

НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ПРИ РОСТОВСКОМ
ГОСУДАРСТВЕННОМ УНИВЕРСИТЕТЕ

Отчет

о научно-исследовательской работе

**ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНЕТИКО-БИОХИМИЧЕСКОЙ
ЕМКОСТИ АДАПТАЦИОННЫХ И РЕПАРАЦИОННЫХ
СИСТЕМ В РАЗЛИЧНЫХ ТКАНЯХ РАСТЕНИЙ И
ЖИВОТНЫХ ПОСЛЕ ОБРАБОТКИ СКЭНАРОМ В
УСЛОВИЯХ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО И ОЖОГОВОГО
СТРЕССА**

Этап 2

Срок выполнения работы

01.04-31.06 2001

Исполнители

Гуськов Евгений Петрович- д.б.н., профессор - научный руководитель

Шкурат Татьяна Павловна- д.б.н, профессор - оценка генетических последствий воздействия СКЭНАР-терапии в модельных условиях.

Прокофьев Виктор Николаевич - с.н.с, к.б.н - хемилюминесцентный анализ.

Милютина Наталья Петровна - с.н.с, к.б.н - определение перекисного окисления липидов, микровязкости мембран.

Машкина Елена Владимировна к.б.н., н.с - определение активности антиоксидантных ферментов. Оценка пролиферативной активности эпителиальных клеток роговицы глаза.

Мирзоян Арсен Вячеславович - м.н.с. - определение внеэритроцитарного гемоглобина и СПА.

Тимофеева Ирина Владимировна к.б.н., с.н.с. - цитологический анализ -формула лейкоцитов периферической крови. Цитогенетический анализ клеток костного мозга.

Беличенко Нина Ивановна - к.б.н., доцент - цитогенетический анализ эпителиоцитов роговицы глаза.

Покудина Инна Олеговна -н.с. - оценка репаративной активности тканей с помощью SOS-lux теста.

Введение

В последние годы все больше исследователей поддерживают гипотезу об участии активных форм кислорода в развитии многих патофизиологических процессов. Они могут выступать в качестве посредников при канцерогенезе и других болезнях человека - ишемия, инсульт, бронхиальная астма, диабет, атеросклероз и др. (Bogos et al., 1989; Goldstein, 1990; Kasai et al., 1991; Halliwell, 1998; Sahnoim et al., 1998), а также вызывать повреждения ДНК, инактивировать ферменты и гормоны, вызывать деструкцию мембран и теломерных участков хромосом и, в конечном итоге, вызвать гибель клетки (Chiu et al., 1989, 1997; Bunout, Cambiazo, 1999; Kang et al., 1999; Bohr et al., 1999).

С другой стороны, СКЭНАР-терапия рекомендуется для лечения широкого спектра нозологии, в частности, сопровождающихся окислительным стрессом.

В связи с этим, мы сочли целесообразным провести модельный эксперимент на животных, подвергнутых ГБО-индуцированному окислительному стрессу, которые впоследствии проходили СКЭНАР-терапию.

Целью данного исследования была интегральная оценка биохимических, цитологических, биофизических, цитогенетических и молекулярно-генетических показателей в различных тканях животных, подвергнутых ГБО-индуцированному окислительному стрессу и СКЭНАР-терапии.

Материал и методы

Эксперимент проводили на белых беспородных крысах весом 100-200г. Животные были разделены на 4 группы по 6 животных в каждой. Первая группа животных - интактный контроль. Животных второй группы подвергали СКЭНАР - обработке (сеанс в режиме Var интенсивность раздражения 10 Fm) в течение 5 суток ежедневно. Декапитацию животных проводили через 24 часа после последнего сеанса. У животных третьей группы окислительный стресс моделировали воздействием повышенного давления кислорода (0,5 МПа - 1 час). Декапитацию проводили через 6 дней после ГБО. В четвертой серии эксперимента после ГБО-индуцированного окислительного стресса животных в течение 5 дней обрабатывали СКЭНАРом в указанном режиме.

Биохимические методы исследования проводили на следующих тканях и органах: кровь, мозг, печень. Для изучения интенсивности реакций перекисного окисления липидов (ПОЛ) определяли уровень содержания в гомогенатах исследуемых тканей таких продуктов ПОЛ, как диеновые конъюгаты (ДК), малоновый диальдегид (МДА) и шиффовые основания (ШО). Активность антиоксидантной системы определяли по уровню супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы. Интенсивность свободно-радикальных процессов в этих же тканях оценивали по уровню спонтанной, индуцированной и клеточной хемилюминесценции (ХЛ). Влияние ГБО, СКЭНАРа и их совместного действия на генетический аппарат клетки оценивали анафазно-телофазным методом, т.е. по уровню аббераций хромосом в клетках роговицы глаза, костном мозге. Влияние СКЭНАР-обработки на репаративную активность в различных тканях оценивали SOS-lux-тестом. Так же во всех вариантах опыта была определена формула крови животных.

Результаты исследований

Изучение биохимических последствий СКЭНАР-терапии в различных тканях животных, обработанных повышенным давлением кислорода

Проведено исследование влияния СКЭНАР-терапии на интактных животных и животных, подвергнутых ГБО-индуцированному окислительному стрессу.

Проведенное исследование показывает, что проведение СКЭНАР-терапии интактным крысам (5 сеансов ежедневно) приводит к ингибированию интенсивности ПОЛ в крови, мозгу и печени, что сопровождается снижением уровня молекулярных продуктов ПОЛ. Содержание первичных продуктов ПОЛ - ДК - снижается на 34-39% в плазме крови и печени, тогда как в мозгу их уровень остается в пределах контроля, а в эритроцитах отмечена инициация процесса, сопровождающаяся повышением на 39% уровня ДК. При этом уровень вторичного молекулярного продукта ПОЛ - МДА - снижается на 20-34% в мозгу и печени. Содержание конечных продуктов ПОЛ - ШО - уменьшается на 34-40% в эритроцитах, мозгу и печени (табл. 1, 2, 5, рис.1, 2, 3). Известно, что стационарный уровень ПОЛ в организме поддерживается тонко сбалансированной и сопряженной антиоксидантной системой, которая тормозит усиление свободно-радикального окисления на различных стадиях цепного процесса. Нами установлено, что проведение курса СКЭНАР-терапии интактным животным способствует стимуляции активности важнейших антиоксидантных ферментов - СОД и каталазы, которые тормозят ПОЛ на стадии активации кислорода и зарождении цепи. Активность СОД повышается на 48% в эритроцитах, а каталазы на 74% в тканях печени крыс после СКЭНАР-терапии (табл. 3, 5, рис. 1-3). Активность церулоплазмينا (ЦП), важнейшего антиоксиданта биологических жидкостей остается в пределах контроля в плазме крови, а в ткани мозга снижается на 73% (табл. 4, рис. 1, 2). Последний факт заслуживает внимания, так как ЦП является белком «реакции острой фазы», а в нервной ткани участвует в метаболизме (деградации) нейромедиаторов катехоламинов (Ларский, 1990).

