

Применение низкоинтенсивного электромагнитного излучения в условиях иммобилизационного стресса (экспериментальное исследование)

Ю.Н. КОРОЛЕВ, И.П. БОБРОВНИЦКИЙ, Л.А. НИКУЛИНА, Л.В. МИХАЙЛИК, М.С. ГЕНИАТУЛИНА, А.С. БОБКОВА

ФГБУ «Российский научный центр медицинской реабилитации и курортологии» Минздрава России, Борисоглебский пер., 9, Москва, Российская Федерация, 121069

The application of low-intensity electromagnetic radiation under immobilization stress conditions (an experimental study)

YU.N. KOROLEV, I.P. BOBROVNITSKY, L.A. NIKULINA, L.V. MIKHAILIK, M.S. GENIATULINA, A.S. BOBKOVA

Federal state budgetary institution «Russian Research Center for Medical Rehabilitation and Balneology», Russian Ministry of Health, Borisoglebsky pereulok, 9, Moscow, Russian Federation, 121069

В экспериментах на нелинейных белых крысах самцах с помощью светооптических, электронно-микроскопических, биохимических и радиоиммунологических методов исследования было установлено, что применение низкоинтенсивного электромагнитного излучения (НИ ЭМИ; плотность потока мощности меньше 1 мкВт/см², частота около 1000 МГц) в режиме как первичной профилактики, так и лечебно-профилактического воздействия ограничивало развитие постстрессорных нарушений в семенниках, печени и тимусе и способствовало активации адаптационно-защитных и компенсаторных процессов. Полученные данные обосновывают возможность использовать НИ ЭМИ для защиты организма и его репродуктивной системы от негативного действия стрессогенных факторов.

Ключевые слова: низкоинтенсивное электромагнитное излучение сверхвысоких частот, иммобилизационный стресс, адаптация, семенники, печень, тимус.

The experiments carried out on outbred male white rats with the use of optical, electron-microscopic, biochemical, and radioimmunological methods have demonstrated that the application of low-intensity electromagnetic radiation (LI-EMR) with a flow density of 1 mcW/cm² and a frequency of around 1,000 MHz both in the primary prophylaxis regime and as the therapeutic-preventive modality arrested the development of post-stress disorders in the rat testicles, liver, and thymus; moreover, it promoted activation of the adaptive, preventive, and compensatory processes. The data obtained provide a rationale for the application of low-intensity electromagnetic radiation to protect the organism from negative effects of stressful factors.

Key words: extremely high frequency low-intensity electromagnetic radiation, immobilization stress, adaptation, testicles, liver, thymus.

Проблема защиты организма от действия стресса является одной из наиболее актуальных проблем современной медицины. В качестве средств, способных повысить адаптационные возможности и защитить организм от действия стресса, целесообразно использовать различные виды электромагнитных излучений (ЭМИ) как в виде монофактора, так и при сочетанных воздействиях [1, 2]. Особый интерес представляют низкоинтенсивные ЭМИ (НИ ЭМИ) сверхвысоких частот, эффекты которых еще мало изучены. Предполагается, что механизм биологического действия НИ ЭМИ, в отличие от микроволн высоких интенсивностей, связан с поглощением определенных (резонансных) частот водной

средой организма, в том числе молекулами воды биомембран, с последующим модулирующим влиянием этого взаимодействия на развитие метаболических процессов, в том числе адаптационного характера [3, 4]. В частности, было показано, что НИ ЭМИ влияет на внутриклеточные механизмы регуляции гомеостаза и межклеточные контакты, акти-

Сведения об авторах:

Королев Юрий Николаевич — д.м.н., проф., зав. лаб. экспериментальных исследований отд. диагностических технологий, тел.: +7(495)691-5764; Бобровницкий Игорь Петрович — д.м.н., проф., зам. директора центра по научной работе; Никулина Людмила Анатольевна — к.б.н., с.н.с. лаб. экспериментальных исследований; Гениатулина Мариям Сабировна — к.б.н., с.н.с. лаб. экспериментальных исследований; Михайлик Любовь Васильевна — н.с. лаб. экспериментальных исследований; Бобкова Антонина Степановна — к.б.н., с.н.с.

