

Методом ИК спектроскопии проведен анализ структуры модифицированных матриц на основе различных гранул полиэтилена и полипропилена для получения биоспецифического сорбента. Показано образование привитой полиакриловой кислоты в результате радиационной прививочной полимеризации акриловой кислоты на гранулах полиэтилена и полипропилена. Для получения модифицированной матрицы на основе полипропилена с более высокой степенью прививки необходимо использовать другие условия радиационного воздействия, чем для ПЭ матрицы. Установлено, что при повышении дозы облучения свыше 6 Гр происходит разрушение кристаллической структуры, характерной для исходного ПЭ, что приводит к увеличению степени прививки ПАК на ПЭ.

Список литературы

1. Кирковский В.В. Физико-химические методы коррекции гомеостаза./В.В. Кирковский. – М.: Издательский дом «Русский врач», 2012. – 216с.
2. Francis S., Radiation – induced grafting of diallyldimethylammonium chloride onto acrylic acid grafted polyethylene / S. Francis, B.R. Dhanawadea, D. Mitraa, L. Varshneya, S. Sabharwala // Radiation Physics and Chemistry. – 2009. – Vol. 78. – P. 42 – 47.
3. Tong G. Supercritical carbon dioxide-assisted preparation of polypropylene grafted acrylic acid with high grafted content and small gel percent / Tong Gang-shenga // The Journal of Supercritical Fluids. – 2009. – V. 48. – P. 261 – 268.
4. Дехант И. Инфракрасная спектроскопия полимеров / И. Дехант, Р. Данц, В. Киммер, Р. Шмольке; под ред. Э.Ф. Олейника. – М.: Химия, 1976. – 472 с.

УДК 535.371: 543.422.4

АНАЛИЗ СТРУКТУРЫ И СВЯЗЫВАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ ОСНОВНЫХ ТРАНСПОРТНЫХ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ДИСЛИПИДЕМИЕЙ МЕТОДАМИ ИК СПЕКТРОСКОПИИ И ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ЗОНДИРОВАНИЯ

Е.В. КОРОЛИК¹, А.А. ИВАНОВ¹, Н.И. ИНСАРОВА¹, В.Г. ЛЕЩЕНКО¹,
А.Э. ДИКЕВИЧ², А.К. КОРОЛИК², В.В.КИРКОВСКИЙ²

¹ Белорусский Государственный Медицинский Университет, Республика Беларусь

² Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии, Республика Беларусь

Аннотация. В работе проведено исследование структурно-функционального состояния основных транспортных белков плазмы крови – сывороточный альбумин и липопротеины – у пациентов с дислипидемией разного генеза (ишемическая болезнь сердца и лакунарный инфаркт головного мозга) методами флуоресцентного зондирования и ИК спектроскопии. Показано, что повышение связывания анионного зонда АНС в плазме крови пациентов по сравнению с контрольной группой обусловлено структурными изменениями в липопротеинах низкой и очень низкой плотности. Установлено, что наиболее высокая активность этих липопротеинов в отношении анионных гидрофобных субстанций отмечается при ишемической болезни сердца.

Ключевые слова: метод флуоресцентного зондирования, ИК спектроскопия, дислипидения, плазма крови, сывороточный альбумин человека, липопротеины низкой и очень низкой плотности.

Abstract. The study of the structural and functional state of the main transport proteins of blood plasma - serum albumin and lipoproteins - in patients with dyslipidemia of different genesis (coronary heart disease and lacunary brain infarction) using fluorescence probing and IR spectroscopy methods has done. It is shown that an increase in the binding of the anion probe ANS in the blood plasma of patients compared with the control group is due to structural changes in the low and very low density lipoproteins. It has been established that the highest activity of these lipoproteins in relation to anionic hydrophobic substances is observed in ischemic heart disease.

Keywords: fluorescence probing method, IR spectroscopy, dyslipidemia, blood plasma, human serum albumin, low and very low density lipoproteins.

Введение

В последние годы все больший интерес вызывает структура и метаболизм липидов в организме. Атеросклероз является причиной наиболее серьезных сердечно-сосудистых заболеваний, в частности, ишемической болезни сердца, которая может привести к развитию инфаркта миокарда, а также инфаркту головного мозга [1]. На долю основных сердечно-сосудистых заболеваний, вызываемых атеросклерозом, приходится в целом примерно половина смертных случаев среди взрослого населения. Поэтому любая дополнительная информация о структурно - функционального состояния основных транспортных белков плазмы крови у пациентов с дислипидемией позволит более четко подходить к вопросу о коррекции нарушений липидного обмена, которая является актуальной про-

блемой практической медицины. В этом отношении достаточно эффективны спектроскопические методы – ИК спектроскопия и метод флуоресцентного зондирования [2–3].