После курса СКЭНАР-терапии уровень фракций молекул средней массы (МСМ), являющихся гетерогенным пулом соединений различной химической природы, в плазме крови не изменяется по сравнению с контролем (табл. 6, рис. 5).

Важнейшим показателем гомеостаза организма является структурное состояние мембран эритроцитов. Как следует из полученных результатов уровень ВЭГ и СПА, являющихся информативными показателями стабильности плазматических мембран форменных элементов крови и, прежде всего эритроцитов (Л у каш и др., 1996), не отличаются от нормы после курса СКЭНАР-терапии. После проведения СКЭНАР-терапии интактным крысам структурные показатели мембран эритроцитов, определяемые с помощью флуоресцентного зонда пирена, остаются в пределах нормы. Следует отметить изменение только одного показателя в этих условиях - снижение коэффициента полярности (КП) - F372/393 (334) липидного бислоя эритроцитарных мембран на 38% относительно контроля (табл. 9, рис. 4). Такие изменения могут играть позитивную роль, так как приводят к снижению полярности гидрофобного бислоя мембраны, а следовательно, могут способствовать ее стабилизации.

Вместе с тем проведение СКЭНАР-терапии интактным крысам приводит к повышению на 69% интенсивности флуоресценции белков гемолизата - F320/400, что, по-видимому, обусловлено окислительной деградацией триптофана с образованием N-формилкинурина, кинурина, индола (Шаронов и др., 1988; Дубинина, 1992). Умеренная инициация свободно-радикальных процессов в эритроцитах при СКЭНАР-терапии подтверждается повышением уровня первичных продуктов ПОЛ. Все это, в целом, может способствовать стимуляции гемопоеза и обновлению циркулирующей популяции эритроцитов, как за счет депо, так и стволовых клеток.

Таким образом, можно заключить, что проведение СКЭНАР-терапии интактным крысам характеризуется выраженным антиоксидантным эффектом, который проявляется в снижении уровня молекулярных продуктов ПОЛ и активации ферментов первичного звена антиоксидантной защиты - СОД и каталазы, а также поддерживается оптимальный структурный гомеостаз эритроцитарных мембран и повышается гидрофобность их липидной фазы, что способствует стабилизации мембран эритроцитов.

В условиях ГБО-индуцированного окислительного стресса наблюдается повышение интенсивности ПОЛ в крови и тканях крыс. Уровень ДК возрастает на 33-36% в плазме крови, эритроцитах и печени, содержание вторичного продукта ПОЛ - МДА не претерпевает существенных изменений, тогда как уровень конечных продуктов ШО - возрастает на 48-86% в крови, мозгу и печени крыс. Интенсификация ПОЛ при действии 0,5 МПа, 1 час связана как с повышением генерации АФК, показанной в многочисленных исследованиях различных авторов (Петровский и др., 1986; Лукаш и др., 1996), так и с ингибированием и нарушением синергизма действия компонентов антиоксидантной системы. Нами установлено, что при действии ГБО (0,5 МПа, 1 час) наблюдается резкая активация СОД в эритроцитах, составляющая 195% по отношению к контролю, тогда как активность каталазы не изменяется. Такой дисбаланс в активности сопряженных ферментов СОД и каталазы может привести к цитотоксическим последствиям — накоплению перекиси водорода, являющейся продуктом дисмутации супероксид аниона, и запуску реакций Фентона, Габера-Вейса, которые генерируют гидроксильный радикал, который усиливает повреждающий эффект.

В мозгу и печени в условиях ГБО-индуцированного окислительного стресса наблюдается ингибирование СОД на 58-74%, тогда как активность каталазы изменяется незначительно.

Депрессия важнейшего фермента первичного звена антиоксидантной защиты неизбежно способствует усилению генерации АФК и повышению интенсивности ПОЛ, что показано в наших исследованиях (табл. 1-5, рис. 1-3).

Некомпенсированная активация ПОЛ при действии ГБО приводит к нарушению стабильности мембран эритроцитов крыс. В условиях ГБО уровни ВЭГ и СПА в плазме крови возрастают на 55% и 22%, что свидетельствует о дестабилизации эритроцитарных мембран. Исследование структурного состояния мембран эритроцитов с помощью зонда пирена показывает, что при ГБО наблюдается повышение на 19% параметра $F_{320}/F_M(282)$, что свидетельствует о снижении микровязкости зон белок-липидных контактов. Кроме того, установлено снижение на 32% параметра F_0-F/F_0 , что указывает на структурные перестройки мембранных белков эритроцитов: снижении степени погружения белков в липидный бислой, а также увеличении олигомеризации мембранных белков. При ГБО установлено снижение на 15% интенсивности флуоресценции белков гемолизата, что может указывать на деградацию ароматических радикалов в полипептидных цепях. При этом уровень молекул средней массы при ГБО изменяется незначительно (табл. 7-9, рис. 4, 5).

Таким образом, ГБО-индуцированный окислительный стресс сопровождается активацией ПОЛ в крови, мозгу и печени, чрезмерной активацией (эритроциты) или ингибированием (мозг, печень) СОД и нарушением синергизма функционирования ферментов первичного звена антиоксидантной защиты, нарушением стабильности и структурного состояния эритроцитарных мембран, связанного с повышением текучести аннулярных липидов и структурными перестройками в мембранных белках.

Для реабилитации и коррекции структурно-метаболического гомеостаза крыс, подвергнутых окислительному стрессу, проводили СКЭНАР-терапию (5 сеансов, по 1 сеансу ежедневно). Проведение СКЭНАР-терапии приводит к снижению интенсивности ПОЛ, которое существенно активизируется в условиях окислительного стресса. В плазме крови уровень ДК снижается на 28% по сравнению с контролем и на 46% по сравнению с ГБО. Однако содержание ШО остается на 38% выше нормы. В мембранах эритроцитов после курса СКЭНАР-терапии содержание ДК на 29% превышает норму, а уровень ШО нормализуется (табл. 1, рис. 1).

Проведение СКЭНАР-терапии приводит к существенному снижению ПОЛ в мозгу и печени крыс, которых подвергали окислительному стрессу. В ткани мозга содержание ДК не отличается от контроля, а уровень МДА и ШО на 34-36% опускается ниже нормы (табл. 2, рис. 2). В печени после курса СКЭНАР-терапии уровни ДК, МДА и ШО снижаются на 29%, 73% и 39% относительно контроля.

