

УДК 577.1

Абу Хада Р. Х., Мартынюк В.С., Ибрагимова Н.Д.

## РЕАКЦИЯ ТУЧНЫХ КЛЕТОК НА ДЕЙСТВИЕ ХРОМОГЛИКАТА НАТРИЯ И ПЕРЕМЕННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время ведется поиск наиболее чувствительных к действию переменных магнитных полей клеточных систем организма и уделяется пристальное внимание вопросам молекулярно-клеточных механизмов действия данного фактора. Установлено, что тучные клетки – тканевые базофилы, демонстрируют высокую чувствительность к переменным магнитным полям низкой интенсивности *in vivo* и *in vitro* [1]. С другой стороны интерес к тучным клеткам, как соединительнотканым эффекторным клеткам, связан с тем, что они посредством дегрануляции выделяют медиаторы (гистамин, серотонин, простагландины, гепарин и др.), участвуя таким образом в регуляции региональной гемодинамики, трофики и активности механизмов защиты в тканях. Тучные клетки играют важную роль в развитии процессов воспаления, патогенезе бронхиальной астмы и ряда аллергических заболеваний [2]. Для подавления их активности используют разнообразные фармакологические препараты, среди которых хромогликат натрия (*динатрий 4,4 диоксо-5-5 (2-гидрокси триметилендиокси)ди(хромен-2-карбоксилат)*) является одним из наиболее часто применяемых [3]. В работах [4,5] было обнаружено модифицирующее действие переменных магнитных полей на биологическую активность ряда веществ вплоть до полной потери их активности. В связи с этим целью настоящей работы была оценка ингибирующей активности хромогликата натрия в условиях обработки тучных клеток переменным магнитным полем крайне низкой частоты.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовали суспензию перитонеальных тучных клеток 6-ти месячных белых беспородных крыс. Животных декапитировали, после чего быстро проводили смывание тучных клеток из перитонеальной полости 10 мл теплой (37°C) физиологической средой, состоящей из физиологического раствора и хлорида кальция в концентрации 1 мМ/л. Контрольные и опытные образцы суспензии тучных клеток инкубировали в течение часа при 37°C, после чего проводили определение уровня дегрануляции тучных клеток.

Количественная оценка степени дегрануляции тучных клеток производилась по методу С.И.Шпак и В.А.Проценко (1987) [6].

Коммерческий препарат хромогликата натрия «Интал» использовали для получения растворов разной концентрации данного ингибитора дегрануляции тучных клеток.

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 частотой 8 Гц 25 мкТл в течение 1 часа. 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.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили в соответствии с общепринятыми алгоритмами вариационной статистики.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На рисунке представлены результаты изучения уровня дегрануляции тучных клеток соединительной ткани при воздействии хромогликата натрия и переменного магнитного поля в процессе одночасовой инкубации клеток в физиологической среде *in vitro*. Обращает на себя внимание тот факт, что в исследуемом диапазоне концентраций хромогликата натрия ( $10^{-9}$ - $10^{-4}$  М/л) для тучных клеток перитонеальной полости белых крыс ингибирующий эффект препарата не носит дозо-зависимый характер и находится в пределах 10-25% по отношению к контрольным образцам. В настоящее время молекулярные механизмы действия хромогликата натрия мало изучены, однако полученные в данном исследовании результаты указывают на то, что данное соединение эффективно при очень низких (менее  $10^{-9}$  М/л) концентрациях. Одновременно с этим отсутствие выраженной концентрационной зависимости эффективности препарата может быть связано с тканевой и видовой специфичностью тучных клеток. Так известно, что хромогликат натрия очень эффективно подавляет дегрануляцию тучных клеток легких, что позволяет его использовать в качестве надежного средства для предотвращения бронхоспазма при астме у человека [2,3]. Данный препарат также эффективен по отношению к тучным клеткам легких и соединительной ткани, но мало эффективен по отношению к тучным клеткам кожи у крыс [2,3]. Тучные клетки мышечной ткани к действию хромогликата натрия не чувствительны [2,3].

