

УДК 591.11.1:577.35.537

Е. Н. Чуян, Н. А. Темурьянц, Н. В. Чирский, В. Г. Вишневецкий, М. М. Махонина

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ КАТЕХОЛАМИНОВ В ЭРИТРОЦИТАХ ПОД ВЛИЯНИЕМ ЭМИ КВЧ

Постоянно изменяющиеся условия среды вызывают у человека и животных развитие адаптационных реакций, нередко переходящих в стадию истощения и дистресса.

Цена дистресса для организма достаточно велика и выражается в снижении механизмов резистентности и развитии ряда патологических состояний. Одним из путей предупреждения этих состояний является применение воздействий, лимитирующих развитие патологических форм стресса. Таким средством, в частности, является электромагнитное излучение (ЭМИ) крайне высоких частот (КВЧ).

В настоящее время установлено, что ЭМИ КВЧ обладает высокой биологической активностью, под влиянием этого фактора изменяется функциональное состояние многих физиологических систем [1-4], повышается неспецифическая резистентность [5], нормализуется иммунный статус организма [2, 6-8], лимитируется развитие стресс-реакции [5].

Однако механизм физиологического действия ЭМИ этого диапазона изучен недостаточно. В частности, совершенно не исследована роль симпато-адреналовой системы (САС) в реакции организма на действие ЭМИ КВЧ.

Между тем, общепризнанно, что в формировании ответа организма на действие раздражителей различной природы и интенсивности, ведущая роль принадлежит САС, которая с ее центральным гипоталамическим и периферическими адреномедуллярными звеньями активно участвует в формировании адаптационных реакций [9, 10].

Наиболее доступным тестом, адекватно характеризующим функциональную активность САС, является цитохимический анализ катехоламинов (КА) в эритроцитах (Э) периферической крови [11]. Известно, что содержание КА в Э коррелирует с уровнем адреналина (А) и норадреналина (НА) в плазме крови [12]. Кроме того, цитохимический способ выявления КА в Э позволяет параллельно определять и морфологическое состояние этих клеток [13].

В связи с этим, задачей настоящей работы явилось исследование способности ЭМИ КВЧ изменять содержание катехоламинов в эритроцитах крови интактных животных, а также животных с экспериментально вызванной стресс-реакцией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены на 80 беспородных белых крысах самцах массой 250-300г. Для эксперимента отбирали животных одинакового возраста и пола, характеризующихся средней двигательной активностью (СДА) в тесте открытого поля (ОП). Подобный отбор позволил сформировать однородные группы животных, однотипно реагирующих на действие различных факторов. Предварительно отобранные животные были разделены на 4 группы. К первой группе относились животные, содержащиеся в обычных условиях вивария (биологический контроль, К). Вторую группу составляли крысы, находящиеся в условиях экспериментальной стресс-реакции, которая моделировалась ограничением подвижности (гипокинезией, ГК). Животные третьей группы подвергались действию ЭМИ КВЧ. В четвертую группу вошли животные, на которых оказывалось комбинированное действие ГК и ЭМИ КВЧ (ГК+КВЧ).

Воздействие ЭМИ КВЧ осуществлялось ежедневно по 30 минут на затылочную область в течение 10 суток эксперимента с помощью генераторов «Луч. КВЧ - 071». Гипокинезия создавалась помещением крыс в специальные кассеты из оргстекла, в которых они находились в течение 10 дней эксперимента по 23 часа в сутки.

Кровь для исследования брали из хвостовой вены до экспериментальных воздействий (фон) и на 3, 6, 8, 10 сутки эксперимента.

