

ВЛИЯНИЕ ЛОКАЛЬНОГО ДМВ-ОБЛУЧЕНИЯ НА УРОВЕНЬ ГЛИКЕМИИ И СОСТОЯНИЕ ИММУНИТЕТА ЖИВОТНЫХ С АЛЛОКСАНИНДУЦИРОВАННЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

И.В. Пак

Описываются изменения со стороны клеточного и гуморального иммунитета и уровня гликемии у животных с аллоксаниндуцированным сахарным диабетом под влиянием локального ДМВ-облучения.

Ключевые слова: аллоксаниндуцированный сахарный диабет; клеточный иммунитет; гуморальный иммунитет; уровень гликемии; ДМВ.

Актуальность. Сахарный диабет (СД) на сегодняшний день является одним из самых тяжелых и распространенных хронических заболеваний. В экономически развитых странах СД стал не только медицинской, но и значимой социальной проблемой современности в связи с угрожающим увеличением частоты заболеваемости, тяжестью осложнений, существенным сокращением продолжительности жизни пациентов, инвалидизацией и возрастающей смертностью, основной причиной которых являются вторичные диабетические осложнения, такие как ангиопатия, нефропатия, ретинопатия [1, 2]. Несмотря на определенные достижения, современная инсулиновая терапия СД не способна обеспечить физиологический контроль углеводного обмена и, следовательно, препятствовать возникновению и прогрессированию сосудистых осложнений, так как является заместительной, а не патогенетической терапией. Именно это заставляет искать принципиально новые подходы к лечению сахарного диабета.

В изучаемой нами литературе данных о влиянии дециметровых волн (ДМВ) на уровень гликемии и иммунный статус экспериментальных животных с аллоксаниндуцированным сахарным диа-

бетом мы не нашли. Это и предопределило цель нашего исследования.

Цель исследования – изучить влияние локального ДМВ-облучения на уровень гликемии и показатели клеточного и гуморального иммунитета экспериментальных животных с аллоксаниндуцированным сахарным диабетом.

Материал и методы исследования. В работе использовались самцы белых лабораторных крыс половозрелого возраста, средней массой $172,5 \pm 25,4$ гр. Экспериментальный сахарный диабет вызывали путем подкожного однократного введения тетрагидрата аллоксана, в дозе 170 мг/кг, после предварительного 24-часового голодания животных на фоне нормальных показателей уровня глюкозы в крови (глюкометр “Optium”, произ-во “АВВОТТ”).

Эффективность экспериментальной модели сахарного диабета оценивали по общему состоянию животных, мониторингу диуреза и количеству выпитой жидкости, динамике массы тела животных и уровню глюкозы крови. В опытах использовали крыс с индуцированным аллоксаном диабетом, у которых через 2 недели после индукции аллоксана гипергликемия ненаattoщак составляла не менее 20 ммоль/л [2].

Для изучения влияния локального ДМВ-облучения на иммунную систему реципиента животные были условно поделены на 3 серии опытов (5-е, 15-е и 30-е сутки) и следующие группы:

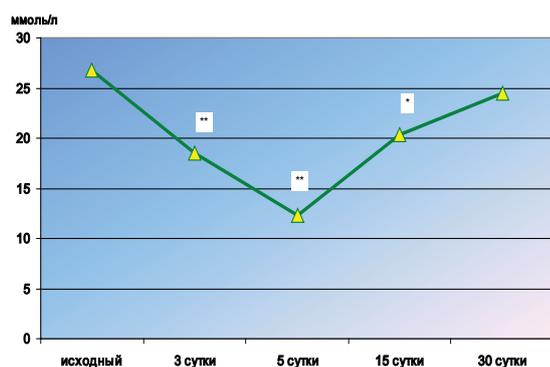
I группа – интактные животные;

II группа – контрольная, животные с аллоксаниндуцированным СД и ложным ДМВ-облучением;

III группа – опытная, животные с аллоксаниндуцированным СД и воздействием локального ДМВ-облучения.

Воздействие ДМВ проводили аппаратом “Ранет”, контактными излучателями диаметром 0,04 м при плотности потока энергии 80 мВт/см² по 10 минут ежедневно в течение 5 дней. Локализация воздействия – вентральная поверхность шеи (область проекции тимуса). Контрольную группу составляли ложнооблученные животные, иммобилизованные по схеме, аналогичной воздействию ДМВ, но при выключенном аппарате “Ранет”.

