

БИОФИЗИКА, 2010, том 55, вып.4, с.645–651

## БИОФИЗИКА КЛЕТКИ

УДК 577.3

**РЕАКЦИИ ТИМОЦИТОВ И СПЛЕНОЦИТОВ МЫШИ  
НА ДЕЙСТВИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО  
ИЗЛУЧЕНИЯ КРАЙНЕ ВЫСОКИХ ЧАСТОТ В НОРМЕ  
И ПРИ СИСТЕМНОМ ВОСПАЛИТЕЛЬНОМ ПРОЦЕССЕ**

© 2010 г. А.Б. Гапеев, Н.П. Сирота\*, А.А. Кудрявцев\*, Н.К. Чемерис

*Учреждение Российской академии наук Институт биофизики клетки РАН,  
142290, Пушкино Московской области;**\* Учреждение Российской академии наук Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,  
142290, Пушкино Московской области**E-mail: a\_b\_g@mail.ru*

Поступила в редакцию 13.05.10 г.

С использованием методов проточной цитофлуориметрии, реакции обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в реальном времени исследовано изменение субпопуляционного состава Т-клеток и экспрессии генов цитокинов в тимоцитах и спленоцитах мыши после воздействия низкоинтенсивным электромагнитным излучением крайне высоких частот (42,2 ГГц, 100 мкВт/см<sup>2</sup>, экспозиция 20 мин) в норме и при системном воспалительном процессе. Обнаружено, что у облученных животных происходит достоверное увеличение в тимусе и значительное снижение в селезенке числа CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов. По-видимому, облучение животных приводит к интенсификации защитных возможностей организма, активируя Т-клеточный иммунитет. У животных, облученных на фоне развивающегося воспалительного процесса, наблюдается увеличенная экспрессия генов IL-1 $\beta$  и IFN $\gamma$  в тимоцитах и существенно усиленная экспрессия генов IL-1 $\beta$ , IL-10 и TNF $\alpha$  в спленоцитах. Полученные экспериментальные данные указывают на то, что посредством активации определенных иммунокомпетентных клеток и изменения цитокинового профиля может осуществляться направленный (противовоспалительный) ответ организма на специфическую комбинацию эффективных параметров электромагнитного излучения.

*Ключевые слова: электромагнитное излучение крайне высоких частот, воспаление, тимус, селезенка, проточная цитометрия, полимеразная цепная реакция в реальном времени.*

Имеющиеся экспериментальные данные свидетельствуют о том, что электромагнитное излучение крайне высоких частот (ЭМИ КВЧ) способно влиять на состояние хроматина различных клеток, изменять структуру и функции хромосом, клеточную устойчивость к стандартным мутагенам и повреждающим воздействиям [1–5]. Ранее с использованием экспресс-метода молекулярной эпидемиологии «комета-теста» (электрофорез индивидуальных клеток в геле агарозы) мы показали, что облучение intactных мышей ЭМИ КВЧ (42,2 ГГц, 100 мкВт/см<sup>2</sup>, 20 мин) приводит к изменению структуры хроматина клеток тимуса и селезенки [6]. Излучение с указанными физическими параметрами оказывало разнонаправленный эффект на клетки лимфоидных органов *in vivo*: индуцировало кон-

денсацию хроматина в тимоцитах, деконденсацию хроматина в спленоцитах и не влияло на структуру хроматина лейкоцитов периферической крови. Оценка прямых эффектов ЭМИ КВЧ (42,2 ГГц, 50 мкВт/см<sup>2</sup>, 20 мин) на структуру хроматина различных клеток *in vitro* (культура человеческих лимфоидных клеток *Raji* и общая фракция лейкоцитов периферической крови мыши) показала, что в этих условиях излучение вызывает деконденсацию хроматина [6]. Одинаковая направленность эффектов ЭМИ КВЧ *in vitro* свидетельствует о наличии одного механизма реализации воздействия, вероятно, связанного с влиянием на системы внутриклеточной сигнализации [7]. Отсутствие эффекта ЭМИ КВЧ на структуру хроматина лейкоцитов периферической крови *in vivo* и наличие эффекта *in vitro* показывает, что реакция клеток на действие излучения сильно зависит от их функционального состояния. Разнонаправленная реакция клеток тимуса и селезенки при отсутствии

Сокращения: ЭМИ КВЧ – электромагнитное излучение крайне высоких частот, ПЦР-РВ – полимеразная цепная реакция в реальном времени.

