

**УДК 591.11.1:577.35.537**

**ИЗМЕНЕНИЕ ФОСФАТАЗНОЙ АКТИВНОСТИ АЛЬВЕОЛЯРНЫХ  
МАКРОФАГОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО  
ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ КРАЙНЕ ВЫСОКОЙ ЧАСТОТЫ**

*Чуян Е. Н.*

В настоящее время низкоинтенсивное электромагнитное излучение (ЭМИ) крайне высокой частоты (КВЧ) успешно используется для повышения резистентности организма к действию различных факторов [1]. Резистентность следует рассматривать в качестве одного из интегральных критериев эффективности процессов адаптации как меру приспособленности организма к ситуации, не соответствующей его конституциональным особенностям. Резистентность обеспечивают многочисленные механизмы, в частности, клетки крови и соединительной ткани. Нами в предыдущих исследованиях показана важная роль лимфоцитов и нейтрофилов периферической крови в механизмах повышения резистентности организма под влиянием низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ [1]. Роль других клеточных элементов и, в частности, мононуклеарных фагоцитов в этом процессе не изучена. Особое значение в обеспечении резистентности имеют альвеолярные макрофаги (АМ). Установлено, что АМ обладают многими общими свойствами с макрофагами других тканей и оказывают влияние на функционирование лимфоидной системы, включаются в процессы антигеннезависимой дифференцировки Т-лимфоцитов [2]. От функционального состояния АМ во многом зависят различные проявления структурной и метаболической перестройки легких в норме и патологии [3]. Процесс активации макрофагальной системы, как показывают экспериментальные исследования, может проходить довольно быстро и индуцироваться различными факторами [4, 5]. Однако совершенно не изученной является возможность использования для активации АМ ЭМИ КВЧ, которое обладает выраженной биологической активностью.

Известно, что биохимическим и цитохимическим маркером специфических вторичных гранул макрофагов является щелочная фосфатаза (ЩФ) [6]. Клинические и экспериментальные исследования показали, что активность ЩФ в тканевых макрофагах отражает состояние неспецифической резистентности организма и может служить критерием оценки тяжести течения и прогноза при различных патологических состояниях [7, 8].

В связи с этим, задачей настоящего исследования явилось изучение влияния низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ на изменение функциональной активности альвеолярных макрофагов по показателю фосфатазной активности у интактных животных, а также животных, находящихся в условиях экспериментальной стресс-реакции.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены на 48 беспородных белых крысах самцах массой 250-300 г. Для эксперимента отбирали животных одинакового возраста и веса, характеризующихся средней двигательной активностью в тесте «открытого поля». Подобный отбор позволил сформировать однородные группы животных с одинаковыми конституциональными особенностями, однотипно реагирующих на действие различных факторов. Предварительно отобранные животные были разделены на 4 группы. К первой группе относились животные, содержащиеся в обычных условиях вивария (контроль, К). Вторую группу составляли крысы, у которых моделировали стресс-реакцию путем ограничения их подвижности (гипокинезия, ГК), что достигалось помещением их в специальные кассеты из оргстекла, в которых они находились 22 часа в сутки в течение 10 суток. Животные третьей группы подвергались действию ЭМИ КВЧ. Четвертую группу составили животные, находившиеся в условиях комбинированного воздействия ГК и ЭМИ КВЧ (ГК+КВЧ).

Воздействие ЭМИ КВЧ осуществлялось ежедневно по 30 минут на затылочно-воротниковую область в течение 10 суток с помощью генератора «Луч. КВЧ-01» с длиной волны 7,1 мм, плотностью потока мощности 0,1 мВт/см<sup>2</sup>.

На 10 день эксперимента, после декапитации животных исследовали мазки-отпечатки трахеи, в которых выявляли щелочную фосфатазу (ЩФ) методом Гомори-Такаматсу (Gomori), основанном на использовании  $\beta$ -глицерофосфата натрия в качестве субстрата, в среде при pH = 9,2 в присутствии ионов кальция и активирующих ионов магния [9]. Окраску ядер производили 1% водным раствором сафранина. Количественную оценку изучаемого показателя осуществляли в соответствии с принципом Karlow [10], который позволяет дать количественную характеристику изучаемым показателям. Все АМ в зависимости от интенсивности окрашивания цитоплазмы были распределены на следующие группы: 0 (нулевая степень) – отсутствие реакции; I степень – выявляются отдельные гранулы, равномерно распределенные в цитоплазме; II степень – негомогенные отложения, локализующиеся преимущественно по периферии клетки; III степень – вся цитоплазма заполнена интенсивно окрашенными гранулами; IV степень – слияние гранул, образование пятнистых осадков, интенсивно заполняющих цитоплазму, в том числе, и область ядра. Для объективной оценки полученных результатов рассчитывали показатель фосфатазной активности альвеолярных макрофагов (ПФАМ) в расчете на 100 клеток. Для этого процент клеток, принадлежащих к каждой группе, умножали на номер данной группы. Общая сумма полученных произведений являлась показателем интенсивности реакции.

