

КОМБИНИРОВАННОЕ ВЛИЯНИЕ ТЕРАГЕРЦОВОГО И МИЛЛИМЕ- ТРОВОГО ИЗЛУЧЕНИЙ НА АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС И ОСМОТИЧЕСКИЙ ГЕМОЛИЗ ЭРИТРОЦИТОВ *IN VITRO*

А.К. Кондакова, Г.А. Семко, Н.В. Древаль, В.Г. Колесников, Ю.Е. Каменев

ГУ «Институт дерматологии и венерологии» АМН Украины
Институт радиопизики и электроники им. А. Я. Усикова НАН Украины

Резюме. Изучалось влияние ЭМИ терагерцового диапазона ($f = 0,89$ ТГц, $P = 1,5$ мВт/см²) и ММ-диапазона ($f = 37,7$ ГГц, $P = 1,5$ мВт/см²) на процессы перекисного окисления липидов в эритроцитах доноров, больных хроническими дерматозами, и их осмотическую резистентность. Показано, что эффект излучения зависит от экспозиции воздействия. При комбинированном влиянии терагерцового и миллиметрового излучений в течение 60 мин на эритроциты наблюдается значительное повышение малонового диальдегида. При воздействии в течении 30 мин уровень МДА в эритроцитах не изменяется, а их осмотическая резистентность в солевом растворе концентрацией 0,45% повышается в 1,7 раза.

Ключевые слова: терагерцовое и миллиметровое излучение, эритроциты, перекисное окисление липидов, осмотическая резистентность.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из новых направлений клинической медицины является поиск немедикаментозных, неинвазивных способов лечения различных заболеваний. К таким эффективным методам на сегодня можно отнести использование низкоинтенсивных электромагнитных волн крайне высокой частоты (КВЧ-терапия) [8]. Несмотря на положительный эффект применения КВЧ-терапии в медицинской практике, публикации посвященные исследованию механизмов действия КВЧ-излучения немногочисленны, и многие из них носят лишь констатирующий характер. В то же время, одной из проблем внедрения низкоинтенсивного КВЧ-воздействия в комплекс медицинских мероприятий является доказательство его восприятия непосредственно тканями и клетками [7, 8].

В последние десятилетия уделяется внимание и изучению терапевтического действия низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) на структурно-функциональные параметры различных клеток, макромолекул белковой и липидной природы. Лазерное излучение низкой интенсивности изменяет процессы перекисного

окисления липидов в направлении образования меньших количеств конечных продуктов окисления [3]. Нормализацию основных показателей ПОЛ, активацию антиоксидантной защиты после облучения крови НИЛИ отмечают многие исследователи [11]. О.Е. Колесова с соавт. [5] уточняют, что изменения антиоксидантной системы носят двухфазный характер: активация тиолсульфидной системы сменяется снижением антиоксидантного потенциала крови. Снижение активности ПОЛ является результатом освобождения сорбированных на белках антиоксидантов. Кроме того, под влиянием лазерного излучения происходит реактивация антиокислительных ферментов, обратимо ингибированных в очаге патологии. Важно отметить, что обычно эффективность влияния излучений на живые организмы проявляется в периоды, возникающие при нарушениях их нормального функционирования [9]. Согласно нашим данным, у больных такими хроническими дерматозами как экзема и псориаз период обострения заболевания сопровождается активацией свободнорадикальных процессов [1, 6, 12].

Известно, что в основе механизмов индивидуальной резистентности к внешним воздей-

ствиям лежат процессы, развивающиеся на клеточном уровне, в этом случае доступными и информативными объектами при исследовании изучений резистентности организма могут служить клетки крови [10]. Мембраны эритроцитов, циркулирующих в капиллярном русле, меняя свои барьерные свойства при действии излучения, могут оказывать регуляторное действие на весь организм в целом и на отдельные органы. Выбор эритроцитов в качестве тест-объекта исследования при внешних воздействиях целесообразен еще и потому, что структура мембран эритроцитов отражает особенности биохимического строения мембран различных тканей.

