

Особенности влияния терагерцового излучения на плазму крови и резистентность мембран эритроцитов у пациентов с лекарственной болезнью

Н.В. Хмель¹, А.К. Кондакова², Э.Н. Солошенко², В.Г. Колесников¹, З.М. Шевченко², Т.П. Ярмак², Ю.Е. Каменев¹

¹Институт радиофизики и электроники им. А.Я. Усикова НАН Украины

²ГУ «Институт дерматологии и венерологии НАМН Украины»

Резюме

Цель работы состояла в изучении биологического действия низкоинтенсивного лазерного излучения на плазму крови и резистентность мембран эритроцитов при лекарственной болезни.

Материалы и методы. Представлены результаты воздействия лазерного низкоинтенсивного терагерцового излучения ($\lambda = 333$ мкм, $P = 6$ мВт/см², $t = 30$ мин) на эритроциты больных лекарственной болезнью, ассоциированной с аллергодерматозами. Резистентность эритроцитов оценивалась с помощью гемолиза *in vitro*. Оценка воздействия терагерцового излучения проводилась методом микроволновой диэлектromетрии при частоте $f = 37,7$ ГГц путем измерения реальной части комплексной диэлектрической проницаемости (ϵ'), поверхностного натяжения (σ), а также путем расчета процента гемолиза эритроцитов.

Результаты. При исследовании суспензии эритроцитов, выдержанных в гипотоническом солевом растворе NaCl с концентрацией $c = 0,48\%$, а затем инкубированных в облученной плазме крови, установлено уменьшение параметра ϵ' и снижение процента гемолиза по сравнению с инкубацией клеток в необлученной плазме. Результаты данных исследований свидетельствуют о том, что применение лазерной терагерцовой экспозиции позволяет восстанавливать нарушенную резистентность мембран эритроцитов *in vitro* в среднем на 30%.

Выводы. Полученные результаты открывают перспективы для дальнейших исследований механизмов устойчивости мембран эритроцитов не только с целью изучения патогенеза лекарственной болезни, но и с целью разработки более эффективных способов ее терапии.

Ключевые слова: низкоинтенсивное терагерцовое излучение, микроволновая диэлектromетрия, осмотическая резистентность эритроцитов, лекарственная болезнь, ассоциированная с аллергодерматозами.

Введение

Структурные особенности биологической системы эритроцитов и плазмы крови, в зависимости от физиологических условий и изменяющихся условий окружающей среды, описываются диэлектрическими параметрами, такими как реальная и мнимая части комплексной диэлектрической проницаемости,

диэлектрические потери, электропроводность. В литературе в настоящее время интенсивно обсуждаются физические механизмы, ответственные за проявления физических свойств эритроцитов и плазмы крови в различных диапазонах электромагнитного спектра [16]. В процессе этих дискуссий установлено, что на частотах α -дисперсии ($f < 10$ кГц)

реєструється поляризованість окремих молекул, в тому числі компонентів гемолізованих еритроцитів [15], а на частотах β -дисперсії ($10 \text{ кГц} < f < 100 \text{ мГц}$) – поляризованість складних макромолекулярних комплексів мембрани, внутріклеточних структур і кліток в цілому [20, 22]. Результати цих досліджень представляють практичний інтерес для медико-біологічних сфер: при кліткової сепарації здорових і ракових кліток [24], при перевірці якості консервованої крові і плазми [19], а також при діелектричеській коагулометрії [18].

На частотах γ -дисперсії ($f > 1 \text{ ГГц}$) основний вклад в релаксационні властивості біологічеської системи еритроцитів і плазми крові вносять молекули вільної і зв'язаної води [23]. Раніше нами було показано, що мікрохвильова діелектрометрія (на частотах дисперсії діелектричеської проникності вільної води $f = 35 \div 37,7 \text{ ГГц}$) являється інструментом контролю параметрів діелектричеської проникності і поверхневого натягнення при оцінці функціонального стану еритроцитів і плазми крові не тільки в умовах фізіологічеської норми, але і при різних шкірних захворюваннях [5].

С метою вивчення функціонального стану еритроцитів з допомогою мікрохвильової діелектрометрії наше увагу привлекла лікарська хвороба (ЛБ) як одне з поширених алергічеських захворювань з шкірними проявленнями, в етіології якої віводяча роль відводиться алергічеським реакціям негайного або уповільненого типу [1] на фоні дисбалансу мембранно-клеточного гомеостазу еритроцитів [2, 11], біохімічеських змін в плазмі крові [4], а також активації вільно-радикальних процесів при несостаткованості ферментативної і неферментної антиоксидантної захисти [9, 10]. Причиною особого уваги к проблемі ЛБ являється щорічний ріст частоти алергічеських реакцій на лікарські засоби, в тому числі на антигістамінні і кортикостероїдні препарати, недостатня вивченість її патогенезу і, відповідно, недостатня ефективність її терапії. Оскільки в останні роки ЛБ нерідко розвивається на фоні лікування різних алергодерматозів (АД), це створює ще більші труднощі в лікуванні як ЛБ, так і її супутньої патології.

