

09;14

Анализ ИК-спектров минерализованных осадков на сердечных клапанах человека

© В.И. Иванов-Омский¹, С.Г. Ястребов^{1,¶}, Н.И. Гуляев²¹ Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе РАН, Санкт-Петербург² Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова Минобороны России, Санкт-Петербург

¶ E-mail: yastrebov@mail.ioffe.ru

Поступило в Редакцию 24 октября 2016 г.

С помощью метода ИК-спектроскопии в области колебаний гидроксильных групп выполнен анализ энергии связи минерализованных осадков к клапанам сердца пациентов различного пола и возраста. Выявлена тенденция к нарастанию энергии связи минерализованных образований с тканью клапанов с увеличением возраста пациентов, которая не зависит от их пола. Проведенный анализ позволяет выработать рекомендации по ранней диагностике кальцинозов, мониторингу их развития и терапии кальцинозов.

DOI: 10.21883/PJTF.2017.09.44580.16533

Природа минеральных (кальцинированных) образований на сосудистых стенках, будучи причиной трети сердечно-сосудистых болезней [1], продолжает привлекать неослабевающее внимание исследователей. Среди используемых при этом методов важное место принадлежит ИК-спектроскопии [2,3]. Большое преимущество этого метода состоит в возможности идентификации и характеристики химических связей в биоматериалах, измененных в результате развития болезни. Особенный интерес в этом направлении представляет водородная связь (Н-связь), которая представляет собой одну из наиболее важных составляющих жизни. Характеризуясь энергией порядка 10–20 kJ/mol, т.е. будучи намного слабее, чем ковалентная, и всего лишь в разы превышая энергию теплового движения при характерных для живых организмов температурах, она обладает способностью обратимо разрушаться и восстанавливаться под воздействием теплового движения молекул при температурах, характерных для живых организмов. Именно это свойство Н-связи обеспечивает ее важнейшую роль в структуре жи-

Половозрастная характеристика образцов клапанов

№ образца	Пол пациента	Возраст	Тип клапана
12	М	68	Трехстворчатый АК
14	М	69	"
9	М	71	Двухстворчатый АК
18	М	41	"
3	Ж	81	МК
16	Ж	60	"

вых организмов, придавая им необходимую гибкость, при сохранении устойчивости по отношению к внешним воздействиям. По этой же причине развитие методов диагностики Н-связей, в частности методами ИК-спектроскопии, представляется актуальной задачей современной биофизики.

В настоящей работе воспользуемся исследованием ИК-спектров сосудистых тканей, пораженных стенозом, с целью количественного контроля Н-связей, вовлеченных в формирование минерализованных образований в аортальных полулуниях и стенках крупных артерий, и выяснения механизма их перерождения на молекулярном уровне. Эти спектры приведены в работе [3]. Недостатком предыдущих исследований (см., например, работу [3]) было отсутствие глубокого анализа области поглощения колебаниями гидроксильных групп, восполнению которого посвящено данное сообщение. Детальный анализ ИК-спектров в области поглощения ОН-группами позволит нам идентифицировать типы Н-связей, вовлеченных в формирование минерализованных осадков на стенках сосудов, и оценить их энергию. Последняя характеристика, как можно ожидать, окажется полезной при разработке стратегии подавления этих процессов.

Обратимся к опубликованным результатам исследования по ИК-спектроскопии минерализации тканей человека, вызванной стенозом митрального клапана (МК) и клапана аорты (АК, трехстворчатый и двухстворчатый) у пациентов, разнородных по полу и возрасту [3]. Краткие характеристики исследованных образцов в работе [3] представлены в таблице.

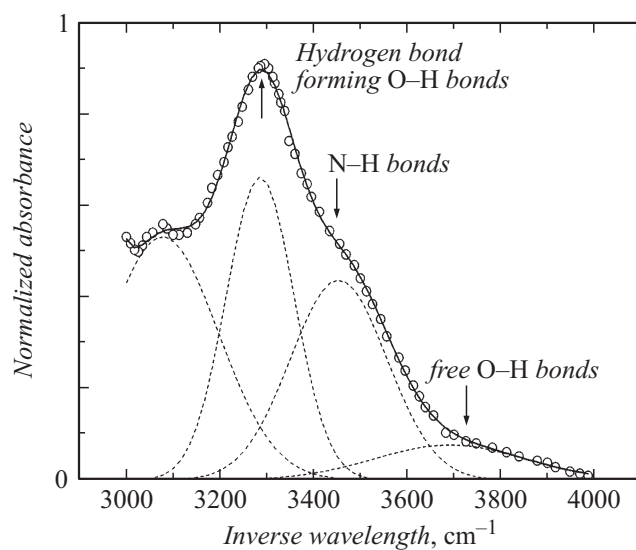


Рис. 1. Фрагмент спектра ИК-поглощения образца сосуда с наличием минеральных депозитов в стенке.

