

О. Б. АЛМАЗОВА, ст. викл., НТУ "ХПІ", Харків,

М. Л. ЛИСИЧЕНКО, д-р техн. наук, Харківський національний технічний університет сільського господарства імені П. Василенка, Харків

ВПЛИВ УЛЬТРАФІОЛЕТОВОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НА КІНЕТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ В ЕРИТРОЦИТАХ

Еритроцити опромінювали ультрафіолетовою лампою типу ВМТ ($\lambda = 253,7\text{нм}$). Методами кислотних (хімічних) еритрограмм і зустрічного транспорту порівнювали кінетичні характеристики в опроміненних і неопроміненних зразках крові.

Отримано, що в опроміненних ультрафіолетом зразках крові відбувається зменшення часу напівгемолізу, а також ультрафіолетове випромінювання збільшує швидкість зустрічного переміщення іонів через еритроцитарні мембрани. Ці зміни обумовлені зменшенням "ефективної" товщини примембранного дифузійного шару – неперемішаного шару води, що примикає до мембрани еритроцита. Іл.: 4. Табл.: 3. Бібліогр.: 12 назв.

Ключові слова: еритроцит; зразки крові, що опромінені ультрафіолетом; метод кислотних (хімічних) еритрограмм; примембранний дифузійний шар.

Постановка проблеми. У світі широко відомі такі види фототерапевтичного опромінення крові:

1. *Внутрішньовенне лазерне опромінення крові.* Внутрішньовенне лазерне опромінення крові (ВЛОК) здійснюється *in vivo* шляхом подачі світла низькоінтенсивного лазера в судинний канал, як правило, в вену передпліччя, в припущенні, що терапевтичний ефект буде поширюватися через кровоносну систему [1, 2]. ВЛОК терапія посилює регенерацію тканин, знімає запальний процес, покращує оксигенну функцію, розслабляє стінки судин та м'язів, коригує продуктивність кісткового мозку, зв'язує токсини, зменшує циркуляцію вірусів, що знаходяться в організмі, тим самим протистоїть і коронавірусу COVID-19. Призначається в складі комплексної терапії.

2. *Крізьшкірне (надвенне) лазерне опромінення крові.* При крізьшкірному (надвенному) впливі лазерний промінь спрямований на неушкоджену шкіру в область великих кровоносних судин [1].

3. *Екстракорпоральне опромінення крові.* Використовується для ультрафіолетового опромінення крові, включає в себе забір крові через вену і опромінення її поза тілом, в спеціальній кюветі. Раніше кров опромінювали за допомогою УФ (ультрафіолетових) ламп, зараз за допомогою лазера (екстракорпоральне лазерне опромінення крові) –

ЕЛОК. Екстракорпоральне ультрафіолетове опромінення крові (ЕУФОК) і подальша її внутрішньовенна реінфузія є найбільш відомим, поширеним і вивченим методом гемотерапії [3, 4]. Метод УФОК – це очищення крові УФ опроміненням, з метою поліпшення її якості, профілактики лікування захворювань. Багато хвороб на клітинному рівні погано піддаються медикаментозної дії (діабет, тромбоз, хронічні хвороби органів дихання). УФОК крові відкриває нові можливості для відновлення якості її складу, поліпшення самопочуття хворих [3, 4]. В умовах підвищеної захворюваності в зимовий час і міжсезоння метод дає відмінну можливість захистити організм від вірусної атаки. Під дією УФ опромінювання клітини крові оновлюють захисну мембрану, необхідну при вірусному навантаженні для збереження імунітету. В даний час при активному поширенні коронавірусу, УФОК крові став відмінним засобом запобігання зараження COVID-19 і частиною комплексної терапії. Забезпечує синтез вітаміну Д та інтерферону, блокує внутрішньоклітинний механізм вірусів, а головне перешкоджає виникненню тромбозу, що дуже важливо в період захворювання, а також при постковіді.

Аналіз літератури. Одна з найбільш поширених версій, що пояснює позитивну дію ЕУФОК, полягає в тому, що опромінені клітини крові, введені в вену хворому, виконують роль своєрідного подразника. У відповідь на це організм мобілізує свої ресурси, що і забезпечує лікувальний ефект [4 – 6]. Звідси випливає, що існує якийсь оптимальний режим опромінення, що забезпечує достатні для запуску механізму відповідного реагування зміни в опроміненому біоматеріалі. Як критерій ефективності біологічної дії опромінюючого світла пропонується використовувати товщину неперемішаного шару води, що примикає до мембрани еритроцита [6, 7]. За цим критерієм проведено і порівняння рівня біологічного впливу повного потоку світла УФ лампи та різних спектральних інтервалів ртутного випромінювача.

Методом ядерного магнітного резонансу (ЯМР) (спінове відлуння) авторами були проведені дослідження щодо ефективного впливу електромагнітного випромінювання (ЕМВ) ультрафіолетового і оптичного діапазону на еритроцити людини. Об'єктом дослідження був примембранний водний шар еритроцитів [5, 6]. Досліджувалася вплив ЕМВ УФ і оптичного діапазону на "ефективну" товщину примембранного шару еритроцитів (δ), (в неопромінених зразках $\delta = 2,57 \times 10^{-5}$ (м) [5, 6]. Було встановлено, що УФ опромінення (опромінення велось газорозрядною ртутною лампою типу ВМТ) ($\lambda = 253,7$ нм) зменшує товщину примембранного шару на 25%; селективне опромінення спектральними лініями (газорозрядної ртутної лампи типу ВМТ)

($\lambda = 312,6$ нм) і ($\lambda = 577$ нм) дають зменшення примембранного шару на 18% [5]. Зменшення "ефективної товщини" примембранного водного шару змінює швидкість обмінних процесів в системі "клітина - міжклітинне середовище", змінюючи режим функціонування клітини, який є біологічною відповіддю на опромінення вище переліченими довжинами хвиль. Еритроцити зі зміненим режимом функціонування, є сигналами-подразниками, які змушують організм мобілізувати ресурси на боротьбу з хворобою.

