

ОЦІНКА ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ НЕЙТРОФІЛІВ ЗА УМОВ ВПЛИВУ ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НИЗЬКОЇ ЧАСТОТИ

Літовченко О.Л.¹, Мішина М.М.², Завгородній І.В.²

¹Харківський національний університет ім. Каразіна

²Харківський національний медичний університет
м. Харків, Україна

Анотація. В статті приведені адаптаційні реакції імунної системи лабораторних щурів на вплив електромагнітного випромінювання низької частоти, як шкідливого антропогенного чинника сучасного навколишнього середовища. За результатами проведеного експерименту було доведено, що дія даного чинника має динамічний вплив на функціональний стан нейтрофілів, що проявлялося активацією всіх функціональних показників фагоцитозу на початкових етапах експерименту та пригніченням фагоцитарної активності нейтрофілів на кінці дослідження, яке було компенсоване посиленням утворення позаклітинних пасток фагоцитами.

Ключові слова: електромагнітне випромінювання, нейтрофіли, фагоцитоз, позаклітинні пастки, НСТ-тест, адаптація

Вступ. Проблема адаптації організму до сучасних умов зовнішнього середовища залишається надзвичайно актуальною. Дія сильних агентів, що здатні викликати в організмі реактивні зміни, які спрямовані на збереження найважливіших фізіологічних процесів і структур органів в змінених умовах існування. Імунна система унікальний, природний захисний механізм та є першою ланкою в адаптації організму в умовах довкілля в тому числі й електромагнітного випромінювання (ЕМВ) [1, 2]. Протягом двох десятиріч головним інтересом дослідників медико-біологічного фаху є вивчення впливу електромагнітного випромінювання (ЕМВ) на біологічні об'єкти [3]. Це пояснюється широким його використанням як у промисловості, так і в побуті, а саме технічне обладнання, що працює за параметрами промислових частот, мобільні телефони, мікрохвильові печі, ноутбуки, планшети ті ін. [4]. Одним з основних потужних пускових і регуляторних механізмів каскадної реакції з боку імунної системи є фагоцитарна активність нейтрофілів, які забезпечують синтез цитотоксичних молекул широкого спектра, що у свою чергу, забезпечує розвиток імунологічної відповіді на подразник [5].

Відомі проведені дослідження щодо впливу низько інтенсивного ЕМВ різних довжин хвиль на імунний стан, зокрема вивчення функціональної фагоцитарної активності в сироватці крові встановлено, що характер змін залежить від характеристик випромінювання (довжини, частоти хвиль, отриманої дози опромінення тощо) [6]. Тому на сьогоднішній день враховуючи стрімке оцифрування промислового сектору, що супроводжується широким застосуванням електричної енергії видається актуальним вивчення впливу ЕМВ саме на фагоцитарну активність з урахуванням терміну дії.

Мета дослідження. Визначити стан фагоцитарної активності за умов впливу електромагнітного випромінювання низької частоти на організм щурів в умовах підгострого експерименту.

Матеріали та методи досліджень. З огляду на те, що в природних умовах дія ЕМВ має тривалий характер, було проведено експеримент з вивчення впливу електромагнітного випромінювання низької частоти тривалістю 30 діб. Щури зазнавали впливу випромінювання 600 В/м з частотою 70 кГц, опромінення проводилося протягом 4 год, паралельно дослідній групі була група контролю, що перебувала у комфортних умовах. Експериментальне дослідження було виконано на щурах-самцях лінії *WAG* згідно з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, використовуваних для експериментальних і інших наукових цілей» всі вимоги з питань етики були дотримані [7-9]. Фагоцитарну активність визначали за показниками: здатності поглинання нейтрофілами полістирольного латексу, здатність утворення позаклітинних нейтрофілних пасток (NETs), метаболічної активності нейтрофілів в реакції відновлення нітросинього тетразоліа за допомогою спонтанного та стимульованого НСТ-тесту. Для визначення адаптаційних можливостей організму забір біологічного матеріалу проводився на етапах 5, 15 та 30 діб в динаміці експерименту. Статистичний аналіз даних проводили за допомогою програми «Statistica 10» з використанням непараметричного методу U-критерія Манна-Уїтні, а також механізми біологічних ефектів з боку імунної системи визначали за допомогою кореляційного аналізу.

Результати та їх обговорення. В результаті проведеного дослідження було встановлено, що показник активності фагоцитозу на 5-ту добу спостереження за дії ЕМВ мав лише тенденцію до зниження проти контрольних значень (табл. 1). На 15-ту добу експерименту було встановлено, що показник активності фагоцитозу за умов впливу ЕМВ був вищим за контрольне значення у 1,3 раза ($p < 0,05$). Порівнюючи показники функціональної активності нейтрофілів крові між дослідними та контрольними значеннями в експерименті на 30-ту добу спостереження за дії ЕМВ фагоцитарна активність мала зворотній ефект, а саме статистично значуще зниження відносно контролю ($p > 0,05$).

