

УДК 543.53

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ НЕЙТРОННО-АКТИВАЦИОННОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ БЛЯШЕК

© 2024 г. Е. А. Данилова^{a*}, Н. С. Осинская^a, Б. И. Курбанов^a,
С. К. Худойназаров^b, С. Х. Хусниддинова^a

^aИнститут ядерной физики АН РУз, Узбекистан, пос. Улугбек, г. Ташкент

^bРеспубликанский патологоанатомический центр МЗ РУз, Узбекистан, Ташкент, ул. Шифокор, д. 11

*e-mail: danilova@inp.uz

Получена 21.02.2024, после доработки 23.04.2024, принята к публикации 24.04.2024

Атеросклероз является одной из важнейших проблем современной медицины, при котором изменяется структура и внутренняя оболочка артерий. Изучение химических элементов непосредственно в тканях сосудов позволяет понять механизмы развития сердечно-сосудистых заболеваний, в частности атеросклероза. Целью настоящего исследования является разработка нейтронно-активационной методики анализа атеросклеротических бляшек, образованных на различных стадиях развития процесса атеросклероза и изучение их состава. По разработанной методике определено содержание 13 элементов в липидных, фиброзных, изъязвленных и кальцинозных бляшках. Установлено, что в процессе прогрессирования атеросклероза происходит изменение содержания ряда эссенциальных элементов, увеличивается содержание кальция, стронция, селена, цинка и железа и уменьшается содержание брома. Высказано предположение о роли железа в прогрессировании атеросклеротического поражения сосудов.

Ключевые слова: нейтронно-активационный анализ, макроэлементы, микроэлементы, атеросклероз.

DOI: 10.31857/S0033831124030085

Атеросклероз является одной из важнейших проблем современной медицины, прежде всего вследствие бесспорного лидерства среди причин смерти. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), ведущую позицию в списке десяти причин смертности по-прежнему занимают сердечно-сосудистые заболевания из них, первое место занимает ишемическая болезнь сердца, второе — цереброваскулярные заболевания, главную роль в патогенезе которых играет атеросклероз [1]. При атеросклерозе изменяется структура и внутренняя оболочка артерий. В очагах поражения происходит накопление липидов, полисахаридов, сгустков крови, происходит разрастание соединительной ткани, откладываются соли кальция. Все эти процессы приводят к сужению просвета сосуда и могут приводить к острым нарушениям кровообращения, таким, как инфаркты и инсульты [2, 3].

В последнее время большое внимание уделяется изучению роли макро- и микроэлементов в развитии различных патологий, в частности, сердечно-сосудистой патологии, так как они входят в состав ферментов, гормонов и белков и определяют функционирование всей сердечно-сосудистой системы [4].

Значение элементного дисбаланса в развитие сердечно-сосудистой патологии неоднозначно. Изучение химических элементов в крови и непосредственно в тканях органов, где протекают основные химические реакции, позволяет понять механизмы развития сердечно-сосудистых заболеваний. Создание базы данных элементного состава биологических тканей является новым перспективным направлением кардиологии.

В настоящее время существует несколько методов исследования состава атеросклеротических бляшек: оптическая и электронная микроскопия с энерго-дисперсионным анализом, рентгенофазовый анализ, магнитно-резонансная томография, компьютерная томография, хроматография и др. Все эти современные методы имеют свои достоинства и недостатки. Использование многоэлементного нейтронно-активационного анализа позволяет определять значительное число элементов в различных биосубстратах с высокой чувствительностью. Важным достоинством метода является простая пробоподготовка, не требующая разложения пробы, отсутствие поправки на холостой опыт, малый расход пробы, высокая селективность и высокая производительность. Пределы обнаружения отдельных элементов достигают 1 нг/г [5]. Активационный анализ широко используется при исследовании

Таблица 1. Сравнение, полученных данных с аттестованными значениями стандартного образца состава IAEA-336, мкг/г

Элемент	Найдено, $n = 5$	Сертифицированное значение	Доверительный интервал
As	0.67 ± 0.08	0.64	0.56–0.72
Br	13 ± 1	12.9	11.2–14.6
Ce	1.2 ± 0.2	1.27	1.09–1.44
Co	0.31 ± 0.03	0.29	0.25–0.33
Cs	0.12 ± 0.02	0.11	0.097–0.123
Fe	440 ± 35	425	380–470
Hg	0.17 ± 0.02	0.20	0.17–0.23
K	1750 ± 160	1840	1640–2040
Mn	59 ± 6	64	57–71
Rb	1.7 ± 0.2	1.72	1.52–1.92
Sb	0.081 ± 0.01	0.073	0.063–0.083
Sc	0.15 ± 0.02	0.17	0.148–0.192
Se	0.24 ± 0.03	0.22	0.18–0.25
Zn	32 ± 3	31.5	28–35