Практично вся сучасна фототерапевтична апаратура, якою впливають на кров людини і на організм в цілому створена із застосуванням лазерів і громіздких УФ ламп. Прилади на основі лазерів і УФ ламп небезпечні, досить дорогі, вимагають спеціальної підготовки персоналу. Існує необхідність вивчення можливості заміни лазерів і УФ ламп в апаратурі для фототерапії на більш безпечні, дешеві, більш прості в експлуатації джерела ЕМВ – світлодіоди.

У даній роботі ми порівняємо результати отримані методами кислотних еритрограмм і зустрічного транспорту з результатами, отриманими методом ЯМР по впливу ультрафіолетового випромінювання на примембранний шар в зразках крові, а також визначимо ефективні довжини хвиль, що найбільше впливають на еритроцити для подальшого створення фототерапевтичної апаратури на світлодіодах.

Мета статті. 1. Вивчення впливу ультрафіолетового випромінювача (УФ лампи типу ВМТ ($\lambda = 253,7$ нм)) методом кислотних еритрограмм і методом зустрічного транспорту на "ефективну" товщину примембранного шару в еритроцитах. Визначення фізичного механізму впливу УФ на зразки крові.

2. Визначення найбільш безпечного діапазону довжин хвиль УФ діапазону, що ефективно впливають на зразки крові для подальшого створення універсальної фототерапевтичної апаратури для екстракорпорального опромінення крові на базі світловипромінювальних діодів.

Матеріали і методи дослідження. Метод хімічних (кислотних) еритрограмм. У даній роботі досліджували еритроцити донорської крові людини методом хімічних (кислотних) еритрограмм, який дозволяє визначити якісний склад крові, заснований на фотоелектричному виміру гемолізу під дією кислоти. Параметрами, за якими визначали біологічну відповідь на вплив акустичних випромінювань, були мода (максимум функції розподілу статистичного ансамблю), ширина на напіввисоті (характеризує ступінь однорідності еритроцитів по їх кислотній стійкості), час напівгемолізу (час, протягом якого руйнується половина

клітин крові), і коефіцієнт асиметрії (що характеризує ступінь однорідності клітин крові за віком).

Принцип методу дослідження розподілу еритроцитів по їх кислотній стійкості (метод еритрограмм) складається з фотоелектричної реєстрації зменшення кількості числа еритроцитів в процесі гемолізу (за зменшенням оптичної густини D суспензії клітин), що розвивається під дією розчину соляної кислоти в стабільних умовах [8] (рис. 1).

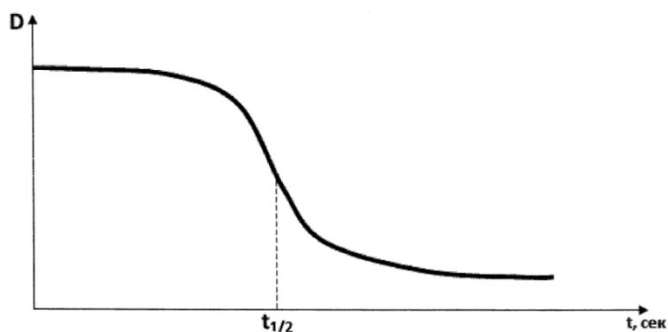


Рис. 1. Крива гемолізу

Для дослідження кінетики гемолізу застосовувався фотоелектричний колориметр типу КФК-2. Знімалася залежність оптичної густини D від часу t . Отримана крива – статистична диференціальна функція розподілу червоних клітин крові по кислотній стійкості – кислотна еритрограма [4, 8] (рис. 2).

Встановлено, що найбільш стабільно йде гемоліз, обумовлений простими неорганічними кислотами, кращою є соляна кислота HCl . Час гемолізу знаходиться в прямій залежності від концентрації кислотного гемолітика. Найбільш прийнятну тривалість гемолізу нормальної людської крові (7 – 8 хвилин) можна забезпечити шляхом її контакту з 0,012 N розчином HCl .

Для спостереження кислотного гемолізу досить 2 мм^3 крові, яку розводять фізрозчином у відношенні 1:100. Отримана суспензія еритроцитів придатна для аналізу протягом 3 – 4 годин при кімнатній температурі. Вимірювання проводяться на установці, основою якої є колориметр фотоелектричний концентраційний (КФК-2) (рис. 3). Використовується промінь світла, пропущений через світлофільтр, з максимумом пропускання на довжині хвилі 670 нм.

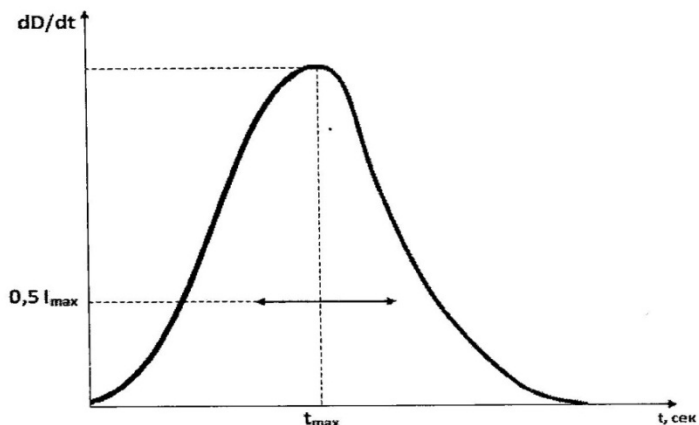
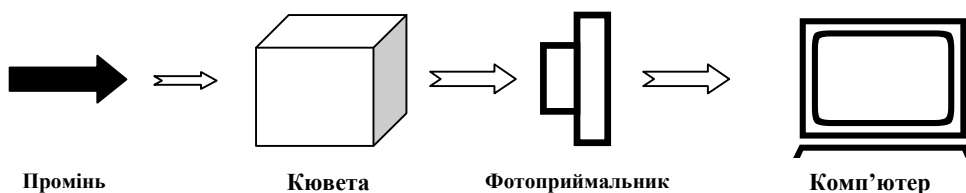
Рис. 2. Диференціальна функція розподілу ($S = 1$)