Целью работы стало изучение влияния *in vitro* комбинированного низко-интенсивного терагерцового (ТГц) ($f = 0,89$ ТГц, $P = 1,5$ мВт/см²) и гигагерцового (ГГц) ($f = 37,7$ ГГц, $P = 2,7$ мВт/см²) излучений на перекисное окисление липидов и устойчивость мембран эритроцитов к осмотическому гемолизу у больных хроническими дерматозами *in vitro*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В эксперименте использовался аппаратно-регистрирующий комплекс, позволяющий в реальном масштабе времени измерять электромагнитный отклик эритроцитов при различных экспозициях под лазерным излучением с одновременным контролем гидратации клеток в области дисперсии диэлектрической проницаемости свободной воды. Терагерцовое ($f_{\text{рабочая}} = 0,89$ ТГц, $P = 1,5$ мВт/см²) и гигагерцовое ($f_{\text{рабочая}} = 37,7$ ГГц, $P = 2,7$ мВт/см²) излучения были промодулированы по амплитуде ($f_{\text{модуляции}} = 0 \div 500$ Гц), при этом лазерное излучение вводилось в 8-ми миллиметровый волноводный тракт с помощью специально разработанной для этих целей волноводной кюветы [4].

Кроме того, была обеспечена возможность управления аналого-цифровым преобразователем (АЦП) путем изменения частоты дискретизации, а также выбором точности вводимого сигнала. Использована система временного накопления сигнала в файле при одновременном графическом выводе самого сигнала и его спектра в реальном режиме времени. Для повышения скорости работы программного обеспечения использована специальная библиотека, которая включает процедуры введения и оцифровки данных. Обработка полученных данных проведена с помощью программы накопления

электромагнитного отклика клеток из под шумов, анализа оцифрованных данных с последующей обработкой с применением алгоритма быстрого преобразования Фурье.

Объектом исследования были эритроциты, выделенные из венозной крови доноров, больных такими хроническими дерматозами как псориаз и экзема, в возрасте 35–40 лет. Кровь брали натощак из вены в объеме 10 мл, помещали в пластмассовую пробирку с антикоагулянтом, в роли которого был использован гепарин. Эритроциты выделяли путем центрифугирования цельной крови в режиме 3000 об./мин. в течение 15 мин. Плазму отбирали в отдельную пробирку, а эритроциты трижды отмывали охлажденным 0,9% раствором *NaCl*. Измеряли гематокрит в пробе; он составил в среднем 94–96%.

Осмотический гемолиз эритроцитов регистрировали на ФЭК при длине волны $\lambda = 543$ нм. Предварительно готовят рабочие растворы хлорида натрия различной концентрации (1%, 0,85%, 0,75%, 0,70 %, 0,65%, 0,6%, 0,59%, 0,45%, 0,40%, 0,35%, 0,30%, 0,20% и 0,1%). Готовили суспензию эритроцитов (гематокрит 20 %). К 1 мл рабочего раствора добавляют 100мкл суспензии эритроцитов. Пробирки отстаивают на 1 час при комнатной температуре, а затем центрифугируют при 3000 об./мин. в течение 3 мин. Степень гемолиза оценивали по оптической плотности жидкости, полученной после осаждения негемолизированных эритроцитов, и выражали в процентах по сравнению с оптической плотностью образцов, в которых гемолиз эритроцитов был вызван дистиллированной водой. (100% гемолиз).

Об интенсивности перекисного окисления липидов судили по уровню конечного продукта ПОЛ – МДА, в пробе с помощью реакции с тиобарбитуровой кислотой [2]

Статистическую достоверность результатов оценивали с использованием *t*-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Первым этапом нашего исследования стало изучение комбинированного влияния терагерцового и миллиметрового излучений на активность перекисных процессов в эритроцитах в зависимости от длительности воздействия. Исходя из литературных данных нами было выбрано два временных периода экспозиции – 60 и 30 мин.

Таблиця 1

Уровень малонового диальдегида в эритроцитах больных хроническими дерматозами до и после комбинированного влияния терагерцового и миллиметрового излучений

Длительность воздействия	До воздействия, мкмоль/л	После воздействия, мкмоль/л
60 мин	11,4±1,2	16,3±0,9 p < 0,01
30 мин	10,2±0,7	10,8±0,9

Примечание: р дано относительно уровня МДА до воздействия ЭМИ ММ-диапазона

Выявлено, что комбинированное воздействие лазера на эритроциты в течение 60 мин вызывает активацию процессов ПОЛ в них. Об этом свидетельствует значительное повышение уровня МДА – содержание конечного продукта ПОЛ в эритроцитах увеличивается под воздействием излучения в 1,4 раза (табл.1). После облучения суспензии эритроцитов в течение 30 мин изменений уровня МДА в них не отмечается. Поэтому

можно сделать вывод, что влияние комбинированного излучения на антиоксидантные свойства эритроцитов зависят от времени воздействия.

