

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012

УДК 616.632.46-008.64-074

А. В. Кондаков¹, А. Г. Кобылянский², В. Г. Тищенко, В. Н. Титов³**ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ТЕСТЫ В КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ;
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДЕФИЦИТА МАГНИЯ В ТЕСТЕ С НАГРУЗКОЙ**¹Институт медико-генетических проблем магния (ООО); ²Институт молекулярной генетики РАН; ФГУ Российский кардиологический научно-производственный комплекс Минздравсоцразвития России, Москва

При анализе значения и роли функциональных тестов в практике клинико-диагностических лабораторий рассматриваются в частности возможности оценки биологической функции гомеостаза по изменению содержания ионов магния или кальция в крови или моче, отражающему дефицит этих ионов in vivo.

Описан магниотолерантный нагрузочный тест, который можно провести как в лечебно-профилактических учреждениях, так и амбулаторно. В обследованной группе пациентов 78% имели физиологические параметры содержания магния, у 17% отмечена гипомagneмиурия и примерно в 5% наблюдений выявлена гипермагнемиурия. У 87% пациентов обнаружен разный по выраженности дефицит магния. У основной доли пациентов с дефицитом магния отмечена нормомagneмиурия. Только в одном случае при нормомagneмиурии не выявлен дефицит магния. У 30% пациентов с дефицитом Mg после нагрузочной дозы количество катиона в суточной моче снизилось в 2,2 раза. При отсутствии дефицита наблюдали монотонность катиона. При дефиците магния характер процесса сохранялся, однако скорость выведения магния из организма после нагрузочной пробы несколько снижалась относительно значений до нагрузки. Воздействие алкоголя при выявленном дефиците магния приводит к увеличению скорости экскреции этого аналита. У больного с сахарным диабетом 2-го типа за полгода до диагностирования этого заболевания был выявлен скрытый дефицит магния. После антидиабетической терапии дефицит магния не обнаруживали.

Полученные результаты позволяют говорить о возможности применения перорального нагрузочного теста с магнием для оценки влияния разного рода факторов – стрессорных, физических, эмоциональных и психологических. Выявление дефицита магния позволяет расширить комплексную терапию, ускорить и улучшить результаты лечения заболеваний. Кроме того, оценка состояния пациента по реакции его организма на пробу с нагрузкой магнием является элементом персонализированной медицины.

Ключевые слова: магний, дефицит магния, пероральный нагрузочный тест

A.V. Kondakov, A.G. Kobylansky, V.G. Tischenkov, V.N. Titov

**THE FUNCTIONAL TESTS IN CLINICAL DIAGNOSTIC LABORATORY: THE DETECTION OF
MAGNESIUM DEFICIENCY IN THE LOADING TEST**

The article deals with the value and role of functional tests in practice of clinical diagnostic laboratories. The possibilities of evaluation of biological function of homeostasis according to the changes of magnesium ions or calcium concentration in urine or blood hence reflecting the deficiency of these ions in vivo.

The magnesium tolerant test is described. It is demonstrated that it can be applied both in curative preventive institutions and ambulatories. In the examined group of patients, 78% had physiologic parameters of magnesium concentration, 17% suffered from hypomagnesiuria and 5% - from hypermagnesiuria. The magnesium deficiency of different degree was detected in 87% of patients. In the most part of patients with magnesium deficiency normomagnesiuria was detected. Only in one case with normomagnesiuria the magnesium deficiency was absent. In 30% of patients with magnesium deficiency the concentration of cation in day urine decreased up to 2.2 times after load dose. In absence of deficiency the monotony of cation's excretion was noted. Under the magnesium deficiency the character of process changed but velocity of excretion of magnesium after load probe slightly decreased relative to values before the load. The impact of alcohol under established magnesium deficiency results in increasing of velocity of excretion of this analyte. In patient with diabetes mellitus type II six months before the diagnosis of this disease the hidden deficiency of magnesium was detected. The magnesium deficiency was not detected after the antidiabetic treatment was applied.