Рис. 3. Схема КФК-2

У вимірювальну комірку приладу поміщається скляна кювета з фізрозчином; на шкалі колориметра, проградуйованого в одиницях оптичної густини, встановлюється "нуль". Додаванням суспензії еритроцитів, оптична густина доводиться до значення $D = 0,7$, після цього додається розчин НСІ. Потім включається комп'ютер, сполучений з колориметром і протягом 10 – 15 хвилин записується крива ходу гемолізу еритроцитів.

В основі реєстрованого падіння оптичної густини лежить той факт, що еритроцити мають відмінності в стійкості до гемолізу і залучаються до цього процесу, відповідно їх розподілу по стійкості. Еритрограмми здорових людей показали, що розподіл еритроцитів за стійкістю у людини в нормі постійний. При порушенні рівноваги в системі крові виникають відхилення від норми в розподілі еритроцитів за стійкістю. Отримання ряду еритрограмм дозволяє стежити за динамікою якісних змін в системі крові.

При вивченні властивостей еритрограмм: часу напівгемолізу, моди, ширини на напіввисоті, коефіцієнта асиметрії обчислювалося відносне відхилення δ^x "досвіду" від "контролю" (у відсотках) за формулою:

$\delta^x = (x - x^0)/x^0$, де x і x^0 – величина одного з параметрів "досвіду" і "контролю", відповідно.

Дослідження методом зустрічного іонного транспорту. Ще одним параметром, за яким визначали рівень біологічної відповіді на вплив ультрафіолетового опромінення, була швидкість зустрічного переміщення іонів хлору (Cl^-) і гідроксиду (OH^-) через еритроцитарну мембрану. Зустрічний транспорт іонів реалізується при розміщенні еритроцитів в незабуферену ізотонічну середу зі зниженою концентрацією іонів хлору. При цьому відбувається вихід з еритроцитів деякої кількості зазначених іонів через мембрану; натомість, для підтримки електричної рівноваги в клітинах в еритроцити, входять іони гідроксиду. При цьому знижується рН міжклітинного середовища, а оскільки в середовищі відсутній буфер, то зміна концентрації іонів OH^- в точності відповідає зміни концентрації іонів Cl^- . Концентрацію іонів в розчинах вимірювали за допомогою іономіра [9, 10]. Вимірюючи рН середовища водневим електродом іономіра, визначаємо кількість іонів хлору, що залишили еритроцити.

Експеримент виконувався в такий спосіб. Еритроцити донорської крові (2 мл) відмивали в стандартному фізрозчині (0,85% NaCl) (5 мл). За допомогою центрифугування (3 рази по 15 хвилин (3000 об/хв.)) формувалася еритромаса, яка містилася на льоду. Відбирався фіксований обсяг еритромаси (2 мкл) і вводився в вимірювальну комірку іономіра (типу ЕВ-74) в якій знаходилося 5 мл водного розчину сахарози (0,29 М) – незабуференого середовища. Далі, шляхом вимірювання концентрації іонів водню (величини рН середовища) водневим електродом іономіра (типу ЕСЛ-43-07) визначалась кількість іонів Cl^- , які залишили еритроцити. Кінетику зміни рН середовища реєстрували за допомогою персонального комп'ютера. Типова крива наведена на рис. 4.

Відразу ж після введення еритромаси в розчин сахарози в середовищі різко зменшується рН; його значення проходить через мінімум, після чого закислення середовища змінюється зворотним залуженням.

Початкову швидкість закислення можна визначити, вимірюючи час τ , за який відбувається закислення на величину $(1 - e^{-1})$ від повної амплітуди ΔpH , тобто за час, протягом якого значення рН зменшується від стартового значення $\text{pH}_{\text{поч}}$ до величини $\text{pH}_\tau = \text{pH}_{\text{поч}} - \Delta\text{pH}(1 - e^{-1})$.