эффекта ЭМИ КВЧ на лейкоциты периферической крови *in vivo* позволяет сделать предположение о том, что действие излучения на лимфоидные органы, вероятно, реализуется не прямым образом, а через системную реакцию организма при участии регуляторных систем [8,9]. Противоположная направленность эффектов ЭМИ КВЧ на ДНК клеток тимуса и селезенки может быть объяснена различной иннервацией этих лимфоидных органов, различным популяционным составом лейкоцитов и специфическим репертуаром клеточных рецепторов тимоцитов и спленоцитов [10].

Цель настоящей работы заключалась в детальном исследовании реакции тимоцитов и спленоцитов мыши на воздействие ЭМИ КВЧ в различных физиологических условиях – в норме и на фоне системного воспалительного процесса. С использованием проточной цитофлуориметрии мы определяли изменения субпопуляционного состава тимоцитов и спленоцитов, а с применением реакции обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) исследовали экспрессию ряда генов медиаторов воспаления в тимоцитах и спленоцитах после воздействия низкоинтенсивным излучением.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Животные.** Во всех экспериментах использовали взрослых мышей-самцов (возраст 2 месяца, масса 20–23 г) инбредной линии BALB/c. Мышей выращивали и содержали в контролируемых условиях при периодическом световом режиме 12:12, животные получали стандартную лабораторную диету и воду *ad libitum*. Все проводимые с этими животными процедуры были одобрены комитетом ФИБХ РАН по содержанию и использованию лабораторных животных в соответствии со стандартами Международной ассоциации по оценке и аккредитации работ с лабораторными животными (AAALAC).

**Модель системного воспалительного процесса.** Воспалительный процесс вызывали инъекцией 150 мкл суспензии зимозана (Sigma, США) в концентрации 5 мг/мл внутривенно. Суспензию зимозана готовили на стерильном физиологическом растворе (0,9% NaCl). Контрольным животным вводили физиологический раствор в соответствующем объеме.

**Облучение животных ЭМИ КВЧ.** Источником ЭМИ КВЧ служил высокочастотный генератор Г4-141 («Исток», Фрязино, Россия). Мышей облучали тотально без фиксации в пластиковых контейнерах размером 100 × 100 × 130 мм, которые помещали в дальней зоне, на

расстоянии 300 мм от излучающего торца, пирамидальной рупорной антенны с апертурой 32 × 32 мм. Дозиметрические тесты проводили в условиях холостого хода антенны [11,12]. Для используемой антенны ширина диаграммы направленности в *E*-плоскости по уровню 0,1 составляет  $2\theta_{0,1}^E \approx 24,7^\circ$ , что соответствует ширине основного лепестка около 130 мм на расстоянии 300 мм от излучающего торца антенны. Площадь дна контейнера для животных соответствовала площади зоны облучения, создаваемой основным лепестком антенны. Излучение было направлено вертикально сверху вниз. Для исключения интерференции в плоскости объекта между контейнером с животными и полом располагали эффективный многослойный поглотитель ЭМИ КВЧ. Во всех экспериментах использовали параметры и условия воздействия ЭМИ КВЧ (частота 42,2 ГГц, интенсивность 100 мкВт/см<sup>2</sup>, экспозиция 20 мин), высокая противовоспалительная эффективность которых была продемонстрирована нами ранее [13]. Частоту излучения контролировали с помощью волномера Ч2-25. Стабильность частоты генератора в режиме непрерывной генерации была не хуже  $\pm 15$  МГц. Выходную мощность генератора измеряли с помощью термисторной головки М5-49 с ваттметром поглощаемой мощности М3-22А (Россия) и устанавливали таким образом, чтобы плотность потока энергии в плоскости облучаемого объекта составляла 100 мкВт/см<sup>2</sup>. При этом расчетное значение удельной поглощенной мощности на поверхности кожи мыши составляло около 1,5 Вт/кг [14]. Для контрольных животных проводили процедуры имитации воздействия, для чего мышей помещали в зону облучения при включенном высокочастотном генераторе, однако мощность на выходе излучателя отсутствовала. Во всех экспериментах фоновая индукция геомагнитного поля составляла  $45 \pm 3$  мкТл.