The results permit to postulate the possibility of application oral load test with magnesium to assess the impact of various stress, physical, emotional and psychological factors. The detection of magnesium deficiency permit to broaden the complex treatment, to accelerate and to enhance the results of treatment of diseases. Besides, the evaluation of patient's condition according to the reaction of the organism to the probe with magnesium load is an essential element of personalized medicine.

Key words: magnesium, deficiency, oral load test

Внедрение в практику медицинских учреждений современных визуальных диагностических методов обследования (компьютерная томография, радионуклидная технология, ультразвуковые методы), морфологической диагностики ни в коей мере не снизила значимость оценки функциональной составляющей этого процесса. Каждый функциональный

метод позволяет оценить изменения в паракринных сообщениях клеток, органах и системах органов задолго до того как появятся минимальные морфологические изменения. Этот период порой исчисляется многими месяцами и годами. В первую очередь это касается изменения параметров биологической функции гомеостаза как следствия нарушения иной биологической функции – функции трофологии (питания), биологической реакции внешнего питания – экзотрофии. В последнее столетие именно нарушение биологической функции трофологии, афизиологичный характер питания и дефицит физиологично важных ингредиентов пищи составляет основу патогенеза наиболее распространенных в популяции человека заболеваний.

Биологическая функция гомеостаза призвана обеспе-

Для корреспонденции:

Кобылянский Андрей Георгиевич, канд. биол. наук, ст. науч. сотр.,
руководитель центра клеточных и геномных технологий
Адрес: 123182, Москва, пл. акад. Курчатова, 2
Телефон: (499) 196-56-25
E-mail:imgpmg@yandex.ru

чивать *in vivo* физиологические измерения многих физико-химических и биохимических параметров, которые характеризуют постоянно внутреннюю среду организма. Биологическая функция гомеостаза *in vivo* обеспечивает условия для поддержания постоянства физико-химических параметров цитозоля каждой из клеток при регуляции его на аутокринном уровне, а также стабильность содержания всех ингредиентов в едином пуле межклеточной среды и физиологические колебания физико-химических параметров в локальных пулах этой среды. Локальные пулы включают внутрисосудистый пул межклеточной среды, пул спинномозговой жидкости, пул первичной мочи, амниотический пул и, вероятно, интимальный пул в проксимальном отделе артериального русла – миокарде и артериях эластического типа [9]. Часто нарушения биологической функции гомеостаза происходят в цитозоле клеток, едином пуле межклеточной среды, на уровне паракринных сообществ клеток, в локальных пулах, в то время как мы можем прямо определить концентрацию аналитов только в пуле внутрисосудистой жидкости и опосредованно – в локальном пуле первичной (окончательной) мочи. Иные биологические среды для нас практически недоступны. С позиций физиологической значимости и возможности эффективной коррекции наиболее важным является использование методов оценки нарушения *in vivo* биологических функций гомеостаза и трофологии, биологической реакции экстротрофии.

С целью выявления нарушения единой биологической функции гомеостаза (стабильное содержание всех компонентов в едином и локальных пулах межклеточной среды) наиболее часто используют образцы плазмы крови. Однако параметры этого локального пула не всегда отражают содержание аналитов в клетках и локальных пулах межклеточной среды организма. Это в полной мере относится к определению содержания в биологических средах одно- и двухвалентных катионов натрия, калия, кальция и магния. Напомним, что электролитами принято называть те ионы, концентрация которых в биологических средах является наиболее высокой и которые определяют параметры осмотического давления во всех биологических средах *in vivo*, а именно K^+ и Na^+ , анионы Cl^- с HCO_3^- . Для них градиент концентрации по обе стороны плазматической мембраны клеток составляет 1:10, 1:20. Напомним также, что плазматические мембраны клеток свободно проницаемы только для воды, но не для ионов, переносимых между цитозолем клеток и межклеточной средой специфичными транспортерами, которые требуют затрат энергии в форме АТФ, поэтому регуляция объема клеток, как и поддержание величины рН, требует постоянных затрат энергии и постоянного синтеза митохондриями АТФ.

