

**Список литературы / References:**

1. Quinn P.J. Plasma membrane phospholipid asymmetry. *Subcell. Biochem.*, 2002, vol. 36, pp. 39-60.
2. Ramstedt B., Slotte J.P. Membrane properties of sphingomyelins. *FEBS Letters*, 2002, vol. 531, pp. 33-37.
3. Shishkina L.N., Kushnireva Ye.V., Smotryaeva M.A. The combined effect of surfactant and acute irradiation at low dose on lipid peroxidation processes in tissues and DNA content in blood plasma of mice. *Oxidation Commun.*, 2001, vol. 24, pp. 276-286.
4. Sotirhos N., Herslof B., Kenne L. Quantitative analysis of phospholipids by <sup>31</sup>P-NMR. *J. Lipid Res.*, 1986, vol. 27, pp. 386-392.
5. Hielsher R., Hellwig P. Specific Far Infrared Spectroscopic Properties of Phospholipids. *Spectroscopy: An International J.*, 2012, vol. 27, iss. 5-6, pp. 525-532.
6. Геннис Р. *Биомембраны: Молекулярная структура и функции*. М.: Мир, 1997, 624 с. [Hennis R. *Biomembranes: Molecular structure and functions*. М.: Mir, 1997, 664 p. (In Russ.)]
7. Talbott M., Vorobiov I., Borchman D., Taylor K.G., DuPre D.B., Yappert M.C. Conformational studies of sphingolipids by NMR spectroscopy. II. Sphingomyelin. *Biochem Biophys. Acta*, 2000, vol. 1467, pp. 326-337.

**РЕТРОСПЕКТИВНАЯ ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ ЭССЕНЦИАЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ У ПАЦИЕНТОВ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ГОЛОВНОГО МОЗГА МЕТОДОМ ЛАЗЕРНОЙ АТОМНО-ЭМИССИОННОЙ СПЕКТРОМЕТРИИ**

Патапович М.П., Булойчик Ж.И., Пашковская И.Д., Нечипуренко Н.И., Зажогин А.П.  
Белорусский государственный университет  
пр. Независимости, 4, г. Минск, 220030, РБ  
e-mail: zajogin\_an@mail.ru

**Аннотация.** Разработана методика для количественного определения основных эссенциальных элементов в твердых биологических субстратах (волосах). В качестве модельных систем для изготовления стандартных образцов опробованы х/б нитки различной толщины. Показана возможность повышения чувствительность определения элементов методом лазерной атомно-эмиссионной спектроскопии с использованием ортофосфата калия в качестве осадителя. Методом лазерной атомно-эмиссионной спектроскопии со сдвоенными импульсами изучено пространственное распределение кальция, магния и алюминия по длине волос пациентов с нарушением мозгового кровообращения. Оценена динамика изменения содержания этих элементов за длительный промежуток времени, предшествующий заболеванию. Предложенная методика дает возможность заранее оценить риск возникновения патологии мозга и, возможно, предупредить его развитие профилактическими мерами.

**Ключевые слова:** твердые биологические субстраты; лазерная атомно-эмиссионная спектроскопия; сдвоенные лазерные импульсы; пространственное распределение элементов; кальций, магний, алюминий.

**RETROSPECTIVE ESTIMATES OF THE CONTENT OF ESSENTIAL ELEMENTS FOR THE PATENTS WITH CEREBRAL DISEASES OBTAINED USING LASER ATOMIC-EMISSION SPECTROMETRY**

Pataповich M.P., Buloyichik J.I., Pashkovskaya I.D., Nechipurenko N.I., Zajogin A.P.  
Belarusian State University  
Nezavisimosti av., 4, Minsk, 220030, Belarus  
e-mail: zajogin\_an@mail.ru

**Abstract.** A quantitative technique for identification of the principal essential elements in solid biological substrates (hair) has been developed. The standard samples have been prepared with the use of different-breadth cotton yarn as model systems. The possibility to improve sensitivity of the technique due to the use of laser atomic emission spectrometry and of potassium orthophosphate as a precipitator has been demonstrated. Double-pulse laser atomic-emission spectrometry has been applied to study the spatial distribution of calcium, magnesium, and aluminum along the hair length of the patients with disturbances in cerebral circulation. The dynamics of changes in the content of these elements has been analyzed for a great space of time preceding the disease. The proposed technique enables one to estimate the chances for the brain pathology in good time and possibly to warn about the disease development or to suggest the preventive measures.

