

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИКОРИСТАННЯ
БІОРЕЗОНАНСНОГО МЕТОДУ ОЦІНКИ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ
АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ У СОБАК**

О. М. БОБРИЦЬКА, кандидат ветеринарних наук, доцент кафедри
нормальної та патологічної фізіології тварин

К. Д. ЮГАЙ, кандидат біологічних наук, доцент кафедри нормальної та
патологічної фізіології тварин

Харківська державна зооветеринарна академія, Харків

В. І. КАРПОВСЬКИЙ, доктор ветеринарних наук, професор кафедри
біохімії і фізіології тварин

*Національний університет біоресурсів і природокористування
України*

E-mail: olga.bobritskaya2410gmail.com

Анотація. На 40 собаках досліджували стан системи антиоксидантного захисту (САЗ), що включає ферментні системи, які захищають тканини організму від продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) за біохімічними показниками крові та біорезонансним тестуванням за допомогою діагностичного комплексу «ПАРКЕС-Д», принцип дії якого заснований на визначенні електропровідності біологічно активних точок при внесенні в електромагнітний контур мікрорезонансних контурів. На заключному етапі досліджень проводили порівняння вказаних методик досліджень.

Установлено, що у 8 собак із зниженням функціонального стану ферментативної ланки САЗ активність ензимів була на 19,9–33,1 % меншою від показників контрольних тварин, у гемолізаті еритроцитів спостерігалось збільшення вмісту продуктів ПОЛ (дієнових кон'югатів, кетодієнів та спряжених триєнів) на 12–25 %, ТБК-активних продуктів – на 21,0 %, збільшення вмісту основи Шиффа – 35,7 %, зменшення фактору антиоксидантного стану – 57,1 %. Встановлено зменшення показника фактору антиоксидантної системи в організмі собак дослідної групи на 57,1 % порівняно із показником собак контрольної групи, що вказує на невідповідність системи антиоксидантного захисту інтенсивності перекисного окиснення ліпідів.

За дослідження явища біорезонансу апаратно-програмним діагностичним комплексом «ПАРЕС-Д» із 40 собак виявлено 9 тварин зі зниженим функціональним станом САЗ. Ці дані на 92,5 % узгоджуються з дослідженням крові, що дозволяє за допомогою біорезонансного тестування вірогідно оцінити функціональний стан системи антиоксидантного захисту в організмі собак.

Ключові слова: Система антиоксидантного захисту, біорезонанс, собаки, перекисне окиснення ліпідів, «ПАРКЕС-Д»

Актуальність. Регульовані вільнорадикальні реакції в організмі тварин необхідні для забезпечення різних фізіологічних функцій (оксигенація, фагоцитоз, знешкодження токсинів, руйнування пухлинних клітин, регенерація тощо).

Аналіз останніх досліджень та публікацій. За даними Н. С. Kuiper, 5 % всього кисню, що надходить в організм ссавців, йде на утворення активних його форм [1]. Вільні радикали приймають участь у синтезі простагландинів, прогестерону, сприяють гідроокисленню стирольного кільця холестеролу, приймають участь у процесах запалення. Окремі продукти пероксидного окиснення ліпідів, у стаціонарних концентраціях, є нормальними метаболітами обміну речовин і необхідні для ряду фізіологічних механізмів гомеостазу, однак, за накопичення їх у організмі вони проявляють свою токсичну дію[3].

Система антиоксидантного захисту (САЗ) регулює інтенсивність вільнорадикальних реакцій на всіх їх стадіях [4]. Ключовим складовим САЗ є ензим – супероксиддисмутаза, яка утилізує супероксидний радикал із утворенням пероксиду гідрогену [5], який каталаза розкладає на воду та молекулярний кисень [6].