Определение концентрации в биологических средах *in vivo* катионов магния и кальция в образцах локального пула внутрисосудистой среды, в плазме крови является еще в большей мере некорректным. Это объясняется тем, что содержание этих катионов в плазме крови составляет не более 1% общего содержания их в организме. Однако и при таком распределении катионов биологические функции гомеостаза и эндозекологии (поддержание «чистоты» межклеточной среды многоклеточного организма) постоянно регулируют стабильное, физиологическое содержание катионов: 0,7–1,2 ммоль/л для Mg^{2+} , 1,15–1,3 ммоль/л для ионизированного и 2,2–2,6 ммоль/л для общего Ca^{2+} . Экскреция с мочой (биологическая реакция экскреции) составляет 1,7–8,2 ммоль/сут (40,8–196,8 мг/сут) и 2,5–10,0 ммоль/сут для магния и кальция соответственно [3, 8, 10]. Если регуляцию нижней границы физиологического уровня содержания в плазме крови катионов осуществляет биологическая функция гомеостаза, то стабильность верхней границы нормы регулирует (ограничивает) биологическая функция эндозекологии. Превышение верхнего предела физиологического интервала любым из физико-химических, биохимических веществ, в том числе катионами и анионами, биологическая функция эндозеко-

логии рассматривает как нарушение «чистоты» межклеточной среды, а сам аналит – как биологический «мусор». Избыточное содержание любого из веществ в межклеточной среде подлежит удалению при реализации биологической реакции экскреции, если его молекулярная масса не превышает 70 кД, и утилизации при реализации биологической функции воспаления – фагоцитоза функциональными фагоцитами, если его молекулярная масса превышает 70 кД. Как нарушение биологической функции гомеостаза эндозекология отражает формирование афизиологических взаимоотношений и начало формирования патологического процесса в организме.

Ситуация может быть более простой, когда параметры содержания катионов в плазме крови или моче отражают дефицит *in vivo* ионов магния или кальция. Однако и у таких пациентов для выяснения причин понижения содержания катионов эффективным методом является диагностический тест с нагрузкой. Тест толерантности (проба с нагрузкой) используется в разных областях медицины: в эндокринологии – тест толерантности к глюкозе, в кардиологии – измерение артериального давления до и после физических упражнений, в нефрологии – водный нагрузочный тест и т. д. В случае снижения содержания Mg^{2+} в плазме крови «золотым стандартом» в англоязычной литературе считают тест с внутривенным введением магния в количестве 30 ммоль с последующим определением его экскреции с мочой в течение 24 ч. Цель теста с нагрузкой магнием – определить, какое количество введенного катиона осталось *in vivo* (в организме) и какое количество введенного магния оказалось невостребованным. Считают, что если в организме задержалось более 30% введенного магния, имеются основания говорить о скрытом дефиците магния [11, 14]. В амбулаторных условиях использовать такой тест практически невозможно по причине его сложности и длительности выполнения.

Модификацией «золотого стандарта» – определения дефицита магния в организме – может стать магниетолерантный нагрузочный тест или пероральный нагрузочный тест, который можно провести в клиничко-диагностической лаборатории лечебно-профилактических учреждений. Тест является неинвазивным; пациент принимает *per os* 1/3 суточной дозы Mg, рекомендованной ВОЗ и нормативными документами Минздравсоцразвития России [2]. Провести тест можно в амбулаторных условиях или в стационаре, и это не требует специфического оборудования в клиничко-диагностических лабораториях. Мы излагаем метод проведения теста, а также накопленный опыт выявления скрытого дефицита Mg.

Материалы и методы. В группе пациентов Института медико-генетических проблем магния, у которых определяли содержание магния в условиях нагрузочной пробы, были обнаружены неврологические симптомы: раздражительность, быстрая утомляемость, угнетенное настроение, переходящее в эпизоды кратковременной депрессии, поверхностный и беспокойный сон, нарушение концентрации внимания, снижение памяти, эпизодические головные боли. Эти симптомы можно отнести к синдрому хронической усталости. Частота подобных жалоб в современном обществе настолько высока, что многие не обращаются за медицинской помощью, предпочитая справляться своими силами. Пациенты стали объектом нашего внимания по причине обращения к врачу по поводу соматических жалоб, связанных с нарушениями мочеиспускания, эректильной дисфункцией, болевыми ощущениями. Группа пациентов неврологического профиля включала 16 мужчин и 5 женщин, средний возраст в группе составлял 47,7 года. Кроме того, обследованы пациенты в возрасте 11–12 лет из Научного центра здоровья детей РАМН с проявлениями рестрикционной кардиомиопатии и дисплазии миокарда, гипертрофической кардиомиопатией с синдромом дисплазии и тахикардией, гипертрофической кардиомиопатией без дисплазии миокарда.

