

УДК: 616 - 003.96 : 612. 017.1.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ КРОВИ КРЫС ПРИ РАЗВИТИИ АДАПТАЦИОННЫХ РЕАКЦИЙ РАЗЛИЧНОГО ТИПА

Верко Н. П.

В настоящее время становится известно, что все большее число факторов, обладающих выраженным биологическим действием, вызывают развитие специфических и неспецифических адаптационных реакций в организме, выраженность которых зависит как от особенностей биологического объекта, так и от параметров воздействия. Кроме того, в реальных условиях действует комбинация таких факторов. Особенности адаптации к комбинированному действию чрезвычайных факторов и факторов малой интенсивности остаются мало изученными. Одним из широко распространенных стресс-факторов является гипокинезия (ГК), вызывающая развитие гипокинетического стресса [2]. К факторам малой интенсивности относится низкоинтенсивное электромагнитное излучение крайне высокой частоты (ЭМИ КВЧ), интерес к изучению которого резко возрос в последние годы в связи с проблемами дозиметрии, гигиенического нормирования, а также его широкого использования в терапевтических целях [1,6]. Интегральным показателем эффективности развивающихся адаптационных реакций является неспецифическая резистентность, которую обеспечивают многочисленные компоненты крови и, в первую очередь, нейтрофильные лейкоциты. Роль нейтрофилов в развитии неспецифических адаптационных реакций, развивающихся при длительном комбинированном действии факторов большой и низкой интенсивности, практически не изучена.

Таким образом, цель настоящего исследования состояла в изучении функциональной активности нейтрофилов крови при адаптации к длительному действию гипокинезии, низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ и их комбинации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа была выполнена на белых беспородных крысах-самцах со средней двигательной активностью и низкой эмоциональностью, определенных в тесте «открытого поля». Экспериментальные животные были распределены на 4 группы по 8-12 особей в каждой. Животные первой группы находились в обычных условиях вивария (контроль, К). Вторую группу (ГК) составили крысы, двигательная активность которых ограничивалась в течение 43-х суток путем помещения их в специальные пеналы. К третьей группе (КВЧ) относились животные, которых содержали в обычных условиях вивария и ежедневно подвергали воздействию ЭМИ КВЧ. Крыс четвертой группы (КВЧ+ГК) содержали в условиях гипокинезии и подвергали воздействию ЭМИ КВЧ одновременно с крысами третьей группы

(комбинированное воздействие). Воздействие ЭМИ КВЧ осуществляли ежедневно по 30 минут в течение 43-х суток эксперимента на затылочную область животных с помощью одноканального генератора «Луч. КВЧ-01», с длиной волны 7,1 мм и плотностью потока мощности 0,1 мВт/см². Периферическую кровь получали ежедневно в утренние часы в течение 43-х суток путем пункции хвостовой вены.

Состояние неспецифической резистентности оценивали по цитохимическому содержанию в нейтрофилах бактерицидных систем (неферментные катионные белки (КБ), пероксидаза (ПО)), гидролитических ферментов (кислой фосфатазы (КФ) и протеазы (ПР)) и энергетических систем (сукцинат- и α -глицерофосфатдегидрогеназы (СДГ и α -ГФДГ), липидов). Цитохимическое содержание ПО определяли с помощью реакции J. Graham [3], КБ по способу М.Г. Шубича [7], ПР – методом самопереваривания, предложенному Р. Лилли и J. Bartner в модификации А.В. Михайлова [3,4], липидов с помощью судана черного Б [9]. Количественную оценку изучаемых показателей производили в соответствии с принципом L. Karlow [8]. Среднее содержание СДГ и α -ГФДГ определяли по методу Р.П. Нарциссова [5]. В мазках крови, окрашенных по-Романовскому-Гимза, определяли лейкоцитарную формулу.