При этом в эритроцитах активность СОД повышена на 78% относительно контроля,

активность каталазы остается в пределах нормы. В печени наблюдается повышение активности каталазы на 32% относительно контроля и на 57% по сравнению с «гипероксическими животными» (табл. 2, 3, 5, рис. 1-3). Активность ЦП в плазме и мозгу крыс, получивших курс СКЭНАР-терапии, снижается на 42% и 68% (табл. 4, рис. 1, 2). Учитывая, что ЦП является «умеренным» реагентом реакции острой фазы можно полагать, что СКЭНАР-терапия приводит к угасанию экстремальных защитных реакций, развивающихся при окислительном стрессе.

Проведение курса СКЭНАР-терапии животным, которых подвергали окислительному стрессу, приводит к нормализации стабильности и структурного состояния эритроцитарных мембран. При этом наблюдается снижение полярности липидной фазы на 29%, что также может способствовать стабилизации гидрофобного липидного бислоя (табл. 7, 8, рис. 4).

При СКЭНАР-терапии наблюдается снижение на 37% и 22% фракций МСМ (254) и МСМ (280) в плазме крови крыс. Это может свидетельствовать об усилении деградации биополимеров, подвергнутых окислительной модификации в условиях окислительного стресса (табл. 6, рис. 5).

Изучение генетических последствий СКЭНАР-терапии в различных тканях животных, обработанных повышенным давлением кислорода

С помощью SOS-lux теста была изучена индукция ДНК-репарационного SOS-ответа клеток E.coli C 600 (ppLS - 1) гомогенатами мозга и печени, плазмой крови, эритроцитами крыс после пребывания животных в условиях ГБО и обработки крыс СКЭНАРом.

После обработки животных 0,7 МпаО₂ (до наступления судорог) во всех тканях было зарегистрировано накопление продуктов, индуцирующих SOS-сигнал в клетках, количество которых достоверно отличается от их уровня у интактных животных, что выражается в изменении величины фактора индукции биолюминесценции. При инкубации бактерий с гомогенатами мозга и печени и эритроцитами I_c снижается на 26,4%, 49% и 45% соответственно (табл. 10). Наибольшее подавление свечения зарегистрировано в присутствии плазмы крови и составило 65,55 по сравнению с контролем.

Под влиянием обработки животных СКЭНАРом регистрируется снижение интенсивности биолюминесценции по сравнению с контролем, это является следствием накопления в исследуемом биоматериале метаболитов токсичных для клеток. Как видно из результатов, наибольшее количество таких метаболитов оказалось в эритроцитах крови и печени крыс, I_c снижается на 50,2% и 64,2% соответственно. Уровень снижения свечения бактерий, в присутствии гомогената мозга и эритроцитов животных, после обработки ГБО и СКЭНАРом приблизительно равновыражен. Плазма при обработке животных СКЭНАРом накапливает генотоксинов на 104,8% меньше, чем при обработке крыс ГБО, при этом гомогенат печени крыс, обработанных СКЭНАРом содержит на 29,7% больше генотоксинов по сравнению с ГБО.

При воздействии на крыс ГБО+СКЭНАР величина I_c , индуцируемая плазмой крови на 34% больше по сравнению с ГБО, что свидетельствует о присутствии меньшего количества генотоксичных метаболитов. Увеличение I_c по сравнению с ГБО при инкубации бактерий с гомогенатом мозга не зарегистрировано. В печени и эритроцитах количество генотоксинов по сравнению с ГБО возросло на 26,4% и 25,5% соответственно.

Заключение

Таким образом, можно заключить, что положительный эффект СКЭНАР-терапии, проводимой животным, подвергнутым ГБО-индуцированному окислительному стрессу, характеризуется выраженным антиоксидантным действием, стимуляцией антиоксидантной системы и нормализацией стабильности и структурного состояния эритроцитарных мембран. При этом в плазме крови зарегистрирован выраженный положительный эффект СКЭНАР-терапии на количество генотоксичных метаболитов.

Исследование лейкоцитарной формулы крови свидетельствует об усилении гуморального иммунитета у животных после обработки СКЭНАР-терапией и снижении фагоцитарной активности лейкоцитов. Результаты клеточной хемилюминесценции также свидетельствуют о снижении фагоцитарной активности лейкоцитов при СКЭНАР-обработке и ее активизации при модификации СКЭНАРом ГБО-индуцированного окислительного стресса.

Результаты цитогенетического анализа влияния СКЭНАР-терапии на уровень aberrаций хромосом в пролиферирующих тканях животных, подвергнутых ГБО-индуцированному окислительному стрессу, будут представлены в заключительном отчете.

Интенсивность ПОЛ в крови крыс при ГБО-индуцированном окислительном стрессе и СКЭНАР-терапии

| Вариант | Показатель | Плазма | Эритроциты |
|--------------------|-----------------|------------|------------|
| Контроль | ДК, нмоль/мл | 9,91±0,89 | 9,09±0,58 |
| | ШО, ед. фл./ мл | 0,9±0,112 | 0,49±0,055 |
| СКЭНАР-терапия | ДК, нмоль/мл | 6,58±0,20 | 12,64±1,13 |
| | % | -34 | +39 |
| | P | <0,05 | <0,05 |
| | ШО, ед. фл./ мл | 1,13±0,103 | 0,33±0,033 |
| | % | +25 | -34 |
| | P | >0,1 | <0,05 |
| ГБО (0,5 МПа, 1ч) | ДК, нмоль/мл | 13,15±0,57 | 12,98±1,64 |
| | % | +33 | +43 |
| | P | <0,05 | <0,05 |
| | ШО, ед. фл./ мл | 1,48±0,280 | 0,73±0,091 |
| | % | +64 | +48 |
| | P | 0,05<p<0,1 | <0,05 |
| ГБО+СКЭНАР-терапия | ДК, нмоль/мл | 7,10±1,23 | 11,74±1,14 |
| | % | -28 | +29 |
| | P | 0,05<p<0,1 | 0,05<p<0,1 |
| | % | -46 | -10 |
| | P | <0,001 | >0,1 |
| | ШО, ед. фл./ мл | 1,24±0,131 | 0,42±0,083 |
| | % | +38 | -16 |
| | P | 0,05<p<0,1 | >0,1 |
| | % | -16 | -43 |
| | P | >0,1 | <0,05 |