Содержание ионизированного Mg^{2+} измеряли в моче пациентов в течение 1 сут до и после нагрузочной пробы. На-

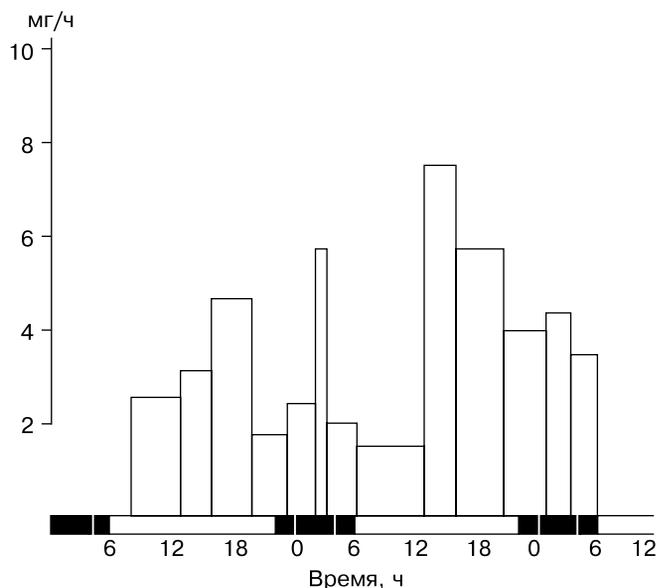


Рис. 1 Кинетика выделения магния в течение 2 сут.
В 10.00 прием 2 таблеток Магне В₆ (90 мг Mg²⁺). Пациент № 8, 62 года. Отсутствие дефицита.

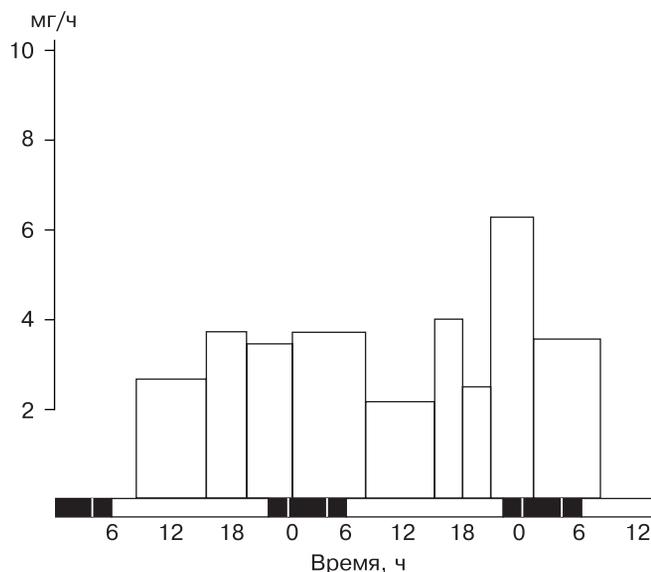


Рис. 2. Кинетика выделения магния в течение 2 сут.
В 8.00 (2-е сутки) прием 2 таблеток Магне В₆ (90 мг Mg²⁺). Пациент № 21, 62 года. Дефицит Mg.

грузочная проба – 2 таблетки препарата Магне В₆ («Sanofi Winthrop Industrie», Франция), что соответствует 96 мг магния. Содержание магния определяли в пробах мочи фотометрическим методом с использованием набора реагентов фирмы «PLIVA-Lachema Diagnostika» (Чехия). Пациенты собирали мочу в течение 2 сут (24 ч до и 24 ч после нагрузочной пробы) и содержали ее при 4°C; конечный объем мочи фиксировали в протоколе. Из общего объема отбирали 0,5–1,0 мл мочи полиэтиленовой пастеровской пипеткой, кончик которой загибали и фиксировали резиновым кольцом. Образцы хранили в морозильной камере при -18–20°C.

