

излучением красного вида излучения с длиной волны 620 – 760 нм, и инфракрасного вида излучения с длиной волны 920 – 960 нм.

Данную схему воздействия магнитофототерапии проводят непосредственно после препарирования витальных зубов под зубные протезы (металлокерамические, цельнолитые, безметалловые конструкции), а также на 7-е сутки после припасовки будущей ортопедической конструкции и на 14-е сутки (после фиксации зубного протеза).

**Заключение.** Использование разработанного нового способа нормализации микроциркуляции в тканях периодонта с применением магнитофототерапии позволило получить 93,5% хороших отдаленных результатов лечения стоматологических пациентов.

#### *Литература*

1. Рубникович С.П., Фомин Н.А. Лазерно-оптические методы диагностики и терапии в стоматологии. Минск, 2010.-361с.
2. Улащик В.С., Плетнев А.С. Магнитофототерапия: применение аппарата «ФотоСПОК». – метод. пособие / В.С. Улащик, А.С. Плетнев // ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси». – Минск. – 2009. – 32 с.
3. Физиотерапия в периодонтологии: принципы, показания и противопоказания: учеб-метод. пособие / Л.Н. Дедова [и др.]. – Минск: БГМУ, 2007. – 36 с.

### **ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ ПАНКРЕАТИЧЕСКОЙ ФОСФОЛИПАЗЫ А2 С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИЙ РАЗНОСТНОЙ СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ**

***Н.М. Литвинко<sup>1</sup>, Л.А. Скоростецкая<sup>1</sup>, М.М. Тимохова<sup>1</sup>, Т.Г. Гудко<sup>1</sup>,  
В.С. Камышников<sup>2</sup>, Т.М. Юрага<sup>2</sup>***

<sup>1</sup>*Институт биоорганической химии НАН Беларуси. ул. Купревича, 5/2. 220141. Минск Беларусь, e-mail: al\_h@mail.ru*

<sup>2</sup>*Белорусская медицинская академия последипломного образования, ул. П.Бровки, 3. БелМАПО, каф. клинической лабораторной диагностики, 220013, Минск, Беларусь; E-mail: kafdiag@mail.ru*

The method of determination of activity of a pancreatic fosfolipaza of A-2 was improved - activity research to photometric definition of transformation of hemoglobin in gemikhry is improved. The way was adapted for the domestic equipment.

Известно, что уровень активности фосфолипазы А<sub>2</sub> (ФЛА<sub>2</sub>, КФ 3.1.1.4) в крови выступает информативным критерием диагностики острого панкреатита (ОП) [1]. Создан оригинальный, простой в воспроизведении спектрофотометрический способ определения активности ФЛА<sub>2</sub>, основанный на реакции превращения гемоглобина (*Hb*) в гемихром под действием жирной кислоты [2,3]. Установлено, что присутствие жирной кислоты в растворе *Hb* приводит к его превращению в гемихром. Различия в содержании двух форм гемоглобина сопровождаются пропорциональным изменением интенсивности разностного спектра. Разностный спектр определяется величинами максимума абсорбции при  $\lambda=423$  нм и минимума - при  $\lambda=405$  нм. Интенсивность поглощения между максимумом и минимумом в разностном спектре ( $D = D_1 + D_2$ ). Исходная методика определения фосфолипазной активности предполагала запись дифференциальных спектров в режиме пропускания (Т75-125%) на регистрирующем спектрофотометре «Specord uv-vis» (Германия) с определением  $\Delta T$  между минимумом и максимумом и переводом единиц пропускания (мм) в единицы поглощения  $\Delta D$  (о.е.) по формуле  $\Delta D = 2 - \lg(100 - T/3)$ . Цель данного исследования заключалась в адаптации процедуры проведения анализа уровня активности ФЛА<sub>2</sub> при экспериментальном ОП на крысах применительно к однолучевому спектрофотометру отечественного производства «Solar» PV 1251 С РБ.