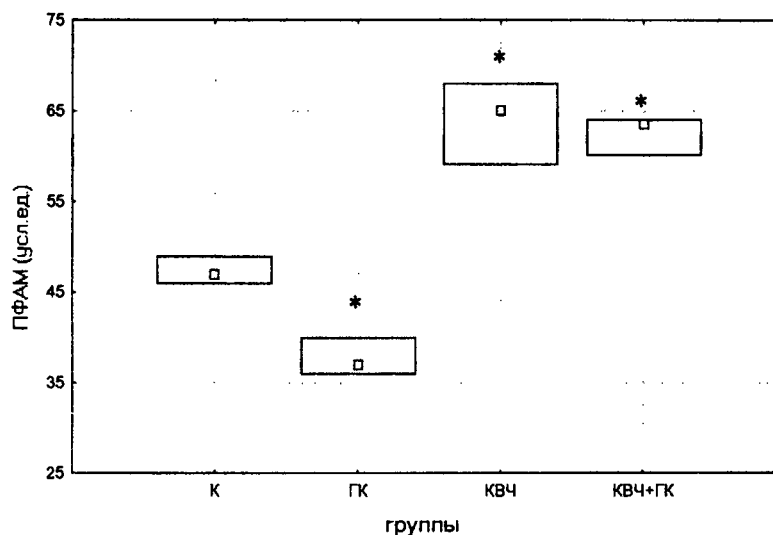
## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У интактных животных фосфатазную активность регистрировали в 25-40% клеток. Положительная реакция проявлялась преимущественно в виде распределенных в цитоплазме небольших гранул неправильной или вытянутой формы темно-серого цвета. Среди макрофагов, проявлявших фосфатазную активность в контрольной группе крыс, преобладали клетки I степени активности, в то время как клетки II и III степеней встречались крайне редко. ПФАМ у этих

**ИЗМЕНЕНИЕ ФОСФАТАЗНОЙ АКТИВНОСТИ АЛЬВЕОЛЯРНЫХ МАКРОФАГОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ КРАЙНЕ ВЫСОКОЙ ЧАСТОТЫ**

животных был равен в среднем  $47,5 \pm 0,72$ , а пределы его колебаний составили 46,0-50,0 усл. ед (рис.).

Результаты исследования функциональной активности альвеолярных макрофагов у животных разных экспериментальных групп свидетельствуют о том, что этот показатель изменялся при различных воздействиях неоднозначно. Так, при 10-тидневном ограничении подвижности животных произошло значительное снижение ферментативной активности (рис.), ПФАМ при этом составил 80,7% относительно значения этого показателя в контрольной группе ( $p < 0,01$ ).



**Рис. Показатель фосфатазной активности альвеолярных макрофагов (ПФАМ) крыс в контрольной (К) группе и при экспериментальных воздействиях: гипокинезии (ГК), ЭМИ КВЧ (КВЧ) и их комбинации (КВЧ+ГК).**

\* – достоверность различий по критерию Стьюдента относительно значений контрольной группы.

Известно, что ЩФ принимает участие в завершающей стадии фагоцитоза [11, 12]. Потому снижение фосфатазной активности нейтрофилов и макрофагов приводит к невозможности полноценного обеспечения их фагоцитарной функции. Необходимо также отметить, снижение ПФАМ у гипокинезированных животных происходило в основном за счет уменьшения количества клеток, в которых регистрировалась ЩФ, что может быть связано с притоком к легким молодых клеток-предшественников [13], увеличением количества нежизнеспособных [3] и дегенерирующих макрофагов [5].

Полученные результаты полностью согласуются с данными других авторов. Например, показано, что при травматическом и ожоговом шоке, экспериментальной эндотоксемии у крыс происходил выраженный рост нежизнеспособных АМ с одновременным снижением показателей фагоцитарной активности и фагоцитарного индекса клеток, что приводило к развитию воспалительных процессов в легких [3, 14]. Обострение воспалительного процесса в легких при острых и хронических пневмониях приводило к уменьшению числа АМ до 10-70% [5]. Появление

большого числа недифференцированных АМ, не обладающих полноценной фагоцитарной функцией, нарастающие дистрофические изменения в клетках, приводящие к угнетению клеточного метаболизма, по мнению исследователей, являются возможными механизмами, приводящими к развитию иммунодефицитного состояния, характерного для стресса [3, 4].

Воздействие ЭМИ КВЧ указанных параметров на интактных крыс вызывало наибольшие изменения фосфатазной активности альвеолярных макрофагов, ПФАМ увеличился в среднем на 37,3% относительно значений этого показателя в контрольной группе животных (рис.). Это было обусловлено, главным образом, за счет увеличения положительно реагирующих клеток. Причем, среди макрофагов, проявлявших фосфатазную активность, преобладали клетки II степени активности.

Под влиянием комбинированного действия ЭМИ КВЧ и ГК ПФАМ увеличился на 64,3% ( $p < 0,01$ ) по сравнению с показателем, зарегистрированным у животных с ограниченной подвижностью, но дополнительно не подвергавшихся воздействию ЭМИ КВЧ и на 32,6% по сравнению с таковым в контрольной группе ( $p < 0,001$ ) (рис.).

