

ЛЕЙКОЦИТАРНА РЕАКЦІЯ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН З МОДЕЛЛЮ ГОСТРОГО ЗАПАЛЕННЯ НА ДІЮ НЕМОНОХРОМАТИЧНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ ІНФРАЧЕРВОНОГО ДІАПАЗОНУ СПЕКТРА З ДОВЖИНОЮ ХВИЛІ 0,8 МКМ

Т.І. Коляда, А.М. Коробов, Т.О. Лісна, В.А. Коробов

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна,
НД лабораторія квантової біології та квантової медицини
61077 Україна, м. Харків, пл. Свободи, 6,
тел.: (057) 754-80-37, 761-63-09, тел./факс (057)707-51-91
E-mail: lblm@univer.kharkov.ua

УДК 591.11:577.344:535-1

В роботі вивчено дію немонохроматичного випромінювання інфрачервоного діапазону спектра з довжиною хвилі 0,8 мкм на лейкоцитарну реакцію периферичної крові експериментальних тварин з моделлю гострого запалення.

Експеримент поставлено на 66 статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар масою 180-200г. Експериментальних тварин було розподілено на 2 групи: перша – з моделлю гострого запалення (30 тварин), друга – з моделлю гострого запалення на фоні дії немонохроматичного випромінювання інфрачервоного діапазону спектра з довжиною хвилі 0,8 мкм (30 тварин). Контрольну групу склали інтактні тварини (6 тварин).

Опромінення експериментальних тварин здійснювалось світлодіодними джерелами немонохроматичного випромінювання інфрачервоного діапазону спектра з максимумом в області 0,8 мкм та шириною спектра 0,03 мкм на рівні половинної інтенсивності. Потужність випромінювання складала 25 мВт при апертурі випромінювача 1 см². Опромінення зони пупартової зв'язки проводили відразу ж після виклику запалення, а потім щоденно протягом 14 днів по 5 хвилин на сеанс.

Дія немонохроматичного випромінювання інфрачервоного діапазону спектра з довжиною хвилі 0,8 мкм у тварин з гострим запаленням призводить до значного скорочення (з трьох до однієї доби) «прозапальної» клітинної реакції вогнища, обумовленого зниженням еміграції нейтрофілів і лімфоцитів, і появи повторної клітинної реакції на 3-ю–14-у добу, яка полягає в посиленому накопиченні моноцитів («протизапальних» клітин), що в сукупності і відображає протизапальний ефект.

Ключові слова: периферична кров, лейкоцитарна реакція, немонохроматичне випромінювання, інфрачервоний діапазон спектра.

Вступ

Інфрачервоне випромінювання, яке потрапляє на землю від сонця, є одним з головних факторів, що підтримують гомеостаз організму людини в нормі. Тому перебільшити роль світла, в тому числі інфрачервоної його частини, в житті людини просто неможливо. На жаль, урбанізація нашого життя призводить до формування такого негативного явища, як дефіцит сонячного світла, який особливо відчувається в осінне-зимовий період. На цей період припадають найбільш масові захворювання людини – епідемії та пандемії грипу, ГРВІ. Все це є наслідком зниження імунітету.

З метою поліпшення ситуації вже більше ста років розробляються штучні джерела світла, які застосовуються для профілактики і лікування найбільш поширених захворювань людини. Ці джерела постійно вдосконалюються і на цей час

досягли майже ідеальних параметрів, що дозволяє створювати на їх основі будь-які фотонні апарати, максимально наближені за своїми спектральними характеристиками навіть до сонячного світла.

Найбільш популярними джерелами світла, які використовуються останнім часом в апаратах для світлотерапії є лазерні та світлодіодні випромінювачі. Ці прилади мають велику перспективу щодо застосування у медицині та біології, а тому потребують всебічного дослідження їхнього впливу на різні системи біологічних об'єктів, а також в цілому на живі організми.