При определении скорости экскреции магния пациент в течение суток собирал мочу, при каждом мочеиспускании фиксировал ее объем и время взятия, отбирал пастеровской пипеткой 1,0–1,5 мл и хранил ее в морозильной камере (-20°C) до анализа. Протокол сбора и все образцы доставляли

в лабораторию. Экскрецию с мочой магния до и после нагрузочной пробы оценивали на основании определения его суммарного количества в каждой пробе мочи. Результаты нагрузочной пробы оценивали как гипомагнийурию при выведении катиона в количестве менее 50 мг за 24 ч, как нормомагнийурию – при выведении катиона в количестве 50–200 мг/сут и как гипермагнийурию – при экскреции более 200 мг/сут. Диагноз скрытого дефицита магния ставили, когда после нагрузки в организме оставалось более половины того количества, которое вводили при нагрузке [13]. Отсутствие дефицита магния определяли в тех случаях, если 50% введенного магния организм не усваивал и не задерживал.

Результаты и обсуждение. В обследованной группе пациентов 78% имели физиологичные параметры содержания магния, у 17% отмечена гипомагнийурия и примерно в 5% наблюдений выявлена гипермагнийурия (см. таблицу). По

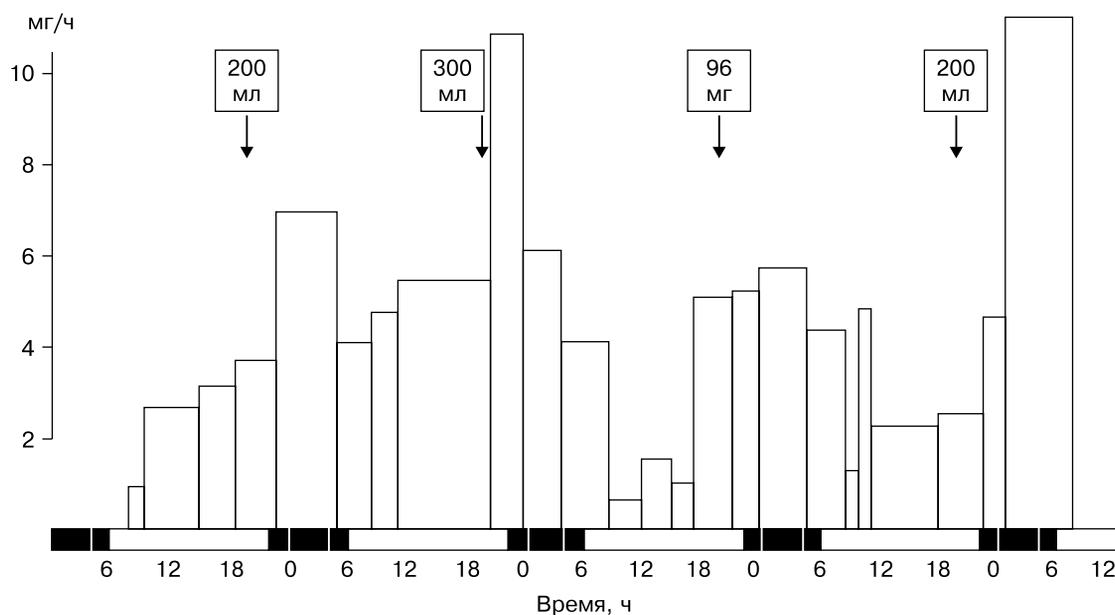


Рис. 3. Кинетика выделения (выведения) магния в течение 4 сут.
Вертикальные стрелки – время приема алкоголя (40%) или Магне В₆ (96 мг Mg²⁺). Пациент К., 62 года. Дефицит магния.