Согласно выработанной методологии, в кювету спектрофотометра Specord uv-vis, содержащую мицеллярную форму субстрата, соль кальция и гемоглобин, добавляется коммерческий препарат фосфолипазы (для построения калибровочной зависимости от уровня фермента), жирной кислоты (для калибровочной кривой для определения его активности), либо сыворотка крови. В процессе гидролиза экзогенно добавленного фосфолипида под действием сывороточной ФЛА<sub>2</sub> высвобождается жирная кислота, образующая комплекс с *Hb*, в результате чего он превращается в гемихром. Переход высокоспинового *Hb* в низкоспиновый гемихром сопровождается спектральными изменениями и возникновением разностного спектра. При этом в разных пробах наблюдается пропорциональный рост  $\Delta D$  ( $D_{403-423} = D_{1(403)} + D_{2(423)}$ ) в зависимости от времени реакции, что позволяет *in vitro* в любой выбранный дискретный отрезок времени определять активность фермента в единицах поглощения (статический режим) или следить за ходом реакции в одной пробе в течение относительно большого промежутка времени, фиксируя показания через определенный интервал (кинетический режим).

Регистрация развивающихся дифференциальных спектров позволяет фиксировать их возрастающую во времени интенсивность (амплитуду). Каждый спектр характеризуется максимумом, минимумом и расстоянием между ними, называемом в дальнейшем  $\Delta T$ . Единицы пропускания  $\Delta T$  переводятся в единицы поглощения  $\Delta D$  по формуле  $\Delta D = 2 - \lg(100 - T/3)$ . Откладывая по оси абсцисс время взаимодействия гемоглобина с фосфолипазой А<sub>2</sub>, а по оси ординат значение  $\Delta D$ , получаем кинетическую кривую, отражающую начальную скорость реакции, т. е. накопление продукта за единицу времени ( $V_0 = \Delta P / \Delta t$ ), или тангенс кинетической кривой. Повышение концентрации фермента в реакционной смеси приводит к возрастанию угла наклона кинетической кривой (тангенса), т. е. скорости реакции [4,5].

В модельном эксперименте при добавлении к гемоглобину поочередно субстрата ФЛА<sub>2</sub> (фосфатидилхолина, ФХ) и продуктов его ферментативной деградации (жирных кислот, ЖК или лизофосфатидилхолина, ЛФХ) показано, что регистрируемые изменения отличаются как по интенсивности, так и по положению экстремумов поглощения. Наиболее сильное воздействие оказывает олеиновая кислота, вызывая 3-4-кратное увеличение амплитуды спектров по сравнению с ФХ и ЛФХ и сдвигая экстремумы полосы Сор в область более коротких длин волн. Добавление липидных эффекторов к гемоглобину практически не сказывается на поглощении *Hb* в области максимума поглощения 406 нм (рисунок 1).

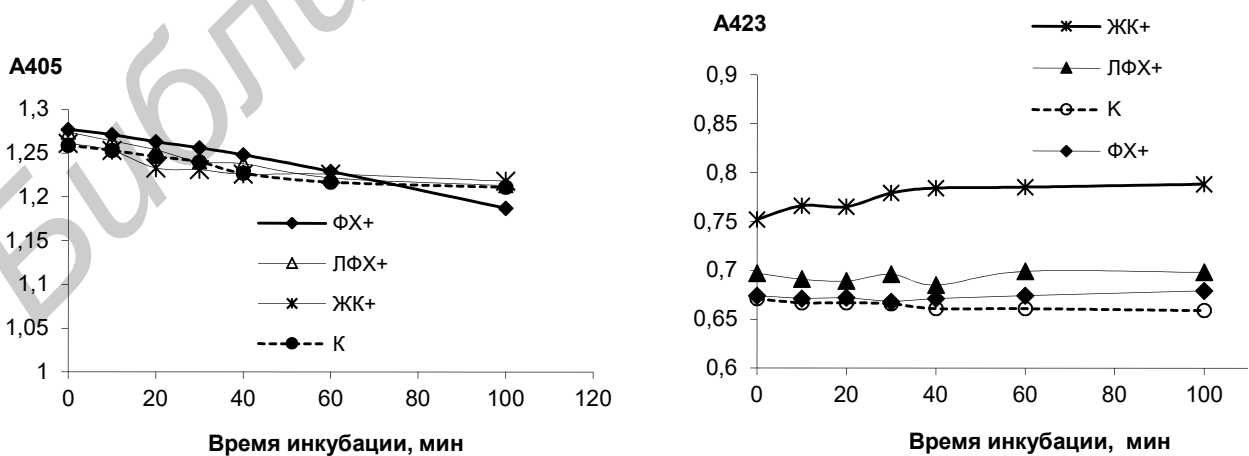


Рисунок 1 – Изменение интенсивности поглощения гемоглобина в области минимума (405) и максимума (423 нм) дифференциального спектра под влиянием ФХ и продуктов его ферментативного гидролиза

