

УДК 599.323.45:[576.33 + 577.121.7].033:537.811

Реакции перитонеальных макрофагов крыс на продолжительное воздействие переменного магнитного поля низкой частоты 50 Гц

Д.Р. ПЕТРЕНЕВ

Изучаются уровни продукции активных форм кислорода (АФК) и азота (АФА) перитонеальными макрофагами половозрелых и неполовозрелых крыс-самцов в период после отмены воздействия переменного магнитного поля (50 Гц, 0,4 мТл, 14 суток, 8 ч/сут). Продемонстрированы немонотонные изменения продукции АФК и АФА, реактивности макрофагов, уровня апоптотических лимфоцитов.

Ключевые слова: активные формы кислорода и азота, макрофаги, электромагнитные поля

The production of reactive oxygen (ROS) and nitrogen (RNS) species in peritoneal macrophages of pubescent and impuberal rats was studied after stoppage of prolonged exposure to extremely low frequency fields (50 Hz, 0.4 mT, 14 days, 8 hr/day). The nonmonotonic alterations in production of ROS and RNS, macrophage reactivity and level of apoptotic lymphocytes were demonstrated.

Keywords: reactive oxygen and nitrogen forms, macrophages, electromagnetic fields.

Введение. Одной из глобальных проблем человечества является повышение уровня электромагнитного загрязнения окружающей среды, вызванное широким распространением искусственных источников электромагнитных полей (ЭМП) различных диапазонов. Знания о последствиях воздействия этого фактора на здоровье человека и биосистемы отрывочны. Некоторые исследователи сообщают об отсутствии отрицательных эффектов воздействия ЭМП на здоровье человека [1], в то же время существуют данные о повышении рисков возникновения новообразований, а также заболеваний нервной и эндокринной систем у населения и персонала, подвергающегося хроническому воздействию ЭМП промышленных частот 50 Гц, микроволнового излучения и ЭМП диапазона сотовой связи [1], [2].

Существенный вклад в ухудшение электромагнитной обстановки вносит ЭМП промышленной частоты 50 Гц, источником которого является электротехническое оборудование, линии электропередач, бытовая техника и т. д. Выявлена статистически значимая связь между увеличением рисков возникновения неоплазий у детей и хроническим воздействием МП НЧ при индукции магнитного поля свыше 0,3 мкТл [3], [4]. Эти данные были получены в результате тщательного эпидемиологического исследования, однако в связи с тем, что механизм этого феномена до сих пор не идентифицирован [5], неионизирующие ЭМП классифицированы как «потенциально канцерогенные». Также недостаточно хорошо изучены различия влияния воздействия МП НЧ на здоровье взрослого и формирующегося организма [6], [7].

Одним из предполагаемых механизмов увеличения рисков возникновения неоплазий и неонкологических заболеваний является усиление эндогенной продукции свободных радикалов [8]. В этой связи цель настоящей работы – изучить показатели продукции активных форм кислорода (АФК) и азота (АФА) тканевыми фагоцитами половозрелых и неполовозрелых крыс-самцов после продолжительного воздействия МП НЧ.

Материалы и методы. Все эксперименты проводили в соответствии с этическими нормами обращения с животными с соблюдением рекомендаций и требований «Европейской конвенции по защите экспериментальных животных» (Страсбург, 1986). В работе использовали 2-х и 7-месячных самцов белых крыс (исходный генотип «Вистар»). Животные содержались в стандартных условиях вивария ГНУ ИРБ НАН Беларуси и получали стандартный рацион и воду без ограничений.

Источником МП НЧ являлась установка, генерирующая равномерное переменное магнитное поле с частотой 50 Гц и индукцией магнитного поля 0,4 мТл, которая состояла из источника тока (31 В, 10 А), вольтметра, соединительных кабелей и двух соленоидов, расположенных на расстоянии 1 м друг от друга. В центральной области был сформирован отсек, в

котором размещали клетки с животными. Животных контрольной и экспериментальной групп выводили из эксперимента на 1, 3, 7, 10, 14, 28 и 30 сутки после окончания воздействия МП НЧ (14 суток по 8 ч, фракциями по 4 ч, с перерывом 1 ч).