вирует органы иммунной системы, повышает противоопухолевую резистентность организма, снижает уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) за счет конформационных изменений в структуре мембран [4—6]. Поэтому при использовании НИ ЭМИ можно ожидать усиления процессов адаптации на клеточном и ультраструктурном уровнях и повышения общей резистентности организма к действию стресса.

Цель настоящей работы — определить влияние НИ ЭМИ на снижение уровня постстрессорных нарушений при остром иммобилизационном стрессе у крыс.

Исследования были проведены на 27 белых беспородных крысах-самцах массой 180—220 г. Работу с животными проводили в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите животных, используемых для экспериментальных целей (Страсбург, 1986). Крысы были разделены на 5 групп: 1-я группа (опытная) — предварительное применение НИ ЭМИ (первичная профилактика) с последующим воздействием иммобилизационного стресса; 2-я группа (контроль к 1-й группе) — воздействие иммобилизационного стресса и ложных процедур НИ ЭМИ (без включения аппарата); 3-я группа (опытная) — воздействие иммобилизационного стресса с последующим применением НИ ЭМИ (лечебно-профилактическое применение); 4-я группа (контроль к 3-й группе) — воздействие иммобилизационного стресса и ложных процедур НИ ЭМИ (без включения аппарата); 5-я группа (интактная) — животные никаким воздействиям не подвергались.

Иммобилизационный стресс осуществляли по методике Г. Селье однократным привязыванием крыс в течение 6 ч в положении на спине. Процедуры НИ ЭМИ проводили от аппарата Акватон-2 (ООО «Телемак», Саратов), плотность потока мощности меньше 1 мкВт/см², частота около 1000 МГц. Всего на курс 8 процедур, время воздействия 2 мин. Животные облучались с расстояния 2—3 см от поверхности кожи поясничной области. Забой животных проводили через 1 день после действия стресса при первичной профилактике и через 9 дней — при лечебно-профилактическом применении НИ ЭМИ. Объектом исследования являлись органы репродуктивной системы (семенники), а также печень, тимус, кровь.

Для светооптических исследований семенники фиксировали в жидкости Буэна, оценка состояния сперматогенеза проводилась по общепринятой методике [7]. Подсчитывали количество извитых семенных канальцев (ИСК) с различным числом генераций половых клеток (от 4 до 0), определяли индекс сперматогенеза. Для электронно-микроскопических исследований семенники фиксировали в 4% параформальдегиде, приготовленном на фосфатном

буфере (рН 7,4), постфиксировали в 1% OsO₄. После обезвоживания образцы заключали в смесь эпон-аралдит. Исследование ультратонких срезов проводили на электронном микроскопе Libra 120 (Германия). Для исследования антиокислительной активности (АОА) в семенниках и печени использовали модельную систему в виде суспензии липопротеинов желтка куриного яйца [8]. Уровень ПОЛ определяли по конечному продукту перекисного окисления липидов — малоновому диальдегиду [9]. Содержание белка определяли биуретовым методом [10], содержание нуклеиновых кислот (РНК и ДНК) — двухволновым спектрофотометрическим методом в модификации [11]. В плазме крови радиоиммунологическим методом определяли кортизол и тестостерон (фирма «ИБОХ», Беларусь). Статистическую значимость различий оценивали с помощью парного критерия Стьюдента и непараметрического U-критерия Манна—Уитни. Различия считали достоверными при $p \leq 0,05$.

