

## **ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ТИМУСА, ЭПИФИЗА И НАДПОЧЕЧНИКОВ КАК ОТРАЖЕНИЕ РЕГУЛЯТОРНЫХ ПЕРЕСТРОЕК ПРИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ЭФФЕКТАХ СЛАБОГО НИЗКОЧАСТОТНОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

**Жукова Г.В.<sup>1</sup>, Шихлярова А.И.<sup>1</sup>, Брагина М.И.<sup>1</sup>, Бартенева Т.А.<sup>1</sup>, Пржедецкий Ю.В.<sup>1</sup>, Протасова Т.П.<sup>1</sup>, Логинова Л.Н.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия (344037, Ростов-на-Дону, 14 линия, 63), e-mail: galya\_57@mail.ru

<sup>2</sup>ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Самара, Россия (443099, Самара, Чапаевская, 89), e-mail: info@samsmu.ru

---

Описаны изменения микрокартины тимуса и сдвиги в содержании катехоламинов в надпочечниках и серотонина в эпифизе белых беспородных крыс-самцов с перевивной саркомой 45 под влиянием воздействия слабым низкочастотным магнитным полем, осуществлявшегося в одном из режимов активационной терапии. Используются методы гистологии, морфометрии и флуоресцентной гистохимии. Получены противоопухолевые эффекты разной степени выраженности, вплоть до полной регрессии опухолей. В тимусе наряду с показателем лимфопрлиферативной активности рассматриваются характеристики межклеточных взаимодействий с участием тканевых базофилов. Затронут вопрос о «серотониногенном» действии магнитного поля. Обсуждается связь выраженности противоопухолевого эффекта магнитного воздействия с изменением адаптационного статуса экспериментальных животных и перестройкой процессов нейроэндокринной и иммунной регуляции.

Ключевые слова: слабое низкочастотное магнитное поле, антистрессорные адаптационные реакции, нейроэндокринная регуляция, иммунная система, моноамины

## **CHANGES IN THE SIGNS OF THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF THYMUS, PINEAL GLAND AND ADRENAL GLANDS AS A REFLECTION OF REGULATORY REARRANGEMENTS UNDER THE ANTITUMOR INFLUENCE OF THE WEAK LOW-FREQUENCY MAGNETIC FIELD IN THE EXPERIMENT**

**Zhukova G.V.<sup>1</sup>, Shikhliarova A.I.<sup>1</sup>, Bragina M.I.<sup>1</sup>, Barteneva T.A.<sup>1</sup>, Przhedetsky Y.V.<sup>1</sup>, Protasova T.P.<sup>1</sup>, Loginova L.N.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Federal State Institution «Rostov Research Institute of Oncology», Rostov-on-Don, Russia (344037, Rostov-on-Don, 14th line, 63), e-mail: galya\_57@mail.ru

<sup>2</sup>Samara State Medical University, Samara, Russia (4430997, Samara, Chapayevsk street, 89), e-mail: info@samsmu.ru

---

Changes in the thymus micropicture as well as in the index of the content of catecholamines in adrenal glands and of serotonin in epiphysis of white male rats with transplanted sarcoma 45 under the influence of a weak low-frequency magnetic field which was carried out in one of the regimes of *activation therapy* were described. The methods of histology, morphometry and fluorescence histochemistry were used. Antitumor effects of varying degrees, up to complete regression of tumors, were obtained. There were index of lymphoproliferative activity as well as signs of intercellular interactions involving tissue basophiles investigated in the thymus. The question about «serotonin-secretory» action of magnetic fields has been affected. The relations between the the depth of antitumor action of the magnetic field and the changes of adaptation status as well as the restructuring processes of the neuroendocrine and immune regulation were discussed.

Keywords: weak low-frequency magnetic field, antistress adaption reactions, neuroendocrine regulation, immune system, monoamines

В результате многолетних экспериментально-клинических исследований была установлена связь между противоопухолевым действием факторов различной природы и развитием под влиянием этих факторов общих неспецифических антистрессорных адаптационных реакций организма [3]. При этом были разработаны эффективные алгоритмы активационной терапии, предусматривающие использование низкоинтенсивных

электромагнитных излучений с целенаправленно изменяющимися биотропными параметрами. В то же время вопросы о процессах в регуляторных структурах нейроэндокринной и иммунной систем, обеспечивающих развитие антистрессорных АР и повышение неспецифической противоопухолевой резистентности, были изучены далеко не полностью.