Це завдання передбачає проведення досліджень в двох напрямках. По-перше, необхідно вивчити дію інфрачервоного випромінювання на здоровий організм, а по-друге – дослідити його дію на організм з патологією.

В попередній роботі [4] нами приведені результати дослідження дії немонохроматичного випромінювання інфрачервоного діапазону спектра на імунну систему здорових експериментальних тварин, що дозволило зробити дуже важливий висновок щодо перспективності застосування вказаного випромінювання для профілактики найбільш поширених захворювань людини завдяки підвищенню резистентності організму за рахунок формування загального адаптаційного синдрому. Подібні висновки були зроблені і авторами роботи [1].

Для вивчення впливу немонохроматичного випромінювання інфрачервоного діапазону спектра на організм, зокрема на його імунну систему, в умовах патології першорядне значення мають дослідження під час основного типового патологічного процесу – запалення. Запалення як патологічний процес лежить в основі більше 70% існуючих хвороб людини і тому є центральною проблемою медицини.

Метою даної роботи є вивчення у динаміці дії немонохроматичного випромінювання інфрачервоного діапазону спектра з довжиною хвилі 0,8 мкм на лейкоцитарну реакцію периферичної крові експериментальних тварин з моделлю гострого запалення.

Матеріали та методи

Експеримент поставлено на 66 статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар масою 180-200 г. Експериментальних тварин було розподілено на 2 групи: перша – з моделлю гострого запалення (30 тварин), друга – з моделлю гострого запалення та при дії немонохроматичного випромінювання інфрачервоного діапазону спектра з довжиною хвилі 0,8 мкм (30 тварин). Контрольну групу склали інтактні тварини (6 тварин).

Гостре запалення викликали внутрішньочеревним введенням ліпополісахариду (ЛПС), отриманого з *Escherichia coli* штаму 0111:B4 («Sigma», США), з розрахунку 100 мкг/кг маси тіла в 1 мл ізотонічного розчину NaCl.

Опромінення експериментальних тварин здійснювалось світлодіодними джерелами немонохроматичного випромінювання інфрачервоного діапазону спектра з максимумом в області 0,8 мкм та шириною спектра 0,03 мкм на рівні половинної інтенсивності. Потужність випромінювання складала 25 мВт при апертурі випромінювача 1 см².

Потужність випромінювання світлодіодів перед кожним опроміненням (щоденно на початку експерименту та двічі протягом його проведення) контролювалась за допомогою стандартного вимірювача потужності випромінювання «ИМО – 2Н».

Світлове опромінення зони пупартової зв'язки проводили відразу ж після виклику запалення, а потім щоденно протягом 14 днів по 5 хвилин на сеанс. Для забезпечення ідентичності дії на всіх тварин запалення викликалось у кожної чергової тварини з інтервалом в 5 хвилин. Черга та інтервал світлової дії підтримувались протягом всього експерименту. В тій же послідовності та з таким же інтервалом тварини виводились з експерименту.

Тварини виводились з експерименту через 6 годин після виклику запалення, а далі через 1 добу, 3 доби, 7 діб, 14 діб.

Для дослідження у тварин забирали кров. Про лейкоцитарну реакцію периферичної крові робили висновок на підставі визначення загальної кількості лейкоцитів (ЗКЛ) і лейкоцитарної формули.

Підрахунок ЗКЛ здійснювали за допомогою камери Горяєва. Для визначення лейкоцитарної формули мазки крові фіксували в метанолі та фарбували азуром II-езином [5]. Процентний вміст лейкоцитів перераховували на абсолютну кількість клітин на підставі ЗКЛ.