Содержание КА в Э исследовали цитохимическим методом [11]. Цитохимический показатель содержания (ЦПС) КА в Э определяли в соответствии с принципом L.Kaplow [14]: все Э по степени насыщенности катехоламинсодержащими гранулами разделялись на 5 типов: 1-клетки, содержащие 1-3 мелкие гранулы или 1 крупную; 2-клетки, содержащие 4-6 мелких гранул или 2 крупные; 3-клетки, содержащие 7-10 мелких гранул или 3 крупные; 4-клетки, содержащие более 10 мелких гранул или 4-5 крупных; 5-клетки, цитоплазма которых полностью заполнена включениями КА.

Изучение морфологической структуры Э проводили при помощи системы морфометрического анализа изображений и проблемно-ориентированного программного обеспечения – морфометра «Imagix». Помимо регистрации и анализа изображений, описанная система позволяет производить расчет коэффициента изрезанности границ (КИГ) и коэффициента деформации клеток (КДК).

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли с помощью стандартных статистических программ на ПК. В качестве критерия оценки достоверности наблюдаемых изменений использовали t-критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При определении КА цитохимическим способом, последние выявлялись в Э в виде гранул, размеры и количество которых зависели от экспериментальных воздействий. Так, у животных контрольной группы в 90-95% Э катехоламины имели вид мелких и средних гранул в количестве 3 - 10 штук. По степени насыщенности катехоламинсодержащими гранулами в крови интактных животных чаще встречались клетки 2 и 3 типов. ЦПС КА на протяжении всего эксперимента изменялся незначительно и находился в пределах от $237,20 \pm 3,06$ до $246,66 \pm 2,48$ усл. ед. (рис. 1-А).

При ограничении двигательной активности крыс в эритроцитах крови увеличилось количество продукта цитохимической реакции, 60-70% Э относились к

4 и 5 типам клеток. Обнаружено прогрессирующее возрастание ЦПС КА относительно показателей контрольной группы, особенно выраженное на 6-8 сутки гипокинезии (рис.2).

Под влиянием гипокинезии включения КА в Э увеличивались в размерах и размещались ближе к периферии клетки. Гранулы сливались между собой и имели вид скоплений больших темных глыбок, сосредоточенных в основном под мембраной, а цитоплазма клеток приобретала темный оттенок.

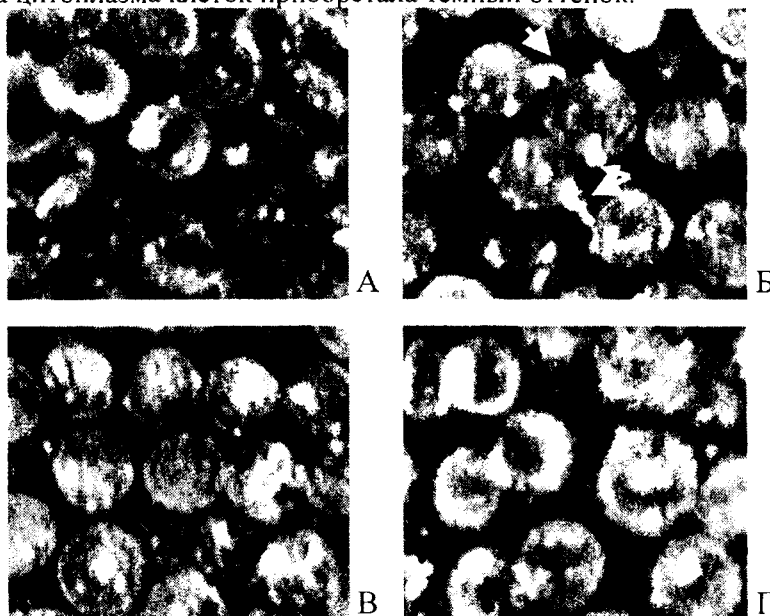


Рис.1. Включения катехоламинов в эритроцитах крови intactных крыс (А), при воздействии гипокинезии (Б), ЭМИ КВЧ (В) и их комбинации (Г). Стрелками показаны увеличения включений катехоламинов и появление деструктивных изменений в эритроцитах. Микрофото, метод отрицательного фазового контраста, увеличение (об.40, ок.12).