На сьогодні доведено, що кожна клітина, орган, система органів, як і цілісний організм є джерелами низькочастотного електромагнітного випромінювання, параметри яких залежать від функціонального стану клітин органів і систем організму [7]. Водночас фізіологічно нормальні органи і тканини генерують електромагнітні випромінювання (ЕМВ), що відрізняються за своїми параметрами від патологічних ЕМВ, які генеруються хворими органами і системами організму. Сучасні заходи доказової ветеринарної медицини щодо діагностики захворювань довготривалі за часом та витратами. У зв'язку з цим у практиці ветеринарної медицини останнього десятиліття застосовується економічно більш доступні функціональні методи діагностики оцінки стану здоров'я тварин з дослідженням органів і систем методом функціонального тестування [2]. Отже, встановлення сучасних та доступних методів експрес-оцінки функціонального стану антиоксидантної системи є актуальним завданням ветеринарної медицини.

Мета дослідження – експериментальне обґрунтування використання біорезонансного методу для оцінки функціонального стану антиоксидантної системи у собак.

Матеріали і методи дослідження. Досліди проведені в умовах ветеринарних клінік м. Харкова на 40 собаках різних порід віком від 1 до 7 років та масою тіла 11–35 кг. Оцінку функціонального стану системи антиоксидантного захисту проводили за активністю ензимів САЗ та інтенсивністю перекисного окиснення ліпідів(ПОЛ) у організмі собак. Матеріалом для досліджень була кров від 40 тварин, отримана з поверхневої вени передпліччя. Зразки гепаринізованої крові центрифугували за 3000 об./хв. упродовж 15 хв. та після виділення плазми еритроцити тричі промивали холодним ізотонічним розчином NaCl. Гемолізат еритроцитів отримували трикратним заморожуванням і

розморожуванням суспензії еритроцитів. У гемолізаті еритроцитів визначали: активність супероксиддисмутази (за рівнем інгібування ферментом процесу відновлення нітросинього тетразолію за наявності НАДФН і феназинметасульфату); каталази (за здатністю перекису водню утворювати з солями молібдену стійкий кольоровий комплекс); вміст ТБК-активних продуктів (за реакцією з тіобарбітуровою кислотою); дієнових конюгатів, кетодієнів і спряжених триєнів (КД і СТ) та основ Шиффа (ОШ) спектрофотометричним методом, принцип якого базується на тому, що процес ПОЛ супроводжується переорієнтацією подвійних зв'язків із виникненням специфічних оптичних властивостей. Після отримання результатів за формулою обраховували індекс ФАОС – фактор антиоксидантного стану (фактор антиоксидантної системи):

$$\text{ФАОС} = (\text{СОД} \times \text{КАТ}) / \text{МДА}; \quad (1)$$

та індекс інтенсивності ПОЛ:

$$\text{ПОЛ} = \text{ШО} / \text{МДА}, \quad (2)$$

де МДА – Малоновий діальдегід – індекс Шиффоутворення (відношення основ Шиффа до вмісту ТБК-АП).

Отримані експериментальні данні опрацьовували статистично.

На підставі аналізу отриманого матеріалу було сформовано дві групи собак з різним рівнем функціонального стану системи антиоксидантного захисту: контрольна (без змін функціонального стану) та дослідна (зі зниженням функціонального стану). Надалі було створено та апробовано програму індивідуального біорезонансного тестування оцінки САЗ за допомогою прикладного діагностичного комплексу «ПАРКЕС-Д», принцип дії якого оснований на явищі біологічного резонансу - визначення електропровідності БАТ за внесення в електромагнітний контур мікрорезонансних контурів. Резонанс характеризується як сильне зростання амплітуди електромагнітних коливань під впливом зовнішніх дій, коли частота власних коливань об'єкту співпадає з частотою коливань зовнішньої дії. Для біорезонансного тестування використовували найбільш інформативні біологічно-активні точки, що локалізовані на передніх кінцівках з передньої поверхні стопи, на шкірній складці між 2 та 3, 3 та 4, 4 та 5 пальцями.

На заключному етапі досліджень проводили порівняння різних методик досліджень функціонального стану САЗ.