Известно, что активация ПОЛ снижает прочность эритроцитарной мембраны, поэтому для дальнейшего изучения оценки влияния комбинированного терагерцового и миллиметрового излучений, на гемолитические свойства эритроцитов была выбрана 30 мин экспозиция.

Результаты эксперимента показали, что конфигурации кривых гемолитической зависимости степени лизиса эритроцитов до и после облучения примерно одинаковы (рис.1), пик осмоллизиса находится в области, характерной для здоровых лиц. Следует отметить, что в норме минимальный гемолиз наблюдается в солевом растворе хлорида натрия именно в диапазоне 0,45-0,5%. Обнаружено, что облучение суспензии эритроцитов в течение 30 мин комбинированным терагерцовым и миллиметровым излучением оказывает существенное влияние на осмотическую резистентность клеток в гипосмотическом растворе концентрации 0,45%. ЭМИ ММ-диапазон обладает

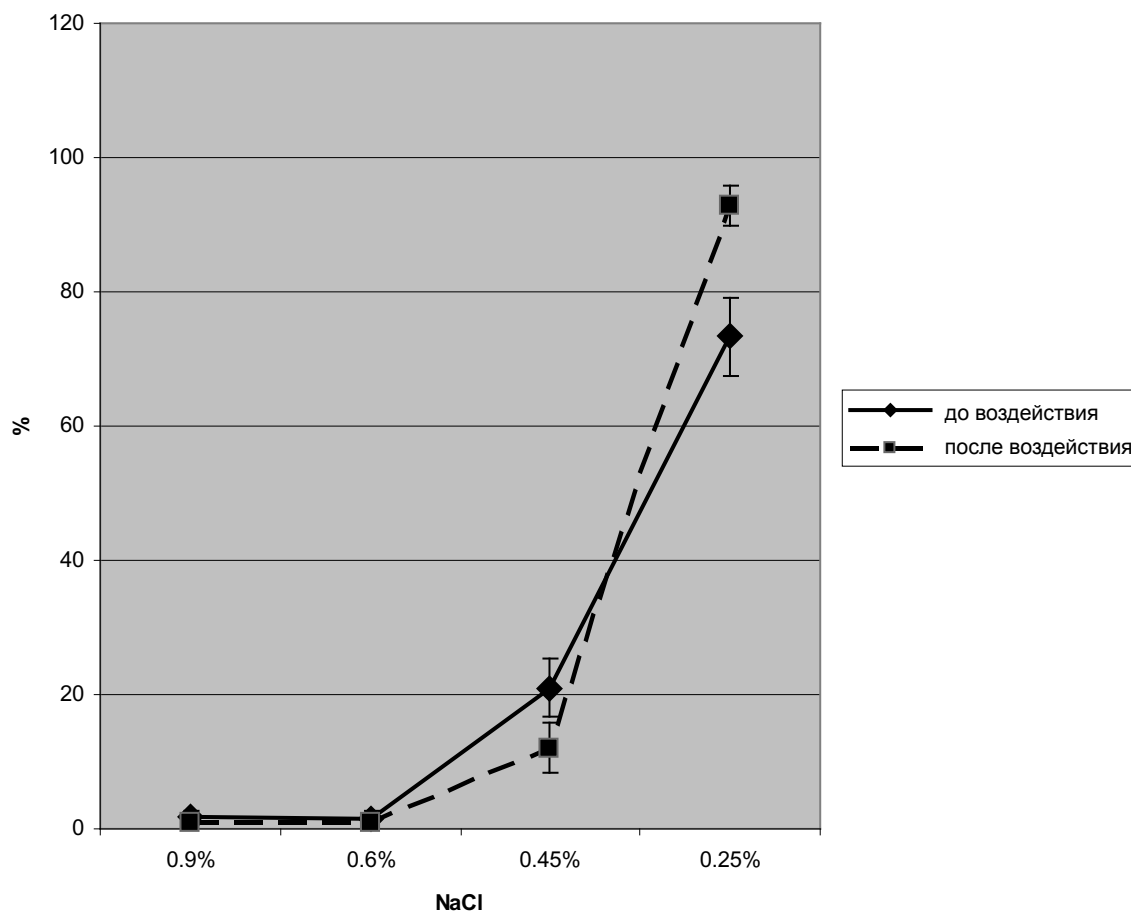


Рис. 1 Осмотический гемолиз эритроцитов больных хроническими дерматозами до и после комбинированного влияния терагерцового и миллиметрового излучений