После действия иммобилизационного стресса у животных контрольной группы через 1 сут определялось отчетливое снижение АОА в семенниках и печени, наличие выраженных признаков дистрофии и дегенерации со стороны сперматогенных клеток, снижение индекса сперматогенеза, активация процессов ПОЛ и снижение АОА, нарушение белоксинтезирующих процессов, уменьшение массы тимуса. В дальнейшем, к 9-м суткам последствия стресса, отмечалось как усиление ряда негативных явлений, особенно в семенниках (развитие процессов деструкции в сперматогенном эпителии, повышение уровня ПОЛ, снижение содержания общего белка), так и тенденция к активации некоторых ответных адаптационных реакций (АОА в печени, функциональной активности тимоцитов). Электронно-микроскопически обнаруживались нарушения во всех слоях собственной оболочки ИСК, являющейся частью гематотестикулярного барьера. Это проявлялось, в частности, в неравномерном утолщении оболочки в 1,5—2 раза, разрыхлении и местами истончении базальной мембраны, набухании ее не клеточных слоев. Нарушения барьерных структур ИСК вызывали усиление процессов вакуолизации с образованием как мелких, так и крупных локальных отеков, которые нарушали контакты между собственной оболочкой и сперматогенными клетками. Все это свидетельствовало о существенных нарушениях процессов микроциркуляции, что приводило к расстройствам трофики и метаболизма в эпителии семенных канальцев.

Предварительное применение НИ ЭМИ повышало устойчивость организма крыс к последующему действию острого иммобилизационного стресса. При этом через сутки после стресса защитный эффект в семенниках проявлялся в лучшей сохранности клеток сперматогенного эпителия, что выража-

Морфометрические показатели семенников крыс при иммобилизационном стрессе и при применении НИ ЭМИ

Группа	ИСК с 4 генерациями	ИСК с 3 генерациями	Индекс сперматогенеза
Интактная	66 [60,25; 75,5]	34 [24,5; 39,75]	3,66 [3,6; 3,75]
Первичная профилактика			
Контроль	48 [45; 55]*	52 [45; 55]*	3,48 [3,44; 3,55]*
НИ ЭМИ	57 [49,5; 59]**	43 [41; 50,5]**	3,57 [3,5; 3,6]**
Лечебно-профилактическое воздействие			
Контроль	37 [19,5; 48,5]*	63 [51,5; 66]*	3,37 [3,04; 3,48]*
НИ ЭМИ	52,5 [40,75; 61,25]**	47,5 [38,75; 59,25]**	3,52 [3,4; 3,61]**

Примечание. Данные представлены в виде медианы (Me), нижним и верхним квартилями [Q₁; Q₃]. Сравнение проведено по критерию Манна—Уитни; * — $p < 0,05$ по сравнению с интактной группой; ** — $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

лось, в частности, в более сбалансированном количестве ИСК с 4 и 3 генерациями половых клеток по сравнению с контролем (см. таблицу). На ультраструктурном уровне явно слабее, чем в контроле, проявлялись признаки отечности собственной оболочки ИСК, реже встречались и были менее выражены локальные отеки и межклеточные расширения в сперматогенном эпителии. На этом фоне происходило усиление АОА на 22,2% ($p < 0,05$) и повышение содержания РНК и ДНК [соответственно на 17,3% ($p = 0,05$) и 20,6% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем (рис. 1, а)]. В печени характерным являлось значительное усиление АОА на 70,1% ($p < 0,01$) (рис. 2, а) и снижение интенсивности процессов ПОЛ на 92,6% ($p < 0,01$), что приводило к выраженному уменьшению (более чем в 2 раза; $p < 0,01$) окислительного потенциала в ткани печени (ПОЛ/АОА). Вместе с тем на фоне повышения АОА отмечалось снижение содержания общего белка на 22,1% ($p < 0,01$). В тимусе наблюдалась тенденция к уменьшению абсолютной и относительной массы, но при этом удельная активность генома тимоцитов возрастала на 39,6% ($p < 0,01$) по сравнению с контролем и на 79,2% ($p < 0,01$) по сравнению с интактными животными (рис. 3, а), что указывает на усиление функции этих клеток и иммунокорректирующее действие НИ ЭМИ. Параллельно с выявленными адаптационными сдвигами во внутренних органах в сыворотке крови обнаруживались в виде тенденции изменения стрессорного характера — содержание кортизола превышало контрольный уровень (на 11,4%), а содержание тестостерона снижалось (на 22,3%).