В настоящее время хорошо известно о важной гомеостатической роли эпифиза и надпочечников [1, 2, 6]. Показаны хронотропные, иммунотропные, ноотропные, антистрессорные и противоопухолевые эффекты эпифизарных факторов индоламиновой и пептидной природы. Было выявлено модулирующее влияние эпифиза на функционирование целого ряда структур НЭС, объединенных в системы с центрами в гипоталамусе и гипофизе (эндокринные оси). При этом в случае нарастания неблагоприятных изменений в организме было отмечено усиление функциональной связи эпифиза с надпочечниками для осуществления эффективной «поправочной» регуляции деятельности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы [2].

Представляет интерес комплексное исследование состояния органов иммунной системе и показателей активности эпифиза и надпочечников при активационной терапии онкологических заболеваний в эксперименте.

**Целью** исследования явилось изучение изменения уровня моноаминов в эпифизе и надпочечниках в комплексе со сдвигами показателей функционального состояния тимуса при повышении адаптационного статуса и неспецифической противоопухолевой резистентности организма крыс под влиянием активационной магнитотерапии.

### **Материалы и методы**

Эксперименты проводили на 33 белых беспородных крысах-самцах весом 200-300 г разведения вивария Ростовского научно-исследовательского онкологического института. В качестве опухолевой модели использовали перевивную саркому 45, полученную в лаборатории комбинированной терапии опухолей РОНЦ им. Н.Н. Блохина. По достижении опухолью размеров 0,7–1 см<sup>3</sup> начинали воздействие. Магнитное воздействие осуществляли на голову животного, помещенного в плексигласовую камеру, 4–5 раз в неделю в первой половине дня. Использовали аппарат «Градиент-1». Характеристики воздействия — 50 Гц (синусоидальная форма сигнала), пульсирующий режим, индукция у поверхности головы животного 1 мТл. Экспозицию магнитного поля от сеанса к сеансу изменяли в диапазоне 2–7 мин в соответствии с алгоритмами активационной терапии [3]. Продолжительность курса воздействий составила 3 недели.

В течение экспериментов 2 раза в неделю измеряли размеры опухолей с определением их объема с помощью формулы Шрека для эллипсоидов, а также 1 раз в неделю и в день

забой у животных брали кровь из поверхностной вены бедра для подсчета лейкоцитарной формулы. Структуру (характер и напряженность) общих неспецифических адаптационных реакций организма (АР) оценивали с помощью показателей лейкоцитарной формулы периферической крови [3]. При этом основным сигнальным показателем служило относительное содержание лимфоцитов. Структуру АР в конце эксперимента уточняли с помощью данных о весовых коэффициентах тимуса и надпочечников, а также результатов морфофункционального анализа состояния тимуса. Забой проводили путем декапитации на фоне эфирного наркоза.

При изучении микрокартины тимуса срезы парафиновые срезы толщиной 4–6 мкм окрашивали по Браше. Применяли морфометрические методы для подсчета стромально-паренхиматозного коэффициента (СПК), а также среднего числа тканевых базофилов (ТБ) по данным 7–10 полей зрения при объективе 40. При этом относительно общего числа тканевых базофилов определялась доля дегранулировавшихся форм клеток, а также клеток, расположенных в лимфоцитарной паренхиме тимуса рядом с тимоцитами («контакты» тканевых базофилов и тимоцитов). Эти показатели, по нашему мнению, позволяли охарактеризовать активность межклеточных взаимодействий в центральном органе иммунной системы.