Раніше при розробці нових способів терапії ЛБ корекція функціональних і ультраструктурних змін еритроцитів досягалась в основному фармакологічеською регуляцією перекисного окислення ліпідів з використанням широкого спектра антиоксидантів [12]. В нинішній час в клінічеській медицині, з точки зору хвильових характеристик і резонансних частот електромагнітного випромінювання, обґрунтовано застосування біофізичеських методів і інструментів, особливо лазерів

з монохроматичеським когерентним випромінюванням. Терагерцеве випромінювання являється частиною електромагнітного спектра, що знаходиться між дальнім інфрачервоним і субміліметровим випромінюванням ($f = 10^{11} \div 10^{13} \text{ ГГц}$), і містить спектри колибательних і вращательних мод біологічеських молекул третичної і четвертичної структури. Наблюдаємо при цьому зміну коефіцієнтів поглинання і заломлення, а також зміну рівня гідратації зв'язано з енергетичеськими характеристиками цього випромінювання, які близькі до енергій активації слабких міжмолекулярних зв'язів [21].

Ефекти терагерцевого випромінювання на молекулярному рівні проявляються в ініціюванні конформаційних переходів в біологічеських макромолекулах, які оцінюються шляхом аналізу вращательної подвижності парамагнітних центрів деяких транспортних білків по параметрам спектрів електронного парамагнітного резонансу [8], а також шляхом вимірювання гідратного оточення макромолекулярних структур по параметрам комплексної діелектричеської проникності [7]. Враховуючи, що експериментальні дослідження впливу терагерцевого випромінювання на резистентність мембран еритроцитів дозволяють говорити як про позитивний протекторний вплив низькоінтенсивного лазерного випромінювання на клітки крові, коли продовжується строк життя еритроцитів і уповільнюється дегідратація кліток [17], так і про негативний вплив, результатом якого являється підвищення в'язкості крові і інтенсифікація гемолізу еритроцитів [13], вивчення біологічеського впливу низькоінтенсивного лазерного випромінювання на плазму крові і резистентність мембран еритроцитів при ЛБ на сучасному етапі являється актуальною проблемою.

Цель настоящей работы состояла в изучении биологического действия низкоинтенсивного лазерного излучения на плазму крови и резистентность мембран эритроцитов при ЛБ.

Материалы и методы исследования

Под наблюдением находилось 25 больных ЛБ (в возрасте от 30 до 55 лет), ассоциированной с АД (у 12 больных ЛБ ассоциирована с алергічеським дерматитом (АЛД), у 13 – с атопічеським дерматитом (АТД)). Контрольную группу составляли образцы крови 13 практически здоровых доноров. В качестве объекта исследования использовали плазму крови и эритроциты венозной крови, полученные путем центрифугирования в течение 15 мин при 3 000 об./мин. Венозную кровь, стабилизированную 3,8% раствором цитрата натрия, помещали в количестве 5 мл в центрифужную пробирку для дальнейшего исследования.

В эксперименте использовали аппаратно-реєструючий комплекс, позволяющий в реальном масштабе времени оценивать гидратацию клеточной системы, а также измерять электромагнітний відклик

эритроцитов при различных экспозициях под источником лазерного излучения. Реализация эксперимента достигалась благодаря синхронному использованию микроволновой части комплекса, представленной КВЧ-диэлектрометром и 8-мм волноводными элементами, а также благодаря источнику низкоинтенсивного терагерцового излучения – цианистоводородному (HCN) лазеру. Источником миллиметрового излучения в аппаратурно-регистрирующем комплексе служил генератор Ганна с частотой генерации $f = 37,7$ ГГц, а источником внешнего воздействия – HCN-лазер с длиной волны $\lambda = 337$ мкм. Роль активной среды HCN-лазера представляла смесь метана с воздухом, имеющая общее давление $\sim 1,5$ мм рт. ст. Плотность энергии излучения лазера с непрерывной мощностью составляла $P = 6$ мВт/см², с рабочей частотой излучения лазера – $f = 0,89$ ТГц [3], а средний и амплитудный разрядный ток был равен, соответственно, 0,25 А и 0,6 А.

Управление аналого-цифровым преобразователем (АЦП) обеспечивалось изменением частоты дискретизации. Для этого использовалась система временного накопления сигнала в файле при одновременном графическом выводе самого сигнала и его спектра в реальном режиме времени. Обработка полученных данных проводилась с помощью программ накопления электромагнитного отклика биологической системы из под шумов, анализа оцифрованных данных с последующей обработкой путем применения алгоритма быстрого преобразования Фурье.

