

ВЛИЯНИЕ ПЕРЕМЕННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЮ МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА И ПРОИЗВОДСТВО ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ

© 2022 г. Е.Е. Текуцкая*, Л.Р. Гусарук**, Г.П. Ильченко*

*Кубанский государственный университет, 350040, Краснодар, ул. Ставропольская, 149

**Кубанский государственный медицинский университет МЗ РФ, 350063, Краснодар, ул. Седина, 4

E-mail: tekytska@mail.ru

Поступила в редакцию 18.11.2021 г.

После доработки 02.12.2021 г.

Принята к публикации 03.12.2021 г.

Показано, что воздействие переменным магнитным полем *in vitro* напряженностью 550 ± 30 А/м частотой 8.6 и 9.0 Гц приводит к значительному изменению хемилюминесценции взвеси мононуклеарных клеток, выделенных из периферической крови здоровых доноров и больных буллезным эпидермолизом. С помощью иммуноферментного анализа определено содержание провоспалительных цитокинов (интерлейкина-1; интерлейкина-6 и фактора некроза опухолей) в сыворотке периферической крови здоровых доноров и больных буллезным эпидермолизом после воздействия на образцы крови *in vitro* переменным магнитным полем в диапазоне частот от 7.0 до 9.0 Гц. Обнаружено, что при буллезном эпидермолизе значительно увеличено содержание интерлейкина-6 в сыворотке крови больных по сравнению со здоровыми донорами. Действие магнитного поля с частотами от 7.0 до 7.8 Гц и от 8.6 до 9.0 Гц на образцы крови больных буллезным эпидермолизом, снижает концентрацию этого цитокина до значений референсного интервала. Исходные показатели фактора некроза опухолей в нативных образцах обеих групп оставались в пределах нормы: 5.2 пг/мл в контроле и 4.3 пг/мл при буллезном эпидермолизе. Воздействие магнитного поля не приводит к выходу параметров за пороговые значения, при этом наблюдается сходство ответной реакции в контрольной и опытной группах. Так, обработка магнитным полем с частотами 7.4 и 7.8 Гц повышает концентрацию фактора некроза опухолей в обеих группах, а магнитным полем с частотами больше 7.8 Гц — приводят к резкому его падению.

Ключевые слова: мононуклеарные клетки периферической крови, хемилюминесценция, провоспалительные цитокины, переменное магнитное поле, активные формы кислорода.

DOI: 10.31857/S0006302922010112

Исследования в области биологического действия электромагнитного поля позволили определить наиболее восприимчивые системы организма человека к такого рода воздействию: нервная, иммунная, эндокринная и половая. Отмечается, что при действии электромагнитного поля нарушаются процессы формирования иммунитета, чаще в сторону его угнетения [1, 2]. Лимфоциты осуществляют первую линию защиты, от их хемотаксической, фагоцитарной и метаболической активности во многом зависит состояние иммунной системы и организма в целом [3].

Сокращения: МНК — мононуклеарные клетки, ИЛ — интерлейкин, α -ФНО — фактор некроза опухолей альфа, БЭ — буллезный эпидермолиз, МП — магнитное поле, АФК — активные формы кислорода, ХЛ — хемилюминесценция.

Данные по изучению функционального статуса системы лимфоцитов, основной в клеточном отношении клеточной популяции периферической крови, оснащенной мощными микробицидными и цитотоксическими механизмами, является основанием для изучения влияния электромагнитного поля на эти иммунокомпетентные клетки. Мононуклеарные клетки (МНК) периферической крови согласно данным работы [4] включают в себя лимфоциты (Т-клетки и В-клетки) — от 70 до 90%, моноциты — от 10 до 30% и дендритные клетки — от 1–2%.

Клетки иммунной системы работают в согласованном между собой взаимодействии, которое осуществляется цитокинами, представляющими из себя регуляторы иммунных реакций. Набор и количество цитокинов, действующих на рецепто-

ры клеточной поверхности, являются организованной системой взаимодействующих между собой сигналов [3–5]. Провоспалительные цитокины интерлейкин-1 (ИЛ-1), интерлейкин-6 (ИЛ-6), а также фактор некроза опухолей (α -ФНО) продуцируются и действуют на иммунокомпетентные клетки, инициируя воспалительный ответ. Высокий уровень этих метаболитов отражает активность и тяжесть патологического процесса. Так, ИЛ-1 принадлежит к группе провоспалительных цитокинов и представляет собой полипептид, имеющий молекулярную массу 15 кДа. ИЛ-1 по большей части производят макрофаги и фагоциты, в меньшей степени – лимфоциты. Он провоцирует начало и регулирует иммунные реакции, запуская реакции воспалительно-регуляторного каскада, стимулирует синтез коллагена [5]. ИЛ-1 синтезируется кратковременно, только в ответ на попадание в организм антигена, выработка его клетками продолжается около двух суток. ИЛ-6 является гликопротеином с молекулярной массой 21–28 кДа, представляет собой плеiotропный цитокин с различными биологическими действиями, продуцируется как лимфоидными, так и не лимфоидными клетками. ИЛ-6 также принято относить к провоспалительным цитокинам. Хотя роль ИЛ-6 в противовирусной защите организма до конца не ясна, он, несомненно, наряду с α -ФНО и ИЛ-1 β играет центральную роль в неспецифическом противовирусном иммунитете [4]. Повышенный уровень ИЛ-6 наблюдается при многих патологических состояниях. Количественное определение уровня ИЛ-6 имеет большое значение при оценке иммунного статуса организма [6]. α -ФНО относится к провоспалительным цитокинам, состоит из длинных вытянутых β -цепей, имеет молекулярную массу 17 кДа, проявляет избирательную цитотоксичность в отношении некоторых опухолевых клеток; как и другие цитокины, является важным низкомолекулярным медиатором межклеточных взаимодействий. Количественное определение уровня α -ФНО также играет большую роль при оценке иммунного статуса организма [6].