Лечебно-профилактическое применение НИ ЭМИ после действия стресса также вызывало ослабление ряда постстрессорных нарушений и усиление адаптационно-компенсаторных реакций. В семенниках это проявлялось в улучшении процессов сперматогенеза к 9-м суткам после стресса: число ИСК с 4 генерациями клеток возрастало на 48,0% ($p < 0,05$), а число ИСК с 3 генерациями уменьшалось на 18,6% ($p < 0,05$), что приближало эти показате-

тели к уровню интактных животных (см. таблицу). Следует также отметить, что в отличие от контроля у животных опытной группы отсутствовали ИСК с 1 и 2 генерациями, что указывало на снижение уровня деструктивных процессов в сперматогенных клетках. Положительные изменения отмечались со стороны гематотестикулярного барьера, при этом уменьшалась толщина собственной оболочки ИСК и ее отдельных слоев, отчетливо ослаблялись локальные отеки, которые не были столь выражены, как у животных контрольной группы (рис. 4). Местами выявлялась активация процессов регенерации в миоидных клетках собственной оболочки в виде увеличения белоксинтезирующих органелл. Все эти благоприятные сдвиги свидетельствовали о снижении проницаемости барьерных структур и об улучшении процессов микроциркуляции. На этом фоне АОА повышалась на 24,2% ($p < 0,01$), а содержание общего белка на 44,1% ($p < 0,01$) (см. рис. 1, б). В печени усиление АОА на 45,4% ($p < 0,05$) (рис. 2, б) сочеталось с повышенным уровнем ПОЛ на 61,1% ($p < 0,01$), при этом окислительный потенциал (ПОЛ/АОА; $p = 0,05$) становился ниже уровня контроля. В этих условиях содержание общего белка и РНК проявляло небольшую тенденцию к снижению, тогда как синтез ДНК оказался достоверно сниженным на 36,9% ($p < 0,01$) (см. рис. 2, б). Возможно, что эта реакция являлась следствием активации ПОЛ, которая, несмотря на усиление АОА, ослабляла механизмы синтетических процессов в печени. Положительные сдвиги отмечались со стороны клеток тимуса, но они были менее выражены, чем в условиях первичной профилактики (см. рис. 3, б). В сыворотке крови отмечалась тенденция к увеличению содержания тестостерона (на 15,3%), что можно охарактеризовать как проявление антистрессорной адаптационной реакции организма.

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что применение НИ ЭМИ в режиме как профилактики, так и лечебно-профилактического воздействия ограничивало развитие постстрессорных нарушений и способствовало активи-

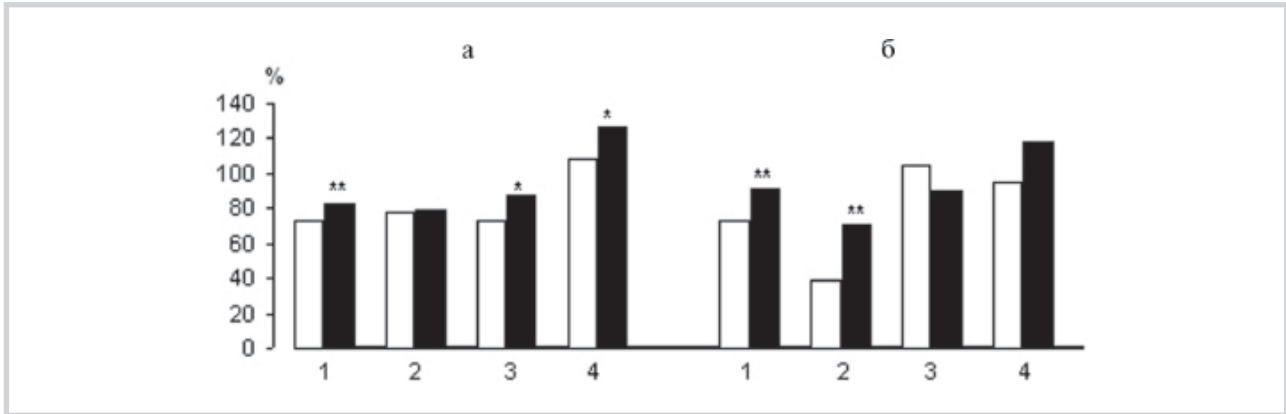


Рис. 1. Метаболические процессы в семенниках крыс при иммобилизационном стрессе и действии НИ ЭМИ.