Э приобретали неправильную, изрезанную, часто звездчатую форму, образовывали отростки между собой, в которых также определялись включения КА (рис.1-Б). Появление деструктивных изменений в клетках гипокинезированных животных привело к увеличению КДК на 14,9% и КИГ на 24,4% по сравнению с соответствующими значениями в контрольной группе животных (рис.3).

При воздействии ЭМИ КВЧ на intactных животных наблюдалось снижение ЦПС КА относительно данных контрольной группы, наиболее выраженное на 3 и 6 сутки эксперимента, когда значения показателя составили 92% и 88% относительно контроля (рис.2). Э при этом имели правильную форму, по степени насыщенности КА чаще встречались клетки 1 и 2 типов. Включения имели вид мелких гранул, равномерно распределенных в цитоплазме (рис.1-В).

Деформации эритроцитов у животных этой группы не наблюдалось, о чем свидетельствуют значения коэффициентов изрезанности границ и деформации клеток, близкие к таковым у intactных животных (рис.3).

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ КАТЕХОЛАМИНОВ В ЭРИТРОЦИТАХ ПОД ВЛИЯНИЕМ ЭМИ КВЧ

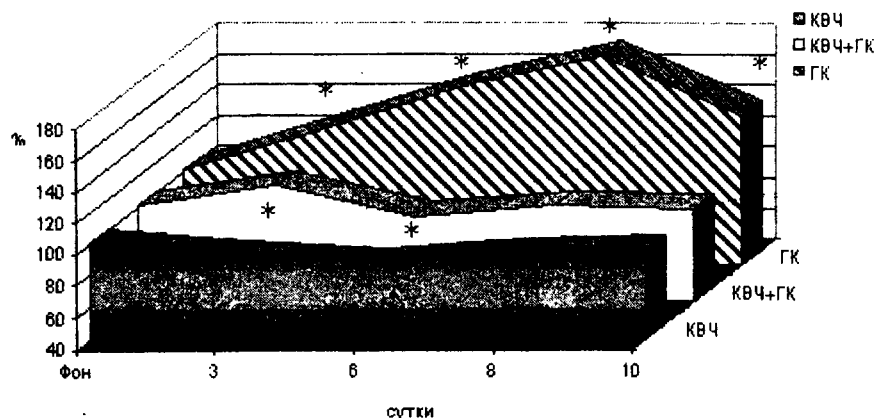


Рис.2. Изменение ЦПС КА в эритроцитах крови интактных крыс (К), при воздействиях гипокинезии (ГК), ЭМИ КВЧ (КВЧ) и их комбинации (КВЧ+ГК) (в % относительно значений контрольной группы).

*-различия достоверны относительно значений контрольной группы.