Повышенный уровень провоспалительных цитокинов наблюдается при многих патологических состояниях, связанных с окислительным стрессом, в частности, при буллезном эпидермолизе (БЭ). БЭ – клинически и генетически гетерогенная группа орфанных заболеваний, характеризующихся врожденной склонностью к образованию булл на коже и слизистых оболочках пищевода, кишечника, дыхательной системы. Эрозивно-язвенные дефекты могут сохраняться на коже от одного месяца до нескольких лет, являясь предрасполагающим фактором к образованию плоскоклеточного рака кожи – основной причины преждевременной смерти больных [7].

Как ранее было показано, действие переменного магнитного поля (МП) на образцы крови здоровых доноров и больных БЭ *in vitro* может приводить к генерированию активных форм кислорода (АФК) и инициировать окислительных стресс, а также вносить свой вклад в поддержание уже развившего окислительного стресса при БЭ [8]. Одним из распространенных методов изучения свободно-радикальных процессов и изменения продукции АФК служит спонтанная и стимулированная с помощью H_2O_2 хемилюминесценция (ХЛ).

В этой связи цель работы заключалась в определении влияния переменного МП *in vitro* на изменение продукции АФК взвеси мононуклеарных клеток, выделенных из крови больных БЭ и здоровых доноров, с помощью ХЛ-анализа и на уровень содержания провоспалительных цитокинов (интерлейкина-1; интерлейкина-6; фактора некроза опухолей) в сыворотке крови – с использованием иммуноферментного анализа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выделение чистой взвеси МНК из периферической крови доноров и больных БЭ осуществляли путем ее центрифугирования в градиенте плотности фиколл-урографина ($\rho = 1.077$ г/мл), как описано в работе [9]. МНК промывали и инкубировали в физиологическом растворе, конечная концентрация взвеси МНК составляла в среднем $0.87 \cdot 10^6$ клеток/мл. Проведенный морфологический контроль клеточной суспензии показал клеточный состав взвеси: содержание лимфоцитов – 71–72%, моноцитов – 26–28%.

Обработку взвеси МНК и образцов крови переменным МП с частотами от 7.0 до 9.0 Гц с шагом 0.2 Гц проводили в закрытой стерильной пластиковой посуде в экранированной камере. В ходе экспериментов использовали специальную установку, блок-схема которой приведена в работе [10]. Она состояла из генератора низкочастотных сигналов ГЗ-118, который представляет собой источник синусоидального сигнала прецизионной формы, и катушки индуктивности, имеющей 1200 витков. Катушка была помещена в экранированную камеру, которую изготовили из конструкционной стали толщиной 3 мм. Ослабление внешних МП камерой в диапазоне от 3 Гц до 300 кГц достигало около 100 раз. Сопrotивление катушки составляло 320 Ом, напряжение на катушке – 14 В. Обработку МП проводили при комнатной температуре ($22 \pm 1^\circ C$) в течение 15 мин на выбранной частоте. Напряженность поля в месте нахождения образца составляла 550 ± 30 А/м. Контроль напряженности поля осуществляли с помощью анализатора спектра «Эко-

физика-110А» (ООО ПКФ «Цифровые приборы», Москва) и антенны П6-70.

Регистрацию спонтанной (нестимулированной) и стимулированной с помощью 20 мкл 0.3% H_2O_2 хемилюминесценции [11] проводили в течение 900 с на хемилюминометре LUM-5773 (ООО «ДИСофт», Москва), значения интенсивности свечения которого соответствовали световому потоку, т.е. количеству фотонов в единицу времени. При этом $1 \text{ мВ} \approx 1 \text{ фотон/с}$. Также оценивали максимальную интенсивность ХЛ после 300 с от начала регистрации. Одинаковость условий для клеточной взвеси в контроле и опыте достигалась тем, что контрольные образцы перед регистрацией ХЛ помещали в экранированную камеру на 15 мин. При этом обработку образцов переменным МП не проводили. Величина постоянной компоненты геомагнитного поля во время нахождения образцов в экранированной камере и в контроле, и в опыте была одинаковой и составляла около 0.4 А/м. Направления векторов постоянного геомагнитного поля и переменного МП были взаимно перпендикулярны.

