

УДК: 57.081:59.082:615.83:577.15

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭМИ КВЧ КАК КОРРЕГИРУЮЩЕГО ФАКТОРА НАРУШЕНИЙ В ПРОТЕАЗО-АНТИПРОТЕАЗНОЙ СИСТЕМЕ ПРИ ДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Палёная Ю.В., Харченко В.З., Темурьянц Н.А., Чуян Е.Н.

В настоящее время отмечается повсеместный рост онкологических заболеваний, в связи с чем остро стоит вопрос о разработке новых и совершенствовании традиционных способов их лечения. Традиционные противоопухолевые методы лечения - химио- и лучевая терапия вызывают развитие тяжелых побочных эффектов [1 - 3]. В связи этим необходима разработка способов и средств снятия этих осложнений. Для эффективной разработки таких способов необходимо дальнейшее углубленное изучение. Известно, что в развитии различных патологических состояний важную роль их генеза играют сывороточные и тканевые протеазы и их ингибиторы. Их баланс при действии ионизирующих излучений не изучен. Вместе с тем в настоящее время в онкологии предложено применение низкоинтенсивного электромагнитного излучения (ЭМИ) крайне высокой частоты (КВЧ), обладающего выраженной терапевтической активностью [4 - 8]. Комбинированное действие ЭМИ КВЧ и ионизирующего излучения на протеазо-ингибиторную систему крови не изучено.

В связи с изложенным целью настоящего исследования явилось изучение влияния низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ на протеазо-антипротеазную систему крови у крыс подвергнутых действию ионизирующего излучения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены на 36 взрослых белых крысах-самцах линии Вистар массой 180-220 грамм, полученных из питомника научно-исследовательского института биологии Харьковского национального университета им. В.Н. Каразина. Для экспериментов отбирали животных со средним уровнем двигательной активности и низкой эмоциональностью, определяемых в тесте «открытого поля», которые преобладают в популяции [7, 9]. В связи с чем, можно утверждать, что именно у этих животных развивается наиболее типичная реакция на любое воздействие.

Экспериментальные животные были разделены на четыре равноценные группы. Первая группа здоровых животных, находившихся в соответствующих условиях вивария, служила контрольной. Вторая группа животных подвергалась тотальному облучению в дозе 6 Гр. Третья группа - действию ЭМИ КВЧ. В четвертой группе

крысы подвергались комбинированному действию ионизирующего излучения и ЭМИ КВЧ.

Воздействие низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ проводили с помощью терапевтического генератора «КВЧ. РАМЕД-ЭКСПЕРТ - 01» с длиной волны 7,1 мм (частота излучения - 42,3 ГГц) и плотностью потока мощности 0,1 мВт/см², изготовленного Центром радиофизических методов диагностики и терапии «РАМЕД» Института технической механики НАНУ, г. Днепропетровск (регистрационное свидетельство № 783/99 от 14.07.99, выданное КНМТ МОЗ Украины о праве на применение в медицинской практике в Украине). Воздействие осуществлялось по 30 минут на затылочно-воротниковую область в течение 9 дней эксперимента [9, 10].

Однократное тотальное воздействие гамма-излучением проводили с использованием установки «АГАТ-Р-1» мощностью излучения 11,55 мЗв/сек в дозе 6 Гр в течение 580 секунд. Девятидневное воздействие ЭМИ КВЧ на животных четвертой группы предшествовало гамма-излучению.

Материалом исследования служила сыворотка крови. Забор крови при декапитации под легким эфирным наркозом проводили у животных, подвергнутых действию ЭМИ КВЧ на 9 сутки воздействия, а у животных 2 и 3 групп на 3 день после действия гамма-излучения, так как в этот день по результатам предыдущих исследований были зарегистрированы наиболее выраженные изменения изучаемых показателей в сыворотке крови [5, 11].