Результаты перорального теста с нагрузкой магнием (доза 96 мг)

Экскреция Mg до нагрузки, мг/сут	Экскреция магния после нагрузки, мг/сут	Экскретируемая часть введенного магния, мг
51,87	83,62	31,85
96,71	90,55	-6,10
130,55	156,39	25,81
35,90	82,81	46,92
24,33	72,91	48,57
91,78	126,79	35,01
123,98	170,52	46,52
51,56	94,36	42,81
33,02	54,80	21,73
102,53	128,21	25,67
163,49	85,64	-77,91
36,33	42,97	6,62
85,13	101,30	16,17
83,94	98,85	14,91
236,40	247,70	11,32
94,04	75,25	-18,81
79,20	97,10	17,93
99,70	51,10	-48,62
161,20	72,30	-88,92
193,53	124,34	-69,21
81,61	82,02	0,43
95,52	112,01	16,52
99,63	86,43	-13,21
76,81	60,21	-16,63

нашим данным, 87% пациентов имели разный по выраженности дефицит магния. У основной доли пациентов с дефицитом магния (девять из десяти) отмечены нормомагниурия и скрытый дефицит Mg. Только в одном случае при нормомагниурии не выявлен дефицит магния. Подобные результаты были получены и ранее [14] при обследовании группы пациентов с диагнозом мигрени. Обращает на себя внимание (см. таблицу) то, что у 30% пациентов с дефицитом Mg после нагрузочной дозы количество катиона в суточной моче снизилось в 2,2 раза, что соответствует выраженному дефициту. Эти данные согласуются с известным фактом уменьшения содержания магния (с $3,68 \pm 1,92$ до приема до $2,98 \pm 1,21$ ммоль/сут после приема) и кальция в суточной моче курсантов, которые имели повышенный уровень физической и эмоциональной нагрузки [2]. Они в течение полугода получали пищу, приготовленную с добавлением солей Mg и Ca [12].

На рис. 1 графически отражена кинетика, скорость выведения магния с мочой в нагрузочной пробе у пациента с отсутствием дефицита Mg. Обращает на себя внимание монотонность экскреции катиона, которая, вероятно, связана с циркадным ритмом секреции паратиреоидного гормона [10], при этом скорость выведения магния возрастает после нагрузочной пробы. При анализе кинетики выведения магния у другого пациента с дефицитом этого элемента (рис. 2) видно, что характер процесса сохраняется, однако скорость выведения магния из организма после нагрузочной пробы не только не возрастает, но даже несколько снижается относительно значений до нагрузки.

Интересные данные получены при оценке скорости выведения магния у пациента в возрасте 62 лет с дефицитом магния на протяжении 4 сут после нагрузки (рис. 3). Во вре-

мя наблюдения пациент принимал вечером 3 раза внутрь разные дозы 40% алкоголя, что привело к достоверному увеличению скорости экскреции магния. Это наблюдение подтверждает, что алкоголь способствует вымыванию Mg из организма [1, 6], и это может быть причиной негативных последствий употребления алкоголя. Еще одним примером выявления скрытого дефицита магния является клинический случай, когда у пациента без выраженных клинических жалоб при нормальном содержании магния в крови выявлен его скрытый дефицит. Спустя полгода при диспансерном обследовании обнаружен сахарный диабет 2-го типа, при котором чаще удается выявить скрытый дефицит магния. Снижением внутриклеточной концентрации Mg объясняют и становление синдрома резистентности к инсулину [5, 7]. После приема гиполипидемических, гипогликемических препаратов (без увеличения приема магния) и соблюдения диеты в условиях достижения нормогликемии ($5,5$ ммоль/л) тест с нагрузкой магнием проведен повторно. При физиологичном содержании Mg в плазме крови скрытый дефицит магния не обнаружен.