Определение уровня провоспалительных цитокинов ИЛ-1, ИЛ-6 и α -ФНО в сыворотке крови до и после обработки МП образцов крови здоровых доноров и больных БЭ проводили с помощью наборов фирмы «Вектор-Бест» (Новосибирск) на микропланшетном ридере Multiskan (Thermo Fisher Scientific, Финляндия) согласно протоколу. Метод основан на «сэндвич»-варианте твердофазного иммуноферментного анализа с применением моно- и поликлональных антител к соответствующему цитокину. Так, при определении концентрации α -ФНО использовали планшет с иммобилизованными моноклональными антителами к α -ФНО, калибровочные образцы, аттестованные относительно стандарта α -ФНО (фирма RnD Systems, Inc., США), фосфатно-солевой буферный раствор с твином, субстратный буферный раствор, раствор тетраметилбензидина, конъюгаты. На первой стадии в ходе проведения иммуноферментного анализа в стрипы планшета вносили разбавленные образцы сыворотки крови человека, необходимые реагенты в рассчитанных концентрациях, стрипы заклеивали пленкой и инкубировали при температуре 37°C в течение 120 мин в термостатируемом шейкере с частотой 700 об/мин. Далее с помощью планшетного промывателя пятикратно промывали лунки планшета фосфатно-солевым буферным раствором с твином, чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В каждую лунку в процессе каждого цикла промывки вносили не менее 350 мкл жидкости. Время между заполнением и опорожнением лунок было не менее 30 с. По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удаляли. Затем вносили в лунки рас-

твор конъюгата 1 (антитела к α -ФНО человека с биотином), вновь закрывали пленкой и инкубировали 60 мин при температуре 37°C в шейкере, после окончания инкубации опять пятикратно промывали планшет. Вносили конъюгат 2 (стрептавидин с пероксидазой хрена) и вновь инкубировали 60 мин. После всех промывок, внесений стоп-растворов и еще одного инкубирования измеряли оптическую плотность с помощью ридера Multiscan в двухволновом режиме: при 450 нм и 620–655 нм. По результатам измерения вычисляли среднее арифметическое значение оптической плотности в лунках с анализируемыми образцами. Таким образом, общее время инкубации составило 4 ч. Воспроизводимость методики не превышает 8%, не обнаружено перекрестной реакции используемых в наборе антител к α -ФНО с другими цитокинами и, в частности, с ИЛ-1 β и ИЛ-6.

Набор «Интерлейкин-1 β -ИФА-БЕСТ» содержал планшет с иммобилизованными моноклональными антителами к ИЛ-1 β , растворы, аналогичные вышеперечисленным, и конъюгат 1, содержащий биотинилированные антитела к ИЛ-1 β . Порядок выполнения методики аналогичен предыдущему. Набор «Интерлейкин-6-ИФА-БЕСТ» содержал планшет с иммобилизованными моноклональными антителами к ИЛ-6, растворы, аналогичные вышеперечисленным, и конъюгат 1, содержащий биотинилированные антитела к ИЛ-6.

Калибровочные графики для ИЛ-1 и ИЛ-6 были линейны в интервале 0–250 пг/мл, их уравнения имели вид: для ИЛ-1 $y = 0.008x + 0.051$, для ИЛ-6 $y = 0.0023x + 0.0928$. Для α -ФНО график был линейен в интервале 0–100 пг/мл, уравнение имело вид $y = 0.0073x + 0.0923$.

Достоверность различий средних величин оценивали с применением U -критерия Манна-Уитни, принимая различия достоверными на уровне значимости $p < 0.05$. Сравнение групп по количественным признакам проводили с использованием двухвыборочного t -критерия Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$ [12]. Полученные данные анализировали с помощью пакета статистического анализа Statistica 6.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для взвеси МНК, выделенных из периферической крови здоровых доноров и больных БЭ, измерены интенсивности спонтанной ХЛ при отсутствии воздействия переменным МП. Получены зависимости интенсивности ХЛ от времени, которые отражают процессы протекания экзотермических реакций окисления, происходящих на поверхности клеток и в среде. При сравнении

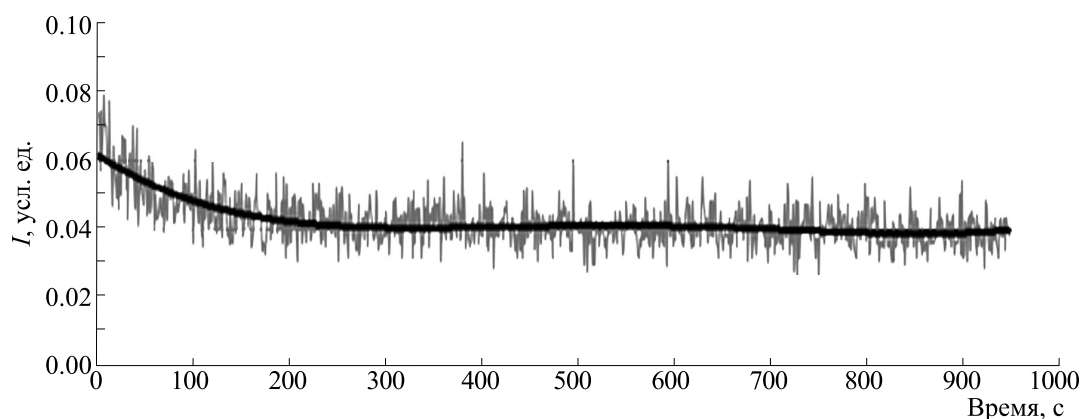


Рис. 1. Интенсивность спонтанной хемилюминесценции взвеси МНК, выделенных из периферической крови здоровых доноров.