выраженным позитивным эффектом – гемолиз эритроцитов снижался на 70%. Таким образом, полученные результаты воздействия комбинированного излучения показывают, что оно оказывает нормализующее действие на гемолитические свойства эритроцитов *in vitro*. Возможно, что лазерное облучение делает более упорядоченным расположение молекул липидов в мембране, увеличивая силу гидрофобных взаимодействий как между молекулами липидов, так и липид-белковые взаимодействия, что подтверждается повышением устойчивости мембран эритроцитов к гемолизирующему действию гипотонических растворов.

ВЫВОДЫ

1. Показано влияние *in vitro* комбинированного низко-интенсивного терагерцового (ТГц) ($f = 0,89$ ТГц, $P = 1,5$ мВт/см²) и гигагерцового

(ГГц) ($f = 37,7$ ГГц, $P = 2,7$ мВт/см²) излучений на процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) в эритроцитах доноров, больных хроническими дерматозами. Эффект излучения зависит от экспозиции воздействия. При комбинированном влиянии терагерцового и миллиметрового излучений в течение 60 мин на эритроциты наблюдается значительное повышение конечного продукта ПОЛ – малонового диальдегида. При экспозиции воздействия в 30 мин уровень МДА в них не изменяется.

2. Комбинированное влияние терагерцового и миллиметрового излучений в течение 30 мин оказывает нормализующее влияние на осмотическую резистентность эритроцитов доноров, больных хроническими дерматозами, к гемолизирующему действию гипотонических растворов. Осмотическая резистентность эритроцитов в солевом растворе концентрацией 0,45% повышается в 1,7 раза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Болотная Л.А., Кондакова А.К., Калекина Е.А., Рябова О.А. Роль процессов перекисного окисления липидов в патогенезе экземы // Дерматология та венерология. – 4(22). – 2003. – С.36-39.
2. Гончаренко М.С., Латинова А.М. Метод оценки перекисного окисления липидов // Лаб. дело. – 1985. – № 1. – С. 60-61.
3. Гринштейн Ю.И. Антиоксидантное действие света гелий-неонового лазера при облучении крови // Клиническое и экспериментальное применение новых лазерных технологий: материалы Междунар. конф. – М.-Казань, 1997. – С. 295-296.
4. Колесников В.Г., Древалъ Н.В., Каменев Ю.Е., Комарь Г.И., Корж В.Г. Метод оценки электромагнитного отклика биологической системы при воздействии лазерного излучения // Физика живого. – 2008. – Т. 16, № 2. – С. 70-77.
5. Колесова О.Е., Алексеева Л.М., Васильев И.Т. и др. Действие лазера на окислительно-восстановительные системы крови // Низкоинтенсивные лазеры в медицине: материалы Всесоюз. симп. – Обнинск, 1991., ч. 1. – С. 57-58.
6. Кондакова А.К., Ермошенко Е.В., Семко Г.А. Методы коррекции структурно-функциональных нарушений плазматических мембран при псориазической болезни // Doctor. – № 1(27). – 2005. – С. 18-20.
7. Корягин А.С., Ястребова А.А., Крылов В.Н., Корнаухов А.В. Влияние миллиметровых волн на устойчивость мембран эритроцитов, перекисное окисление липидов и активность ферментов сыворотки крови // Миллиметровые волны в биол. и мед. – 2000. – № 2(18). – С. 8-10.
8. В.Н. Крылов. Влияние низко-интенсивного ЭМИ КВЧ – диапазона на некоторые показатели гомеостаза животных // Вестник Нижегородского университета им. Лобачевского. Серия Биология. Выпуск 1(6). Электромагнитные поля и излучения в биологии и медицине. Н.Новгород: Изд-во ННГУ, 2003. – С.14-24.
9. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник / Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987.
10. Новицкий В.В., Рязанцева Н.В., Степовая Е.А. Молекулярные нарушения мембраны эритроцитов при патологии разного генеза являются типовой реакцией организма: контуры проблемы // Бюллетень сибирской медицины. – 2006. – № 2. – С. 62-69.
11. Н.Г. Преснухина, А.В. Дерюгина, В.Н. Крылов. Влияние электромагнитных волн миллиметрового диапазона на морфо-функциональные показатели периферической крови // Вестник Нижегородского университета им. Лобачевского. Серия Биология. Выпуск 1(6). Электромагнитные поля и излучения в биологии и медицине. Н.Новгород: Изд-во ННГУ, 2003. С. 51-56.
12. Семко Г.О. Окиснювальна деструкція білків сироватки крові і структурно-функціональний стан еритроцитів у хворих на псориаз // Досягнення біології та медицини. – 2004. – №2 (4)/ – С. 99-101.