**Фенотипический анализ.** Через 3–4 ч после облучения или имитации воздействия излучения животных декапитировали. Ткани тимуса и селезенки гомогенизировали с помощью стеклянного гомогенизатора в фосфатно-солевом буфере с добавлением 1 мМ ЭДТА (рН 7,2) и фильтровали полученную клеточную суспензию через капроновую сетку. Клетки дважды промывали холодным фосфатно-солевым буфером, содержащим 0,1% NaN<sub>3</sub> и 1% бычьего сывороточного альбумина (БСА), и разводили клеточную суспензию до концентрации 5·10<sup>6</sup> клеток/мл. Количество клеток в суспензии подсчитывали в камере Горяева. Фенотипический анализ тимоцитов и спленоцитов проводили с ис-

пользованием проточной цитофлуориметрии и коммерческих моноклональных антител на лазерном проточном цитофлуориметре (PAS-III, Германия). Для окрашивания поверхностных антигенов использовали моноклональные антитела крысы, специфичные к CD4 или CD8 мыши, меченные фикоэритрином (R-PE) (Invitrogen Co., США). Необходимую степень разведения антител определяли титрованием. Окрашивание клеток (свежевыделенных тимоцитов и спленоцитов мыши) проводили в соответствии с общепринятыми методиками [15]. На проточном цитофлуориметре в каждой пробе регистрировали не менее 50000 событий. Мертвые клетки и остатки клеток исключали из анализа на основе их свойств переднего (FSC) и бокового (SSC) светорассеяния.

**Определение экспрессии генов цитокинов.** Суммарную РНК выделяли из суспензий тимоцитов и спленоцитов ( $7-10 \cdot 10^6$  клеток), приготовленных через 3–4 ч после облучения животных или имитации воздействия ЭМИ КВЧ, с использованием набора для выделения тотальной РНК YellowSolve (Клоноген, С.-Петербург) согласно инструкциям производителя. Реакцию обратной транскрипции проводили с M-MLV обратной транскриптазой и гексапраймерами (ЗАО «Силекс», Москва) при 37°C в течение 1 ч. Для получения кДНК использовали одинаковое количество цитоплазматической мРНК из образцов тимуса и селезенки. ПЦР-РВ проводили с праймерами генов IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, TNF $\alpha$  и IFN $\gamma$  [16]. Температуры плавления этих праймеров проверяли с помощью программного обеспечения Primer Express 3.0 (Applied Biosystems, США). Праймеры заказывали в компании «Синтол» (Москва). Специфичность праймеров оценивали по кривым плавления продуктов амплификации.

ПЦР в реальном времени проводили на специализированном оборудовании Real-Time PCR System 7300 (Applied Biosystems, США) с использованием реакционной смеси Power SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, США). ПЦР-РВ выполняли в соответствии с требованиями фирмы производителя: этап I – 50°C 2 мин, этап II – 95°C 10 мин, этап III – 40 циклов (95°C в течение 15 с, 60°C в течение 60 с). Каждый образец амплифицировали в трех повторах, используя контрольный («домашний») ген GAPDH [17] для целей стандартизации. Среднее число циклов, за которые уровень регистрируемой флуоресценции достигал пороговой величины, определяли в трех независимых экспериментах. Уровень экспрессии генов исследуемых цитокинов оценивали полуколичественно по балльной системе с уче-

том нормировки к экспрессии контрольного гена: отсутствие экспрессии или очень низкий уровень (–), низкий уровень (– +), средний уровень (+), высокий уровень (+ +), очень высокий уровень (+ + +).

