

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ И СОЕДИНЕНИЙ ЦИНКА НА ПАРАМЕТРЫ МЕТАБОЛИЗМА ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС МЕТОДОМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

**Е.С. Серёгина, О.А. Стельмащук, Г.А. Пьявченко,
А.Г. Алексеев, Е.В. Воробьёв, Е.А. Кузнецова,
Е.А. Жеребцов, А.В. Дунаев**

Проанализированные результаты исследования говорят о наличии влияния применения янтарной кислоты, сульфата и сукцината цинка на окислительно-восстановительные процессы в структурах коры головного мозга.

Ключевые слова: флуоресцентная спектроскопия *in vivo*, янтарная кислота, сульфат цинка, сукцинат цинка, метаболические процессы в головном мозге, оптическая диагностика нейродегенерации, фармакодинамика соединений цинка.

The analyzed results of the study indicate the presence of the effect of the use of succinic acid, zinc sulphate and succinate on oxidation-reduction processes in the structures of the cerebral cortex.

Keywords: fluorescent spectroscopy *in vivo*, succinic acid, zinc sulfate, zinc succinate, metabolic processes in the brain, optical diagnostics of neurodegeneration, pharmacodynamics of zinc compounds

DOI: 10.18127/j20700997-201805-06

Нейродегенеративные заболевания представляют собой группу медленно прогрессирующих патологических состояний в структурах нервной системы. Эта группа патологических состояний характеризуется постепенной гибелью нервных клеток, приводящей к развитию специфических неврологических симптомов. Изменения метаболизма, вызывающие возникновение нарушений в структурах головного мозга, отмечаются задолго до клинических проявлений.

Разработка методов оценки нарушений метаболических процессов для коры головного мозга представляется актуальной задачей в современной практической медицине. По данным современной литературы, к развитию нейродегенеративных заболеваний центральной нервной системы может приводить увеличение концентрации соединений цинка [1–4]. Имеется информация, что превышение концентрации цинка в организме способно вызвать нарушения функций иммунной системы и спровоцировать дефицит содержания других химических соединений, таких как железо и медь. Избыток соединений цинка в долгосрочной перспективе может при-

© Авторы, 2018
© ООО «Издательство
«Радиотехника», 2018

**Евгения Сергеевна
Серёгина** –
студентка, кафедра
приборостроения, метрологии
и сертификации;
стажер-исследователь,
Научно-технологический центр
биомедицинской фотоники,
Орловский государственный
университет им. И.С. Тургенева
E-mail: e.s.seryogina@gmail.com

**Ольга Андреевна
Стельмащук** –
студентка, кафедра
промышленной химии
и биотехнологии;
стажер-исследователь,
Научно-технологический центр
биомедицинской фотоники,
Орловский государственный
университет им. И.С. Тургенева
E-mail: o.a.stelmashuk@gmail.com

**Геннадий Александрович
Пьявченко** –
ассистент, кафедра гистологии,
цитологии и эмбриологии,
Медицинский институт,
Орловский государственный
университет им. И.С. Тургенева;
зав. лабораторией
функциональных методов
исследования, Центр
доклинических исследований,
ЗАО «Ретиноиды» (Орловская
обл., Орловский р-н,
Станово-Колодезское
сельское поселение)
E-mail:
gennadii.piavchenko@yandex.ru

**Александр Геннадьевич
Алексеев** –
к.м.н., доцент, кафедра
анатомии, оперативной хирургии
и медицины катастроф,
Орловский государственный
университет им. И.С. Тургенева
E-mail: sanderlexx@yandex.ru

**Евгений Витальевич
Воробьев** –

магистр, кафедра промышленной
химии и биотехнологии,
Орловский государственный
университет им. И.С. Тургенева

**Елена Анатольевна
Кузнецова** –

д.т.н., доцент, кафедра
промышленной химии
и биотехнологии, Орловский
государственный университет
им. И.С. Тургенева

E-mail: elkuznetcova@yandex.ru

**Евгений Андреевич
Жеребцов** –

к.т.н., ст. науч. сотрудник,
Научно-технологический центр
биомедицинской фотоники,
Орловский государственный
университет им. И.С. Тургенева;

Aston Institute of Photonic
Technologies, Aston University

E-mail: zherebzow@gmail.com

**Андрей Валерьевич
Дунаев** –

к.т.н., доцент, кафедра
приборостроения, метрологии
и сертификации, директор,
Научно-технологический центр
биомедицинской фотоники,
Орловский государственный
университет им. И.С. Тургенева.

E-mail: dunaev@bmcencenter.ru

вести к возникновению дистрофических процессов в поджелудочной железе, печени и других органах желудочно-кишечного тракта [5].

Помимо вышперечисленного, имеются литературные данные о том, что антиоксидантная терапия янтарной кислотой способна оказывать нейропротекторное действие при развитии нейродегенеративных заболеваний. Янтарная кислота – эндогенный универсальный внутриклеточный метаболит, выполняющий каталитическую функцию в ряде обменных процессов организма; повышает скорость реакций цикла, стимулирует образование АТФ. По данным литературы [6], она обладает антигипоксическим действием вследствие увеличения концентрации ГАМК в тканях головного мозга. Янтарная кислота помогает осуществлять регуляцию клеточного метаболизма в патологических состояниях, сопровождающихся окислительным стрессом. Противоположные данные имеются относительно эффекта от получения животными сукцината цинка. Так, при хронической интоксикации сукцинатом цинка в малых дозах наблюдается угнетение двигательной активности и общего состояния организма, а также гибель животного [7]. Возможность оценки гипоксического и антигипоксического воздействия веществ, поступающих в организм и воздействующих на корковые структуры головного мозга на модели янтарной кислоты и соединений цинка при помощи методов спектроскопии, является актуальной задачей для исследования.

Одним из перспективных направлений для изучения параметров метаболизма в структурах головного мозга *in vivo* на модели лабораторных крыс является запись излучения спектра в видимой области *методом флуоресцентной спектроскопии* [8, 9]. Данный метод основан на возбуждении эндогенных и экзогенных флуорофоров биоткани и регистрации их флуоресценции. Метод флуоресцентной спектроскопии обладает высокой чувствительностью [10] и позволяет проводить оценку интенсивности метаболических процессов, состояния кислородного обмена тканей и распределения флуоресцирующих наночастиц внутри организма [11].