Статистическую обработку материала проводили с помощью параметрических и непараметрических методов. В качестве критерия оценки достоверности наблюдаемых изменений использовали t-критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования функциональной активности нейтрофилов в условиях ограничения двигательной активности, изолированного и комбинированного действия ЭМИ КВЧ свидетельствуют о том, что тип адаптационной реакции характеризует определенный паттерн показателей функциональной активности нейтрофилов.

43-хсуточное ограничение двигательной активности приводило к развитию выраженной стресс-реакции с характерными для нее 3-хфазными изменениями. В первую стадию (тревоги) развития общего адаптационного синдрома, регистрирующуюся в течение первых двух недель, отмечали резкое и значительное повышение активности гидролитических систем на 10-45% ($p < 0,001$) относительно контрольных данных (рис.1). Однако уже на 3-5 неделе эксперимента кислородфосфатазная активность оставалась повышенной на 5-20% ($p < 0,01$), а цитохимическое содержание ПР снижалось до 70% ($p < 0,001$) относительно соответствующих значений в контроле. Состояние бактерицидных систем по сравнению с гидролитической активностью, напротив, претерпевало снижение на протяжении всего периода гипокинетического воздействия: максимальное снижение до 40% и 60% ($p < 0,001$) отмечалось в 1 и 3 стадии стресса.

Ограничение двигательной активности подавляло энергетические процессы в клетке. Выраженный энергетический дефицит наблюдался в первую и третью стадии гипокинетического стресса, когда средняя активность СДГ и α -ГФДГ не только не превышала контрольных данных, но и была снижена по отношению к ним на 20-60% ($p < 0,001$) (рис. 2). Цитохимическое содержание общих липидов в период

ограничения двигательной активности находилось ниже контрольного уровня составляло 70-87% ($p < 0,001$).