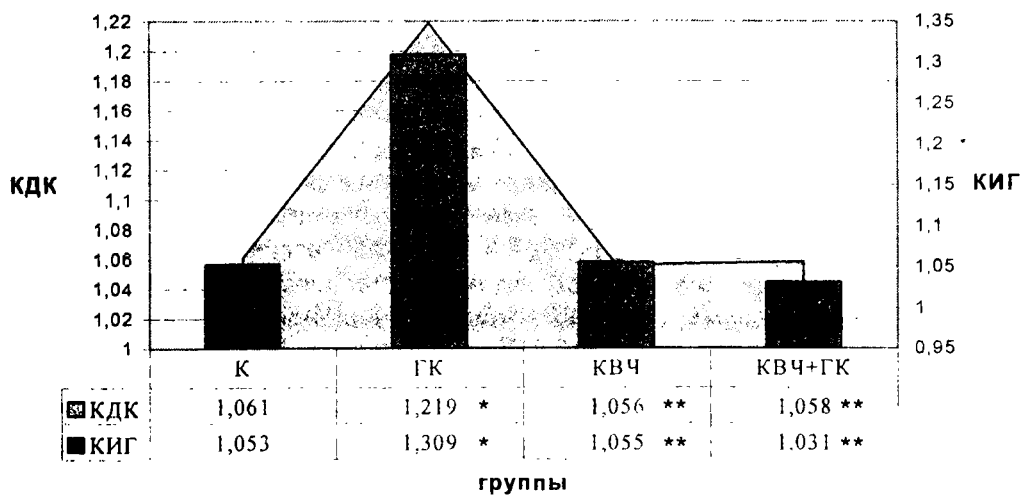


Рис. 3. Изменение коэффициента деформации клеток (КДК) и коэффициента изрезанности границ (КИГ) в эритроцитах крови интактных крыс (К), при воздействиях гипокинезии (ГК), ЭМИ КВЧ (КВЧ) и их комбинации (КВЧ+ГК)

* - достоверность различий относительно значений контрольной группы;

** - достоверность различий относительно значений гипокинезированных животных.

При комбинированном воздействии гипокинезии и ЭМИ КВЧ в крови крыс 4-ой группы на 3-и сутки эксперимента обнаружено повышение ЦПС КА относительно К на 14% и последующее снижение показателя к 6-м суткам. В более поздние сроки наблюдения ЦПС КА в Э практически не отличался от значений

этого показателя у контрольных животных (рис.2). Форма Э, размеры и количество гранул КА в крови этой группы животных существенно не отличались от таковых в контроле (рис.1-В). Деформации эритроцитов не наблюдалось, а значения исследуемых коэффициентов приближались к таковым у интактных животных и с высокой степенью достоверности ($p < 0,001$) отличались от показателей в группе животных, которые также находились в условиях ограничения подвижности, но дополнительно не подвергались воздействию ЭМИ КВЧ (рис. 3). Таким образом, КВЧ-воздействие на животных с ограниченной подвижностью приводит к значительному снижению ЦПС КА в Э крови по сравнению с гипокинезированными животными.

Полученные данные убедительно свидетельствуют об определенных изменениях содержания КА в Э, степень выраженности которых зависит от характера экспериментального воздействия.

Наличие β -адренорецепторов в мембранах Э [15], высокая связывающая емкость и адсорбционные свойства (*in vitro* Э адсорбируют и поглощают в среднем 64% адреналина и норадреналина плазмы [11]), позволяют заключить, что эти клетки способны депонировать и транспортировать КА и играют важную роль в гуморальных механизмах обеспечения КА всех органов и систем. Выявленные высокие положительные корреляции ($r = 0,95$; $p < 0,05$) между содержанием КА в плазме крови и их уровнем в эритроцитах [12], уровнем адреналина в мезентериальных лимфоузлах, в тимусе и в плазме крови, динамикой адреналина и норадреналина в селезенке и крови крыс ($r = 0,67$; $p < 0,05$) [16] позволяют считать, что изменение КА в Э, свидетельствует и об изменении состояния САС в целом.

Десятидневное ограничение подвижности животных приводит к развитию первой стадии стресса – реакции тревоги [17]. Стресс-реакция вызывает повышение ЦПС КА в Э и влияет на структуру клеток, что связано с активацией САС.

Увеличение активности САС при стрессе выявлено во многих исследованиях: при ограничении подвижности [12, 18, 19], высокой внешней температуре [19], социальной изоляции на ранних этапах жизни [20], эмоционально-болевым стрессе, экспериментальной массивной легочной эмболии у животных [21], депрессии [22], после кардиохирургических операций [23].

Увеличение концентрации КА в Э в свою очередь приводит к нарушению формы клеток. Полученные результаты совпадают с данными электронно-микроскопического исследования строения А- и НА-содержащих секреторных гранул в клетках мозгового вещества надпочечников быка, полученных методом замораживания - скалывания [15]. Подобные структурные изменения наблюдались в эритроцитах и эпинефроцитах при гипо- и гиперкатехоламинемии при обработке материала, использованной нами методикой [13].