**Key words:** solid biological substrates; laser atomic-emission spectrometry; double laser pulses; spatial distribution; calcium, magnesium, aluminum.

К настоящему времени накоплены многочисленные научные данные, показывающие взаимосвязь возникновения заболевания с аномальным содержанием макро- и микроэлементов в организме человека. Доказано, что деформированный минеральный обмен не только вносит свой вклад в патогенез заболеваний, но и изменяет фармакокинетический и фармакодинамический ответ на лекарственное воздействие [1].

Для ранней диагностики ряда заболеваний, оптимального подбора лечения, коррекции восстановительных процессов существует потребность в экспрессных методиках определения содержания элементов в биологических материалах.

Анализ биообъектов является сложной аналитической задачей. Главные причины затруднений связаны с индивидуальностью состава и многокомпонентностью пробы. Сама пробоподготовка часто является сложным многостадийным процессом, лимитирующим скорость анализа. Поэтому упрощение методик и, тем более, повышение чувствительности анализа актуально не только с теоретической, но и с практической точки зрения.

В медицинской диагностике развивается новый подход, основанный на выявлении нарушений баланса макро- и микроэлементов в организме человека за длительный период времени. В этом плане одним из лучших методов оценки состояния минерального обмена в организме является анализ волос, которые накапливают и консервируют практически все элементы, поступающие в организм различными путями. При определении общего содержания элементов волосы минерализуют методом мокрого озоления и проводят анализ высохшей пробы. Для ретроспективной оценки содержания элементов по длине волос перевод вещества из органической в неорганическую форму не требуется.

Своевременная диагностика и адекватная терапия хронической ишемии мозга относятся к числу приоритетных задач неврологии, направленных на предупреждение развития и прогрессирования заболевания. Существующие методы исследования церебральной гемодинамики дают лишь косвенное представление о состоянии головного мозга. До сих пор участие макро- и микроэлементов в развитии острой церебральной ишемии не совсем ясно, что требует дальнейшего изучения роли химических элементов в развитии повреждений головного мозга и механизмах адаптации организма при данной патологии.

В работе сделан акцент на разработку методики количественного определения эссенциальных элементов у больных с церебральным инсультом, который среди причин смертности конкурирует с ишемической болезнью сердца и злокачественными новообразованиями.

Требованиям оперативного химико-аналитического контроля содержания различных элементов в объектах растительного и животного происхождения наилучшим образом удовлетворяет лазерный атомно-эмиссионный многоканальный спектральный анализ с применением сдвоенных лазерных импульсов [2-6]. В работе использовали лазерный многоканальный атомно-эмиссионный спектрометр LSS-1. В качестве источника абляции и возбуждения приповерхностной плазмы в спектрометре используется двух импульсный неодимовый лазер, обладающий широкими возможностями как для регулировки энергии импульсов, так и временного интервала между ними. Для выбора оптимальных параметров (временного межимпульсного интервала, энергии и количества сдвоенных импульсов, расфокусировки) и оценки их влияния на интенсивность линий химических элементов регистрировали спектры при различных значениях указанных параметров. Найдено, что максимум интенсивности спектральных линий для большинства компонентов достигается при энергии – 60 мДж, межимпульсном интервале – 8 мкс, числе импульсов – 30, параметре расфокусировки – +0,5 мм.