Таким образом, анализ полученных данных свидетельствует о том, что фосфатазная активность альвеолярных макрофагов изменялась под влиянием воздействий ГК и ЭМИ КВЧ разнонаправленно. ЭМИ КВЧ низкой интенсивности приводит к выраженному увеличению фосфатазной активности альвеолярных макрофагов как у интактных животных, так и у животных с экспериментально вызванной стресс-реакцией. Экспериментально доказано, что резистентность легочной ткани к инфекции во многом зависит от выраженности защитной функции местных макрофагов [4]. Следовательно, увеличение активности ЩФ в АМ крыс при действии ЭМИ КВЧ следует расценивать как повышение функциональной активности этих клеток, что способствует повышению уровня физиологической защиты и резистентности организма к действию гипокинезии.

В доступной литературе отсутствуют сведения об изменении функциональной активности АМ под влиянием ЭМИ КВЧ. Стимулирующее влияние переменного магнитного поля сверхнизкой частоты (частота 8 Гц, индукция 5 мкТл) на функциональную активность клеточных элементов крови и соединительной ткани было обнаружено в исследованиях других авторов [15, 16]. Результаты настоящего исследования являются новым доказательством биологической эффективности низкоинтенсивных ЭМИ, в частности КВЧ-диапазона, и существенно дополняют литературные данные сведениями об активизирующем влиянии ЭМИ КВЧ на клетки крови и соединительной ткани.

### Список литературы

1. Чуян Е.Н., Темурьянц Н.А., Московчук О.Б. и др. Физиологические механизмы биологических эффектов низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ. – Симферополь: «Эльиньо», 2003. – 448 с.
2. Анфалова Т.В., Луцан Н.И. Образование в процессе взаимодействия макрофагов с тимоцитами Т-лимфоцитов, инактивирующих аллогенные стволовые клетки // Бюллетень эксп. биол. и мед. – 1996. – № 3. – С. 298-300.
3. Харин Г.М., Шакирова А.З. Морфофункциональные особенности альвеолярных макрофагов при шокогенных повреждениях // Бюллетень эксп. биол. и мед. – 1996. – Т. 122, № 11. – С. 577-581.

**ИЗМЕНЕНИЕ ФОСФАТАЗНОЙ АКТИВНОСТИ АЛЬВЕОЛЯРНЫХ МАКРОФАГОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ КРАЙНЕ ВЫСОКОЙ ЧАСТОТЫ**

---

4. Вазина И.Р., Пылаева С.И., Васильчук О.А. Нарушение процесса фагоцитоза альвеолярных макрофагов при термической травме // Бюллетень эксп. биол. и мед. – 1984. – № 5. – С. 542-544.
5. Непомнящих Г.И., Ефремов В.Н., Туманов В.П., Непомнящих Л.М. Электронно-микроскопическое и радиоавтографическое исследование клеток бронхоальвеолярного лаважа при неспецифическом воспалении легких // Бюллетень эксп. биол. и мед. – 1986. – Т. 101, № 1. – С. 105-109.
6. Пигаревский В.Е. Полиморфоядерный лейкоцит и макрофаг в реакциях воспаления и гиперчувствительности // Арх. патологии. – 1983. – Т.45, № 11. – С. 14-22.
7. Верницкайте Р.Б. Патологические изменения у беременных женщин и их новорожденных на основании цитохимических исследований лейкоцитов крови: Автореф. дис.... канд. мед. наук. – Минск, 1983. – 20 с.
8. Шубич М.Г., Нагоев В.С. Щелочная фосфатаза лейкоцитов в норме и патологии // М.: Медицина. – 1980. – 224 с.
9. Gomory G. Hicroscopic histochemistry. Principles and Practice. - Chicago- Illinois: Univ.of Chicago Press, 1952. – 248 p.
10. 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.
11. Bainton D.F. Sequential demonstration of the two types of polymorphonuclear leukocyte granules during phagocytosis of microorganismus // J. Cell.Biol. – 1973. – V.58. – P. 249 -264.
12. Daniel C.V., Stephen E.M. The mobilization and extracellular release of granular enzymes from human leucocytes during phagocytosis // J.Cell. Biol. – 1972. – V.53. – P. 788-797.
13. Маянский Д.Н. Хроническое воспаление. – М., 1991. – 168 с.
14. Харланова Н.Г., Ломов Ю.М., Бардахчян Э.А. Ультраструктурные особенности изменений клеток системы мононуклеарных фагоцитов крыс при экспериментальной эндотоксемии // Бюллетень эксп. биол. и мед. – 1993. –№ 1. – С. 82 – 86.
15. Михайлов А.В. Функциональная морфология нейтрофилов крови крыс в процессе адаптации к гипоксии: Автореф. дис... канд. биол. наук: СГУ. – Симферополь, 1985. – 25 с.
16. Темуриянц Н.А. Нервные и гуморальные механизмы адаптации к действию неионизирующих излучений: Автореф. дисс.... д-ра биол. наук, – М., 1989. – 44 с.

*Поступила в редакцию 14.10.2003 г.*