УДК 54.084

В.А. Гаврилина

доктор технических наук, доцент кафедры промышленной химии и биотехнологии, ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева», e-mail: vega180267@mail.ru;

тел.: +7(4862)419892

Е.М. Карамарина

аспирант кафедры промышленной химии и биотехнологии, ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева»,

e-mail: vera-gavrilina@mail.ru; тел.: +7(4862)419892

Е.А. Кузнецова

студент кафедры промышленной химии и биотехнологии, ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева»,

e-mail: elkuznetcova@rambler.ru; тел.: +7(4862)41989

V.A. Gavrilina

doctor of technical Sciences of department of industrial chemistry and biotechnology Orel state University named after I. S. Turgenev,

e-mail: vega180267@mail.ru; tel. +7(4862)419892

E.M. Karamarina

postgraduate student of the department of industrial chemistry and biotechnology, Orel state University named after I. S. Turgenev,

e-mail: vera-gavrilina@mail.r; tel. +7(4862)419892

E.A. Kuznetsova

student, department of industrial chemistry and biotechnology Orel state University named after I. S. Turgenev, e-mail: elkuznetcova@rambler.ru;

tel. +7(4862)419892

ВЫЯВЛЕНИЕ ПОСЛЕДСТВИЙ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ КОМБИНИРОВАННЫМ МЕТОДОМ

ВЭЖХ-МГК

IDENTIFICATION OF THE CONSEQUENCES OF ENDOGENOUS INTOXICATION BY THE COMBINED METHOD OF HPLC-MGK

Аннотация. Комбинированным методом ВЭЖХ-МГК на лабораторных животных проведены исследования синдрома эндогенной интоксикации.

Abstract.

The combined method of HPLC-MGK on laboratory animals conducted studies of the syndrome of endogenous intoxication.

Ключевые слова: метод, ВЭЖХ, МГК, синдром, эндогенная интоксикация

Keywords: method, HPLC, CIM, syndrome, endogenous intoxication

В настоящее время при диагностике заболеваний или определении любых неблагоприятных воздействий на организм человека и животных важная роль отводится исследованию синдрома эндогенной интоксикации (ЭИ). Перечень веществ, относящихся к субстратам ЭИ, постоянно растет, но основной упор делается на так называемые «молекулы средней массы» (МСМ): среднемолекулярные продукты протеолиза, структура которых чрезвычайно разнообразна.

 Определение МСМ является интегральным показателем, характеризующим метаболические нарушения независимо от этиологических причин и дальнейшее изучение особенностей состава МСМ могло бы позволить оптимизировать диагностику выраженности нарушений метаболического гомеостаза при различных паталогических состояниях. На сегодняшний день используемые методики определения МСМ имеют интегральный характер (определение оптической плотности на известных длинах волн) и принципиально не могут быть специфичными, а идентификация в ряде случаев ряда компонентов МСМ недостаточна для построения хотя бы ориентировочной модели эндогенной интоксикации в конкретном случае.

Задача использования отклика биосистем (в том числе проявление эндогенной интоксикации) для распознания способа воздействия на биосистему близка к общей проблеме определения идентичности, подобия и неидентичности систем, состоящих из большого, неизвестного и способного изменяться во времени количества компонентов, описываемых многофакторной моделью с неизвестным или произвольно установленным количеством параметров. Такие задачи могут быть решены с помощью комбинированного метода «ВЭЖХ – Метод главных компонент (МГК)» с многоволновым детектированием при выполнении следующей гипотезы:

- изменения в химической системе плазмы крови могут быть как неспецифичными, так и специфичными для каждого ксенобиотика, введенного в организм;

- изменения происходят таким образом, что электронные спектры средних и малых по размерам соединений, содержащихся или появившихся в плазме в процессе воздействия ксенобиотика (в том числе метаболиты), могут быть линейными комбинациями всего лишь нескольких (4 – 5) базовых электронных спектров;

- набор базовых линейно-независимых электронных спектров должен описывать все возможные состояния плазмы, как в явном (например, в виде хроматографических пиков), так и в неявном виде (например, изменение спектральных отношений фонового поглощения в процессе фотометрирования хроматограммы), в том числе специфичные для воздействия данного вида ксенобиотика.