Таблиця 1

Зміни фагоцитарної активності нейтрофілів за умов впливу електромагнітного випромінювання низької частоти

Імунологічні показники	Група			
	Контроль n=6		ЕМВ n=6	
	$\frac{\min}{\max}$	$\frac{Me}{(25\% - 75\%)}$	$\frac{\min}{\max}$	$\frac{Me}{(25\% - 75\%)}$
5 доба спостереження				
Фагоцитоз, %	$\frac{48}{66}$	$\frac{57,5}{54,0-61,0}$	$\frac{49}{57}$	$\frac{52,5}{50,0-55,0}$
15 доба спостереження				
Фагоцитоз, %	$\frac{41}{60}$	$\frac{44,0}{44,0-58,0}$	$\frac{57}{70}$	$\frac{64,0^*}{62,0-66,0}$
30 доба спостереження				
Фагоцитоз, %	$\frac{45}{54}$	$\frac{52,5}{51,0-54,0}$	$\frac{44}{50}$	$\frac{48,0^*}{47,0-49,0}$

Примітка: * - різниця статистично значуща ($P < 0,05$) у порівнянні з контрольною групою.

Вивчення функціонального стану нейтрофільних лейкоцитів за допомогою НСТ-тесту дозволило встановити, що рівень спонтанного НСТ-тесту (табл. 2) за умов впливу ЕМВ на 5-ту добу спостереження вище контрольних значень ($p < 0,05$), на 15 добу величини спонтанного та стимульованого НСТ-тесту були достовірно вищими у групі впливу ЕМВ проти контрольних значень ($p < 0,05$). Причиною підвищення спонтанного НСТ-тесту вірогідно є активація фагоцитів, що супроводжується посиленням потреби кисню імунними клітинами. Підвищення показника НСТ-стимульованого (пов'язаного) тесту на тлі вірогідного підвищення НСТ-спонтанного тесту у порівнянні з контрольними значеннями свідчить про збільшення (стимуляції) функціонального резерву нейтрофілів. Значення спонтанного та стимульованого НСТ-тесту на 30-ту добу спостереження за умов дії ЕМВ залишалися вищими за контрольні, але не статистично значущими ($p > 0,05$).

Таблиця 2

Бактерицидна здатність нейтрофілів за НСТ-тестом в умовах впливу електромагнітного випромінювання низької частоти

Імунологічні показники		Група			
		Контроль n=6		ЕМВ n=6	
		min max	Me (25% –75%)	min max	Me (25% –75%)
5 доба спостереження					
НСТ-тест	Спонтанний, %	27	31,0	37	45,5*
		34	29,0-32,0	53	39,0-49,0
	Стимульований, %	40	52,0	46	54,0
		61	46,0-57,0	61	49,0-60,0
15 доба спостереження					
НСТ-тест	Спонтанний, %	13	19,5	24	29,0*
		20	18,0-20,0	30	26,0-29,0
	Стимульований, %	36	41,5	48	50,5*
		48	40,0-46,0	61	49,0-55,0
30 доба спостереження					
НСТ-тест	Спонтанний, %	27	30,5	23	38,5
		34	28,0-32,0	46	35,0-42,0
	Стимульований, %	42	57,0	38	60,5
		62	42,0-62,0	67	59,0-67,0

Примітка: * - різниця статистично значуща ($P < 0,05$) у порівнянні з контрольною групою.

Порівнюючи *in vitro* здатність до формування NETs нейтрофілами за умов впливу ЕМВ протягом експерименту було встановлено, що на 5-ту добу активність формування NETs була підвищеною у 1,8 раза у порівнянні з контрольними значеннями ($p < 0,05$). Тобто, за умов впливу ЕМВ на початку експерименту нейтрофіли мали здатність ефективніше утворювати позаклітинні пастки, ніж живі нейтрофіли вловлювати антиген. Аналізуючи здатність утворення NETs на 15-ту добу у дослідній групі було встановлено, що після взаємодії з антигенами *in vitro* кількість NETs у 2,5 раза була менше за умов впливу ЕМВ проти контрольних значень, що пояснюється активацією фагоцитарного процесу нейтрофілами ($p < 0,05$).

На 30-ту добу спостереження визначався протилежний ефект, а саме підвищення здатності нейтрофілами до утворення NETs у порівнянні з контрольними значеннями ($p < 0,05$) (тал. 3).

