

**И.П. Иванова, Е.А. Зуймач, В.Д. Селемир,
Г.М.Спилов, Н.В.Прохорова, О.В.Солынина**

Динамическое влияние коронных и искровых импульсных разрядов на метаболические процессы крови крыс

В работе исследовано влияния импульсных разрядов миллисекундной и наносекундной длительности на метаболизм беспородных крыс в динамике. Исследование проводили в первые сутки, через шесть, через двенадцать суток после воздействия. Показано, что коронный разряд 5 импульсов и искровой разряд 100 импульсов, вызывают возрастание перекисного окисления липидов на шестые сутки и снижение перекисного окисления липидов в плазме крови и эритроцитах к двенадцатым суткам после воздействия. Воздействие коронным разрядом 50 импульсов и искровым разрядом 300 импульсов приводит к возрастанию уровня перекисного окисления липидов на мембранах эритроцитов. Коронные разряды 5 и 50 импульсов вызывают динамические изменения резистентности эритроцитов. Показано снижение устойчивости на шестые сутки и возрастание устойчивости эритроцитов к двенадцатым суткам после воздействия коронными импульсными разрядами.

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время предлагается использовать в биологии и медицине импульсные воздействия на основе наносекундных и миллисекундных электрических разрядов [1, 2, 4, 6, 8]. Биологическое действие разрядов обеспечивается активными продуктами газоразрядной плазмы: заряженными частицами, жестким ультрафиолетовым излучением, высоковозбужденными нейтралами. Некоторые разряды успешно используются для разложения таких стойких молекул, как CCl_4 , трихлорэтилен и для синтеза озона [3, 10]. Взаимодействие активных продуктов плазмы с молекулами газов и биологических субстратов приводит к образованию химически активных частиц: O , O_3 , OH^\cdot , H_2O_2 и т. д., которые являются активными формами кислорода. Последние первыми появляются в цепи реакций клеточного метаболизма и участ-

вуют в свободнорадикальных процессах организма и клетки [8]. При генерации импульсных электрических разрядов, изменяя напряженность электромагнитного поля можно создать как слабо-, так и высокоионизованную плазму и, соответственно, различную концентрацию активных частиц, так что в одних случаях их большинство стимулирует каскад свободнорадикальных реакций [11, 12], а в других – происходит рекомбинация радикалов. Таким образом, воздействуя на биологические субстраты, можно добиться как разветвления цепей свободнорадикальных реакций (при слабоионизованной плазме электрического разряда), так и рекомбинации радикалов (при высокой плотности ионизации в разряде). Поэтому изучение влияния коронных и искровых импульсных разрядов на организм в целом представляет научный и практический интерес.

© И.П. Иванова, Е.А. Зуймач, В.Д. Селемир, Г.М.Спилов, Н.В.Прохорова, О.В.Солынина

Целью нашей работы было изучение влияния импульсных искрового и коронного разрядов наносекундной длительности на метаболизм белых беспородных крыс-самцов в 1-е сутки после воздействия, а также через 6 и 12 сут.

МЕТОДИКА

Эксперименты были проведены на 140 белых лабораторных крысах-самцах массой 200–250 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария по 7–10 крыс в клетке на обычном рационе. Воздействию искровым (100 и 300 импульсов) и коронным (5 и 50 импульсов) разрядами подвергалась область брюшины. Исследовали кровь животных и ее плазму, регистрировали изменения хемилюминесценции, кислотной резистентности эритроцитов, концентрацию сиаловой кислоты.

