

УДК 591.11.1:577.35.537

ЭМИ КВЧ ВЫЗЫВАЕТ ПРАЙМИНГ ЛЕЙКОЦИТОВ

Верко Н. П.

В экспериментальных и клинических исследованиях показана высокая биологическая эффективность электромагнитного излучения (ЭМИ) крайне высокой частоты (КВЧ). Это излучение обладает выраженным антистрессорным [9] и иммуномодулирующим действием [2;16]. Однако с позиции информационной теории взаимодействия ЭМИ КВЧ с биологическими объектами влияние ЭМИ КВЧ низкой интенсивности на интактный организм не существенно, а в том случае, если функционирование организма нарушено, даже слабое внешнее воздействие может изменить его метаболический профиль [3]. Отмечено, что биологические системы, подвергшиеся предварительному воздействию, в том числе, стрессу, инфицированию, более чувствительны к действию ЭМИ КВЧ [9; 11; 12; 16]. Вместе с тем, доказано, что биологический эффект ЭМИ КВЧ определяется функциональным статусом клеток [1]. В исследованиях С.Eichwald, J.Wolleczek [11] отмечено, что в зависимости от степени активации клетки будет наблюдаться стимуляция, ингибирование или отсутствие эффекта.

Известно, что лейкоциты (полиморфноядерные и мононуклеарные), обеспечивающие наиболее быстрые реакции организма на повреждающее действие, могут находиться в организме в покоящемся, праймированном и активированном состояниях [4]. Увеличение функционального потенциала лейкоцитов в процессе предварительного воздействия получило название прайминга (*priming*), т.е. подготовки, перевода клеток в рабочее состояние [10]. Агенты различной природы могут оказывать как праймирующее, так и активирующее действие на клетки крови [1; 4; 17]. Однако совершенно не изучена праймирующая функция ЭМИ КВЧ.

В связи с этим целью настоящего исследования явилось изучение возможности использования ЭМИ КВЧ в качестве праймирующего агента при последующем действии активирующего стимула, которым является стресс-реакция.

Материалы и методы исследования

Работа выполнена на беспородных белых крысах-самцах. Для эксперимента отбирали животных одинакового возраста и веса со средним уровнем двигательной активности и низкой эмоциональностью, определенных в тесте “открытого поля”, что позволило сформировать однородные группы животных, однотипно реагирующих на

различные, в том числе стрессовые, воздействия. Стресс-реакция моделировалась в 1-м варианте ограничением подвижности животных (гипокинезией, ГК), а во 2-м – инфицированием *Mycoplasma Hominis*. Предварительно отобранные животные были распределены на 5 групп (по 12 – 15 особей в каждой). Животные первой группы находились в обычных условиях вивария и служили биологическим контролем (К). Крысы 2-й и 3-й групп в течение первых 9 дней эксперимента оставались интактными, а затем животных 2-й группы подвергали инфицированию *Mycoplasma Hominis* (К-И), а животных 3-й группы – воздействию 9-суточной ГК (К-ГК). 4-ю и 5-ю группы составляли крысы, подвергавшиеся ежедневному воздействию ЭМИ КВЧ (7,1мм; 0,1 мВт/см²) на затылочную область в течение 9-ти дней по 30 мин в сутки. После этого крысам 4-ой группы одновременно с крысами 2-й группы вводили антиген по 0,2 мл (концентрация 10⁵ микробных тел в 1 мл) в хвостовую вену (КВЧ-И). Животных 5-й группы одновременно с животными 3-й группы высаживали в пеналы, ограничивающие их подвижность по всем направлениям (КВЧ-ГК). В этих условиях они находились в течение последующих 9-ти дней.

Для исследования процессов адаптации к экспериментальным воздействиям использовали комплекс цитохимических методик. Состояние неспецифической резистентности оценивалось по цитохимическому содержанию в нейтрофилах бактерицидных (катионные белки (КБ), пероксидаза (ПО)), гидролитических систем (кислая фосфатаза (КФ) и протеазы (ПР)) и липидов (ЛП) [6]. Количественную оценку изучаемых показателей производили, рассчитывая цитохимический показатель содержания (ЦПС) в соответствии с принципом Karlow [14]. В лимфоцитах и нейтрофилах крови определялись средние активности окислительно-восстановительных ферментов (сукцинат- (СДГ) и α-глицерофосфатдегидрогеназ (α-ГФДГ)) [7].