Нами проведено количественное определение жизненно необходимых элементов в волосах больных с острым нарушением мозгового кровообращения.

Предварительно проведенные исследования показали необходимость повышения чувствительности методики при получении как интегральной, так и дифференциальной оценки содержания элементов в биологических субстратах.

Для разработки методик дифференциальной оценки количественного содержания химических элементов по длине волос в качестве модельных систем были использованы х/б нити различного цвета и толщины. На нить наносили 10 мкл анализируемого раствора, высушивали и проводили анализ. Было найдено, что наиболее воспроизводимые результаты получаются при использовании темных х/б нитей № 50.

Ранее нами было показано, что использование осадителей значительно уменьшает размер высохшей на пористой поверхности капли и значительно повышает чувствительность метода [7, 8].

В данном случае методика подготовки образцов включала следующие этапы. Нить погружали на 10 минут в 100-200 мкл 10 %-ного раствора ортофосфата калия, высушивали на тефлоновой поверхности при комнатной температуре в течение примерно 10 минут. Нить аккуратно вытягивали и в центр наносили 10 мкл водного раствора эталона, содержащего смесь хлоридов алюминия, кальция, меди, цинка, железа и магния. Образцы повторно высушивали на тефлоновой поверхности, наклеивали на поверхность держателя образцов (пластинка из органического стекла) с помощью двухстороннего скотча и покрывали слоем 1,0 % раствора полистирола в толуоле.

На рисунке 1а приведено распределение элементов по длине нити при использовании ортофосфата калия в качестве осадителя. Концентрация каждого из элементов составляет 0,33 %.

При работе в приведенных условиях видно, что область растекания капли сужается, заметно увеличивается концентрация кальция в центральной части. По длине нити не наблюдается существенных скачков интенсивности для всех элементов. Несколько меньший размер зоны распределения алюминия по сравнению с кальцием и магнием обусловлен значительно меньшей растворимостью ортофосфата алюминия по сравнению с ортофосфатами кальция и магния.

Из рисунка 1б также видно, что зоны распределения кальция для различных концентраций практически одинаковы, при этом наблюдается отчетливая зависимость интенсивности линии от концентрации элемента. Такие же зависимости получены нами для алюминия и магния. На основе полученных данных построены градуировочные графики для количественного определения концентрации кальция, магния и алюминия в образцах волос пациентов.

Разработанная методика использована нами для дифференциальной оценки распределения основных макро- и микроэлементов по длине волос большого числа пациентов с сосудистыми заболеваниями головного мозга.