Таблица 2

Интенсивность ПОЛ в мозгу и печени крыс при ГБО-индуцированном окислительном стрессе и СКЭНАР-терапии

| Вариант | Показатель | Мозг | Печень |
|--------------------|----------------|------------|------------|
| Контроль | ДК, нмоль/мл | 7,16±0,51 | 7,83±0,76 |
| | ШО, ед. фл./мл | 0,99±0,103 | 1,76±0,326 |
| СКЭНАР-терапия | ДК, нмоль/мл | 8,06±0,35 | 4,81±0,15 |
| | % | +13 | -39 |
| | P | >0,1 | <0,01 |
| | ШО, ед. фл./мл | 0,62±0,06 | 1,05±0,194 |
| | % | -37 | -40 |
| | P | <0,05 | 0,05<p<0,1 |
| ГБО (0,5 МПа, 1ч) | ДК, нмоль/мл | 8,08±0,31 | 10,63±0,91 |
| | % | +13 | +36 |
| | P | >0,1 | <0,05 |
| | ШО, ед. фл./мл | 1,64±0,175 | 3,26±0,635 |
| | % | +66 | +86 |
| | P | <0,01 | <0,05 |
| ГБО+СКЭНАР-терапия | ДК, нмоль/мл | 7,57±0,39 | 5,59±0,12 |
| | % | +6 | -29 |
| | P | <0,1 | <0,05 |
| | % | -6 | -47 |
| | P | >0,1 | <0,001 |
| | ШО, ед. фл./мл | 0,66±0,033 | 0,47±0,055 |
| | % | -34 | -73 |
| | P | <0,01 | <0,01 |
| | % | -60 | -85 |
| | P | <0,001 | <0,001 |

Таблица 3

Активность СОД и каталазы в эритроцитах крыс при ГБО-индуцированном стрессе и СКЭНАР-терапии

| | СОД | Каталаза |
|--------------------|-----------|------------|
| Контроль | 3,16±0,29 | 23,59±1,92 |
| СКЭНАР-терапия | 4,67±0,42 | 25,94±2,12 |
| % | +48 | +10 |
| P | <0,05 | >0,1 |
| ГБО (0,5 МПа, 1 ч) | 7,93±1,60 | 24,12±1,58 |
| % | +195 | +2 |
| P | <0,001 | >0,1 |
| ГБО+СКЭНАР-терапия | 5,62±0,19 | 21,28±2,92 |
| % | +78 | -10 |
| P | <0,001 | >0,1 |
| % | -29 | -12 |
| P | >0,1 | >0,1 |

Таблица 4

Оксидазная активность церулоплазмينا в плазме крови и мозге крыс при ГБО-индуцированном стрессе и СКЭНАР-терапии

| | Плазма, мкМ/л | Мозг, мкМ/мг белка |
|--------------------|---------------|-----------------------------|
| Контроль | 2,40±0,27 | 5,65 10 ⁻⁵ ±1,02 |
| СКЭНАР-терапия | 2,15±0,23 | 1,50 10 ⁻⁵ ±0,41 |
| % | -10 | -73 |
| P | >0,1 | <0,01 |
| ГБО (0,5 МПа, 1 ч) | 2,01±0,15 | 4,72 10 ⁻⁵ ±0,84 |
| % | -16 | -16 |
| P | >0,1 | >0,1 |
| ГБО+СКЭНАР-терапия | 1,38±0,11 | 1,83 10 ⁻⁵ ±0,44 |
| % | -42 | -68 |
| P | <0,01 | <0,01 |
| % | -31 | -61 |
| P | <0,01 | <0,01 |

Таблица 5

Уровень ПОЛ и активность антиоксидантных ферментов в мозгу и печени крыс при ГБО-индуцированном окислительном стрессе и СКЭНАР-терапии

| Вариант | Показатель | Мозг | Печень |
|--------------------|------------|------------|------------|
| Контроль | МДА | 48,5±4,66 | 35,7±2,10 |
| | СОД | 1,18±0,408 | 3,29±0,314 |
| | Каталаза | - | 3,53±0,3 |
| СКЭНАР-терапия | МДА | 38,8±2,562 | 23,4±0,70 |
| | % | -20 | -34 |
| | P | 0,05<p<0,1 | <0,001 |
| | СОД | 1,48±0,548 | 0,59±0,14 |
| | % | +25 | -82 |
| | P | >0,1 | <0,001 |
| | Каталаза | - | 6,14±0,65 |
| | % | | +74 |
| | P | | <0,01 |
| ГБО (0,5 МПа, 1ч) | МДА | 32,6±3,213 | 32,3±2,50 |
| | % | -33 | -8 |
| | P | <0,001 | >0,1 |
| | СОД | 0,31±0,092 | 1,39±0,39 |
| | % | -74 | -58 |
| | P | 0,05<p<0,1 | <0,01 |
| | Каталаза | - | 2,98±0,29 |
| | % | | -16 |
| | P | | >0,1 |
| ГБО+СКЭНАР-терапия | МДА | 30,9±3,674 | 21,8±1,08 |
| | % | -36 | -39 |
| | P | <0,05 | <0,001 |
| | % | -5 | -33 |
| | P | >0,1 | <0,001 |
| | СОД | 0,42±0,106 | 0,33±0,08 |
| | % | -64 | -90 |
| | P | 0,05<p<0,1 | <0,001 |
| | % | +35 | -76 |
| | P | >0,1 | <0,05 |
| | Каталаза | - | 4,67±0,70 |
| | % | | +32 |
| | P | | >0,1 |
| | % | | +57 |
| P | | <0,05 | |

Таблица 6

Содержание молекул средней массы в плазме крови крыс при ГБО-индуцированном окислительном стрессе и СКЭНАР-терапии

| Вариант | 210 | 254 | 280 |
|--------------------|-------------|-------------|-------------|
| Контроль | 8,521±0,919 | 1,586±0,280 | 1,69±0,152 |
| СКЭНАР-терапия | 8,562±0,817 | 1,155±0,202 | 1,507±0,229 |
| % | | -26 | -11 |
| P | >0,1 | >0,1 | >0,1 |
| ГБО (0,5 МПа, 1 ч) | 8,512±0,679 | 1,169±0,108 | 1,444±0,11 |
| % | -1 | -25 | -15 |
| P | >0,1 | >0,1 | >0,1 |
| ГБО+СКЭНАР-терапия | 7,277±0,44 | 0,99±0,130 | 1,31±0,123 |
| % | -15 | -37 | -22 |
| P | >0,1 | 0,05<P<0,1 | 0,05<P<0,1 |
| % | -15 | -15 | -9 |
| P | >0,1 | >0,1 | >0,1 |

Таблица 7

Содержание ВЭГ и уровень СПА в плазме крови крыс при ГБО-индуцированном стрессе и СКЭНАР-терапии

| | ВЭГ | СПА |
|--------------------|------------|------------|
| Контроль | 7,99±0,95 | 8,07 ±0,45 |
| СКЭНАР-терапия | 6,41±0,78 | 7,93 ±0,79 |
| % | -20 | -2 |
| P | >0,1 | >0,1 |
| ГБО (0,5 МПа, 1 ч) | 12,37±1,28 | 9,84 ±0,64 |
| % | +55 | +22 |
| P | <0,05 | <0,05 |
| ГБО+СКЭНАР-терапия | 9,70±1,62 | 8,66 ±0,41 |
| % | +21 | +7 |
| P | >0,1 | >0,1 |
| % | -22 | -12 |
| P | >0,1 | >0,1 |