Ц е л ь р а б о т ы – оценка изменения метаболических процессов в корковых структурах головного мозга у крыс *in vivo* в условиях введения в рацион сульфата и сукцината цинка, а также янтарной кислоты.

Материалы и методы

Экспериментальные исследования проводили на клинически здоровых самцах крыс линии Wistar возрастом 5 месяцев ($n = 6$ в группе) [12]. Животных содержали в условиях вивария ЗАО «Ретиноиды» (Орловская обл., Орловский р-н, Станово-Колодезское сельское поселение). Были отобраны животные без признаков отклонений в состоянии здоровья так, чтобы средняя масса тела животных статистически отличалась в группах не более чем на 10%. Каждому животному был присвоен индивидуальный номер. Условия содержания животных, а также все процедуры и манипуляции с ними проводили в соответствии с Санитарными правилами 2.2.1.3218-14. Все процедуры по рутинному уходу за животными выполняли в соответствии с принци-



пами надлежащей лабораторной практики руководствуясь СОПами ЦДИ ЗАО «Ретиноиды».

Для проведения исследования животные получали дистиллированную питьевую воду *ad libitum* в течение 1 мес. (1-я группа); воду, содержащую янтарную кислоту в дозе 25 мг/л (2-я группа); воду, содержащую сульфат цинка в дозе 3 мг/л (3-я группа) и сукцинат цинка в дозе 100 мг/л (4-я группа). Все исследования были одобрены Этическими комитетами ЗАО «Ретиноиды» и Орловского государственного университета им. И.С. Тургенева.

Для измерений *in vivo* использовали систему флуоресцентной спектроскопии с волоконно-оптическим зондом «ЛАКК-М» (ООО «ЛАЗМА», Россия). Система обеспечивает многоволновое возбуждение, детектирует излучение и обрабатывает сигнал флуоресценции. Его источники света включают возбуждение флуоресценции в УФ (длина волны – 365 нм, мощность – 1,5 мВт), синий (длина волны – 450 нм, мощность – 3,5 мВт). Вышеупомянутые мощности возбуждения флуоресценции предусмотрены на кончике волоконно-оптического зонда, который индуцирует поток света возбуждения в ткани не более $0,16 \text{ Вт м}^{-2}$ для 365 нм и $0,37 \text{ Вт м}^{-2}$ для 450 нм. Спектрометр был полихроматором с дифракционной решеткой, а в качестве детектора использовалась линия CCD (TCD1304AP, Toshiba, Токуо, Япон). Внешний вид прибора представлен на рис. 1.



Рис. 1. Внешний вид прибора «ЛАКК-М»

Для проведения наркоза во время эксперимента крысам внутримышечно вводили препарат «Золетил 100» (Vibrac, Франция) в стандартных дозировках. Операционный доступ к головному мозгу крыс осуществляли

путем просверливания окна в костной ткани черепа, предварительно зафиксировав голову животного в стереотаксическом аппарате. Над моторной и зрительной областями коры головного мозга удаляли кожно-аппоневрологический лоскут с частью костной стенки черепа. Во время проведения измерения исследуемые зоны мозга обрабатывали теплым физиологическим раствором. Сигналы с измерительного прибора записывали на поверхности участков коры головного мозга крысы с интервалом 5...10 с. Для каждого полушария регистрировали по 10 спектров в каждой области. Расположение областей головного мозга представлено на рис. 2. Выведение животных из эксперимента проводили в CO_2 -камере.



Рис. 2. Моторная и зрительная области головного мозга крысы

Для обнаружения сигналов флуоресценции было использовано возбуждение при 365 и 450 нм, что соответствует длинам волн возбуждения NADH и FAD. Изменения флуоресценции основных флуорофоров NADH и FAD тесно связаны с кровотоком в большинстве органов, а также с процессами тканевого дыхания в клетках и тканях. Выбор длин волн был основан на том факте, что при воздействии на биологическую ткань УФ-светом (например, 365 нм) эндогенное возбуждение флуоресценции NADH наблюдается в диапазоне 490...510 нм [13]. При возбуждении синим светом (например, 430...450 нм) флуоресценции регистрируются в диапазоне приблизительно 510...520 нм [14].



Результаты и обсуждение

Записанные спектры каждого полушария были усреднены по областям исследования для групп животных. На рис. 3 представлены типовые записи спектра для контрольной группы на

длинах волн 365 и 450 нм. На рисунке также отмечены интенсивность обратного рассеянного излучения (I_{laser}) и максимальная интенсивность флуоресценции (I_f). Затем было построено распределение спектра с использованием статистического анализа, вычисле-

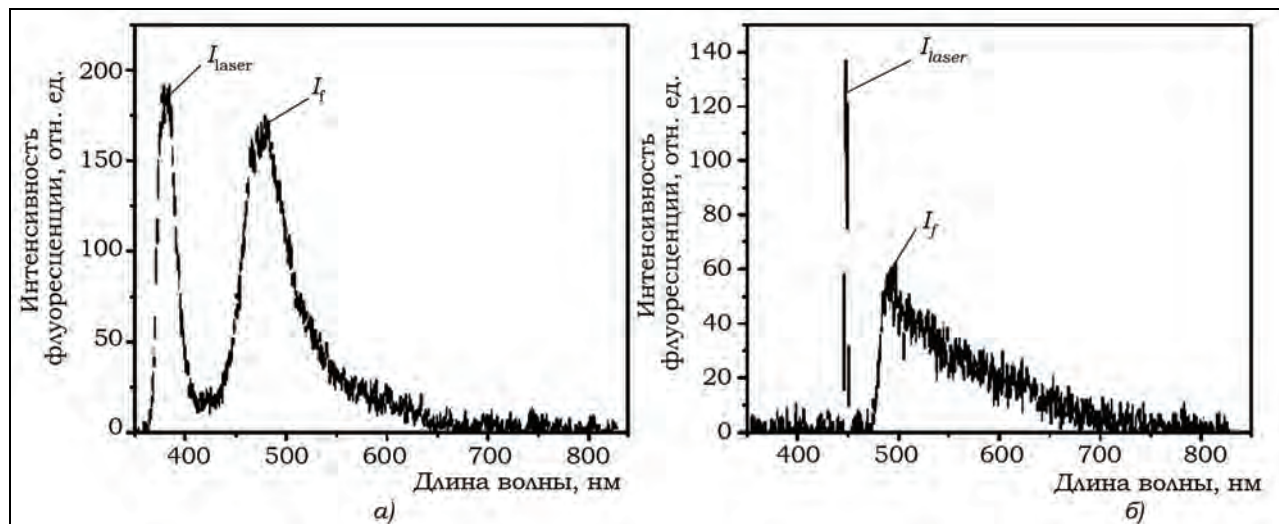


Рис. 3. Типовые примеры спектров флуоресценции на длине волны 365 нм (а) и 450 нм (б)