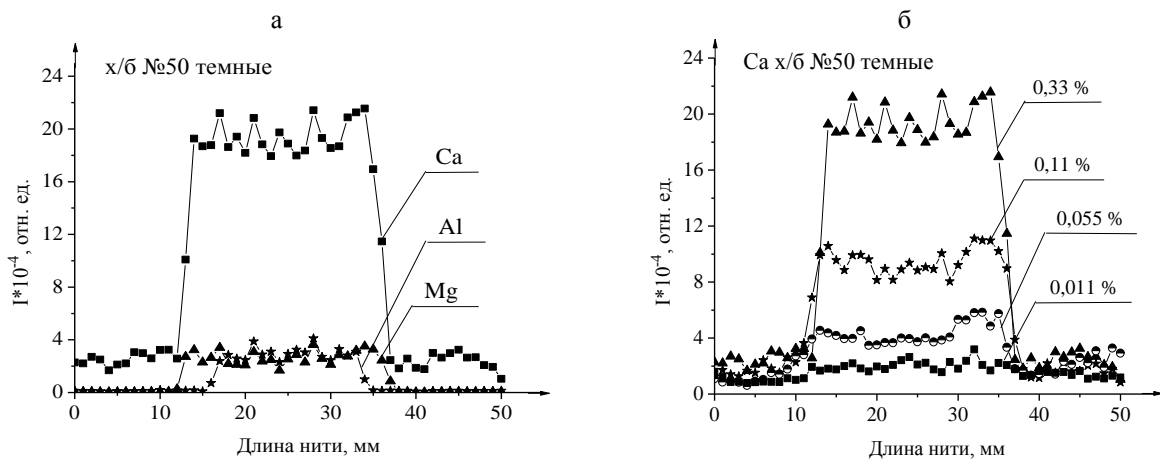


Рисунок 1 — Распределение элементов по длине нити при использовании ортофосфата калия в качестве осадителя: а – кальция, алюминия и магния; б – зависимость интенсивности линии кальция от концентрации