Результати дослідження та їх обговорення. Встановлено, що еритроцити крові поряд із гепатоцитами характеризуються найбільшим вмістом ензимів САЗ [8]. Так, активність СОД та каталази в гемолізаті еритроцитів собак становить відповідно $2,74 \pm 0,16$ (2,21–3,2) од. акт. / мг та $64,46 \pm 4,03$ (50,2–78,9) мкМ $\text{H}_2\text{O}_2/\text{дм}^3 \times \text{хв} \times 10^3$. Натомість у собак із зниженням функціонального стану ферментативної ланки САЗ активність даних ензимів була на 19,9–33,1 % ($p < 0,001$) меншою від показників контрольних тварин. Зниження активності СОД та каталази дослідники пов'язують, у першу чергу, із активацією ПОЛ чи порушенням синтезу ензимів за різної етіології [8].

Очевидно за низького рівня активності ензимів САЗ встановлено збільшення вмісту продуктів ПОЛ у собак дослідної групи. Так, вміст ДК, КД і СТ у гемолізаті еритроцитів собак збільшується на 12–25 % ($p < 0,001$). МДА належить важлива роль у синтезі простагландинів, прогестерону та інших стероїдів, однак він здатен робити спайки у біомембранах, чим знижує її плинність із порушенням функцій. Зокрема встановлено збільшення вмісту ТБК-активних продуктів у собак з низьким рівнем функціонального стану САЗ на 21,0 % ($p < 0,001$) від показників тварин контрольної групи.

Кінцевими продуктами взаємодії вторинних продуктів ПОЛ з аміновмісними сполуками є основи Шиффа (ОШ) [6]. Відомо, що безперервне накопичення основ Шиффа дестабілізує мембрани і сприяє деструкції клітин. Встановлено достовірне збільшення вмісту ОШ на 35,7 % ($p < 0,001$) у крові тварин дослідної групи у відношенні до контрольної. Індекс шиффоутворення (ІШ) вказує на інтенсифікацію процесів ПОЛ із накопиченням кінцевих продуктів ліпопероксидації. Слід відмітити відсутність достовірних змін ІШ у тварин дослідної групи, що вказує на інтенсивну утилізацію продуктів ПОЛ у організмі собак навіть за низького функціонального стану САЗ.

1. Показники крові собак з різним рівнем функціонального стану антиоксидантної системи ($M \pm m$, $\Sigma n = 40$)

Показники	Групи тварин			
	Контрольна, $n = 32$		Дослідна $n = 8$	
	$M \pm m$	Lim	$M \pm m$	Lim
Дієнові кон'югати, E_{232}/E_{220}	$0,77 \pm 0,05$	0,62–0,93	$0,96 \pm 0,04^{***}$	0,86–1,09
Кетодієни і спряжені триєни, E_{278}/E_{220}	$0,299 \pm 0,009$	0,27–0,33	$0,335 \pm 0,014^{***}$	0,31–0,39
Основи Шиффа, E_{400}/E_{220}	$0,066 \pm 0,006$	0,05–0,09	$0,090 \pm 0,007^{***}$	0,07–0,11
ТБК-активні продукти, $nmоль/см^3$	$3,53 \pm 0,3$	2,55–4,47	$4,27 \pm 0,17^{***}$	3,73–4,76
Супероксиддисмутаза, о.д. акт./мг гемоглобіну	$2,74 \pm 0,16$	2,21–3,2	$1,84 \pm 0,15^{***}$	1,52–2,26
Каталаза, мкМ $H_2O_2/дм^3 \times хв \times 10^3$	$64,46 \pm 4,03$	50,2–78,9	$51,86 \pm 2,17^{***}$	44,3–57,3
ФАОС, ум. од.	$51,85 \pm 6,94$	30,61–84,7	$22,22 \pm 1,65^{***}$	16,78–27,9
Індекс шиффо-утворення, ум.од.	$0,019 \pm 0,002$	0,014–0,02	$0,021 \pm 0,002$	0,017–0,02

Примітка: вірогідні різниці з дослідною групою: $p < 0,05$ – *; $p < 0,01$ – **; $p < 0,001$ – ***.