кривых интенсивности ХЛ нативных МНК (рис. 1 и 2) видно, что начальный всплеск интенсивности ХЛ взвеси МНК, выделенных из крови больных БЭ, имеет большую величину, чем начальная интенсивность ХЛ МНК здоровых доноров.

Значения флуктуаций интенсивности ХЛ взвеси МНК больных БЭ достигали 0.16 отн. ед., тогда как максимальное значение флуктуаций этого же параметра для МНК здоровых доноров едва достигало значения 0.09 отн. ед. Также отмечались различия в характере спада кривых интенсивности ХЛ: для МНК здоровых доноров это была экспоненциальная зависимость, а для МНК больных БЭ — практически прямолинейная (рис. 1 и 2).

При добавлении H_2O_2 к взвеси МНК здоровых доноров и воздействию *in vitro* МП частотой 8.6 Гц наблюдалось значительное увеличение начальной ХЛ (рис. 3).

Получены зависимости интенсивности ХЛ взвеси МНК периферической крови здоровых доноров от частоты воздействующего МП после

300 с от начала регистрации в отсутствие (рис. 4а) и присутствии H_2O_2 (рис. 4б).

Учитывалось, что H_2O_2 имеет собственное свечение, среднее значение интенсивности которого лежит в диапазоне от 0.04 до 0.05 отн. ед. Перекись водорода стимулировала дополнительное свободно-радикальное окисление и повышала ХЛ взвеси. Видно, что стимулирование ХЛ взвеси МНК здоровых доноров с помощью перекиси водорода приводит практически к двукратному увеличению интенсивности ХЛ: с 0.039 отн. ед. (рис. 4а) до 0.080 отн. ед. (рис. 4б). Стимулирование ХЛ взвеси МНК периферической крови больных БЭ с помощью МП также приводит к увеличению начального всплеска ХЛ (рис. 4а) по сравнению с ХЛ нативных МНК (рис. 2). Наибольший всплеск интенсивности ХЛ МНК больных БЭ наблюдалась после воздействия на них МП частотами 7.8 Гц и 8.2 Гц, причем значение интенсивности стимулированной ХЛ превышало собственную ХЛ нативных МНК почти в десять раз.

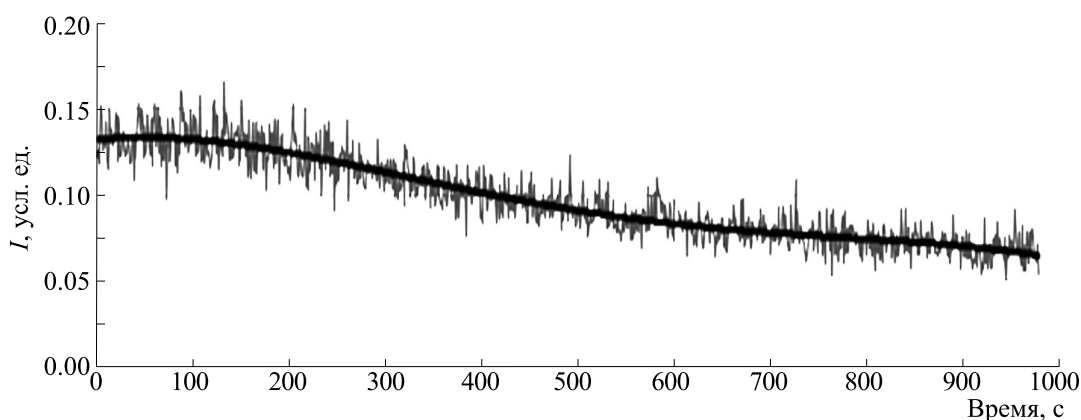


Рис. 2. Интенсивность спонтанной хемилюминесценции взвеси МНК, выделенных из периферической крови больных БЭ.

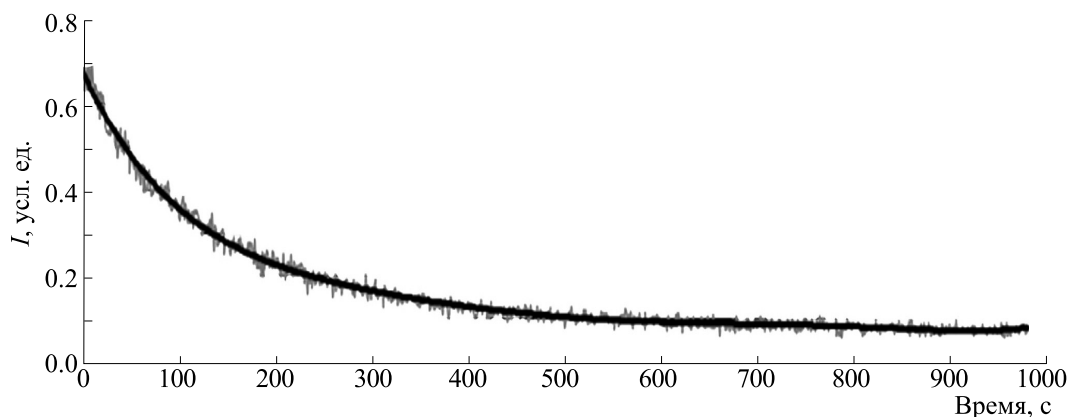


Рис. 3. Интенсивность хемилюминесценции взвеси МНК периферической крови здоровых доноров после воздействия МП с частотой 8.6 Гц и внесения 20 мкл 0.3% H_2O_2 .

