

МОДЕЛИРОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ

Е.Н. Галайченко, Д.В. Снежко, Н.Н. Рожницкий

Харьковский национальный университет радиоэлектроники

Рассматриваются информационные процессы в биологической и медико-технической подсистемах медицинской системы для озонотерапии посредством моделирования процессов протекающих в человеческом организме во время сеансов озонотерапии с использованием основных положений теории информации.

Современное биомедицинское приборостроение бурно развивается, особенно это относится к аппаратуре в области клинических и лабораторных анализов. При этом широко применяются хемилюминесцентные (ХЛ) методы и аналитическая аппаратура, ввиду большого количества методик анализа, простоте, информативности, наличия соответствующего программного обеспечения [1]. Однако, зачастую, использование современных диагностических и терапевтических методов контроля состояния биологической подсистемы – пациента, основанных на получении информации путем регистрации сигнала ХЛ, производится эмпирически. Это затрудняет разработку и построение адекватной медицинской системы, в общем случае представленной биологической и медико-технической (измерительной) подсистемами, требующих знания физики и математики процесса получения адекватной информации.

Целью работы является изучение основных информационных процессов в биологической и медико-технической подсистемах медицинской системы для озонотерапии посредством моделирования процессов протекающих в человеческом организме во время сеансов озонотерапии, а также непосредственно в пробе при ХЛ-анализе. Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

1. Рассмотреть данные процессы с использованием основных положений теории информации;
2. Представить модели наиболее существенных процессов, протекающих в биологической подсистеме во время действия экзогенного фактора – активной формы кислорода (озона);
3. Осуществить их математическое моделирование;
4. Сопоставить теоретические результаты с экспериментальными данными, полученными с использованием разработанного хемилюминесцентного аналитического комплекса ХЛК-1 [2-4];

5. Провести клиническую апробацию медицинской терапевтической системы, включающей аналитический комплекс ХЛК-1.

В данной работе внимание уделяется решению задач 1–3, а рассмотрение остальных будет проведено в последующих сообщениях.

Основные информационные потоки в биологической и медико-технической подсистемах медицинской системы можно представить в виде схемы, показанной на рис. 1.

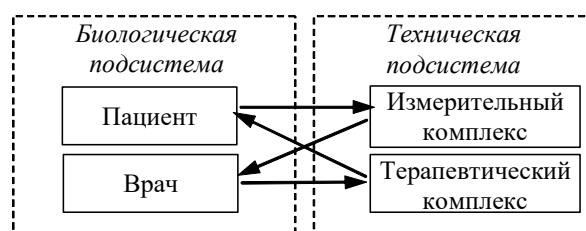


Рисунок 1.

Рассмотрение подобной системы актуально в свете все большего распространения такого терапевтического метода, как озонотерапия (ОТ). В связи с этим важным аспектом является получение объективной информации о закономерностях метаболизма человека в условиях оксидантной терапии для последующего принятия врачом решения о схеме терапии (увеличение/уменьшение дозировки озono-кислородной смеси и пр.). Для этого необходимо применение специализированного аналитического комплекса как составного элемента технической подсистемы. В данном случае таковым является аналитический комплекс ХЛК-1 [2-4].

Существенным является уяснение физики процесса получения информации о биологической подсистеме (пациенте), который можно описать следующими основными стадиями:

1. Осуществление отбора пробы крови (или иной биожидкости) и ее пробоподготовки;
2. Проведение хемилюминесцентного анализа биопробы и регистрация аналитического оп-

тического сигнала – интенсивности ХЛ;

3. Определение факторов, влияющих на хемиллюминесценцию;

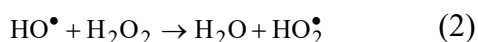
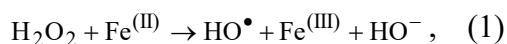
4. Последующее преобразование аналитического сигнала в электрический сигнал;

5. Интерпретация результатов информационного процесса, т.е. выделение из аналитического сигнала полезной информации о процессах, протекающих в организме пациента во время сеанса ОТ.

Вышесказанное позволяет сделать вывод об очевидной необходимости проведения теоретических исследований посредством математического моделирования процессов хемиллюминесцентной реакции, протекающей как *in vitro*, так и *in vivo*. Рассмотрим физическую модель процесса «озонирования» биоподсистемы в процессе сеанса ОТ.

В ходе нормального метаболизма в органах и тканях продуцируются активные свободные радикалы: супероксид-радикал $\bullet O_2^-$, гидропероксидный радикал HO_2^\bullet , гидроксидный радикал HO^\bullet , а также такой активный окислитель, как H_2O_2 . Эти частицы генерируются и внешними источниками – свет, радиация, смог, сигаретный дым и др.