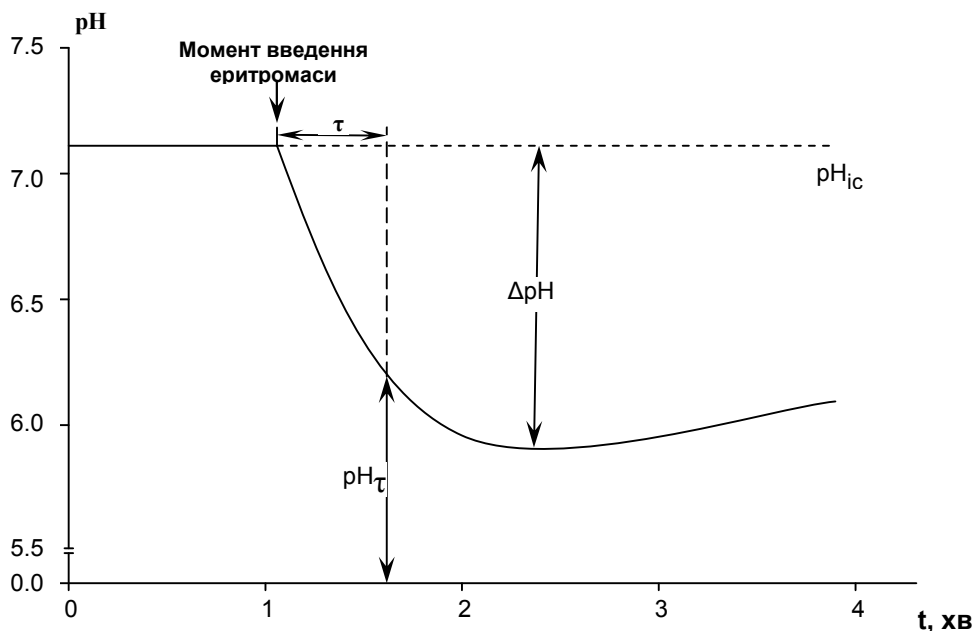


Рис. 4. Крива зміни рН середовища

Швидкість спадання рН дозволяє визначити сумарний (від всіх еритроцитів, що містяться в комірці) потік J іонів Cl^- , що обмінюються на сумарний потік іонів OH^- :

$$J = jS. \quad (1)$$

Тут S – сумарна поверхня мембран всіх еритроцитів, що містяться в вимірювальній комірці, а j – поверхнева густина потоку речовини в напрямку x з градієнтом концентрації уздовж цього напрямку dc/dx :

$$j = -D \, dc/dx,$$

де D – коефіцієнт дифузії (закон Фіка). У разі, якщо стаціонарний транспорт йде через тонку мембрану, то похідну dc/dx можна замінити кінцевою різницею концентрацій, віднесеної до товщини мембрани L . Тоді

$$j = -D\Delta c/L = P(c_I - c_{II}), \quad (2)$$

Тут введена проникність мембрани для речовини, що дифундує $P = D / L$ і конкретизовані концентрації речовини: зліва від мембрани – c_I (відсік I) і праворуч від мембрани – c_{II} (відсік II). В реальній ситуації до мембрани завжди примикає неперемішуваний примембранний шар води, який залишається абсолютно нерухомим навіть при наявності сильного конвективного руху поблизу нього. Перенесення речовини через цей шар

здійснюється дифузійним шляхом, тому його прийнято називати примембранним неперемішуваним дифузійним водним шаром.

Розглянемо, слідуючи [7], більш докладно переміщення речовини А (іонів) з відсіку (I) з постійною концентрацією c_I в розчин по іншу сторону мембрани (відсік (II)). Молекули речовини А повинні подолати послідовно три дифузійних бар'єра: перший (по ходу) примембранний шар води завтовшки δ_1 (густина потоку j_{IM}), власне саму мембрану товщиною L (густина потоку j_M) і другий примембранний шар води завтовшки δ_2 (густина потоку j_{MI}).

Відповідно до закону Фіка, (2) відповідні густини потоків записуються у вигляді

$$j_{IM} = P_{IM}(c_I - c_{IM}); j_M = P_M(c_I - c_{IM}); j_{MI} = P_{MI}(c_{MI} - c_{II}), \quad (3)$$

де P_{IM} , P_M , P_{MI} – проникності відповідних бар'єрів; c_{IM} і c_{MI} – концентрації на протилежних сторонах мембрани. У стаціонарному стані густини всіх потоків рівні: $j_{IM} = j_M = j_{MI} = j$.

Так як, згідно (2), $c_I - c_{II} = j/P$, де P – проникність системи в цілому, то

$$P^{-1} = P_{IM}^{-1} + P_M^{-1} + P_{MI}^{-1}. \quad (4)$$

Величину P^{-1} можна назвати "опором" потоку речовини. Опори потоку примембранних неперемішуваних шарів пропорційні товщині цих шарів. Дійсно, згідно з визначенням проникності (2)

$$P_{IM}^{-1} + P_{MI}^{-1} = (\delta_1 + \delta_2)/D_w,$$

де D_w – коефіцієнт дифузії молекул речовини А в воді.

Якщо прийняти наближення, що товщини цих примембранних шарів однакові, тобто $\delta_1 = \delta_2 = \delta_D$, маємо

$$P_{IM}^{-1} + P_{MI}^{-1} = 2 \delta_D/D_w. \quad (5)$$

Підставляючи (5) в (3) з урахуванням того, що $j_M = P_M(c_I - c_{IM}) = D_m L^{-1}(c_I - c_{IM})$, тобто $P_M = D_m L^{-1}$, отримаємо вираз для товщини дифузійного примембранного шару

$$\delta_D = 0,5 D_w(P^{-1} - L/D_m). \quad (6)$$

Тут D_m – коефіцієнт дифузії молекул речовини через ліпідний подвійний шар мембрани товщиною L . Маючи інформацію про параметри D_w , D_m , P і L , можна визначити товщину примембранного шару δ_D . Однак, оскільки в експерименті ми вимірюємо поверхневу густину потоку через все еритроцитарні мембрани в комірці ($J = j S$), а дані про чисельні значення сумарної поверхні S ми не маємо в своєму розпорядженні, то визначити величину δ_D не представляється можливим.

Проте, якщо при виконанні кожного вимірювання J забезпечувати ідентичні умови (включаючи однакову швидкість переміщення рідини в комірці), то можна визначити відношення товщини дифузійного примембранного шару еритроцитів, що не зазнали опромінення ($\delta_D(0)$), до товщини зазначеного шару еритроцитів, що зазнали УФ опромінення ($\delta_D(*)$). Дійсно, можна вважати, що в ході опромінення сумарна поверхня мембран еритроцитів зберігається без змін, тобто $S(0) = S(*)$. Тоді використовуючи рівняння (1) і (2), можна записати

$$J(*)/J(0)=j(*)/j(0)=[D(*)/\delta_D(*)]:[D(0)/\delta_D(0)]=[D(*)/D(0)]\cdot[\delta_D(0)/\delta_D(*)]. \quad (7)$$

Результати дослідження та їх обговорення. Результати вимірювання методом кислотних еритрограмм. Були виконані вимірювання кислотних еритрограмм для неопроміненої і опроміненої за допомогою ультрафіолетової лампи типу ВМТ ($\lambda = 253,7$ нм) (експозиції 15 і 30 хвилин) крові 5 донорів.