Для оценки содержания серотонина в эпифизе и катехоламинов в надпочечниках применяли метод Фалька—Хилларпа [9]. При этом в надпочечниках определяли общее содержание норадреналина и адреналина. Процедура включала подготовку криостатных срезов органов, хранившихся в жидком азоте, и их последующую обработку в парах параформальдегида. Микропрепараты эпифиза и надпочечников изучали с помощью микроскопа ЛЮМАМ-ИЗ, имевшего фотометрическую насадку ФМЭЛ-1А. Оптические фильтры подбирали в соответствии со спектральными характеристиками флуорофоров. При исследовании срезов надпочечников учитывали эффект Бецольда—Брука (сдвиг максимума спектра флуоресценции в сторону большей длины волны при высоких концентрациях катехоламинов). Измерение интенсивности флуоресценции проводили в 10—15 полях зрения в каждом из 5—6 срезов при объективе «40» в надпочечниках и при объективе «90» — в эпифизе. Таким образом, каждый случай характеризовался средним значением интенсивности флуоресценции производных катехоламинов или серотонина в 50—90 локусах исследованных органов.

При статистической обработке результатов исследования использовали t-критерий Стьюдента, критерий Вилкоксона—Манна—Уитни и Z-критерий знаков.

### **Результаты и обсуждение**

Магнитное воздействие с локализацией на структуры ЦНС произвело противоопухолевый эффект, по степени выраженности которого можно было разделить животных основной группы на 2 подгруппы. В первую подгруппу вошли 5 животных с регрессией саркомы 45 на 70–100%, а вторую подгруппу составили 11 крыс с торможением роста опухоли на 53% (табл. 1 и 2). При этом животные разных подгрупп отличались от крыс контрольной группы и друг от друга характером АР, преобладавших в последнюю неделю эксперимента и в день забоя. В контрольной группе к концу эксперимента основная часть крыс находилась в АР стресс, и только в четверти случаев была отмечена АР тренировки (табл. 1 и 2).

**Таблица 1**

Адаптационный статус и характеристики морфофункционального состояния тимуса при различной выраженности противоопухолевого влияния магнитного воздействия

Группа	Объем опухоли см <sup>3</sup>	Антистрес. АР, %		Тимус				
		Всего	СА+ПА	Относит. масса	СПК×10 <sup>3</sup>	ТБ	Доля дегр.ТБ	Доля "контактов" ТБ и ТМЦ
Контроль, (9)	22,0±2,1	25	0	0,22±0,05	52±10	3,6±0,4	0,4±0,2	0,11±0,05
МП (16)	1п/г (5) ●◆	100	60	0,70±0,15 ●	25±7 ●	6,5±0,6 ●■-	0,8±0,2 ●	0,74±0,11 ●
	2п/г (11) ●	54	28	0,51±0,12 ●	24±6 ●	6,7±0,5 ●■	0,9±0,3 ●	0,40±0,10 ●
Без опухоли (8)	-	100	50	0,67±0,11 ●	27±7 ●	4,3±0,3	0,7±0,2	0,50±0,15 ●

*Обозначения:* МП — магнитное поле; Антистрес. АР — антистрессорные АР, СА — АР спокойной активации, ПА — АР повышенной активации, СПК — стромально-паренхиматозный коэффициент, ТБ — тканевые базофилы, Дегр. ТБ — дегранулирующие формы тканевых базофилов, ТМЦ — тимоциты.

*Примечания:* ● — отличается от значений в контрольной группе,  $p < 0,05-0,01$ ; ■ — отличается от значений у крыс без опухолей,  $p < 0,05-0,01$ ; ◆ — отличается от значений у животных во 2-й подгруппе основной группы (МП)

У животных основной группы преобладали антистрессорные АР. При этом в первой подгруппе такие АР наблюдались у всех крыс, а во второй подгруппе — примерно у половины особей (табл. 1 и 2). Кроме того, рассматриваемые категории животных различались по представленности в спектре АР наиболее благоприятных для организма реакций спокойной (СА) и повышенной (ПА) активации. Эти АР отсутствовали у крыс контрольной группы, были отмечены менее чем у трети животных основной группы с торможением роста опухоли, а у крыс с регрессией саркомы 45 под влиянием магнитного воздействия встречались более чем в половине случаев (табл. 1 и 2). Таким образом, наблюдалось четкое соответствие между влиянием магнитного поля на адаптационный

статус крыс-опухоленосителей и выраженностью противоопухолевого эффекта данного фактора.

