

УДК 612.821:577.152

РОЛЬ ОКСИДА АЗОТА В РЕАЛИЗАЦИИ МИКРОВАСКУЛЯРНЫХ ЭФФЕКТОВ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО МИЛЛИМЕТРОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Раваева М.Ю.

*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина
E-mail: mraevaeva@ukr.net*

В статье рассматривается влияние низкоинтенсивного миллиметрового излучения на систему синтеза оксида азота. Корреляционный анализ показателей микроциркуляции и системы синтеза оксида азота показал, что 10-тикратное низкоинтенсивное мм-воздействие приводит к оптимизации функциональной активности системы синтеза оксида азота за счет использования циркулирующих пулов нитрит-аниона в крови в оксид азота.

Ключевые слова: микроциркуляция, оксид азота.

ВВЕДЕНИЕ

В наших исследованиях [1, 2] установлено, что в механизмах биологического действия низкоинтенсивного миллиметрового (мм) излучения (длина волны 7,1 мм, ППМ 0,1 мВт/см²) на микроциркуляторные процессы основную роль играют эндотелий-зависимый, миогенный эндотелий-независимый и нейрогенный компоненты регуляции тканевого кровотока. Так, 10-тикратное мм-воздействие приводит к увеличению амплитуд эндотелиальных (Аэ) (максимально на 47,53%; $p \leq 0,05$), миогенных (Ам) (максимально на 56,24%; $p \leq 0,01$), нейрогенных (Ан) (максимально на 29,03%; $p < 0,05$) и пульсовых (Ап) (максимально на 48,37%; $p < 0,05$) на фоне снижения амплитуд дыхательных (Ад) (на 55,9%; $p < 0,05$) ритмов, следствием чего является увеличение выработки вазодилататоров, снижение периферического сопротивления в области артериол и прекапилляров, увеличение притока крови в микрососудистое русло на фоне улучшения веноулярного оттока. Кроме этого, на основании результатов проведенных фармакологических проб предполагается влияние мм-излучения в первую очередь на продукцию оксида азота микроциркуляторным эндотелием. Это предположение находит свое подтверждение в биохимических исследованиях показателей системы синтеза оксида азота в плазме крови [3], в которых установлено, что мм-излучение значительно и избирательно повышает окислительный метаболизм аргинина, приводящий к синтезу оксида азота за счёт высокоспецифической активации его окислительного конститутивного (Ca²⁺-зависимого) *de novo* синтеза. В связи с этим, целью настоящего исследования является установление функциональной зависимости между различными звеньями регуляции микроциркуляции и параметрами системы синтеза оксида азота в организме человека при действии мм-излучения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании принимали участие 70 студентов-волонтеров женского пола в возрасте 21-23 года, условно здоровых. Мм-воздействие осуществлялось по описанной ранее методике [1, 2].

Реакции микрососудистого эндотелия на мм-воздействие исследовали с помощью анализатора микроциркуляции крови «ЛАКК-02» и прибора для проведения функциональных проб «ЛАКК-ТЕСТ» (Россия, «Лазма») [1, 2].

Исследование системы синтеза оксида азота проводилось биохимическими методами до и после мм-воздействия в лаборатории нанобиотехнологий Института биохимии им. А.В. Палладина НАН Украины (г. Киев). Методика исследования описана в [3].

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью пакета «Статистика 5,5». Достоверность различий исследуемых показателей до и после мм-воздействия определялась с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни, корреляционные связи вычислялись методом Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ корреляционных взаимоотношений между параметрами микроциркуляции и показателями системы синтеза оксида азота (табл. 1) показал, что до мм-воздействия доминировали аргиназный и синтазный кальций-независимый пути синтеза оксида азота на фоне слабовыраженного кальций-зависимого. После 10-тикратного мм-воздействия, наоборот, доминирующим становится окислительный кальций-зависимый путь синтеза оксида азота на фоне подавления аргиназного.

Известно, что продукция оксида азота лежит в основе эндотелий-зависимой вазодилатации и результатом повышения концентрации cNOS в плазме крови является увеличение синтеза NO эндотелием. Поскольку в микроциркуляторном русле частотный диапазон секреторной активности эндотелия и синтеза NO совпадают и находятся в диапазоне 0,1 Гц, логичным является наличие функциональной связи между амплитудой эндотелиальных колебаний и показателями синтеза NO. Так, результаты корреляционного анализа (табл. 1) позволили установить сильную корреляционную зависимость ($p \leq 0,05$) амплитуд эндотелиальных колебаний с cNOS ($r=0,46$), %нитрита ($r=-0,46$) и отрицательную связь с аргиназой ($r=-0,43$) и аргиназа/NOS ($r=-0,64$). После 10-тикратного КВЧ-воздействия характер зависимости несколько изменился: усиливается связь с cNOS ($r=0,69$) и % нитрита ($r=-0,43$), исчезает отрицательная корреляция с аргиназой и аргиназа/NOS, а также появляются новые корреляции Аэ с количеством нитрита ($r=-0,52$), мочевиной ($r=-0,51$) и суммарной NOS ($r=0,69$).