В ходе проведенных исследований были изучены изменения уровней концентрации основных провоспалительных цитокинов ИЛ-1, ИЛ-6 и α -ФНО в сыворотке крови больных БЭ и здоровых добровольцев при воздействии на образцы периферической крови переменным МП *in vitro*. Результаты содержания ИЛ-1, ИЛ-6, α -ФНО после проведения иммуноферментного анализа сыворотки крови здоровых и больных доноров до и после воздействия МП разной частоты приведены на рис. 5–7.

Концентрация ИЛ-1 в крови в норме не превышает 5 пг/мл [4], что отмечено на рис. 5 горизонтальной линией. В интактных образцах контрольной группы этот показатель остается в границах референсных значений — 5.5 пг/мл.

Незначительное превышение нормы наблюдается лишь при воздействии МП частотой 7.0 Гц — 7.5 ± 0.08 пг/мл. Изменение частоты МП оказывает скорее подавляющий эффект, не приводя к выходу показателей за референсный интервал. Это свидетельствует об устойчивости данного биохимического параметра контрольной группы к действию МП.

При БЭ до воздействия МП уровень концентрации ИЛ-1 сопоставим с данным показателем контрольной группы и находится в границах нормы — 5.8 пг/мл. Воздействие МП с частотами от 7.0 до 7.4 и 7.8 Гц не влияло на этот параметр, однако действие МП с частотами 8.2 и 9.0 Гц приводило к повышению концентрации метаболита почти вдвое — 9.6 и 8.4 пг/мл соответственно. Это

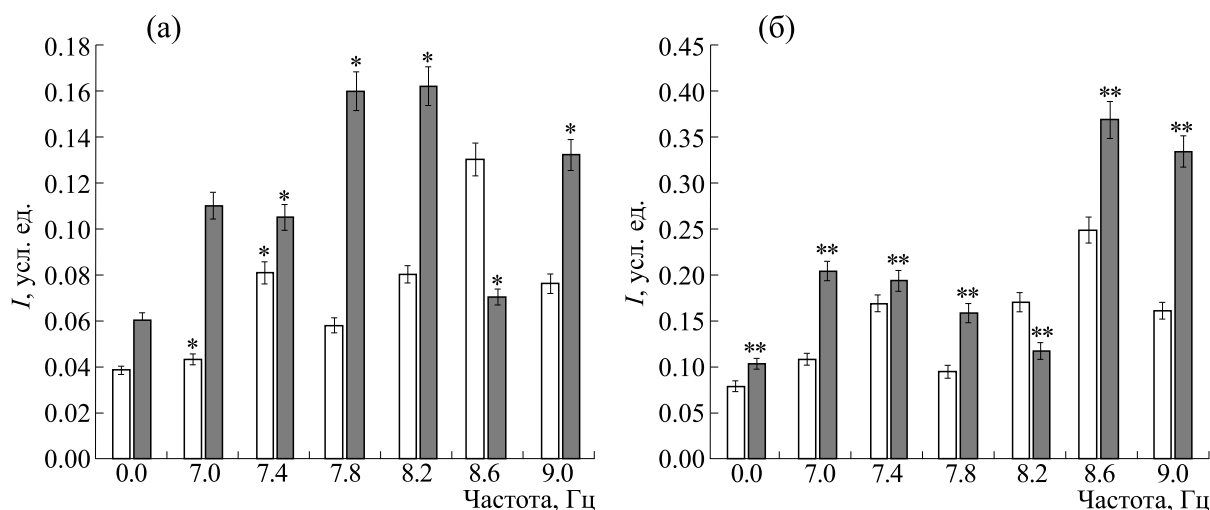


Рис. 4. Влияние переменного магнитного поля на интенсивность хемилюминесценции взвеси МНК, выделенных из периферической крови здоровых (светлые столбики) и больных (темные столбики) доноров: (а) в отсутствии перекиси водорода, (б) при добавлении 20 мкл 0.3% H_2O_2 . Взвесь МНК обрабатывали МП разных частот *in vitro* в течение 15 мин при температуре 22°C; * — $p < 0.05$ в сравнении с контролем — необработанной МП взвесью МНК здоровых доноров; ** — $p < 0.05$ в сравнении с контролем — необработанной МП взвесью МНК здоровых доноров с добавлением перекиси водорода.