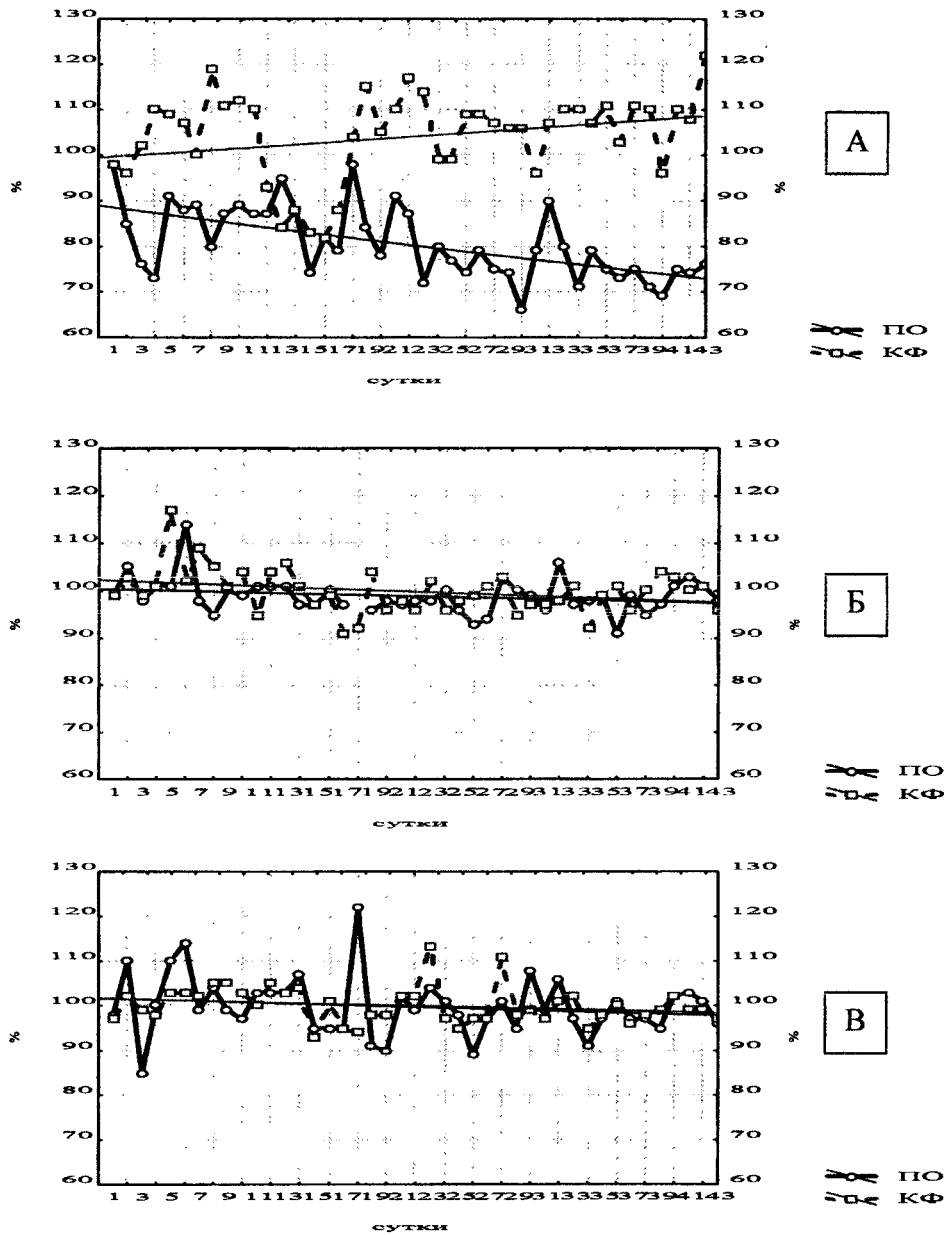


Рис. 1. Изменение цитохимического показателя содержания пероксидазы (ПО) и кислой фосфатазы (КФ) в нейтрофилах крови крыс при воздействиях гипокинезии (А), ЭМИ КВЧ (Б) и их комбинации (В) (в % относительно значений контрольной группы крыс)

**ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ КРОВИ КРЫС ПРИ РАЗВИТИИ
АДАПТАЦИОННЫХ РЕАКЦИЙ РАЗЛИЧНОГО ТИПА**

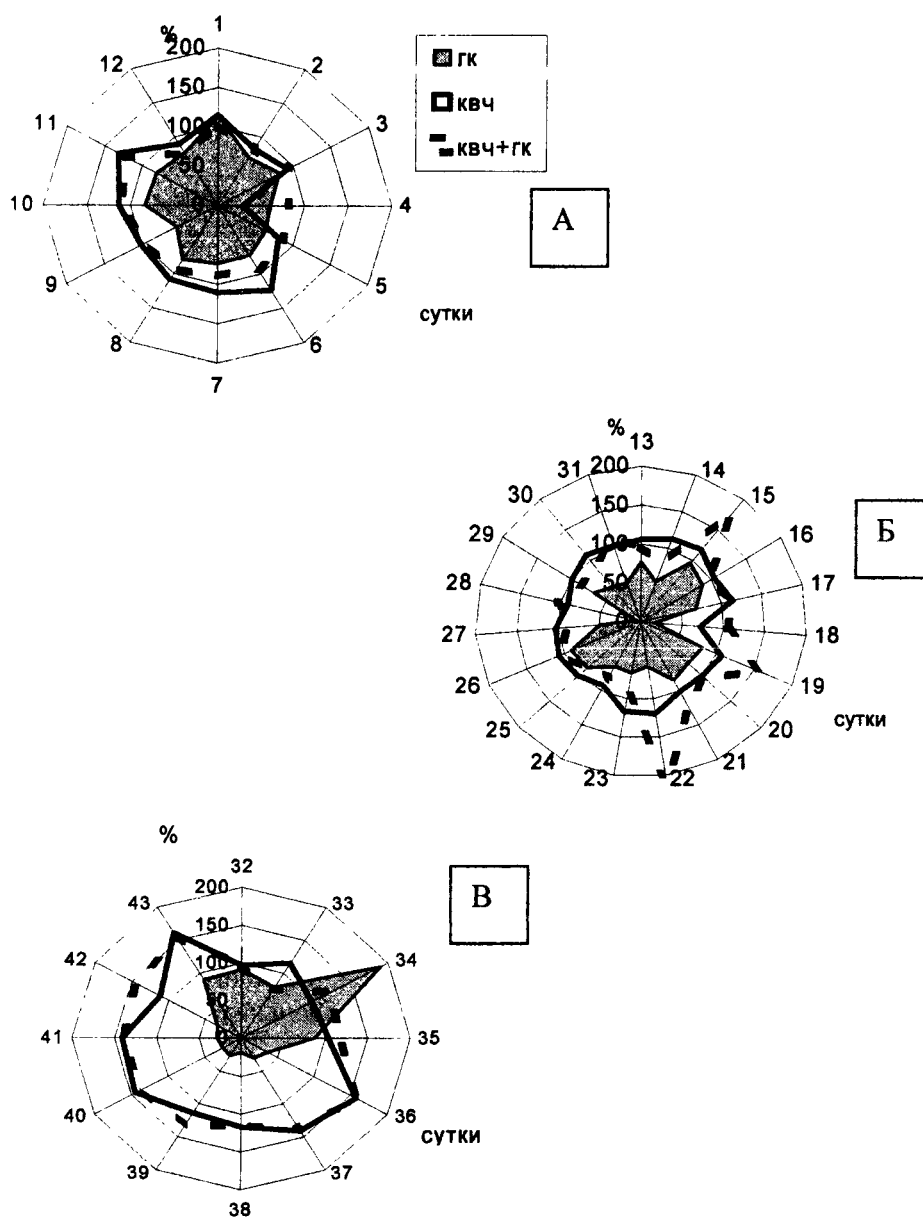


Рис. 2. Динамика средней активности сукцинатдегидрогеназы в нейтрофилах крови крыс в различные сроки воздействия гипокинезии (ГК), ЭМИ KBЧ (KBЧ) и их комбинации (KBЧ+ГК) (в % относительно значений контрольной группы животных) А – 1-12 сутки; Б – 13-31 сутки; В – 32-43 сутки.