Показник ФАОС відображає про-, антиоксидантний статус живого організму. Встановлено зменшення даного показника в організмі собак дослідної групи на 57,1 % ($p < 0,001$) порівняно із показником собак

контрольної групи, що вказує на невідповідність системи антиоксидантного захисту інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів.

Отже, проведена біохімічна оцінка стану САЗ та інтенсивності ПОЛ у організмі собак у повній мірі відображає функціональний стан САЗ у їх організмі, однак є досить працевитратною і неможлива для широкого застосування у ветеринарній практиці. Тому наступним етапом наших досліджень було розробити та апробувати біорезонансний метод оцінки функціонального стану системи антиоксидантного захисту в організмі собак. Проведеними випробуваннями встановлено, що для собак біорезонансом є коливання величини показника електропровідності біологічно-активних точок (БАТ) 8–24 одиниць шкали приладу «ПАРКЕС-Д». Величина електропровідності в БАТ шкали комплексу в піддослідних собак коливалась від 28 до 55 ум. од. (табл. 2). Потрібно відмітити, що електропровідність у біологічно-активних точках між 2-3, 3-4 та 4-5 фалангою передньої кінцівки відрізняється не більше чим на 1–2 ум. од. приладу, що дозволяє використовувати навіть одну точку для достовірного оцінювання функціонального стану відповідної системи.

2. Тестування функціонального стану антиоксидантної системи у собак діагностичним комплексом "ПАРКЕС" ($M \pm m$, $\Sigma n = 40$; ум. од.)

Групи тварин		Показники		
		Без нозоду	З нозодом	Різниця (резонанс)
Контрольна, $n = 32$	$M \pm m$	43,9 $\pm$ 4,1	56,3 $\pm$ 4,4	12,4 $\pm$ 2,0
	Lim	28–55	40–75	8–21
Дослідна, $n = 9$	$M \pm m$	41,7 $\pm$ 4,3	55,6 $\pm$ 2,9	13,9 $\pm$ 2,5
	Lim	29 – 54	50 – 66	8 – 21

Примітка: достовірне значення показника біорезонансу – $R \geq 8$.

За дослідженні явища біорезонансу, з використанням нозоду зниження функції антиоксидантної системи, з 40 собак виявлено 9 тварин з зменшеним функціональним станом САЗ. Слід відмітити, що данні щодо 7 собак повністю узгоджуються з показниками біохімічних досліджень (які вказують на зниження активності САЗ). У двох собак в яких було встановлено біорезонанс щодо порушення функціонального стану даної системи біохімічні показники крові були у межах норми, а у ще однієї собаки з низьким рівнем активності САЗ біорезонансу не встановлено. Отже, результати досліджень функціонального стану системи антиоксидантного захисту собак за методиками, що досліджувалися, узгоджуються на 92,5 %.

Висновки та перспективи. Таким чином, застосування функціонального експрес-тестування апаратно-програмним діагностичним комплексом «ПАРЕС-Д» для комплексної оцінки стану органів і систем організму тварини дозволяє з вірогідністю до 92,5 %, оцінити функціональний стан системи антиоксидантного захисту в організмі собак.