Определение индуцированной хемилюминесценции проводили на биохемилуминометре БХЛ-06 (Нижний Новгород), сопряженном с компьютером. БХЛ-06 предназначен для регистрации световых потоков, возникающих в биологических образцах в результате протекания ферментативных и химических процессов. Принцип метода [9], заключается в индуцировании хемилюминесценции гидроперекисью водорода H_2O_2 с сульфатом железа и основан на том, что в представленной системе происходит каталитическое разложение гидроперекиси или перекиси ионами металла переменной валентности. Содержание сиаловых кислот в плазме определяли диагностическими наборами «Сиалотест 80» фирмы «Эко-Сервис». Контролем служили образцы крови интактных животных, не подвергшихся воздействию. Кислотную резистентность эритроцитов определяли модифицированным методом Гиттельсона – Терскова [7], в суспензию отмытых и разведенных (1:200) физиологическим раствором эритроцитов добавляли

0,5 мл 1 N HCl, через 5 мин на спектрофотометре (СФ-26) регистрировали светопропускание в относительных единицах, контролем служила суспензия эритроцитов без добавления кислоты. Увеличение светопропускания свидетельствует о снижении кислотной устойчивости эритроцитарных мембран.

Полученные результаты были обработаны статистически с помощью программы EXCEL и статистической диалоговой системы “Stadia” версией 4.51. Достоверность различий в результатах оценивали по критерию Вилконсона. Различия считали достоверными при $P \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Информативными показателями хемилюминесценции принято считать S – антиоксидантную активность (АОА (S) субстрата) и I_{max} – интегральный показатель перекисного окисления липидов (ПОЛ).

В 1-е сутки после воздействия коронным разрядом 5 импульсов (табл. 1) на интактных животных, уровень суммарной АОА (S) крови уменьшается в 1,8 раза. Поскольку в плазме показатель АОА и ПОЛ (I_{max}) изменялись незначительно, можно сделать предположение, что основные свободнорадикальные реакции развиваются на мембранах эритроцитов.

Через 6 сут после воздействия коронным разрядом 5 импульсов уровень АОА крови увеличивается на 33 % по сравнению с группой сразу после воздействия, в плазме – снижается в 1,5 раза; ПОЛ в крови уменьшается в 1,6 раза, а в плазме увеличивается в 1,4 раза. Таким образом, через 6 сут после воздействия уровень АОА в крови стабилизируется. Основные антиокислительные и свободнорадикальные процессы развиваются в плазме. Уровень ПОЛ увеличивается в 1,4 раза, соответственно происходит накопление свободных

Таблица 1. Изменение информативных показателей S и I_{max} хемилюминесценции проб крови и плазмы интактных животных после воздействия коронным и искровым разрядами

| Схема опыта | Хемилюминесценция, мВ | | | |
|--------------------------|-----------------------|------------------|--------------|------------------|
| | Эритроциты | | Плазма | |
| | S | I _{max} | S | I _{max} |
| Контроль | 16,84±0,42 | 1,817±0,1393 | 111,4±2,255 | 15,59±0,6423 |
| Коронный разряд 5 имп. | | | | |
| 1 сут | 31,32±0,6725* | 2,036±0,1102 | 115,9±1,683 | 13,82±0,282 |
| 6 сут | 21,0±0,3187 | 1,318±0,0394* | 165±6,047* | 21,9±1,291* |
| 12 сут | 23,53±0,3262 | 2,14±0,099 | 126,1±3,1 | 20,21±0,6916* |
| Коронный разряд 50 имп. | | | | |
| 1 сут | 23,13±0,6501 | 2,207±0,094 | 123,5±6,453 | 15,69±1,181 |
| 6 сут | 29,46±0,8186* | 1,647±0,0505 | 135,7±3,116 | 16,91±0,4683 |
| 12 сут | 29,27±0,486* | 2,344±0,0889 | 98,41±2,151 | 13,08±0,482 |
| Искровой разряд 100 имп. | | | | |
| 1 сут | 21,25±0,311 | 1,712±0,086 | 109,3±3,506 | 15,38±0,7013 |
| 6 сут | 30,77±1,494* | 2,8±0,2188 | 132,5±2,022* | 18,55±0,4832 |
| 12 сут | 22,36±0,4819 | 1,789±0,127 | 94,63±2,094 | 13,69±0,46 |
| Искровой разряд 300 имп. | | | | |
| 1 сут | 18,66±0,5248 | 1,888±0,1192 | 108,88±3,294 | 17,5±0,9217 |
| 6 сут | 29,79±0,8407* | 3,668±0,206* | 115±3,928 | 14,04±0,6941 |
| 12 сут | 26,52±0,375 | 1,963±0,0676 | 112,9±2,44 | 17,26±0,598 |

Примечание. Здесь и в табл. 2 * $P \leq 0,05$ относительно контроля.