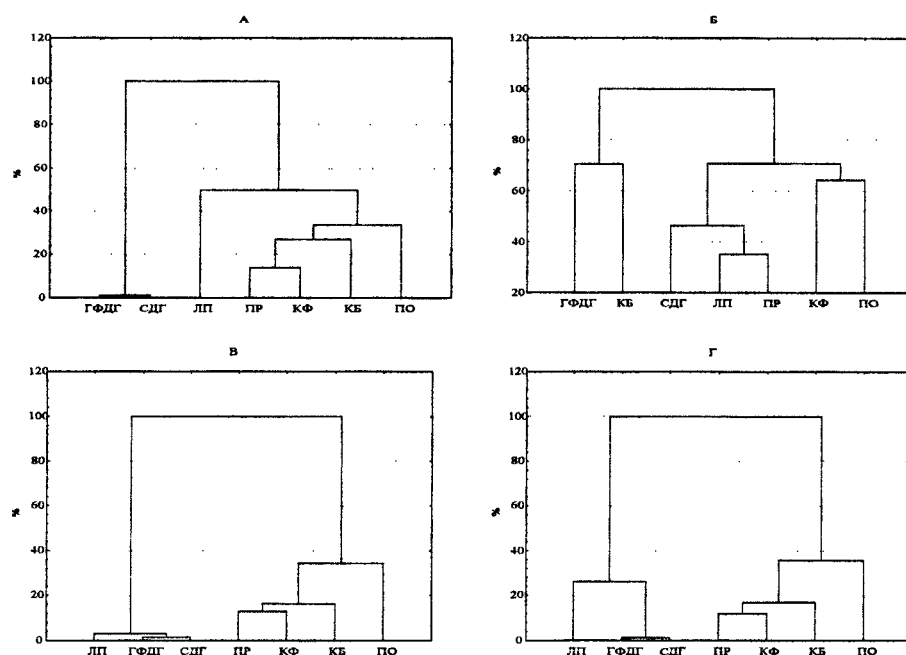


Рис. 3. Дендрограммы структуры связей показателей функциональной активности нейтрофилов крови у интактных крыс (А), при воздействии гипокинезии (Б), ЭМИ КВЧ (В) и комбинированном действии ЭМИ КВЧ и ГК (Г) (13-31 сутки)

Анализ лейкоцитарной формулы показал, что в первую и третью стадии гипокинетического стресса отношение лимфоцитов к сегментоядерным нейтрофилам соответствовало зоне реакции стресса, а в стадию резистентности (13-31 сутки) в большинстве случаев (11 из 19 суток)-адаптационным реакциям тренировки и активации. Для стадии резистентности гипокинетического стресса были характерны высокоамплитудные, разнонаправленные колебания бактерицидной, гидролитической и дегидрогеназной активности нейтрофилов, что свидетельствует о неустойчивости системы.

Кластерный анализ позволил подтвердить сделанные выводы. Дендрограммы структуры связей показателей функциональной активности нейтрофилов во все стадии гипокинетического стресса отличались от таковых у контрольных крыс и характеризовались объединением в случайном порядке компонентов различных функциональных систем нейтрофилов (рис. 3).

Результаты воздействия ЭМИ КВЧ на интактных животных показали, что уже после 3-х процедур КВЧ-воздействия и до конца эксперимента коэффициент лимфоциты/сегментоядерные нейтрофилы находился в зоне адаптационной реакции активации, являющейся наиболее благоприятной в плане резистентности адаптационной реакцией. Паттерн показателей функциональной активности нейтрофилов при развитии неспецифической адаптационной реакции этого типа

**ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ КРОВИ КРЫС ПРИ РАЗВИТИИ
АДАПТАЦИОННЫХ РЕАКЦИЙ РАЗЛИЧНОГО ТИПА**

изменялся по-иному: с первых суток воздействия имело место синхронное повышение обоих показателей бактерицидной активности, а с 3-4 суток гидролитической активности на 5-18% ($p < 0,01$) относительно соответствующих значений контроля и сохранении этого уровня до конца эксперимента (рис. 1).

При воздействии ЭМИ КВЧ оптимизировались энергетические процессы, свойственные нейтрофилам: относительно контрольных данных увеличивалась средняя активность СДГ и α -ГФДГ на 5-60% (рис. 2) с преобладанием свойственного этим клеткам анаэробного процесса окисления глюкозы, повышался биохимический показатель содержания общих липидов на 6-30%.

Вышеизложенные факты свидетельствуют о способности ЭМИ КВЧ повышать функциональные возможности нейтрофилов. Эта активация достигалась не только повышением ЦПС исследуемых показателей, но и гармонизацией физиологических процессов в клетке, что проявлялось в свойственной нейтрофилам последовательной активации бактерицидных, затем гидролитических систем, стимуляции анаэробных процессов. Результаты кластерного анализа свидетельствуют о том, что гармонизация физиологических процессов в клетке была наиболее выражена в 13-31 сутки эксперимента. Дендрограмма структуры связей исследуемых показателей состояла из 3-х кластеров. В первый кластер объединялись показатели бактерицидной активности (КБ, ПО), во второй – гидролитические ферменты (КФ, ПР), а третий кластер включал показатели энергетического обмена (СДГ, α -ГФДГ, липиды) (рис. 3).

