

УДК 615.471:577.15.08

**ВЛИЯНИЕ ЭМИ ДИАПАЗОНА МОБИЛЬНОЙ СВЯЗИ (900 МГц)
НА ОТНОСИТЕЛЬНЫЙ УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ИНТЕРФЕРОНА-Г В
ЦЕЛЬНОЙ ПОПУЛЯЦИИ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА**

Стельмах В. С., Дроздов Д. Н.

Государственное научное учреждение

«Институт радиобиологии НАН Беларуси» Учреждение образования

«Гомельский государственный университет имени Франциска Скорины»

г. Гомель, Республика Беларусь

Введение

Мобильные телефоны стали неотъемлемой частью повседневной жизни людей по всему миру. В связи с тем, что использование мобильных телефонов становится все более широко распространенным явлением, растет и обеспокоенность относительно потенциального вреда, который может нанести воздействие электромагнитного поля. Влияние электромагнитного излучения на иммунную систему пользователя — это вопрос наиболее спорный и вызывающий множество дискуссий. Сбой именно в системе иммунного ответа и вызывает возникновение и рост новообразований.

Костный мозг относится к центральным органам иммунной системы, здесь идут процессы пролиферации клеток-предшественников, их дифференцировка и созревание. Направление дифференцировки ранних предшественников зависит от влияния их микроокружения — стромальных клеток костного мозга. Стромальные клетки контролируют гемопоэз либо путем прямых контактов с клетками-предшественниками, или через продукцию и секрецию цитокинов. ИНФ являются активными белками, которые вырабатываются всеми клетками организма, но 99 % всех ИНФ образуются клетками крови и костного мозга.

Интерферон гамма (ИФН- γ), является одним из ключевых цитокинов клеточного и гуморального иммунитета. При секреции ИФН- γ влияет как на саму секретирующую его клетку, так и на расположенные рядом клетки через γ -интерфероновые рецепторы. Взаимодействие ИФН- γ с рецепторами клеточной поверхности является первым необходимым этапом начала его действия. ИФН- γ может вызывать как защитные, так и патологические эффекты. Он индуцирует дифференцировку миелоидных клеток костного мозга, в результате которой они приобретают высокоаффинные Fc γ -рецепторы для связывания мономерной формы IgG. На зрелых гранулоцитах ИФН- γ индуцирует экспрессию Fc γ -рецепторов промежуточной аффинности, которые связывают только агрегированный IgG. ИФН- γ активирует и антителозависимую клеточную цитотоксичность (АЗКЦ) осуществляемую зрелыми гранулоцитами. ИФН- γ усиливает противоопухолевое действие цитотоксических лимфоцитов. Совместно с лимфотоксином, образуемым как CD4, так и CD8 лимфоцитами, ИФН- γ подавляет рост опухолевых клеток. Воздействуя на ядро клетки-мишени, ИФН- γ индуцирует на ней экспрессию рецепторов лимфотоксина. ИФН- γ повышает неспецифическую активность НК-клеток.

ИФН- γ является одним из факторов дифференцировки В-клеток. Он может либо усиливать, либо подавлять В-клеточный иммунный ответ, на поздних стадиях ИФН- γ усиливает секрецию иммуноглобулинов.

Очень важным действием ИФН- γ является усиление экспрессии молекул HLA I и II классов на клеточной поверхности, причем ИФН- γ быстрее индуцирует экспрессию молекул HLA DR и DP, чем DQ. Если усиление экспрессии молекул HLA I и II классов происходит на патологически измененной клетке, она становится более доступной мишенью для последующего разрушения. Если это действие направлено на антигенпредставляющую клетку, то усиливается формирование иммунного ответа.

Цель исследования

Оценка воздействия ЭМИ диапазона мобильной связи на экспрессию гена (IFN-G) интерферона гамма клетками костного мозга.

Материалы и методы исследования

Исследование выполнено на неполовозрелых белых беспородных крысах-самцах стадного разведения (возраст на момент начала эксперимента — 1 месяц). Все животные, содержащиеся в типовых условиях стационара были разделены на 2 группы: интактные животные (контроль) и животные, которые в дневное время подвергались воздействию переменного электромагнитного излучения диапазона мобильной связи (897,2 МГц, 35-й канал, 0,2-0,3 мВт/см²; источник излучения — установка, имитирующая сигнал мобильного телефона в режиме разговора, вместо речи использовали модулированный по стандарту GSM псевдослучайно сгенерированный шум, предварительно сглаженный по Гауссу) ежедневно по 8 часов в день (16, 30-минутных фракций с 5-минутными интервалами) непрерывно на протяжении 60 суток. Животные выводились из эксперимента сразу после 1, 2 месяцев облучения и на 3, 7, 14 и 28-е сутки после окончания облучения.

Анализ относительного уровня экспрессии IFN- γ в клетках костного мозга

Выделение общей РНК из клеток костного мозга осуществлялось с помощью коммерческого набора RNA Isolation Kit фирмы BIO-RAD. Предварительно проводилась обработка АСК буфером для лизирования эритроцитов. Количество выделенной РНК определялось спектрофотометрически по поглощению при 260 нм. Степень чистоты препаратов оценивалась по соотношению $A_{260}/A_{280} = 1,9-2,0$

Обратная транскрипция. Для получения кДНК на матрице РНК использовали реакцию обратной транскрипции с помощью набора iScript cDNA Synthesis Kit в соответствии со стандартным протоколом (BIO-RAD).

