

УДК 577.1

РЕАКЦИЯ ТУЧНЫХ КЛЕТОК НА ДЕЙСТВИЕ ПЕРЕМЕННЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

Абу Хада Р. Х., Мартынюк В.С.

ВВЕДЕНИЕ

Тучные клетки (лаброциты) являются обязательным компонентом соединительной ткани. Эти клетки представляют собой особую функционально-лабильную группу клеток, которые располагаются во всех органах и тканях. О значении тучных клеток в жизнедеятельности организма свидетельствуют количественные и качественные их изменения при различных физиологических и патологических состояниях организма [1-3]. Исходя из того, что в гранулах тучных клеток достаточно велико содержание гепарина, гистамина, простагландинов и других биологически активных веществ, тучные клетки многими исследователями рассматриваются как основные продуценты этих соединений. Поэтому функциональное значение тучных клеток в первую очередь связывается с биологической ролью указанных веществ в физиологических и патологических процессах. Тучные клетки являются одними из эффекторных клеток, которые выделяют медиаторы воспаления (гистамин, серотонин, простагландины и др.) посредством дегрануляции. Они очень чувствительны к изменению состояния окружающей среды и участвуют в запуске местных воспалительных реакций, а также в системной регуляции функциональной активности клеток тканей, иммунной системы и системы гемостаза [4].

В настоящее время электромагнитные поля (ЭМП) рассматривают как один из глобальных экологических факторов, влияющих на организм человека и животных. Интерес к данной проблеме постоянно возрастает в связи с быстрым ростом уровня ЭМП техногенного происхождения и необходимостью гигиенического нормирования фоновых ЭМП [5,6]. Одновременно с этим представляет интерес изучение биологического действия ЭМП с характеристиками, близкими к естественным вариациям ЭМП. В работах ряда авторов достоверно установлена высокая биологическая активность крайне слабых ЭМП [6,7]. Согласно гипотезе ЭМП естественного происхождения могут выступать в роли посредника в механизмах Солнечно-биосферных связей [6]. Следует, однако, отметить, что молекулярные и клеточные механизмы воздействия ЭМП на биологические системы остаются неясными.

В пилотных исследованиях *in vivo* была обнаружена высокая чувствительность тучных к действию крайне низкочастотного магнитного поля со сложным спектром. Однако вопрос о том, является ли регистрируемая реакция тучных клеток ответом на непосредственное действие ЭМП, или же это ответ клеток на системно-тканевые изменения свойств межклеточного матрикса, вызванные действием указанного физического фактора.

УДК 577.1

РЕАКЦИЯ ТУЧНЫХ КЛЕТОК НА ДЕЙСТВИЕ ПЕРЕМЕННЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

Абу Хада Р. Х., Мартынюк В.С.

ВВЕДЕНИЕ

Тучные клетки (лаброциты) являются обязательным компонентом соединительной ткани. Эти клетки представляют собой особую функционально-лабильную группу клеток, которые располагаются во всех органах и тканях. О значении тучных клеток в жизнедеятельности организма свидетельствуют количественные и качественные их изменения при различных физиологических и патологических состояниях организма [1-3]. Исходя из того, что в гранулах тучных клеток достаточно велико содержание гепарина, гистамина, простагландинов и других биологически активных веществ, тучные клетки многими исследователями рассматриваются как основные продуценты этих соединений. Поэтому функциональное значение тучных клеток в первую очередь связывается с биологической ролью указанных веществ в физиологических и патологических процессах. Тучные клетки являются одними из эффекторных клеток, которые выделяют медиаторы воспаления (гистамин, серотонин, простагландины и др.) посредством дегрануляции. Они очень чувствительны к изменению состояния окружающей среды и участвуют в запуске местных воспалительных реакций, а также в системной регуляции функциональной активности клеток тканей, иммунной системы и системы гемостаза [4].

В настоящее время электромагнитные поля (ЭМП) рассматривают как один из глобальных экологических факторов, влияющих на организм человека и животных. Интерес к данной проблеме постоянно возрастает в связи с быстрым ростом уровня ЭМП техногенного происхождения и необходимостью гигиенического нормирования фоновых ЭМП [5,6]. Одновременно с этим представляет интерес изучение биологического действия ЭМП с характеристиками, близкими к естественным вариациям ЭМП. В работах ряда авторов достоверно установлена высокая биологическая активность крайне слабых ЭМП [6,7]. Согласно гипотезе ЭМП естественного происхождения могут выступать в роли посредника в механизмах Солнечно-биосферных связей [6]. Следует, однако, отметить, что молекулярные и клеточные механизмы воздействия ЭМП на биологические системы остаются неясными.