КОМБІНОВАНИЙ ВПЛИВ ТЕРА- ГЕРЦОВОГО ТА МІЛІМЕТРОВОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НА АНТИОКСИ- ДАНТНИЙ СТАТУС ТА ОСМОТИЧНИЙ ГЕМОЛІЗ ЕРИТРОЦИТІВ *IN VITRO*

**Г.К. Кондакова, Г.О. Семко, Н.В. Дре-
валь, В.Г. Колесников, Ю.Є. Каменєв**

Резюме. Вивчався вплив ЕМІ терагерцового діапазону ($f=0,89$ ТГц, $P=1,5$ мВт/см²) та ММ-діапазону ($f=37,7$ ГГц, $P=1,5$ мВт/см²) на процеси перекисного окислення ліпідів в еритроцитах донорів, які хворіють на хронічні дерматози, та їхню осмотичну резистентність. Показано, що ефект випромінювання залежить від експозиції. При комбінованому впливі терагерцового та міліметрового випромінювання протягом 60 хв на еритроцити спостерігається значне підвищення рівня малонового діальдегіду (МДА). При експозиції протягом 30 хв вміст МДА в еритроцитах не змінюється, а їх осмотична резистентність в сольовому розчині концентрацією 0,45% підвищується у 1,7 рази.

Ключові слова: терагерцове та міліметрове випромінювання, перекисне окислення ліпідів, осмотична резистентність.

THE COMBAIN EFFECT OF TERAHERTZ AND MILLIMETER IRRADIATION ON ERYTHROCYTES'ANTIOXIDATION STATES AND THEIRS OSMOTIC RESISTANCE IN VITRO

**A.K. Kondakova, G.A. Semko, N.V.Dreval,
V.G.Kolesnikov. Yu.Ye.Kamenev**

Resume. The effect of electromagnetic irradiation of terahertz ($f=0,89$ THz, $P=1,5$ mW/cm²) and millimeter ($f=37,7$ GHz, $P=1,5$ mW/cm²) ranges on erythrocytes' lipid peroxidation and theirs osmotic resistance was studied. Blood samples was taken from donors with chronic dermatosis. It was shown that the irradiation's effect depends on exposition. It was observed the considerable increase of level of malondialdehyde (MDA) during combined influence terahertz and millimeter irradiations for one hour. Content of MDA has not been changed for 30 minutes of exposition. At the same time erythrocytes' osmotic resistance at NaCl 0.45 % has been increased in 1.7 times.

Keywords: terahertz and millimeter irradiation, erythrocytes, lipid peroxidation, osmotic resistance.

Новини медицини

ДОМАШНИЙ СКАНЕР ОБСЛЕДОВАНИЯ ГРУДИ

Профессор Жипен Ву (Zhipen Wu) из Манчестерского (Manchester) университета изобрёл новый портативный сканер для груди, с помощью которого можно пройти обследование, не выходя из дома.

Сканер имеет форму чаши с экраном, на котором найденные опухоли отмечаются в виде красных точек. Для сканирования тканей на подозрительные опухоли прибор использует радиоволны. Аппарат может быть установлен прямо на бюстгальтер. Он работает без геля, что очень удобно.

Новинка имеет очень высокий уровень точности, она позволит женщинам постоянно следить за своим здоровьем.

По материалам <http://medicinform.net/> RSS-лента