Кровь для исследования брали из хвостовой вены до экспериментального воздействия (фон), на 3, 5, 9, 10, 12, 15, 18 сутки эксперимента.

Обработку и анализ экспериментальных данных проводили с помощью параметрических методов. В качестве критерия оценки достоверности наблюдаемых изменений использовали t-критерий Стьюдента. Обработка результатов производилась на ПК по стандартным статистическим программам.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты исследования свидетельствуют о том, что при разных экспериментальных воздействиях развиваются адаптационные реакции различного типа, а реакция животных на гипокинезию и развитие инфекционного процесса зависит от исходного функционального состояния.

Развитие инфекционного процесса у животных 2-й группы, которые до введения антигена оставались интактными, привело к активации бактерицидных систем (пероксидазы, катионных белков) в нейтрофилах. Так, на 18 сутки эксперимента ЦПС ПО повысился на 20,32% ($p < 0,001$), ЦПС КБ – на 10,23% ($p < 0,001$) относительно значений контрольной (К) группы животных. Аналогичные изменения произошли и в

динамике ЦПС гидролитических ферментов нейтрофилов – ПР, КФ и ЛП, средних активностей СДГ и а-ГФДГ в лимфоцитах и нейтрофилах (рис. 1А).

Девятидневное ограничение подвижности крыс 3-й группы привело к снижению ЦПС ПО, КБ, ПР, ЛП, повышению ЦПС КФ в нейтрофилах, уменьшению средней активности СДГ и а-ГФДГ в нейтрофилах и лимфоцитах крови крыс относительно исходного уровня и значений соответствующих показателей в контрольной группе животных (рис.1Б). Разнонаправленная перестройка бактерицидных систем и гидролитического фермента нейтрофилов (“совокупный показатель”) является неблагоприятным признаком, который расценивается как угнетение естественных защитных сил клетки и организма в целом. Описанная картина полностью соответствует стадии тревоги гипокинетического стресса. Подобный результат был получен Н.А.Темурьянц [8], Е.Н.Чуян [9] при гипокинезии.

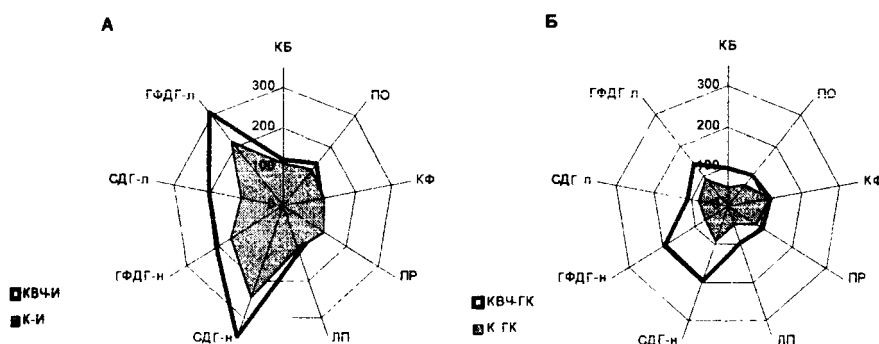


Рис. 1. Цитохимические показатели содержания пероксидазы (ПО), катионных белков (КБ), кислой фосфатазы (КФ), протеазы (ПР), липидов (ЛП) средних активностей суццинат- (СДГ) и ?-глицерофосфатдегидрогеназ (ГФДГ) в нейтрофилах (н) и лимфоцитах (л) крови крыс на 9-е сутки после воздействий: А – инфицирования (К-И), ЭМИ КВЧ и инфицирования (КВЧ-И); Б – гипокинезии (К-ГК), ЭМИ КВЧ и гипокинезии (КВЧ-ГК) (в % относительно значений в контроле).

Воздействие ЭМИ КВЧ на интактных крыс 4-й и 5-й групп привело к развитию адаптационной реакции другого типа. ЦПС бактерицидных и гидролитических ферментов повысился на 4-7%, а дегидрогеназная активность лейкоцитов возросла на 23 – 79%.

