

УДК 577.3

ЗАВИСИМОСТЬ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЭФФЕКТОВ ИМПУЛЬСНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ КРАЙНЕ ВЫСОКОЙ ЧАСТОТЫ С БОЛЬШОЙ ПИКОВОЙ МОЩНОСТЬЮ ОТ ПАРАМЕТРОВ ВОЗДЕЙСТВИЯ

© 2007 г. А.Б. Гапеев, Е.Н. Михайлик, А.В. Рубаник*, Н.К. Чемерис

Институт биофизики клетки РАН, 142290, Пущино Московской области;

*Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники, 220027, Минск, Беларусь

Поступила в редакцию 05.03.07 г.

Впервые показано, что импульсное электромагнитное излучение крайне высокой частоты с большой пиковой мощностью способно оказывать выраженное противовоспалительное действие. Облучение животных импульсным электромагнитным излучением с определенными параметрами (35,27 ГГц, импульсная мощность 20 кВт, длительность импульсов 400 – 600 нс, частота следования импульсов 5 – 500 Гц) после индукции острого локального воспаления в задней конечности мышей зимозаном снижало величину экссудативного отека и гипертермию области воспаления в среднем на 20% по сравнению с контролем. Противовоспалительный эффект импульсного излучения сравним по кинетике и величине с действием диклофенака натрия в дозе 3 мг/кг. Обнаружены линейное усиление противовоспалительного эффекта с увеличением длительности импульсов излучения при фиксированной частоте следования импульсов и пороговая зависимость от средней плотности потока мощности излучения при фиксированной длительности импульсов. При тотальном облучении животных в дальней зоне антенны оптимальная длительность экспозиции составляет 20 мин. Увеличение импульсной мощности излучения при локальном облучении воспаленной конечности ускоряет как развитие противовоспалительного эффекта, так и время реактивации. Полученные результаты будут иметь несомненную ценность для совершенствования принципов гигиенического нормирования импульсных электромагнитных излучений и для дальнейшего исследования механизмов их биологического действия.

Ключевые слова: электромагнитное излучение крайне высоких частот с большой пиковой мощностью, противовоспалительное действие, зависимость от интенсивности и длительности экспозиции, экссудативный отек, гипертермия, диклофенак натрия.

Несмотря на широкое применение в радиолокационных системах импульсного электромагнитного излучения крайне высоких частот с большой пиковой мощностью (ИЭМИ КВЧ БПМ), биотропный потенциал такого излучения практически не исследован. В пионерских работах академика Н.Д. Девяткова было показано, что воздействие ИЭМИ КВЧ БПМ замедляет скорость роста карциносаркомы Уокера у крыс и увеличивает среднюю продолжительность жизни облученных животных, а при облучении суспензии клеток карциносаркомы Уокера *in vitro* увеличивает число дистрофически измененных опухолевых клеток и опухолевых клеток в стадии лизиса [1,2]. В настоящее время остается неизвестной зависи-

мость биологического действия ИЭМИ БПМ от его физических параметров, таких как импульсная мощность, средняя плотность потока мощности (ППМ), длительность импульсов и частота следования импульсов. Интерес к таким исследованиям, с одной стороны, диктуется необходимостью разработки безопасных санитарно-гигиенических нормативов для технического персонала и населения, попадающего в зону действия ИЭМИ КВЧ БПМ. С другой стороны, слабо исследованы аспекты возможного терапевтического применения ИЭМИ КВЧ БПМ.

Ранее с использованием метода усиленной хемилюминесценции мы обнаружили, что облучение водных растворов ИЭМИ КВЧ БПМ (35,27 ГГц, импульсная мощность 20 кВт, длительность импульсов 400 – 600 нс, частота следования импульсов 500 Гц) приводит к образованию в них активных форм кислорода, в частности перекиси водорода в концентрациях от единиц до сотни наномоль [3]. Основной

Сокращения: ИЭМИ КВЧ БПМ – импульсное электромагнитное излучение крайне высоких частот с большой пиковой мощностью, ППМ – плотность потока мощности.