Иммунологические исследования включали изучение Т- и В-звеньев иммунитета. Содержание в крови Т- и В-лимфоцитов и субпопуляций Т-клеток измеряли методом непрямой поверхностной иммунофлуоресценции с моноклональными антителами серии ИКО, использовали “укороченную” панель для идентификации CD-маркеров: CD3+ (Т-лимфоциты); CD4+ (хелперные Т-лимфоциты); CD8+ (цитотоксические лимфоциты); CD20+ (В-лимфоциты); CD16+(NK-клетки). Концентрацию иммуноглобулинов сыворотки крови устанавливали иммуноферментным мето-



Примечание: * – $P < 0,05$, достоверно по отношению к контрольной группе, ** – $P < 0,001$, достоверно по отношению к контрольной группе.

Рисунок 1 – Изменение уровня сахара в крови у экспериментальных животных с аллоксаниндуцируемым сахарным диабетом на фоне воздействия ДМВ-облучения

дом. ЦИК (циркулирующие иммунные комплексы) определяли кадмиевым тестом.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета прикладных программ “Microsoft Excel” с расчетом по t-критерию Стьюдента и вероятности P , которую признавали статистически значимой при $P < 0,05$.

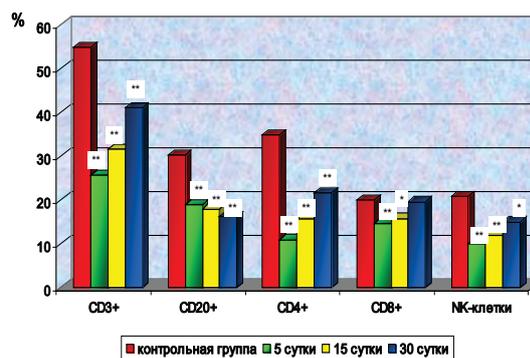
Результаты и их обсуждение. Установлено, что воздействие ДМВ-облучения на область проекции тимуса у животных с аллоксаниндуцированным сахарным диабетом вызывает кратковременный гипогликемический эффект.

Так, уровень гликемии на 3-и сутки после воздействия ДМВ снизился на 33,7 % ($P < 0,001$), к 5-м суткам – на 56,0 % ($P < 0,001$), к 15-м суткам – на 26,9 % ($P < 0,05$) и к 30-м суткам – на 12,2 % ($P > 0,05$) по сравнению с контрольной группой животных (рисунок 1).

Однако коррекция гликемии не сопровождалась ремиссией диабетического статуса – животные были вялыми и малоподвижными, не прибавляли в весе, сохранялись явления полидипсии и полиурии, вызванные нарушениями углеводного обмена.

Установлено, что относительное количество Т-лимфоцитов на 5-е сутки после локального облучения ДМВ снизилось на 53,1 % ($P < 0,001$), к 15-м суткам – на 42,4 % ($P < 0,001$) и на 30-е сутки – на 25,0 % ($P < 0,001$) по сравнению с контрольной (II) группой животных (рисунок 2).

Выявлено, что уровень CD4+ на 5-е сутки после воздействия ДМВ понизился на 68,4 % ($P < 0,001$), т. е. более, чем в 2 раза по сравнению с конт-



Примечание: * – $P < 0,05$, достоверно по отношению к контрольной группе, ** – $P < 0,001$, достоверно по отношению к контрольной группе.

Рисунок 2 – Изменение показателей клеточного и гуморального иммунитета у животных с аллоксаниндуцированным сахарным диабетом на фоне воздействия ДМВ-облучения

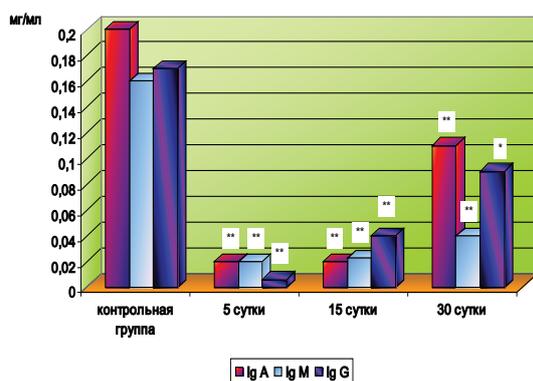
рольной группой, на 15-е сутки – на 55,0 % ($P < 0,001$) и на 38,0 % ($P < 0,001$) при сравнении с контролем на 30-е сутки. Относительное содержание Т-клеток CD8+ на 5-е сутки после курсовой процедуры ДМВ уменьшилось на 26,5 % ($P < 0,001$), на 15-е сутки – на 20,8 % ($P < 0,05$) и к 30-м суткам их количество сравнялось с группой контроля (см. рисунок 2).

