

УДК 532: 535.33/34

ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ СПИННОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ

¹В.А. Семибратова, ¹Ю.М. Титов, ²В.А. Сороковиков

THE CHEMILUMINESCENCE OF CEREBROSPINAL FLUID

¹V.A. Semibratova, ¹Yu.M. Titov, ²V.A. Sorokovikov

Работа содержит результаты исследований окислительной хемилюминесценции спинномозговой жидкости человека с целью изучения изменений состава при нейрохирургических заболеваниях. В результате исследований наблюдались заметные изменения спектров хемилюминесценции в зависимости от вида и тяжести заболевания.

The work contains the results of oxidizing chemiluminescent researches of human cerebrospinal fluid. The purpose was studying structure changes during the neurosurgical diseases. As a result of researches appreciable changes of chemiluminescent spectra depending on a kind of diseases were observed.

Спинномозговая жидкость – среда, циркулирующая в пространстве спинного и головного мозга. Все биологические и физиологические изменения, возникающие в организме и изменяющие работу нервного барьера, в той или иной степени отражаются на составе спинномозговой жидкости. Экспериментальные данные показывают, что из-за более выраженной защитной и регуляторной функции барьера между кровью и мозговой тканью спинномозговая жидкость лучше отражает биохимические изменения в мозге, чем кровь. Спинномозговая жидкость наиболее полно характеризует функциональную активность различных медиаторных систем головного и спинного мозга. При неврологических заболеваниях нарушается нормальная циркуляция спинномозговой жидкости, что ведет к качественным ее изменениям.

Химические, биохимические и микроскопические методы легли в основу классического исследования спинномозговой жидкости. Вместе с тем в изучении спинномозговой жидкости имеются определенные пробелы. Это касается использования физических методов анализа. В связи с этим ранее проводились спектральные исследования ликвора различными методами, целью которых являлось выяснение изменений биохимического состава в норме и патологии [1, 2]. В дополнение к УФ-спектроскопии проведено поисковое исследование перекисной хемилюминесценции спинномозговой жидкости в сопоставлении с клиническими проявлениями неврологических заболеваний. Изучалось влияние перекисного окисления на кинетику хемилюминесценции и вид спектров поглощения спинномозговой жидкости. Полученные спектры подвергались компьютерному математическому анализу.

Методика эксперимента

Регистрация хемилюминесценции спинномозговой жидкости проводилась на хемилюминометре С1-3606М, управляемом компьютером, в режиме счета фотонов в спектральном диапазоне 400–850 нм (ФЭУ-79). Для трансформации свечения из УФ-области спектра применялось введение флуоресцеина. Окислительная хемилюминесцентная реакция

активизировалась 6 % раствором перекиси водорода в присутствии катализатора при температуре 30 ± 0.1 °С. Концентрация перекиси водорода контролировалась по люминольной хемилюминесцентной реакции. Для получения стабильных результатов за длительный период времени чувствительность хемилюминометра контролировалась эталонным источником света на основе изотопа ^{14}C .

На рис. 1 представлены общий вид кинетики хемилюминесценции спинномозговой жидкости. Резкий рост интенсивности свечения обусловлен добавлением в этот момент перекиси водорода. В дальнейшем наблюдается спад по экспоненциальному закону и затухание хемилюминесценции, которое можно разделить на несколько компонент. Первая компонента представляет быстрое затухание с длительностью до 15 мин, остальные – медленное затухание с общей длительностью до нескольких десятков минут.

При логарифмировании по интенсивности (вертикальная ось) экспоненциальная зависимость видна как наклонная прямая линия. Угол наклона характеризует скорость затухания свечения, а значит, и интенсивность окислительной химической реакции. Для определения общего потока фотонов хемилюминесценции спинномозговой жидкости необходимо выбрать пределы интегрирования по времени.

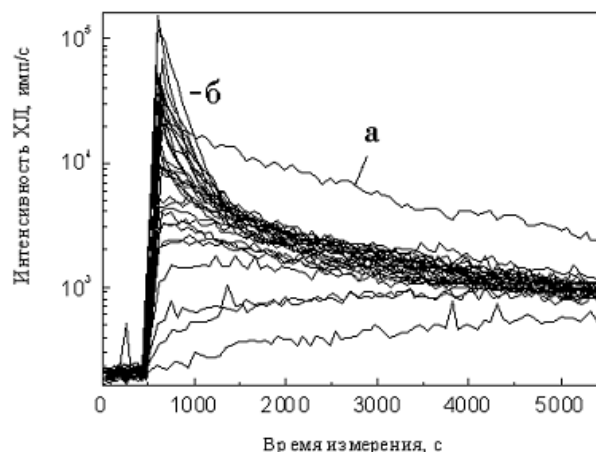


Рис. 1. Кинетика хемилюминесценции спинномозговой жидкости: затухание медленной компоненты (а) и суперпозиции быстрой и медленной компонент (б).

В случае исследования только быстрой компоненты хемилюминесценции время интегрирования необходимо выбрать в пределах от 15 до 20 мин после добавления перекиси водорода. В случае, если важна только медленная компонента хемилюминесценции, то может быть достаточным определение интенсивности свечения после того, как быстрая компонента высветилась, т. е. примерно через 25 минут, либо интегрировать, начиная с 25–30 мин после добавления перекиси до 90 или 180 мин.