радикалов и гидроперекисей липидов.

Через 12 сут после воздействия коронным разрядом 5 импульсов показатели АОА и ПОЛ приближаются к значениям контрольной серии.

После воздействия коронным разрядом 50 импульсов в 1-е сутки уровень АОА в крови достоверно снижается, а ПОЛ увеличивается незначительно, в плазме эти показатели не отличаются от контроля. Внесение большей порции свободных радикалов в кровь приводит к их рекомбинации, которые имеются в этом субстрате, и к обрыву цепей свободнорадикальных реакций.

Через 6 и 12 сут после воздействия коронным разрядом 50 импульсов уровень АОА в крови снижается в 1,8 раза, ПОЛ в крови и плазме изменяется достоверно.

Таким образом, воздействие коронным разрядом 50 импульсов снижает АОА крови на 6-е сутки и практически не изменяет свободнорадикальный статус плазмы крови крыс.

Сразу после воздействия искровым разрядом 100 и 300 импульсов в крови АОА

и ПОЛ незначительно уменьшаются, в плазме практически не изменяются. Через 6 сут после воздействия таким разрядом АОА уменьшается в 1,45–1,5 раза, уровень ПОЛ увеличивается в 1,6–1,8 раза в крови. Через 12 сут после воздействия на интактных животных искровым разрядом 100 и 300 импульсов происходит выравнивание до контрольных значений.

Можно предположить, что внесение большей (коронный разряд 50 импульсов, искровой разряд 100 и 300 импульсов) порции свободных радикалов приводит к рекомбинации свободных радикалов и обрыву цепей свободнорадикальных реакций.

Весьма информативными показателями при оценке гомеостаза организма как в норме, так и при различных патологических процессах являются сиаловые кислоты. Причем по изменению их содержания можно оценить состояние клеточных мембран.

Показано, что физические воздействия, используемые в нашем эксперименте, являются мощными стрессорными факто-

рами и способствуют активации стрессреализующих механизмов. Реакция живых объектов на данные факторы повторяет общебиологические закономерности в такой последовательности: латентный период, который отличается длительностью 5–7 сут, стадия активации, стадия ингибции функций, что согласуется с полученными нами результатами (табл. 2).

Как видно из табл. 2, сразу после воздействия на организм крыс искровым разрядом (100 и 300 импульсов) концентрация сиаловой кислоты уменьшается в 1,3–1,5 раза по сравнению с интактными животными, на 6-е сутки наблюдается максимальное снижение (в 2,9 и 1,7 раза соответственно). На 12-е сутки после облучения этот показатель повышается на 52–57 % по сравнению с контролем.

Таким образом, из полученных результатов видно, что при воздействии на крыс искровым разрядом на 1-е и 6-е сутки наблюдается снижение концентрации сиаловой кислоты в плазме крови, по-видимому, в результате окислительной модификации молекулы сиаловой кислоты.

Концентрация сиаловой кислоты при воздействии коронным разрядом увеличилась в 1,4 раза на 6-е сутки, и в 1,8–2 раза на 12-е сутки.

Итак, после воздействия коронным и искровым разрядами, как ответ на окислительный стресс, наблюдается повышение концентрации сиаловых кислот, что может быть связано с влиянием свободнорадикальных продуктов на паренхиму печени, либо с повреждением клеточных структур эритроцитов, содержащих достаточное количество сиаловых кислот. Клетки крови первыми реагируют на изменения в организме при различных физико-химических воздействиях. Показатель кислотной резистентности характеризует стойкость (резистентность) эритроцитов к воздействию соляной кислоты.