механизм образования перекиси водорода в растворах при действии ИЭМИ КВЧ БПМ связан с активацией растворенного кислорода за счет термоэластического возбуждения акустических волн. При этом скорость образования перекиси водорода линейно зависит как от времени экспозиции раствора, так и от длительности импульсов ЭМИ. Мы считаем, что при действии ИЭМИ КВЧ БПМ на биологические объекты эффект может быть обусловлен двумя основными процессами. Первый связан с индукцией в коже высокой наведенной напряженности импульсного электрического поля и поверхностным увеличением температуры кожи. Второй связан с термоупругим возбуждением в тонких, менее 1 мм, поверхностных слоях кожи акустических солитоноподобных волн, распространяющихся на большую глубину и вызывающих образование свободных радикалов. Эти механизмы могут действовать как раздельно, так и синергически, существенно увеличивая эффект ИЭМИ КВЧ БПМ по сравнению, например, с действием непрерывного ЭМИ КВЧ с равной интенсивностью.

Ранее мы показали, что низкоинтенсивное ЭМИ КВЧ (42,0 ГГц, 0,1 мВт/см², 20 мин) оказывает выраженное противовоспалительное действие, которое проявляется в снижении эксудативного отека и гипертермии области воспаления [4]. Учитывая комплексный характер биологического действия ИЭМИ КВЧ БПМ, можно ожидать, что его противовоспалительные эффекты будут более значительны по сравнению с эффектами непрерывного низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ.

Целью настоящей работы было определение эффективных параметров ИЭМИ КВЧ БПМ, способных оказывать противовоспалительное действие в модели острого локального воспаления у лабораторных животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены с использованием взрослых мышей-самцов (возраст 2 месяца, масса 25 – 30 г) SPF-категории (свободных от патогенных микроорганизмов) аутбредного стока NMRI. Мышей выращивали и содержали в контролируемых условиях, перед экспериментом в течение 1,5 – 2 недель адаптировали к стандартным условиям. Они получали лабораторную диету и воду *ad libitum*.

Неспецифическое локальное воспаление вызывали инъекцией суспензии зимозана (5 мг/мл, 25 мкл) под апоневротическую пластинку задней конечности мышей [4]. В конралатеральную конечность вводили соответствующий объем физиологического раствора (0,9% NaCl). Ин-

тенсивность воспаления оценивали на 2 – 8 ч после индукции по величине эксудативного отека и гипертермии области воспаления [4]. Животных при этом не забивали и не наркотизировали. Величину эксудативного отека рассчитывали как относительное увеличение толщины воспаленной стопы по сравнению с конралатеральной, выраженное в процентах. Уровень гипертермии определяли как увеличение локальной температуры области воспаления, измеряемой инфракрасным датчиком температуры.

Для облучения животных использовали магнетронный генератор ИЭМИ КВЧ БПМ со следующими параметрами: рабочая частота 35,27 ГГц (длина волны 8,5 мм), выходная импульсная мощность 20 ± 5 кВт, длительность импульсов 100 ± 10 , 400 ± 40 и 600 ± 60 нс, частота следования импульсов 5, 50 и 500 Гц. В качестве излучателей использовали пирамидальную рупорную антенну с апертурой 30×35 мм и открытый отрезок волновода сечением $7,2 \times 3,4$ мм со стандартным фланцем. В дальней зоне рупорной антенны на расстоянии 300 мм от излучающего торца животных облучали тотально без фиксации в пластиковых контейнерах размером $100 \times 100 \times 130$ мм. При средней выходной мощности генератора около 1 Вт (20 кВт, 100 нс, 500 Гц) средняя плотность потока мощности в плоскости облучаемого объекта составляла около 13 мВт/см². В ближней зоне волноводного излучателя на расстоянии 5 мм от излучающего торца проводили локальное облучение воспаленной конечности животных при их мягкой фиксации. При средней выходной мощности генератора около 60 мВт (20 кВт, 600 нс, 5 Гц) средняя плотность потока мощности в плоскости облучаемой конечности составляла около 100 мВт/см². Мышей облучали ИЭМИ КВЧ БПМ через 1 ч после индукции воспалительной реакции. Для контрольных животных проводили процедуры имитации воздействия.