Список використаних джерел

1. Kuiper, H. C. Quantitation of mercapturic acid con-jugates of 4-hydroxy-2-nonenal and 4-oxo-2-nonenal metabolites in a smoking cessation study / H.C. Kuiper, B. L. Langsdorf, C. L. Miranda, J. Joss, C. Jubert, J. E. Mata, J. F. Stevens // *Free Radic Biol. Med.* – 2010. – Vol. 48. – P. 65–72.
2. Бобрицька, О. М. Біорезонансна методика як альтернативний метод визначення функціонального стану органів і систем організму тварин [Електронний ресурс] / О. М. Бобрицька // Науково-технічний бюлетень НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК : електронне фахове видання Дніпропетровського державного аграрного університету. – 2011. – Т. 1, № 1. – С. 45–49. – Режим доступу : <http://biosafety-center.dp.ua / naukovi vydannya/>.
3. Владимиров, Ю. А. Свободные радикалы в живых системах / Ю. А. Владимиров, О. А. Азизова, А. И. Деев и др. // *Итоги науки и техники. Сер. Биофизика.* – 1991. – Т. 29.
4. Данчук, О. В. Активність каталази та супероксиддисмутази у еритроцитах свиней різних типів ВНД за технологічного стресу / О. В. Данчук // *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія «Ветеринарна медицина».* – 2015. – Вип. 7 (37). – С. 33–36.
5. Данчук, О. В. Індекси інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів у свиней різних типів вищої нервової діяльності за технологічного стресу / О. В. Данчук // *Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин.* – 2017. – Вип. 18, № 1. – С. 24–29.
6. Данчук, О. В. Збалансованість ферментативної системи антиоксидантного захисту в організмі свиней за дії стресового фактора / О. В. Данчук, В. І. Карповський // *Науковий вісник ветеринарної медицини.* – 2016. – Вип. 1. – С. 111–116.
7. Казначеев, В. П. Биоинформационная функция естественных электромагнитных полей / В. П. Казначеев, Л. М. Михайлова. – М. : Наука, 1985. – 528 с.
8. Камышников, В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – Минск : Белорусь, 2002. – Т. 2. – 463 с.

References

1. Kuiper, H. C., Langsdorf, B. L., Miranda, C. L , Joss, J., Jubert, C., Mata, J. E., Stevens, J. F. (2010). Quantitation of mercapturic acid con-jugates of 4-hydroxy-2-nonenal and 4-oxo-2-nonenal metabolites in a smoking cessation study. *Free Radic Biol. Med.*, 48, 65–72.
2. Bobrytska, O. M. Biorezonansna metodyka yak alternatyvnyi metod vyznachennia funktsionalnoho stanu orhaniv i system orhanizmu tvaryn [Bioresonance technique as an alternative method for determining the functional state of organs and systems of the animals organism] (2011). *Naukovo-tekhnichnyi biuleten NDTs biobezpeky ta ekolohichnoho kontroliu resursiv APK : elektronne fakhove vydannia Dnipropetrovskoho derzhavnoho ahrarnoho universytetu*, 1 (1), 45–49. Availableat : <http://biosafety-center.dp.ua/naukovi vydannya/>.
3. Vladymyrov, Yu. A., Azyzova, O. A., Deev, A. Y. (1991). *Svobodnye radykaly v zhyvykh systemakh* [Free radicals in living systems]. *Ytohy nauky y tekhnky. Ser. Byofyzyka*, 29.

4. Danchuk, O. V. (2015). Aktyvnist katalazy ta superoksyddysmutazy u erytrotsyakh svynei riznykh typiv VND za tekhnolohichnoho stresu [Activity of catalase and superoxide dismutase in erythrocytes of pigs of different types of GNI for technological stress]. Visnyk Sumskoho natsionalnoho ahrarnoho universytetu. Seriiia «Veterynarna medytsyna», 7 (37), 33 –36.

5. Danchuk, O. V. (2017). Indeksy intensyvnosti peroksydnoho okysnennia lipidiv u svynei riznykh typiv vyshchoi nervovoi diialnosti za tekhnolohichnoho stresu [Indices of intensity of peroxide oxidation of lipids in pigs of different types of higher nervous activity due to technological stress]. Naukovo-tekhnichnyi biuleten Derzhavnoho naukovo-doslidnoho kontrolnoho instytutu veterynarnykh preparativ ta kormovykh dobavok i Instytutu biolohii tvaryn, 18 (1), 24–29.

6. Danchuk, O. V., Karpovskiy, V. I. (2016). Zbalansovanist fermentatyvnoi systemy antyoksydantnoho zakhystu v orhanizmi svynei za dii stresovoho faktora [Balance of the Enzymatic System of Antioxidant Protection in the Pig of the Stressor]. Naukovi visnyk veterynarnoi medytsyny, 1, 111–116.

