крови многих больных

интенсивность ЛМ-ХЛ может достигать высоких значений и без зимозана. По нашим данным, ЛМ-ХЛ отражает повышенную активность нейтрофилов, связанную с индукцией в ней фермента миелопероксидазы. Интенсивность люцигенин-зависимой хемилюминесценции (ЛГ-ХЛ) обычно достаточно высока в крови как здоровых доноров так и больных. ЛГ-ХЛ показывает, насколько интенсивно функционируют в крови системы продукции супероксидного радикала. В то же время следует подчеркнуть, что интегральная интенсивность ХЛ, особенно ЛГ-ХЛ зависит не только от интенсивности окислительных процессов в цельной крови, но и от степени ее структурной организации. Например, встряхивание крови или даже ограниченный гемолиз резко снижают интенсивность излучения даже при высокой активности в ней окислительных процессов. Таким образом, если после воздействия на кровь меняется интенсивность ее усиленной люминолом или люцигенином ХЛ, то первичным эффектом такого воздействия может быть как изменение структурной организации крови, так и интенсивности протекания в ней процессов, связанных с обменом активных форм кислорода.

Эксперименты с бесконтактным воздействием оператора на кровь показали, что оператор может оказывать влияние на параметры как ЛГ-ХЛ, так и ЛМ-ХЛ. Для эксперимента из пробирки с 5 мл крови отбирались 100 мкл крови в пластиковую пробирку «Эппендорф». К крови добавляли люминофор (люминол или люцигенин) и в течение 5 минут измеряли интенсивность ХЛ данного образца, после чего оператор производил бесконтактную обработку этой порции крови. После воздействия вновь проводили 5-минутное измерение интенсивности ХЛ этого образца. Измерения проводились неоднократно для получения достоверных результатов. На рисунке 1 представлены данные по измерению ЛГ-ХЛ и ЛМ-ХЛ в контрольных и обработанных оператором образцах крови пациента Х. с нарушениями эндокринной системы и с заболеванием щитовидной железы.

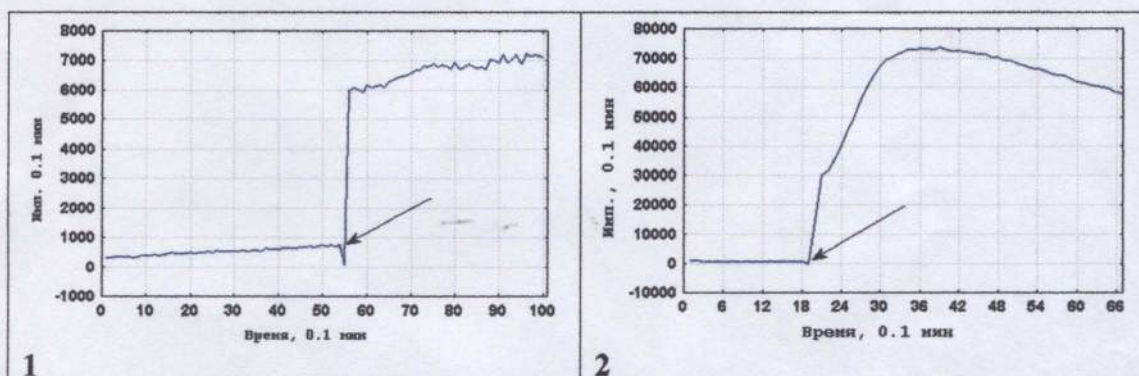


Рис. 1. Влияние оператора на люминол-зависимую хемилюминесценцию (рис.1) и люцигенин-зависимую хемилюминесценцию цельной неразведенной крови (рис.2). Стрелкой показан момент обработки образца оператором.

Как видно из рисунка 1 после обработки образца оператором происходит резкий рост интенсивности как ЛМ-ХЛ так и ЛГ-ХЛ.

На рисунке 2 представлены гистограммы, соответствующие графикам на рисунке 1. На гистограммах показаны значения, которых достигла

интенсивность ХЛ крови в образцах до и после обработки оператором. (Спустя 5 мин после введения люминофора).