Для узагальнення величин змін в параметрах за зразками крові всіх донорів, перейшли до порівняння відносних змін часу напівгемолізу (δ^{H-T}) (часу, протягом якого руйнується половина клітин крові), моди (δ^M) (максимуму функції розподілу статистичного ансамблю), ширини на напіввисоті (δ^{III}) (характеризує ступінь однорідності еритроцитів по їх кислотній стійкості) шляхом відповідного усереднення.

Таблиця 1

Зміни часу напівгемолізу від експозиції, усереднені за зразками крові всіх донорів

| Експозиція τ , хв. | 15 | 30 |
|--|-------|--------|
| Відносна зміна $t_{1/2}$, $\delta^{H-T} = (t_{1/2} - t_{1/2}^0)/t_{1/2}^0, \%$ | -9,42 | -13,42 |

З табл. 1 випливає, що зі збільшенням тривалості часу опромінення час напівгемолізу монотонно зменшується.

Таблиця 2

Зміни моди в залежності від УФ-експозиції, усереднені за зразками крові всіх донорів

| Експозиція τ , хв. | 15 | 30 |
|--|--------|--------|
| Відносна зміна t_{max} , $\delta^M = (t_{max} - t_{max}^0)/t_{max}^0, \%$ | -10,46 | -14,52 |

З табл. 2 випливає, що зі збільшенням тривалості часу опромінення величина переміщення моди в більш "ранню" область монотонно зростає.

Таблиця 3

Зміни ширини функції розподілу еритроцитів (виміряної на напіввисоті) від експозиції, усереднені за зразками крові всіх донорів

| | | |
|---|------|-------|
| Експозиція τ , хв. | 15 | 30 |
| Відносна зміна $\Delta_{1/2}$, $\delta^{\text{III}} = (\Delta_{1/2} - \Delta_{1/2}^0) / \Delta_{1/2}^0$, % | -9,2 | -12,5 |

З табл. 3 випливає, що зі збільшенням тривалості часу опромінення ширина на напіввисоті (характеризує ступінь однорідності еритроцитів по їх кислотній стійкості) монотонно зменшується.

Отримані результати відповідають добре відомим уявленням про перенесення молекул через клітинну мембрану, викладеним в [2, 7]. Величина потоку молекул через мембрану обернено пропорційна товщині мембрани. Оскільки в реальних умовах шари водного розчину, що безпосередньо прилягають до мембрани, практично не перемішуються (так звані неперемішувані (дифузійні) шари Нерста), то і концентрації молекул, що дифундують до мембрани в цих шарах істотно відрізняються від концентрації аналогічних молекул в обсязі, що залишився (на безумовно великій відстані від клітини). Сукупність мембрани з дифузійними шарами можна розглядати як ефективну мембрану, товщину якої прийнято визначати за формулою:

$$L_{\text{еф}} = L_{\text{мембр}} + \Delta X_{\text{внутр}} + \Delta X_{\text{зовніш}},$$

де $\Delta X_{\text{внутр}}$ і $\Delta X_{\text{зовніш}}$ – товщини неперемішуваних (дифузійних) водних шарів з внутрішньої і зовнішньої сторони мембрани відповідно.

Як показано в [11, 12] УФ промені за рахунок своєї деструктивної дії забезпечують відділення від еритроцита значної частини гликокаликсу. Гликокаликс має вигляд пухкого волокнистого шару, товщиною 3 – 5 нм, що покриває всю поверхню клітини. Шар гликокаликсу сильно обводнений, має желеподібну консистенцію, що значно ускладнює дифузію різних речовин в клітину (і з клітини). Після УФ опромінення через руйнування частини гликокаликса, протяжність шляху молекулам, що рухаються у напрямку до клітинної мембрани (або з клітини), зменшується на величину рівну товщині шару гликокаликсу.

Застосування методу кислотних еритрограм передбачає введення в суспензію клітин розчин соляної кислоти. Молекули HCl дифундують крізь шар гликокаликсу, після чого контактують з мембраною, руйнуючи її. Якщо гликокаликс, завдяки руйнівній дії УФ променів відокремився від клітин, то протяжність шляху, який слід пройти молекулам, що дифундують, зменшується. Молекули HCl за більш короткий час приходять до мембрани, ніж у випадку, коли клітини не піддавалися УФ

опроміненню. Через це гемоліз в опроміненіх клітинах починається раніше; через це мода кривої розподілу еритроцитів по кислотній стійкості зсувається в більш ранню область за шкалою часу.

В проведених дослідях спостерігалось збільшення ступеня однорідності статистичного ансамблю еритроцитів (за кислотною стійкістю). Цей результат стає зрозумілим, якщо припустити, що величини товщин гликокаліксу еритроцитів в неопроміненіх зразках були розподілені в більш-менш широкому інтервалі значень. Після обробки УФ променями, практично всі клітини втрачають гликокалікс, через що виникає ситуація, коли оголені мембрани прикриті тільки водними примембранними шарами. Мабуть, слід вважати, що товщини залишившихся (після УФ опромінення) примембранних водних шарів розподілені в більш вузькому інтервалі значень, ніж товщини гликокаліксів еритроцитів в неопроміненіх зразках. Ця обставина і забезпечує спостережуване збільшення ступеня однорідності (за кислотною стійкістю) статистичного ансамблю еритроцитів, підданих впливу УФ променів.