Цель данной работы – анализ структурно-функциональное состояние основных транспортных систем плазмы крови – сывороточного альбумина человека (ЧСА) и липопротеинов – у пациентов с инфарктом головного мозга и ишемической болезнью сердца (ИБС) с дислипидемией методами флуоресцентного зондирования и ИК спектроскопии.

Материалы и методы

В работе использовалась плазма крови здоровых доноров – контрольная группа (n=34); пациентов с лакунарным инфарктом головного мозга и дислипидемией (n=22); ишемической болезнью сердца и дислипидемией (n=21). Для всех исследованных образцов плазмы крови пациентов был проведен биохимический анализ крови на содержание альбумина, общего холестерина, триглицеридов и холестерина липопротеинов различной плотности. Все образцы плазмы крови пациентов с дислипидемией и контрольной группы получены из **Минского научно-практического центра хирургии, трансплантологии и гематологии**.

Для проведения ИК спектроскопических исследований были получены тонкие пленки на поверхности оптических окон из кристаллов KRS-5. ИК спектры в области частот 4000–400 см⁻¹ регистрировались на ИК-фурье спектрометре *Nexus 670* (Nicolet, США) при спектральном разрешении 2 см⁻¹ и числе сканирований 128, при этом прибор постоянно продували сухим воздухом.

В работе были использованы различные гидрофобные флуоресцентные зонды: анионный – АНС («Реахим», Москва, Россия) и нейтральный –НК («Sigma», St. Luois, Mo., USA). Спектры зондовой флуоресценции регистрировались на спектрофлуориметре SFL-1211A («СОЛАР», Минск, Беларусь). Оптимальные условия регистрации и использования зондов приведены в работе [4].

Результаты и обсуждение

На рисунке 1 представлены результаты тестирования связывающей способности альбумина и липопротеинов в плазме крови больных с дислипидемией. Все пациенты с дислипидемией были разделены на две группы в зависимости от основного диагноза: к 1-ой отнесены пациенты с диагнозом – лакунарный инфаркт головного мозга; ко 2-ой – ИБС.

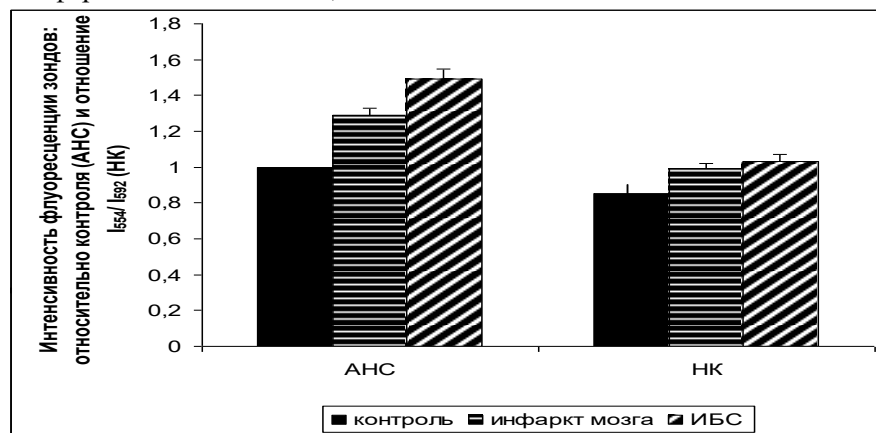


Рис. 1. Интенсивность флуоресценции зондов АНС и НК в плазме крови пациентов с инфарктом мозга и ИБС

Альбумин является основным транспортным белком, связывающим анионный флуоресцентный зонд АНС в плазме крови. Интенсивность флуоресценции этого зонда зависит от концентрации альбумина в плазме крови, его загруженности лигандами, от конформационных изменений белка, приводящих к появлению дополнительных центров связывания [4]. Для получения более объективных данных, нами был использован флуоресцентный параметр ($I_{\text{АНС}}/C_{\text{САЧ}}$) – интенсивность флуоресценции зонда АНС, нормированная на единицу концентрации альбумина. Флуоресцентный параметр $I_{\text{АНС}}/C_{\text{САЧ}}$, характеризующий связывающую способность альбумина в плазме крови к анионным гидрофобным метаболитам, оказался выше на 29% для пациентов 1-ой группы и на 49% – для 2-ой группы по сравнению с контрольной группой (Рис.1). В тоже время средние значения концентраций альбумина для исследуемых пациентов с лакунарным инфарктом головного мозга и ИБС существенно уменьшаются на 23% и 29,5%, соответственно, по сравнению с контрольной группой (Табл.1).