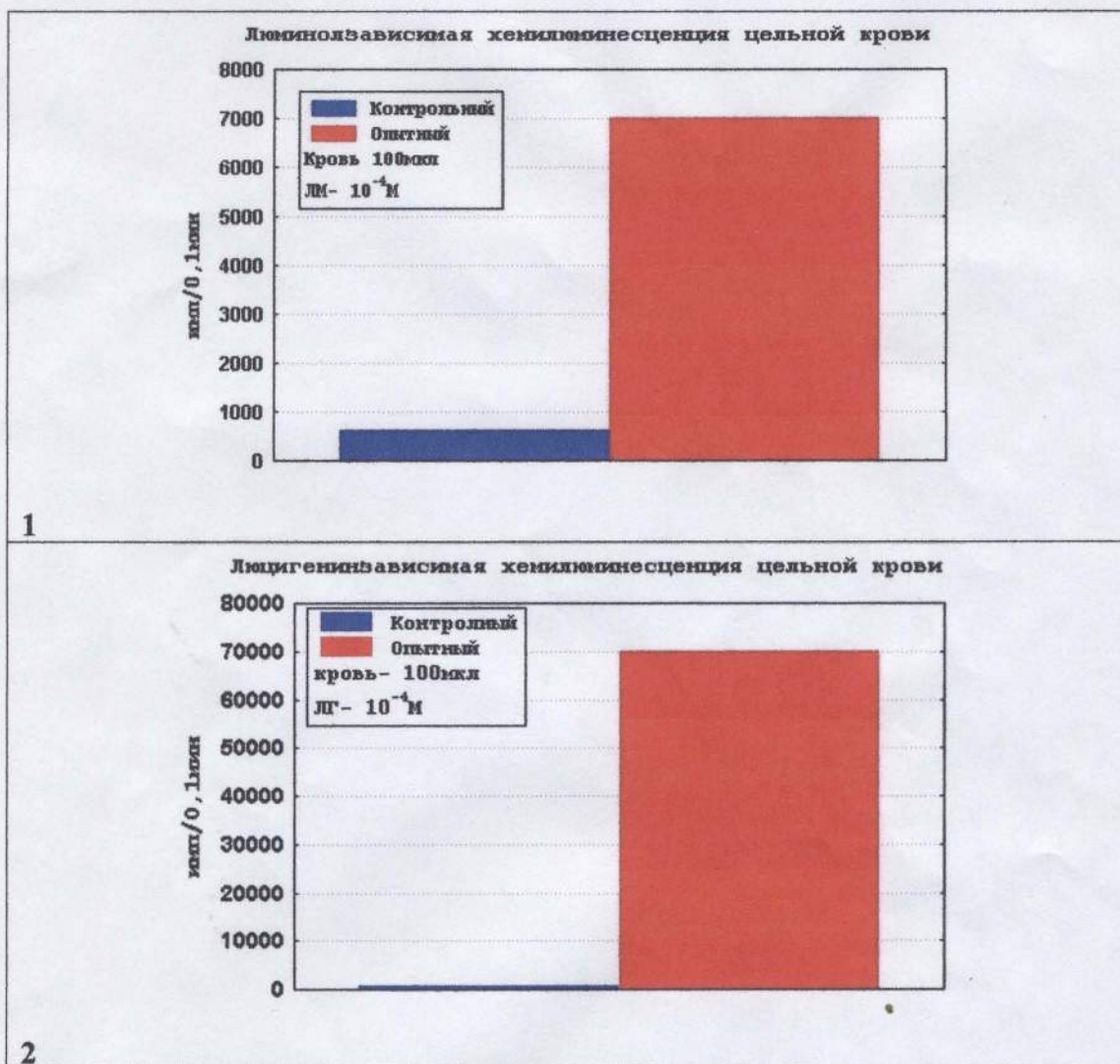


Рис.2. Влияние оператора на люминол-зависимую хемилюминесценцию цельной неразведенной крови (1) и люцигенин-зависимую хемилюминесценцию (2). Указаны значения интенсивности ХЛ в пробирках до и после обработки оператором через 5 минут после введения в них люцигенина или люминола. Синий столбик – интенсивность ХЛ контрольного образца, красный столбик – интенсивность опытного образца.

Из графиков видно, что в результате воздействия оператора интенсивность ЛМ-ХЛ в крови возрастает в 7 раз, а интенсивность ЛГ-ХЛ в 100 раз.