После введения крысам 4-ой группы *Micoplasma Hominis* произошло значительное повышение всех изученных цитохимических показателей крови, особенно выраженное для окислительно-восстановительных ферментов лимфоцитов и нейтрофилов. Например, в нейтрофилах зарегистрировано повышение СДГ на 50%, а ?-ГФДГ на 30%. Причем уровень всех показателей у животных этой группы, достигнутый через 9 дней после введения антигена, был значительно выше значений соответствующих

показателей у животных, которые до заражения оставались интактными (К+И) (рис.1А).

Последовательное действие ЭМИ КВЧ и девятисуточной ГК привело к увеличению всех изученных показателей у животных 5-й группы. Так, ЦПС КБ и ПО составил 100% и 105% соответственно относительно значений в контроле ($p>0,05$), что на 32% и 25% выше соответствующих значений в группе животных, которые до ограничения подвижности не подвергались воздействию ЭМИ ($p<0,001$). Ферментативная активность КФ и ПР на протяжении всего периода гипокинезии не снижалась ниже контрольного уровня. Следует обратить внимание на то, что в отличие от гипокинезированных животных, которые предварительно не подвергались воздействию ЭМИ КВЧ, у крыс с последовательным воздействием ЭМИ КВЧ и ГК имеет место синхронная динамика бактерицидных и гидролитических систем нейтрофилов (рис. 1Б).

Таким образом, превентивное воздействие ЭМИ КВЧ на инфицированных и гипокинезированных животных привело к выраженному увеличению изученных показателей в нейтрофилах и лимфоцитах.

Увеличение показателей содержания исследованных ферментов в нейтрофилах и лимфоцитах крыс при превентивном действии ЭМИ КВЧ следует расценивать как повышение функционального потенциала лейкоцитов, т.е. возникает эффект прайминга, что способствует повышению уровня физиологической защиты и резистентности организма к последующему активирующему действию гипокинезии и антигена. О праймирующем действии ЭМИ КВЧ свидетельствует индекс прайминга (ИП) [5], который выражался отношением исследованных показателей в группе с последовательным воздействием ЭМИ КВЧ и инфицирования (КВЧ-И) или ЭМИ КВЧ и ГК (КВЧ-ГК) к соответствующим показателям в группе животных, которые до воздействия оставались интактными (К-И) или (К-ГК) (рис.2).

ИП в нейтрофилах относительно бактерицидных, гидролитических ферментов и липидов приблизительно одинаков. Наибольших значений ИП достигал в лимфоцитах и нейтрофилах крови в отношении дыхательных ферментов (СДГ и а-ГФДГ) и особенно выражен для СДГ в лимфоцитах. Вероятно, это связано с тем, что наиболее ярким проявлением ответа фагоцитов на стимуляцию является формирование так называемого, "кислородного, или респираторного, взрыва". Обращает на себя внимание также и тот факт, что праймирующий эффект ЭМИ КВЧ выражен в большей степени при последующем активирующем воздействии ГК, за исключением гидролитической системы нейтрофилов (КФ и ПР), которая активируется антигеном в большей степени (рис.2).

Функциональный статус праймированного лейкоцита характеризуется тем, что в клетке происходят метаболические перестройки, но при этом функциональная активность не меняется, однако при действии последующего активирующего стимула ответ клеток многократно усиливается [13]. Активация эффекторных функций

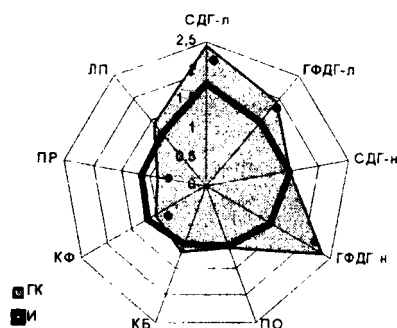


Рис.2. Индекс прайминга лимфоцитов и нейтрофилов крови крыс при воздействии ЭМИ КВЧ и последующей активацией их введением антигена (И) и гипокинезией (ГК).

• — различия между группами (ГК и И) достоверны по критерию Стьюдента.