Для оценки противовоспалительного действия ИЭМИ КВЧ БПМ в отдельной серии экспериментов исследовали противовоспалительные эффекты известного нестероидного противовоспалительного препарата диклофенака натрия в диапазоне доз 3 – 5 мг/кг, близких к однократной терапевтической дозе. Все эксперименты проведены по протоколу «слепого контроля», когда экспериментатор, проводивший измерения, не знал, каким воздействием подвергались животные.

В каждом эксперименте использовали несколько групп по 4 – 5 животных в каждой

Снижение величины экссудативного отека при тотальном облучении животных ИЭМИ КВЧ БПМ в течение 20 мин в дальней зоне рупорной антенны

Длительность импульсов, нс	Частота следования импульсов, Гц	Средняя ППМ, мВт/см ²	Снижение экссудативного отека, %	<i>p</i> *
–	–	–	0,0 ± 3,3**	
100	5	0,13	0,1 ± 5,5	> 0,95
100	50	1,3	9,3 ± 3,5	< 0,12
100	500	13	10,9 ± 6,9	< 0,12
400	5	0,5	9,8 ± 5,4	< 0,13
400	50	5	17,7 ± 3,8	< 0,004
400	500	50	18,3 ± 3,5	< 0,004
600	5	0,8	21,5 ± 5,9	< 0,002

* Уровень достоверности относительно контроля по критерию Манна-Уитни, ** – величина эффекта у контрольных животных.

группе. В каждом эксперименте присутствовала группа контрольных животных, которые получали процедуры имитации воздействия или инъекции физиологического раствора. Животных других групп облучали ИЭМИ КВЧ БПМ с различными параметрами или инъецировали раствором диклофенака натрия в дозах 3 – 5 мг/кг. Данные систематизировали по характеру воздействия. Для оценки действия каждой серии параметров ИЭМИ КВЧ БПМ или дозы диклофенака натрия использовано не менее 12 животных. Полученные данные для животных, получавших различные воздействия, сравнивали с показателями контрольных животных и выражали в процентах от контроля. Все данные представлены в виде среднего значения ± стандартная ошибка. Статистический анализ данных проводили по критерию Манна-Уитни. Достоверными считали отличия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Было обнаружено, что после однократного облучения животных ИЭМИ КВЧ БПМ в течение 20 мин в дальней зоне рупорной антенны противовоспалительный эффект сложным образом зависел от параметров излучения (таблица). Анализ результатов показал, что при фиксированной длительности импульсов обнаруженный эффект имеет пороговый характер зависимости от средней ППМ излучения. Однако результаты по снижению экссудативного

отека и гипертермии области воспаления указывают на то, что критичной для проявления эффекта является длительность импульсов, а не средняя ППМ излучения. Так, например, мы получили сравнимое снижение величины экссудативного отека (приблизительно на 20% по сравнению с контролем) при действии ИЭМИ КВЧ БПМ с длительностью импульсов 400 нс и частотой их следования 500 Гц и с длительностью импульсов 600 нс и частотой их следования 5 Гц. При этом средняя ППМ в первом случае была в 60 раз выше. При фиксированной частоте следования импульсов противовоспалительный эффект ИЭМИ КВЧ БПМ практически линейно зависел от длительности импульсов (таблица). Эти результаты хорошо согласуются с полученными нами ранее данными о линейной зависимости скорости генерации активных форм кислорода в водных растворах, облучаемых ИЭМИ КВЧ БПМ, от длительности импульсов излучения [3].