Соответственно изменился в сторону снижения и показатель ID: на 5-е сутки после воздействия ДМВ – на 56,6 % ($P < 0,001$), на 15-е сутки – на 42,9 % ($P < 0,001$) и на 30-е сутки – на 36,6 % ($P < 0,001$) по сравнению с контролем.

Максимальное (на 52,0 %) по отношению к контролю понижение уровня НК-клеток отмечалось на 5-е сутки после воздействия ДМВ ($P < 0,001$), на 15-е сутки относительное количество НК-клеток уменьшилось на 42,4 % ($P < 0,001$), а на 30-е сутки – на 28,0 % ($P < 0,05$) при сравнении с контрольной группой животных (см. рисунок 2).

Показано, что уровень В-лимфоцитов на 5-е сутки после облучения ДМВ снизился на 37,9 % ($P < 0,001$), к 15-м суткам – на 40,7 % ($P < 0,001$), а на 30-е сутки – на 46,3 % ($P < 0,001$) по сравнению с контролем (см. рисунок 2).

Наиболее значительные сдвиги были установлены среди показателей уровня иммуноглобулинов (рисунок 3). Так, в течение как минимум двух недель после воздействия ДМВ на область тимуса концентрация IgA уменьшилась на 90,0 % ($P < 0,001$) по отношению к контролю, а к 30-м суткам – на 45,0 % ($P < 0,001$).



Примечание: * – $P < 0,05$, достоверно по отношению к контрольной группе; ** – $P < 0,001$, достоверно по отношению к контрольной группе.

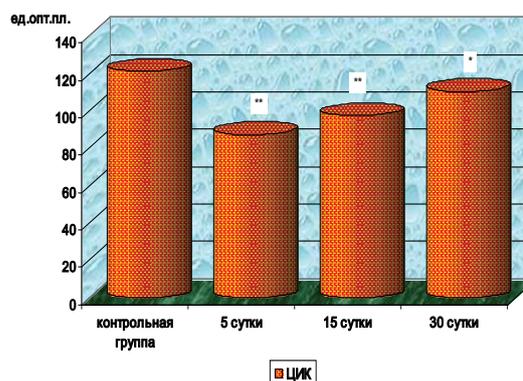
Рисунок 3 – Изменение уровня иммуноглобулинов в крови у животных с аллоксаниндуцированным сахарным диабетом на фоне воздействия ДМВ-облучения

Аналогичное снижение выявлено и среди иммуноглобулинов класса М и G. Уровень IgM понижался на 5-е, 15-е и 30-е сутки соответственно на 87,5 % ($P < 0,001$), на 85,6 % ($P < 0,001$) и на 75,0 % ($P < 0,001$) по отношению к контрольной группе, а концентрация IgG – на 96,5 % ($P < 0,001$), на 76,5 % ($P < 0,001$) и на 47,1 % ($P < 0,05$) на 5-е, 15-е и 30-е сутки после воздействия ДМВ на область проекции тимуса (см. рисунок 3).

Вполне логично, что падение концентрации иммуноглобулинов после курса ДМВ приводит и к уменьшению ЦИК в крови. Так, уровень ЦИК на 5-е сутки после ДМВ-облучения снизился на 28,0 % ($P < 0,001$), на 19,7 % ($P < 0,001$) к 15-м и на 9,0 % к 30-м суткам ($P < 0,05$) при сравнении с контролем (рисунок 4).

Итак, относительное количество Т-лимфоцитов в крови животных с аллоксаниндуцированным сахарным диабетом уменьшается после воздействия ДМВ. Полученные нами результаты подтверждаются данными В.М. Евстропова с соавторами [3, 4], которые полагают, что действие ДМВ на тимус вызывает перераспределение Т-лимфоцитов, обусловленное либо усилением “хоминга”, либо интенсификацией дифференцировки тимоцитов в Т-лимфоциты.

Известно, что клеточный иммунитет опосредован цитотоксическими Т-лимфоцитами и Т-хелперами. Снижение относительного количества Т-лимфоцитов обусловлено угнетением хелперной активности Т-лимфоцитов. Так как активность хелперной субпопуляции Т-лимфоцитов регулируется, в том числе и супрессорной субпо-



Примечание: * – $P < 0,05$, достоверно по отношению к контрольной группе; ** – $P < 0,001$, достоверно по отношению к контрольной группе.