При исследовании влияния оператора на ХЛ крови другого пациента С. (сочетанное заболевание сердечно-сосудистой и пищеварительной систем) были получены похожие результаты. На рис. 3 представлены гистограммы интенсивности люминол-зависимой хемилюминесценции контрольных образцов крови и образцов после воздействия оператора.

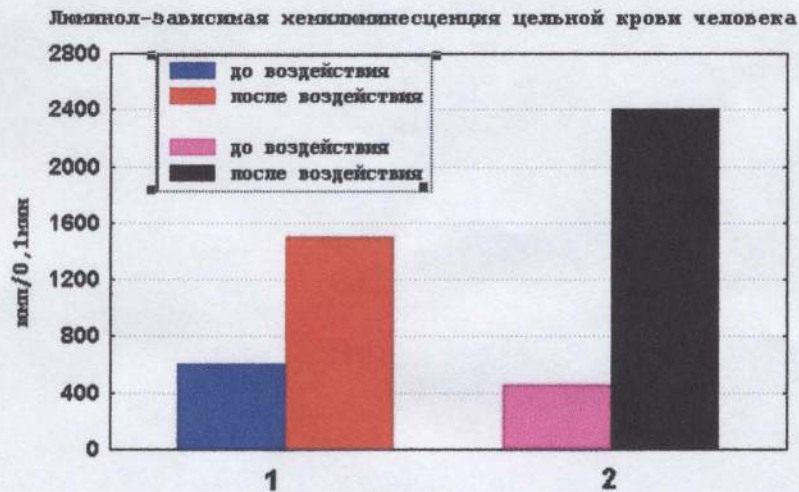


Рис.3. Влияние оператора на люминол-зависимую хемилюминесценцию цельной неразведенной крови. Указаны значения интенсивности ХЛ в пробирках до и после обработки оператором через 5 минут после введения в них люцигенина или люминола. 1 – первая серия экспериментов, 2 – вторая серия экспериментов. Синий и лиловый столбик – интенсивность ХЛ контрольных образцов, красный и черный столбик – интенсивность ХЛ опытных образцов.

В первой серии эксперимента произошло почти 3-кратное увеличение интенсивности ЛМ-ХЛ, во второй серии эксперимента наблюдается 6-кратное увеличение интенсивности ХЛ.

На крови этого же пациента проводилось исследование влияние оператора на интенсивность ЛЦ-ХЛ. Результаты представлены на рисунке 4.



Рис.4. Влияние оператора на люцигенин-зависимую хемилюминесценцию цельной неразведенной крови пациента С. Указаны значения интенсивности ХЛ в пробирках до и после обработки оператором через 5 минут после введения в них люцигенина 1 – первая серия экспериментов, 2 – вторая серия экспериментов, 3 – третья серия экспериментов. Синий и лиловый и коричневый столбики – интенсивность ХЛ контрольных образцов, красный и черный и зеленый столбики – интенсивность ХЛ опытных образцов.

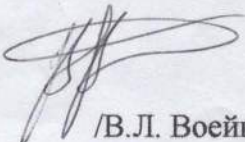
В первой серии произошло 100-кратное увеличение интенсивности ЛЦ-ХЛ, во второй – 70-кратное, в третьей – 40-кратное увеличение интенсивности.

Таким образом, результаты хемилюминесцентного анализа бесконтактного воздействия оператора на цельную неразведенную кровь свидетельствуют не только о том, что факт такого воздействия имеет место, но и о том что свойства крови меняются в благоприятном направлении: в частности, в крови больных людей усиливаются метаболические процессы.

В целом, по данным РОЭ-графии и хемилюминесцентного анализа установлено, что оператор И.В. Дунаевский способен бесконтактно оказывать воздействие на кровь человека, хотя как способ этого воздействия, так и механизмы его реализации требуют дальнейших исследований.

Доцент каф. Биоорганической химии
Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова
канд. биол. наук




/В.Л. Воейков/

КОПИЯ ПОДПИСИ РУКИ *Воейкова ВЛ*
ЗАБЕРЯЮ
ЗАВ. КАНЦЕЛЯРИЕЙ БИОЛОГИЧЕСКОГО Ф-ТА *Овс*