Для оценки величины противовоспалительного эффекта ИЭМИ КВЧ БПМ мы использовали ингибитор циклооксигеназы диклофенак натрия, который, как мы показали ранее, дозозависимым образом снижал экссудативный отек и гипертермию области воспаления [4]. Мы обнаружили, что кинетика и величина противовоспалительного эффекта ИЭМИ КВЧ БПМ при облучении животных в дальней зоне рупорной антенны в течение 20 мин сравнимы с таковыми при действии диклофенака натрия

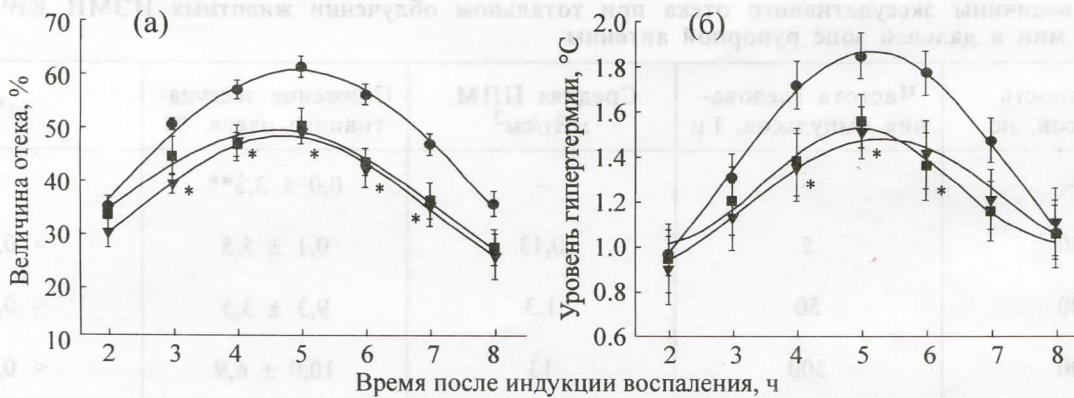


Рис. 1. Динамика величины экссудативного отека (а) и гипертермии (б) области воспаления после индукции воспалительной реакции у животных контрольной группы (кружки), облученных ИЭМИ КВЧ БПМ (35,27 ГГц, 20 кВт, 600 нс, 5 Гц, 20 мин в дальней зоне рупорной антенны) (треугольники), инъектированных диклофенаком натрия в дозе 3 мг/кг (квадраты). $n > 12$, * – $p < 0,05$ по критерию Манна-Уитни.

в дозе 3 мг/кг (рис. 1). Эти результаты указывают на то, что биохимические механизмы реализации противовоспалительного действия ИЭМИ КВЧ БПМ и диклофенака натрия могут быть подобными и связанными со снижением синтеза метаболитов арахидоновой кислоты по циклооксигеназному пути.

Итак, мы показали, что при фиксированном времени облучения животных наблюдается усиление противовоспалительного эффекта с увеличением длительности импульсов излучения. Это может свидетельствовать о наличии зависимости эффекта от длительности экспозиции. С целью проверки данного предположения мы

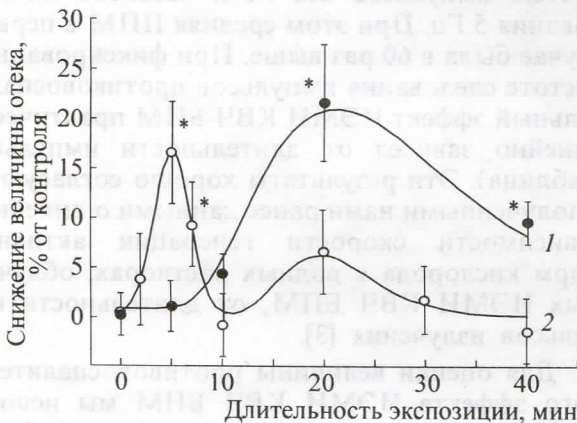


Рис. 2. Снижение величины экссудативного отека у животных, облученных ИЭМИ КВЧ БПМ (35,27 ГГц, 20 кВт, 600 нс, 5 Гц) totally в дальней зоне рупорной антенны (1) при ППМ около 1 мВт/см² и локально в ближней зоне волноводного излучателя (2) при ППМ 100 мВт/см², в зависимости от длительности экспозиции. $n > 12$, * – $p < 0,05$ по критерию Манна-Уитни.