Нас будет интересовать область спектра в частотном интервале, характерном для поглощения колебаниями вовлекаемых в образование Н-связей OH^- и NH_x -групп. На рис. 1 представлен заимствованный из работы [3] типичный в этом частотном диапазоне фрагмент спектра ИК-поглощения образца сосуда с наличием в строме минеральных депозитов. Анализ ИК-спектра на рис. 1 дает нам количественную оценку соотношений вкладов в формирование Н-связей гидроксильных OH^- и нитридных NH_x -групп, а также возможность оценить их энергию. С этой целью независимо от авторов работы [3] проведем собственный анализ экспериментального спектра, пользуясь алгоритмом наилучшей нелинейной подгонки гауссовыми контурами методом наименьших квадратов [4]. Результат этой процедуры представлен на рис. 1 пунктирными кривыми гауссовых контуров и сплошной кривой их огибающей. Видно, что для успешной подгонки достаточно четырех контуров. При этом среднеквадратичное отклонение составляет величину не более 0.01%. На этой стадии возникают некоторые проблемы идентификации приро-

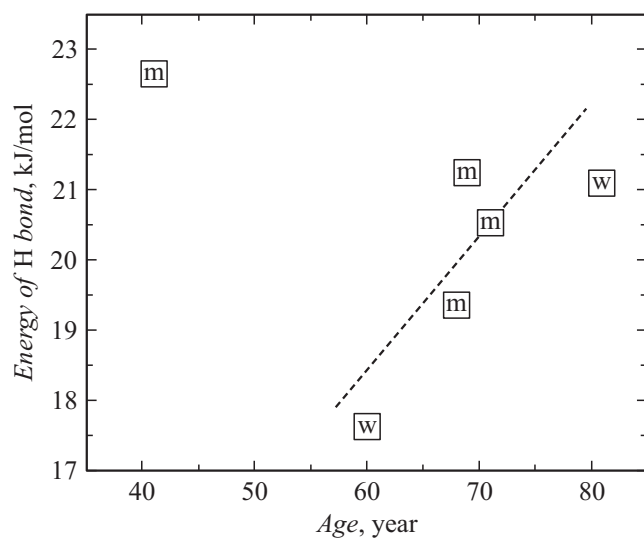


Рис. 2. Результаты расчета энергии Н-связи в исследованных образцах пациентов в функции их возраста и пола.

ды полученных контуров деконволюции спектра. Если мало сомнений, что контур с максимумом при 3077 cm^{-1} относится к метиленовым группам, не участвующим в формировании Н-связей, а контур при 3690 cm^{-1} — к гидроксильным группам, не охваченным Н-связью, то идентификация контуров при 3286 и 3454 cm^{-1} , как нам представляется, должна быть противоположна той, которая предложена в работе [3]. Мы имеем в виду, что контур при 3286 cm^{-1} с большей поглощательной способностью, скорее всего, относится к гидроксильным группам, охваченным Н-связью, а контур с меньшей поглощательной способностью при 3454 cm^{-1} — к нитридным группам, охваченным более слабой Н-связью. Это соотношение интенсивностей соответствует тому, что сила Н-связей, формируемых гидроксильными группами, сильнее их аналогов в нитридных группах [5] и проявляется в существенном увеличении интенсивности полос поглощения. Сдвиг максимума контура при 3286 cm^{-1} относительно контура при 3690 cm^{-1} определяется величиной водородной связи, формируемой данной гидроксильной группой.

Теперь, пользуясь корреляционным соотношением, полученным нами ранее в работе [6] между величинами этого сдвига частот $\Delta\nu$ и энергии Н-связи ϵ_{HB} , имеем оценку последней по формуле

$$\epsilon_{HB}(\text{kJ/mol}) = 5 - 0.1\Delta\nu + 8 \cdot 10^{-5}(\Delta\nu)^2. \quad (1)$$

Результаты расчета энергии Н-связи в исследованных образцах пациентов по формуле (1) в функции их возраста, с указанием их пола представлены на рис. 2.

Из рисунка видно, что фактор пола больных не имеет существенного влияния на ход зависимости энергии связи от возраста (рис. 2). Это находится в хорошем согласии с аналогичным утверждением, высказанным в работе [5]. Из рис. 2 также следует, что энергия связи минерализованных образований с тканью клапана, с одной стороны, проявляет тенденцию к увеличению при возрасте более 55 лет, а с другой — выявляет выраженность патологии в молодом возрасте, о чем свидетельствует точка для возраста 40 лет, для которой реализуется наибольшая энергия водородной связи. Эта особенность состоит в том, что в молодом возрасте стенозные поражения более необратимы по сравнению с пожилым возрастом и требуют радикальных подходов при их компенсации уже в молодые годы. Таким образом, по сравнению с работой [3], с использованием предложенной нами оригинальной методики оценки энергии водородной связи между минеральными отложениями и коллагеном оказалось возможным: а) определить энергию водородной связи минеральных отложений и коллагена для пациентов разного пола и возраста; б) установить корреляцию между энергией водородной связи и возрастом пациента.

Более того, установлено, что с увеличением возраста выявлена тенденция к нарастанию энергии связи минерализованных образований с тканью клапанов сердца, что диктует необходимость своевременного начала терапевтических мероприятий на самых ранних стадиях минерализации. Результаты работы показывают, как оценка энергии Н-связей способна расширить диагностические возможности ИК-спектроскопии в медицине. Накопление такого рода информации для более широкого круга пациентов откроет перспективу в разработке методов разрушения минеральных отложений и его применения в клинической терапии кальцинозов (например, с помощью локальной гипертермии).

Список литературы

- [1] Akat K., Borggreffe M., Kaden J.J. // Heart. 2009. V. 95. P. 616–623.
- [2] Mangialardo S., Cottignoli V., Cavarretta E. et al. // Appl. Spectrosc. 2012. V. 66. N 10. P. 1124–1127.
- [3] Dritsa V., Pissaridi K., Koutoulakis E. et al. // In Vivo. 2014. V. 28. P. 91–98.
- [4] Marquardt D.W. // SIAM J. Appl. Math. 1963. V. 11. P. 431–441.
- [5] Wade L.G. Organic Chemistry. New Jersey: Prentice Hall, 2003. Ch. 9.
- [6] Иванов-Омский В.И. // Письма в ЖТФ. 2014. Т. 40. В. 16. С. 28–35.