Исследованные показатели морфофункционального состояния тимуса свидетельствовали об активизации лимфопролиферативных процессов и межклеточных взаимодействий в центральном органе иммунитета под влиянием магнитного воздействия. Это выражалось в повышении в 2–3 раза относительной массы органа, двукратном снижении стромально-паренхиматозного коэффициента, увеличении количества тканевых базофилов и их дегранулирующих форм, а также в значительном повышении числа случаев расположения этих клеток вблизи тимоцитов («контакты»), что свидетельствовало об увеличении их влияния на лимфоциты тимуса (табл. 1). При этом в основной группе не было отмечено статистически значимых различий между изученными характеристиками микрокартины тимуса животных разных подгрупп.

В то же время исследованные показатели морфофункционального состояния тимуса не могли отразить состав биохимических регуляторов, находившихся в паренхиме органа тимуса и определяющих состояние и характер взаимодействия клеточных структур тимуса, который мог существенно различаться у крыс разных подгрупп. Можно предположить, что возможные различия в состоянии клеточных элементов тимуса, имеющих разнообразные рецепторы и способность к синтезу и секреции целого ряда биологически активных веществ [2, 6, 10], были обусловлены гуморальными факторами, влияющими на функциональный профиль клетки. В этой связи интересно оценить активность структур, секретирующих катехоламины и серотонин, — моноаминов, способных оказывать системное действие на организм, а также модулировать состояние и реактивность иммунокомпетентных клеток.

В таблице 2 представлены результаты гистохимического изучения показателей уровня моноаминов в надпочечниках и эпифизе, а также соотношение веса тимуса и надпочечников. Как видно из таблицы, у крыс контрольной группы поздние этапы опухолевого роста характеризовались снижением уровня катехоламинов в надпочечниках. В совокупности с характером преобладавшей АР и низким значением соотношения веса тимуса и надпочечников это могло отражать развитие стадии истощения хронического стресса.

**Таблица 2**

Адаптационный статус и показатели содержания моноаминов в надпочечниках и эпифизе при различной выраженности противоопухолевого влияния магнитного воздействия

Группа	Объем опухоли см <sup>3</sup>	Антистресс.- АР, %		Вес тим./ Вес надп.	Сод. катехоламинов в надпочечниках, у.е.	Сод. серотонина в эпифизе, у.е.
		Всего	СА+ ПА			
Контроль, N=9	22,0±2,1	25	0	2,2±0,2	80±4	67±4

МП N=16	1 n=5	0,75±0,38 ●◆	100	60 ●◆	5,1±0,1 ●◆	100±4 ●◆	58±2 ■◆
	2 n=11	10,4 ±1,6 ●	54	28	3,7±0,3 ●	90±1 ●	47±4 ■●
Без опухоли N=8	-	-	100	50	4,3±0,2 ●	93±2 ●	73±2

Обозначения и примечания — см. таблицу 1

Наиболее высокие значения показателя уровня надпочечниковых катехоламинов и значения соотношения веса тимуса и надпочечников были отмечены у крыс с регрессией опухолей под влиянием магнитного воздействия (табл. 2). В то же время по данным показателям эти животные статистически не отличаются от крыс без опухолей. По нашему мнению, это может свидетельствовать об относительно высокой, но не выходящей за физиологические границы активности процессов в мозговом веществе надпочечников, что характерно для антистрессорных АР спокойной и повышенной активации [5]. У крыс с торможением роста саркомы 45 под влиянием магнитного поля показатель уровня катехоламинов в надпочечниках также не отличался от значений у животных без опухолей, но был ниже, чем у крыс с регрессией опухолей (табл. 2). Аналогичное отличие животных с торможением роста опухоли от крыс с регрессией саркомы 45 было отмечено и по соотношению веса тимуса и надпочечников. Очевидно, эти различия у крыс с разной выраженностью противоопухолевого эффекта воздействия были обусловлены различием в выраженности антистрессорного влияния магнитного поля [5].