провели специальную серию экспериментов при фиксированных длительности импульсов 600 нс, частоте следования импульсов 5 Гц, т.е. при эффективных параметрах излучения, и при различных длительностях экспозиции животных в дальней зоне рупорной антенны. Было обнаружено, что противовоспалительный эффект ИЭМИ КВЧ БПМ колоколообразно зависит от времени облучения (рис. 2). Наиболее эффективным оказалось облучение животных ИЭМИ КВЧ БПМ в течение 20 мин.

Одним из принципиальных вопросов является исследование зависимости эффекта ИЭМИ КВЧ БПМ от импульсной мощности излучения. При облучении животных в дальней зоне рупорной антенны на расстоянии 300 мм от излучающего торца импульсная мощность излучения в плоскости объекта была приблизительно в 500 раз ниже импульсной мощности на выходе генератора. С целью создания максимально возможных уровней импульсной мощности в плоскости объекта мы проводили локальное облучение воспаленной конечности животных в ближней зоне открытого отрезка волновода на расстоянии 5 мм от излучающего торца. При длительности импульсов 600 нс и частоте следования импульсов 5 Гц средняя ППМ в ближней зоне излучателя составляла около 100 мВт/см², а уровень стационарного перегрева на поверхности кожи составлял около 6°С. Мы обнаружили, что наибольший противовоспалительный эффект ИЭМИ КВЧ БПМ достигался при длительности экспозиции в течение 5 мин (рис. 2). Величина эффекта быстро снижалась с увеличением или уменьшением длительности экспозиции. Сравнительный анализ формы кривых зависимости эффекта от длительности экспозиции, полученных нами при

тотальном облучении животных в дальней зоне рупорной антенны и при локальном облучении воспаленной конечности животных в ближней зоне волноводного излучателя, указывает на наличие нескольких механизмов реализации обнаруженного нами противовоспалительного эффекта ИЭМИ КВЧ БПМ. При тотальном облучении животных импульсным ЭМИ с малой средней ППМ механизмы реализации противовоспалительного действия ИЭМИ КВЧ БПМ могут быть подобны таковым при действии низкоинтенсивного непрерывного ЭМИ КВЧ и связаны с активацией свободнорадикальных процессов кожи, ведущих к системному отклику организма на воздействие излучения с участием нейроэндокринной и иммунной систем [4,5]. Однако в отличие от непрерывного низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ противовоспалительный эффект импульсного излучения, вероятно, слабо зависит от несущей частоты и определяется в основном длительностью импульсов ЭМИ. При локальном облучении воспаленной конечности кроме указанных механизмов определенная роль в реализации эффекта принадлежит локальному нагреву, индуцирующему противовоспалительный эффект, дозовая зависимость которого качественно аналогична таковой при действии лазерного излучения [6].