Таблица 1 – Средние значения биохимических показателей в плазме крови здоровых доноров и пациентов с инсультом и ИБС

Биохимические показатели	Здоровые доноры (n=34)	Пациенты с инфарктом мозга (n=22)	Пациенты с ИБС (n=21)
Концентрация альбумина, г/л	44,0±1,42	34,0±1,42*	31,40±1,42*
Суммарное содержание ЛПНП+ЛПОНП, ммоль/л	< 3,00 (норма)	4,08±0,12*	4,65±0,14*

Примечание: * – различия достоверны по сравнению с контролем при $p < 0,05$.

Анализируя полученные данные, можно предположить, что альбумин в плазме крови пациентов с ИБС и инфарктом мозга претерпевает конформационные изменения, приводящие к образованию дополнительных центров связывания на белке для взаимодействия с отрицательно заряженными гидрофобными метаболитами. Наличие таких дополнительных центров связывания объяснило бы повышение связывающей способности альбумина на фоне снижения концентрации ЧСА плазмы крови при исследуемых заболеваниях. Для подтверждения наличия или отсутствия возможных конформационных изменений молекул ЧСА в плазме крови пациентов были зарегистрированы и проанализированы ИК спектры пленок плазмы крови контрольной группы, пациентов с инфарктом мозга и пациентов с ИБС с различным уровнем липопротеинов, которые представлены на рисунке 2. Для пациентов с инфарктом мозга суммарное содержание ЛПНП и ЛПОНП – 3,67 ммоль/л (кривая 2), а для пациентов с ИБС – 4,32 и 6,78 ммоль/л (кривые 3,4), соответственно.

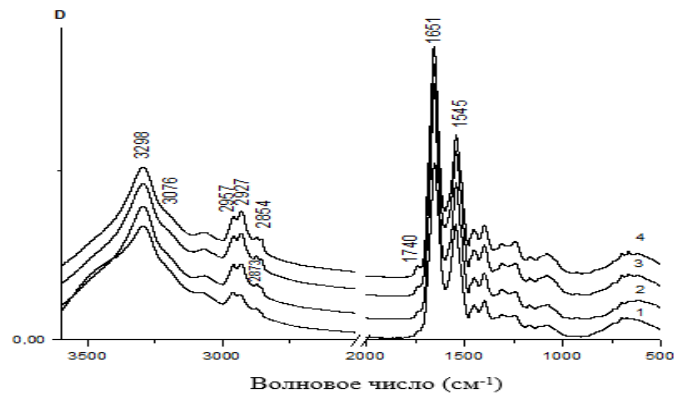


Рис. 2. ИК-фурье-спектры пленок плазмы крови контрольной группы (1), пациентов с инфарктом мозга (2) и ИБС (3,4) в области частот 3600–500 см^{-1} (спектры смещены по оси ординат для наглядности)

Основной вклад в ИК спектры плазмы крови дают полосы поглощения, обусловленные, в основном, колебаниями полипептидной цепи белковых молекул [2–3]. В области 1200–1700 см^{-1} наблюдаются полосы, известные в литературе как полосы Амид I, Амид II и Амид III, чувствительные к изменению вторичной и третичной структуры белков. В рассматриваемых ИК спектрах (Рис.2) в области 2800–3000 см^{-1} наблюдается четыре перекрывающиеся полосы поглощения малой интенсивности с максимумами при 2957, 2927, 2873 и 2854 см^{-1} . Полосы при 2957 и 2873 см^{-1} обусловлены ассиметричными и симметричными валентными колебаниями CH_3 -групп, а полосы при 2927 и 2854 см^{-1} ассиметричными и симметричными валентными колебаниями CH_2 -групп.

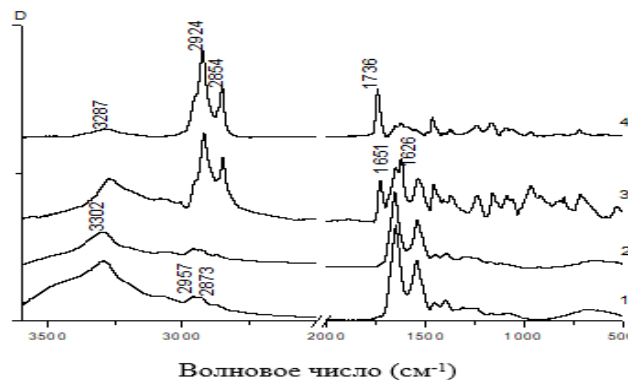


Рис. 3. ИК-фурье-спектры пленок плазмы крови контрольной группы (1), альбумина (2), ЛПНП (3) и ЛПОНП (4) в области частот 3600–500 см^{-1}