Результати та їх обговорення

Лейкоцитарна реакція периферичної крові під час природнього перебігу гострого запалення. У периферичній крові до 6-ї години запалення виявляється достовірне зниження ЗКЛ у 1,4 рази (рис. 1), що відповідає транзиторній лейкопенії, характерній для початку запалення у зв'язку з маргинацією і еміграцією циркулюючих лейкоцитів, переважанням їх над надходженням клітин з кісткового мозку у кров. При цьому достовірно знижується вміст лімфоцитів у 2,5 рази (рис. 2) і моноцитів у 2,7 рази (рис. 5). В той же час спостерігається нейтрофільний лейкоцитоз, що свідчить про посилене надходження клітин з кістковомозкового постмітотичного резервного пулу, разом із значною еміграцією їх у вогнище запалення. Кількість паличкоядерних нейтрофілів збільшується в 7,3 рази (рис. 3), сегментоядерних – в 2,7 рази (рис. 4). Спостерігається виражена тенденція до підвищення кількості еозинофілів – в 1,7 рази (рис. 6).

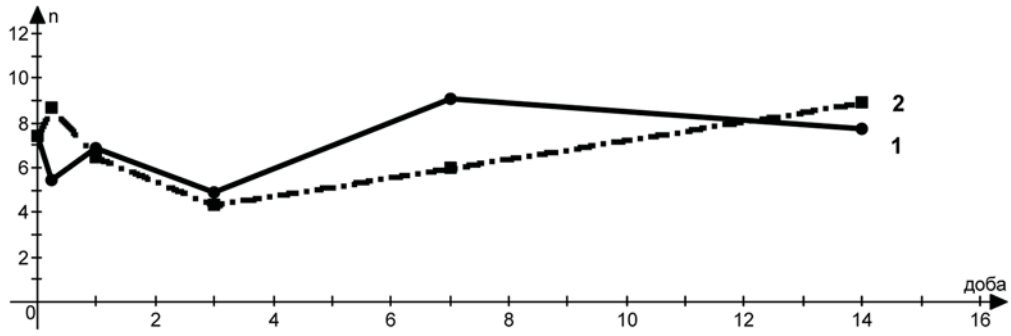


Рис. 1. Загальна кількість лейкоцитів в крові ($\times 10^9/\text{л}$):
1 – запалення (ЛПС); 2 – запалення + світло

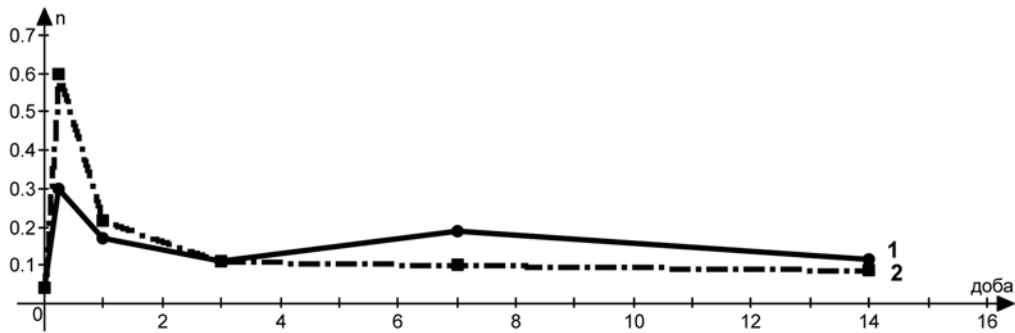


Рис. 2. Вміст паличкоядерних нейтрофілів в крові ($\times 10^9/\text{л}$):
1 – запалення (ЛПС); 2 – запалення + світло