В пилотных исследованиях *in vivo* была обнаружена высокая чувствительность тучных к действию крайне низкочастотного магнитного поля со сложным спектром. Однако вопрос о том, является ли регистрируемая реакция тучных клеток ответом на непосредственное действие ЭМП, или же это ответ клеток на системно-тканевые изменения свойств межклеточного матрикса, вызванные действием указанного физического фактора.

В связи с этим целью настоящих исследований явилось изучение влияния крайне низкочастотного переменного магнитного поля КНЧ ПеМП на уровень дегрануляции тучных клеток в условиях *in vitro*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовали перитонеальные тучные клетки 6-ти месячных белых беспородных крыс. Животных декапитировали, после чего быстро проводили смывание тучных клеток из перитонеальной полости 15 мл теплого (37°C) физиологического раствора и немедленно производили оценку степени дегрануляции тучных клеток. Полученную суспензию клеток в физиологическом растворе использовали в последующем эксперименте.

Уровень (степень) дегрануляции тучных клеток определяли гистохимическим методом, основанном на оценке цитоморфологических особенностей клеток, фиксируемых по количеству и расположению гранул, заполняющих цитоплазму [8]. Гранулы, содержащие биологически активные вещества, окрашивали путем 5-и минутной инкубации тучных клеток в 0.3%-ном растворе нейтрального красного, после чего с помощью микроскопа при увеличении $\times 420$ с использованием иммерсии визуально оценивали степень морфологических изменений.

В зависимости от степени дегрануляции тучные клетки классифицировали на 5 групп: 0 – интактные клетки, гранулы равномерно распределены по всей цитоплазме и четко контурируются; 1 – клетки имеют минимальные морфологические изменения, выражающиеся в огрублении цитоплазматической оболочки и появлении единичных вакуолей в цитоплазме клетки увеличиваются в размерах, наблюдается усиление краски; 2 – отчетливое нарушение целостности краев клетки, вакуолизация цитоплазмы; 3 – грубые морфологические изменения тучных клеток, ослабление окраски, уменьшение гранул, вакуолизация; 4- клетки деформированы, цитоплазма сильно вакуолизована, вокруг ядер сохранены единичные слабо окрашенные гранулы.

В каждом образце анализировали 100 клеток, подсчитывая при этом число клеток, принадлежащих к разным классам, охарактеризованным выше. Показатель степени дегрануляции тучных клеток рассчитывали как сумму произведений номера класса на количество тучных клеток, относящихся к данной группе (классу).

Переменное магнитное поле создавали с помощью колец Гельмгольца. Источником тока служил генератор переменного тока Г6-28. Контроль индукции создаваемого поля осуществляли с помощью микротесламетра Г-79.

Опытные образцы, помещенные в пластиковые пробирки объемом 2 мл, подвергали воздействию КНЧ ПеМП с разной экспозицией и частотой. В качестве контроля использовали образцы суспензии тучных клеток, которые находились в той же лаборатории при фоновых уровнях ПеМП, характерных для данной лаборатории 15-40 нТл. Для оценки возможного влияния различий в уровне фоновых ЭМП в местах расположения опытных и контрольных образцов проводили эксперименты с ложным воздействием ЭМП. В этом случае опытные образцы помещали в кольца Гельмгольца, но не подвергали воздействию ЭМП.

Статистическую достоверность влияния КНЧ ПеМП на уровень дегрануляции тучных клеток оценивали по критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В первой серии экспериментов проводили исследование влияния импульсного ПеМП частотой 8 Гц индукцией 25 мкТл на спонтанную дегрануляцию лаброцитов в условиях *in vitro*. Полученные результаты, представленные на рисунке 1, свидетельствуют о том, что в условиях *in vitro* происходит спонтанная дегрануляция тучных клеток в процессе их инкубации при 37°C. Следует отметить, что повышение уровня дегрануляции клеток является их нормальной реакцией на изменение свойств окружающей среды. Увеличение данного показателя в условиях *in vivo* отмечал ряд исследователей, которые вводили животным подкожно физиологический раствор [1].