Можно заключить, что 10-тикратное мм-воздействие приводит к перестройке функциональных связей эндотелиальных колебаний и системы синтеза оксида азота, в результате чего доминирующим становится окислительный кальций-зависимый путь синтеза оксида азота на фоне подавления аргиназного.

Таблица 1.

Матрица корреляционного анализа показателей синтеза оксида азота и осцилляторных показателей ЛДФ-грамм

Показатели	До КВЧ-воздействия					После КВЧ-воздействия				
	АЭ	АМ	АН	АП	АД	АЭ	АМ	АН	АП	АД
cNOS, пмоль/мин/мг белка	0,46		0,40	0,41	0,36	0,69	0,47	0,61	0,48	0,50
iNOS, пмоль/мин/мг белка		-0,36	-0,47	-0,48	-0,37		-0,38		-0,31	-0,4
Суммарная NOS (cNOS+iNOS), пмоль/мин/мг белка		0,33		0,42	0,44	0,69	0,43	0,51	0,48	0,52
Нитрит-анион, пмоль/мг белка					-0,37	-0,52	-0,36	0,43		-0,39
Мочевина, нмоль/мг белка.						-0,51				
Аргиназа, пмоль/мин/мг белка	- 0,43		-0,41	-0,37			-0,33		-0,42	
Редуктаза, нмоль/мин/мг белка								-0,38		
% нитрита	- 0,46					-0,43		0,37		
% cNOS			0,40							
Аргиназа/NOS , усл.ед.	- 0,64	-0,39								

Примечание: приведены только достоверные ($p \leq 0,05$) результаты корреляций; АЭ – амплитуда эндотелиальных колебаний, АМ – амплитуда миогенных колебаний, АН – амплитуда нейрогенных колебаний, АП – амплитуда пульсовых колебаний, АД – амплитуда пульсовых колебаний.

В пользу активации кальций-зависимых процессов в системе синтеза оксида азота, в частности, кальций-зависимого синтеза NO при мм-воздействии свидетельствует выявление корреляционных связей между показателями синтеза NO и амплитудами миогенных колебаний в ЛДФ-грамме, являющихся отражением осцилляций концентрации ионов Ca^{2+} через мембраны мышечных клеток [4, 5] (табл. 1). Так, исходно выявлена прямая зависимость с суммарной NOS ($r=0,33$) ($p \leq 0,05$) и отрицательные связи ($p \leq 0,05$) с отношением аргиназа/ NOS ($r=-0,39$) и iNOS ($r=-0,36$), однако после мм-воздействия усилились зависимости между NOS

($r=0,43$) и iNOS ($r=-0,38$) и появились новые: с нитритом ($r=-0,36$), аргиназой ($r=-0,33$) и самая сильная связь с кальций-зависимой cNOS ($r=0,47$). Следовательно, до мм-воздействия наблюдалось доминирование активности аргиназного пути метаболизма оксида азота, а после мм-воздействия – окислительного синтазного.

Таким образом, наличие сильных корреляционных связей и их динамика подтверждают данные [6, 7], что эндотелиальные клетки и их секреторирующая NO функция являются главной мишенью для воздействия ЭМИ. Можно предположить прямое действие мм-излучения на эндотелий сосудов и возникновение определенного резонанса между мм-волнами и синтезом эндотелием NO.

NO функционирует в центральной и вегетативной нервной системах, участвуя в формировании длительных связей между нейронами и обеспечивая регулирующее действие вегетативной нервной системы и нейрогуморальную регуляцию функций организма. Показано, что NO-ергическая система находится в тесной взаимосвязи со стресс-лимитирующими системами и ограничивает активность стресс-реализующих систем, в частности симпатoadреналовой системы [8, 9]. На уровне микроциркуляции именно с симпатическими адренергическими (в основном терморегуляторными) влияниями на гладкие мышцы артериол и артериолярных участков артерио-веноулярных анастомозов [10, 11] связаны нейрогенные осцилляции тканевого кровотока, амплитуда которых при действии мм-излучения увеличивается, что свидетельствует о снижении вазоконстрикции. Анализ корреляционных связей подтверждает NO-зависимость данного эффекта. Так, до мм-воздействия достоверная ($p \leq 0,05$) корреляция наблюдалась с cNOS ($r=0,40$), аргиназой ($r=-0,41$), %cNOS ($r=0,40$) и iNOS ($r=-0,47$). После мм-воздействия усилилась зависимость с cNOS ($r=0,61$), появились новые связи с нитритом ($r=0,43$), % нитрита ($r=0,37$), редуктазой ($r=-0,38$) и NOS ($r=0,51$) (табл. 1).