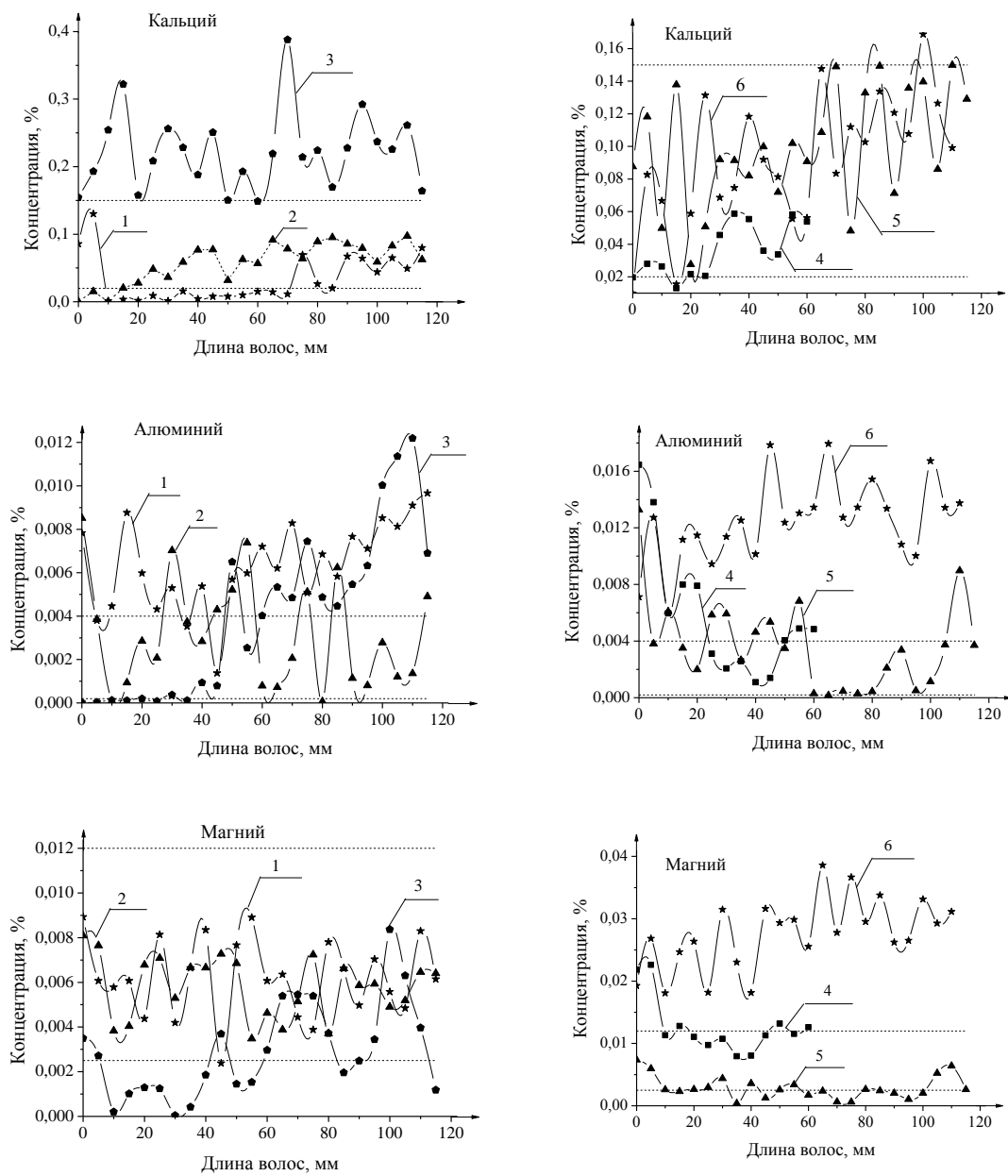


Рисунок 2 – Ретроспективная оценка содержания элементов по длине волос

На рисунке 2 приведены результаты количественной оценки пространственного распределения элементов по длине волос шести пациентов. Отображена динамика изменений содержания элементов за период 10-12 месяцев. Пунктиром обозначены референтные значения концентраций для каждого из анализируемых элементов.

Видно, что практически во всех случаях концентрация анализируемых элементов в преморбидный период значительно отличается от нормы, при этом заметно ее превышает. Особенно это характерно для пациентов 3 и 6. Очевидны существенные скачки концентрации элементов. Было также найдено, что на момент развития ишемии мозга у 82 % обследованных больных наблюдалась более низкая интенсивность спектральных линий кальция и у 45 % больных – магния, если сравнивать ее с динамикой изменения интенсивности за достаточно длительный период времени, предшествующий заболеванию.

Повышение либо понижение концентрации жизненно необходимых элементов в образцах волос подтверждает существование нарушений метаболизма химических элементов в организме на момент развития ишемии мозга и отражает также патогенетические особенности имеющих сопутствующих заболеваний у данных пациентов, в частности артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца, сердечной дистонии.

Нами также оценены изменения интенсивностей линий натрия и калия в спектрах волос пациентов. На рисунке 3 приведены соотношения Na/K для больных с диагнозом «повторный атеротромбический инфаркт мозга в правом каротидном бассейне артерий».

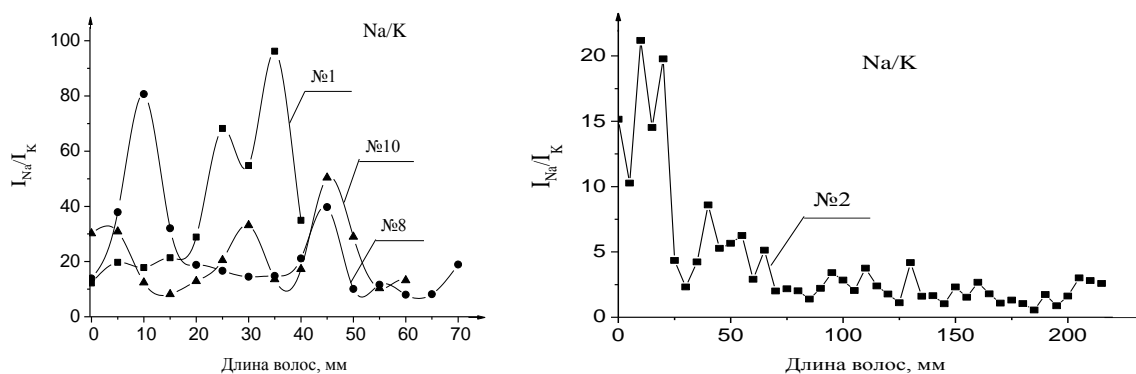


Рисунок 3 – Изменение соотношения интенсивностей натрий-калий по длине волос пациентов

Найдено, что у пациента 1 за два месяца до госпитализации уровень калия и натрия менялся весьма скачкообразно из-за заметного снижения содержания натрия и роста уровня калия на протяжении всего рассматриваемого периода. У пациента 2 в течение достаточно длительного времени соотношение интенсивностей натрия к калию более или менее сохранялось. За 2 месяца до госпитализации уровень натрия резко вырос. Оба случая свидетельствуют об изменении вне- и внутриклеточного содержания натрия и калия в плазме и крови и устойчивом нарушении работы «калий-натриевого насоса» в этот период.