Так как основными ферментами, характеризующими протеолитический потенциал сыворотки крови, являются трипсин и эластаза, а альфа-1-ингибитор протеиназ обеспечивает 90% антитриптической активности сыворотки крови, кроме того, является ингибитором химотрипсина, тромбина и эластазы [12] проводили их определение с использованием специфических субстратов - этилового эфира N-бензоил-L-аргинина (БАЭЭ) и N-т-бок-аланил-п-нитрофилового эфира (БАНФЭ) фирмы «Reanal» [12, 13]. Кроме того, определение концентрации среднемолекулярных олигопептидов (СМО), являющихся маркером эндогенной интоксикации, проводили по методике Н.И. Габриэлян и соавторов [14].

После проверки данных на закон нормального распределения обработку и анализ экспериментальных данных проводили с помощью параметрических методов. В качестве критерия оценки достоверности наблюдаемых изменений использовали t-критерий Стьюдента. Обработка результатов осуществлялась с использованием стандартных статистических программ.

Эксперименты проводились с соблюдением принципов «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986) и Постановления первого национального конгресса по биоэтике (Киев, 2001).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При действии ионизирующего излучения обнаружен дисбаланс протеазо-ингибиторной системы сыворотки крови, связанный с ростом протеолитической активности и падением уровня ингибиторов данных ферментов. При этом

обнаружено увеличение ТПА и ЭПА на 75,9% ($p<0,001$) и 26,5% ($p<0,05$), которое сопровождалось снижением уровня ингибитора на 16,3% ($p<0,001$) (рис.).

Следствием дисбаланса в протеазо-антипротеазной системе является повышение уровня среднемолекулярных олигопептидов - маркеров эндогенной интоксикации, концентрация которых на 3 сутки после действия ионизирующего излучения на 159,2% ($p<0,01$) превышала значение изученных показателей в контрольной группе животных (рис.) [13]. Чрезмерное увеличение активности протеолитических ферментов являлось причиной деструктивных изменений, связанных с неконтролируемым разрушением белковых молекул. Данные изменения могли повлечь за собой усиление повреждающего воздействия излучения на организм.

Изолированное воздействие ЭМИ КВЧ приводило к незначительным изменениям в активности протеолитических ферментов в сыворотке крови. Так, трипсиноподобная активность снижалась на 28,4%, уровень эластазоподобной активности возрастал на 9,3% относительно значений в контрольной группе животных ($p<0,01$). Активность альфа-1-ингибитора протеиназ и уровень среднемолекулярных олигопептидов при данном виде воздействия также имел тенденцию к снижению, но изменения этих показателей были гораздо менее выражены, чем при действии ионизирующего излучения (рис.). Эффект снижения протеолитической активности при действии КВЧ был обнаружен ранее с использованием цитохимических методов [5].

У крыс, которые подвергались превентивному действию ЭМИ КВЧ перед однократным гамма-излучением трипсиноподобная активность значительно снижалась (на 46,65%, $p<0,01$) относительно показателей, зарегистрированных при изолированном действии ионизирующего излучения и приближалась к значению этого показателя в контрольной группе крыс. Аналогичные изменения зарегистрированы и при изучении эластазоподобной активности сыворотки крови. При этом уровень ингибитора протеолитических ферментов увеличивался на 17,07% ($p<0,01$) по сравнению с контрольными значениями. Полученные данные подтверждают литературные, в которых описан факт снижения протеолитической активности ЭМИ КВЧ диапазона при действии стрессовых факторов [7].

Концентрация среднемолекулярных олигопептидов в сыворотке крови животных данной группы была достоверно выше контрольных значений на 31,25% ($p<0,01$), а при самостоятельном действии гамма-излучения данный показатель на 159,24% ($p<0,01$) превышал величины, зарегистрированные у здоровых животных (рис.).

Протеолитическая активность сыворотки крови при комбинированном действии двух видов излучений была значительно ниже по сравнению с изолированным действием ионизирующего излучения, но не приближалась к контрольным значениям. Отмеченная тенденция к снижению активности протеолитических ферментов и увеличению уровня их ингибиторов свидетельствует о том, что превентивное действие ЭМИ КВЧ способствует активации компенсаторных механизмов здоровых тканей, т.е. «готовит» их к действию более мощного повреждающего фактора. Литературные данные

свидетельствуют, что миллиметровые волны могут выступать в роли протектора. По-видимому, это происходит вследствие повышения пролиферативной активности стволовых клеток, что в свою очередь приводит к повышению митотической активности клеток костного мозга [6].