Методом кислотних еритрограмм отримано:

1. УФ опромінення зразків крові призводить до зменшення часу напівгемолізу, що відбувається при введенні кислоти в суспензію крові. При тривалості опромінення час напівгемолізу монотонно зменшується. (Експозиції: 15 хв. на 9,42%; 30 хв. на 13,42%) (див.табл.1).

2. Мода кислотних еритрограмм зсувається після ультрафіолетового опромінювання. Зі збільшенням часу опромінення зміщення моди в більш "ранню" область монотонно зростає. (Експозиції: 15 хв. на 10,46%; 30 хв. на 14.52%) (див.табл.2)

3. УФ опромінення зразків крові призводить до зменшення ширини кривої розподілу, яка вимірюється на половині висоти, тобто УФ опромінення підвищує ступінь однорідності статистичного ансамблю еритроцитів. Зі збільшенням часу опромінення ширина кривої розподілу монотонно зменшується. (Експозиції: 15 хв. на 9,2%; 30 хв. на 12,5%) (див. табл. 3).

Результати, що отримані методом зустрічного транспорту іонів.

Були виконані вимірювання неопроміненої і опроміненої УФ лампою типу ВМТ ($\lambda = 253,7$ нм) крові від 5 донорів.

Вимірювання показали, що, хоча індивідуальні значення обмінних потоків J (тобто зустрічного транспорту іонів Cl^- / OH^-) у зразків, отриманих від різних донорів різнилися в певних межах, проте, у всіх зразках потоки через опромінені клітини перевищували потоки через неопромінені клітини. Отримано, що в результаті 20-хвилинного

опромінення відношення величин потоків, усереднених по 5 донорам, дорівнює

$$J(*)/J(0) = 1,17 \pm 0,05. \quad (8)$$

Отже, згідно з (7),

$$[D(*)/D(0)] \cdot [\delta_D(0)/\delta_D(*)] = 1,17. \quad (9)$$

В отримане співвідношення входять як коефіцієнт дифузії, так і товщина дифузійного шару. Немає підстав вважати, що в ході УФ опромінення змінилося значення коефіцієнта дифузії. Поклавши $D(0) = D(*)$ в (9), маємо $\delta_D(*) = 0,85 \delta_D(0)$, тобто виявляється, що товщина дифузійного прикордонного шару зменшилася, завдяки УФ опроміненню, в $(1,17 \pm 0,05)$ рази.

Цей результат корелює з результатом, отриманим при вимірюванні, опромінених УФ еритроцитів за допомогою методу парамагнітного допінгу, де показано, що після 4 хвилинного опромінення повним потоком лампи ВМТ товщина дифузійного прикордонного шару зменшилася в $(1,41 \pm 0,06)$ рази (25%). А також 4-х хвилинне опромінення селективним освітленням спектральних ліній ртутної лампи $\lambda = 312,6$ нм та $\lambda = 577,0$ нм дає зменшення примембранного дифузійного водного шару в $(1,22 \pm 0,06)$ рази (18%) [5].

Отримано, що в результаті УФ опромінення примембранний дифузійний водний шар стає тоншим і для дифузії молекул води і для дифузії іонів (Cl^- и OH^-). Це дає підставу стверджувати, що зменшення товщини зазначеного шару призводить до прискорення перенесення і інших речовин через мембрану еритроцита. Відповідно, в живому організмі при опроміненні крові хвилями УФ діапазону (або відразу після припинення опромінення) в одиницю часу обмін речовин між еритроцитами і міжклітинним середовищем відбувається більш інтенсивно.

Розглянемо фізичний механізм, завдяки якому УФ опромінення забезпечує появу біологічної відповіді. Так як товщина дифузійного примембранного шару на кілька порядків більше товщини ліпідного шару мембрани, то практично весь час, що витрачається молекулами на дифузійний рух в клітину, йде на подолання примембранного водного шару. УФ випромінювання сприяє зменшенню ефективної товщини зазначеного шару. У цьому процесі беруть участь повітряні бульбашки. Відомо, що в біологічній рідині міститься розчинене повітря і повітря в бульбашках [6]. Бульбашки, що знаходяться в біотканині, присутні і в дифузійному примембранном водному шарі. Рухаючись в примембранному шарі, бульбашки грають роль своєрідних "перемішувачів". Під дією УФ повітряні бульбашки збільшуються в

розмірах. Оскільки швидкість переміщення бульбашки більшого радіусу вище, ніж швидкість бульбашки, з меншим радіусом, то бульбашки, що збільшились, рухаються в примембранному водному шарі швидше. Через це реалізується більш активне перемішування зазначеного шару; "ефективна" товщина його стає менше, ніж була до опромінення УФ. Зрозуміло, що і процес перенесення іонів в клітину (і з клітини) та інші процеси обміну речовин в системі "клітина-міжклітинне середовище" йдуть швидше. Очевидно, завдяки УФ опроміненню ефективна проникність системи "клітинна мембрана плюс примембранний водний шар" збільшується.

Висновки.

1. Отримано, що опромінення зразків крові УФ випромінюванням призводить до зменшення часу напівгемолізу, що відбувається при введенні кислоти в суспензію крові. Зі збільшенням тривалості опромінення час напівгемолізу монотонно зменшується.

2. УФ випромінювання збільшує швидкість зустрічного переміщення іонів через еритроцитарні мембрани.

3. Зменшення часу напівгемолізу і збільшення швидкості зустрічного перенесення іонів обумовлено зменшенням "ефективної" товщини примембранного дифузійного водного шару.