Последовательность проведения процедуры получения и обработки экспериментальных данных методом «ВЭЖХ – МГК» с многоволновым детектированием выглядит следующим образом:

1. Забор крови у здоровых крыс с получением плазмы крови.

2. Введение ксенобиотика и забор крови у отравленных крыс с получением плазмы крови.

2. Получение многоволновых хроматограмм плазмы крови в графическом виде

3. Получение многоволновых хроматограмм плазмы крови в виде числовой матрицы А кодов оптических плотностей.

4. Получение матрицы линейно-независимых факторов, как «паспорта» плазмы биосистемы.

5. Корреляционный анализ и сопоставление полученных факторов и векторов для разных образцов плазмы крови крыс.

 Приведенная последовательность действий может быть охарактеризована как распознавание воздействия ксенобиотика на плазму крови. Отличительной особенностью такой процедуры является отсутствие идентификации отдельных компонентов плазмы, что многократно ускоряет, удешевляет и повышает надежность распознавания.

Экспериментальные результаты такого эксперимента и обработка методом «ВЭЖХ – МГК» представлены ниже.

Крыса, плазма нормальная, кровь отобрана спокойно (таблицы 1 и 2)

Таблица 1 – Значения факторов и их вклады, длины волн 210, 220, 230, 240, 250 нм

|  |  |
| --- | --- |
| Длины волн, нм | Факторы |
| Factor 1 | Factor 2 | Factor 3 | Factor 4 |
| 210 | 1,580010 | 0,63885 | -0,485304 | 0,24479 |
| 220 | 0,332304 | -0,70962 | 1,485275 | -0,61642 |
| 230 | -0,308520 | -1,39468 | -0,875953 | 0,62642 |
| 240 | -0,724826 | 0,54641 | -0,687890 | -1,37944 |
| 254 | -0,878969 | 0,91904 | 0,563872 | 1,12465 |
| Вклады факторов в % |
|  | 84,71926 | 10,53467 | 3,55490 | 1,19117 |

Таблица 2 – Значения факторов и их вклады, длины волн 260, 270, 280, 290, 300 нм

|  |  |
| --- | --- |
| Длины волн, нм | Факторы |
| Factor 1 | Factor 2 | Factor 3 | Factor 4 |
| 260 | 0,68934 | -1,38647 | -0,78068 | 0,43936 |
| 270 | -0,20206 | -0,59179 | 1,30664 | -1,04959 |
| 280 | -1,21560 | 0,20118 | 0,30365 | 1,26081 |
| 290 | -0,56887 | 0,65619 | -1,20439 | -0,99762 |
| 300 | 1,29718 | 1,12090 | 0,37477 | 0,34704 |
| Вклады факторов в % |
|  | 61,50644 | 32,89259 | 4,12753 | 1,47344 |

Для проверки гипотезы об устойчивости факторов плазмы, через семь дней у той же крысы была отобрана кровь из подъязычной вены. Кровь была отобрана спокойно, плазма хорошая. Результаты приведены в таблицах 3 и 4.

Таблица 3 - Значения факторов и их вклады, длины волн 210, 220, 230, 240, 250 нм, через семь дней

|  |  |
| --- | --- |
| Длины волн, нм | Факторы |
| Factor 1 | Factor 2 | Factor 3 | Factor 4 |
| 210 | 1,580010 | 0,63885 | -0,485304 | 0,24479 |
| 220 | 0,332304 | -0,70962 | 1,485275 | -0,61642 |
| 230 | -0,308520 | -1,39468 | -0,875953 | 0,62642 |
| 240 | -0,724826 | 0,54641 | -0,687890 | -1,37944 |
| 254 | -0,878969 | 0,91904 | 0,563872 | 1,12465 |
| Вклады факторов в % |
|  | 84,71926 | 10,53467 | 3,55490 | 1,19117 |

Таблица 4 – Значения факторов и их вклады, длины волн 260, 270, 280, 290, 300 нм, через семь дней

|  |  |
| --- | --- |
| Длины волн, нм | Факторы |
| Factor 1 | Factor 2 | Factor 3 | Factor 4 |
| 260 | 0,33709 | -1,46445 | -0,39336 | 0,88715 |
| 270 | -0,19454 | -0,57056 | 1,08392 | -1,28908 |
| 280 | -1,39344 | 0,37816 | -1,03556 | -0,20723 |
| 290 | -0,12438 | 0,91290 | 1,04957 | 1,11783 |
| 300 | 1,37527 | 0,74395 | -0,70457 | -0,50867 |
| Вклады факторов в % |
|  | 65,79299 | 20,54306 | 8,64799 | 5,01596 |

Для определения устойчивости факторов получим коэффициенты попарной корреляции соответствующих факторов, полученных из экспериментальных данных с разницей в семь суток. Результаты представлены в таблицах 5 и 6.