Влияние обработки СКЭНАРОм и ГБО крыс на генотоксичность тканей в SOS-lux тесте (Ic)

| Ткань | Контроль | ГБО | СКЭНАР | СКЭНАР+ГБО |
|-------------------|----------|--------|--------|------------|
| H ₂ O | 1 | | | |
| Мозг | 0,737 | 0,543 | 0,453 | 0,549 |
| %изменений | | -26,4% | -38,5% | -25,5% |
| P ₁ | | <0,001 | <0,001 | <0,001 |
| %изменений | | | -16,6 | +0,5% |
| P ₂ | | | <0,01 | <0,001 |
| Печень | 1,309 | 0,667 | 0,469 | 0,491 |
| %изменений | | -49% | -64,2% | -62,5% |
| P ₁ | | <0,001 | <0,001 | <0,001 |
| %изменений | | | -29,7% | 26,4% |
| P ₂ | | | <0,01 | |
| Плазма | 0,725 | 0,25 | 0,512 | 0,375 |
| %изменений | | -65,5% | -29,4% | -48,3% |
| P ₁ | | <0,001 | <0,01 | <0,001 |
| %изменений | | | +104,8 | +34% |
| P ₂ | | | <0,001 | <0,001 |
| Эритроциты | 0,612 | 0,358 | 0,307 | 0,267 |
| %изменений | | -45% | -50,2% | -56,25 |
| P ₁ | | | <0,001 | <0,001 |
| %изменений | | | - | -25,5% |
| P ₂ | | | | <0,001 |

P1-достоверность изменений по отношению к контролю

P2-достоверность изменений по отношению к ГБО

Таблица 11

Уровень H_2O_2 -люминолзависимой хемилюминесценции в тканях и органах крыс в условиях ГБО-индуцированного окислительного стресса и СКЭНАР-терапии

| Вариант | Показатель | Плазма | Мозг | Печень |
|--------------------|--------------------------------|--------|-------|--------|
| Контроль | Высота быстрой вспышки, Н (мм) | 38,3 | 80,8 | 124,5 |
| | Светосумма за 100 с, Sm | 226,3 | 800,7 | 50,3 |
| ГБО (0,5 МПа, 1 ч) | Высота быстрой вспышки, Н (мм) | 37,8 | 75,5 | 164,8 |
| | Светосумма за 100 с, Sm | 222,0 | 807,0 | 125,5 |
| СКЭНАР-терапия | Высота быстрой вспышки, Н (мм) | 42,7 | 51,8 | 161,0 |
| | Светосумма за 100 с, Sm | 271,2 | 771,0 | 113,2 |
| ГБО+СКЭНАР | Высота быстрой вспышки, Н (мм) | 43,3 | 56,0 | 136,7 |
| | Светосумма за 100 с, Sm | 254,7 | 779,3 | 48,3 |

Таблица 12

Уровень клеточной хемилюминесценции в цельной крови крыс в условиях ГБО-индуцированного окислительного стресса и СКЭНАР-терапии

| Вариант | Латентный период, L | Светосумма за 500с | Высота вспышки |
|----------------|---------------------|--------------------|----------------|
| Контроль | 11,8 | 13,3 | 11,0 |
| ГБО(0,5МПа,1ч) | 14,8 | 7,2 | 5,4 |
| СКЭНАР-терапия | 43,0 | 12,5 | 7,5 |
| ГБО+СКЭНАР | 24,0 | 5,0 | 4,0 |

Лейкоцитарная формула крови крыс крыс при ГБО-индуцированном стрессе и СКЭНАР-терапии

| Вариант | № животн. | Э | П | С | Л | М | ПЛ |
|-------------------|-----------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|------------|
| Контроль | 1 | 0 | 10 | 31 | 53 | 6 | 1 |
| | 2 | 0 | 4 | 26 | 54 | 14 | 2 |
| | 3 | 2 | 2 | 18 | 64 | 12 | 2 |
| | 4 | 0 | 4 | 6 | 68 | 20 | 2 |
| | 5 | 0 | 5 | 19 | 68 | 7 | 0 |
| | 6 | 0 | 4 | 33 | 48 | 14 | 1 |
| | Σ | 0,3 | 4,8 | 22,2 | 59,2 | 12,2 | 1,3 |
| СКЭНАР-терапия | 1 | 3 | 3 | 13 | 74 | 7 | 0 |
| | 2 | 2 | 1 | 7 | 85 | 6 | 0 |
| | 3 | 1 | 2 | 9 | 78 | 9 | 1 |
| | 4 | 5 | 4 | 22 | 60 | 8 | 1 |
| | 5 | 1 | 3 | 12 | 65 | 16 | 3 |
| | 6 | 1 | 2 | 24 | 61 | 11 | 1 |
| | Σ | 2,2 | 2,5 | 14,5 | 70,4 | 9,4 | 1 |
| ГБО (0,5МПа, 1 ч) | 1 | 1 | 13 | 12 | 60 | 12 | 2 |
| | 2 | 2 | 6 | 9 | 72 | 11 | 0 |
| | 3 | 1 | 5 | 35 | 54 | 5 | 0 |
| | 4 | 2 | 4 | 9 | 75 | 10 | 1 |
| | 5 | 0 | 8 | 14 | 73 | 5 | 0 |
| | 6 | 2 | 4 | 18 | 64 | 12 | 0 |
| | Σ | 1,2 | 6,6 | 16,2 | 66,3 | 9,2 | 0,5 |
| ГБО+СКЭНАР | 1 | 0 | 6 | 8 | 76 | 10 | 0 |
| | 2 | 3 | 8 | 7 | 61 | 18 | 3 |
| | 3 | 0 | 4 | 20 | 66 | 9 | 1 |
| | 4 | 2 | 5 | 19 | 64 | 10 | 0 |
| | 5 | 1 | 6 | 13 | 78 | 2 | 0 |
| | 6 | 0 | 3 | 12 | 73 | 11 | 1 |
| | Σ | 1 | 5,3 | 13,2 | 69,7 | 10 | 0,8 |

Структурное состояние мембран эритроцитов крыс при ГБО-индуцированном стрессе и СКЭНАР-терапии