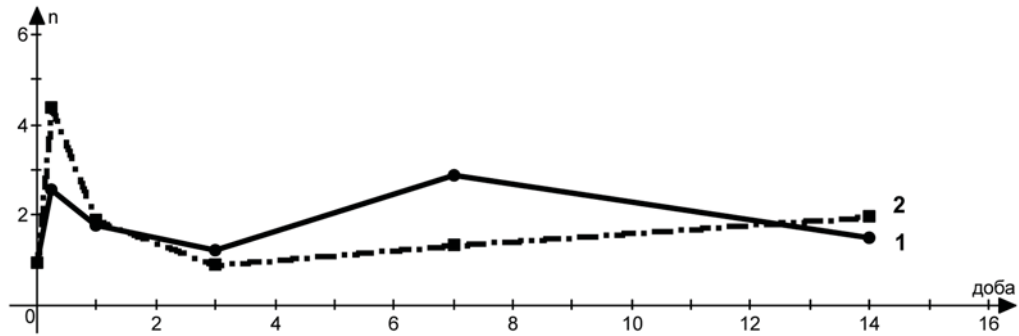


Рис. 3. Вміст сегментоядерних нейтрофілів в крові ($\times 10^9/\text{л}$):
1 – запалення (ЛПС); 2 – запалення + світло

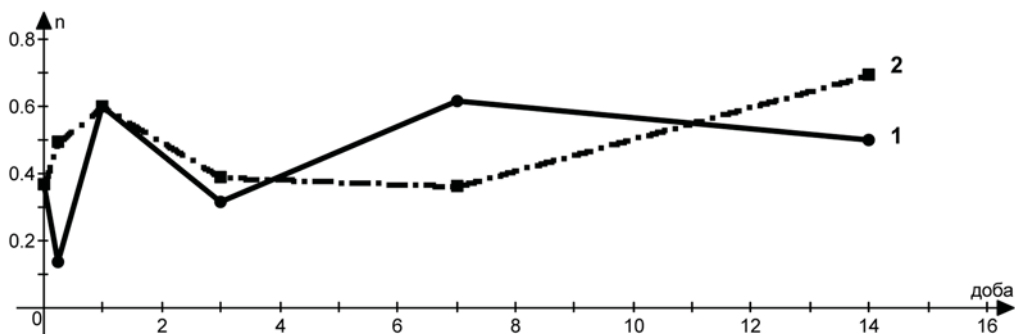


Рис. 4. Вміст моноцитів в крові ($\times 10^9/\text{л}$):
1 – запалення (ЛПС); 2 – запалення + світло

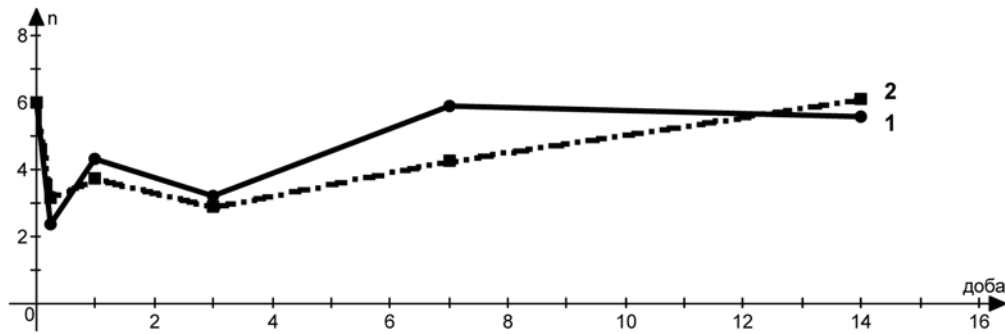


Рис. 5. Вміст лімфоцитів в крові ($\times 10^9/\text{л}$):
1 – запалення (ЛПС); 2 – запалення + світло

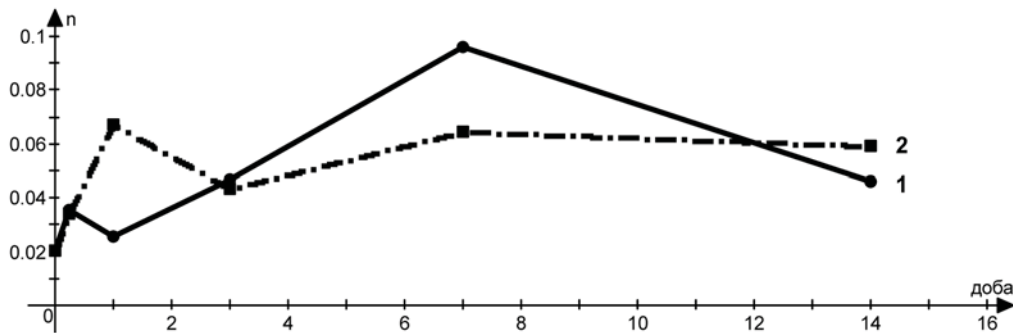


Рис. 6. Вміст еозинофілів в крові ($\times 10^9/\text{л}$):
1 – запалення (ЛПС); 2 – запалення + світло