Известно, что диэлектрическая проницаемость является параметром, который имеет первостепенное значение в поддержании структурной целостности и функциональной активности биологических систем, так как оценивает важнейшие физико-химические характеристики – водородные, электростатические и гидрофобные взаимодействия. Электромагнитный отклик представляет собой сигнал, отраженный от биологической системы, помещенной в измерительную кювету, и регистрируемый на выходе детектора волноводной 8-мм линии [3]. Этот сигнал косвенно отражает изменение диэлектрической проницаемости как в условиях физиологической нормы, так и при различных патологических состояниях. При этом акустический «сweep-режим» ($f = 40 \div 50$ Гц) обеспечивает частотную модуляцию измерительной кюветы. Использование последнего связано с установлением в измерительной кювете стоячих и бегущих волн, позволяющих после определения минимума и максимума характеристических частот перейти к определению поверхностного натяжения [6].

В процессе выполнения работы оценивали влияние терагерцового излучения на показатели диэлектрической проницаемости (ϵ' , Ф/м) и поверхностного натяжения (σ , мН/м) плазмы крови больных ЛБ. При этом лазерному терагерцовому облучению ($V_{\text{плазма}} = 1,0$ мл, экспозиция $t = 30$ мин, $P = 6$ мВт/см²) подвергали плазму крови объемом 1,0 мл.

Кроме того, оценивали влияние плазмы крови, подвергнутой терагерцовому излучению, на показатели

осмотического гемолиза эритроцитов при их инкубации в облученной плазме в течение 15 мин. Контролем служили образцы интактной крови доноров. Эритроциты в объеме 40 мкл помещали на 1 ч в солевые растворы NaCl с концентрациями $c = 0,9\%$, $c = 0,6\%$, $c = 0,48\%$, $c = 0,3\%$, затем центрифугировали при 3 000 об./мин в течение 3 мин. Степень гемолиза оценивали по оптической плотности надосадочной жидкости, полученной после осаждения негемолизированных эритроцитов, и выражали в процентах в сравнении с оптической плотностью образцов, в которых гемолиз эритроцитов был вызван дистиллированной водой (100% гемолиз):

$$h = D_{\text{нач.}} / D_{\text{кон.}} \times 100\%,$$

где h – показатель гемолиза; $D_{\text{нач.}}$ – оптическая плотность надосадочной жидкости до гемолиза эритроцитов; $D_{\text{кон.}}$ – оптическая плотность надосадочной жидкости при 100% гемолизе эритроцитов.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с использованием стандартного пакета Excel. Достоверность полученных результатов оценивали с помощью U-критерия Манна–Уитни.

Результаты и их обсуждение

На первом этапе исследований изучали электромагнитный отклик плазмы крови больного ЛБ, ассоциированной с АД, до и после экспозиции под источником терагерцового излучения с помощью акустического «сweep-режима» ($f = 40 \div 50$ Гц).

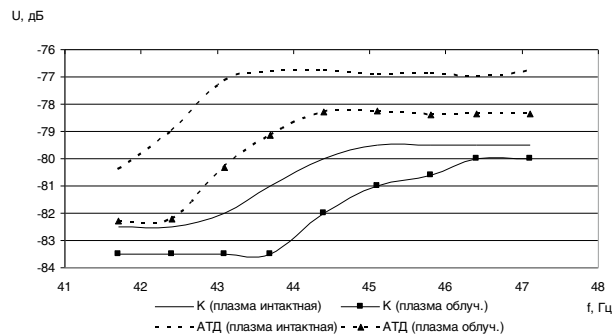


Рис. 1. Электромагнитный отклик (U, дБ) плазмы крови больного ЛБ, ассоциированной с АД, и плазмы крови практически здорового донора (К) при акустическом «сweep-режиме» в диапазоне ($f = 42 \div 48$ Гц) до и после терагерцовой экспозиции. Погрешность по всем значениям акустической частоты при данном объеме записи (0,1 Гб) – не более $\pm 0,1$ Гц

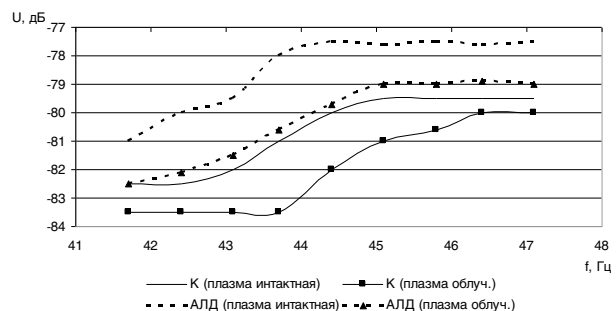


Рис. 2. Электромагнитный отклик (U, дБ) плазмы крови больного ЛБ, ассоциированной с АД, при акустическом «сweep-режиме» в диапазоне ($f = 42 \div 48$ Гц) до и после терагерцовой экспозиции. Погрешность по всем значениям акустической частоты при данном объеме записи (0,1 Гб) – не более $\pm 0,1$ Гц

На рисунках 1 и 2 представлены электромагнитные отклики плазмы крови больного ЛБ, ассоциированной с АД, до и после экспозиции под источником терагерцового излучения.

