

Инфракрасные спектры плазмы крови экспериментальных животных в оценке эффективности введения сукцинатсодержащих веществ

Московцева О.М., к.б.н., ассистент кафедры биологии ГОУ ВПО НижГМА Росздрава, г. Нижний Новгород Щербатюк Т.Г., д.б.н., профессор, зав. кафедрой биологии ГОУ ВПО Ниж-ГМА Росздрава, г. Нижний Новгород Гордещов А.С., д.х.н., профессор, зав. кафедрой общей химии ГОУ ВПО НижГМА Росздрава, г. Нижний Новгород Гордиевская О.В., студентка 5 курса биологического факультета ННГУ им. Лобачевского, г. Нижний Новгород

Infrared spectroscopy of the blood plasma of experimental animals in the estimation of efficiency of introduction amber acid and oligosaccharide chitosan succinate-ascorbate

Moskovtseva O.M., Scherbatjuk T.G., Gordetsov A.S., Gordievskaja O.V.

Резюме

Целью нашего исследования явилось изучение возможности использования метода ИК-спектроскопии для оценки действия антиоксидантных веществ на организмы экспериментальных животных. Показаны наиболее информативные из выбранных полос поглощения ИК-спектра 1125 см⁻¹ и 1070 см⁻¹. Выявлена высокая корреляционная взаимосвязь интенсивности поглощения ИК-излучения на полосе поглощения 1070 см⁻¹ с содержанием продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) (диеновый конъюгат, малоновый диальдегид).

Ключевые слова: ИК-спектроскопия, сукцинат

Summary

The aim of our study was to investigate the possibility of using the method of infrared spectroscopy to assess the action of antioxidant substances on laboratory animals. Showing the most informative of the selected bands of IR spectrum 1125 cm⁻¹ and 1070 cm⁻¹. A high correlation between the intensity of the absorption of infrared radiation on the absorption band 1070 cm⁻¹ with a content of lipid peroxidation products (LPO) (diene conjugates, malondialdehyde).

Key words: infrared spectroscopy, succinate

Действие большинства производственных канцерогенов связано с активацией ими свободно-радикальных процессов. Применение различных антиоксидантных препаратов с целью снижения канцерогенных рисков требует тщательного контроля. В связи с этим, большое значение имеет поиск методов оценки эффективности применения лекарственных препаратов.

Метод инфракрасной (ИК) спектроскопии является универсальным физико-химическим методом, который широко применяется для анализа качественного и количественного состава органических и неорганических соединений. В последнее время ИК-спектроскопия биологических жидкостей (слюна, кровь и т.д.) используется для диагностики различных заболеваний [1, 2, 3, 4].

Высокая чувствительность этого метода определя-

ется отсутствием двух веществ с абсолютно одинаковыми ИК-спектрами, т.к. колебательные спектры обладают очень высокой специфичностью и являются уникальной физической характеристикой вещества. Информативной считают область частот ИК-спектра ниже 1500 см⁻¹, в которой общая картина спектра наиболее чувствительна к малейшим изменениям в структуре молекулы и вещества [5]. Аналитически информативными показателями в данном методе являются полосы поглощения ИК-спектра, соответствующие связям фосфор-кислород (P-O) фосфорсодержащих соединений [2, 3, 6, 7], фосфолипидам, неорганическим фосфатам и макроэргическим соединениям [8]. Однако ранее проведенные исследования не позволяют дать однозначный ответ в установлении химической природы этих соединений.

Показанный многочисленными работами корригирующий эффект экзогенной янтарной кислоты (ЯК) и сукцинатсодержащих соединений по отношению к энергообмену [9, 10, 11, 12] позволяет предположить, что введение ЯК и ее комплексов с олигосахаридом хитозана (ОХС) и аскорбиновой кислотой (АК) может влиять на концентрацию фосфорсодержащих веществ в плазме

Ответственность за содержание переписки -

Московцева Ольга Михайловна,

603057, г. Нижний Новгород, ул. Бокситовая, д. 30А, кат. 5,

E-mail: moskovtseva@nngmu.ru

крови и, в тоже время отразиться на соответствующих ИК-спектрах.

На основании этого целью нашего исследования явилось изучение возможности использования метода ИК-спектроскопии для оценки действия антиоксидантных веществ на организм экспериментальных животных.

Были изучены инфракрасные спектры плазмы крови здоровых животных после введения в течение 7 дней растворов ЯК, ОхС, АК, олигосахарида аскорбата (ОхА) и олигосахарида сукцинат-аскорбата (ОхСА) в дозе 100 мг/кг веса.