Кислотная резистентность после воздействия искровым разрядом 100 импульсов не изменялась, но при воздействии разрядом 300 импульсов в 1-е сутки снижалась в 1,5 раза. Через 6 сут этот показатель увеличивается на 26 % по сравнению с контролем. На 12-е сутки

Таблица 2. Изменение концентрации сиаловой кислоты в плазме и кислотная резистентность эритроцитов крыс после воздействия искровым и коронным разрядами

| Схема опыта | Концентрация сиаловой кислоты, ммоль/л | Кислотная резистентность эритроцитов, отн.ед. |
|--------------------------|--|---|
| Контроль | 1,05 ± 0,07 | 48 ± 10,1 |
| Искровой разряд 100 имп. | | |
| 1 сут | 0,72 ± 0,09* | 46 ± 6,2 |
| 6 сут | 0,36 ± 0,02* | 45 ± 2,1 |
| 12 сут | 1,69 ± 0,16* | 49 ± 4,3 |
| Искровой разряд 300 имп. | | |
| 1 сут | 0,82 ± 0,08 | 32 ± 2,5* |
| 6 сут | 0,59 ± 0,08* | 60 ± 7,1 |
| 12 сут | 1,60 ± 0,10* | 62 ± 10,6 |
| Коронный разряд 5 имп. | | |
| 1 сут | 1,04 ± 0,06 | 60 ± 2,1* |
| 6 сут | 1,43 ± 0,07* | 36 ± 8,3 |
| 12 сут | 1,86 ± 0,07* | 60 ± 9,5* |
| Коронный разряд 50 имп. | | |
| 1 сут | 1,09 ± 0,18 | 60 ± 6,4* |
| 6 сут | 1,49 ± 0,10* | 43 ± 5,3 |
| 12 сут | 2,19 ± 0,09* | 53 ± 5,1 |

резистентность эритроцитов увеличена на 25 % по сравнению с таковой у интактных животных. Коронный разряд (5 и 50 импульсов) изменял резистентность эритроцитов практически одинаково. В 1-е сутки увеличилась устойчивость клеток на 25–28 %, на 6-е сутки резистентность снизилась почти до контрольных показателей, а на 12-е сутки опять увеличилась на 25 %. Активация СРО и накопление гидроперекисей изменяют проницаемость мембран. Не окисленные жирные кислоты в норме гидрофобны. Гидроперекисные группировки полярны и гидрофильны. При образовании гидроперекисей изменяется гидрофобность липидного бислоя в нем образуются гидрофильные поры. Нарушаются барьерные свойства мембраны, она становится проницаемой и, таким образом, менее резистентна к воздействию гемолитиков. Это происходит с мембранами исследуемых эритроцитов на 6-е сутки после воздействия коронным разрядом, что подтверждают незначительные снижения показателей кислотной резистентности эритроцитов. К 12-м суткам, вероятно, ПОЛ достигает стадии образования оснований Шиффа, в результате чего формируются сшивки на мембранах и происходит увеличение времени, в течение которого механическая прочность мембраны эритроцита противостоит нарастающему осмотическому давлению внутри клетки. Возможно, этим объясняется небольшое увеличение показателей устойчивости эритроцитов к воздействию сиаловой кислоты.

ВЫВОДЫ

1. Коронный (5 импульсов) и искровой (100 импульсов) разряды вызывают возрастание на 6-е сутки и снижение ПОЛ в плазме крови и эритроцитах к 12-м суткам после воздействия. Коронный (50 импульсов) и искровой (300 импульсов) разряды приводят к увеличению уровня ПОЛ на мембранах эритроцитов.

2. Коронные разряды 5 и 50 импульсов вызывают динамические изменения резистентности эритроцитов. Показано снижение на 6-е сутки и возрастание устойчивости эритроцитов к 12-м суткам после воздействия.