Использование теста с нагрузкой магнием позволяет выявлять пациентов с гипомагниурией, нормомагниурией и гипермагниурией. Обследование пациентов с нормомагниурией после такого теста дает возможность выявлять скрытый дефицит катиона. Это требует дальнейшего обследования с целью обнаружения патологических процессов, которые приводят к развитию скрытого дефицита Mg и необходимости его коррекции препаратами магния. Превышение или уменьшение суточного выделения магния можно расценивать как возможное наличие у пациентов и соматических нарушений. Повышенное выделение магния с мочой происходит при острой и хронической почечной недостаточности, эндокринных заболеваниях (гипотиреоз, гипокортицизм), неконтролируемом сахарном диабете (редко), алкоголизме, регулярном приеме антацидных препаратов, содержащих магний. Снижение экскреции возможно при уменьшении реабсорбции магния в канальцах при хроническом гломерулонефрите, нарушении всасывания Mg в кишечнике (синдром мальабсорбции), остром панкреатите, гипопаратиреозе, гиперальдостеронизме, диабетическом кетоацидозе, острой и хронической диарее, синдроме дегидратации и алиментарном дефиците магния в пище.

Заключение. Литературные данные и полученные результаты позволяют говорить о проспективном значении выявления скрытого дефицита магния. Примененный метод сбора образцов мочи можно использовать не только в стационаре, но и в амбулаторных условиях. Ранее нами описаны и более простые приспособления для сбора мочи [4]. Хранение образцов также не вызывает затруднений. Требование к пациентам в течение 4 сут (2 сут до начала нагрузки и 2 сут после нее) соблюдать привычную диету легко выполнимо.

Полученные результаты свидетельствуют о возможности применения перорального нагрузочного теста с магнием для оценки влияния разного рода факторов – стрессорных, физических, эмоциональных и психологических. Выявление дефицита магния позволяет расширить комплексную терапию, ускорить и улучшить результаты лечения заболеваний. Кроме того, оценка состояния пациента по реакции его организма на пробу с нагрузкой магнием является элементом персонализированной медицины.

ЛИТЕРАТУРА

1. Громова О. А. // Тер. арх. – 2004. – № 10. – С. 58–62.
2. Громова О. А., Гоголева И. В. // Трудный пациент. – 2007. – № 1. www.t-patient.ru/.
3. Клиническая биохимия / Под ред. В. А. Ткачука. – 2-е изд. – М., 2006.
4. Кобылянский А. Г., Тищенко В. Г., Кондаков А. В. и др. Набор с картриджом для сбора и транспортировки образцов суточной мочи. – Пат. на полезную модель № 87533 от 25.03.2009.

5. Мухин А. // Рус. мед. журн. – 1997. – Т. 5, № 3. – С. 184–185.
6. Рейнгардене Д. И., Пилвинис В. К., Стасюкинене В. Р. // Тер. арх. – 2004. – № 11. – С. 97–99.
7. Терещенко И. В. // Клини. мед. – 2008. – № 7. – С. 47–51.
8. Титов В. Н. // Клини. лаб. диагн. – 1995. – № 2. – С. 3–7.
9. Титов В. Н. // Успехи соврем. биол. – 2008. – Т. 128, № 5. – С. 435–452.
10. Эндокринология и метаболизм / Под ред. Ф. Фелига и др. – М., 1985.
11. Holm C. N., Jepsen J. M., Sjogaard G., Hesson I. // Hum. Nutr. Clin. Nutr. – 1987. – Vol. 41, N 4. – P. 301–306.
12. <http://www.severyanka.spb.ru/>
13. Mansmann H. C. // Lab. Diagn. Magnesium Deficiency. <http://barttersite.org> 2008, June 8.
14. Trauninger A., Pfund Z., Koszegi T., Czopf J. // Headache. – 2002. – Vol. 42, N 2. – P. 114–119.

Поступила 30.06.11

© И. А. ПЕТРОВА, Л. В. КУЗНЕЦОВА, 2012

УДК 616.153.295-074:543.544.45

И. А. Петрова, Л. В. Кузнецова

ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В СУХОЙ СЫВОРОТКЕ КРОВИ

ФГУН Нижегородской НИИ гигиены и профессиональной патологии Роспотребнадзора

Разработан газохроматографический способ определения состава жирных кислот (ЖК) в сухой сыворотке крови. Проведен сравнительный анализ содержания кислот в свежесобранной и сухой сыворотке. Изучена стабильность состава ЖК в сухой сыворотке при ее хранении в течение 2 мес. Показано, что качественный и количественный состав ЖК в свежей и сухой сыворотке идентичен и остается неизменным в течение 1 мес.