Таким образом, под влиянием стресс-реакции на ограничение подвижности происходит увеличение депонирующей функции Э, нарушение их морфологического состояния, свидетельствующее об активации САС в целом.

Известно, что в основе изменений функционирования организма при стрессе лежит активация стресс-реализующих систем, и соответственно действия их медиаторов, среди которых центральное место занимают кортикотропин-релизинг-

реакций организма. В стадию тревоги – наиболее тяжелом периоде гипокинетического стресса [17] – прежде всего увеличивается продукция КА [24] что совпадает с нашими данными.

Воздействие ЭМИ КВЧ на затылочную область крыс приводит к уменьшению содержания КА в Э по сравнению с показателями контрольной группы, что, по-видимому, объясняется незначительным увеличением концентрации КА в плазме, то есть умеренной активацией САС. При таком состоянии повышается неспецифическая резистентность. Вопреки сложившемуся мнению о том, что ЭМИ КВЧ оказывает влияние только на организм с измененным функциональным состоянием, и после восстановления нарушенной функции воздействие становится неэффективным [1], наши результаты служат доказательством того, что многократное облучение здоровых животных низкоинтенсивным ЭМИ КВЧ может влиять на функциональную активность систем организма и приводит к развитию другого типа адаптационных реакций [25], отличного от стресса, а именно, реакции активации.

Как показали проведенные исследования, ежедневное получасовое воздействие ЭМИ КВЧ на крыс, находящихся в условиях ГК, ограничивает активацию САС. Это проявляется в кратковременном, незначительном повышении и последующем снижении ЦПС КА в Э. Уже к 8-м суткам наблюдается отчетливая нормализация функционального состояния САС. Обращает на себя внимание тот факт, что нормализация уровня КА под воздействием ЭМИ КВЧ проявляется не сразу, после первого сеанса, а спустя некоторое время, что объясняется кумулятивным характером биологического действия этого излучения: для появления эффекта необходимо достаточно длительное или многократное воздействие.

Изменение функциональной активности САС под воздействием ЭМИ миллиметрового диапазона в клинических и лабораторных исследованиях отмечено и другими авторами. Применение ЭМИ КВЧ у больных гипертонической болезнью оказывает корригирующее влияние на обмен КА, отмечается достоверное снижение в крови концентрации адреналина, норадреналина и дофамина на фоне значительного увеличения их экскреции с мочой [26]. При лечении посттравматического остеомиелита после 15 сеансов микрорезонансной терапии зарегистрировано резкое понижение А, повышение и приближение к норме коэффициента А/НА [2]. Показано, что уровень КА в структурах брыжеечных лимфатических узлов нормализуется, если болевой стресс действует на крыс после их предварительного облучения ЭМИ КВЧ [27].

Некоторые авторы полагают, что первичной молекулярной мишенью ЭМИ КВЧ являются рецепторные белки, локализованные на мембране [1, 28]. Одним из объективных критериев состояния мембраны является ее проницаемость. В многочисленных экспериментах *in vitro* показана способность ЭМИ КВЧ изменять состояние, в частности, проницаемость клеточных мембран эритроцитов [28, 29]. Поэтому, возможно, что одним из механизмов, способствующих нормализации состояния САС при воздействии ЭМИ КВЧ, является выведение КА из Э, циркуляции и усиление их экскреции из организма. Именно этим объясняется снижение содержания КА в Э периферической крови под воздействием ЭМИ КВЧ. Вместе с тем, под влиянием ЭМИ КВЧ у животных, находящихся в условиях нормального и ограниченного двигательного режима не наблюдалось изменения

морфологической структуры Э, выявленное в крови гипокинезированных крыс. Этот факт, по видимому, объясняется тем, что, наряду с повышением проницаемости мембран, под воздействием ЭМИ КВЧ, эритроциты приобретают повышенную прочность. Увеличение функциональной прочности клеточных мембран приводит, например, к закрытию гидрофильных пор, образованных при «пробое» электрическим и электромагнитным полем высокой напряженности [29].