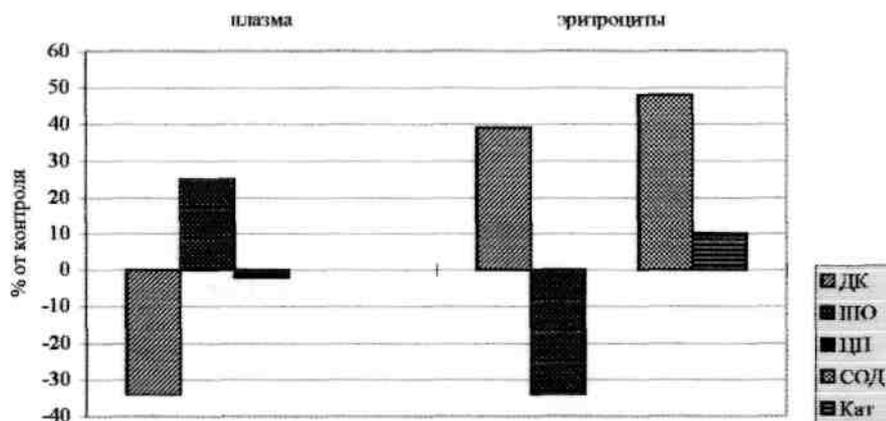
| Вариант | Fэ/Fм (334) | Fэ/Fм (282) | Fо-F/Fо | F _{373/393} (334) | F _{373/393} (282) |
|------------------|-------------|-------------|-------------|----------------------------|----------------------------|
| Контроль | 0,35±0,02 | 0,83±0,03 | 0,09±0,005 | 1,12±0,008 | 1,40±0,15 |
| СКЭНАР-терапия | 0,30±0,02 | 0,80±0,03 | 0,096±0,011 | 0,69±0,04 | 1,26±0,05 |
| % | -14 | -4 | +7 | -38 | -10 |
| P | >0,1 | >0,1 | >0,1 | <0,001 | >0,1 |
| ГБО (0,5МПа, 1ч) | 0,35±0,06 | 0,99±0,04 | 0,061±0,008 | 1,13±0,07 | 1,65±0,06 |
| % | | +19 | -32 | +1 | +18 |
| P | | <0,01 | <0,01 | >0,1 | >0,1 |
| ГБО+СКЭНАР | 0,32±0,01 | 0,81±0,03 | 0,084±0,008 | 0,80±0,16 | 1,43±0,09 |
| % | -9 | -2 | -7 | -29 | +2 |
| P | >0,1 | >0,1 | >0,1 | 0,05<P<0,1 | >0,1 |
| -30% | -9 | -18 | +38 | -30 | -13 |
| P | >0,1 | <0,001 | 0,05<P<0,1 | 0,05<P<0,1 | 0,05<P<0,1 |

Таблица 9

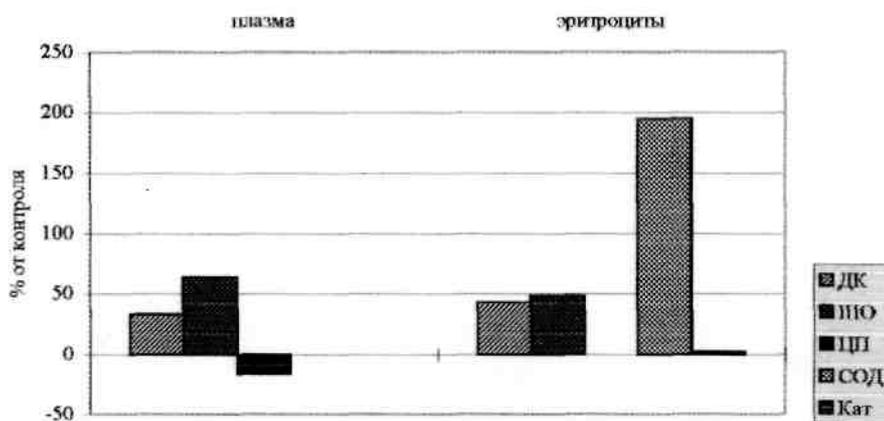
Интенсивность флуоресценции белков эритроцитов крыс при ГБО-индуцированном стрессе и СКЭНАР-терапии

| Вариант | F _{282/341} | F _{282/347} | F _{360/440} | F _{320/400} |
|------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| Контроль | 1,131±0,077 | 1,051±0,076 | 0,598±0,044 | 0,293±0,034 |
| СКЭНАР-терапия | 1,169±0,066 | 1,135±0,06 | 0,757±0,077 | 0,496±0,011 |
| % | +3 | +8 | +27 | +69 |
| P | >0,1 | >0,1 | >0,1 | <0,001 |
| ГБО (0,5МПа, 1ч) | 0,989±0,048 | 0,89±0,038 | 0,547±0,008 | 0,318±0,013 |
| % | -13 | -15 | -9 | +9 |
| P | >0,1 | 0,05<P<0,1 | >0,1 | >0,1 |
| ГБО+СКЭНАР | 1,268±0,087 | 1,223±0,081 | 0,685±0,088 | 0,50±0,044 |
| % | +12 | +16 | +15 | +71 |
| P | >0,1 | >0,1 | >0,1 | <0,001 |
| -30% | +28 | +37 | +25 | +57 |
| P | <0,05 | <0,001 | >0,1 | <0,001 |

А



Б



В

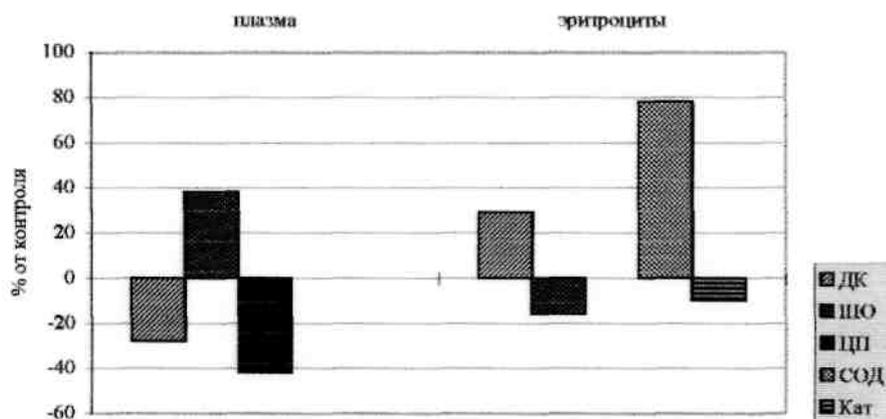


Рис. 1. Изменение интенсивности ПОЛ и активности антиоксидантных ферментов в плазме крови и эритроцитах крыс при ГБО-индуцированном окислительном стрессе и СКЭНАР-терапии (в % от контроля).