В ходе исследования с использованием сывороток больного панкреатитом и здорового донора было установлено, что измерение поглощения только при одной длине волны – 423 нм – дает вполне адекватную оценку роста концентрации жирной кислоты. Это позволяет перейти от использования импортного спектрофотометра «*Specord uv-vis*» к однолучевому отечественному спектрофотометру «*Solar*» PV 1251 C - традиционному прибору клинических диагностических лабораторий.

Таким образом, процедура измерения упростилась и свелась к определению поглощения опытной кюветы против контрольной при фиксированной длине волны.

#### *Литература*

1. Nevalainen, N.J. The role of phospholipase A<sub>2</sub> in human pancreatitis/ N.J. Nevalainen// *Klin Wochenschr.*-1989.-Vol.67.-P.180-182

2. Способ определения активности фосфолипазы A<sub>2</sub> в сыворотке крови: пат. 12552 Респ. Беларусь/ Н.М Литвинко, Л.А.Скоростецкая, С.В.Кучуро, Г.Н.Рахуба. Зарегистрировано 2009.08.06.

3. Способ диагностики панкреатита по уровню A<sub>2</sub> фосфолипазной активности сыворотки крови: пат. 13143 Респ. Беларусь / Н.М Литвинко, Л.А.Скоростецкая Приоритет от 02.10.2007. Зарегистрировано 2010.02.04.

4. Литвинко, Н.М. Разработка отечественных тест-систем нового поколения для фотометрического определения активности панкреатической фосфолипазы A<sub>2</sub> в крови Н.М. Литвинко, В.С.Камышников, Л.А.Скоростецкая, Д.О. Герловский // *ARS medica*. 2011. - №13(49) – С. 66-75.

5. Литвинко, Н.М. Апробация новой тест-системы в модельных экспериментах на клиническом материале / Н.М. Литвинко, В.С.Камышников, Л.А.Скоростецкая, Д.О. Герловский, Г.Н. Антончик, Т.Г. Гудко // *Лабораторная диагностика. Восточная Европа.* - 2014, №4.- С.49 – 57.

### **ОЦЕНКА РЕАКЦИЙ ОРГАНИЗМА НА ВОЗДЕЙСТВИЕ СВЕРХСЛАБЫМИ ФАКТОРАМИ МЕТОДАМИ ГАЗОРАЗРЯДНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ И ПУЛЬСОВОЙ ДИАГНОСТИКИ**

*П.Д. Клименко, Н.А. Срибная, В.Н. Миняйло*

*Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники, г.Минск. Беларусь  
ЧУП «Аквамед», г.Минск, Беларусь*

Все сверхслабые факторы, действующие на земные биологические системы, включая человека, имеют или физическое или химическое происхождение и людям все эти факторы на самом деле очень хорошо знакомы. До тех пор пока интенсивность (мощность) действующих физических полей или дозы ионизирующего излучения, или концентрации химических веществ являются хорошо измеряемыми, соответствующие науки весьма продуктивно занимаются исследованиями их взаимодействия с биологическими системами. Как правило, для всех этих факторов в широких пределах изменения их величин выполняется линейная зависимость между концентрацией – для химических веществ, дозой – для излучений и интегральной мощностью – для полей, и результатом воздействия. Этот факт вполне созвучен общей концепции линейности, длительное время (а в значительной мере – и сейчас) господствовавшей в естественных науках, и всегда представлял собой надежную научную основу для установления норм безопасных концентраций (мощностей, доз и т.д.) – норм ПДК. В концепции линейности очевидно, что действие химического (физического) агента ослабевает при уменьшении его количества и, начиная с определенных количеств, это действие уже можно не принимать во внимание – агент больше не действует на биообъект. Где-то вблизи этой границы устанавливается норма ПДК, и вопрос о вредности данного фактора считается закрытым.