Таблица 2. Сравнение, полученных нами данных с аттестованными значениями NIST Standard Reference Material 1572 – Citrus leaves, мкг/г

Элемент	Найдено, $n = 5$	Сертифицированное значение	Доверительный интервал
As	2.9 ± 0.2	3.1 ± 0.3	2.8–3.4
Ba	24 ± 2	21 ± 3	18–24
Br	7.9 ± 0.9	8.2	
Cl	400 ± 35	414	
Cr	0.76 ± 0.09	0.8 ± 0.2	0.6–1.0
Fe	87 ± 9	90 ± 10	80–100
Mn	21 ± 2	23 ± 2	21–25
Ni	0.68 ± 0.08	0.6 ± 0.3	0.3–0.9
Rb	4.90 ± 0.07	4.84 ± 0.06	4.78–4.90
Na	162 ± 21	160 ± 20	140–180
Sr	110 ± 13	100 ± 2	98–102
Zn	31 ± 3	29 ± 2	27–31

и диагностики различных заболеваний [6, 7] Примером использования нейтронно-активационного анализа при исследовании уникального биообъекта, незначительного по своей массе, может служить изучение микроэлементного состава межпозвонковых дисков при остеохондрозе поясничного отдела позвоночника [8]

Целью настоящего исследования является разработка нейтронно-активационной методики анализа атеросклеротических бляшек, образованных на различных стадиях развития процесса атеросклероза и изучение их состава.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для исследования из Республиканского патологоанатомического центра МЗ РУз было получено 40 аутопсийных образцов атеросклеротических бляшек из сонной, почечной, подвздошной, мезентерической артерий и восходящей аорты от 10 умерших мужчин, больных атеросклерозом, возраст которых был в интервале 60–70 лет. Согласно Хельсинской декларации, от родственников было получено согласие на забор биоматериала сосудов и атеросклеротических бляшек на проведение элементного анализа. С целью оценки изменений микроэлементного

Таблица 3. Ядерно-физические характеристики определяемых элементов

Элемент	Нуклид	Энергия гамма-квантов, кэВ	Период полураспада
Na	^{24}Na	1368.6	15 ч
Ca	$^{47}\text{Ca} \rightarrow ^{47}\text{Sc}$	159.4, 1297.1	3.35 сут, 4.54 сут
Sc	^{46}Sc	889.3, 1120.5	83.8 сут
Cr	^{51}Cr	320.1	27.7 сут
Fe	^{59}Fe	1098.2, 1291.6	44.5 сут
Co	^{60}Co	1173.2, 1332.5	5.27 года
Zn	^{65}Zn	1115.5	244 сут
Se	^{75}Se	264.6, 279.5	120 сут
Br	^{82}Br	554.3, 776.5	1.47 ч
Rb	^{86}Rb	1076.6	18.7 сут
Sr	^{85}Sr	514.0	64.8 сут
Sb	^{124}Sb	602.7, 1691.0	60.2 сут
Hg	^{203}Hg	279.2	46.6 сут

состава атеросклеротических бляшек весь биоматериал был разделен на 4 группы по стадиям развития процесса атеросклероза, по 10 образцов в каждой. Первую группу представляли липидные бляшки, вторую — фиброзные, третью — изъязвленные и четвертую — кальциноз.

По мере прогрессирования атеросклероза строение бляшек изменяется, в них нарастает содержание коллагена, эластина и они перерождаются вначале в фиброзную бляшку, затем — в изъязвленную, и впоследствии образуется кальциноз.

Полученный аутопсийный биоматериал делили на группы и тщательно отмывали от крови дистиллированной водой, затем сушили в сушильном шкафу при температуре не выше 60°C. Высушенные образцы биоматериала с различной стадией развития атеросклеротических бляшек взвешивали на аналитических весах и упаковывали в чистые маркированные полиэтиленовые пакеты для дальнейшего облучения на реакторе ВВР-СМ ИЯФ АН РУз.

Подготовленные образцы биоматериала, образцы сравнения и стандартные образцы состава заворачивали в алюминиевую фольгу, затем помещали в алюминиевый пенал и герметично заклеивали эпоксидной смолой, после чего облучали в «мокром» канале реактора потоком нейтронов $n \times 10^{13} \text{ с}^{-1} \cdot \text{см}^{-2}$ в течение 24 ч. Гамма-спектры наведенной активности образцов измеряли дважды. Для обнаружения среднеживущих радионуклидов с периодом полураспада от 1 до 10 сут время охлаждения составляло 10 сут, измерения — 200–300 с. Для идентификации долгоживущих нуклидов с периодом полураспада более 10 сут те же пробы выдерживали в течение 20 сут, после чего измеряли γ -спектр каждого образца в течение 600–800 с.