Показатели содержания серотонина в эпифизе животных основной группы имели невысокие значения, заметно отличавшиеся от показателей у крыс без опухолей (табл. 2). Отмеченное обстоятельство мы связываем с усилением секреции эпифизарного серотонина под влиянием магнитного воздействия и реализацией активизирующих, стресс-лимитирующих и модулирующих эффектов этого моноамина в тканях и периферических регуляторных структурах, а также в различных звеньях иммунной системы [5, 7, 10]. О «серотониногенном» действии магнитных полей (недооцененном специалистами в связи с общепринятым акцентом на эффектах мелатонина) свидетельствуют и результаты ранее проведенных исследований [4, 8]. При этом необходимо отметить все же более высокие значения данного показателя у крыс с регрессией саркомы 45 по сравнению с наблюдавшимся у животных с менее выраженным эффектом магнитного поля – торможением роста опухоли (табл. 2). Такое соотношение уровня серотонина в эпифизе у крыс разных подгрупп так же, как и аналогичное соотношение уровня катехоламинов в надпочечниках животных с торможением роста и регрессией опухоли, мы связываем с различиями в активизирующем влиянии магнитного воздействия на центры нейроэндокринной регуляции, обусловленными вариациями чувствительности и исходного

состояния экспериментальных животных. Это может приводить к различиям в характере клеточных взаимодействий, интенсивности и направленности процессов в тимусе и других звеньях иммунной системы, определяющих выраженность противоопухолевого эффекта.

### **Заключение**

Применение слабого низкочастотного магнитного поля в соответствии с режимами активационной терапии способствует значительной активизации механизмов противоопухолевой резистентности и достижению выраженных противоопухолевых эффектов, вплоть до полной регрессии перевивных опухолей. При этом в тимусе повышение лимфопролиферативной активности сопровождается усилением признаков межклеточных взаимодействий с участием тканевых базофилов. Выраженность противоопухолевого эффекта воздействия может быть связана с интенсивностью секреции моноаминов надпочечников и эпифиза, влияющей на результат межклеточных взаимодействий, активность и направленность локальных и системных иммунных процессов. Полученные результаты расширяют сведения об особенностях нейро-эндокрино-иммунной регуляции при повышении неспецифической противоопухолевой резистентности в эксперименте с помощью слабых электромагнитных воздействий.

### **Список литературы**

1. Анисимов В.Н. Эпифиз, биоритмы и старение организма // Успехи физиологических наук. — 2008. — Т. 39, № 4. — С. 40–65
2. Арушанян Э.Б. Гормон эпифиза мелатонин и его лечебные возможности // Русский медицинский журнал. — 2005. — Т. 13, № 26. — С. 1755–1760.
3. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Кузьменко Т.С., Шихлярова А.И. Антистрессорные реакции и активационная терапия. Екатеринбург: РИА «Филантроп», 2002. — Ч. I. — 194 с.
4. Жукова Г.В. О связи содержания биогенных аминов в форменных элементах периферической крови, надпочечниках и эпифизе с характером и напряженностью общих неспецифических адаптационных реакций организма: Автореф. дис. канд. биол. наук. — Ростов-на-Дону, 1994. — 20 с.
5. Жукова Г.В., Гаркави Л.Х., Михайлов Н.Ю., Евстратова О.Ф., Машенко Н.М., Толмачев Г.Н., Бартенева Т.А., Логинова Л.Н. Об информативности некоторых гитохимических, цитологических и биоритмических показателей для оценки изменения функционального состояния организма // Вестник Южного научного центра РАН — 2010. — Т. 6, № 3. — С. 49–59.
6. Корнева Е. А., Перекрест С. В. Взаимодействие нервной и иммунной системы в норме

и при патологии // Медицинский академический журнал. — 2013. — Т. 13, № 3. — С. 7–17

7. Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам. М.: Медицина, 1988. 252 с.

8. Меркулова Л.М., Холодов Ю.А. Реакции возбудимых тканей на импульсные магнитные поля. Чебоксары: Изд-во Чуваш гос. ун-та, 1996. 176 с.

9. Falck B. Observations on the possibilities of the cellular localization of monoamines by a fluorescence method // Acta physiol. scand. 1962. Vol.56: suppl. 197. P. 1–25.

10. Leon-Ponte M., Ahern G.P., O'Connell P.J. Serotonin provides an accessory signal to enhance T-cell activation by signaling through the 5-HT<sub>7</sub> receptor // Blood. 2007. V. 109. P. 3139–3146.

**Рецензенты:**

Горошинская И.А., д.б.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «РНИОИ» Минздрава РФ, г. Ростов-на-Дону.

Комарова Е.Ф. д.б.н., главный научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «РНИОИ» Минздрава РФ, г. Ростов-на-Дону.