**Статистический анализ.** В каждом эксперименте использовали четыре группы мышей: 1) мыши получали инъекции физиологического раствора и процедуры имитации воздействия ЭМИ КВЧ (контроль); 2) животные получали инъекции физиологического раствора и процедуры облучения ЭМИ КВЧ (42,2 ГГц, 100 мкВт/см<sup>2</sup>, 20 мин); 3) животные с зимозан-индуцированным системным воспалительным процессом получали процедуры имитации воздействия ЭМИ КВЧ; 4) животных облучали ЭМИ КВЧ через 1 ч после индукции воспалительной реакции. При распределении животных по группам были использованы методы рандомизации. Все эксперименты проведены по протоколу «слепого контроля», когда экспериментатор, проводивший измерения, не знал, каким воздействиям подвергались животные. Данные, полученные для животных, подвергавшихся различным воздействиям, сравнивали с показателями для контрольных животных и выражали в процентах от контроля. Все данные представлены в виде среднего значения  $\pm$  стандартная ошибка. Статистический анализ данных проводили по критерию Манна-Уитни. Достоверными считали отличия при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты биомедицинских экспериментов показывают, что низкоинтенсивное ЭМИ КВЧ способно оказывать наибольший эффект в случае воздействия на биологическую систему, выведенную из состояния равновесия [18]. С точки зрения разработки безопасных гигиенических нормативов для ЭМИ и практического использования ЭМИ КВЧ в медицине принципиальное значение имеет определение зависимости биологического эффекта от функционального состояния биосистемы, в частности поиск количественных характеристик эффектов излучения на биологическую систему, находящуюся в различных физиологических состояниях. В наших экспериментах мы исследовали влияние ЭМИ КВЧ на ряд показателей иммунной системы в норме и на фоне острого системного зимозан-индуцированного воспалительного процесса.

С использованием метода проточной цитофлуориметрии было обнаружено, что облучение животных ЭМИ КВЧ (42,2 ГГц, 100 мкВт/см<sup>2</sup>, длительность экспозиции 20 мин) в норме и на фоне воспалительного процесса

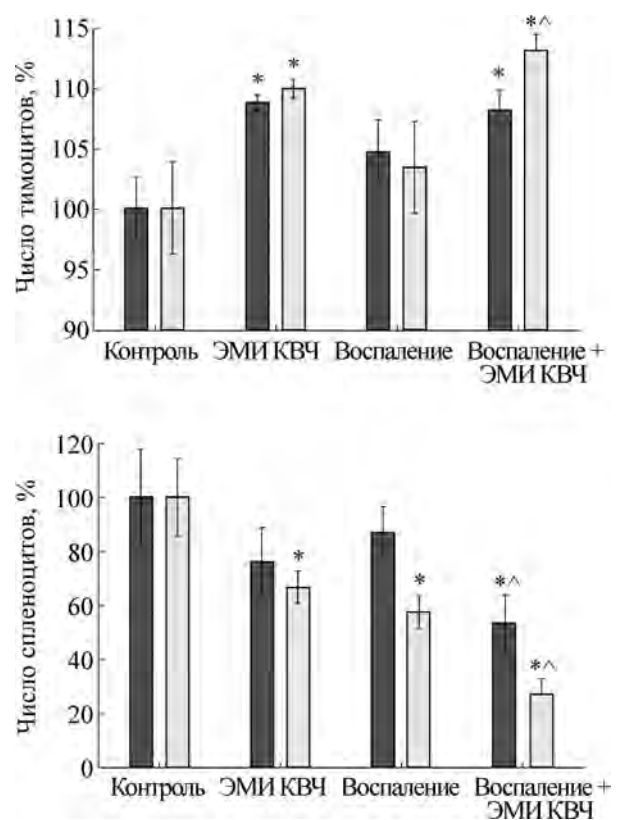
**Таблица 1.** Число клеток (в % от общего количества), имеющих маркеры дифференцировки CD4 и CD8, в тимусе и селезенке мышей в норме (контроль), при системном воспалительном процессе и после воздействия ЭМИ КВЧ (42,2 ГГц, 100 мкВт/см<sup>2</sup>, 20 мин)