На 1-у добу запалення ЗКЛ практично відновлюється до рівня контролю (рис. 1), що свідчить про посилення гемопоезу і урівноваження еміграції лейкоцитів із крові у вогнище запалення і надходженням їх із кісткового мозку в кров. Кількість моноцитів не лише значно зростає по відношенню до 6-ої години експерименту (у 4,4 рази) (рис. 5), але й має тенденцію до збільшення порівняно з контролем у 1,6 рази. Вміст лімфоцитів помітно відновлюється – він в 1,8 рази більше, ніж на 6-у годину експерименту і лише в 1,4 рази менше, ніж у контролі (рис. 2). Кількість нейтрофілів знижується порівняно з 6-ою годиною експерименту, але залишається вищим, ніж у контролі, особливо це стосується паличкоядерних (в 4,2 рази) (рис. 3) та сегментоядерних (в 1,8 рази) нейтрофілів (рис. 4), що характерно для активації гемопоезу. Вміст еозинофілів практично повертається до початкового рівня (рис. 6).

На 3-ю добу ЗКЛ знов має виражену тенденцію до зниження, як видно, за рахунок посилення еміграції лімфоцитів і моноцитів, чому відповідають лімфопенія і зниження кількості моноцитів порівняно з 1-ою добою.

При цьому кількість нейтрофілів продовжує знижуватися в порівнянні з 6-ою годиною експерименту, наближаючись до початкової, а вміст еозинофілів знову дещо збільшується.

На 7-у добу спостерігаються тенденція до лейкоцитозу (ЗКЛ збільшується порівняно з контролем в 1,2 рази), еозинофілія, нейтрофілез, відновлення до початкової кількості лімфоцитів і виражена тенденція до збільшення у порівнянні з контролем і 3-ою добою кількості моноцитів. Тобто відбувається збільшення або відновлення всіх клітинних форм, що свідчить про розвиток гіперплазії кісткового мозку, яка є характерною для запалення в цей час [2, 3].

На 14-у добу ЗКЛ і вміст всіх форм лейкоцитів змінюються у напрямку до початкових.

Таким чином, в периферичній крові динаміка лейкоцитарної реакції відповідає класичній, і, у порівнянні з інфекційним запаленням, не виявляється вираженого лейкоцитозу; при цьому звертає на себе увагу лімфопенія, викликана, ймовірно, посиленою еміграцією лімфоцитів у вогнище запалення.

Лейкоцитарна реакція периферичної крові при гострому запаленні на тлі дії

немонохроматичного випромінювання інфрачервоного діапазону спектра. ЗКЛ у крові має тенденцію до збільшення на 6-у годину експерименту, а потім поступово знижується не лише у порівнянні з 6-ою годиною, але й з контролем. Внаслідок цього на 3-ю добу експерименту спостерігається достовірна лейкопенія (ЗКЛ менше контрольного рівню в 1,7 рази).

Надалі (на 7-у і 14-у добу) ЗКЛ поступово відновлюється з тенденцією до лейкоцитозу на 14-у добу експерименту (рис. 1).