Одночасовая экспозиция клеточных суспензий в переменном магнитном поле частотой 8 Гц индукцией 25 мкТл приводит к достоверному повышению уровня дегрануляции тучных клеток на 15-40% (рис.). Это подтверждает ранее полученные данные о том, что воздействие магнитным полем ускоряет процесс спонтанной дегрануляции тучных клеток *in vivo* и *in vitro* [1]. Согласно современным представлениям  $Ca^{2+}$ -зависимые пути клеточной регуляции могут быть одними из основных мишеней действия ПеМП. Это позволяет предполагать, что молекулярно-клеточные механизмы влияния магнитного поля на тучные клетки, вероятно, связаны с влиянием данного физического агента на систему клеточной регуляции

процесса дегрануляции, в которой кальций-зависимые пути играют важную роль [2].

Результаты исследований убедительно показывают, что в условиях обработки тучных клеток переменным магнитным полем ингибитор дегрануляции хромогликат натрия не проявляет своей биологической активности. Более того, в отдельных концентрационных диапазонах ( $10^{-6}$  –  $10^{-5}$  М/л) данный препарат достоверно усиливает действие переменного магнитного поля. Следует отметить, что в современной литературе имеются подобные данные о влиянии переменных

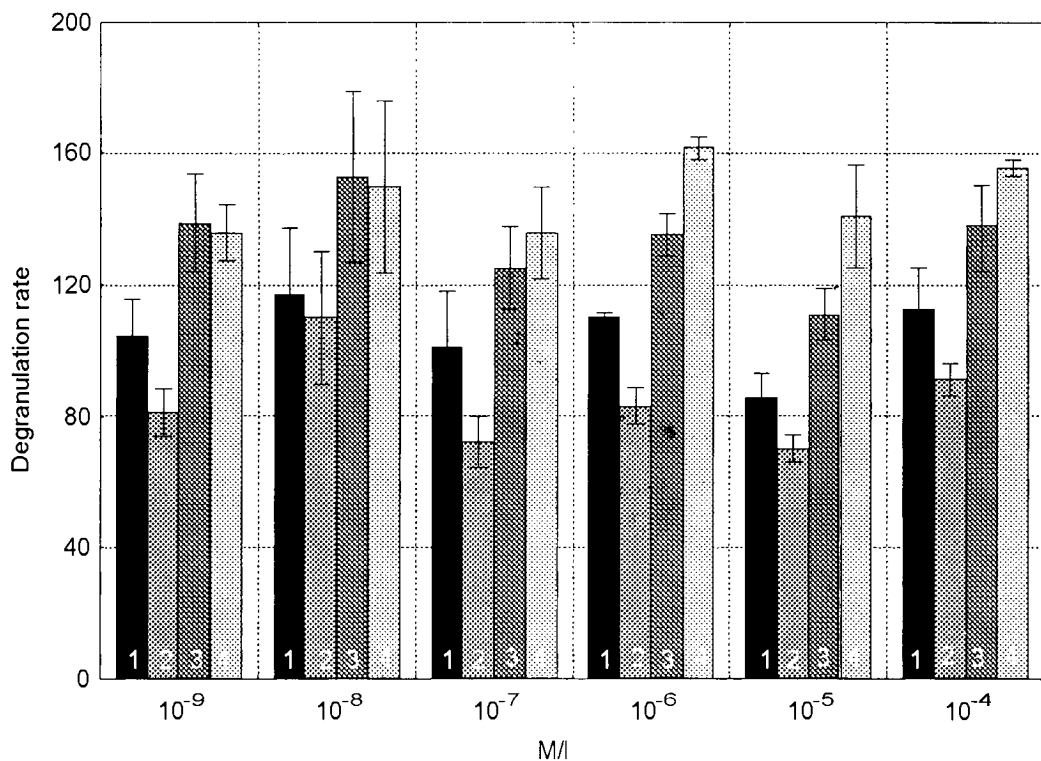


Рис. 1. Уровень дегрануляции тучных клеток в контрольных образцах (1), в присутствии хромогликата натрия разных концентраций (2), при воздействии переменного магнитного поля (3) и при комбинированном действии хромогликата натрия и переменного магнитного поля (4).