У пациентов 8 и 10 до госпитализации соотношение натрий/калий также изменяется скачкообразно, время от времени возвращаясь примерно на прежний уровень. Хотя в предшествующие периоды уровни натрия и калия довольно сильно различаются, конечный диагноз для госпитализированных больных одинаков. Это, конечно, свидетельствует о сложности процессов, происходящих во время заболевания.

Таким образом, предложенная методика позволяет проводить ретроспективную количественную оценку содержания элементов в твердых биологических образцах с использованием метода лазерной атомно-эмиссионной спектроскопии со сдвоенными лазерными импульсами. Использование ортофосфата калия в качестве осадителя позволило значительно увеличить интенсивности линий анализируемых элементов.

Выявлена корреляционная связь между психофизиологическим состоянием пациента и изменением у него содержания кальция, магния, алюминия, а также натрия и калия. Изучение динамики распределения эссенциальных элементов в волосах больных за длительный промежуток времени, сопоставление и анализ полученных данных позволяют оценить уровень опасности развития серьезных заболеваний и своевременно принять профилактические меры.

**Список литературы / References:**

1. Дмитриева Н.В., Глазачев О.С. Электрофизиологические и информационные аспекты развития стресса. *Успехи физиологических наук*, 2005, № 4, с. 57-74. [Dmitrieva N.V., Glasachev O.S. Electrophysiological and information aspects of stress development. *Advances in physiological sciences*, 2005, no. 4, pp. 57-74. (In Russ.)]
2. Miziolek A.W., Palleschi V., Schechter I. (Eds.) *Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS): Fundamentals and Applications*. Cambridge: Cambridge University Press, 2006, p. 620
3. Зажогин А.П. *Атомный спектральный анализ : курс лекций*. Минск: Изд-во БГУ, 2005, с. 163. [Zajogin A.P. *Atomic spectral analysis: Lecture course*. Minsk: BSU Publ, 2005, p. 163. (In Russ.)]
4. Fortes F.J. The potential of laser-induced breakdown spectrometry for real time monitoring the laser cleaning of archaeometallurgical objects. *Spectrochim. Acta B*, 2008, vol. 63, no. 10, pp. 1191-1197.

5. Cremers D.A., Radziemski L.J. *Handbook of Laser-Induced Breakdown Spectroscopy*. New York: John Wiley and Sons, 2006, p. 264.

6. Bogaerts A., Chen Z. Effect of laser parameters on laser ablation and laser-induced plasma formation: A numerical modeling investigation. *Spectrochimica Acta. Part B*, 2005, vol. 60, pp. 1280-1307.

7. Хоанг Ч.Н., Патапович М.П., Тхи Ф.У., Пашковская И.Д., Булойчик Ж.И., Зажогин А.П. Исследование влияния гидроксидов К и Na на пространственное распределение Ca, Mg и Al в высохших каплях белка методом лазерной атомно-эмиссионной спектрометрии. *Вестн. Бел. гос. ун-та, сер. 1*, 2013, № 1, с. 29-33. [Hoang T.N., Patarovich M.P., Thi P.U., Pashkovskaya I.D., Buloichik J.I., Zajogin A.P. Investigation into the effect of K and Na hydroxides on the spatial distribution of Ca, Mg, and Al in the dried albumin drops using the laser atomic-emission spectrometry method. *J. of BSU, Iss. 1*, 2013, no. 1, pp. 29-33. (In Russ.)]