А - СКЭНАР-терапия; Б - ГБО (0,5 МПа, 1 час); В - ГБО + СКЭНАР-терапия

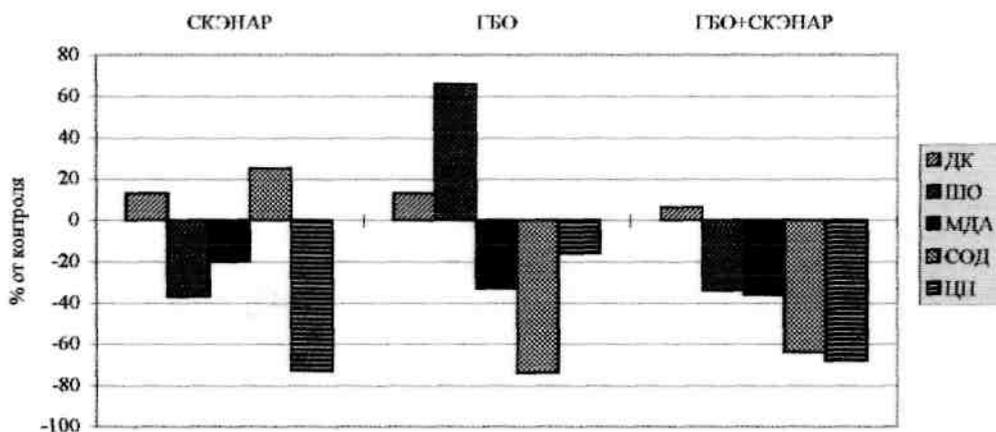


Рис.2 Изменение интенсивности ПОЛ и активности антиоксидантных ферментов в мозгу крыс при ГБО-индуцированном окислительном стрессе и СКЭНАР-терапии (в % от контроля).

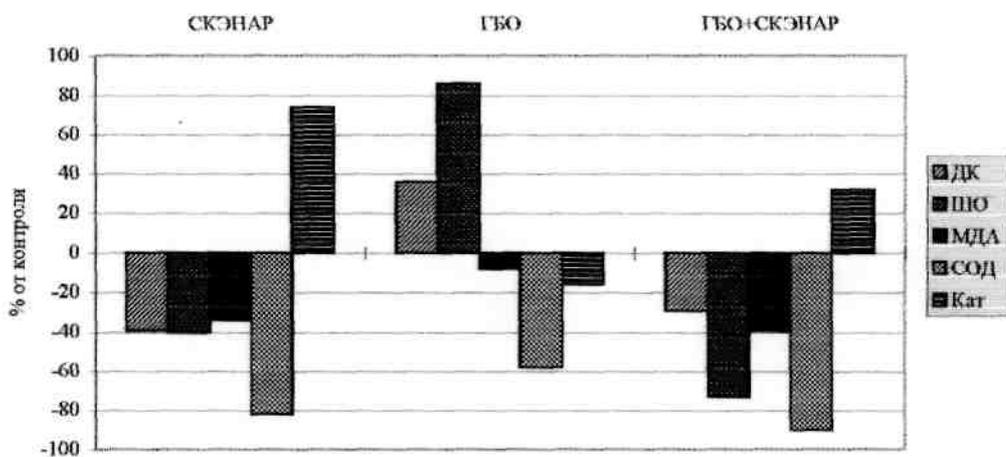
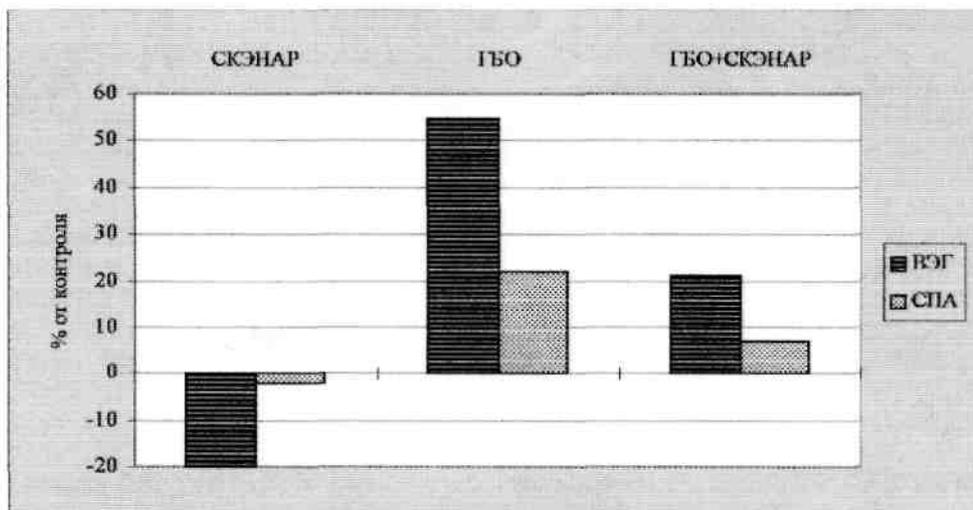


Рис.3 Изменение интенсивности ПОЛ и активности антиоксидантных ферментов в печени крыс при ГБО-индуцированном окислительном стрессе и СКЭНАР-терапии (в % от контроля).

А



Б

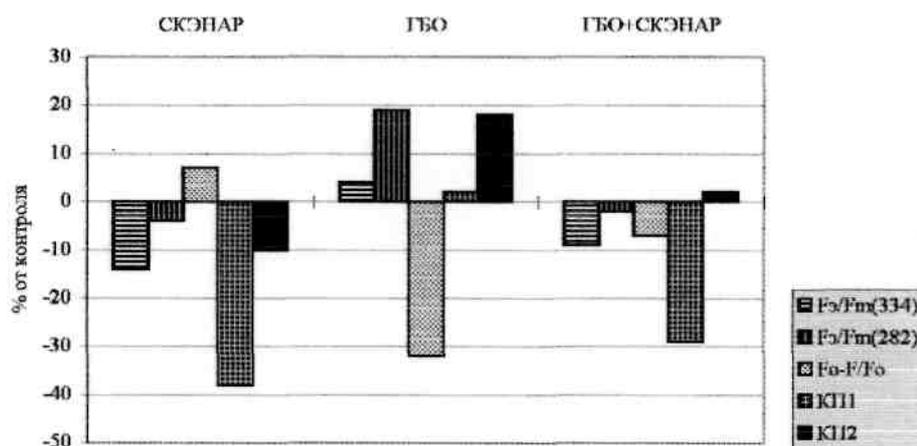
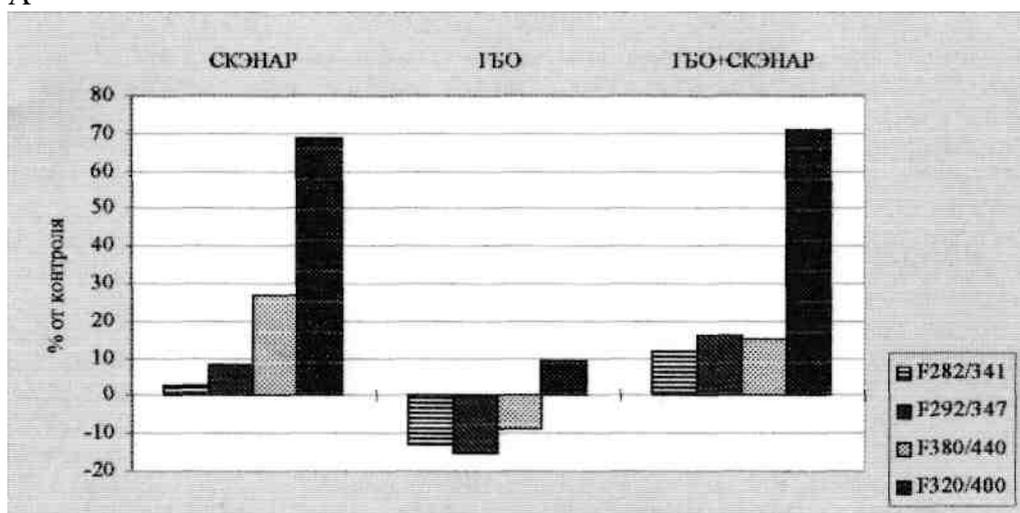