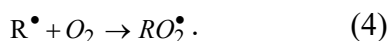
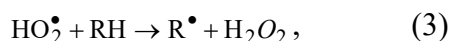
Радикалы HO^\bullet и HO_2^\bullet возникают из пероксида водорода при взаимодействии с ионами железа



Участие железа – металла с переменной валентностью – обусловлено наличием его в большом количестве в геме эритроцитов. По данной причине протекание данной каталитической реакции имеет высокую вероятность.

Гидроксидные радикалы очень активны и быстро реагируют с разнообразными субстратами. В частности, они реагируют с ДНК и являются главными агентами, вызывающими ее повреждение. Они также инициируют окисление липидов, которое затем протекает как цепная реакция [5], а именно, данный процесс состоит из таких стадий как:

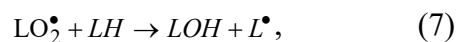
а) Инициирование цепи. Реакции 1 и 2, а также



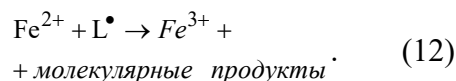
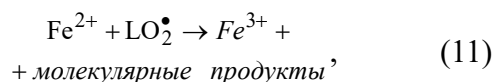
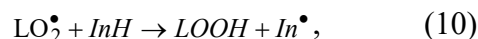
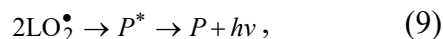
б) Продолжение цепи. Реакция 4 и



в) Разветвление цепи.



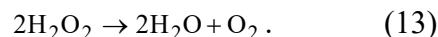
г) Обрыв цепи.



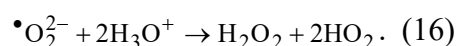
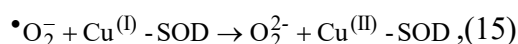
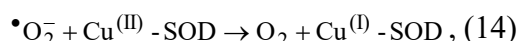
Окислительная деструкция низкомолекулярных липопротеинов играет важную роль в развитии таких патологических процессов, как рак, атеросклероз, ревматоидные артриты и др. [5].

Для защиты от вредного действия агентов – окислителей, в том числе во время сеанса ОТ, организм пациента выводит из «депо» или синтезирует биоантиоксиданты: низкомолекулярные органические соединения типа токоферола, аскорбиновой кислоты или убихинона, а также протеины, имеющие антиоксидантные группы. При этом реализуется многоуровневая защита организма от агентов – окислителей.

Во-первых, существуют ферменты, каталитически разрушающие H_2O_2 , такие как каталаза, аскорбат-пероксида и глутатион-редуктаза. Каталаза весьма эффективно удаляет H_2O_2 в соответствии со следующей реакцией:



Во-вторых, супероксид-ион $\bullet O_2^-$ эффективно удаляется супероксиддисмутазой (*SOD*), которая катализирует диспропорционирование $\bullet O_2^-$ по реакциям:



Комбинированное действие каталазы и *SOD*

превращает $\cdot O_2^-$ и H_2O_2 в воду и кислород, предотвращая, таким образом, появление в организме такой очень активной и токсической частицы, как гидроксидный радикал.

В-третьих, в организме присутствуют низкомолекулярные водорастворимые антиоксиданты. К ним относятся мочевая кислота, аскорбиновая кислота, билирубин и др. Они содержатся в плазме крови в концентрации, приведенной в табл. 1 (в ммоль·л⁻¹) [6].

Таблица 1

Мочевая кислота	Аскорбиновая кислота	Билирубин
160 - 450	30 - 150	5 - 20

В-четвертых, окислительный процесс в липидах тормозят липидо-растворимые антиоксиданты, именно: α -токоферол, убихинол-10, ликопен, β -каротин и лютеин. Их концентрация (в ммоль·л⁻¹) в плазме в липопротеин-связанной форме приведена в табл. 2.

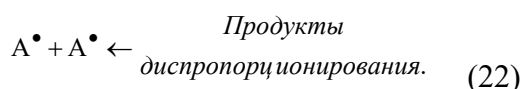
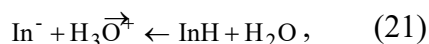
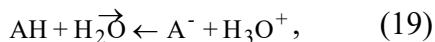
Таблица 2

α -Токоферол	15-40
Убихинол-10	0,4-1,0
Ликопен	0,5÷1,0
β -Каротин	0,3-0,6
Лютеин	0,1-0,3

Их концентрация (в ммоль·л⁻¹) в плазме в липопротеин-связанной форме приведена в табл. 2.