4. Опромінення досліджуваних зразків крові велось "жорстким" ультрафіолетом ($\lambda = 253,7$ нм), його дія більш бактерицидна, але й більш руйнівна. Методом ЯМР автори визначали зменшення "ефективної" товщини примембранного дифузійного водного шару, опромінюючи кров не тільки повним світлом ртутного випромінювача, а й селективними лініями опромінювання. При довжині хвилі ($\lambda = 312,6$ нм) спостерігалось зменшення товщини примембранного дифузійного водного шару на 18%. Тобто, якщо для створення апаратури на базі світлодіодів використовувати діапазон 310 – 320 нм (лежить в прикордонному діапазоні між "середньо-жорстким" і "м'яким") можна отримати водночас і бактерицидний, і менш руйнівний вплив ультрафіолету.

Отже, дані, отримані за впливом ультрафіолетового діапазону на примембранний водний шар еритроцитів, виміряний трьома біофізичними методами, збігаються. Зменшення "ефективної товщини" примембранного водного шару змінює швидкість обмінних процесів в системі "клітина – міжклітинне середовище", тим самим змінюючи режим функціонування клітини, що є біологічною відповіддю на вплив УФ опромінення з діапазоном довжин хвиль 310 – 320 нм. Клітини крові зі зміненим режимом функціонування, є сигналами-подразниками, які змушують організм мобілізувати ресурси на боротьбу з патологією. Дані обставини можуть прогнозувати створення універсальної

фототерапевтичної апаратури для екстракорпорального опромінення крові на базі світлодіодів з певними параметрами впливу, зокрема з певним ефективним діапазоном довжин хвиль.

Метод екстракорпорального опромінення крові, наряду з плазмофорезом та озонотерапією, виступає в якості як профілактики, так і комплексного лікування від COVID–19, а також допомагає організму відновитися після перенесення цієї хвороби. Тому універсальна апаратура для екстракорпорального опромінення крові стає особливо актуальною в наш час.

Список літератури:

1. Гейниц А.В. Внутривенное лазерное облучение крови / А.В. Гейниц, С.В. Москвин, А.А. Ачилов. – Москва; Тверь: Триада, 2012. – 334 с.
2. Кару Т.Й. Первичные и вторичные клеточные механизмы лазерной терапии / Т.Й. Кару // Низкоинтенсивная лазерная терапия / Под ред. С.В. Москвина и В.А. Буйлина. – М.: ТОО "Фирма "Техника", 2000. – С. 71-94.
3. Knott E.K. Development of ultraviolet blood irradiation / E.K. Knott // American Journal of Surgery. – 1948. – 76 (2). – С. 165-171.
4. Ганелина И.Е. Механизмы влияния облученной ультрафиолетовыми лучами крови на организм человека и животных / И.Е. Ганелина. Сб. науч. тр. / Под ред. И.Е. Ганелиной, К.А. Самойловой. – Л.: Наука, 1986. – 284 с.
5. Алмазова Е.Б. О механизме влияния излучения газоразрядной ртутной ультрафиолетовой лампы на толщину примембранного водного слоя эритроцитов человека / Е.Б. Алмазова, Б.Г. Емец // Биофизический вiсник. – 2008. – Вип. 21 (2). – С. 88-94.
6. Емец Б.Г. Эффекты взаимодействия низкоинтенсивных электромагнитных волн с наноразмерными газовыми включениями в жидких средах / Диссертация на соискание ученой степени доктора физико-математических наук, Харьков, 2004. – 336 с.
7. Котык А. Мембранный транспорт. / А. Котык, К. Яначек. – М.: Мир, 1980. – 338 с.
8. Терсков И.А. Метод химических (кислотных) эритрограмм / И.А. Терсков, И.И. Гительзон // Биофизика. – 1957. – Т.2. – № 2. – С. 259-266.
9. Baskurt O.K. In vitro effects of thyroxin on mechanical properties of erythrocytes / O.K. Baskurt // Life Sci. – 1990. – 46. – P. 1471-1477.
10. Конев С.В., Действие УФ света на белки в растворе и составе биологических мембран. Фотобиология животной клетки / С.В. Конев, И.Д. Вологовский. – Л.: 1979. – С. 5-16.
11. Камман С. Работа с ионоселективными электродами / С. Камман. – М.: Мир, 1982. – 203 с
12. Путвинский А.В. Электрический пробой мембран эритроцитов за счет диффузной разности потенциалов / А.В. Путвинский и др. / Биофизика. – 1983. – Т. 28. – № 3. – С. 505-506

References:

1. Geynits, A.V., Moskvina, S.V. and Achilov A.A. (2012), *Intravenous laser irradiation of blood. (Basics of laser therapy)*. Moscow, Tver: Triada, 334 p.
2. Karu, T.Y. (2000), *Primary and secondary cellular mechanisms of laser therapy Low-intensity laser therap.* Ed. Moskvina, S.V. and Builin, V.A., Firm Tekhnika LLP, Moscow, pp. 71-94.

3. Knott, E.K. (1948), "Development of ultraviolet blood irradiation". *American Journal of Surgery*. Vol. 76 (2), pp. 165-171.
4. Ganelina, I.E. and Samoilo, K.A. (1986), *Mechanisms of the influence of blood irradiated with ultraviolet rays on the human and animal organism. Collection of scientific articles*. Ed. Ganelina, I.E. and Samoilo, K.A., Nauka, Leningrad, 284 p.
5. Almazova, E.B. and Yemets, B.G. (2008), "On the mechanism of the influence of the radiation of a gas-discharge mercury ultraviolet lamp on the thickness of the near-membrane water layer of human erythrocytes". *Biophysical Bulletin.*, Is. 21 (2), pp. 88-94.
6. Yemets, B.G. (2004), *Effects of interaction of low-intensity electromagnetic waves with nanoscale gas inclusions in liquid media: dissertation*, Kharkov, 336 p.
7. Kotyk, A. and Janacek K. (1980), *Membrane transport*, Mir, Moscow, 338 p.
8. Terskov, I.A. (1957), "Method of chemical (acid) erythrograms", *Biophysics*, Vol. 2, No. 2., pp. 259-266.
9. Baskurt, O.K. et al (1990), "In vitro effects of thyroxin on mechanical properties of erythrocytes", *Life Sci.*, Vol. 46, pp. 1471-1477.
10. Konev, S.V. and Volotovskiy, I.D. (1979), *Effect of UV light on proteins in solution and composition of biological membranes. Photobiology of an animal cell*, Leningrad, pp. 5-16.
11. Kamman, S. (1982), *Work with ion-selective electrodes*, Mir, Moscow, 203 p.
12. Putvinsky, A.V. (1983), "Electrical breakdown of erythrocyte membranes due to diffuse potential difference", *Biophysics*, Vol. 28, N 3, pp. 505-506.