Эксперименты проведены на 62 белых нелинейных крысах-самцах, массой 270±25 г. Растворы веществ животным вводили внутривенно с помощью зонда в дозе 100 мг/кг ежедневно, курсом 7 дней. Животные контрольной группы получали через зонд чистую воду. Результаты воздействий оценивали на следующий день после окончания манипуляций. Работу с экспериментальными животными проводили согласно Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях [13].

Животные были распределены на группы: 1) контроль (n=12) – животные, получавшие воду; 2) опыт-1 (n=10) – животные, получавшие ЯК; 3) опыт-2 (n=10) – животные, получавшие ОхС; 4) опыт-3 (n=10) – животные, получавшие АК; 5) опыт-4 (n=10) – животные, получавшие ОхА; 6) опыт-5 (n=10) – животные, получавшие олигосахарид хитозана сукцинат-аскорбат (водорастворимый продукт, в котором олиго-D-глюкозамин (70%), сукцинат (15%) и АК (15%) находятся в ионной связи друг с другом).

Исследование проводили методом ИК-спектроскопии плазмы крови, в соответствии с методикой А.С. Гордеева [2, 3]. Регистрацию спектров производили на спектрофотометре "Specord 75 IR" в диапазоне волновых чисел 1170-1025 см⁻¹, который охватывает длины волн от 8,55 до 9,76 мкм и, соответственно, относится к средней области (2,0-50 мкм) ИК-спектра [2, 3].

Полученные данные обработаны на IBM PC/AT с помощью пакетов прикладных программ Statistica 7.0 (Windows XP).

Анализ ИК-спектров плазмы крови экспериментальных животных показал, что наиболее информативными из выбранных полос поглощения являются 1125 см⁻¹ и 1070 см⁻¹, соответствующих глюкозе [14] и фосфо-

липидам (таблица) [4].

При расшифровке ИК-спектров плазмы крови здоровых животных, получавших растворы исследуемых веществ, отмечено наибольшее изменение интенсивности поглощения ИК-излучения на фоне введения олигосахарида хитозана сукцинат-аскорбата: повышение на полосе поглощения 1125 см⁻¹ – в 2,7 раза; 1070 см⁻¹ – в 0,6 раза, по сравнению с контролем (p≤0,05). Наименьшее изменение интенсивности поглощения ИК-излучения в области спектра 1125 см⁻¹ выявлено на фоне введения чистой АК (повышение на 8%, по сравнению с контролем). Препараты ЯК и ОхА приводят к увеличению данного показателя на 31 и 40% соответственно (p≤0,05). В то время как ЯК в комплексах с олигосахаридом хитозана и АК (ОхС и ОхСА) повышают высоту пиков поглощения ИК-излучения на полосе поглощения 1125 см⁻¹ (что соответствует глюкозе [14]), по сравнению с показателями контрольной группы, в 1,8 и 2,7 раза соответственно (p≤0,05).

Значение интенсивности поглощения ИК-излучения на полосе поглощения 1070 см⁻¹ максимально увеличилось на фоне введения ЯК и ОхСА на 62 и 64%, соответственно, а также в группе животных, получавших ОхС – на 34% (p≤0,05). В то время как введение АК и ОхА изменило эти показатели лишь на 7 и 8% соответственно.

Таким образом, значительное повышение высоты пика поглощения ИК-излучения в области фосфолипидов, вызванное введением сукцинатсодержащих веществ (ЯК, ОхСА и ОхС), и незначительное изменение этих параметров в группах, получавших препараты АК (АК и ОхА), подтверждает стимулирующее влияние ЯК на энергообмен организма, что сопровождается повышением концентрации фосфоросодержащих веществ в плазме крови.

Учитывая, что фосфолипиды являются основным субстратом ПОЛ в плазме крови [15], то возможно выявление взаимосвязи количества продуктов ПОЛ с интенсивностью поглощения ИК-излучения в спектральной области 1070 см⁻¹, характеризующей фосфолипиды [4]. Проведенный корреляционный анализ показал, что интенсивность поглощения ИК-излучения на полосе поглощения 1070 см⁻¹ обратно пропорциональна содержанию продуктов ПОЛ дисновых коньягатов (r = -0,83) и малонового диальдегида (r = -0,79) в плазме крови. В связи с этим, можно предположить, что максимальное значение

Таблица 1. Интенсивность поглощения ИК-излучения плазмой крови экспериментальных животных