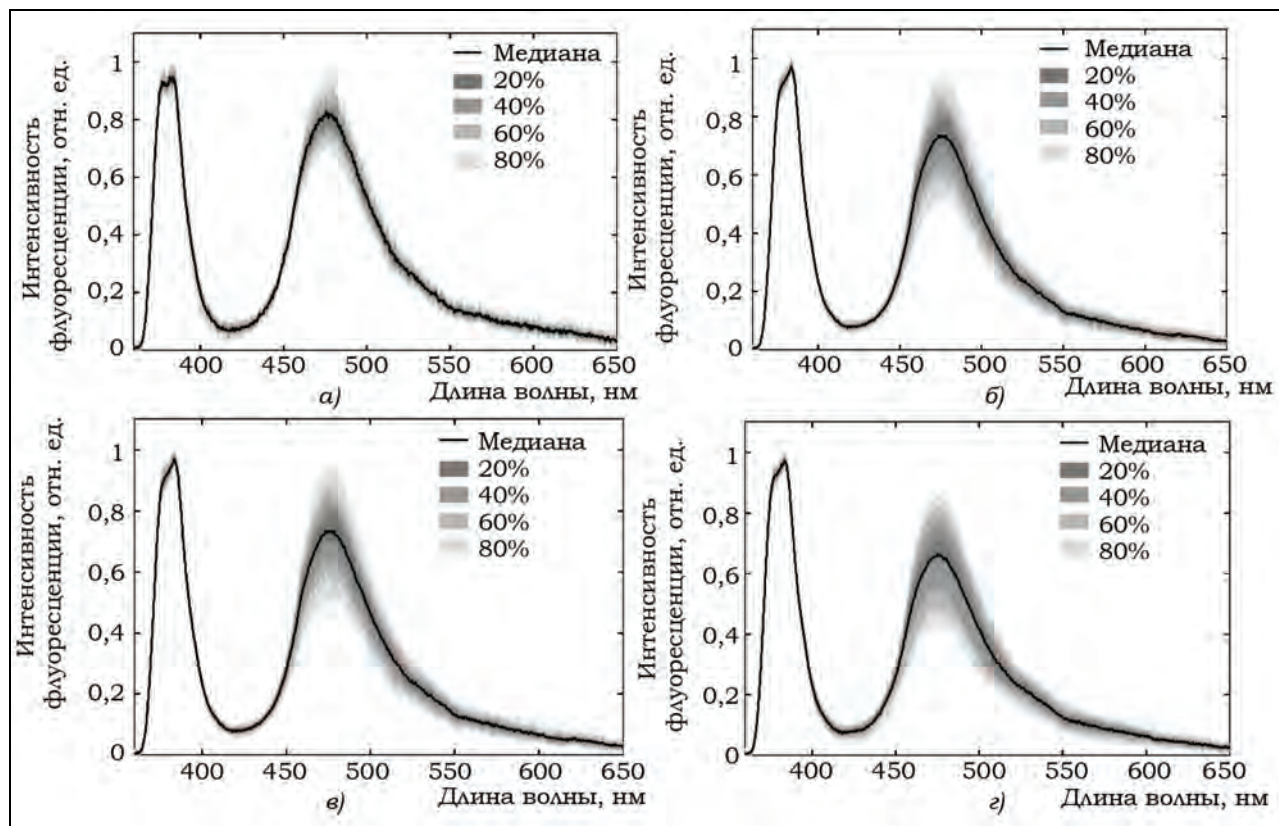


Рис. 4. Интенсивность флуоресценции для контрольной (а) и групп, получавших янтарную кислоту (б), сульфат (е) и сукцинат (z) цинка в моторной области коры головного мозга на длине волны 365 нм



на медиана выборки и ее процентное распределение. Искомым параметром выбрана максимальная интенсивность флуоресценции (I_f). Значимость распределения (I_f) оценивалась по критерию Манна-Уитни ($p < 0,05$). На рис. 4 и

5 представлены спектры с указанием распределения интенсивности флуоресценции для моторной области коры головного мозга. Нормализация спектра на обратно отраженное излу-