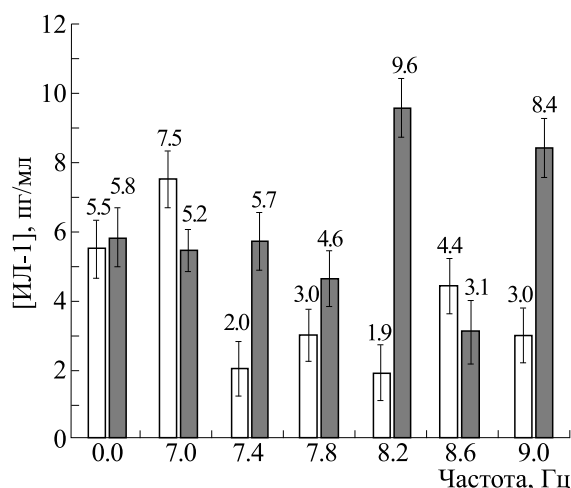


Рис. 5. Содержание ИЛ-1 в сыворотке крови здоровых доноров (светлые столбики) и больных БЭ (темные столбики) после воздействия *in vitro* переменным МП различной частоты.

свидетельствует о том, что патологический процесс снижает устойчивость к влиянию МП, эффект этого воздействия сходен с провоспалительным. Таким образом, если изначальные концентрации ИЛ-1 в контроле и опыте сопоставимы, то характер ответной реакции по выработке ИЛ-1 на воздействие МП в контрольной и опытной группе различен.

Референсным интервалом для ИЛ-6 является диапазон 0–300 пг/мл. Полученные нами значения концентрации ИЛ-6 в контрольной группе лежат в пределах референсных значений как в интактных образцах — 6.6 пг/мл, так и при воздействии МП различной частоты (257 пг/мл при частоте 8.6 Гц). Содержание ИЛ-6 в образцах крови больных БЭ по сравнению с контролем повышено более, чем в 100 раз — 666.1 пг/мл. Это согласуется с литературными данными о том, что содержание этого цитокина значительно повышается при многих патологических процессах [16]. Изучение влияния переменного МП на данную экспериментальную модель показало, что действие МП частотами от 7.0 до 7.8 Гц и от 8.6 до 9.0 Гц, снижает концентрацию этого цитокина до значений референсного интервала. Сопоставимые с воздействием патологического процесса значения концентрации ИЛ-6 (600.86 пг/мл) сохраняются лишь при частоте МП 8,2 Гц.

Референсный интервал для α -ФНО составляет 0–12 пг/мл. Как видно на рис. 6, исходные показатели α -ФНО в нативных образцах обеих групп остаются в пределах нормы: 5.2 пг/мл в контроле и 4.3 пг/мл при БЭ. Несмотря на то что воздействие МП не приводит к выходу параметров за пороговые значения, обращает внимание сход-

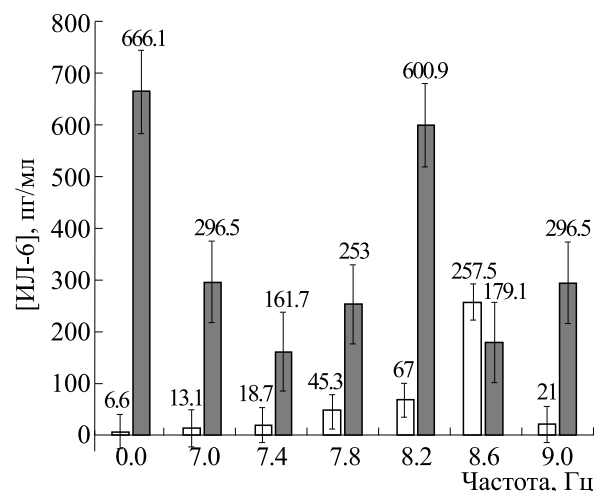


Рис. 6. Содержание ИЛ-6 в сыворотке крови здоровых доноров и больных БЭ после воздействия *in vitro* переменным МП различной частоты.

ство ответной реакции в контрольной и опытной группах. Так, обработка МП со средними частотами (7.4 и 7.8 Гц) повышает концентрацию α -ФНО в обеих группах, а частоты больше 7.8 Гц приводят к резкому его падению. Таким образом, ответную реакцию выработки α -ФНО на воздействие МП при патологическом процессе можно считать сходной с контрольной.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Выяснено, что непосредственно после обработки взвеси МНК переменным МП в клетках происходит увеличение уровня ХЛ, связанное с

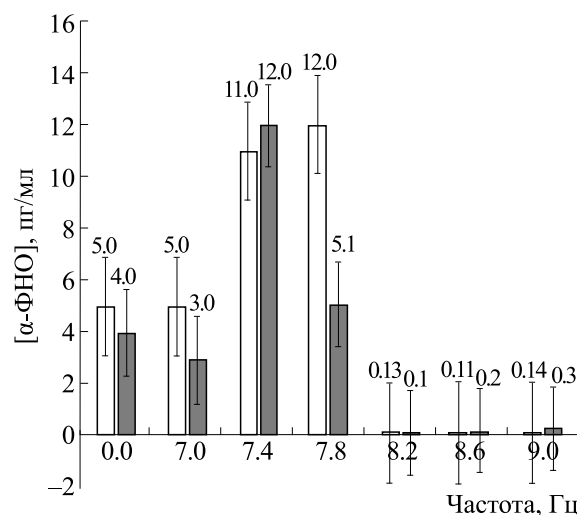


Рис. 7. Содержание фактора некроза опухоли в сыворотке крови здоровых доноров и больных БЭ после воздействия *in vitro* переменным МП различной частоты.