7. Kaznacheev, V. P. (1985). Byoynformatsyonnaia funktsiya estestvennykh elektromahnytnykh polei [Bioinformation function of natural electromagnetic fields]. Moscow : Nauka, 528.

8. Kamyshnykov, V. S. (2002). Spravochnyk po klynyko-byokhymycheskoi laboratornoi dyahnostyke [Handbook of clinical and biochemical laboratory diagnostics]. Minsk : Belarus, 2, 463.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОРЕЗОНАНСНОГО МЕТОДА ОЦЕНКИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ У СОБАК

О. Н. Бобрицкая, К. Д. Югай, В. I. Карповський

Аннотация. На 40 собаках исследовали состояние системы антиоксидантной защиты, которая включает ферментные системы, защищающие организм от продуктов перекисного окисления липидов по биохимическим показателям крови и биорезонансным тестированием с помощью диагностического комплекса «ПАРКЕС-Д», принцип действия которого основан на определении электропроводности биологически активных точек при внесении в электромагнитный контур микрорезонансных контуров.

На заключительном этапе проводили сравнение выше названных методик исследований.

Установлено, что у 8 собак со снижением функционального состояния ферментативной цепи антиоксидантной системы активность энзимов была на 19,9–33,1 % меньше относительно показателей контрольных групп, в гемолизате эритроцитов наблюдалось увеличение содержания продуктов перекисного окисления липидов (диеновых конъюгатов, кетодиенов и сопряженных триенов) на 12-25 %, ТБК-активных продуктов – на 21,0 %, увеличение содержания основания Шиффа – на 35,7 %, уменьшение фактора антиоксидантного состояния – на 57,1 %. Установлено уменьшение показателя фактора антиоксидантной системы в организме собак опытной группы на 57,1 %

по сравнению с показателем собак контрольной группы, что указывает на несоответствие системы антиоксидантной защиты интенсивности перекисного окисления липидов.

При исследовании явления биорезонанса аппаратно-программным диагностическим комплексом «Парес-Д» с 40 собак выявлено 9 животных с пониженным функциональным состоянием системы антиоксидантной защиты. Эти данные на 92,5 % согласуются с исследованием крови, что позволяет с помощью биорезонансного тестирования достоверно оценить функциональное состояние системы антиоксидантной защиты в организме собак.

Ключевые слова: система антиоксидантной защиты, биорезонансом, собаки, перекисное окисление липидов, «Парес-Д»

EXPERIMENTAL BASIS FOR THE USE OF BIORESONANCE METHOD OF ESTIMATION OF FUNCTIONAL STATE OF ANTI-ACID SYSTEM IN DOGS

O. M. Bobrytska, K.D. Ugai, V.I. Karpovsky

Abstract. *The state of the system of anti-acid protection (SAP) in dogs that includes the enzyme systems which protect tissues against the products of peroxide oxidation of lipids (POL) according to biochemical indexes of blood and bioresonance testing by the diagnostic complex «ПАРКЕС-Д» on 40 dogs was studied. The principle of action of this device is based on the phenomenon of bioresonance - determination of conductivity of biologically active points at bringing in an electromagnetic contour micro resonance contours. On the final stage of research comparison of the indicated methods of research was conducted.*

It was determined that in 8 dogs with decreased functional state of enzyme line SAP activity of enzymes was by 19,9–33,1 % less than indexes of control animals. In hemolysis of erythrocytes increase of content of PAUL products (diene conjugates, ketodiene and conjugating triene) by 12–25 %, TBK-active products by 21,0 %, increase of content of Schaff basis by 35,7 %, diminishing of factor of the anti-acid state by 57,1 % were observed.

During the research of the phenomenon of bioresonance by diagnostic complex «ПАРКЕС-Д» it was determined that 9 animals out of 40 had decreased functional state of SAP. These results by 92,5 % conform to blood testing that allows to estimate the functional state of the system of anti-acid protection of organism of dogs with the help of bioresonance testing for certain.

Keywords: *system of anti-acid protection, bioresonance, dogs, peroxide oxidation of lipids, «ПАРКЕС-Д»*