Рассматривая возможные пути увеличения активности NO под влиянием мм-воздействия, выделяют три уровня реализации эффектов: непосредственное влияние на клетки – аутокринное действие; влияние на ткань в целом – паракринная регуляция деятельности соседних клеток и центральные эффекты – NO-зависимые изменения нервной и гуморальной регуляции [12]. Аутокринное и паракринное действие NO под влиянием мм-волн находит свое отражение в модуляции амплитуд миогенных и эндотелиальных осцилляций микрокровоотока и обусловлено выделением эндотелиальными клетками оксида азота, который диффундирует к миоцитам, где происходит активация гуанилатциклазы, ингибирование поступления ионов Ca^{2+} в цитоплазму и препятствует вазоконстрикции. О центральных NO-опосредованных эффектах мм-излучения можно судить и по амплитудам дыхательных и пульсовых колебаний тканевого кровотока. Исследования динамики показателей корреляционного анализа системы синтеза оксида азота и пассивных факторов регуляции микроциркуляции (табл. 1) показал усиление исходных связей и отсутствие новых значимых зависимостей.

В целом, результаты исследования позволяют говорить о наличии достаточно тесной функциональной зависимости между микроциркуляторными процессами и характером функционирования системы синтеза оксида азота в организме человека.

Полученные в настоящем исследовании данные позволили констатировать не только важную роль оксида азота в реализации эффектов мм-воздействия, но и выделить специфику иерархической организации отдельных элементов данной системы, заключающейся в доминировании окисного пути синтеза NO при участии конститутивной NO-синтазы и восстановительным ресинтезом NO над аргиназным неокисным процессом деградации L-аргинина, поддерживающего высокие уровни генерации NO. Можно заключить, что 10-тикратное низкоинтенсивное мм-воздействие приводит к оптимизации функциональной активности системы синтеза оксида азота за счет использования циркулирующих пулов нитрит-аниона в крови в оксид азота, что явились существенно более логичным с физиологической точки зрения, поскольку подобная возможность синтеза NO не только из L-аргинина, но также из нитритных и нитратных ионов названа «безотходным воспроизводством этого физиологически активного соединения» [13] и, по-праву является одним из механизмов экономного использования источника NO, каким является L-аргинин и поддержания NO в пределах физиологической нормы. Особенностью данного биохимического пути превращения NO в организме млекопитающих является непосредственное участие в этом процессе гемсодержащих белков, находящихся в дезокси-форме [14, 15], таких как дезоксигемоглобина [16] и миоглобина [17].

Можно заключить, что 10-тикратное мм-воздействие изменяет и оптимизирует орнамент функциональных связей в системе синтеза оксида азота, при этом доминирующим в этой системе становится окислительный путь и активация конституционного *de novo* синтеза NO.

Настоящее исследование не только подтверждает литературные данные, но и значительно дополняет их сведениями о том, что одним из возможных механизмов действия мм-излучения на микрогемодинамику является изменения активности системы синтеза оксида азота.

ВЫВОД

Полученные в настоящем исследовании данные позволили выделить специфику иерархической организации отдельных элементов данной системы синтеза оксида азота, заключающейся в доминировании окисного пути синтеза NO при участии конститутивной NO-синтазы и восстановительным ресинтезом NO над аргиназным неокисным процессом деградации L-аргинина, поддерживающего высокие уровни генерации NO.

Список литературы

1. Чуян Е. Н. Влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты на процессы микроциркуляции [Текст] / Е. Н. Чуян, Н. С. Трибрат // Ученые записки Таврического нац. ун-та им. В. И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2008. – Т. 21(60), № 1. – С. 156–168.
2. Механизмы действия низкоинтенсивного миллиметрового излучения на тканевую микрогемодинамику / Е.Н. Чуян, Н.С. Трибрат, М.Н. Ананченко, М.Ю. Раваева. – Симферополь. – 2011: Информ.-изд. отдел ТНУ им. В. И. Вернадского. - 324 с.
3. Раваева М.Ю.; Чуян Е.Н. Изменение активности системы синтеза оксида азота под действием низкоинтенсивного миллиметрового излучения // Ученые записки ТНУ им. В. И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2011. – Т. 24 (63), № 4. - С. 260-268.