В дополнение к хемилюминесценции проведено исследование УФ-спектров поглощения спинномозговой жидкости для определения составляющих, подверженных быстрой и медленной компонентам затухания. Для решения этой проблемы запись спектров проведена на прецизионном спектрально-вычислительном комплексе с программным обеспечением, позволяющим анализировать полосы поглощения. Технические возможности комплекса позволяют записать спектр поглощения с точностью не менее 0.01 %. В образцы спинномозговой жидкости добавлялся водный раствор CoCl_3 (10–2 моль/л) для активации хемилюминесценции и 6 %-й раствор перекиси водорода H_2O_2 . Регистрация спектров поглощения проводилась через 5, 20, 35, 50, 65 и 90 мин после добавления H_2O_2 . На рис. 2. представлен характерный спектр поглощения спинномозговой жидкости после добавления перекиси водорода.

Результаты

В результате исследований наблюдались заметные изменения окислительной хемилюминесценции спинномозговой жидкости в зависимости от вида и тяжести заболевания. При воспалительных процессах содержание белков в спинномозговой жидкости повышается. В зависимости от этого возрастает интенсивность хемилюминесценции. Кинетика хемилюминесценции позволяет выделить несколько компонент затухания: первая компонента представляет быстрое затухание с длительностью до 15 мин, остальные – медленное затухание с общей длительностью до 90 мин. Для определения составляющих спинномозговой жидкости, подверженных быстрой и медленной компонен-

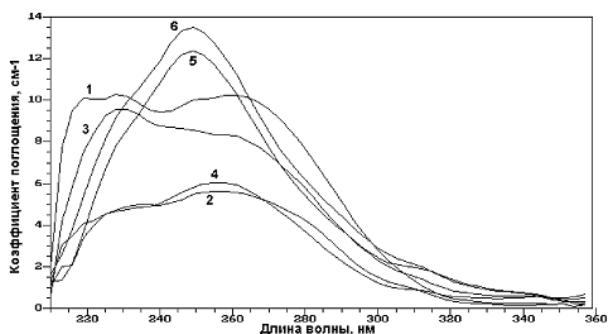


Рис. 2. Спектры поглощения ликвора после добавления H_2O_2 : через: 1–5 мин, 2–20 мин, 3–35 мин, 4–50 мин, 5–65 мин, 6–90 мин.

там затухания, проведено исследование УФ-спектров поглощения перекисного окисления спинномозговой жидкости. Из полученных результатов (рис. 2) видно, что интенсивность полосы поглощения в области 210–230 нм с течением времени уменьшается. Полоса в области 270–290 нм сдвигается в коротковолновую область 240–260 нм после добавления H_2O_2 через 50 мин. Причем через 65–90 мин интенсивность полосы возрастает. Такое существенное изменение спектра связано с выжиганием белков перекисью и образованием продуктов перекисного окисления. Влияние процессов, проходящих в спинномозговой жидкости при перекисном окислении, на спектры поглощения до конца не понятно и требует дополнительного изучения.

При сопоставлении спектров хемилюминесценции с клиническими проявлениями заболеваний получены следующие результаты. Хемилюминесцентные измерения спинномозговой жидкости у больных с осложненной травмой позвоночно-двигательного сегмента (давность заболевания 1 год и 30 лет с умеренно выраженными неврологическими расстройствами при нормальном количестве белка) отмечалось повышение кинетики затухания хемилюминесценции (20–40 мин), снижение пиковой интенсивности хемилюминесценции и суммарного потока фотонов ($8.0 \cdot 10^3$ фот/с; $1.05 \cdot 10^7$ фот). У больных с выраженными прогрессирующими текущими неврологическими расстройствами (длительность заболевания 5 лет, при низком количестве белка) в спинномозговой жидкости отмечалось увеличение интенсивности хемилюминесценции ($1.5 \cdot 10^5$ фот/с) и суммарного потока фотонов ($3.7 \cdot 10^7$ фот), снижение кинетики затухания хемилюминесценции (3.7 мин). У больных с неосложненной травмой позвоночно-двигательного сегмента (давность заболевания 15 лет, без неврологических расстройств при нормальном количестве белка) параметры хемилюминесценции спинномозговой жидкости находились в пределах: $1.38 \cdot 10^4$ фот/с; 4 мин; $1.25 \cdot 10^7$ фотонов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Семибратова В.А., Титов Ю.М. Спектроскопия спинномозговой жидкости человека // Волновые процессы в проблеме космической погоды: труды VI сессии молодых ученых. Иркутск, 2003. С. 190–191.
2. Грузин П.Г., Потапов В.Э., Семибратова В.А., Сороковиков В.А., Титов Ю.М. Методы анализа слабоструктурированных УФ-спектров поглощения ликвора для нейрохирургических задач // Взаимодействие полей и излучения с веществом: труды VII сессии молодых ученых. Иркутск, 2004. С. 223–225.

¹Иркутский государственный университет, Иркутск

²Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии ВСНЦ СО РАМН, Иркутск