Наведенную активность облученных образцов регистрировали с использованием детектора из

германия высокой чистоты объемом 120 см³ с энергетическим разрешением 1.8 кэВ по гамма-линии ^{60}Co (1333 кэВ) и гамма-спектрометра высокого разрешения DSA-1000 (фирмы Canberra Industries Inc., США) с программным обеспечением по управлению спектрометром и обработке γ -спектров Genie-2000 (США). Энергетическую калибровку гамма-спектрометра осуществляли с использованием стандартных источников излучения ^{60}Co и ^{152}Eu по линиям 1173.2, 1332.5 кэВ кобальта-60 и 121.8, 344.3 и 1408.0 кэВ европия-152 из комплекта ОСГИ. Поскольку для расчета содержания определяемых элементов инструментальным нейтронно-активационным методом использовали относительный метод, калибровка по эффективности не представлялась необходимой.

Критерием правильности полученных результатов и надежности аналитической методики является анализ стандартных образцов состава. В качестве стандартных образцов состава для проверки правильности разработанной методики были выбраны следующие образцы: IAEA-336 Lichen (МАГАТЭ) и SRFM 1572 — Citrus leaves (NIST, США) [9].

В табл. 1, 2 приведены результаты анализа стандартных образцов состава.

Как видно из табл. 1 и 2, максимальная погрешность активационного метода не превышала 10–12%.

Исследованиями установлено 13 химических элементов в исследуемых объектах. В табл. 3 представлены ядерно-физические характеристики определяемых элементов.

Статистическую обработку данных выполняли с помощью пакета программ Microsoft Excel 2010.

Таблица 4. Среднее содержание элементов в атеросклеротических бляшках по стадиям развития заболевания, мкг/г

Элемент	Предел обнаружения	Эндотелий, липидное пятно ($n = 10$)	Фиброзная бляшка ($n = 10$)	Изывленная бляшка ($n = 10$)	Кальциноз ($n = 10$)
Br	0.1	46 ± 2	48 ± 2	23 ± 1	35 ± 2
Ca, %	0.01	1.4 ± 0.6	5.8 ± 0.3	10.8 ± 0.8	7.0 ± 0.4
Co	0.01	0.13 ± 0.01	0.13 ± 0.09	0.046 ± 0.003	0.087 ± 0.005
Cr	0.1	0.18 ± 0.07	0.12 ± 0.08	<0.1	0.40 ± 0.03
Fe	5.0	42 ± 4	27 ± 2	110 ± 9	140 ± 8
Hg	0.01	0.032 ± 0.002	0.0062 ± 0.0005	0.024 ± 0.001	0.021 ± 0.001
Na, %	0.005	0.23 ± 0.01	0.22 ± 0.02	0.42 ± 0.02	0.22 ± 0.01
Rb	0.01	0.84 ± 0.06	0.33 ± 0.02	0.80 ± 0.06	1.0 ± 0.06
Sb	0.005	0.018 ± 0.008	0.010 ± 0.007	0.0079 ± 0.0006	0.017 ± 0.008
Sc	0.001	0.0014 ± 0.0008	0.0012 ± 0.0008	<0.001	0.0046 ± 0.0006
Se	0.1	0.49 ± 0.04	0.61 ± 0.04	0.64 ± 0.04	0.65 ± 0.04
Sr	1.0	18 ± 1	46 ± 3	89 ± 7	53 ± 4
Zn	1.0	57 ± 4	77 ± 6	89 ± 6	76 ± 5

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования было проанализировано 40 образцов атеросклеротических бляшек. Полученные результаты представлены в табл. 4.

В табл. 4 представлены средние значения элементов в каждой группе из 10 пациентов. Содержание кальция в первой группе колеблется от 0.99 до 1.9%, хрома — от 0.18 до 0.1 мкг/г, скандия — от 0.001 до 0.0015 мкг/г, сурьмы — от 0.0082 до 0.029 мкг/г. Возможно, такой разброс в содержаниях элементов в первой и других группах связан с неравномерностью распределения элементов в самих бляшках и небольшой выборкой. Несмотря на это, анализ полученных результатов показывает, что с развитием атеросклероза в атеросклеротических бляшках увеличивается содержание кальция, стронция, селена, цинка и железа. Содержание Br повышается в липидных и фиброзных бляшках, а при дальнейшем прогрессировании процесса содержание брома в бляшках уменьшается.