Как видно из рисунков 1 и 2, электромагнитный отклик плазмы крови больных ниже электромагнитного отклика плазмы практически здоровых доноров в среднем на 4 дБ. Одной из причин полученных данных, возможно, является концентрационный сдвиг макромолекулярных компонентов плазмы, так как при развитии ЛБ регистрируются как конформационные перестройки ферментов антиоксидантной системы, результатом которых является уменьшение количества полярных групп аминокислотных остатков, так и увеличение содержания патологических пептидов, продуктов катаболизма белков и пуринов [14].

Получасовая лазерная экспозиция плазмы больных ЛБ, ассоциированной с АД (рис. 1) и АД (рис. 2), приблизили электромагнитный отклик плазмы больных к показателям электромагнитного отклика практически здоровых доноров. Не исключено, что белковые молекулы плазмы, акцептируя кванты энергии терагерцового излучения и изменяя свою конформацию в сторону увеличения количества гидрофильных амидных ($-\text{CO}-\text{NH}-$), аминных (NH_2) и карбоксильных (COOH) групп, притягивали к себе молекулы воды, строго ориентируя их на поверхность макромолекул, что и проявилось в увеличении количества связанной воды.

В таблице представлены результаты измерения параметров ϵ и σ плазмы крови лиц контрольной группы, а также плазмы крови больных ЛБ без воздействия терагерцового излучения (интактная плазма) и плазмы, подверженной терагерцовому излучению.

Анализ экспериментальных данных по изучению диэлектрической проницаемости и поверхностного натяжения плазмы крови у больных и у практически здоровых лиц (см. таблицу) показал, что увеличение гидратации в опытных образцах больных ЛБ не связано с клиническим течением конкретного заболевания, а носит интегральный характер, в основе которого лежат пространственно-конформационные перестройки белковых компонентов плазмы.

Второй этап исследований заключался в изучении мембранстабилизирующего действия плазмы крови,

подвергнутой воздействию терагерцового излучения. При инкубации эритроцитов в облученной плазме, в отличие от эритроцитов, инкубированных в сходных условиях в интактной плазме, наблюдали эффект повышения осмотической устойчивости мембран эритроцитов (рис. 3, 4). Процент гемолиза эритроцитов при этом уменьшался в некоторых случаях почти на 30% (см. рис. 3). Это позволяет предположить, что эффект повышения осмотической устойчивости мембран эритроцитов возникает, вероятно, в результате опосредованного воздействия терагерцового излучения на макромолекулы плазмы крови.

Таким образом, результаты исследования биологического действия низкоинтенсивного лазерного излучения на плазму крови и резистентность мембран эритроцитов при ЛБ показали, что терагерцовое излучение

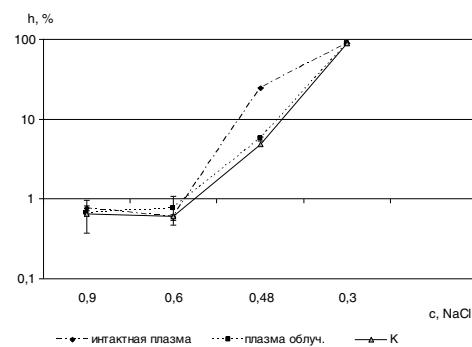


Рис. 3. Осмотический гемолиз эритроцитов больных ЛБ, ассоциированной с АД, до (интактная плазма) и после (плазма облуч.) воздействия терагерцового излучения на плазму крови по сравнению с контрольным образцом плазмы (К) (показатели процента гемолиза представлены в логарифмической шкале)

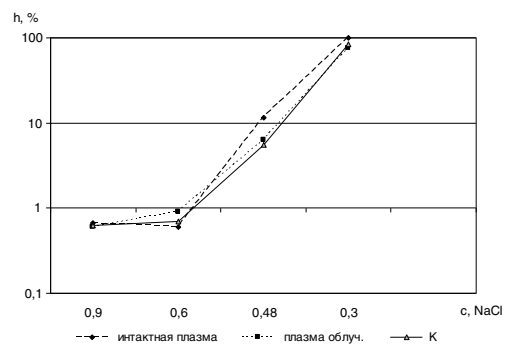


Рис. 4. Осмотический гемолиз эритроцитов больных ЛБ, ассоциированной с АД, до (интактная плазма) и после (плазма облуч.) воздействия терагерцового излучения на плазму крови по сравнению с контрольным образцом плазмы (К) (показатели процента гемолиза представлены в логарифмической шкале)

Таблица. Показатели диэлектрической проницаемости (ϵ' , Ф/м) и поверхностного натяжения (σ , мН/м) плазмы крови доноров и плазмы больных ЛБ до и после воздействия терагерцовым излучением

Исследуемый показатель	Контроль		ЛБ, ассоциированная с аллергическим дерматитом		ЛБ, ассоциированная с атопическим дерматитом	
	интактная	после облучения	интактная	после облучения	интактная	после облучения
ϵ' , Ф/м	$1,63 \cdot 10^{-10} \pm 0,02$	$1,5 \cdot 10^{-10} \pm 0,03^{**}$	$1,7 \cdot 10^{-10} \pm 0,03^*$	$1,60 \cdot 10^{-10} \pm 0,05^{**}$	$1,8 \cdot 10^{-10} \pm 0,02^*$	$1,68 \cdot 10^{-10} \pm 0,04^{**}$
σ , мН/м	$46,0 \pm 0,5$	$46,7 \pm 0,3$	$44,5 \pm 0,3^*$	$45,3 \pm 0,5$	$43,2 \pm 0,5^*$	$43,9 \pm 0,4$

Примечание: * – достоверная разница между показателями контрольной группы и ЛБ ($p < 0,05$); ** – достоверная разница между показателями до и после воздействия терагерцовым излучением ($p < 0,05$).