Здесь и на рис. 2 и 3: а — первичная профилактика; б — лечебно-профилактическое воздействие; светлые столбики — контроль; темные — опыт; * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$. Здесь и на рис. 2: 1 — АОА; 2 — общий белок; 3 — ДНК; 4 — РНК.

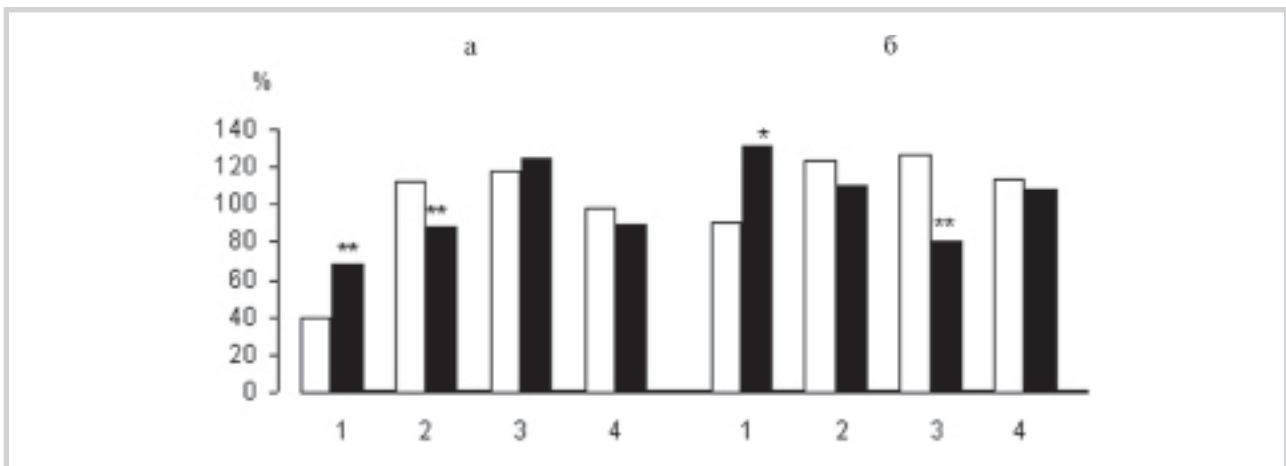


Рис. 2. Метаболические процессы в печени крыс при иммобилизационном стрессе и действии НИ ЭМИ.

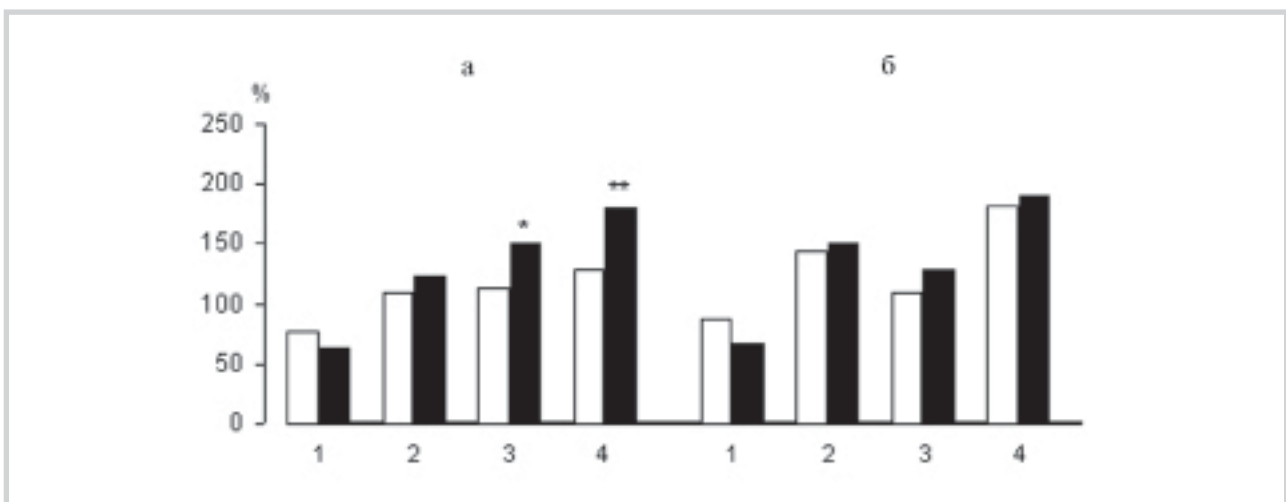


Рис. 3. Функциональная активность тимуса крыс при иммобилизационном стрессе и действии НИ ЭМИ.