Условия воздействия	Тимоциты			Спленоциты		
	CD4+	CD8+	CD4+/CD8+	CD4+	CD8+	CD4+/CD8+
Контроль	82,8 ± 2,2	73,9 ± 2,9	1,12 ± 0,03	21,4 ± 3,8	16,4 ± 2,3	1,3 ± 0,2
ЭМИ КВЧ	90,1 ± 0,5**	81,2 ± 0,6*	1,11 ± 0,02	16,2 ± 2,7	10,9 ± 1,0*	1,6 ± 0,4
Воспаление	86,6 ± 2,2	76,3 ± 2,8	1,14 ± 0,03	18,6 ± 2,0	9,4 ± 1,0*	2,0 ± 0,2**
Воспаление + ЭМИ КВЧ	89,5 ± 1,4*	83,5 ± 1,0** ^	1,07 ± 0,02	11,4 ± 2,2* ^	4,4 ± 1,0** ^	2,8 ± 0,4**

Примечание. \*\*  $p < 0,01$ , \*  $p < 0,05$  от контроля; ^  $p < 0,04$  от уровня при воспалении,  $n = 7$  для каждого из условий воздействия.

приводит к увеличению в среднем на 9–13% ( $p < 0,05$  по сравнению с контролем) числа CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов в тимусе животных (табл. 1, рисунок). При этом соотношение хелперы/супрессоры в тимусе животных достоверно не изменялось (табл. 1). Величина и направленность эффекта излучения на клетки тимуса практически не различались при облучении животных в норме и на фоне воспалительного процесса. Напротив, в селезенке облученных животных значительно снижалось число CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов, что особенно было выражено при облучении на фоне воспалительного процесса (табл. 1, рисунок). Число CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов в селезенке уменьшалось в два и четыре раза ( $p < 0,05$  и  $p < 0,01$  по сравнению с контролем) соответственно. Соотношение хелперы/супрессоры в селезенке облученных животных увеличивалось более чем в два раза ( $p < 0,01$  по сравнению с контролем), что может свидетельствовать о стимулирующем эффекте ЭМИ КВЧ. Эти результаты находятся в хорошем соответствии с литературными данными, демонстрирующими рост соотношения хелперы/супрессоры и активности Т-лимфоцитов в селезенке мышей, облученных ЭМИ КВЧ (42,2 ГГц, 30 мин в сутки в течение 3 сут) тепловых интенсивностей [19].

Анализ полученных результатов показывает, что наибольшие изменения субпопуляционного состава Т-лимфоцитов (в несколько раз) под действием ЭМИ КВЧ на фоне воспалительного процесса происходят в селезенке животных и носят выраженный аддитивный характер по отношению к изменениям при воспалительном процессе и при облучении интактных животных. Так, число CD4+ Т-лимфоцитов в селезенке облученных животных уменьшалось на  $24 \pm 13\%$  по сравнению с контролем, при воспалительном процессе – на  $13 \pm 9\%$ , а при облучении на фоне воспалительного процесса –



Число тимоцитов и спленоцитов (в % от контроля), имеющих маркеры дифференцировки CD4 (темные столбики) и CD8 (светлые столбики), у мышей в норме (контроль), при системном зимозан-индуцированном воспалительном процессе и после облучения ЭМИ КВЧ (42,2 ГГц, 100 мкВт/см<sup>2</sup>, 20 мин через 1 ч после индукции воспаления); \*  $p < 0,05$  от контроля; ^  $p < 0,04$  от уровня при воспалении,  $n = 7$  для каждого из условий воздействия.