Выделяли клетки крови, перитонеальные макрофаги и исследовали показатели окислительного метаболизма (метаболическая активность, продукция АФК и АФА) и функциональный резерв клеток как описано ранее [9]. Уровень апоптотических лимфоцитов мононуклеарной фракции клеток крови изучали методом проточной цитометрии с использованием набора ANNEXIN V – FITC Kit (Beckman Coulter, США) на программно-аппаратном комплексе Cytomics FC 500 (Beckman Coulter, США).

Для обработки и статистического анализа полученных данных пользовались общепринятыми методами биологической статистики [10] с использованием ПО Prism (Trial version 5.02; GraphPad Software Inc., США).

Результаты и их обсуждение. Наблюдали немонотонные изменения количества лейкоцитов крови и клеток перитонеальной полости, а также показателей окислительного метаболизма. В том числе отмечали усиление спонтанной (базальной) продукции АФА и АФК клетками в ранние сроки (1 и 3 сутки) после отмены действия МП НЧ, сопровождающееся сниженным функциональным ответом макрофагов на стимуляцию эндотоксином и форболовым эфиром (рисунок 1). В более отдалённые сроки наблюдали снижение спонтанной продукции АФК и АФА клетками перитонеальной полости с одновременным усилением способности клеток отвечать на стимуляцию форболовым эфиром и эндотоксином. Через месяц после окончания действия МП НЧ отмечали возвращение показателей нестимулированной продукции АФК и АФА к контрольным значениям. Повышенная реактивность макрофагов сохранялась в эти сроки. Описанные выше изменения в ответ на воздействие МП НЧ были одинаково выражены как у половозрелых, так и у неполовозрелых животных.

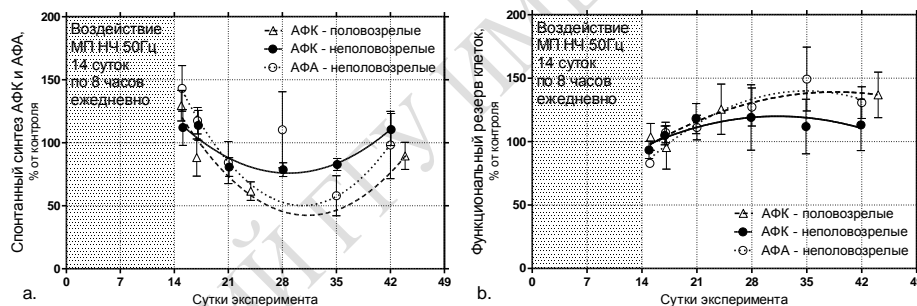


Рисунок 1 – Изменения уровня спонтанной продукции активных форм азота (АФА) и кислорода (АФК) перитонеальными макрофагами (а) и интенсивности функционального ответа клеток (б) на стимуляцию эндотоксином *E. coli* 055:B5 (250 нг/мл) и форболовым эфиром (33 нМ) в различные сроки после воздействия МП НЧ (50 Гц). Данные представлены как среднее и ошибка среднего. Тёмная область до 14 суток соответствует периоду фракционированного воздействия МП НЧ, светлая область 14–49 сутки – периоду отмены действия изучаемого фактора

Полученные данные о продукции АФК и АФА в ранние сроки после отмены действия фактора (1–3 сутки) были сопоставлены с результатами сотрудника Д.Л. Якушева об уровне апоптотических лимфоцитов в этот период. Корреляционный анализ выявил слабую положительную связь между уровнем апоптотических лимфоцитов крови и суммарной базальной продукцией АФА перитонеальными макрофагами (Spearman $R = 0.3192$, $p = 0.1701$) и уровнем продукции АФК этими клетками (Spearman $R = 0.3596$, $p = 0.1194$) в эти сроки. Полученные результаты хорошо согласуются с выводами работы [11], в которой обсуждаются аналогичные эффекты, полученные на культурах клеток.

Выявленные немонотонные изменения уровней продукции АФК и АФА свидетельствуют о адаптационных процессах, происходящих в период после отмены действия изучаемого фактора и отличаются от эффектов кратковременного воздействия МП НЧ по направленности процессов. Так ранее мы установили, что через 2 часа после окончания 6-часового воздействия МП НЧ наблюдается тенденция к увеличению содержания клеток в перитонеальной полости. Также указанные режимы воздействия МП НЧ приводили к снижению уровня спонтанной

продукции АФА ($p = 0.1711$, t-test) и к усилению интенсивности ответа клеток на стимуляцию CD14/TLR4-зависимыми агентами. Эти результаты хорошо согласуются с литературными данными о противовоспалительном эффекте кратковременного воздействия МП НЧ [12], а также демонстрируют хорошую чувствительность выбранной модельной системы изучения эффектов воздействия МП НЧ на показатели тканевых фагоцитов.