образованием АФК моноцитами, присутствующими во взвеси МНК. Накопление АФК приводит к изменению свойств как бислойных участков мембраны, свободных от белковых компонентов, так и липопротеидных мембранных комплексов. Такие существенные различия между откликами МНК периферической крови, взятых у здоровых доноров и больных БЭ, на воздействие МП можно объяснить состоянием мембран и происходящими внутриклеточными процессами [9, 13–15]; отмечается, что для больных БЭ такие повреждения значительны [16, 17]. Таким образом, при патологии МНК обладают повышенной собственной ХЛ и отвечают на слабые воздействия электромагнитного поля усилением ХЛ, в отличие от МНК здоровых людей.

В целом при неспецифической стимуляции ХЛ клеток с помощью переменного МП характерно увеличение проницаемости мембран, активация «дыхательного взрыва» — образование АФК и активных форм азота в клетках, в которых есть ферменты NADPH-оксидазы и NO-синтазы. Эти ферменты в большом количестве присутствуют только в нейтрофилах, их мало в моноцитах, а в лимфоцитах по данным литературных источников они отсутствуют [2, 3]. Кроме того, в водной среде возможно образование некоторых количеств АФК, которые генерируются при воздействии низкоинтенсивных факторов, например, низкочастотного МП [8, 9]. Это согласуется с данными работы [18], в которой авторы изучали эффект действия слабого МП на ХЛ венозной крови человека. Приведенные в работе [18] результаты свидетельствуют о роли свободных радикалов, генерируемых кровью, в механизмах биологического действия МП.

Полученные данные показывают, что в интактных образцах концентрация ИЛ-1 и α -ФНО в контроле и в экспериментальной группе практически не отличается. Напротив, концентрация ИЛ-6 в опытных образцах значительно превышает по сравнению с контролем. ИЛ-6 — провоспалительный цитокин, который синтезируется в больших количествах Th-2-лимфоцитами, моноцитами и макрофагами в ответ на воспалительный процесс и опосредует развитие гуморального иммунитета. При ряде аутоиммунных заболеваний наблюдается его избыточная экспрессия [17]. Синергически взаимодействуя с ИЛ-1, α -ФНО вызывает гиперпродукцию эпидермального фактора роста и способствует гиперпролиферации клеток эпидермиса. В изучаемой экспериментальной модели концентрация ИЛ-1 и α -ФНО остается не выше контрольных показателей. Очевидно, в каскаде биохимических процессов при БЭ подобное синергетическое взаимодействие выражено недостаточно. Это, возможно, является одной из причин формирования длительно незаживающих ран на коже при данной патологии. Кроме того, более выраженная ассоциация ИЛ-6

с БЭ по сравнению с ИЛ-1 и α -ФНО в изучаемой экспериментальной модели дает основание для использования данного показателя в качестве молекулярного маркера при БЭ. Это может явиться важным шагом к персонализированному подходу прогноза течения и терапии при БЭ.

Характер ответной реакции рассматриваемых метаболитов на обработку переменным МП различен. Наблюдаемые нами высокие уровни концентрации ИЛ-1 и ИЛ-6 при воздействии МП с частотой 8.2 Гц и 9.0 Гц можно сопоставить с действием патологического процесса, инициирующего воспалительный ответ. Это может быть связано с влиянием МП на выработку АФК. Известно, что низкочастотное электромагнитное поле приводит к генерации малых доз АФК, оказывая на клеточном уровне как стимулирующее, так и повреждающее воздействие [9, 18, 19]. Возможно, именно с изменением содержания АФК связано и снижение концентрации ИЛ-6 при частотах МП 7.4, 7.6 и 8.6 Гц, а также содержание α -ФНО при частотах от 8.2 до 9.0 Гц. Подобный эффект снижения цитокинового ответа наблюдался при изучении влияния ингибиторов сигнальных каскадов NF- κ B и SAPK/JNK на функциональную активность иммунных клеток мышей [20]. Как известно, определенный уровень АФК в организме крайне необходим, поскольку действие многих мессенджеров происходит либо через активацию системы генерирования АФК, либо через ингибирование антиоксидантной системы [19].