магнитных полей на биологическую активность веществ. Так, переменное магнитное поле в условиях *in vivo* и *in vitro* отменяет, а в отдельных случаях меняет на противоположное, действие мелатонина и аналогов стероидных гормонов на рост раковых клеток [4], а так же ростостимулирующее действие витамина А и его аналогов [5]. Обращает внимание тот факт, что используемые в данных экспериментах биологически активные соединения (хромогликат натрия, мелатонин, витамин А, стероидные гормоны), относятся к группе слабополярных

веществ, характеризующихся низкой растворимостью в воде и растворяющихся в водных средах по гидрофобному механизму. Ранее было показано, что переменные магнитные поля могут оказывать влияние на растворимость неполярных веществ, в том числе и витамина А, в воде и растворах белка [7,8]. Исследователями сделан вывод о влиянии магнитных полей на гидрофобные взаимодействия в живых системах. Можно предположить, что в используемой модельной системе "тучные клетки + ингибитор дегрануляции хромоглобина натрия + переменное магнитное поле" имеет место тот же механизм – изменение связывания слабополярного хромоглобина натрия рецепторными белками и гидрофобными областями клеточных мембран, приводящее к невозможности реализации ингибирующего действия данного вещества.

## ВЫВОДЫ

1. Препарат хромоглобина натрия подавляет дегрануляцию лаброцитов, однако в диапазоне концентраций ( $10^{-9}$ - $10^{-4}$  М/л), ингибирующий эффект хромоглобина натрия не носит дозо-зависимый характер и находится в пределах 10-25%.
2. Одночасовая экспозиция клеточных суспензий *in vitro* в переменном магнитном поле частотой 8 Гц индукцией 25 мкТл приводит к достоверному повышению уровня дегрануляции тучных клеток на 15-40%.
3. Обработка суспензии тучных клеток переменным магнитным полем в присутствии ингибитора дегрануляции - хромоглобина натрия, - приводит к потере ингибирующей активности препарата, а в отдельных концентрационных диапазонах ( $10^{-6}$  –  $10^{-5}$  М/л) данный препарат достоверно усиливает реакцию тучных клеток на переменное магнитное поле.

## Список литературы

1. Абу Хада Р.Х., Мартынюк В.С. Реакция тучных клеток на действие переменных магнитных полей в условиях *in vitro* // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского – 2001. - Т 14. – Сер. "Биология", No2. - С.3-7.
2. Дейл М.М, Формен ДЖ.К. Руководство по иммунофармакологии. -М.: Медицина, 1998. - С.16-31;235-245.
3. Быкова А.А., Закс А.С., Евтеева Т.А., Попыванова Г.А. О механизме действия ингибитора (хромоглобин) // Химический и фармакологический журнал. – 1980 -No. 9. - С.11-13.
4. Luben R.A., Morgan A.P. Independent replication of 60 Hz 1,2  $\mu$ T EMF effects on melatonin and tamoxifen responses of MFC-7 breast cancer cell *in vitro* / Abstract book of Twentieth Annual Meeting of BEMS, St. Pete Beach, Florida, June 7-11, 1998. – P.17-18.
5. Trillo M.A., Martines M.A., Cid M.A., Ubeda A., Carcia V.J., Sacom L., Leal J. Influence of 50 Hz magnetic field on the proliferation of human hepatocarcinoma cells *in vitro* / Abstract book of Twenty Third Annual Meeting of BEMS, St. Paul, Minnesota, June 10-14, 2001. – P. 211-212.
6. Проценко В.А., Шлак С.И., Доценко С.М. Тканевые базофилы и базофильные гранулоциты крови. - М.: Медицина, 1987. – 128 с.
7. Мартынюк В.С., Шадрин О.Г. Влияние переменного магнитного поля крайне низкой частоты на растворимость бензола в воде и водных растворах белка // Биомедицинская радиоэлектроника. – 1999. - № 2. – С. 61-64.
8. Калиновский П.С., Мартынюк В.С. Действие переменных магнитных полей на связывание гидрофобных лигандов сывороточным альбумином // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. – 2001. – Т.14. – Сер. «Биология», № 2. – С. 89-93.

Статья поступила в редакцию 08.01.2001