Заключение. Усиление продукции АФК и АФА наблюдается в ранние сроки (1–3 суток) после отмены действия фактора и коррелирует с увеличением уровня апоптотических лимфоцитов. Далее наступает стадия снижения этих показателей ниже нормы с одновременным увеличением реактивности клеток. Показатели продукции АФК и АФА возвращаются к контрольным значениям в течение месяца после отмены действия МП НЧ. Повышенная реактивность перитонеальных макрофагов при этом сохраняется. Существенных различий в реакции половозрелого и неполовозрелого организма на воздействие МП НЧ не выявлено.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что изменения уровней эндогенной продукции АФК и АФА являются важными в ключе поддержания окислительно-восстановительного баланса в организме. Поэтому длительное изменение этих показателей при действии МП НЧ приводит к активации компенсаторных механизмов как на клеточном, так и на организменном уровне. Воздействие фактора в течение 2-х недель по срокам превосходит продолжительность стресс-адаптационного синдрома и может быть рассмотрено как хронический стресс с развитием компенсаторных изменений, которые становятся причиной немонотонных изменений чувствительных показателей после отмены действия фактора.

Литература

1. Otto, M., K.E. von Muhlendahl. Electromagnetic fields (EMF): do they play a role in children's environmental health (CEH)? / M. Otto, K.E. von Muhlendahl // *Int J Hyg Environ Health*. – 2007. – V 210 (5). – P. 635–644.
2. Hardell, L., Sage, C. Biological effects from electromagnetic field exposure and public exposure standards / L. Hardell, C. Sage // *Biomed Pharmacother*. – 2008. – V 62 (2). – P. 104–109.
3. Ahlbom, I.C. Review of the epidemiologic literature on EMF and Health / I.C. Ahlbom [et al.] // *Environ Health Perspect*. – 2001. – 109 Suppl 6. – P. 911–33.
4. Li, C.Y., Lee, W.C., Lin, R.S. Risk of leukemia in children living near high-voltage transmission lines / C.Y. Li, W.C. Lee, R.S. Lin // *J Occup Environ Med*. – 1998. – V 40 (2). – P. 144–7.
5. SCENIHR (Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks). Health Effects of Exposure to EMF. 19 January 2009.
6. Pearce, M.S. Paternal occupational exposure to electro-magnetic fields as a risk factor for cancer in children and young adults: A case-control study from the North of England // M.S. Pearce [et al.] // *Pediatr Blood Cancer*. – 2007. – V 49 (3). – P. 280–286
7. Schuz, J., Ahlbom, A. Exposure to electromagnetic fields and the risk of childhood leukaemia: a review / J. Schuz, A. Ahlbom // *Radiat Prot Dosimetry*. – 2008. – V 132 (2). – P. 202–11.
8. Петренев, Д.Р. Электромагнитные поля и механизмы канцерогенеза / Д.Р. Петренев // *Наука и Инновации*. – 2011. – № 1. – С. 20–22.
9. Петренев, Д.Р. Изменения в окислительном метаболизме перитонеальных макрофагов у молодых крыс при длительном воздействии излучения сотовых телефонов стандарта GSM 900 Mhz / Д.Р. Петренев // *Веснік Магілёўскага Дзяржаўнага ўніверсітэта імя А.А. Куляшова*. – 2010. – Серия В., № 2 (36). – С. 58–68.
10. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц ; пер. с англ. – М. : Практика, 1998. – 459 с.
11. Simko, M. Effects of 50 Hz EMF exposure on micronucleus formation and apoptosis in transformed and nontransformed human cell lines / M. Simko [et al.] // *Bioelectromagnetics*. – 1998. – V 19 (2). – P. 85–91.
12. Selvam, R. Low frequency and low intensity pulsed electromagnetic field exerts its antiinflammatory effect through restoration of plasma membrane calcium ATPase activity / R. Selvam [et al.] // *Life Sci*. – 2007. – V 80 (26). – P. 2403–10.