Таблиця 3

Здатність формування нейтрофілами позаклітинних пасток (NETs) за умов впливу електромагнітного випромінювання низької частоти

Імунологічні показники	Група			
	Контроль n=6		ЕМВ n=6	
	$\frac{\min}{\max}$	$\frac{Me}{(25\% - 75\%)}$	$\frac{\min}{\max}$	$\frac{Me}{(25\% - 75\%)}$
5 доба спостереження				
NETs, %	$\frac{25}{32}$	$\frac{28,5}{26,0-30,0}$	$\frac{48}{52}$	$\frac{49,5^*}{49,0-50,0}$
15 доба спостереження				
NETs, %	$\frac{27}{31}$	$\frac{29,5}{28,0-31,0}$	$\frac{10}{14}$	$\frac{12,0^*}{11,0-13,0}$
30 доба спостереження				
NETs, %	$\frac{26}{30}$	$\frac{28,5}{27,0-30,0}$	$\frac{72}{78}$	$\frac{75,5}{*74,0-77,0}$

Примітка: * - різниця статистично значуща ($P < 0,05$) у порівнянні з контрольною групою.

Аналіз кореляційної залежності дозволив визначити механізми біологічних ефектів з боку функціональної активності нейтрофілів, що спостерігалися у динаміці експерименту.

Протягом всього дослідження спостерігалася сильна пряма залежність між зазначеними показниками у групі впливу ЕМВ. Так, на 5 добу виявлено статистично значущий прямий кореляційний зв'язок між зниженням фагоцитарної активності та підвищеною здатністю нейтрофілів до формування позаклітинних пасток ($r = 0,79$; $p < 0,05$), однак. На 15 добу кореляційний зв'язок був між показниками підвищеного спонтанного та стимульованого НСТ-тесту ($r = 0,77$; $p < 0,05$). До кінця дослідження (30 доба) кількість кореляційних зв'язків збільшилася до трьох, а саме зв'язок між показниками НСТ-тесту збільшився ($r = 0,92$; $p < 0,05$), прямий зв'язок між зниженням фагоцитарної активності нейтрофілів й підвищенням кисневозалежного механізму бактерицидної їх здатності ($r = 0,91$; $p < 0,05$), та був встановлений прямий зв'язок між підвищеною здатністю нейтрофілів продукувати активні форми кисню й збільшенням формування нейтрофільних позаклітинних пасток ($r = 0,71$; $p < 0,05$).

Висновки.

Отже, адаптаційні реакції мали імуностимулюючий характер на фоні активації фагоцитарної активності та кисневозалежного механізму фагоцитозу (НСТ-тест спонтанний та стимульований) на початкових етапах експерименту. Однак, в кінці дослідження фагоцитарна активність знижувалася, при цьому даний ефект компенсувався збільшенням утворення NETs, як альтернатива фагоцитозу. Такий механізм був доведений прямими кореляційними зв'язками між показниками.

Таким чином, оцінка функціонального стану нейтрофілів за впливу електромагнітного випромінювання низької частоти в експерименті *in vivo* довела, що за умов дії антропогенного чинника в організмі щурів відбувається гнучкий адапта-

ційний процес, що передбачає перерозподіл функцій ефektorних клітин з метою економічного функціонування організму в умовах дії стресора.

Перспективи подальших досліджень. Надалі планується встановити біологічні механізми відповідних реакцій організму з боку імунної системи за умов впливу електромагнітного випромінювання в умовах холодового стресу. Визначити частку внеску кожного з факторів в сумарний біологічний ефект впливу електромагнітного випромінювання й холоду та встановити найбільш інформативні показники.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Современные представления о механизмах врожденного и приобретенного иммунитета и их взаимодействие (часть 1) / Г. Н. Дранник // Ліки України. - 2013. - № 4. - С. 22-29. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/likukr_2013_4_5
2. Ярилин А.А. Основы иммунологии. М: Медицина; 1999. 650 с.
3. Singh S., Kapoor N. Health Implications of Electromagnetic Fields, Mechanisms of Action, and Research Needs. *Advances in Biology*. 2014. Vol. 2014. 24 p. Article ID 198609. doi: /10.1155/2014/198609
4. Завгородній І. В. Гігієнічні та медико-соціальні аспекти дигіталізації економіки України / І. В. Завгородній, П. О. Коробчанський // Актуальні проблеми профілактичної медицини : збірник наукових праць. – Львів, 2019. – Вип. 2 (18). – С. 31–37.
5. European Study on Community-Acquired Pneumonia Committee. Guidelines for management of adult community-acquired lower respiratory tract infections // *European Respiratory Journal*. – 2006. - №11. - P. 986 - 991. doi: 10.1183/09031936.98.11040986
6. Сагалович Е. Ш. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на содержание и функциональную активность молекул системы комплемента и иммуноглобулинов в эксперименте / Елена Ефимовна Сагалович : автореф. дис... канд. биол. наук : 03.00.04 – Биохимия. – Минск. 22 с. URL: <http://earthpapers.net/vliyanie-nizkointensivnogo-lazernogo-izlucheniya-na-soderzhanie-i-funktsionalnuyu-aktivnost-molekul-sistemy-komplementa-i>
7. Закон України від 2 лютого 2006 № 3447-IV. Про захист тварин від жорсткого поводження. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15>
8. Council Directive 2010/63/EU of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Official Journal of the European Communities*. – 2010. – L 276. – P. 33–79. URL: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex%3A32010L0063>