На рис. 3 представлены ИК спектры пленок плазмы крови контрольной группы, альбумина и липопротеинов низкой и очень низкой плотности. Спектр пленки альбумина (Рис.3, кр.2) практически идентичен спектру пленки плазмы крови донора контрольной группы (Рис.3, кр.1). Это объясняется тем, что основными компонентами плазмы крови (за вычетом воды и растворенных неорганических солей) являются белки, из которых свыше 50% приходится на альбумин. ИК спектры липопротеинов (Рис.3 кр.3,4) резко отличается от спектра альбумина (Рис.3 кр.2) и плазмы крови (Рис.3 кр.1) наличием высокоинтенсивных полос валентных колебаний CH_2 -группы при 2924 и 2854 cm^{-1} и полосы валентных колебаний карбонильной группы при 1736 cm^{-1} . Эти полосы обусловлены липидной составляющей липопротеинов [5].

Высокая интенсивность полос поглощения CH_2 -групп в ИК спектрах липопротеинов при сравнительно небольшой интенсивности этих полос в ИК спектрах белков, делает область 3000-2800 cm^{-1} наиболее подходящей для анализа уровня липопротеинов в плазме крови.

Сравнительный анализ ИК спектров плазмы крови контрольной группы, пациентов с инфарктом мозга и пациентов с ИБС (Рис.2) показал, что отличия в исследуемых образцах плазмы крови наблюдаются только в областях 3000-2800 cm^{-1} и 1800–1700 cm^{-1} , которые обусловлены липидной составляющей липопротеинов. Форма контура, положение максимумов и относительные интенсивности полос Амид I, Амид II и Амид III практически такие же, как в спектре плазмы крови контрольной группы. Так как полосы Амид I, Амид II и Амид III чувствительны к изменению вторичной и третичной структуры белков [3], то можно предположить, что структура белков, в частности альбумина, в плазме крови пациентов с инфарктом мозга, ИБС и контрольной группы практически одинакова. Это свидетельствует об отсутствии дополнительных связывающих центров на данном транспортном белке. Функциональная активность альбумина в этом случае должна либо оставаться в норме, либо снижаться за счет избыточного накопления отрицательно заряженных гидрофобных метаболитов. Однако, по данным флуоресценции зонда АНС, связывающая способность плазмы крови пациентов по отношению к отрицательно заряженным гидрофобным метаболитам существенно повышается, несмотря на снижение концентрации альбумина в плазме крови обеих групп пациентов (Таблица 1).

Известно [4–5], что анионный зонд АНС в плазме крови взаимодействует, в основном, с молекулами альбумина, но может реагировать и на поверхностный заряд липидных структур. При атеросклерозе в атерогенных липопротеинах плазмы крови происходят структурные изменения, выражающиеся в увеличении размеров ЛПОНП, в появлении дополнительных положительно заряженных групп на поверхности ЛПНП и ЛПОНП, в увеличении вязкости липидной фазы липопротеинов [1]. Поэтому наблюдаемое увеличение связывающей способности зонда АНС в плазме крови у пациентов с инфарктом мозга и ИБС возможно обусловлено появлением дополнительных положительно заряженных групп на поверхности ЛПНП и ЛПОНП.

В случае флуоресцентного зонда НК был использован флуоресцентный параметр – I_{554}/I_{592} , отражающий распределение нейтральных гидрофобных метаболитов между сывороточными липопротеинами низкой и очень низкой плотности и альбумином в нефракционированной плазме крови [4]. Отношение I_{554}/I_{592} в спектрах флуоресценции зонда НК для всех образцов плазмы крови пациентов с дислипидемией (группы 1 и 2) достоверно отличается от контрольной группы (Рис.1). Наблюдаемое увеличение флуоресцентного параметра – I_{554}/I_{592} указывает на перераспределение связывания зонда НК между фракциями липопротеинов низкой и очень низкой плотности и альбумином в сторону липопротеинов, и зависит от суммарного содержания в плазме крови ЛПНП и ЛПОНП. При этом следует отметить, что отношение I_{554}/I_{592} в спектрах флуоресценции зонда НК для образцов плазмы крови пациентов с ИБС выше, чем для пациентов с лакунарным инфарктом мозга. Это согласуется с данными биохимического анализа (Таблица 1), отражающими увеличение суммарного содержания ЛПНП и ЛПОНП в плазме крови пациентов обеих групп, в большей степени при ИБС, по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, связывание и транспорт незаряженных гидрофобных метаболитов при исследованных патологических процессах зависят от концентрации липопротеинов и альбумина, и перераспределяются в сторону увеличения нагрузки на липопротеиновые структуры при одновременном снижении нагрузки на альбумин.