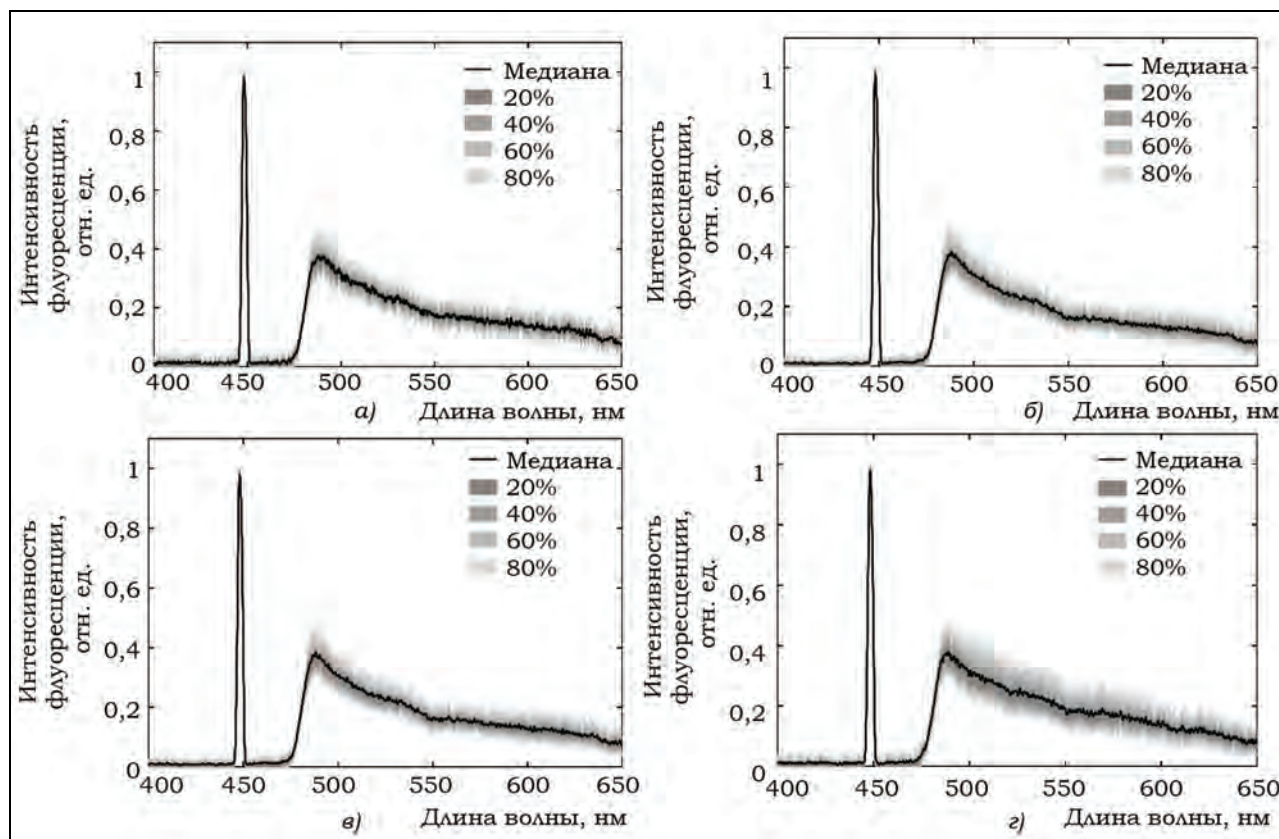


Рис. 5. Интенсивность флуоресценции для контрольной (а) и групп, получавших янтарную кислоту (б), сульфат (в) и сукцинат (з) цинка в моторной области коры головного мозга на длине волны 450 нм

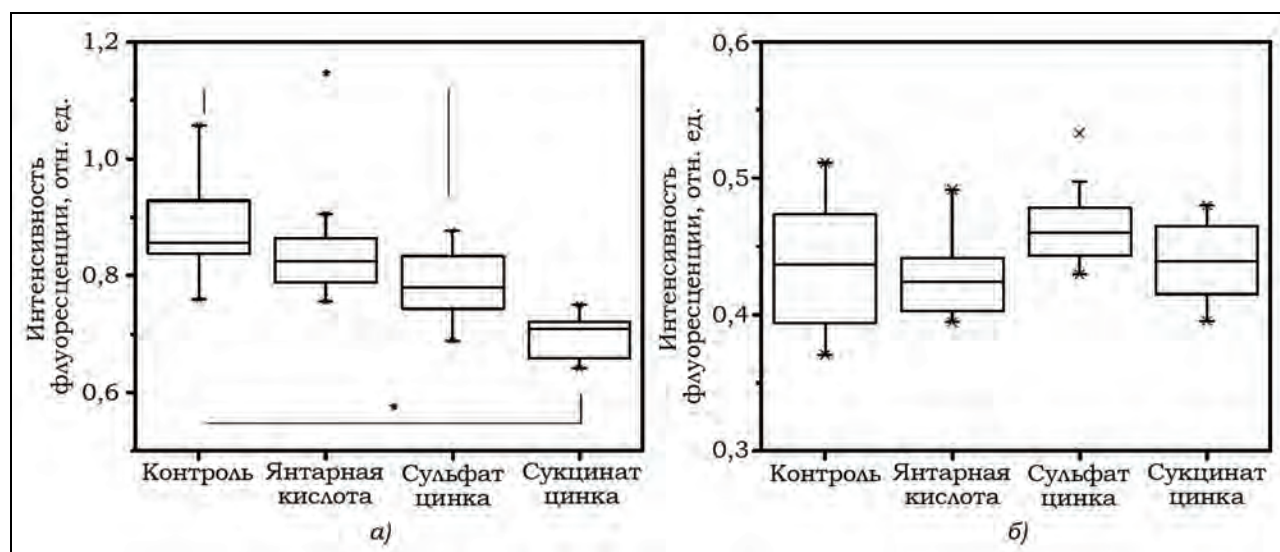


Рис. 6. Диаграммы распределения максимальной интенсивности флуоресценции для длин волн 365 нм (а) и 450 нм (б) в моторной области коры головного мозга



чение проводилась путем деления спектра на интенсивность обратно рассеянного излучения (I_{laser}).

Статистически значимые различия относительно контрольной группы были оценены с помощью критерия Манна-Уитни ($p < 0,05$). Диаграммы распределения представлены на рис. 6.

При вводе в питьевой рацион сульфата цинка и янтарной кислоты на длине волны 365 нм в области моторной коры головного мозга (рис. 6) наблюдали снижение интенсивности флуоресценции, а при использовании сукцината цинка интенсивность флуоресценции заметно падала. На длине волны 450 нм значимого изменения интенсивности флуоресценции не наблюдали.

На рис. 7 и 8 представлены спектры с указанием распределения интенсивности флуоресценции для зрительной области коры головного мозга. Нормализация спектра на обратно отраженное излучение проводилась путем деления спектра на интенсивность обратно рассеянного излучения (I_{laser}).

Статистически значимые различия относительно контрольной группы были оценены с помощью критерия Манна-Уитни ($p < 0,05$). Диаграммы распределения представлены на рис. 9.

В зрительной области коры головного мозга (рис. 9) на длине волны 365 нм интенсивность флуоресценции, по сравнению с контрольной группой, с потреблением как янтарной кислоты, так и сульфата цинка не изменялась. Возможно, это связано с влиянием янтарной кислоты на митохондриальный комплекс II цикла дыхания [15]. Стоит заметить, что в группе животных, получавших сукцинат цинка, присутствует резкое снижение интенсивности флуоресценции относительно контрольной группы как при возбуждении светом с длиной волны 365 нм, так и с длиной волны 450 нм.