8. Хоанг Ч.Н., Патапович М.П., Тхи Ф.У., Пашковская И.Д., Булойчик Ж.И., Зажогин А.П. Исследование влияния физико-химических свойств фосфатов калия на распределение катионов Ca, Mg и Al в высохших каплях альбумина методом локальной лазерной атомно-эмиссионной спектрометрии. *Вестн. Бел. гос. ун-та, сер. 1*, 2012, № 3, с. 12-15. [Hoang T.N., Patarovich M.P., Thi P.U., Pashkovskaya I.D., Buloichik J.I., Zajogin A.P. Investigation into the effect exerted by the physical and chemical properties of potassium phosphates on the distribution of Ca, Mg, and Al cations in the dried albumin drops with the use of local laser atomic-emission spectrometry. *J. of BSU, Iss. 1*, 2012, no. 3, pp. 12-15. (In Russ.)]

9. Lidin R.A., Andreeva L.L., Molochko V.A. *Constants of inorganic substances. Hand-book*. М.: Drofa, 2006, 389 p.

### ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНО-БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ ПОД ВЛИЯНИЕМ УБИХИНОНА-10 ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЕ

Соловьева А.Г.<sup>1</sup>, Перетьягин П.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Приволжский Федеральный медицинский исследовательский центр  
Верхне-Волжская набережная, 18, г. Нижний Новгород, 603155, РФ

<sup>2</sup>Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского  
пр. Гагарина, 23, г. Нижний Новгород, 603950, РФ  
e-mail: sannag5@mail.ru

**Аннотация.** Работа посвящена изучению влияния убихинона-10 на состояние микроциркуляции, про- и антиоксидантные системы крови при термической травме в эксперименте. Исследование проведено на белых крысах-самцах линии Wistar массой 180-220 г. Для оценки интенсивности перекисного окисления липидов и общей антиоксидантной активности использовали метод индуцированной биохемилуминесценции. Концентрацию малонового диальдегида в крови определяли спектрофотометрическим методом. Микроциркуляцию оценивали методом лазерной доплеровской флоуметрии. У животных с термической травмой отмечен рост перекисного окисления липидов на фоне снижения антиоксидантных резервов, что привело к развитию оксидативного стресса. Показано нарушение всех показателей микроциркуляции и рост количества шунтирующих сосудов в области ожоговой раны. Установлено, что использование убихинона-10 в комплексном лечении экспериментальной термической травмы приводит к снижению интенсивности свободнорадикальных процессов в плазме и эритроцитах крыс и повышению общей антиоксидантной активности. Убихинон-10 улучшает состояние микроциркуляции, оказывая положительный эффект в отношении активных и пассивных факторов микроциркуляции.

**Ключевые слова:** термическая травма, перекисное окисление липидов, микроциркуляция, убихинон-10.

### THE CHANGE OF THE FUNCTIONAL-BIOCHEMICAL INDICATORS OF BLOOD UNDER THE EFFECT OF UBIQUINONE-10 IN EXPERIMENTAL THERMAL TRAUMA

Soloveva A.G.<sup>1</sup>, Peretyagin P.V.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Volga Federal Medical Research Center  
Verhne-Voljskaya emb., 18, Nizhny Novgorod, 603155, Russia

<sup>2</sup>Lobachevsky State University  
Gagarin av., 23, Nizhny Novgorod, 603950, Russia  
e-mail: sannag5@mail.ru

**Abstract.** The work is devoted to study the effect of ubiquinone-10 on the microcirculation, pro - and antioxidant blood systems in thermal injury in the experiment. The study was carried out on white Wistar rats weighing 180-220 g. The method of induced bioluminescence was used for the estimation of intensity of lipid peroxidation and total antioxidant activity. The concentration of malonic dialdehyde in the blood was determined by spectrophotometrically. Microcirculation was assessed by laser Doppler flowmetry. The increase of lipid peroxidation on the background of decrease of antioxidant reserves was marked in animals with thermal trauma, it was led to the development of oxidative stress. It was shown the violation of microcirculation and increase in the number of shunt vessels on the burn wound. It was installed that the use of ubiquinone-10 in complex treatment of experimental thermal injury leads to a decrease in