В пятых, в дополнение к низкомолекулярным антиоксидантам, антирадикальной активностью обладают белки, такие, как альбумин, трансферрин, лактоферрин, церулоплазмин, гаптоглобин и гемопексин [6].

Механизм ингибирующего действия акцепторов свободных радикалов (InH) в окисляющихся липидах (LH) включает следующие реакции, протекающие по цепному механизму (AH – аскорбиновая кислота):



Ввиду того, что акцепторы свободных радикалов в окисленной форме In^{\bullet} более стабильны, чем гидроксиды, липидов и активные свободные радикалы $\cdot O_2^-$, HO_2^{\bullet} , HO^{\bullet} , происходит обрыв цепей окисления, а последующие реакции In^{\bullet} приводят к удалению радикалов из организма.

Получение информации об уровне ПОЛ, а также уровне антиоксидантной системы организма пациента возможно с помощью хемилюминесцентного метода, как наиболее адекватно отражающего процессы, протекающие внутри организма. Для этого необходимо использовать ХЛ-методику, реализованные в аналитическом комплексе ХЛК-1. Так, для диагностики состояния биологической подсистемы (пациента) в ходе терапии осуществляется пробоотбор (2 мкл крови берется из пальца). После процедуры пробоподготовки проводится аналитическая реакция и регистрация ее светового выхода с помощью ХЛК-1. Кинетика данного процесса представляется в виде зависимости от времени интенсивности аналитического сигнала $I(t)$. Для оценки состояния пациента используется ряд показателей: I_{max} – максимальная интенсивность свечения – отражает потенциальную способность биологического объекта к ПОЛ, характеризует физиологическую устойчивость и функциональную активность антиоксидантной системы; S – светосумма (за 30 с) – в плазме отражает содержание радикалов, соответствующих обрыву цепи свободнорадикального окисления, обратно пропорциональна активности антиоксидантной системы; отношение I_{max}/S характеризует общую антиоксидантную активность плазмы крови; тангенс угла наклона зависимости $I(t)$ – показатель, характеризующий скорость спада процессов свободнорадикального окисления в плазме и коррелирует с индексом I_{max}/S . Полученные в ходе предварительных исследований результаты показывают перспективность использования данного комплекса в составе медицинской озонотерапевтической системы для экспресс-контроля состояния пациента и адаптации схемы озонотерапии в соответствии с его индивидуальными особенностями.

Дальнейшей стадией изучения антиоксидантной системы организма является построение математической модели, обобщающей теоретический и экспериментальный материал с целью формализации описания процесса озонотерапии.

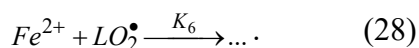
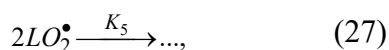
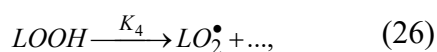
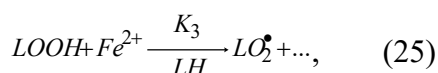
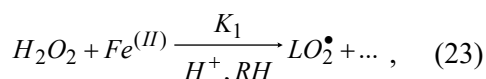
Предлагаемая физико-химическая модель процесса протекания ХЛ-реакции в пробе основывается на следующих допущениях.

1. В моделируемой системе имеется избыток кислорода и окисляющегося субстрата, по данной причине концентрации LH и O_2 принимаются постоянными.

2. Реакция 4 идет значительно быстрее, чем реакции 5 и 6, реакция 7 быстрее реакции 6, так что процесс продолжения и разветвления цепей окисления лимитируется наиболее медленными

реакциями 5 и 6. На стадии иницирования наиболее быстрыми являются реакции 2-4 и скорость процесса определяет реакция 1.

В рамках данных допущений модель описывается шестью обобщенными реакциями (над стрелкой приведена константа скорости реакции, под – условие протекания реакции):



Система дифференциальных уравнений, описывающая данные процессы, будет иметь следующий вид:

$$\begin{aligned} \frac{d[LO_2^\bullet]}{dt} = & k_1 \rho [O_2] [Fe^{2+}] + \\ & + k_3 [Fe^{2+}] [LOOH] + \\ & + k_4 [LOOH] - k_6 [Fe^{2+}] [LO_2^\bullet] \\ & - k_5 [LO_2^\bullet]^2 \end{aligned}, \quad (29)$$

$$\begin{aligned} \frac{d[LOOH]}{dt} = & k_2 [LH] [LO_2^\bullet] - \\ & - k_3 [Fe^{2+}] [LOOH] - k_4 [LOOH] \end{aligned}, \quad (30)$$

$$\begin{aligned} \frac{d[Fe^{2+}]}{dt} = & -k_1 [O_2] [Fe^{2+}] - \\ & - k_3 [Fe^{2+}] [LOOH] - k_6 [Fe^{2+}] [LO_2^\bullet] \end{aligned}. \quad (31)$$