Рис.4. Изменение стабильности и структурного состояния мембран эритроцитов при ГБО-индуцированном окислительном стрессе и СКЭНАР-терапии (в % от контроля) А - плазма; Б - мембраны эритроцитов.

А



Б

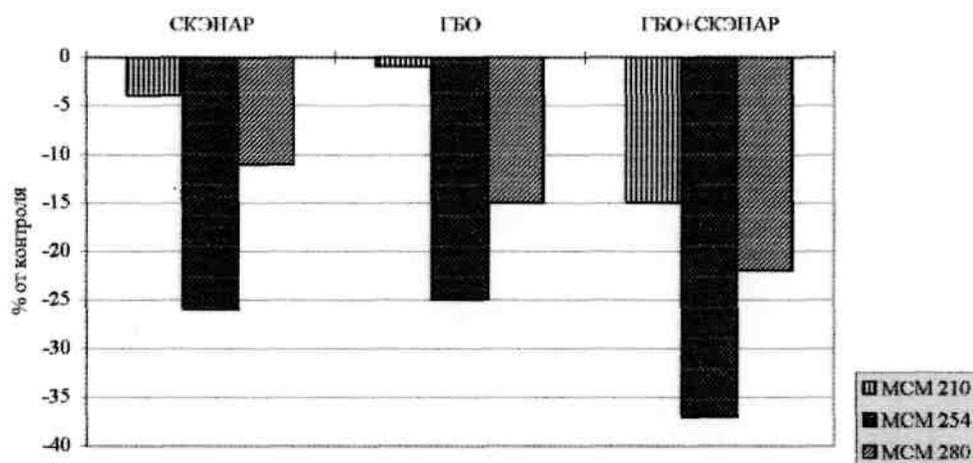


Рис. 5. Изменение интенсивности флуоресценции белков гемолизата и уровня фракций молекул средней массы при ГБО-индуцированном окислительном стрессе и СКЭНАР-терапии.

А эритроциты; Б плазма.

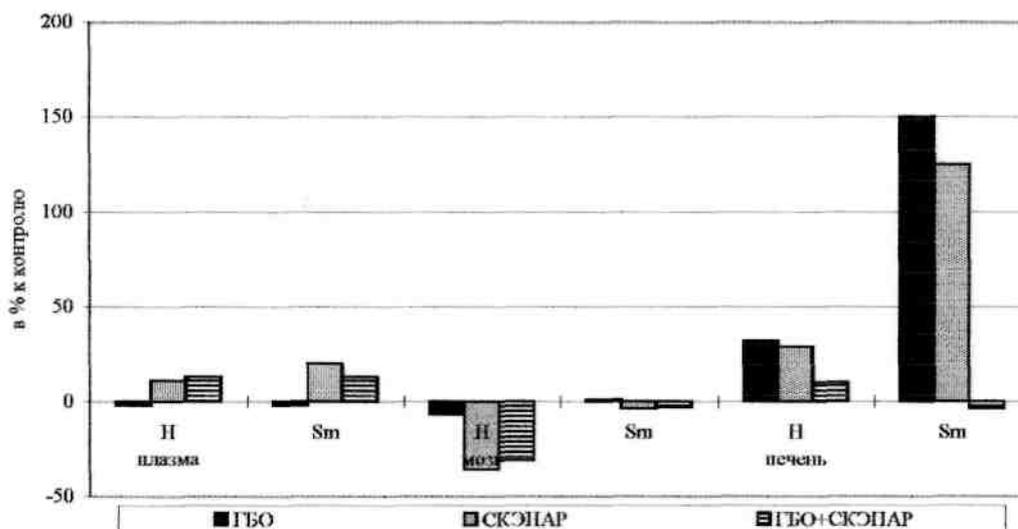


Рис.6. Изменение уровня хемилуминесценции в различных тканях крыс, подвергнутых ГБО-индуцированному окислительному стрессу и СКЭНАР-терапии (в % к контролю)

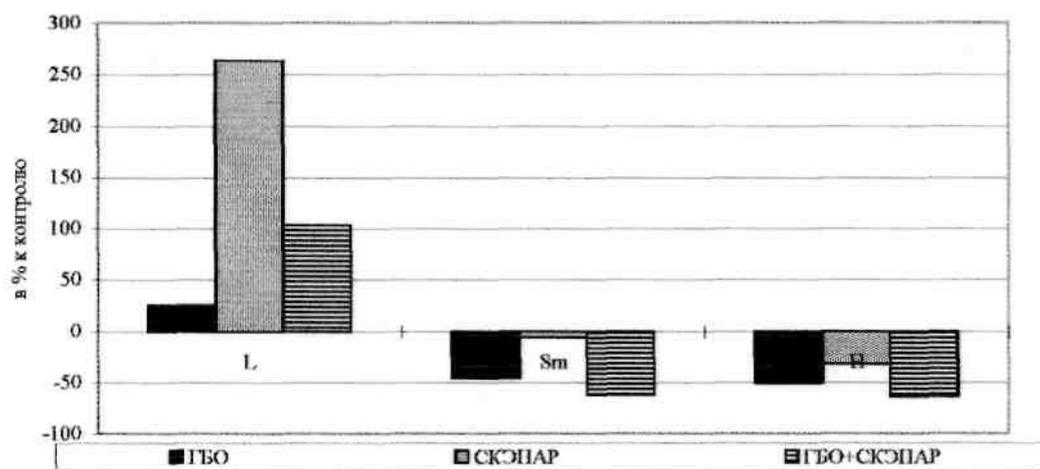


Рис.7. Изменение уровня клеточной хемилюминесценции в цельной крови крыс, подвергнутых ГБО-индуцированному окислительному стрессу и СКЭНАР-терапии (в % к контролю)