Группа животных	Полоса поглощения, см ⁻¹			
	1165	1150	1125	1070
Средние высоты пиков поглощения, мм				
Контроль	2,70±0,01	5,00±0,02	0,71±0,01	4,00±0,01
Опыт-1 (ЯК)	2,60±0,02	4,30±0,01 *	0,93±0,02 *	6,50±0,01 *
Опыт-2 (ОхС)	2,40±0,01	4,55±0,02 *	2,00±0,01 *	5,40±0,03 *
Опыт-3 (АК)	2,30±0,02 *	4,31±0,01 *	0,77±0,03	4,80±0,04 *
Опыт-4 (ОхА)	2,60±0,02	4,32±0,03 *	1,00±0,01 *	4,71±0,03 *
Опыт-5 (ОхСА)	2,65±0,01	4,40±0,01 *	2,65±0,03 *	6,55±0,01 *

Примечание * – различия достоверны по сравнению с группой контрольных животных (p≤0,05).

интенсивности поглощения ИК-спектров, соответствующих волновому числу 1070 см^{-1} , на фоне введения ЯК и ОхСА, свидетельствует об инициирующем влиянии ЯК и комплекса ОхСА на развитие реакций ПОЛ.

Выявленная нами высокая корреляционная взаимосвязь интенсивности поглощения ИК-излучения на полосе поглощения 1070 см^{-1} с содержанием продуктов ПОЛ диеновых конъюгатов ($r = -0,83$) и малонового диальдегида ($r = -0,79$) в плазме крови может быть использована как интегральный показатель интенсивности ПОЛ.

По результатам анализа ИК-спектров плазмы крови экспериментальных животных показано, что наиболее информативными и выбранными полосами поглощения являются 1125 и 1070 см^{-1} , соответствующие глюкозе и фосфолипидам.

Анализ спектрограмм плазмы крови экспериментальных животных показал, что максимальное изменение интенсивности поглощения ИК-излучения плазмой крови здоровых животных зафиксировано на фоне введения комплекса олигосахарида хптозана сукцинат-аскорбата. ■

Литература:

1. Балаховский И.С. Инфракрасная спектроскопия в клинической лабораторной диагностике. Клиническая лабораторная диагностика. 1995; 4: 24-9.
2. Гордеев А.С. Диагностическая ИК-спектроскопия. Нижегородский медицинский журнал. 2003; 3: 72-6.
3. Гордеев А.С. Инфракрасная спектроскопия биологических жидкостей и тканей. Современная медицина. 2010, 1: 84-98.
4. Каргаполов А.В. Особенности инфракрасного спектра крови в норме и патологии. Применение ИК-спектроскопии при диагностике и прогнозировании различных заболеваний. 2003: 15-9.
5. Федунь А.М., Кукош М.В., Гордеев А.С. Роль инфракрасной спектроскопии сыворотки крови в комплексной диагностике рака легкого. Нижегородский медицинский журнал. 2002, 1: 60-5.
6. Верболович В.П., Полетаев Э.В., Рюдигер Э.Д. Свободнорадикальное окисление липидов биомембран в условиях общей анестезии по данным инфракрасной спектроскопии. АиР. 1980; 6: 29-31.
7. Щербатов В.И., Матвеевский Д.Н., Правоторов Г.В. Реактивные изменения стромы печени при введении зимозана. Бюл. экспериментальной биологии и медицины. 1981, 12: 731-34.
8. Лифшиц В.М., Сидельникова В.И. Медицинские лабораторные анализы. Справочник. М.: Трида-Х, 2000: 312.
9. Кондрашова М.Н. Гормоноподобное действие янтарной кислоты. Вопросы биологии, медицины и фармацевтической химии. 2002; 1: 7-12.
10. Лукьянова Л.Д. Биоэнергетическая гипоксия: понятие, механизмы и способы коррекции. Бюл. экспериментальной биологии и медицины. 1997; 9: 244-53.
11. Янтарная кислота в медицине, пищевой промышленности, сельском хозяйстве: [Сборник научных статей]. 1997: 300.
12. Коршунов Д.А. Влияние эссенциале и янтарной кислоты на биоэнергетику печени при интоксикации парацетамолом в эксперименте. Бюл. Сибирской медицины. 2009; 4: 70-5.
13. Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS N 123).
14. Norman A. Working atlas of infrared spectroscopy. 1978: 73.
15. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Беленков Ю.Н. Свободнорадикальные процессы в норме и при патологических состояниях: Пособие для врачей. 2001: 78.