Предположительно, увеличение интенсивности флуоресценции NADH [16] соответствует ухудшению обмена кислорода и замедлению процессов клеточного дыхания в моторной и зрительной областях коры голов-

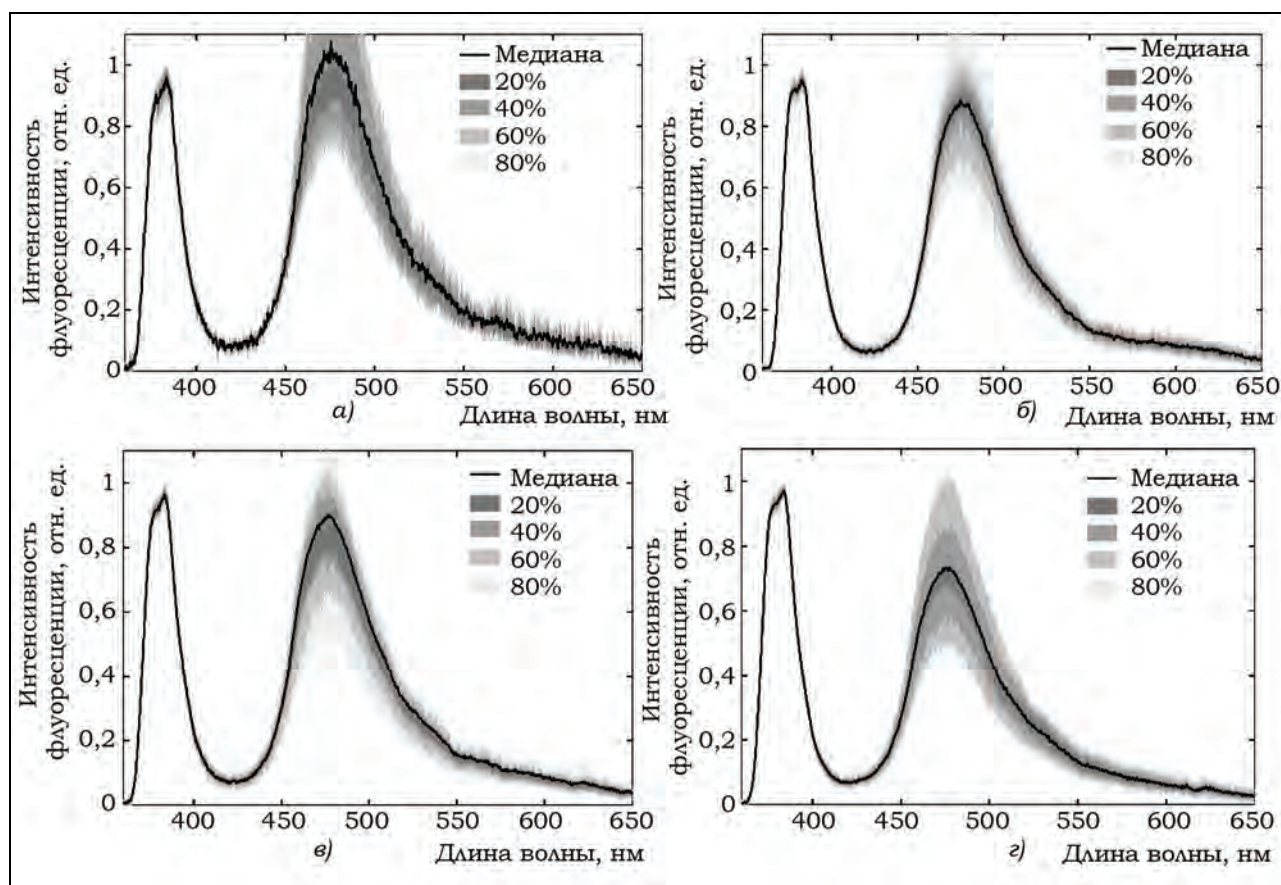


Рис. 7. Интенсивность флуоресценции для контрольной (а) и групп, получавших янтарную кислоту (б), сульфат (в) и сукцинат (з) цинка в зрительной области коры головного мозга на длине волны 365 нм



ного мозга, тогда как снижение интенсивности флуоресценции коферментов NADH и FAD одновременно в выбранных областях [17, 18] может привести к подавлению метаболических процессов в клетках и тканях.

Накопление внутриклеточных ионов Zn^{2+} способствует повреждению нейронов в определенных областях мозга, включая кортикальные зоны. Избыток цинка концентрируется в