По данным работы [7], роль железа в патогенезе атеросклероза связана прежде всего со способностью катализировать образование свободных радикалов кислорода и вызывать окисление липопротеиновых фракций крови.

Полученные результаты нуждаются в большем объеме статистического материала для выяснения механизма образования атеросклеротических бляшек и определения роли дефицита, избытка или дисбаланса элементов в развитии атеросклероза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработана нейтронно-активационная методика определения содержания элементов в атеросклеротических бляшках. Определено содержание 13 элементов в исследуемых образцах. Установлено, что в процессе прогрессирования атеросклероза происходит изменение содержания ряда эссенциальных элементов, увеличивается содержание кальция, стронция, селена, цинка и железа и уменьшается содержание брома. Необходимы дальнейшие исследования для определения роли дефицита, избытка или дисбаланса микроэлементов в развитии патологического процесса атеросклероза.

ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование выполнено в соответствии с тематикой инновационного проекта «Клинико-биохимические и патогенетические проблемы заболеваний системы кровообращения (атерокальциноз сонных и подвздошных артерий), постковидные неврологические, психиатрические, костно-суставные осложнения, лечение» № ФМ-20230414707.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. ВОЗ публикует статистику о ведущих причинах смертности и инвалидности во всем мире за период 2000–2019 гг. // Глобальный веб-сайт ВОЗ. URL: <https://www.who.int/ru/news/item/09-12-2020-who-reveals-leading-causes-of-death-and-disability-worldwide-2000-2019>
2. *Струков А.И., Серов В.В.* Патологическая анатомия: учебник / Под ред. В.С. Паукова. — М.: ГЭОТАР-Медия, 2015. 6-е изд. 880 с.
3. *Латфуллин И.А.* Атеросклероз (краткие сведения истории развития, причины, патогенез заболевания, факторы риска, принципы профилактики). Казань: Изд-во Казан. ун-та, 2015. 144 с.
4. *Полонская Я.В., Кауштанова Е.В.* // Рос. кардиол. журн. 2019. Т. 24. № 5. С. 90–94. <http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2019-5-90-94>
5. *Данилова Е.А., Осинская Н.С., Хусниддинова С.Х., Ахмедов Я.А.* // Микроэлементы в медицине. 2020. № 3. С. 23–33.
6. *Рахманкулова З.Ж., Ходжамова Н.К., Абдукадирова М.К.* // Евраз. вестн. педиатрии. 2019. Т. 3. № 3. С. 230–237
7. *Давронов М.Э.* Диагностика и лечение железодефицитной анемии у подростков допризывного возраста: Автореф. дис. ... к.м.н. Ташкент: Ин-т усовершенствования врачей, 2004. 20 с.
8. *Kochkartaev S., Shatursunov Sh., Abdusattarov Kh., Danilova E., Osinskaya N.* // J. Spine Res. Surg. 2021. Vol. 3. N1. Article 010–016.
9. IAEA AQCS Catalogue for Reference Materials and Intercomparison Run Exercises, (IAEA-336, Lichen), (IAEA-375, Soil). Vienna, Austria, 1998.

Development of a Neutron Activation Analysis Method for Studying the Elemental Composition of Atherosclerotic Plaques

E. A. Danilova^{a*}, N. S. Osinskaya^a, B. I. Kurbanov^a, S. K. Khudoynazarov^b, S. H. Khusniddinova^a

^a Institute of Nuclear Physics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Ulugbek, Tashkent, Uzbekistan

^b Republican Pathological Center, Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan, ul. Shifokor 11, Tashkent, Uzbekistan

*e-mail: danilova@inp.uz

Received February 21, 2024; revised April 23, 2024; accepted April 24, 2024

Atherosclerosis is one of the most important problems of modern medicine. It involves changes in the structure and inner lining of the arteries. Studying chemical elements directly in vascular tissues allows us to understand the mechanisms of development of cardiovascular diseases, in particular, atherosclerosis. The purpose of this study is to develop a neutron activation technique for the analysis of atherosclerotic plaques formed at various stages of the atherosclerosis and to study their composition. The content of 13 elements in lipid, fibrous, ulcerated, and calcific plaques was determined using the developed method. It has been established that, as atherosclerosis progresses, the content of a number of essential elements changes, the content of calcium, strontium, selenium, zinc and iron increases, and the bromine content decreases. Also, it has been suggested that iron plays a role in the progression of atherosclerotic vascular lesions.

Keywords: neutron activation analysis, macroelements, microelements, atherosclerosis