оказывает положительное действие, проявляющееся в стабилизации структуры мембран эритроцитов за счет увеличения количества связанной воды. При этом полчасовое облучение плазмы больных ЛБ, ассоциированной с различными АД, сопровождается восстановлением ее физико-химических свойств, что проявляется в увеличении показателей, характеризующих поверхностное натяжение. Полученные данные раскрывают механизмы влияния излучения терагерцового диапазона на организм при ЛБ на молекулярно-клеточном уровне, что может в дальнейшем иметь практическую значимость при изучении ее патогенеза и разработке новых способов терапии.

Выводы

Терагерцовая лазерная 30-минутная экспозиция *in vitro* влияет на гидратацию плазмы крови больных

ЛБ ассоциированной с АД, что свидетельствует об конформационных перестройках макромолекул плазмы с увеличением количества гидратационных центров связывания.

Показано мембраностабилизирующее действие плазмы крови, подвергнутой терагерцовому излучению. При инкубации эритроцитов в облученной плазме процент осмотического гемолиза уменьшался по сравнению с эритроцитами, инкубированными с интактной плазмой.

Диэлектрическая проницаемость является маркером интегральной оценки гидратации целостной биологической системы плазмы крови, позволяющей на частотах γ -дисперсии анализировать функциональное состояние макромолекул по изменению относительного количества связанной воды и воды в свободном состоянии.

Список литературы

1. Белоусова Т.А. Аллергодерматозы – болезни современной цивилизации. РМЖ 2003. № 27. С. 15–38.
2. Добротина Н.А., Копытова Т.В., Щелчкова Н.А. Характеристика функционального состояния мембран эритроцитов при эндогенной интоксикации у больных хроническими распространенными дерматозами. Фундаментальные исследования. 2010. № 2. С. 39–43.
3. Древал Н.В. Применение миллиметровых и субмиллиметровых радиоволн и их комбинации в исследовании биологических объектов: дис... канд. биол. наук: 03.00.02. Симферополь, 2009. 163 с.
4. Исаков С.А. Активность супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы у больных atopическим дерматитом и хронической экземой как показатель свободно-радикального статуса крови. Вестн. дерм. и венер. 2005. № 4. С. 37–40.
5. Исследование параметров гидратации и поверхностного натяжения плазмы крови больных ограниченной склеродермией / Э.Н. Солосенко, А.К. Кондакова, В.Г. Колесников [и др.]. Дерматология и венерология. 2015. № 1 (67). С. 69–74.
6. Исследование поверхностного натяжения плазмы крови больных дерматозами с помощью акусто-диэлектрического метода / В.Г. Колесников, А.К. Кондакова, Н.В. Хмель, Т.В. Теличко // Дерматология и венерология. 2011. № 4 (54). С. 55–61.
7. Комбинированное влияние терагерцового и миллиметрового излучений на антиоксидантный статус и осмотический гемолиз эритроцитов *in vitro* / А.К. Кондакова, Г.А. Семко, Н.В. Древал [и др.]. Дерматология и венерология. 2010. № 4 (50). С. 33–37.
8. Немова Е.Ф., Мамрашев А.А., Николаев Н.А. Влияние терагерцового излучения на биополимеры: исследование методом спинного зонда. www.biophys.ru/archive/congress2012/proc-p106.pdf.
9. Понукалина Е.В. Интенсификация свободно-радикального окисления – типовой процесс дезинтеграции клеточных структур в условиях патологии. Типовые патологические процессы (под ред. проф. Н.П. Чесноковой). Саратов, 2001. С. 121–172.
10. Солосенко Е.М., Жукова Н.В. Метаболічні порушення ліпідного обміну у хворих на поширені дерматози. Дерматологія та венерологія. 2010. № 2 (48). С. 62–68.
11. Солосенко Э.Н. Побочное действие лекарственных средств. Дифференциальная диагностика аллергических, токсико-аллергических и псевдоаллергических реакций. Клиническая иммунология. Аллергология. Инфектология. 2007. № 1 (6). С. 8–14.
12. Строение и функция эритроцита в норме и при критических состояниях / В.В. Мороз, А.М. Голубев, А.В. Афанасьев [и др.]. Общая реаниматология. 2012. № 8 (1). С. 52–60.
13. Шуваева В.Н., Тимошенко Т.Е., Дворецкий Д.П. Низко-интенсивное лазерное излучение и некоторые свойства крови крыс. Вестник КазНУ, серия «Биологическая». 2011. № 3 (48). С. 176–178.
14. Щелчкова Н.А. Значение липидов крови в характеристике степени эндогенной интоксикации при хронических дерматозах. Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского, серия «Физико-химическая биология». 2010. № 2 (2). С. 602–606.
15. Asami K. Effects of membrane disruption on dielectric properties of biological cells. J. Phys. Appl. Phys. 2006. Vol. 39. P. 4656–4663.
16. Broadband dielectric spectroscopy on human blood / Wolf M., Gulich R., Lunkenheimer P. [et al.]. Biochimica et Biophysica Acta. 2011. Vol. 1810. № 8. P. 727–740.
17. Cation channels, cell volume and the death of erythrocyte / Lang F., Lang K., Wieder T. [et al.]. Pflügers Arch. 2003. Vol. 447. P. 121–125.
18. Dielectric coagulometry: A new approach to estimate venous thrombosis risk / Hayashi Y., Katsumoto Y., Omori S. [et al.]. Anal. Chem. 2010. Vol. 82. P. 9769–9774.
19. Dielectric inspection of erythrocytes / Hayashi Y., Katsumoto Y., Oshige I. [et al.]. J. Non-Cryst. Solids. 2010. Vol. 356. P. 757–762.
20. Dielectric properties of human blood and erythrocytes at radio frequencies (0.2–10 MHz) – dependence on cell-volume fraction and medium composition / Beving H., Eriksson L.E., Davey C.L. [et al.]. Eur. Biophys. J. 1994. Vol. 23. P. 207–215.
21. Knab J., Chen J.-Y., Markelz A. Hydration Dependence of Conformational Dielectric Relaxation of Lysozyme. Biophysical Journal. 2006. Vol. 90. P. 2576–2581.
22. Marx G.H., Davey C.L. The dielectric properties of biological cells at radiofrequencies: Applications in biotechnology. Enzyme and Microbial Technology. 1999. Vol. 25. P. 161–171.
23. Pissis P. Dielectric studies of protein hydration. Journal of Molecular Liquids. 1989. Vol. 41. P. 271–289.
24. Separation of human breast-cancer cells from blood by differential dielectric affinity / Becker F.F., Wang X.B., Huang Y. [et al.]. Proc. Natl. Acad. Sci. 1995. Vol. 92. P. 860–864.