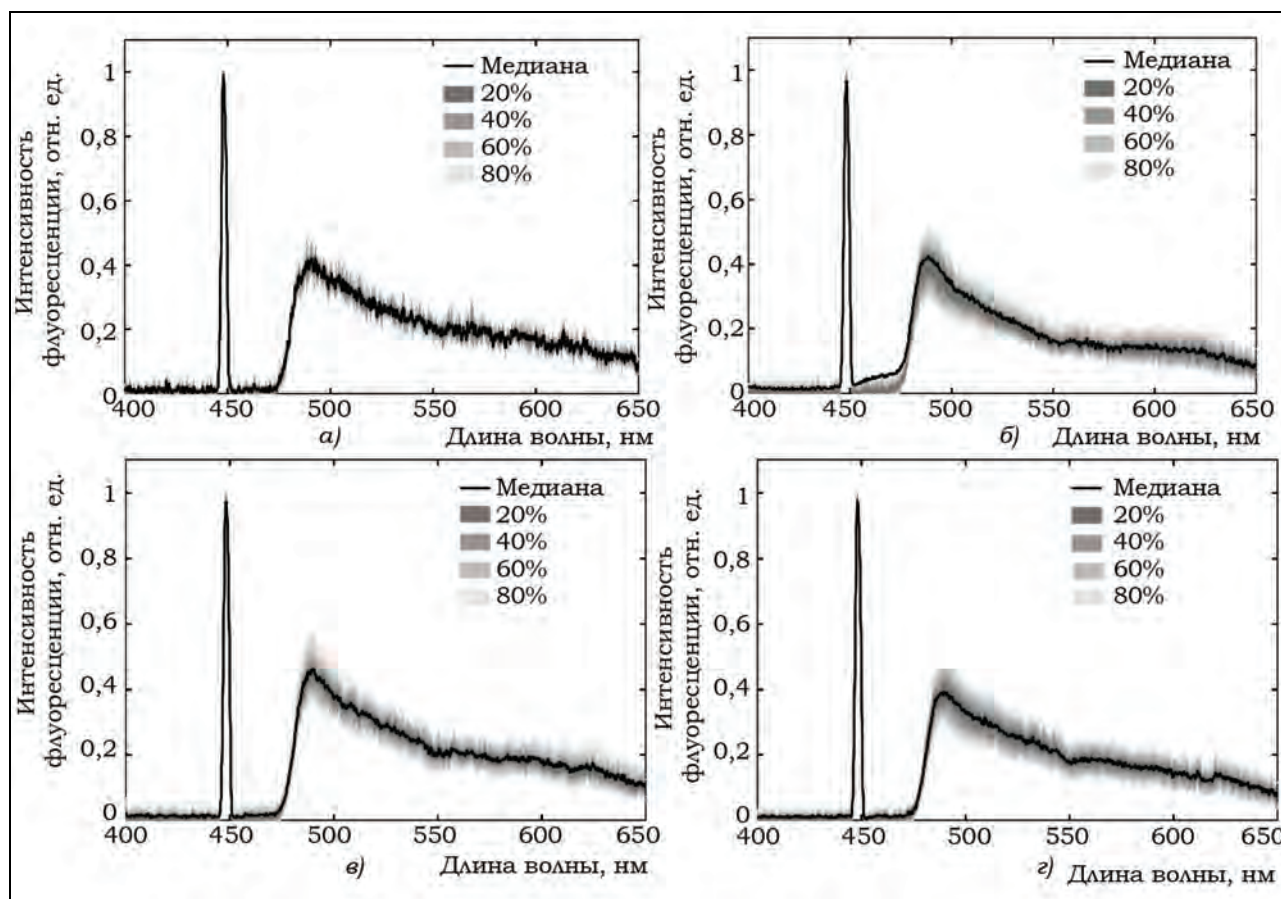


Рис. 8. Интенсивность флуоресценции для контрольной (а) и групп, получавших янтарную кислоту (б), сульфат (в) и сукцинат (з) цинка в зрительной области коры головного мозга на длине волны 450 нм

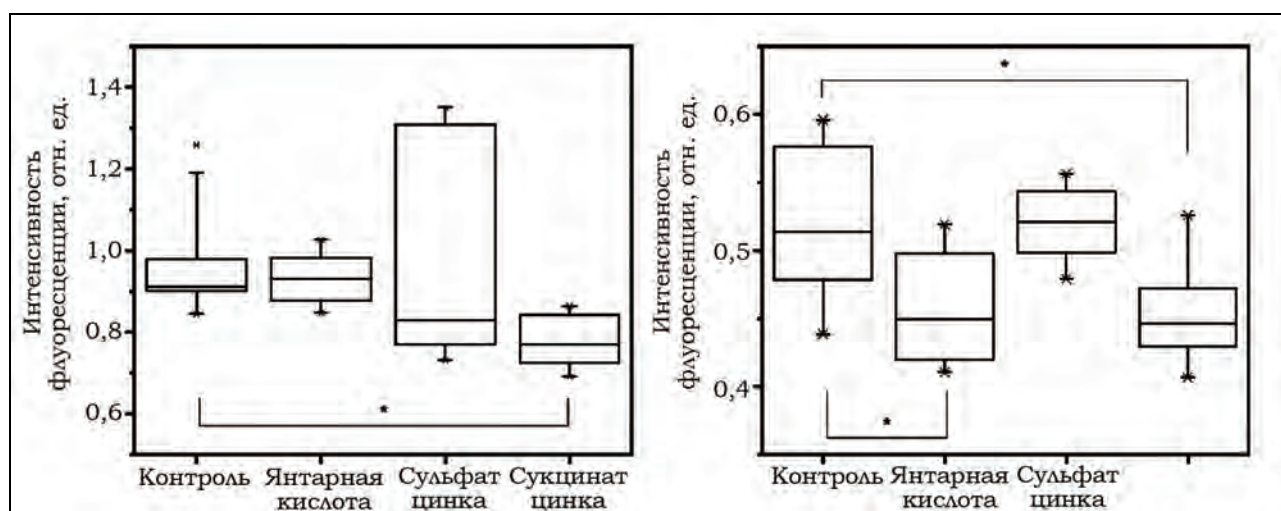


Рис. 9. Диаграммы распределения максимальной интенсивности флуоресценции для длин волн 365 нм (а) и 450 нм (б) в зрительной области коры головного мозга



митохондриях и приводит к их дисфункции, и как следствие – к нарушению процессов тканевого дыхания. Можно предположить, что основной отрицательный эффект на нейроны, обусловленный накоплением цинка, будет локализован в митохондриях [19]. Ионы Zn^{2+} способствуют гибели нейронов, поскольку наблюдается влияние одновременно на несколько систем. Этот ион может вызывать глубокую митохондриальную дисфункцию, которая наиболее изучена в этих митохондриях. Цинк может спровоцировать деполяризацию митохондрий и образование активных форм кислорода [20].

- Можно предположить изменение степени клеточного дыхания в моторной и зрительной областях коры головного мозга крысы при действии соединений цинка и янтарной кислоты на процесс кислородного обмена. При использовании янтарной кислоты, которая является антиоксидантом, отмечали улучшение состояния в зрительной области при использовании излучения с длиной волны 450 нм, что может свидетельствовать об активации процессов окислительного фосфорилирования в тканях. При использовании суль-

фата цинка заметны изменения в моторной области коры на длине волны 365 нм, что свидетельствует о снижении интенсивности флуоресценции коферментов NADH, что связано с ухудшением гликолиза в тканях головного мозга. Данные изменения метаболических процессов предположительно были связаны с малым снижением концентрации коферментов NADH и FAD по сравнению с контрольной группой. При использовании сукцината цинка наблюдается угнетение метаболизма тканей в исследуемых областях, что, согласно данным литературы [7, 15, 17], может привести к возникновению необратимых патологических изменений.

Представленный метод позволяет успешно выявить изменения окислительно-восстановительных процессов в структурах коры головного мозга крыс. Применение оптических методов диагностики, в частности флуоресцентной спектроскопии, может быть использовано для разработки методов ранней оценки нарушений метаболических процессов в структурах коры головного мозга.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 18-15-00201).