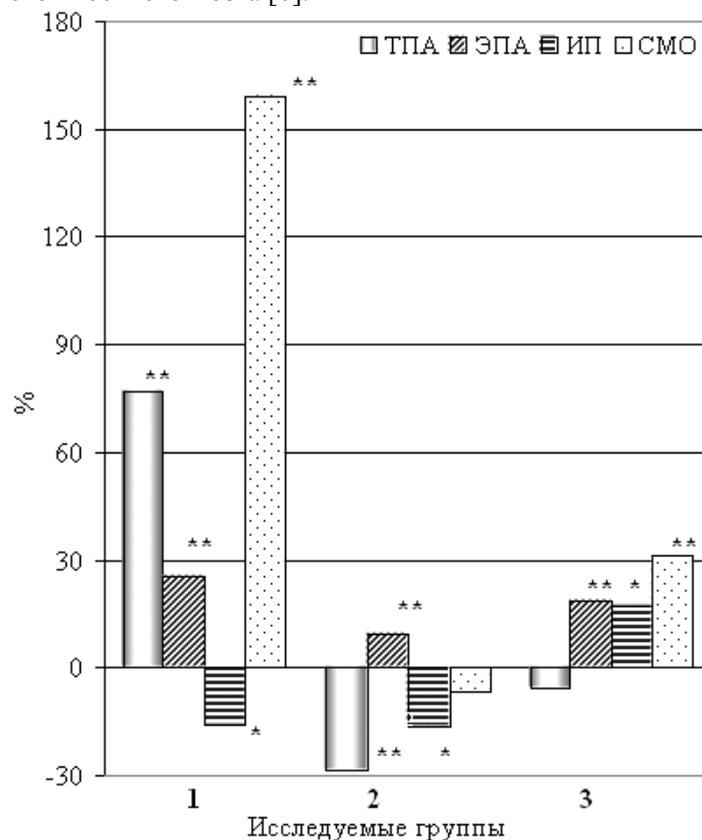


Рис. Изменение активности протеолитических ферментов и их ингибиторов, уровня среднемолекулярных олигопептидов при действии ЭМИ КВЧ и ионизирующего излучения.

Примечание: 1 - гамма-излучение; 2 - ЭМИ КВЧ; 3 - ЭМИ КВЧ + гамма-излучение; * - достоверность различий между показателями при $p < 0,05$; ** - достоверность различий между показателями при $p < 0,01$;

Данные, об уменьшении уровня протеолитических ферментов в сыворотке крови у животных, подверженных комбинированному воздействию двух видов излучений, полученные нами в результате эксперимента, подтверждаются снижением уровня интоксикации и дополняют имеющиеся в литературе сведения о протекторной роли электромагнитных излучений миллиметрового диапазона путем определения некоторых молекулярных механизмов, имеющих изменения [3, 8, 15, 16].

ВЫВОДЫ

1. Однократное тотальное действие ионизирующее излучение в дозе 6 Гр приводило к возникновению протеазо-ингибиторного дисбаланса, сыворотке крови животных, связанного с повышением активности протеолитических ферментов и падением уровня их ингибиторов на фоне выраженного эндотоксикоза.

2. Изолированное действие электромагнитного излучения крайне высокой частоты на здоровых животных приводило к снижению трипсиноподобной активности, уровня альфа-1-ингибитора протеиназ и среднемoleкулярных олигопептидов на 28,44%, 16,17% и 6,79%, соответственно, и тенденции к повышению эластазоподобной активности на 9,27% по сравнению с контрольными значениями.

3. Превентивное действие электромагнитного излучения крайне высокой частоты снижало повреждающее действие ионизирующего излучения в дозе 6 Гр, что подтверждается менее выраженными изменениями в протеазо-ингибиторной системе и значительным снижением уровня эндотоксикоза в сыворотке крови животных.