References

1. Belousova T.A. Allergodermatozy – bolezni sovremennoy tsivilizatsii [Allergic dermatoses – diseases of modern civilization]. RMZh. 2003;27:15–38.
2. Dobrotina N.A., Kopytova T.V., Shchelchkova N.A. Charakteristika funktsionalnogo sostoyaniya membran eritrotsitov pri endogennoy intoksikatsii u bolnykh khronicheskimi rasprostranennymi dermatozami [Characteristics of the functional state of erythrocyte membranes in endogenous intoxication in patients with chronic common dermatoses]. Fundamentalnyye issledovaniya. 2010;2:39–43.
3. Dreval N.V. Primeneniye millimetrovykh i submillimetrovykh radiovoln i ikh kombinatsii v issledovanii biologicheskikh obyektoy. dis... kand. biolog. nauk: 03.00.02 [The use of millimeter and submillimeter radio waves and their combination in the study of biological objects]. Simferopol. 2009. 163 p.
4. Isakov S.A. Aktivnost superoksidismutazy, katalazy, glutationperoksidazy u bolnykh atopicheskim dermatitom i khronicheskoy ekzemy kak pokazatel svobodno-radikalnogo statusa krovi [The activity of superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase in patients with atop dermatitis and chronic eczema as an indicator of free-radical blood status]. Vestn.derm. i vener. 2005;4:37–40.
5. Soloshenko EN, Kondakova AK, Kolesnikov VG, Khmel NV, Shevchenko ZM, Yarna TP, Belayev GM. Issledovaniye parametrov gidratsii i poverkhnostnogo natyazheniya plazmy krovi bolnykh ogranichennoy sklerodermiyey [Study of hydration parameters and surface tension of blood plasma in patients with limited scleroderma]. Dermatologiya i venerologiya. 2015;67:69–74.
6. Kolesnikov VG, Kondakova AK, Khmel NV, Telichko TV. Issledovaniye poverkhnostnogo natyazheniya plazmy krovi bolnykh dermatozami s pomoshchyu akusto-dielektricheskogo metoda [Investigation of the surface tension of blood plasma of patients with dermatoses with the help of the acousto-dielectric method]. Dermatologiya i venerologiya. 2011;4(54):55–61.
7. Kondakova AK, Semko GA, Dreval NV, Kolesnikov VG, Kamenev YuE. Kombinirovannoye vliyaniye teragertsovogo i millimetrovogo izlucheniya na antioksidantnyy status i osmoticheskyy gemoliz eritrotsitov *in vitro* [Combined effect of terahertz and millimeter radiation on antioxidant status and osmotic hemolysis of erythrocytes *in vitro*]. Dermatologiya i venerologiya. 2010;4(50):33–37.
8. Nemova EF, Mamrashev AA, Nikolayev NA. Vliyaniye teragertsovogo izlucheniya na biopolimery: issledovaniye metodom spinovogo zonda [Effect of terahertz radiation on biopolymers: a spin probe test]. www.biophys.ru/archive/congress2012/proc-p106.pdf.
9. Ponukalina EV. Intensifikatsiya svobodno-radikalnogo oksidatsii – tipovyy protsess dezintegratsii kletochnykh struktur v usloviyakh patologii [Intensification of free radical oxidation is a typical process of disintegration of cellular structures in conditions of pathology]. Tipovyye patologicheskiye protsessy (pod red. prof. N.P. Chesnokovoy). Saratov. 2001;121–172.
10. Soloshenko EN, Zhukova NV. Metabolichni porushennya lipidnogo obminu u khvorikh na poshireni dermatozu [Metabolic disorders of lipid metabolism in patients with widespread dermatosis]. Dermatologiya ta venerologiya. 2010;2(48):62–68.