Таблица 5 – Матрица корреляции факторов двух проб плазмы крови крысы № 3 с разницей в 7 суток в диапазоне 260 – 300 нм

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | F1 | F2 | F3 | F4 | F17 | F27 | F37 | F47 |
| F1 | 1,000000 | 0,000231 | 0,000073 | 0,000132 | 0,955064 | 0,207111 | 0,06900 | 0,20089 |
| F2 | 0,000231 | 1,000000 | -0,000272 | 0,000311 | -0,226898 | 0,969239 | -0,077061 | -0,054866 |
| F3 | 0,000073 | -0,000272 | 1,000000 | 0,000332 | -0,185394 | -0,101678 | -0,029938 | -0,976916 |
| F4 | -0,000132 | 0,000311 | 0,000332 | 1,000000 | -0,043269 | -0,086281 | -0,994211 | 0,047346 |
| F17 | 0,955064 | -0,226898 | -0,185394 | -0,043269 | 1,000000 | 0,000222 | -0,000084 | -0,000221 |
| F27 | 0,207111 | 0,969239 | -0,101678 | -0,086281 | 0,000222 | 1,000000 | 0,000094 | 0,000226 |
| F37 | -0,069001 | -0,077061 | -0,029938 | -0,994211 | -0,000084 | 0,000094 | 1,000000 | -0,000037 |
| F47 | -0,200892 | -0,054866 | -0,976916 | 0,047346 | -0,000221 | 0,000226 | -0,000037 | 1,000000 |

Таблица 6 – Матрица корреляции факторов двух проб плазмы крови крысы № 3 с разницей в 7 суток в диапазоне 210 – 254 нм

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | F1 | F2 | F3 | F4 | F17 | F27 | F37 | F47 |
| F1 | 1,000000 | -0,000000 | 0,000000 | -0,00000 | 0,973460 | -0,211311 | 0,046272 | -0,086300 |
| F2 | -0,000000 | 1,000000 | -0,000000 | -0,000000 | 0,228556 | 0,918124 | -0,052130 | 0,319171 |
| F3 | 0,000000 | -0,000000 | 1,000000 | 0,000000 | -0,000527 | 0,099666 | 0,976118 | -0,108072 |
| F4 | -0,000000 | -0,000000 | 0,000000 | 1,000000 | 0,011752 | -0,320097 | 0,205755 | 0,937551 |
| F17 | 0,973460 | 0,228556 | -0,000527 | 0,011752 | 1,000000 | 0,000326 | 0,035033 | 0,000014 |
| F27 | -0,211311 | 0,918124 | 0,099666 | -0,320097 | 0,000326 | 1,000000 | -0,026215 | 0,000397 |
| F37 | 0,046272 | -0,052130 | 0,976118 | 0,205755 | 0,035033 | -0,026215 | 1,000000 | 0,066784 |
| F47 | -0,086300 | 0,319171 | -0,108072 | 0,937551 | 0,000014 | 0,000397 | 0,066784 | 1,000000 |

Несмотря на подвижность таких систем, как плазма крови, в спокойных одинаковых условиях для одной и той же крысы коэффициенты корреляции факторов с вероятностью 95% находятся в диапазоне от 0,94 до 1,00, что очень хорошо для биологических систем и характеризует крыс, как беспрецендентно устойчивых к внешним воздействиям высокоорганизованных животных.

Устойчивость факторов делает возможным их применение как реперов при распознавании состояния крысы.

Предложенный комбинированный метод и полученные результаты внушают осторожный оптимизм по поводу исследований синдрома эндогенной интоксикации и позволяет направленно перейти к поиску соединений или группы соединений плазмы крови, отвечающих за тот или иной эффекты эндогенной интоксикации.

Тезисы публикуются впервые

23 ноября 2017 года

  

© Гаврилина В.А., Карамарина Е.М., Кузнецова Е.А., 2017