1 — масса тимуса; 2 — число ядер тимоцитов (ТМ); 3 — связывание АО в ядре ТМ; 4 — удельная активность генома ТМ.

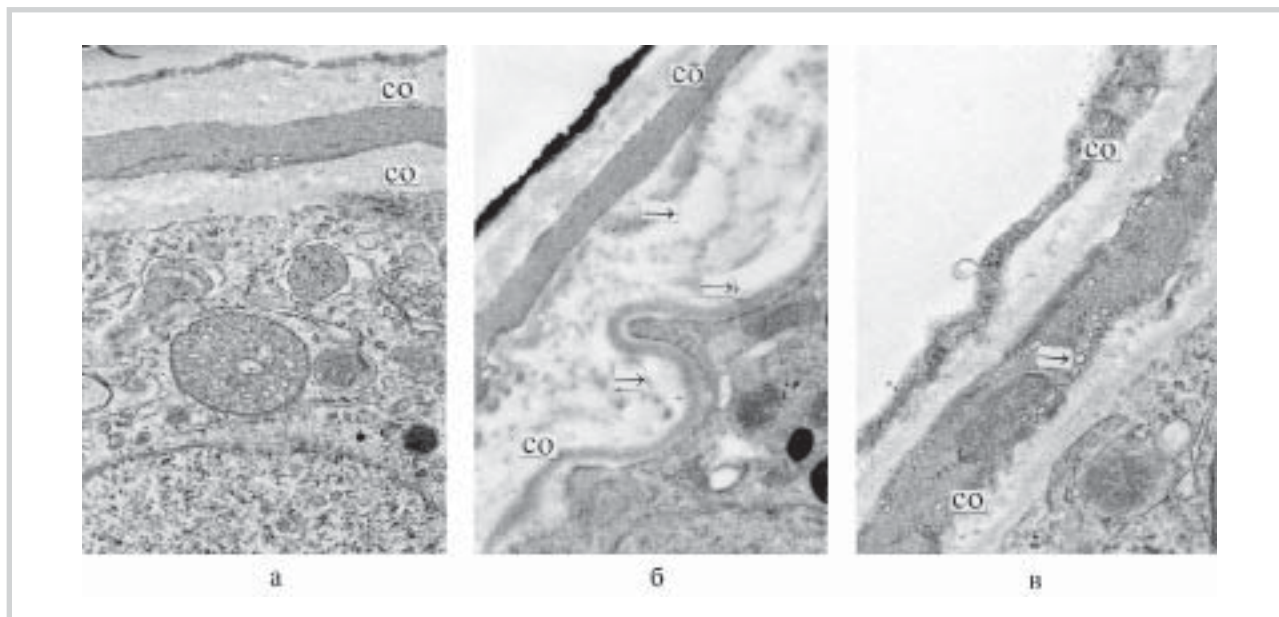


Рис. 4. Ультраструктурные изменения собственной оболочки ИСК при иммобилизационном стрессе и действии НИ ЭМИ.

а — интактная крыса. Собственная оболочка ИСК; б — иммобилизационный стресс. Контроль. Утолщение собственной оболочки ИСК, в основном за счет выраженного отека ее внутреннего не клеточного слоя, видны мелкие локальные скопления отечной жидкости (стрелки); в — иммобилизационный стресс. Влияние НИ ЭМИ после действия стресса. Улучшение ультраструктуры собственной оболочки ИСК-ослабление явлений отека, уменьшение общей ее толщины. На данном участке собственной оболочки сохраняются процессы повышенного везикулообразования (стрелка). $\times 18\ 000$. СО — собственная оболочка.