Список литературы

35. Голдобенко Г. В., Дурнов Л.А., Абдрахманов Ж. Детская радиационная онкология. - Алма-Ата: Казахстан, 1991. - 198 с.
36. Голдобенко Г.В., Костылев В.А. Краткое практическое руководство по детской радиационной онкологии. - М.: Медицина, 1995. - 186 с.
37. Теплоне М.В., Авакян Р.С. Крайне высокочастотная (КВЧ)-терапия в онкологии // Миллиметровые волны в биологии и медицине. - 2003. - № 1 (29). - С. 3-19.
38. Жукова Г.В. О влиянии низкочастотной модуляции на антистрессорные эффекты миллиметровых волн // Миллиметровые волны в биологии и медицине. - 2002. - №3 (27). - С.55-63.
39. Темуриянц Н.А., Туманянц Е.Н., Московчук О.Б. и др. Превентивное антистрессорное действие ЭМИ КВЧ // Миллиметровые волны в биологии и медицине. - 2002. - №2 (26) - С. 44-51.
40. Лебедева Н.Н., Котровская Т.И. Экспериментально-клинические исследования в области биологических эффектов миллиметровых волн // Миллиметровые волны в биологии и медицине. - 2003. - №1. - С.20-43.
41. Чуян Е.Н. Влияние миллиметровых волн нетепловой интенсивности на развитие гипокинетического стресса у крыс с различными индивидуальными особенностями: Автореф. дисс. ... канд-та биол. наук: 03.00.13 / СГУ. - Симферополь, 1992. - 20 с.
42. Девятков Н.Д., Бецкий О.В. Особенности взаимодействия миллиметрового излучения низкой интенсивности с биологическими объектами. - В сб.: Применение миллиметрового излучения низкой интенсивности в биологии и медицине. Под ред. академика Н.Д.Девяткова. - М.: ИРЭ АН СССР, 1985. - С. 6-20.
43. Сантана Вега Л. Роль индивидуальных особенностей двигательной активности в развитии гипокинетического стресса у крыс: Автореф. дис...канд. биол. наук: 03.00.13 / СГУ. - Симферополь, 1991. - 21 с.
44. Чуян Е.Н., Джелдубаева Э.Р. Зависимость анальгетического действия низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ от наличия поляризации и экспозиции воздействия. // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». - 2006. - Т. 19 (58). - № 2. - С. 3-16.
45. Палёная Ю.В. Состояние протеолиза и эндотоксикоза в радиочувствительных и радиорезистентных органах крыс при действии ионизирующего излучения // Экосистемы Крыма, их оптимизация и охрана. - 2006. - Вып. 16. - С.18-23.

46. Кринская А.В., Пасхина Т.С. Количественное определение калликреина и калликреиногена в сыворотке (плазме) крови человека // Современные методы биохимии. - М.: Медицина, 1977. - С.163-170.
47. Оглоблина О.Г., Платонова Л.В., Мясникова Л.В. Активность протеиназ гранулоцитов и уровень кислотостабильных ингибиторов протеназ в бронхоальвеолярном секрете детей с бронхопатиями различной этиологии // Вопросы медицинской химии. - 1980. - №3. - С.387-392.
48. Габриэлян Н.И., Липатова В.И. Опыт использования показателя средних молекул в крови для диагностики нефрологических заболеваний у детей // Лабораторное дело. - 1984. - № 3. - С.138-140.
49. Севастьянова Л.А., Голант М.Б., Зубенкова Э.С. Действие радиоволн миллиметрового диапазона на нормальные ткани и злокачественные новообразования. - В сб.: Применение миллиметрового излучения низкой интенсивности в биологии и медицине. Под ред. академика Н.Д.Девяткова. - М.: ИРЭ АН СССР, 1985. - С. 37-49.
50. Севастьянова Л.А., Потапов С.Л., Адаменко В.Г. Комбинированное воздействие рентгеновского и сверхвысокочастотного излучения на костный мозг // Научные доклады высшей школы, сер. Биологические науки. - 1969. - № 66 (6). - С. 46-48.

Поступила в редакцию 12.10.2006 г.