11. Soloshenko EN. Pobochnoye deystviye lekarstvennykh sredstv. Differentsialnaya diagnostika allergicheskikh, toksiko-allergicheskikh i psevdou allergicheskikh reaktsiy [Differential diagnosis of allergic, toxic-allergic and pseudo-allergic reactions]. Klinicheskaya immunologiya. Allergologiya. Infektologiya. 2007;1(6):8–14.
12. Moroz VV, Golubev AM, Afanasyev AV, Kuzovlev AN, Sergunova VA, Gudkova OE, Chernysh AM. Stroyeniye i funktsiya eritrotsita v norme i pri kriticheskikh sostoyaniyakh [Structure and function of erythrocyte in norm and in critical states]. Obshchaya reanimatologiya. 2012;8(1):52–60.
13. Shuvayeva VN, Timoshenko TE, Dvoretzkiy DP. Nizko-intensivnoye lazernoye izlucheniye i nekotoryye svoystva krovi krysa [Low-intensity laser radiation and some properties of rat blood]. Vestnik KazNU. Seriya biologicheskaya. 2011;3(48):176–178.
14. Shchelchkova NA. Znacheniye lipidov krovi v karakteristike stepeni endogennoy intoksikatsii pri khronicheskikh dermatozakh [The importance of blood lipids in the characteristic of the degree of endogenous intoxication in chronic dermatoses]. Vestnik Nizhegorodskogo universiteta im. N.I. Lobachevskogo, seriya «Fiziko-himicheskaya biologiya». 2010;2(2):602–606.
15. Asami K. Effects of membrane disruption on dielectric properties of biological cells. Phys. Appl. Phys. 2006;39:4656–4663.
16. Wolf M, Gulich R, Lunkenheimer P, et al. Broadband dielectric spectroscopy on human blood. Biochimica et Biophysica Acta. 2011;1810:8:727–740.
17. Lang F, Lang K, Wieder T, et al. Cation channels, cell volume and the death of erythrocyte. Pflügers Arch. 2003;447:121–125.
18. Hayashi Y, Katsumoto Y, Omori S, et al. Dielectric coagulometry: A new approach to estimate venous thrombosis risk. Anal. Chem. 2010;82: 9769–9774.
19. Hayashi Y, Katsumoto Y, Oshige I, et al. Dielectric inspection of erythrocytes. J. Non-Cryst. Solids. 2010;356:757–762.
20. Beving H, Eriksson LE, Davey CL, et al. Dielectric properties of human blood and erythrocytes at radio frequencies (0.2–10 MHz) – dependence on cell-volume fraction and medium composition. Eur. Biophys. J. 1994;23: 207–215.
21. Knab J. Hydration Dependence of Conformational Dielectric Relaxation of Lysozyme. Biophysical Journal. 2006;90:2576–2581.
22. Marx GH. The dielectric properties of biological cells at radiofrequencies: Applications in biotechnology. Enzyme and Microbial Technology. 1999;25:161–171.
23. Pissis P. Dielectric studies of protein hydration. Journal of Molecular Liquids. 1989;41:271–289.
24. Becker FF, Wang XB, Huang Y, et al. Separation of human breast-cancer cells from blood by differential dielectric affinity. Proc. Natl. Acad. Sci. 1995;92:860–864.

ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ ТЕРАГЕРЦЕВОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НА ПЛАЗМУ КРОВІ ТА РЕЗИСТЕНТНІСТЬ МЕМБРАН ЕРИТРОЦИТІВ У ПАЦІЄНТІВ З ЛІКАРСЬКОЮ ХВОРОБОЮ

Н. В. Хміль¹, Г. К. Кондакова², Е. М. Солошенко², В. Г. Колесніков¹, З. М. Шевченко², Т. П. Ярмак², Ю. Ю. Каменев¹

¹ Інститут радіофізики та електроніки ім. О. Я. Усикова НАН України

² ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України»

Резюме

Мета роботи полягала у вивченні біологічної дії низькоінтенсивного лазерного випромінювання на плазму крові та резистентність мембран еритроцитів при лікарській хворобі.