Воздействие импульсного ПеМП приводило к достоверному повышению уровня дегрануляции лаброцитов (рис. 1), что, с одной стороны, подтверждает ранее выявленную на высокую чувствительность данной группы клеток к воздействию электромагнитных полей, а с другой – указывает на возможность осуществления ими магнитоцепторных функций в организме.

В тоже время, полученные данные не раскрывают сути молекулярно-клеточных механизмов влияния ПеМП крайне низких частот. Согласно широко обсуждаемой гипотезе о ведущей роли параметрического резонанса в механизма биологического действия слабых ПеМП КНЧ, основной мишенью действия ПеМП являются внутриклеточные ионы Ca^{2+} , K^+ , Na^+ , Mg^{2+} , H^+ и другие ионы [7,9]. Учитывая, что в реализации процессов дегрануляции лаброцитов ионы Ca^{2+} играют одну из ключевых ролей [2,3,8], нами изучена зависимость реакции тучных клеток от частоты ПеМП в полосе 0-100 Гц с шагом 2 Гц. В данной серии экспериментов использовали синусоидальное магнитное поле индукцией 25 мкТл.

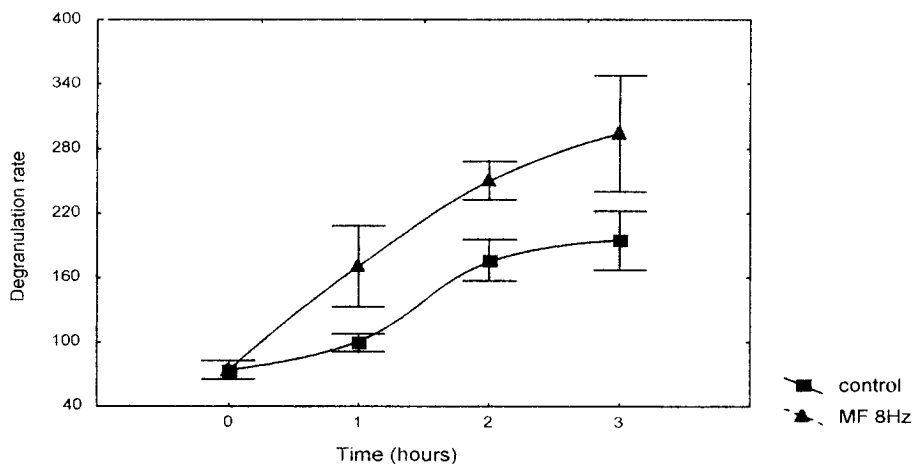


Рис. 1. Спонтанная дегрануляция тучных клеток в условиях *in vitro* в интактных образцах и при воздействии импульсным магнитным полем частотой 8 Гц 25 мкТл.

На рисунке 2 показана зависимость реакции лаброцитов от частоты ПеМП. Как видно, дегрануляция тучных клеток существенно повышалась только при действии ПеМП в узких частотных диапазонах: 2; 8-10; 50; 72-74 Гц. Одновременно с этим снижение скорости дегрануляции наблюдалось при воздействии ПеМП 32-34 Гц. Молекулярно-клеточные механизмы выявленной частотной зависимости мало понятны, однако обращает на себя внимание тот факт, что на частотах близких к параметрическому резонансу ионов Ca^{2+} при постоянной составляющей геомагнитного поля 47.5 мкТл наблюдалось торможение спонтанной дегрануляции тучных клеток. Возможно, данная закономерность свидетельствует о правоте авторов, развивающих идею параметрического резонанса [7]. Однако, данная гипотеза не объясняет противоположный эффект, вызываемый действием магнитного поля частотой 8 Гц, которая является 4-ой гармоникой основной частоты параметрического резонанса для ионов Ca^{2+} .