Список литературы

1. Аронов Д.М. Лечение и профилактика атеросклероза / Д.М. Аронов. – Москва: «Триада-Х». – 2000. – 411с.
2. Encyclopedia of Analytical Chemistry: in V.2, №1 Infrared Spectroscopy in Clinical and Diagnostic Analysis / A.R. Shaw / Ed. R.A. Meyers. – Chichester: J. Wiley and Sons Ltd. , 2000–2006.– С. 7–100.
3. Ivanov A.I., Chronic liver and renal diseases differently affect structure of human serum albumin / A.I. Ivanov, E. A. Korolenko, E. V. Korolik //ABB. – 2002. – V. 408. -p. 69-75
4. Korolenko E.A., Evaluation of the binding capacity of the main transport proteins of blood plasma in liver cirrhosis by fluorescence sensing / E.A. Korolenko, E.V. Korolik, A.K. Korolik, V.V. Kirkovskiy // Journal of Applied Spectroscopy. - 2007. - №4. - p. 507–511
- 5.

УДК 615.47:616-072.7

УСТРОЙСТВО ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКИ И МОНИТОРИНГА ПОТООТДЕЛИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА

А.М. СТАСИШИНА¹, М.В. ДАВЫДОВ¹, С.С. СТЕБУНОВ², А.В. ВОРОБЕЙ¹

¹Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники

П. Бровки, 6, Минск, 220013, Беларусь

²ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии»

Семашко, 8, Минск, 220045, Беларусь

Аннотация. Разработано техническое устройство, основанное на совместном использовании емкостного датчика и адсорбирующего элемента и реализующего количественную оценку и мониторинг процесса потоотделения человека.

Ключевые слова: аппаратно-программный комплекс, емкостной датчик, адсорбирующий элемент, потоотделение человека.

Abstract. Developed a technical device, based on the joint use of a capacitive transducer and an adsorbing element, and materializes the quantitative evaluation and monitoring of a human skin perspiration process.

Keywords: hardware-and-software system, capacitive transducer, adsorbing element, human skin perspiration.

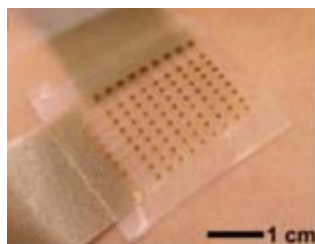
Введение

В данной работе предложен аппаратно-программный комплекс для количественной оценки и мониторинга процесса потоотделения человека на основе совместного использования емкостного датчика и адсорбирующего элемента, максимально впитывающего пот с исследуемого участка кожи человека и исключаяющего непосредственный контакт датчика с кожей.

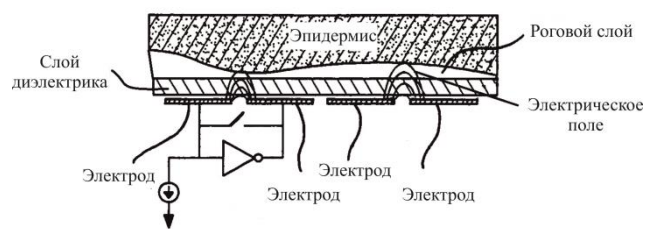
Теоретический анализ

В настоящее время существует достаточное количество технических средств для оценки влажности кожи и потоотделения человека.

Например, известен «эпидермальный» датчик гидратации кожи (рис.1, а), содержащий эластичную пленку (силикон), миниатюризированные электроды, измерительную электрическую цепь. Ультратонкая, эластичная пленка (силикон) с нанесенными на ней в матричном виде миниатюризированными, измеряющими импеданс электродами, позволяет получать изображение (пространственное мультиплексированное картирование), иллюстрирующее степень гидратации исследуемого участка кожи человека. Структура известного датчика по своим физическим и механическим свойствам соответствует коже человека (эпидермису). Непосредственный контакт датчика с кожей осуществляется за счет сил Ван-дер-Ваальса (без применения давления на кожу), что обеспечивает высокую точность и достоверность результатов экспериментов [1].



а



б

Рис.1. «Эпидермальный» датчик гидратации кожи (а) и устройство для оценки гидратации кожи (б)

Известный датчик обладает следующими недостатками. Во-первых, невозможность использования данного датчика при длительном контроле потоотделительного процесса кожи чело-