Тенденція до лейкоцитозу на 6-у годину експерименту обумовлена збільшенням кількості нейтрофілів: паличкоядерних – в 14,7 рази (рис. 3), сегментоядерних – в 4,5 рази (рис. 4); деяким підвищенням вмісту еозинофілів і моноцитів. Надалі число нейтрофілів поступово знижується. Вміст сегментоядерних форм на 3-ю добу є таким, як і в контролі, а потім зростає, внаслідок чого на 14-у добу експерименту виявляється нейтрофільний лейкоцитоз, при якому кількість клітин в 2,1 рази перевищує контрольний рівень.

Вміст еозинофілів характеризується подальшими тенденціями до збільшення із максимумами на 1-у і 7-у добу експерименту (рис. 6); кількість моноцитів на 1-у добу збільшена у 1,6 рази, потім повертається до початкової і знов зростає на 14-у добу у 1,9 рази (рис. 5).

Кількість лімфоцитів різко знижується до 6-ої години експерименту в 1,9 рази, ще дещо зменшується до 3-ої доби, а потім поступово збільшується і на 14-у добу досягає рівня контролю (рис. 2).

Висновки

Лейкоцитарна реакція крові відображає співвідношення кількості клітин, що надійшли у кров з імунних органів і кровотворної тканини, з одного боку, і що емігрували із крові у вогнище запалення – з іншого боку, тобто залежить від декількох змінних і від того, який із факторів переважає на даний момент.

За показниками ЗКЛ у периферичній крові видно, що у тварин першої групи (з моделлю гострого запалення) в основному переважає еміграція лейкоцитів. Під час

запалення в умовах дії немонахроматичного випромінювання інфрачервоного діапазону спектра з довжиною хвилі 0,8 мкм (друга група) на 6-у годину експерименту переважає надходження лейкоцитів із кісткового мозку у кров, хоча в цей час і зменшується еміграція нейтрофілів і моноцитів порівняно з природним перебігом запалення, але посилюється вихід у вогнище лімфоцитів.

Дія немонахроматичного випромінювання інфрачервоного діапазону спектра з довжиною хвилі 0,8 мкм у тварин з гострим запаленням призводить до значного скорочення (з трьох до однієї доби) «прозапальної» клітинної реакції вогнища, обумовленого зниженням еміграції нейтрофілів і лімфоцитів, і появи повторної клітинної реакції на 3-14-у добу, яка полягає в посиленому накопиченні моноцитів («протизапальних» клітин), що в сукупності і відображає проти-запальний ефект.

Роботу виконано в межах україно-білоруського проекту Ф29.4/013 «Закономірності та механізми дії електромагнітного випромінювання інфрачервоного діапазону спектра на імунну систему», що фінансується Державним фондом фундаментальних досліджень.

Література

1. Бугаева И.О. Влияние низкоинтенсивного инфракрасного лазерного излучения на органы иммуногенеза // Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. – Саратов, 2006. – 37 с.
2. Дыгай А.М. Воспаление и гемопоэз / А.М. Дыгай, Н.А. Клименко. – Томск: Изд-во Томск. ун-та, 1992. – 276 с.
3. Коляда Т.И. Лейкоцитарная реакция периферической крови и брюшной полости на действие немонахроматического излучения инфракрасного диапазона спектра. / Т.И. Коляда, А.М. Коробов, Т.А. Лесная // Фотобіологія та фотомедицина – 2009. – № 2,3. – С. 98-101.
4. Лабораторные методы исследования в клинике: справочник / Под. ред. В.В. Меншикова. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
5. Реакции системы крови при воспалении и механизмы их развития / А.М. Дыгай, Н.А. Клименко, Е.В. Абрамова и др. // Пат. физиол. – 1991. – №6. – С. 28–31.