зации ряда адаптационно-защитных и компенсаторных процессов. Эти эффекты были обусловлены в основном антиоксидантным, а также иммуномодулирующим влиянием НИ ЭМИ на местные и общие механизмы регуляции. Среди выявленных сдвигов в первую очередь следует отметить усиление АОА, которая проявлялась как в семенниках, так и в печени в условиях профилактики и лечебно-профилактического воздействия. Активация антиоксидательной системы, усиление ее мощности под влиянием НИ ЭМИ являлась важным регуляторным механизмом в защите организма от стресса, в повышении устойчивости мембранных структур сперматогенных клеток и снижении уровня деструктивных процессов. Этот антиоксидантный и цитопротекторный эффект сопровождался усилением ряда пластических процессов, которые более отчетливо проявлялись в семенниках, а также повышением функциональной активности тимуса, особенно в условиях первичной профилактики. Полученные данные

показывают, что применение НИ ЭМИ может быть весьма перспективным в свете разработки новых подходов к способам усиления адаптационно-защитных и компенсаторных реакций организма при действии стресса. С целью оптимизации этих процессов, особенно с учетом недостаточного их развития в печени, следует использовать более адекватные режимы воздействия НИ ЭМИ, в том числе в комплексе с другими лечебными физическими факторами.

Конфликт интересов отсутствует.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования: И.Б., Ю.К.

Сбор и обработка материала: Ю.К., Л.Н., Л.М., М.Г., А.Б.

Статистическая обработка данных: Л.Н., Л.М., М.Г., А.Б.

Написание текста: Ю.К.

Редактирование: И.Б.

ЛИТЕРАТУРА

1. Королев Ю.Н., Гениатулина М.С., Никулина Л.А., Михайлик Л.В. Влияние питьевой минеральной воды и магнитного поля на развитие компенсаторно-приспособительных реак-

ций в семенниках у крыс при иммобилизационном стрессе. Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. 2013; 5: 6–9.

2. *Королев Ю.Н., Михайлик Л.В., Гениатулина М.С., Никулина Л.А.* Применение питьевой сульфатной минеральной воды в сочетании с лазерным и магнитолазерным излучениями при первичной профилактике пострadiационных нарушений (экспериментальное исследование). Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. 2010; 4: 3—6.
3. *Петросян В.И.* Резонансное излучение воды в радиодиапазоне. Письма в Журнал технической физики. 2005; 31 (23): 29—33.
4. *Зубкова С.М.* Сравнительный анализ биологического действия микроволн и лазерного излучения. Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. 1996; 6: 31—4.
5. *Терехов И.В., Солодухин К.А., Никифоров В.С.* Исследование возможностей использования нетеплового СВЧ-излучения в реабилитационном периоде у больных внебольничной пневмонией. Физиотерапевт. 2011; 4: 12—7.
6. *Гудцова Т.Н., Жукова Г.В., Гаркави Л.Х., Суханова М.И., Евстратова О.Ф., Бартенева Т.А.* Морфофункциональные аспекты противоопухолевого эффекта низкоинтенсивного микроволнового резонансного излучения в эксперименте. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2010; 11: 593—8.
7. *Ухов Ю.И., Астраханцев А.Ф.* Морфологические методы в оценке функционального состояния семенников. Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. 1983; 84 (3): 66—72.
8. *Клебанов Г.И., Бабенкова И.В., Теселкин Ю.О., Комаров О.С., Владимиров Ю.А.* Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов. Лабораторное дело. 1988; 5: 59—62.
9. *Панков Ю.А., Усватова И.Я.* Флуорометрический метод определения 11-оксикортикостероидов в плазме периферической крови. В кн.: Меньшиков В.В. Методы клинической биохимии гормонов и медиаторов: учебное пособие. М.; 1973: 66—70.
10. *Трудолобова М.Г.* Количественное определение РНК и ДНК в субклеточных фракциях клеток животных. В кн.: Орехович В.Н., ред. Современные методы в биохимии. М.: Медицина; 1977: 313—6.

Поступила 21.04.2014