Литература

1. *Istrate A.N. et al.* Interplay of histidine residues of the Alzheimer's disease $A\beta$ peptide governs its Zn-induced oligomerization // *Sci. Rep.* 2016. V. 6. P. 21734.
2. *Kozin S.A. et al.* Zinc binding to Alzheimer's Abeta (1-16) peptide results in stable soluble complex. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* United States, 2001. V. 285. № 4. P. 959–964.
3. *Safonova O.A. et al.* Effects of a Preparation Containing Pantogam, Succinic Acid, and Chitosan on Activities of the Glutathione System and NADPH-Generating Enzymes in Rat Tissues under Conditions of Cerebral Ischemia/Reperfusion // *Bull. Exp. Biol. Med.* United States. 2015. V. 159. № 2. P. 221–224.
4. *Lemire J., Mailloux R., Appanna V.D.* Zinc toxicity alters mitochondrial metabolism and leads to decreased ATP production in hepatocytes // *J Appl Toxicol.* 2007/06/22. Department of Chemistry and Biochemistry, Laurentian University, Sudbury, Ontario P3E 2C6, Canada. 2008. V. 28. № 2. P. 175–182.
5. *Yamaguchi M., Kura M., Okada S.* Role of zinc as an activator of mitochondrial function in rat liver // *Biochem Pharmacol.* 1982/04/01. 1982. V. 31. № 7. P. 1289–1293.
6. *Firuzi O. et al.* Antioxidant therapy: current status and future prospects. // *Curr. Med. Chem.* Netherlands. 2011. V. 18. № 25. P. 3871–3888.
7. *Гильметдинов Б.М., Р.Г. К.* Фармако-токсикологическая оценка производных дикарбоновых кислот. Казань: Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э.Баумана. 2003. 151 с.
8. *Tuchin V.V.* Handbook of optical biomedical diagnostics. Washington: SPIE Press. Bellingham. 2002.
9. *Dufort S. et al.* Optical small animal imaging in the drug discovery process // *Biochim. Biophys. Acta – Biomembr.* 2010. V. 1798. № 12. P. 2266–2273.
10. *Dunaev A.V. et al.* Individual variability analysis of fluorescence parameters measured in skin with different levels of nutritive blood flow // *Med Eng Phys.* 2015/04/30. Photonics and Nanoscience Group, Division of Physics, School of Engineering, Physics and Mathematics, University of Dundee, Dundee DD1 4HN, UK Biomedical Photonics Instrumentation Group, Scientific-Educational Center of “Biomedical Engineering”, State Uni. 2015. V. 37. № 6. P. 574–583.



11. *Stelmashchuk O. et al.* Non-invasive control of influence of polyethylene glycol on transport function of fluorescent colored liposomal nanoparticles // *Progress in Biomedical Optics and Imaging – Proceedings of SPIE.* 2017. V. 10336.
12. *P'yavchenko G.A., Shmarkova L.I., Nozdrin V.I.* Changes in the Number of Neurons in the Rat Motor Cortex and Movement Activity with Age // *Neurosci. Behav. Physiol. Department of Histology, Cytology, and Embryology, Medical Institute, Orel State University, Orel, Russian Federation: Springer New York LLC.* 2016. V. 46. № 3. P. 270–273.
13. *Akbar N. et al.* *In vivo* noninvasive measurement of skin autofluorescence biomarkers relate to cardiovascular disease in mice // *J. Microsc.* 2014. V. 255. № 1. P. 42–48.
14. *Palmer S. et al.* Changes in autofluorescence based organoid model of muscle invasive urinary bladder cancer // *Biomed. Opt. Express.* 2016. V. 7. № 4. P. 1193.
15. *Tretter L., Patocs A., Chinopoulos C.* Succinate, an intermediate in metabolism, signal transduction, ROS, hypoxia, and tumorigenesis // *Biochim. Biophys. Acta – Bioenerg.* 2016. V. 1857. № 8. P. 1086–1101.
16. *Mayevsky A., Chance B.* Oxidation-reduction states of NADH *in vivo*: From animals to clinical use // *Mitochondrion.* 2007. V. 7. № 5. P. 330–339.
17. *Mokryj M. et al.* Experimental study on predicting skin flap necrosis by fluorescence in the FAD and NADH bands during surgery // *Photochem. Photobiol.* 2007. V. 83. № 5. P. 1193–1196.
18. *Wang H.-W., Wei Y.-H., Guo H.-W.* Reduced Nicotinamide Adenine Dinucleotide (NADH) Fluorescence for the Detection of Cell Death // *Anticancer. Agents Med. Chem.* 2009. V. 9. № 9. P. 1012–1017.
19. *Sensi S.L. et al.* Modulation of mitochondrial function by endogenous Zn(2+) pools // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. The National Academy of Sciences.* 2003. V. 100. № 10. P. 6157–6162.
20. *Sensi S.L. et al.* The Neurophysiology and Pathology of Brain Zinc // *J. Neurosci.* 2011. V. 31. № 45. P. 16076 LP-16085.

Поступила 6 июля 2018 г.

EVALUATION OF THE INFLUENCE OF AMBER ACID AND ZINC COMPOUNDS ON PARAMETERS OF RAT BRAIN METABOLISM BY FLUORESCENCE SPECTROSCOPY

© Authors, 2018

© Radiotekhnika, 2018

E.S. Seryogina – Student, Department of Instrumentation, Metrology and Certification; Trainee-researcher, Research and Development Center of Biomedical Photonics, Orel State University n.a. I.S. Turgenev
E-mail: e.s.seryogina@gmail.com

O.A. Stelmashchuk – Student, Department of Industrial Chemistry and Biotechnology; Trainee Researcher, Research and Development Center of Biomedical Photonics, Orel State University n.a. I.S. Turgenev
E-mail: o.a.stelmashchuk@gmail.com

G.A. Piavchenko – Assistant, Department of Histology, Cytology and Embryology, Medical Institute, Orel State University n.a. I.S. Turgenev; Head of the Laboratory for Functional Methods, of Research at the Preclinical Research Center J.-S.C. "Retinoids" (Orel region)
gennadii.piavchenko@yandex.ru

A.G. Alekseyev – Ph.D. (Med.), Associate Professor, Department of Anatomy, Operational Surgery and Medicine of Catastrophes, Orel State University n.a. I.S. Turgenev
E-mail: sanderlexx@yandex.ru

E.V. Vorobyev – Master, Industrial Chemistry and Biotechnology, Orel State University n.a. I.S. Turgenev

E.A. Kuznetsova – Dr. Sc. (Eng.), Associate Professor, Department of Industrial Chemistry and Biotechnology, Orel State University n.a. I.S. Turgenev
E-mail: elkuznetcova@yandex.ru

E.A. Zherebtsov – Ph.D.(Eng.), Senior Research Scientist, Research and Development Center of Biomedical Photonics, Orel State University n.a. I.S. Turgenev, Aston Institute of Photonic Technologies, Aston University
E-mail: zherebzow@gmail.com

A.V. Dunaev – Ph.D. (Eng.), Associate Professor, Department of Instrumentation, metrology and certification; Director of the Research and Development Center of Biomedical Photonics, Orel State University n.a. I.S. Turgenev.
E-mail: dunaev@bmcencenter.ru