*ЛЕЙКОЦИТАРНАЯ РЕАКЦИЯ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ С
МОДЕЛЮ ОСТРОГО ВОСПАЛЕНИЯ НА ДЕЙСТВИЕ НЕМОНОХРОМАТИЧЕСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ
ИНФРАКРАСНОГО ДИАПАЗОНА СПЕКТРА С ДЛИНОЙ ВОЛНЫ 0,8 МКМ*

*Т.И. Коляда, А.М. Коробов, Т.А. Лесная, В.А. Коробов
Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина,
НИ лаборатория квантовой биологии и квантовой медицины,
61077 Украина, г. Харьков, пл. Свободы, 6,
тел.: (057) 761-63-09, 754-80-37, тел./факс (057)707-51-91
e-mail: lblm@univer.kharkov.ua*

В работе изучено действие немонахроматического излучения инфракрасного диапазона спектра на лейкоцитарную реакцию периферической крови экспериментальных животных с моделью острого воспаления.

Эксперимент поставлен на 66 половозрелых крысах-самцах линии Вистар массой 180-200 г. Экспериментальные животные были разделены на 2 группы: первая – с моделью острого воспаления (30 животных), вторая – с моделью острого воспаления на фоне действия немонахроматического излучения инфракрасного диапазона спектра (30 животных). Контрольную группу составляли интактные животные (6 животных).

Облучение экспериментальных животных проводилось светодиодными источниками инфракрасного излучения с максимумом в области 0,8 мкм и шириной спектра 0,03 мкм на уровне половинной интенсивности. Мощность излучения составляла 25 мВт при апертуре 1 см². Облучение инфракрасным излучением зоны пупартовой связки проводили ежедневно в течение 14 дней по 5 минут на сеанс.

Действие немонахроматического излучения инфракрасного диапазона спектра с длиной волны 0,8 мкм у животных с острым воспалением приводит к значительному сокращению (с трех до одних суток) «провоспалительной» клеточной реакции очага, обусловленному снижением эмиграции нейтрофилов и лимфоцитов, и появлению повторной клеточной реакции на 3-14-е сутки эксперимента, состоящей в усиленном накоплении моноцитов («противовоспалительных» клеток), что в совокупности и отражает противовоспалительный эффект светового воздействия.

Ключевые слова: периферическая кровь, лейкоцитарная реакция, немонахроматическое излучение, инфракрасный диапазон спектра.

*LEUKOCYTIC RESPONSE OF PERIPHERAL BLOOD OF EXPERIMENTAL ANIMALS WITH ACUTE
INFLAMMATION MODEL TO THE EFFECT OF NON-MONOCHROMATIC*

INFRARED RADIATION WITH 0,8 μM WAVELENGTH

*T.I. Kolyada, A.M. Korobov, T.A. Lesnaya, V.A. Korobov
V.N. Karazin Kharkiv National University,
Research Laboratory for Quant Biology and Quant Medicine
61077 Ukraine, Kharkiv, Svobody sq., 6,
tel.: (057)761-63-09, 754-80-37, tel./fax (057)707-51-91
E-mail: lblm@univer.kharkov.ua*

In this research work the effect of non-monochromatic infrared radiation upon leukocytic response of peripheral blood of experimental animals with acute inflammation model was studied.

The experiment was carried out on 66 pubescent male Wistar rats with 180-200 g body weight. The experimental animals were divided into two groups: the first – with acute inflammation model (30 animals) and the second – with acute inflammation model exposed to the effect of non-monochromatic infrared radiation (30 animals). The control group consisted of intact animals (6 animals).

The experimental animals were irradiated with infrared LED-emitters with maximum in 0,8 μm and spectrum width 0,03 μm at half-intensity level. The radiation power was 25 mW by aperture 1 cm². The rats were exposed to the infrared radiation in the fallopian arch zone for 5 minutes per session every day within 14 days.

The effect of non-monochromatic infrared radiation with 0,8 μm wavelength by animals with acute inflammation leads to significant reduction (from three to one day) of «proinflammatory» locus cell-mediated response caused by emigration decrease of neutrophils and leukocytes, and to beginning of repeated cell-mediated response consisting in intensive accumulation of monocytes («anti-inflammatory» cells) on 3^d-14th day, that as a whole reflects the anti-inflammatory effect of light emission.

Key words: peripheral blood, leukocytic response, non-monochromatic infrared radiation.