Данные об изменении функциональной активности САС под действием ЭМИ КВЧ во многом подтверждают и дополняют полученные нами ранее результаты об антистрессорном действии ЭМИ КВЧ, которое достигается благодаря изменению функционального состояния центральной нервной системы, способности к синхронизации процессов, протекающих в организме, повышению неспецифической резистентности организма. ЭМИ КВЧ лимитирует развитие стресс-реакции на гипокинезию за счет ограничения чрезмерной активации стресс-реализующей системы, что служит доказательством стресспротективной функции ЭМИ этого диапазона.

Таким образом, в основе антистрессорного эффекта низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ лежит умеренная активация симпатoadреналовой системы и действие физиологических концентраций КА на кровь и иммунную систему, что способствует повышению резистентности организма к повреждающим факторам.

Список литературы

1. Девятков Н.Д., Голант М.Б., Бецкий О.В. Миллиметровые волны и их роль в процессах жизнедеятельности.- М.: Радио и связь, 1991.-168с.
2. Ситько С.П., Скрипник Ю.А., Яненко А.Ф. Аппаратурное обеспечение современных технологий квантовой медицины. – Киев. 1999.
3. Ситько С.П. Фундаментальные проблемы биологии с позиций квантовой физики живого // Физика живого. – 2001. - №2. – С. 5 – 17.
4. Лебедева Н.Н., Котровская Т.И. Экспериментально-клинические исследования в области биологических эффектов миллиметровых волн// Миллиметровые волны в биологии и медицине. 1999. - №3. – С.3 – 14.
5. Чуян Е.Н. Влияние миллиметровых волн нетепловой интенсивности на развитие гипокинетического стресса у крыс с различными индивидуальными особенностями: Автореф. дис. ... канд.биол. наук.- Симферополь, 1992.- 25с.
6. Адаскевич В.П. Клиническая эффективность, иммунорегулирующее и нейрогуморальное действие миллиметровой и микроволновой терапии при atopическом дерматите // Миллиметровые волны в биологии и медицине. – 1995. - №6. – С. 30 – 37.
7. Бугерук В.В. Використання КВЧ-терапії в комплексному лікуванні хронічної імунної недостатності у хворих із хламідійною і герпесвірусними інфекціями // Одеський медичний журнал. – 2000. - №3. – С. 69 – 72.
8. Лобода В.Ф., Зоря Л.В., Боярчук О.Р. Імунорегулююча дія НВЧ-терапії при хронічній гастродуоденальній патології у дітей // Матеріали І національного конгресу фізіотерапевтів та курортологів України «Фізичні чинники в медичній реабілітації». - Хмельник, 1998. - С. 112 – 113.
9. Арушанян Э.Б., Эльбекьян К.С. Влияние эпифизэктомии и введения мелатонина на содержание катехоламинов в ткани гипоталамуса и надпочечников крыс // ЖВНД. - 1996. - Т.46, №1. – С. 173 – 175.
10. Гриневич В.В. Поскребышева Е.А., Савелов Н.А. и др. Иерархические взаимоотношения между органами гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы (ГГАС) при воспалении // Успехи физиол. наук. – 1999.- Т.30, № 4. – С. 50 – 66.