Решение данной системы численным методом и задание исходных данных позволяет провести моделирование процессов перекисного окисления липидов биопробы, сопровождающихся хемилюминесценцией. Результаты компьютерного моделирования методами Адамса и Гира, полученные при следующих начальных условиях $[Fe^{2+}] = 200 \text{ мкМ}$ и параметрах модели: $k_1 = 0,18 \cdot 10^{-2} \text{ с}^{-1}$; $k_1 c = 0,83 \cdot 10^{-5} \text{ с}^{-1}$; $k_2 = 0,06 \text{ с}^{-1}$; $k_3 = 0,01 \text{ мкМ}^{-1} \text{ с}^{-1}$; $k_4 = 0,8 \cdot 10^{-5} \text{ с}^{-1}$; $k_5 = 0,004 \text{ мкМ}^{-1} \text{ с}^{-1}$; $k_6 = 0,0001 \text{ мкМ}^{-1} \text{ с}^{-1}$; пред-

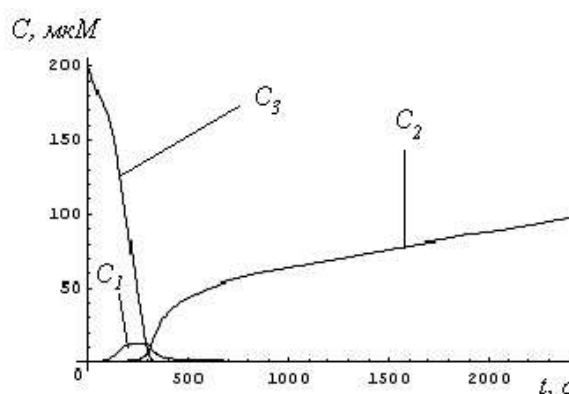


Рисунок 2.

C_1 – концентрация ;
 C_2 – концентрация $LOOH$;
 C_3 – концентрация.

В результате моделирования получены зависимости изменения концентраций компонентов ХЛ-системы, характерные для “медленной вспышки” [6], т.е. при условии отсутствия в первый момент реакции гидроперекиси $LOOH$ и радикалов липидов LO_2^\bullet . Из этого следует адекватность принятых допущений для описания процесса хемилюминесценции в биопробе. Из приведенных выше уравнений видно, что скорость процесса ПОЛ полностью отражает скорость реакции 9 (или (27) в рассматриваемой модели), сопровождающаяся испусканием квантов света. Это позволяет исследователю использовать данный параметр для изучения кинетики ПОЛ и антиоксидантной способности биопробы.

В дальнейшем планируется усложнить модель и провести сопоставление результатов моделирования с экспериментальными данными, полученными при исследовании биопроб пациентов, проходящих сеансы озонотерапии. Подобная модель должна учитывать влияние антиоксидантов в биопробе, а также механизм стимулирования выработки эндогенных антиоксидантов, т.е. непосредственно описывать следующие многостадийные процессы, идущие в человеческом организме: 1) формирование оксидантного воздействия в результате введения активных форм кислорода, 2) активация цепных реакций и формирование центра окисления; 3) обрыв цепей окисления местными антиоксидантами и активация общей антиоксидантной системы организма, приводящей а) к выходу антиоксидантов из “депо” и б) активизации продуцирования антиоксидантов; 4) подавление окисления до уровня, соответствующего норме; 5) восстановление антиоксидантной системы организма.

Литература

1. Снежко Д.В., Удянский А.В., Рожницкий Н.Н. Новая хемиллюминесцентная технология и прибор определения воздействия озона во время проведения сеансов озонотерапии // Новые технологии: Научн.-техн. сб. 2003. Вып. 1. С.21-24.
2. Снежко Д.В., Рожницкий Н.Н., Чурилов А.И. Программно-аппаратное обеспечение комплекса хемиллюминесцентного анализа // Радиотехника. 2003. Вып.132. С.103-108.
3. Снежко Д.В., Удянский А.В., Рожницкий Н.Н. Хемиллюминесцентная система анализа биожидкостей // Сложные системы и устройства: Научн.-техн. сб. 2003. Вып. 2. С.62-66.
4. Снежко Д.В., Рожницкий Н.Н. Информационная совместимость компонентов аналитической хемиллюминесцентной системы // Радиотехника. 2003. Вып. 134. С.237-245.
5. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука, 1972. 253 с.
6. Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии // Труды МОИП. М.: Наука, 1982. Т. 57. 240с.