3. Изучение процессов, происходящих при воздействии высокоэнергетических импульсных разрядов, позволит разработать новые подходы к коррекции свободнорадикальных состояний клетки и организма.

I.P.Ivanova, V.D. Selemir, G.M.Spirov, E.A.Zujmach, N.V. Prohorova, O.V. Solynina

DYNAMIC INFLUENCE CROWNS AND SPARK PULSE CATEGORIES ON METABOLIC PROCESSES OF BLOOD OF RATS

In work it is investigated influences of pulse categories on a metabolism of not purebred rats in dynamics. Research spent to the first day, through six, in twelve day after influence. It is shown, that category crown 5 of impulses and spark's category 100 of impulses, cause increase oxidations lipids for the sixth day and decrease oxidations lipids in plasma of blood and erythrocytes by twelfth day after influence. Influence category crown 50 of impulses and spark category 300 of impulses leads to increase of a level oxidations lipids on membranes erythrocytes. Categories crown 5 and 50 impulses cause dynamic changes of resistance erythrocytes. Decrease in stability for the sixth day and increase of stability erythrocytes by twelfth day after influence categories crown is shown by pulse categories.

*Nizhniy Novgorod state medical academy;
Russian Federal Nuclear Center, Sarov
Russian Federal Nuclear Center, Sarov*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексеенко А.А., Манкевич Л.Б., Голант М.Б. Применение КВЧ терапии в комбинированном лечении ортопедических больных. – В кн.: Миллиметровые волны в медицине. Сб. статей / Под ред. Н.Д. Девяткова и О.В. Бецкого. – Том 1. – М., 1991. – С. 120–124.
2. Алисов А.П., Алисова О.В., Григорина-Рябова Т.В. Миллиметровые волны в лечении гастродуоденальных язв // Там же. – С. 5–15.
3. Амиров Р.Х., Асиновский Э.И., Самойлов И.С. и др. Динамика диссипации энергии в наносекундном коронном разряде // Теплофизика высоких температур. – 1991. – 29, №6. – С. 1053–1059.
4. Бецкий О. В. КВЧ-терапия // Радио. – 1994. – № 7. – С. 4–6.

5. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972. – 252 с.
6. Гапеев А.Б. Особенности действия модулированного электромагнитного излучения крайне высоких частот на клетки животных. Дис. канд. физ.-мат. наук. – Пушино: Ин-т биофизики клетки РАН., 1997. – 111 с.
7. Гиттельзон А.И., Терсков В.Н. Факторы, влияющие на стойкость эритроцитов в кровяном русле / Вопросы биохимии, биофизики и патологии эритроцитов. – Новосибирск, 1962. – С. 342.
8. Иванова И.П. Опухолевые процессы и высоко-энергетические импульсные факторы // Нижегород. мед. журн. – 2003. – № 1. – С. 81–85.
9. Кузьмина Е. И., Нелюбин Л. С., Щепникова М. К. Биохимия и биофизика микроорганизмов. – М.: Наука, 1983. – 189 с.
10. Павловский А.И., Буранов С.Н., Горохов В.В. и др. Микроструктура токовых каналов и ускорение электронов в высоковольтном диффузном разряде атмосферного давления. – В кн.: Тез. докл. 5-й Всесоюз. конф. по физике газового разряда. – Омск: Изд-во Омск. ун-та – 1990. – Кн. 1. – С.196–197.
11. Пискарев И.М., Севастьянов А.И., Харитонов Г.С. Разложение ароматических соединений, находящихся в водном растворе, под действием электрического коронного разряда над поверхностью жидкости // Химия высоких энергий. – 1997. – 11, № 3. – С. 236–237.
12. Пискарев И.М. Модель реакций при коронном разряде в системе $O_2(g) - H_2O$ // Журн. физ. химии. – 2000. – 74, № 3. – С. 546–551.

*Нижегород. мед. академия, Нижний Новгород;
Рос. Федеральный ядерный центр ВНИИЭФ, Саров*