The study of metabolic processes in the cerebral cortex using optical non-invasive methods is an urgent task in modern neuroscience. In this work, the method of fluorescence spectroscopy was used to assess the cellular respiration in the motor and visual cortex of the brain of Wistar rats ($n = 6$ in the group). Within a month, groups of animals received amber acid in the drinking water, as well as zinc sulfate and succinate in a given concentration. Measurements were performed using the "LAKK-M" multifunctional complex, which includes fluorescence spectroscopy channel with 365 nm and 450 nm excitation wavelengths. These wavelengths were chosen in accordance with the excitation wavelengths of NADH and FAD coenzymes fluorescence in tissues. The results of the measurements were processed statistically, described and analyzed. Succinic acid, which is an antioxidant, promoted significant improvement in the condition of visual cortex at excitation wavelength of 450 nm, which may indicate the activation of oxidative phosphorylation processes in tissues. When zinc sul-



fate was used, changes in the motor cortex at excitation wavelength of 365 nm were noticed, which corresponds to a decrease of NADH fluorescence intensity. This is associated with a deterioration in glycolysis in the brain tissues. When zinc succinate was used, the maximum fluorescence intensity was reduced at 365 nm and 450 nm, which corresponds to the inhibition of tissue metabolism in the investigated areas. The further use of fluorescence spectroscopy in metabolic processes study is considered.

References

1. Istrate A.N. et al. Interplay of histidine residues of the Alzheimer's disease A β peptide governs its Zn-induced oligomerization // *Sci. Rep.* 2016. V. 6. P. 21734.
2. Kozin S.A. et al. Zinc binding to Alzheimer's A β (1-16) peptide results in stable soluble complex. // *Biochem. Biophys. Res. Commun. United States*, 2001. V. 285. № 4. P. 959–964.
3. Safonova O.A. et al. Effects of a Preparation Containing Pantogam, Succinic Acid, and Chitosan on Activities of the Glutathione System and NADPH-Generating Enzymes in Rat Tissues under Conditions of Cerebral Ischemia/Reperfusion // *Bull. Exp. Biol. Med. United States*. 2015. V. 159. № 2. P. 221–224.
4. Lemire J., Mailloux R., Appanna V.D. Zinc toxicity alters mitochondrial metabolism and leads to decreased ATP production in hepatocytes // *J Appl Toxicol.* 2007/06/22. Department of Chemistry and Biochemistry, Laurentian University, Sudbury, Ontario P3E 2C6, Canada. 2008. V. 28. № 2. P. 175–182.
5. Yamaguchi M., Kura M., Okada S. Role of zinc as an activator of mitochondrial function in rat liver // *Biochem Pharmacol.* 1982/04/01. 1982. V. 31. № 7. P. 1289–1293.
6. Firuzi O. et al. Antioxidant therapy: current status and future prospects. // *Curr. Med. Chem. Netherlands*. 2011. V. 18. № 25. P. 3871–3888.
7. Gil'metdinov B.M., R.G. K. Farmako-toksikologicheskaya ocenka proizvodnyh dikarbonovyh kislot. Kazan': Kazanskaya gosudarstvennaya akademiya veterinarnoj mediciny imeni N.EH.Baumana. 2003. 151 p.
8. Tuchin V.V. Handbook of optical biomedical diagnostics. Washington: SPIE Press. Bellingham. 2002.
9. Dufort S. et al. Optical small animal imaging in the drug discovery process // *Biochim. Biophys. Acta – Biomembr.* 2010. V. 1798. № 12. P. 2266–2273.
10. Dunaev A.V. et al. Individual variability analysis of fluorescence parameters measured in skin with different levels of nutritive blood flow // *Med Eng Phys.* 2015/04/30. Photonics and Nanoscience Group, Division of Physics, School of Engineering, Physics and Mathematics, University of Dundee, Dundee DD1 4HN, UK Biomedical Photonics Instrumentation Group, Scientific-Educational Center of “Biomedical Engineering”, State Uni. 2015. V. 37. № 6. P. 574–583.
11. Stelmashchuk O. et al. Non-invasive control of influence of polyethylene glycol on transport function of fluorescent colored liposomal nanoparticles // *Progress in Biomedical Optics and Imaging – Proceedings of SPIE.* 2017. V. 10336.
12. P'yavchenko G.A., Shmarkova L.I., Nozdrin V.I. Changes in the Number of Neurons in the Rat Motor Cortex and Movement Activity with Age // *Neurosci. Behav. Physiol.* Department of Histology, Cytology, and Embryology, Medical Institute, Orel State University, Orel, Russian Federation: Springer New York LLC. 2016. V. 46. № 3. P. 270–273.
13. Akbar N. et al. In vivo noninvasive measurement of skin autofluorescence biomarkers relate to cardiovascular disease in mice // *J. Microsc.* 2014. V. 255. № 1. P. 42–48.
14. Palmer S. et al. Changes in autofluorescence based organoid model of muscle invasive urinary bladder cancer // *Biomed. Opt. Express.* 2016. V. 7. № 4. P. 1193.
15. Tretter L., Patocs A., Chinopoulos C. Succinate, an intermediate in metabolism, signal transduction, ROS, hypoxia, and tumorigenesis // *Biochim. Biophys. Acta – Bioenerg.* 2016. V. 1857. № 8. P. 1086–1101.
16. Mayevsky A., Chance B. Oxidation-reduction states of NADH in vivo: From animals to clinical use // *Mitochondrion.* 2007. V. 7. № 5. P. 330–339.
17. Mokry M. et al. Experimental study on predicting skin flap necrosis by fluorescence in the FAD and NADH bands during surgery // *Photochem. Photobiol.* 2007. V. 83. № 5. P. 1193–1196.
18. Wang H.-W., Wei Y.-H., Guo H.-W. Reduced Nicotinamide Adenine Dinucleotide (NADH) Fluorescence for the Detection of Cell Death // *Anticancer. Agents Med. Chem.* 2009. V. 9. № 9. P. 1012–1017.
19. Sensi S.L. et al. Modulation of mitochondrial function by endogenous Zn(2+) pools // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. The National Academy of Sciences.* 2003. V. 100. № 10. P. 6157–6162.
20. Sensi S.L. et al. The Neurophysiology and Pathology of Brain Zinc // *J. Neurosci.* 2011. V. 31. № 45. P. 16076 LP-16085.