При длительном комбинированном действии ЭМИ КВЧ и гипокинезии состояние функциональной активности нейтрофилов существенно отличалось от такового у животных, подвергавшихся только ограничению подвижности. Так, уровень бактерицидных систем при сочетанном действии ЭМИ КВЧ и гипокинезии был выше, чем у гипокинезированных животных во все сутки эксперимента, причем происходила одновременная активация как неферментных катионных белков, так и пероксидазы. В процессе исследования обнаружено, что ЭМИ КВЧ способно ингибировать повышенную гидролитическую активность нейтрофилов крови гипокинезированных крыс. Свидетельством этому была нормализация биохимического содержания КФ и ПР (рис. 1). Различия значений этих показателей с соответствующими в контроле составляли всего 10-15%, в то время как у животных, подвергавшихся только ограничению подвижности, различия достигали 40%. Коррекция гипокинетических расстройств ЭМИ КВЧ на стадии тревоги проявлялась стимуляцией гликолиза, а на стадии резистентности и истощения анаэробного и аэробного процессов окисления глюкозы (рис. 2). ЦПС липидов при комбинированном воздействии изучаемых факторов был незначительно снижен по отношению к контролю и превышал значения соответствующего показателя у животных с ограниченной подвижностью во все сроки наблюдения. Отношение лимфоцитов к сегментоядерным нейтрофилам в группе крыс (КВЧ+ГК) соответствовало границам адаптационных реакций активации и тренировки. Кластерный анализ показал, что дендрограммы структуры связей защитных систем нейтрофилов при комбинированном действии ГК и ЭМИ КВЧ обнаруживают

практически полное сходство с дендрограммами как контрольных животных, так и крыс, подвергавшихся изолированному действию ЭМИ КВЧ (рис. 3).

Результаты настоящего исследования позволили выявить не только способность ЭМИ КВЧ корригировать адаптогенез при гипокинезии, но и возможность гипокинезии модифицировать адаптационные реакции, развивающиеся при действии ЭМИ КВЧ. Модификацию действия поля обнаруживали в период с 13-31 сутки, что соответствовало стадии резистентности гипокинетического стресса и проявлялось в нестабильности показателей бактерицидной, гидролитической активности и особенно дегидрогеназной активности (рис. 2).

Список литературы

1. Девятков Н.Д., Голант М.Б., Бецкий О.В. Особенности медико-биологического применения миллиметровых волн. – М.: Изд-во Ин-та радиотехники и электроники, 1994. – 164 с.
2. Коваленко Е.А., Гуровский Н.Н. Гипокинезия. – М.: Медицина, 1980. – 320 с.
3. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. – М.: Мир, 1969. – 645 с.
4. Михайлов А.В. Функциональная морфология нейтрофилов крови крыс в процессе адаптации к гипокинезии: Автореф. дис... канд.мед.наук: 14.00.23 / Крым. мед.ин-т.- Симферополь, 1986.– 25 с.
5. Нарциссов Р.Н. Применение п-нитротетразоля фиолетового для количественного цитохимического определения дегидрогеназ лимфоцитов человека // Архив анатомии, гистологии, эмбриологии. – 1969. – № 8. – С. 73.
6. Ситько С.П. Физика живого – новое направление фундаментального естествознания // Вестник новых медицинских технологий. – 2001. – Т. VIII, № 1. – С. 5-6.
7. Шубич М.Г. Выявление катионного белка в цитоплазме лейкоцитов с помощью бромфенолового синего // Цитология. – 1977. – Т.16, № 10. – С. 1321-1322.
8. Kaplow L.S. A histochemical procedure for localizing and evaluation leukocyte alkaline phosphatase activity in smears of blood and marrow // Blood. – 1955. – № 10. – P. 1023-1029.
9. Sheehan H.L., Sforey G.W. An improved method of staining leukocyte granules with sudan black // B.G. Path. Bact. – 1947. – Vol.59. – № 2. – P. 336-339.

Поступила в редакцию 17.10.2003 г.