на  $47 \pm 10\%$  ( $p < 0,05$  по сравнению с контролем). Число CD8+ Т-лимфоцитов в селезенке облученных животных достоверно уменьшалось на  $33 \pm 6\%$  по сравнению с контролем, при воспалительном процессе – на  $43 \pm 6\%$ , а при

**Таблица 2.** Экспрессия мРНК цитокинов в тимоцитах и спленоцитах мышей в норме (контроль), при системном воспалительном процессе и после воздействия ЭМИ КВЧ (42,2 ГГц, 100 мкВт/см<sup>2</sup>, 20 мин);  $n = 3$  для каждого из условий воздействия

Условия	Тимоциты				Спленоциты			
	Контроль	ЭМИ КВЧ	Воспаление	Воспаление + ЭМИ КВЧ	Контроль	ЭМИ КВЧ	Воспаление	Воспаление + ЭМИ КВЧ
IL-1 $\beta$	-	+	-	+	-	+	-	++
IL-6	-	-	-	-	-	-	-	+
IL-10	-	-	-	-	-	-	-	++
TNF $\alpha$	-	-	-	-	-	+	-	++
IFN $\gamma$	-	+	+	++	-	-	+	+
GAPDH	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

облучении на фоне воспалительного процесса – на  $73 \pm 6\%$  ( $p < 0,01$  по сравнению с контролем). Аддитивный характер указанных изменений может свидетельствовать о различных механизмах запуска процессов, приводящих к снижению числа CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов в селезенке при воспалении и при действии излучения. Полученные результаты дают основание полагать, что облучение животных ЭМИ КВЧ с эффективными параметрами приводит к интенсификации защитных возможностей организма, активируя Т-клеточный иммунитет. Регистрируемое нами значительное уменьшение числа CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов в селезенке может происходить в результате либо снижения экспрессии этих маркеров дифференцировки, либо в результате выхода зрелых клеток из селезенки и тимуса для обеспечения их функций при воспалении. Мы полагаем, что ускоряется именно выход клеток с инициацией процессов пролиферации и дифференцировки, которые в случае Т-клеток наиболее интенсивно идут в тимусе, что и обуславливает увеличение числа CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов в тимусе облученных животных.

Учитывая изменения субпопуляционного состава и активности лимфоцитов в тимусе и селезенке облученных животных, важно было проверить, каким образом меняются эффектор-ные функции этих клеток, в частности продукция ими ряда цитокинов, играющих ключевую роль в развитии и разрешении воспалительного процесса. С использованием методов реакции обратной транскрипции и ПЦР-РВ мы исследовали изменения экспрессии генов медиаторов воспаления (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, TNF $\alpha$  и IFN $\gamma$ ) в тимоцитах и спленоцитах мышей в норме, на фоне воспалительного процесса и после облучения ЭМИ КВЧ. В проведенных экспериментах мы не наблюдали выраженной конститутивной экспрессии генов исследуемых цито-