Ключевые слова: жирные кислоты, газохроматографический анализ

I.A. Petrova, L.V. Kuznetsova

THE GAS CHROMATOGRAPHY DETECTION OF FAT ACIDS IN DRY BLOOD SERUM

The article discusses the development of gas chromatography method of detecting the composition of fat acids in dry blood serum. The comparative analysis of con-tent of fat acids in freshly selected and dry serum. The stability of composition of fat acids in dry serum under its conservation during 2 months was examined. It is demonstrated that qualitative and quantitative compound of fat acids in fresh and dry serum is identical and continue to be unchanged during one month.

Key words: fat acid, gas chromatography analysis

При оценке метаболических нарушений и диагностике разных заболеваний, связанных с изменением обменных процессов, в медицинских исследованиях часто применяется газохроматографическое определение качественного и количественного состава жирных кислот (ЖК) в биологических средах человека. В качестве анализируемого материала используют желчь, пот [6], кровь [2, 4], конденсат выдыхаемого воздуха [5], а также биоптаты кожи [3]. Однако в большинстве случаев анализируют сыворотку крови. При проведении массовых исследований не всегда удается выполнить анализ в день отбора пробы, кроме того, часто возникает необходимость в повторении анализа. Поэтому вопрос сохранения образцов сыворотки является актуальным. В настоящее время для этих целей прибегают к замораживанию сыворотки при -20 – -18°C . Однако известен и другой способ хранения сыворотки – в сухом виде. Такой способ был применен для получения ИК-спектров крови при разработке способов ранней диагностики ряда заболеваний [1].

Задача: разработка газохроматографического метода определения состава жирных кислот (ЖК) в сухой сыворотке крови, сравнительный анализ содержания кислот в свежесобранной и сухой сыворотке, оценка стабильности ЖК в

сухой сыворотке. Отобрано и проанализировано 12 образцов крови.

Материалы и методы. Венозную кровь для исследований отбирали в шприц в количестве 10 см^3 утром натощак. К 2 см^3 крови добавляли равный объем антикоагулянта (3% водный раствор цитрата натрия) и отделяли плазму от эритроцитов центрифугированием в течение 5 мин со скоростью 3000 об/мин. Оставшуюся в шприце кровь оставляли на сутки в темноте при комнатной температуре до полного оседания эритроцитов. Затем верхний слой сыворотки в количестве 2 см^3 помещали на чашку Петри и оставляли для высыхания при 18 – 20°C . Высушенную таким образом сыворотку растирали в фарфоровой ступке, помещали в бюксы и хранили в темноте при комнатной температуре.

При проведении сравнительного анализа состава ЖК свежей и сухой сыворотки крови использовали $0,5\text{ см}^3$ плазмы с антикоагулянтом и $0,05\text{ г}$ сухой сыворотки. Дальнейшую пробоподготовку свежей и сухой сыворотки крови проводили в идентичных условиях. Пробу помещали в пробирку и экстрагировали двумя объемами (по 4 см^3) метанол-эфирной смеси (3:1) путем встряхивания в течение 20 мин на перемешивающем устройстве. Экстракты объединяли, помещали в стеклянный пузырек, упаривали досуха в потоке азота на водяной бане при 70°C . К сухому остатку доливали 5 см^3 1% серной кислоты в метаноле, пузырек закрывали пробкой с фторопластовой прокладкой, помещали в металлический патрон с герметично закрывающейся крышкой и термостатировали при 80°C 30 мин. После инкубации пробу охлаждали и извлекали метиловые эфиры ЖК: добавляли по 1 см^3 дистиллированной воды и гексан-эфирной смеси (1:1), интенсивно встряхивали 5 мин, далее для более чет-

Для корреспонденции:

Петрова Ирина Александровна, мл. науч. сотр.
Адрес: 603005, Н. Новгород, ул. Семашко, 20
Телефон: 436-35-93
E-mail: ipz@sandy.ru