Рисунок 4 – Изменение уровня ЦИК в крови у животных с аллоксаниндуцированным сахарным диабетом на фоне воздействия ДМВ-облучения

пуляцией, можно предположить, что угнетение хелперной активности Т-лимфоцитов будет сопровождаться усилением супрессорной функции Т-лимфоцитов [5, 6]. Изменение соотношения CD4+/CD8+ в сторону уменьшения говорит об усилении супрессорной активности Т-лимфоцитов под воздействием курса облучения ДМВ, что подтверждается данными В.М. Евстропова с соавторами [3, 4, 7, 8], Р.Р. Тухватшина, Р.А. Зулькарнеева с соавторами [7–10]. Авторы показали, что локальное воздействие курса ДМВ на область проекции тимуса приводит к выбросу Т-супрессоров из тимуса и селезенки.

Известно, что Т-супрессоры регулируют интенсивность иммунного ответа, подавляя активность Т-хелперов, предотвращают развитие аутоиммунных реакций, защищают организм от нежелательных последствий иммунной реакции, от чрезмерного воспаления и аутоагрессии. Понижение же уровня CD8+ мы связываем с тем, что при курсовом воздействии ДМВ уровень Т-хелперов в крови падает и вполне логично предположить, что это приведет к уменьшению выработки γ -интерферона и интерлейкина-2, что, в свою очередь, объясняет снижение уровня цитотоксических Т-лимфоцитов при действии ДМВ-облучения [5–9].

Снижение уровня В-лимфоцитов является следствием снижения уровня Т-хелперов при курсовом воздействии ДМВ на область тимуса, которые вместе с цитокинами принимают активное участие в процессах деления и специализации В-клеток. Падение концентрации иммуноглобулинов всех трех классов обусловлено уменьшением уровня В-лимфоцитов в крови после курсового воздействия ДМВ на область тимуса.

Таким образом, локальное воздействие ДМВ на область проекции тимуса у животных с аллоксаниндуцированным сахарным диабетом оказывает иммуносупрессивное действие на клеточный и особенно гуморальный иммунитет и сопровождается кратковременным снижением уровня гликемии.

Литература

1. Балаболкин М.И. Сахарный диабет / М.И. Балаболкин. М.: Медицина, 1994. 384 с.
2. Шумаков В.И. Трансплантация островковых клеток поджелудочной железы / В.И. Шумаков, В.Н. Блюмкин, Н.Н. Скалецкий и др. М.: Канон, 1995. 383 с.
3. Евстропов В.М. Действие дециметровых волн на относительное содержание лимфоцитов в лимфоидных органах / В.М. Евстропов, Р.А. Зулькарнеев // Здоровоохранение Киргизии. Фрунзе, 1984. № 5. С. 29–33.
4. Евстропов В.М. Иммуно-эндокринная реакция организма на локальное воздействие дециметровых волн / В.М. Евстропов. Фрунзе, 1987. 105 с.
5. Клиническая иммунология и аллергология / под ред. Г. Лоллора, Т. Фишера, Д. Адельмана. М.: Практика, 2000. 806 с.
6. Рабсон А. Основы Медицинской иммунологии / А. Рабсон, А. Ройт, П. Делвз. М.: Мир, 2006. 320 с.
7. Евстропов В.М. Состояние Т- и В-звеньев иммунитета в ранние сроки после локального воздействия микроволнами / В.М. Евстропов, Р.А. Зулькарнеев, И.Н. Силич и др. // Здоровоохранение Киргизии. Фрунзе, 1987. № 1. С. 30–33.
8. Евстропов В.М. Состояние Т- и В-звеньев иммунитета в отдаленные сроки после локального воздействия микроволн / В.М. Евстропов, Р.А. Зулькарнеев, И.Н. Силич и др. // Здоровоохранение Киргизии. Фрунзе. 1988. № 4. С. 36–39.
9. Тухватшин Р.Р. Влияние локального воздействия микроволн на иммунологические реакции / Р.Р. Тухватшин, В.А. Насыров, Р.А. Зулькарнеев // О реформирование противотуберкулезной службы республики: сб. науч. тр. Бишкек, 1996. С. 84–85.
10. Зулькарнеев Р.А. Воздействие локального электромагнитного поля сверхвысокой частоты (ЭМП СВЧ) дециметрового диапазона на гипоталамо-гипофизарно-вилочковую систему: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Р.А. Зулькарнеев. Бишкек, 2002. 18 с.