Статтю представив д-р техн. наук, проф. Семенов О.В.

Надійшла (received) 23.03.2021

Almazova Olena, senior lecture,
National Technical University "Kharkiv Polytechnic Institute",
O. Yarosh str., 11a, ap.16, Kharkiv, Ukraine, 61045
Tel.: 099 626 54 84, e-mail: alonushka.alona27@gmail.com
ORCID ID:0000-0003-3226-6703

Lysychnenko Mykola, professor, doctor of technical sciences,
Kharkov National Technical University of Agriculture named after P. Vasilenko,
Alchevskikh str, 44, Kharkiv, Ukraine, 61002
Tel.: 050 229 87 43, e-mail: lprlysychnenko@ukr.net
ORCID ID:0000-0002-4424-0159

УДК 577.344 + 612.014.481

Вплив ультрафіолетового випромінювання на кінетичні характеристики в еритроцитах / Алмазова О.Б., Лисиченко М.Л. // Вісник НТУ "ХПІ". Серія: Інформатика та моделювання. – Харків: НТУ "ХПІ". – 2021. – № 1 (5). – С. 125 – 141.

Еритроцити опромінювали ультрафіолетовою лампою типу ВМТ ($\lambda = 253,7\text{нм}$). Методами кислотних (хімічних) еритрограмм і зустрічного транспорту порівнювали кінетичні характеристики в опромінених і неопромінених зразках крові. Отримано, що в опромінених ультрафіолетом зразках крові відбувається зменшення часу напівгемолізу, а також ультрафіолетове випромінювання збільшує швидкість зустрічного переміщення іонів через еритроцитарні мембрани. Ці зміни обумовлені зменшенням "ефективної" товщини примембранного дифузійного шару – неперемішуваного шару води, що примикає до мембрани еритроцита. Ил.: 4. Табл.: 3. Бібліогр.: 12 назв.

Ключові слова: еритроцит; опромінені ультрафіолетом зразки крові; метод кислотних (хімічних) еритрограмм; примембранний дифузійний шар.

УДК 577.344 + 612.014.481

Влияние ультрафиолетового излучения на кинетические характеристики в эритроцитах / Алмазова О.Б., Лисиченко М.Л. // Вестник НТУ "ХПИ". Серія: Інформатика и моделирование. – Харьков: НТУ "ХПИ". – 2021. – № 1 (5). – С. 125 – 141.

Эритроциты облучали ультрафиолетовой лампой типа ВМТ ($\lambda = 253,7\text{нм}$). Методами кислотных (химических) эритрограмм и встречного транспорта сравнивали кинетические характеристики в облученных и необлученных образцах крови. Получено, что в облученных ультрафиолетом образцах происходит уменьшение времени полугемолиза, а также ультрафиолетовое излучение увеличивает скорость встречного перемещения ионов через эритроцитарные мембраны. Эти изменения обусловлены уменьшением "эффективной" толщины примембранного диффузионного слоя – неперемешиваемого слоя воды, примыкающего к мембране эритроцита. Ил.: 4. Табл.: 3. Библиогр.: 12 назв.

Ключевые слова: эритроцит; облученные ультрафиолетом образцы крови; метод кислотных (химических) эритрограмм; примембранном диффузный слой.

UDC 577.344 + 612.014.481

Influence of ultraviolet radiation on kinetic characteristics in erythrocytes / Almazova O.B., Lisichenko M.L. // Herald of the National Technical University "KhPI". Series of "Informatics and Modeling". – Kharkov: NTU "KhPI". – 2021. – № 1 (5). – P. 125 – 141.

Erythrocytes were irradiated with an ultraviolet lamp of the VMT type ($\lambda = 253.7\text{ nm}$). The kinetic characteristics in irradiated and non-irradiated blood samples were compared by the acid (chemical) erythrogram method and by the counter transport method. Obtained:

- by the method of acidic erythrograms it was found that in ultraviolet-irradiated blood samples there is a decrease in the time of half hemolysis.

- ultraviolet radiation increases the speed of counter movement of ions through erythrocyte membranes.

- a decrease in the time of half hemolysis and an increase in the rate of counter transfer of ions, irradiated blood samples, is due to a decrease in the "effective" thickness of the near-membrane diffusion layer - an immiscible layer of water adjacent to the erythrocyte membrane.

A decrease in the "effective thickness" of the near-membrane water layer changes the rate of metabolic processes in the "cell - intercellular medium" system, changing the mode of

cell functioning. The altered mode of functioning is a biological response to light radiation. Red blood cells with an altered mode of functioning are stimulus signals that force the body to mobilize resources to fight pathology. These circumstances can predict the creation of a universal phototherapeutic equipment for extracorporeal blood irradiation based on LEDs with certain exposure parameters. Figs.: 4. Tabl.: 3. Refs.: 12 titles.

Keywords: erythrocyte; ultraviolet irradiated blood samples; method of acid (chemical) erythrograms; submembrane diffusion layer.