Матеріали та методи. Наведені результати впливу низькоінтенсивного терагерцевого випромінювання ($\lambda = 333$ мкм, $P = 6$ мВт/см², $t = 30$ хв) на еритроцити хворих на лікарську хворобу, асоційовану з алергодерматозами. Резистентність еритроцитів оцінювали за допомогою гемолізу *in vitro*. Оцінка впливу терагерцевого випромінювання проводилась за допомогою метода мікрохвильової діелектрометрії на частоті $f = 37,7$ ГГц шляхом вимірювання реальної частини комплексної діелектричної проникності (ϵ'), поверхневого натягу (σ), а також шляхом розрахунку процента гемолізу еритроцитів.

Результати. При дослідженні еритроцитів, витриманих в гіпотонічному сольовому розчині NaCl з концентрацією $c = 0,48\%$, а потім інкубованих в опроміненій плазмі крові, встановлено зменшення параметра ϵ' та зниження процента гемолізу по відношенню до інкубації клітин в неопроміненій плазмі. Результати проведених досліджень свідчать про те, що застосування лазерної терагерцевої експозиції дає змогу відновити ушкоджену резистентність мембран еритроцитів *in vitro* в середньому на 30%.

Висновки. Це відкриває перспективи для наступних досліджень механізмів стійкості мембран еритроцитів не лише з ціллю вивчення патогенезу лікарської хвороби, але й з метою розробки ефективніших способів її терапії.

Ключові слова: низькоінтенсивне терагерцеве випромінювання, мікрохвильова діелектрометрія, осмотична резистентність еритроцитів, лікарська хвороба, асоційована з алергодерматозами.

SPECIFICITIES OF TERAHERTZ RADIATION EFFECT ON BLOOD PLASMA AND ERYTHROCYTES' MEMBRANE RESISTANCE OF PATIENTS WITH DRUG DISEASE

N. V. Khmil¹, A. K. Kondakova², E. N. Soloshenko², V. G. Kolesnikov¹, Z. M. Shevchenko², T. P. Yarmak², Yu. E. Kamenev¹

¹ O. Ya. Usikov Institute for Radiophysics and Electronics of NAS of Ukraine

² SE «Institute of Dermatology and Venereology of NAMS of Ukraine»

Abstract

Objective of the work is the study of biological action of low-intensive laser radiation on blood plasma and erythrocytes' membrane resistance during drug disease.

Materials and methods. The results of laser low-intensive terahertz radiations effects ($\lambda = 333$ μm , $P = 6$ mW/cm², $t = 30$ min) on erythrocytes of patients with drug disease associated with allergic dermatosis are presented. The resistance of erythrocytes was estimated by means of hemolysis *in vitro*. The evaluation of terahertz influence was carried out with help of microwave dielectrometry (work frequency $f = 37,7$ GHz) at that a real part of complex dielectric permeability (ϵ') and a surface tension (σ) were measured.

Results. The percent of erythrocytes' hemolysis also was calculated. The decrease both ϵ' and the percent of erythrocytes' hemolysis which were incubated in the radiated blood plasma (previously placed in hypotonic salt solution NaCl with concentration $c = 0,48\%$) in comparison with incubation of erythrocytes in not-radiated blood plasma were established. Results of the given researches testify to efficiency laser terahertz expositions in recovery of erythrocytes' membrane resistance *in vitro* on the average 30% that opens prospects for the further investigations not only with the purpose of the study of drug disease pathogeny but also for the purpose of development more effective methods its therapy.

Key words: low-intensive terahertz radiation, microwave dielectrometry, osmotic resistance of erythrocytes, drug disease associated with allergic dermatosis.

Сведения об авторах:

Хмель Наталья Владимировна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. отдела биофизики Института радиофизики и электроники им А. Я. Усикова НАН Украины; e-mail: dreval@ire.kharkov.ua

Кондакова Анна Константиновна – канд. биол. наук, зам. директора по научной работе ГУ «Институт дерматологии и венерологии НАМН Украины»; e-mail: idvnamnu@ukr.net

Солошенко Эльвира Николаевна – д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией аллергологии ГУ «Институт дерматологии и венерологии НАМН Украины».

Колесников Владимир Григорьевич – ст. науч. сотр., канд. физ.-мат. наук, ст. науч. сотр. отдела биофизики Института радиофизики и электроники им. А. Я. Усикова НАН Украины; e-mail: kolesnik@ire.kharkov.ua

Шевченко Зоя Михайловна – мл. науч. сотр. лаборатории аллергологии ГУ «Институт дерматологии и венерологии НАМН Украины».

Ярмак Татьяна Павловна – мл. науч. сотр. лаборатории аллергологии ГУ «Институт дерматологии и венерологии НАМН Украины».

Каменев Юрий Ефимович – ст. науч. сотр., канд. физ.-мат. наук, ст. науч. сотр. отдела квантовой электроники и нелинейной оптики Института радиофизики и электроники им. А. Я. Усикова. НАН Украины.