ПЦР в реальном времени. Объем реакционной смеси для амплификации составлял 25 μ l. Реакционная смесь содержала: 1U Taq-полимеразы, 0,25 μ l 100x Zuber Green, 100нг кДНК, ген-специфичные праймеры, используемые в работе (10 пмоль/мкл каждого):

IFN-G-F 5 AAAGACAACCAGGCCATCAGCAAC -3

IFN-G-R 5 TCTGTGGGTTGTTCACCTCGAACT -3

18-S-F 5 TCCTCTCGCTCTCTCTCTCTCTCTCT,-3,

18-S-R 5 GCATATGCTATCGGCAGGATCAAC -3,

ПЦР проводили на амплификаторе Rotor-Gene 3000 (Corbett Research) в следующем режиме: начальная денатурация — 94 °С, 3 мин; затем 35 циклов (денатурация — 94 °С, 20 с; отжиг — 55 °С, 20 с; элонгация — 72 °С, 30 с. Специфичность реакции проверялась исходя из анализа кривой плавления.

Результаты и обсуждение

Расчет относительного уровня экспрессии осуществлялся с помощью программы REST 2009 с использованием в качестве гена-нормализатора 18-S субъединицы рРНК. Результаты представленности транскрипта гена IFN- γ , нормализованные по гену 18-S, приведены в таблице 1.

Таблица 1 — Относительный уровень экспрессии R

Время, сут	Контроль	Облучение
30	1,01 \pm 0,22	0,39 \pm 0,31
61	1,01 \pm 0,20	1,02 \pm 0,32
64	1,01 \pm 0,18	1,20 \pm 0,58
71	1,01 \pm 0,25	1,10 \pm 0,52
85	1,01 \pm 0,21	1,02 \pm 0,38
115	1,01 \pm 0,20	0,85 \pm 0,44

Анализ данных показал, что по истечении 1 месяца облучения происходит достоверное снижение экспрессии IFN- γ в 2,6 раза. Достоверная вероятность различия относительного уровня экспрессии в контрольной и опытной группе составила $p = 0,018$. На более поздних

этапах эксперимента достоверно значимого различия в экспрессии гена IFN- γ установлено не было. Однако следует отметить, что после достоверно значимого снижения уровня экспрессии IFN- γ наблюдается резкий подъем, который к концу второго месяца эксперимента достигает контрольного уровня. После чего наблюдается подъем выше контрольного уровня, который продолжал удерживаться в течение двух недель, а затем мы наблюдали спад до контрольных значений (на 85 сутки эксперимента). Описанная динамика представлена на рисунке 1.

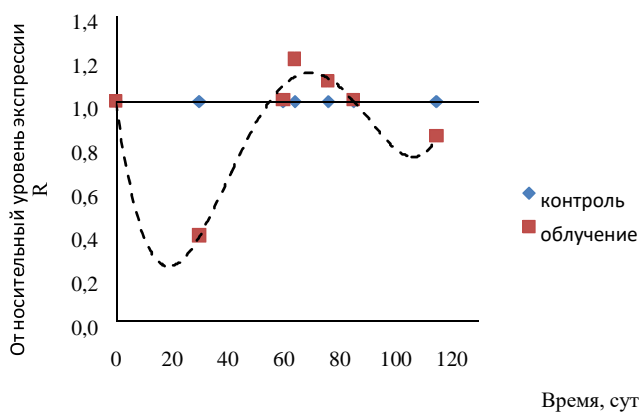


Рисунок 1 — Динамика уровня экспрессии гена IFN-G в контрольной и экспериментальной группе

Вывод

Таким образом, было установлено достоверное снижение уровня экспрессии гена IFN-G в течение первого месяца облучения в сравнении с группой контроля. Достоверная вероятность различия относительного уровня экспрессии в контрольной и опытной группе составила $p = 0,018$. Уровень экспрессии восстановился к концу второго месяца эксперимента, после чего достоверное различие в уровне экспрессии гена не наблюдалось. Можно предположить, что ко второму месяцу эксперимента произошла адаптация клеток костного мозга, продуцирующих ИНФ- γ , к воздействию электромагнитного излучения диапазона мобильной связи (900 МГц).

ЛИТЕРАТУРА

1. Фрейдлин, И. С. Иммунная система и ее дефекты: рук-во для врачей / И. С. Фрейдлин. — СПб., 1998. — 113 с.
2. Соловьев, В. Д. Интерфероны в теории и практике медицины / В. Д. Соловьев, Т. А. Бектемиров. — 2-е изд. — М., 1981.
3. Dianzani, F. The interferon system / F. Dianzani // Helth Sciences Press. — 1993.
4. Хесин, Я. Е. Клеточные рецепторы для интерферонов. В кн. Система интерферона в норме и при патологии / Я. Е. Хесин, А. Н. Наровлянский, А. М. Амченкова. — М., 1996. — № 39. — С. 52.
5. Лукьяница, В. В. Магнитное поле, его характеристика, влияние на биологические объекты и исследования в медицине: учеб. пособие для студентов мед. вузов / В. В. Лукьяница. — Минск: МГМИ, 1997. — 38 с.