REFERENCES

1. Drannik G. N. (2013) «Modern ideas about the mechanisms of innate and acquired immunity and their interaction (part 1)» *Likes of Ukraine*. No. 4. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/likukr_2013_4_5
2. Yarilin A.A. «The basics of immunology» M: medicine; 1999.650.
3. Singh S., Kapoor N. (2014) «Health Implications of Electromagnetic Fields, Mechanisms of Action, and Research Needs». *Advances in Biology*. Vol. 2014:24 doi: /10.1155/2014/198609
4. Zavgorodnii I. V., Korobchanskij P. O. (2019) «Hygienic and medical-social aspects of digitalization of the economy of Ukraine». *Actual problems of prophylactic medicine: collection of scientific works*. Vol. 2 (18): 31–37.
5. European Study on Community-Acquired Pneumonia Committee. Guidelines for management of adult community-acquired lower respiratory tract infections // *European Respiratory Journal*. – 2006. - №11. - P. 986 - 991. doi: 10.1183/09031936.98.11040986
6. Sagalovich E. Shch. (2004) «Influence of low-intensity laser radiation on the content and functional activity of molecules of the complement system and immunoglobulins in the experiment»: author. diss. biol. Sciences: 03.00.04 - Biochemistry. - Minsk. 22 sec. URL: <http://earthpapers.net/vliyanie-nizkointensivnogo-lazernogo-izlucheniya-na-soderzhanie-i-funktsionalnuyu-aktivnost-molekul-sistemy-komplementa-i>
7. The Law of Ukraine № 3447-IV. (2006) «On the Protection of Animals from Brutal Treatment» URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15>
8. Council Directive 2010/63/EU of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Official Journal of the European Communities*. L 276:33–79. URL: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex%3A32010L0063>

ASSESSMENT OF THE NEUTROPHIL FUNCTIONAL CONDITION UNDER THE EFFECT OF ELECTROMAGNETIC RADIATION OF LOW FREQUENCY

O.L. Litovchenko, M.M. Mishyna, I.V. Zavgorodnii

Abstract. *The article presents the adaptive reactions of the immune system of laboratory rats on the influence of low frequency electromagnetic radiation, as a harmful anthropogenic factor of the modern environment. According to the results of the experiment, it was proved that the effect of this factor has a dynamic impact on the functional state of neutrophils, which was manifested by the activation of all functional indices of phagocytosis in the initial stages of the experiment and inhibition of phagocytic activity of neutrophils at the end of the study, which was compensated by increased extracellular trap formation by phagocytes.*

Key words: *electromagnetic radiation, neutrophils, phagocytosis, extracellular traps, NBT-test, adaptation*

ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ НЕЙТРОФИЛОВ В УСЛОВИЯХ ВЛИЯНИЯ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НИЗКОЙ ЧАСТОТЫ

Е.Л. Литовченко, М.М. Мишина, И.В. Завгородний

Аннотация. *В статье приведены адаптационные реакции иммунной системы лабораторных крыс на воздействие электромагнитного излучения низкой частоты, как вредного антропогенного фактора современной окружающей среды. По результатам проведенного эксперимента было доказано, что действие данного фактора имеет динамическое воздействие на функциональное состояние нейтрофилов, которое проявлялось активацией всех функциональных показателей фагоцитоза на начальных этапах эксперимента и угнетением фагоцитарной активности нейтрофилов в конце исследования, которое было компенсировано усилением образования внеклеточных ловушек фагоцитами.*

Ключевые слова: *электромагнитное излучение, нейтрофилы, фагоцитоз, внеклеточные ловушки, НСТ-тест, адаптация.*

Олена Літовченко, ORCID ID 0000-0002-5286-1705

Марина Мішина, ORCID ID 0000-0001-6484-4198

Завгородній Ігор Володимирович, ORCID ID 0000-0001-7803-3505