ВЫВОДЫ

Усиление ХЛ при воздействии переменным МП на взвесь МНК, выделенных из крови как здоровых, так и больных БЭ, по-видимому, связано как с активацией «дыхательного взрыва» — образованием АФК в моноцитах, в которых есть ферменты NADPH-оксидазы, так и с образованием в водной фазе АФК, которые генерируются при воздействии низкоинтенсивным МП. Действие многих мессенджеров и, в частности, цитокинов происходит либо через активацию системы генерирования АФК, либо через ингибирование антиоксидантной системы. Способность МНК к восстановлению и/или поддержанию цитокинового уровня отражает их адаптационные возможности и функциональную активность. Таким образом, слабые воздействия низкочастотным МП, приводящие к генерации малых доз АФК, в целом оказывают как протекторное влияние на иммунокомпетентные клетки, так и повреждающее.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Кубанского научного фонда в рамках научного проекта № 20.1/119.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствовали этическим стандартам Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям. От всех участников предварительно было получено информированное добровольное согласие на участие в исследовании.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. А. М. Сташков и И. Е. Горохов, Биофизика **43** (5), 157 (2007).
2. Р. В. Петров, Иммунология **5**, 32 (2007).
3. М. Г. Авдеева и М. Г. Шубич, Иммунология **7**, 824 (2006).
4. А. Мияхира, Bioscience blog (2012), <http://technical.sanguinebio.com/types-of-immune-cells-present-in-human-pbmc/>.
5. А. Н. Силков, Т. В. Ковалевская-Кучерявенко и С. В. Сенников, Цитокины и воспаление **1**, 4 (2012).
6. Т. Yoshimoto, *Cytokine Frontiers: Regulation of Immune Responses in Health and Disease* (Springer, Japan, 2014)
7. А. А. Кубанов, А. Э. Карамова, В. И. Альбанова и др., Вестн. дерматологии и венерологии **4**, 28 (2017). DOI: 10.25208/0042-4609-2017-0-4-22-27
8. Е. Е. Tekutskaya, M. G. Baryshev, L. R. Gusaruk, and G. P. Ilchenko, Biophysics **65** (4), 564 (2020). DOI: 10.1134/S0006350920040247
9. Е. Е. Tekutskaya, S. S. Dzhimak, E. V. Barysheva, et al., Med. News of North Caucasus **10** (3) 287 (2015)/ DOI: 10.14300/mnnc.2015.10067
10. G. P. Il'chenko, M. G. Baryshev, E. E. Tekutskaya, et al., Measurement Techniques **60** (6), 632 (2017). DOI: 10.1007/s11018-017-1247-7
11. Ю. А. Владимиров, Биохемилюминесценция (Наука, Москва, 2000)
12. А. Н. Герасимов, Медицинская статистика (Наука, Москва, 2007)
13. A. M. Khalil and W. Qassem, Mutat. Res. **2** (15), 141 (2006).
14. А. М. Лягинская и В. А. Григорьев, Радиационная биология. Радиоэкология **50** (1), 83 (2010).
15. Е. Е. Текуцкая, И. Я. Турьян, В. И. Кравцов и др., Журн. неорг. химии **35** (2), 549 (1990).
16. S. Shinkuma, Clin. Cosmet. Investig. Dermatol. **8**, 275 (2015). DOI: 10.2147/CCID.S54681
17. С. В. Смирнова и М. В. Смольникова, Мед. иммунология **16** (2), 127 (2014).
18. В. В. Новиков, Е. В. Яблокова и Е. Е. Фесенко, Биофизика **61** (1), 126 (2016).
19. В. Г. Гривенникова и А. Д. Виноградов, Успехи биол. химии **53**, 245 (2013).
20. Т. В. Новоселова, О. В. Глушкова, С. Б. Парфенюк и др., Биофизика **59** (1), 112 (2014).

Effect of an Alternating Magnetic Field on the Chemiluminescence of Human Peripheral Blood Mononuclear Cells and the Production of Pro-Inflammatory Cytokines

E.E. Tekutskaya*, L.R. Gusaruk**, and G.P. Ilchenko*

*Kuban State University, ul. Stavropol'skaya 149, Krasnodar, 350040 Russia

**Kuban State Medical University, ul. Sedina 4, Krasnodar, 350063 Russia

It has been shown that exposure to an *in vitro* alternating magnetic field with a strength of 550 ± 30 A/m at a frequency of 8.6 and 9.0 Hz leads to a significant change in the chemiluminescence of a suspension of mononuclear cells isolated from the peripheral blood of healthy donors and patients with epidermolysis bullosa (EB). The enzyme-linked immunosorbent assay determined the content of pro-inflammatory cytokines (interleukin-1; interleukin-6 and tumor necrosis factor) in the peripheral blood serum of healthy donors and patients with bullous epidermolysis after exposure to *in vitro* blood samples with variable magnetic field in the frequency range from 7.0 to 9.0 Hz. It was found that with epidermolysis bullosa, the content of interleukin-6 in the blood serum of patients with epidermolysis bullosa is significantly increased in comparison with healthy donors. The action of magnetic field with frequencies from 7.0 to 7.8 Hz and from 8.6 to 9.0 Hz on blood samples from patients with epidermolysis bullosa reduces the concentration of this cytokine to the values of the reference interval. The initial indices of tumor necrosis factor in native samples of both groups remained within the normal range: 5.2 pg/ml in the control and 4.3 pg/ml in epidermolysis bullosa. The impact of magnetic field does not lead to the parameters going beyond the threshold values, while there is a similarity in the response in the control and experimental groups. Thus, the processing of magnetic field with frequencies of 7.4 and 7.8 Hz increases the concentration of tumor necrosis factor in both groups, and magnetic field with frequencies greater than 7.8 Hz leads to a sharp drop in it.

Keywords: peripheral blood mononuclear cells, chemiluminescence, pro-inflammatory cytokines, alternating magnetic field, reactive oxygen species