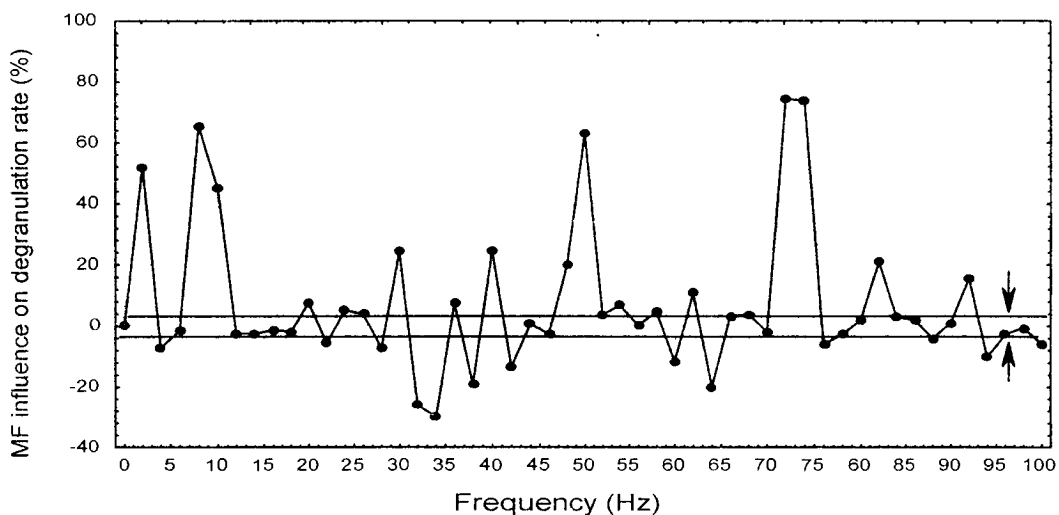


Рис. 2. Частотная зависимость реакции тучных клеток на действие синусоидального ПеМП индукцией 25 мкТл. *Примечания* : стрелками указаны границы варьирования показателей дегрануляции в экспериментах с ложной экспозицией.

Необходимо обратить внимание также на факт стимуляции дегрануляции тучных клеток магнитным полем промышленной частоты 50 Гц. Это указывает на необходимость дальнейших исследований влияния ПеМП промышленных частот на живые системы с целью совершенствования гигиенических норм и пересмотра предельно допустимых уровней индукции ПеМП КНЧ.

ВЫВОДЫ

1. Воздействие слабого переменного магнитного поля крайне низких частот изменяет скорость спонтанной дегрануляции тучных клеток в экспериментах *in vitro*.

2. Выраженность и направление реакции клеток зависит от частоты и времени экспозиции. Частоты 2; 8-10; 50; 72-74 Гц обладают стимулирующим действием, тогда как частоты 32-34 Гц приводят к снижению скорости спонтанной дегрануляции тучных клеток.

3. Высокая чувствительность тучных клеток к низкочастотным магнитным полям позволяет предполагать, что данная группа клеток является одним из ключевых звеньев в системной реакции организма человека и животных на периодические гео-гелиомагнитные возмущения.

Список литературы

1. Виноградов В. В., Воробьева Н. Ф. Тучные клетки. – М.: Наука, 1973. – 128 с.
2. Дейл М. М., Формен Дж. К. Руководство по иммунофармакологии. – М.: Медицина, 1998. – С. 16-31.
4. Серов В. В., Пауков В. С. Воспаление. – М.: Медицина, 1995. – С. 137-146.
5. Серов В. В., Шехтер А. Б. Соединительная ткань. – М.: Медицина, 1981. – С. 62-72.
6. Павлова Р. Н., Музалевская Н. И., Соколовский В. В. Некоторые биохимические аспекты действия слабых низкочастотных магнитных полей // Реакции биологических систем на магнитные поля. – М.: Наука, 1978. – С.58-64.
7. Темурьяниц Н. А., Владимирский Б. М., Тишкин О. Г. Сверхнизкочастотные электромагнитные сигналы в биологическом мире. – К.: Наукова думка, 1992. – 185 с.
8. Белова Н. А., Леднев В. В. Активация и ингибирование гравитропической реакции растений с помощью слабых комбинированных магнитных полей // Биофизика, 2000. – Т. 45, вып. 6. – С. 1102-1107.
9. Проценко В. А., Шпак С. И., Дюбенко С. М. Тканевые базофилы и базофильные гранулоциты крови. – М.: Медицина, 1987. – 128 с.
10. Леднев В. В., Сребницкая Л. К., Ильясова Е. Н., Белова Н. А., Тирас Х. П., Климов А. А., Рождественская З. Е. Магнитный параметрический резонанс в биосистемах // Биофизика, 1996. – Т. 41, вып. 4. – С. 815-825.