12. Малыгина В.И. Симпатоадреналовая система крыс при адаптации к гипокинезии: Автореф. дис. ... канд.биол. наук. - Симферополь, 1989.- 23с.
13. Мардар Г.І. Денонування катехоламінів і структурні зміни в еритроцитах за умов порушення функції симпатико-адреналової системи // Фізіол. журн. – 2001. - Т.47,-№ 1. – С. 53 – 60.
14. Kaplow L.S. A histochemical procedure for localizing and evaluation leukocyte alkaline phosphatase activiti in smears of blood and marrow // Blood. – 1955.- №10.- P. 1023-1029.
15. Ornberg R.L., Duond L.T., Pollard H.B. Intragranular vesicles: new organelles in the secretory granules of adrenal chromaffin cells // Cell and Tissue Res. – 1986.- №3. -- P. 547 – 553.
16. Шурлыгина А.В., Труфакин В.А., Гушин Г.В., Корнева Е.А. Суточные вариации содержания адреналина, норадреналина и β -адренорецепторов в крови и лимфоидных органах здоровых крыс // Бюллетень экспер. биологии и медицины. - 1999. - Т.128. №9. – С. 344 – 346.
17. Михайлов А.В. Функциональная морфология нейтрофилов крови крыс в процессе адаптации к гипокинезии: Автореф. дис. ... канд.биол. наук. – Симферополь, 1985. – 25 с.
18. Кветнянски Р., Тигранян Р.А., Торда Т. и др. Содержание катехоламинов в крови у крыс после полета на биоспутнике «Космос 936» // Космическая биология и авиакосмическая медицина. – 1982. - № 1. – С. 80 – 83.
19. Палладий Е.С., Ревенко П.Ф., Мырзак Н.В. Функциональное состояние симпато-адреналовой системы при введении альфа-МСГ на фоне воздействия неблагоприятных факторов (гипокинезия и высокая внешняя температура). В кн. Нейроэндокринные корреляты стресса и адаптации. – Кишинев: Штиинца, 1985. - С.60 – 73.
20. Ватаева Л.А., Михайленко В.А., Кассиль В.Г. Влияние сроков отлучения от самки на поведение в открытом поле и состояние симпато-адреналовой системы у крыс, выращенных в условиях социальной изоляции // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2002.- Т.38, №1. – С. 66 – 70.
21. Тверская М.С., Карпова В.В., Макарова Л.Д. и др. Состояние симпатико-адреналовой системы при экспериментальной массивной легочной эмболии // Бюллетень эксп. биол. и медицины. – 1993. - №4. – С. 347 – 372.
22. Божко Г.Х., Царицинский В.И., Смеляная Е.И. и др. Действие света повышенной интенсивности на экскрецию катехоламинов у больных депрессией // Журнал неврологии и психиатрии. – 1996. - №1. – С. 58 – 60.
23. Цветковская Г.Н., Науменко С.Е., Князькова Л.Г. и др. Реакция симпатоадреналовой системы при коррекции приобретенных митральных пороков в условиях бесперфузионной гипотермии // Анестезиология и реаниматология. – 1996. - №3.- С. 135 – 138.
24. Панин Л.Е. Биохимические механизмы стресса. – Новосибирск: Наука, 1983. 233 с.
25. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Кузьменко Т.С. Антистрессорные реакции и активационная терапия. – М.: «ИМЕДИС», 1998. – 656 с.
26. Люсов В.А., Волов Н.А., Царев А.А., Лебедева А.Ю. Влияние электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на обмен катехоламинов у больных гипертонической болезнью // Миллиметровые волны в биологии и медицине. – 1998. - №2. – С. 29 – 35.
27. Смородченко А.Т. Реакция биоаминной системы лимфатических узлов на воздействие электромагнитного излучения крайне высокой частоты миллиметрового диапазона // Бюллетень эксп.биол. и медицины. - 1998. - №12. – С. 634 – 636.
28. Логинов В.В., Русяев В.Ф., Туманянц Е.Н. Влияние электромагнитного излучения КВЧ на эритроциты человека (in vitro) // Миллиметровые волны в биологии и медицине. – 1999. - №1. – С. 17 – 21.
29. Ильина С.А. Действие электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на проницаемость эритроцитов человека // Сб. трудов Межд. Симпозиума “Миллиметровые волны нетепловой интенсивности в медицине”. – М., 1991. – С.415-419.

Поступила в редакцию 10.09.2002 г.