Таким образом, мы показали, что ИЭМИ КВЧ БПМ с определенными параметрами способны оказывать выраженное противовоспалительное действие. Облучение животных ИЭМИ КВЧ БПМ (400 – 600 нс, 5 – 500 Гц) после индукции острого воспаления снижало величину экссудативного отека и гипертермию области воспаления в среднем на 20% по сравнению с контролем. Следует отметить, что противовоспалительный эффект ИЭМИ КВЧ БПМ сравним по кинетике и величине с действием терапевтических доз известного нестероидного противовоспалительного препарата диклофенака натрия. Обнаруженная нами линейная зависимость противовоспалительного эффекта ИЭМИ КВЧ БПМ от длительности импульсов излучения при фиксированной частоте следования импульсов хорошо согласуется с полученными нами ранее данными о генерации активных форм кислорода в водных растворах

под действием ИЭМИ КВЧ БПМ [3]. При фиксированной длительности импульсов излучения противовоспалительный эффект ИЭМИ КВЧ БПМ имеет пороговый характер зависимости от средней ППМ излучения, если она увеличивается за счет повышения частоты следования импульсов. Полученные результаты показывают, что критическим параметром для проявления противовоспалительного эффекта ИЭМИ КВЧ БПМ является длительность импульсов излучения, с увеличением которой эффект возрастает. Однако мы полагаем, что существует некоторый оптимум по длительности импульсов излучения, при которых должен наблюдаться максимальный эффект. На это указывают наши эксперименты по исследованию зависимости эффекта от импульсной мощности и дозы излучения. Мы показали, что увеличение импульсной мощности излучения ускоряет как развитие противовоспалительного эффекта, так и время реактивации.

Полученные нами результаты будут иметь несомненную ценность для совершенствования принципов гигиенического нормирования ИЭМИ КВЧ БПМ и для дальнейшего исследования механизмов его биологического действия.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 06-04-81034_Бел-а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Н. Д. Девятков, С. Д. Плетнев, З. С. Чернов и др., Докл. РАН **336** (6), 826 (1994).
2. Н. Д. Девятков, С. Д. Плетнев, О. В. Бецкий и В. В. Файкин, Биомедицинская радиоэлектроника, № 10, 29 (2000).
3. О. Ю. Гудкова, С. В. Гудков, А. Б. Гапеев и др., Биофизика **50** (5), 773 (2005).
4. А. Б. Гапеев, К. В. Лушников, Ю. В. Шумилина и Н. К. Чемерис, Биофизика **51** (6), 1055 (2006).
5. К. В. Лушников, А. Б. Гапеев и Н. К. Чемерис, Радиационная биология. Радиоэкология **42** (5), 533 (2002).
6. R. Albertini, F. S. Aimbire, F. I. Correa, et al., J. Photochem. Photobiol. B **74** (2-3), 101 (2004).

Dependence of Anti-Inflammatory Effects of High Peak-Power Pulsed Electromagnetic Radiation of Extremely High Frequency on Exposure Parameters

A.B. Gapeyev*, E.N. Mikhailik*, A.V. Rubanik**, and N.K. Chemeris*

**Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

***Belorussian State University of Informatics and Radioelectronics, Minsk, 220027 Belorussia*

A pronounced anti-inflammatory effect of high peak-power pulsed electromagnetic radiation of extremely high frequency was shown for the first time in a model of zymosan-induced footpad edema in mice. Exposure to radiation of specific parameters (35,27 GHz, peak power 20 kW, pulse widths 400–600 ns, pulse repetition frequency 5–500 Hz) decreased the exudative edema and local hyperthermia by 20% compared to the control. The kinetics and the magnitude of the anti-inflammatory effect were comparable with those induced by sodium diclofenac at a dose of 3 mg/kg. It was found that the anti-inflammatory effect linearly increased with increasing pulse width at a fixed pulse repetition frequency and had threshold dependence on the average incident power density of the radiation at a fixed pulse width. When animals were whole-body exposed in the far-field zone of radiator, the optimal exposure duration was 20 min. Increasing the average incident power density upon local exposure of the inflamed paw accelerated both the development of the anti-inflammatory effect and the reactivation time. The results obtained will undoubtedly be of great importance in the hygienic standardization of pulsed electromagnetic radiation and in further studies of the mechanisms of its biological action.

Key words: high peak-power pulsed electromagnetic radiation of extremely high frequency; anti-inflammatory effects; dose dependence; exudative edema; hyperthermia; sodium diclofenac