фагоцитов, отмечаемая после прайминга, находит отражение в увеличении функций цитотоксичности и бактерицидности клеток, усилении их метаболизма [4], что мы и наблюдали в настоящем исследовании.

Поэтому, вопреки сложившемуся мнению о том, что ЭМИ КВЧ оказывает влияние только на организм с измененным функциональным состоянием, а интактные животные и здоровые люди не восприимчивы к этому виду излучения [3], наши результаты служат доказательством того, что многократное облучение здоровых животных низкоинтенсивным ЭМИ КВЧ может влиять на увеличение функционального статуса интактных клеток крови. Таким образом, превентивное праймирующее действие ЭМИ КВЧ приводит к увеличению потенциальной мощности нейтрофилов и лимфоцитов, что способствует повышению резистентности организма к последующему действию повреждающих агентов.

Список литературы

1. Аловская А.А., Габдулхакова А.Г., Гапеев А.Б., Делкова Е.Н., Софронова В.Г., Фесенко Е.Е., Чемерес Н.К. Биологический эффект ЭМИ КВЧ определяется функциональным статусом клеток // Вестник новых медицинских технологий. -- 1998. -- Т. 5. -- № 2. -- С. 11 - 14.
2. Арзуманов Ю.Л., Бецкий О.В., Девятков Н.Д., Лебедева Н.Н. Применение мм-волн в клинической медицине (последние достижения) // Миллиметровые волны в медицине и биологии. II Российский симпозиум. — М., 1997. — С. 9 - 12.
3. Девятков Н.Д., Голант М.Б., Бецкий О.В. Миллиметровые волны и их роль в процессах жизнедеятельности. — М.: Радио и связь, 1991. — 168 с.
4. Клебанов Г.И., Владимиров Ю.А. Клеточные механизмы прайминга и активации фагоцитов // Успехи современной биологии. — 1999. — Т. 119, № 5. — С. 462 - 465.
5. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Клебанов Г.И. и др. Отсутствие прайминга лейкоцитов новорожденных // Иммунология. — 2000. — № 3. — С. 12 - 15.
6. Лилли Р. Патологическая техника и практическая гистохимия. — М.: "Мир", 1969. — 645с.
7. Нарциссов Р.И. Диагностическая и прогностическая ценность цитохимического исследования лимфоцитов // Вестник АМН СССР. — 1978. — №7. — С. 71 - 74.
8. Темурьянц Н.А. Нервные и гуморальные механизмы адаптации к действию неионизирующих излучений: Автореф. дис.... докт.биол.наук. — М., 1989. — 44 с.

9. 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. – 25 с.
10. Downey G.P., Fukushima T., Fialkow L., Waddell T.K. Intracellular signaling in neutrophil priming and activation // *Cell Biol.* – 1995. – V.6. – P. 345 – 356.
11. Eichwald C., Walleczek J. Activation-dependent a biphasic electromagnetic field effects: model based on cooperate enzyme kinetics in cellular signaling // *Bioelectromagnetics.* – 1996. – V.17. – P. 427 – 435.
12. Grundler W., Jentzsch V., Keilmann F., Putlerlik V. Resonant cellular effects of low intensity microwaves // *Biological coherence and response to external stimuli.* Ed. Frohlich H. – Berlin, Heidelberg, New York: Springer, 1988. – P. 65 – 85.
13. Hallett M.B., Lloyds D. Neutrophil priming: the cellular signals that say “amber” but not “green” // *Immunol. Today.* – 1995. – V.16. – № 6. – P. 264 – 268.
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. Nislihuka Y. Intracellular signalling by hydrolysis of phospholipids and activation of protein kinase C // *Science.* – 1992. – V. 258. – P. 607 – 614.
16. Rojavin V.A., Tsygankov A.Y., Ziskin M.C. In vivo effects of millimeter waves on cellar immunity of cyclophosphamidetreated mice // *Electro-and Magnetobiology.* – 1997. – V.16. – № 3. – P. 281 – 292.
17. Safronova V.G., Gabdoulkhakova A.G., Santalov B.F. Immunomodulating Action of Low Intensity Millimeter Waves on Primed Neutrophils // *Bioelectromagnetics.* – 2002. – V.23. – P. 599 – 606.

Поступила в редакцию 10.03.2003 г.