кинов (табл. 2, контроль). Развитие воспалительного процесса приводило к заметному увеличению экспрессии генов IFN $\gamma$  как в тимоцитах, так и в спленоцитах мышей (табл. 2, воспаление). Обнаружено, что у облученных животных через 4 ч после воздействия ЭМИ КВЧ увеличивается экспрессия генов IL-1 $\beta$  и IFN $\gamma$  в тимоцитах и существенно усиливается экспрессия генов IL-1 $\beta$ , IL-10 и TNF $\alpha$  в спленоцитах (табл. 2), что указывает на участие фактора транскрипции NF- $\kappa$ B в реализации эффектов излучения [20]. Эти данные согласуются с обнаруженным нами ранее фактом о деконденсации хроматина в спленоцитах под действием ЭМИ КВЧ [6], который косвенно свидетельствовал об активации процессов внутриклеточного синтеза. Увеличение экспрессии генов IFN $\gamma$  и TNF $\alpha$  лимфоцитами облученных животных указывает на то, что ЭМИ КВЧ может модулировать иммунные реакции, сдвигая баланс развития иммунного ответа в направлении пути, опосредуемого Т-хелперами первого класса. Это подтверждает полученные нами ранее данные о высокой чувствительности неспецифического и Т-клеточного и низкой чувствительности В-клеточного иммунитета к действию низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ [9,21-23]. Значительное усиление экспрессии IL-10 в спленоцитах животных, облученных на фоне воспалительного процесса, свидетельствует о запуске противовоспалительных иммунных реакций. Таким образом, посредством активации определенных субпопуляций лимфоцитов под действием излучения может создаваться специфический цитокиновый профиль, обуславливающий противовоспалительный эффект ЭМИ КВЧ. Высокий противовоспалительный потенциал низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ с определенными физическими параметрами в отношении местного воспалительного процесса был продемонстрирован нами в работах [13,24,25].

Было обнаружено, что низкоинтенсивное ЭМИ КВЧ (42,2 ГГц, 100 мкВт/см<sup>2</sup>, экспозиция 20 мин) оказывает выраженное противовоспалительное действие, которое проявляется в снижении экссудативного отека и гипертермии очага воспаления. Важно отметить, что кинетика и величина противовоспалительного эффекта ЭМИ КВЧ подобны таковым при действии однократной терапевтической дозы ингибитора циклооксигеназы диклофенака натрия, известного нестероидного противовоспалительного препарата.

Совокупность полученных нами результатов свидетельствует о том, что основные механизмы реализации эффектов низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ связаны с модификацией иммунного статуса организма в результате системной реакции на воздействие излучения. Среди ключевых звеньев, ответственных за реализацию эффектов ЭМИ КВЧ на клеточном и организменном уровнях, следует выделить выраженную реакцию хроматина лимфоидных клеток, имеющую направленность генопротекторного действия излучения при воспалительном процессе; активацию Т-клеточного иммунитета, проявляющуюся в мобилизации зрелых CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов из селезенки и тимуса облученных животных; создание специфического цитокинового профиля, обуславливающего противовоспалительный эффект ЭМИ КВЧ. Таким образом, посредством включения определенных сигнальных систем может осуществляться направленный (противовоспалительный) ответ организма на специфическую комбинацию эффективных параметров электромагнитного излучения. Мы полагаем, что в основе механизмов наблюдаемых эффектов ЭМИ КВЧ лежит физиологическая реакция клеток на биологически активные вещества, которые могут индуцироваться при облучении.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 08-04-90000-Бел\_а).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. I. Ya. Belyaev and V. G. Kravchenko, *Z. Naturforsch.* **49c**, 352 (1994).
2. Y. G. Shkorbatov, N. N. Grigoryeva, V. G. Shakhbazov, et al., *Bioelectromagnetics* **19**, 414 (1998).
3. I. Ya. Belyaev, V. S. Shcheglov, E. D. Alipov, and V. D. Ushakov, *IEEE Trans. Microwave Theory Techn.* **48** (11), 2172 (2000).
4. В. И. Федоров, А. С. Погодин, Т. Д. Дубатолова и др., *Биофизика* **46** (2), 298 (2001).
5. I. Ya. Belyaev, *Microwave Review* **11**, 13 (2005).
6. А. Б. Гапеев, К. В. Лушников, Ю. В. Шумилина и др., *Радиационная биология. Радиоэкология* **43** (1), 87 (2003).
7. А. Б. Гапеев и Н. К. Чемерис, *Биомедицинские технологии и радиоэлектроника* **2-4**, 44 (2007).
8. К. В. Лушников, А. Б. Гапеев и Н. К. Чемерис, *Радиационная биология. Радиоэкология* **42** (5), 533 (2002).
9. А. Б. Гапеев и Н. К. Чемерис, *Биомедицинская радиоэлектроника* **8-9**, 30 (2007).
10. А. В. Шурлыгина, В. А. Труфакин, Г. В. Гуцин и Е. А. Корнева, *Бюл. эксперим. биологии и медицины* **128** (9), 344 (1999).
11. А. Б. Гапеев и Н. К. Чемерис, *Вестн. новых мед. технологий* **6** (2), 39 (1999).
12. А. Б. Гапеев и Н. К. Чемерис, *Биомед. радиоэлектроника* **1**, 13 (2010).
13. А. В. Gapeyev, E. N. Mikhailik, and N. K. Chemeris, *Bioelectromagnetics* **29** (3), 197 (2008).
14. А. Б. Гапеев, П. А. Соколов и Н. К. Чемерис, *Биофизика* **47** (4), 759 (2002).
15. A. L. Givan, *Methods Cell Biol.* **63**, 19 (2001).
16. L. Overbergh, A. Giulietti, D. Valckx, et al., *J. Biomol. Tech.* **14**, 33 (2003).
17. S. Mamo, A. V. Gal, S. Bodo, and A. Dinnyes, *BMC Dev. Biol.* **7**, 14 (2007).
18. О. В. Бецкий и Н. Н. Лебедева, *Биомед. радиоэлектроника* **8-9**, 6 (2007).
19. V. Makar, M. Logani, I. Szabo, and M. Ziskin, *Bioelectromagnetics* **24**, 356 (2003).
20. S. Vallabhapurapu and M. Karin, *Annual Review of Immunology* **27**, 693 (2009).
21. К. В. Лушников, А. Б. Гапеев, В. Б. Садовников и Н. К. Чемерис, *Биофизика* **46** (4), 753 (2001).
22. М. П. Коломыцева, А. Б. Гапеев, В. Б. Садовников и Н. К. Чемерис, *Биофизика* **47** (1), 71 (2002).
23. К. В. Лушников, А. Б. Гапеев, Ю. В. Шумилина и др., *Биофизика* **48** (5), 918 (2003).
24. А. Б. Гапеев, К. В. Лушников, Ю. В. Шумилина и Н. К. Чемерис, *Биофизика* **51** (6), 1055 (2006).
25. А. В. Gapeyev, E. N. Mikhailik, and N. K. Chemeris, *Bioelectromagnetics* **30** (6), 454 (2009).