4. Stefanovska A. Physics of the human cardiovascular system. / A. Stefanovska, M. Bracic // Contemporary Physics. – 1999. – V. 40, № 1. – P.31-35.
5. Микроциркуляция в кардиологии / [под ред. В.И. Маколкина]. – М., 2004. – 36с.
6. Okano H. Decreased plasma levels of nitric oxide metabolites, angiotensin II and aldosterone in spontaneously hypertensive rats exposed to 5 mT static magnetic field / H. Okano, H. Masuda, C. Ohkubo // Bioelectromagnetics. – 2005. – №26. – P. 161–172.
7. Киричук В.Ф. Оксид азота и микроциркуляторное звено системы гемостаза (обзор литературы) / В. Ф. Киричук, Е. А. Андронов, А. Н. Иванов, Н. В.Мамонтова // Успехи физиол. наук. — 2008. — Т. 39, № 4. — С. 83—91.
8. Paul V. A role of nitric oxide as an inhibitor of gamma-aminobutyric acid transaminase in rat brain. / V. Paul, A. Jayakumar // - Brain Res. Bull, 2000, v.51, p.43-46.
9. Armstead W.M. Nitric oxide contributes to opioid release from gliaduring hypoxia./ W.M. Armstead // - Brain Resю – 1998. – V. 813. – P. 398-401.
10. Крупаткин А. И. Влияние симпатической иннервации на тонус микрососудов и колебания кровотока кожи / А. И. Крупаткин // Физиология человека. – 2006. – Т. 32, № 5. – С. 95.
11. Active and passive modulation of cutaneous red cell flux as measured by Laser Doppler anemometry / H. Schmid – Schonbein, S. Zied, W. Rutten, H. Heidtmann // VASA . – 1992. – V.34. – P. 38-47.
12. Сосунов А.А. Оксид азота как межклеточный посредник // Соровский образовательный журнал. — 2000. — Т. 6. — С. 27-34. Киричук В.Ф., 2004
13. Реутов В.П. Оксид азота (NO) и цикл NO в миокарде: молекулярные, биохимические и физиологические аспекты / В. П. Реутов, В. Е. Охотин, А. В. Шуклин и др. // Успехи физиол. наук. – 2007. – Т. 38, № 4. – С. 39–58.
14. Реутов В.П. Проблема оксида азота в биологии и медицине и принцип цикличности: ретроспективный анализ идей принципов и концепций. / В.П. Реутов, Е.Г. Сорокина, Н.С. Косицын, В.Е. Охотин // М.: Едиториал УРСС, 2003. 96 с.
15. Реутов В.П. Цикл оксида азота в организме млекопитающих и принцип цикличности / В.П. Реутов // Биохимия. – 2002. – Т.67. №3. – С. 353-376.
16. Генерация оксида азота при окислении ферро-формы гемоглобина нитритом / И. И. Степура [и др.] // Биохимия. – 1997. – Т. 62, № 9. – С. 1122–1129.
17. Стародуб Н.Ф. Миоглобин: структура, свойства, синтез биологическая роль. / Н.Ф. Стародуб, В.Н. Коробов, В.И. Назаренко // Киев: Наук. Думка, 1992. 284 с.

Раваєва М.Ю. Роль оксиду азоту в реалізації мікроеваскулярних ефектів низькоінтенсивного міліметрового випромінювання // М.Ю. Раваєва // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2012. – Т. 25 (64), № 3. – С. 165-170.

У статті розглянуто вплив низькоінтенсивного міліметрового випромінювання на систему синтезу оксиду азоту. Кореляційний аналіз показників мікроциркуляції та системи синтезу оксиду азоту показав, що 10-разова дія низькоінтенсивним міліметровим випромінюванням призводить до оптимізації функціональної активності системи синтезу оксиду азоту за рахунок використання циркулюючих пулів нітрит-аніону в крові до оксиду азоту.

Ключові слова: міліметрове випромінювання, мікроциркуляція.

Ravaeva M.Y. The role of nitric oxide in the implementation by microvascular effects of millimeter radiation low intensity // M.Y. Ravaeva // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2012. – Vol. 25 (64), No 3. – P. 165-170.

The article is considered the impact of low-intensity millimeter radiation on the system of nitric oxide synthesis. Correlation analysis of microcirculation parameters and nitric oxide showed that the 10-fold effect by millimetric radiation low intensity leads to the optimization of the functional activity of nitric oxide synthesis by the use of the pool circulating of nitrite anion in blood to nitric oxide.

Keywords: millimeter radiation, microcirculation.

Поступила в редакцію 17.09.2012 г.