## **Responses of Thymocytes and Splenocytes to Low-intensity Extremely High-frequency Electromagnetic Radiation in Normal Mice and in Mice with Systemic Inflammation**

**A.B. Gapeyev\***, **N.P. Sirota\*\***, **A.A. Kudryavtsev\*\***, and **N.K. Chemeris\***

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

*\*\* Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

Changes in T cell subsets and expression of cytokine genes in thymocytes and splenocytes after exposure of BALB/c mice to low-intensity extremely high-frequency electromagnetic radiation (42.2 GHz, 0.1 mW/cm<sup>2</sup>, exposure duration 20 min) under normal conditions and in systemic inflammation were studied using flow cytometry and the methods of reverse transcription and real-time polymerase chain reaction. It was found that the number of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells statistically significantly increased in the thymus and considerably decreased in the spleen of exposed animals. Apparently, the exposure of animals leads to an intensification of the host defense, by activating the T-cellular immunity. As for effector functions, the increased expression of IL-1 $\beta$  and IFN $\gamma$  genes in thymocytes and essentially enhanced expression of IL-1 $\beta$ , IL-10, and TNF $\alpha$  genes in splenocytes were observed in mice exposed against the background of a progressive inflammatory process. The experimental data obtained specify that the directed (anti-inflammatory) response of an organism to a specific combination of effective exposure parameters of electromagnetic radiation can be realized by the activation of particular immunocompetent cells and changes in the cytokine profile.

*Key words: extremely high-frequency electromagnetic radiation, inflammation, thymus, spleen, flow cytometry, real-time polymerase chain reaction*