

Винахід відноситься до області біофізики, однією з проблем якої є вивчення біологічної ефективності електромагнітних випромінювань (ЕМВ) різного діапазону.

Проблема підвищення імунологічної реактивності в останні роки здобуває усе більшу актуальність у зв'язку з ростом імунодефіцитних станів різного характеру. Тому у даний час активно ведеться пошук нетоксичних імуномодуляторів для підвищення резистентності організму. В якості такого індуктора може бути використане електромагнітне випромінювання надто високої частоти (ЕМВ НВЧ) низької інтенсивності, що ефективно використовується для лікування і профілактики широкого спектра захворювань. Отже, дослідження імуномодуючої дії цього фактора становить значний інтерес. Оскільки людина і тварини постійно піддаються дії стресорів, а більшість імунологічних процесів розгортається на тлі стресу (Сельє Г. Очерки об адаптационном синдроме. -М.: Медицина. -1960. -254с.), тому вивчення механізмів імунокорегуючої дії будь-якого фактора, у тому числі і ЕМВ НВЧ, доцільно проводити на моделях з експериментально викликаного стрес-реакцією. Розвиток такої реакції викликає, зокрема, обмеження рухливості (гіпокінезії) (Коваленко Е.А., Гуровский Н.Н. Гипокинезия. -М.: Медицина. -1980. -307с.), широко розповсюджене в даний час.

Прототипом винаходу є «Спосіб профілактики і корекції стресу» (Деклараційний патент України №53128, МПК 7: А61N2/00, опублікований 15.01.03, Бюл. №1), що включає вплив на живі організми ЕМВ НВЧ, що здійснюють попередньо, до впливу стрес-фактора, за допомогою терапевтичного генератора НВЧ-випромінювання з фіксованою довжиною хвилі 7,1мм і щільністю потоку потужності 0,1мвт/см² на зону голови щодня по 30 хвилин протягом 9 днів.

Недоліком цих досліджень є те, що показано можливість лімітувати стрес-реакцію при використанні ЕМВ НВЧ до обмеження рухливості тварин, тоді як зовсім не вивченим є можливість застосування малопотужного ЕМВ НВЧ для корекції імунологічної реактивності в інфікованих тварин, що одночасно знаходяться в умовах експериментально викликаного стрес-реакції.

Крім того, у вище названих дослідженнях був використаний вплив на зону голови. Однак така локалізація не застосовується в клінічній практиці, тому необхідні дослідження антистресорної та імуномодуючої дії ЕМВ НВЧ на рефлексогенну зону, яка широко використовується у фізіотерапії. У зв'язку з цим, необхідні додаткові дослідження дії ЕМВ НВЧ на зміну імунологічної реактивності при стресі, оскільки проблема «стрес та імунітет» у даний час здобуває особливе значення.

В основу винаходу було поставлено задачу виявлення імуномодуючої дії ЕМВ НВЧ із довжиною хвилі 7,1мм і щільністю потоку потужності 0,1мвт/см² при його дії на інфікованих тваринах, що знаходяться в умовах як звичайного, так і обмеженого рухового режиму.

Сутність винаходу полягає в тому, що спосіб підвищення імунологічної реактивності при стресі включає вплив на організм ЕМВ НВЧ за допомогою терапевтичного генератора з фіксованою довжиною хвилі 7,1мм і щільністю потоку потужності 0,1мвт/см² щодня по 30 хвилин протягом 9-ти днів. При цьому, відповідно до винаходу, вплив ЕМВ НВЧ здійснюють на потилично-комірну зону тварин, які знаходяться в умовах стрес-реакції до інфікування.

Прийнятливо-наслідковий зв'язок між істотними ознаками винаходу і результатом, що досягається, полягає в здатності ЕМВ НВЧ низької інтенсивності підвищувати опірність організму до зовнішніх факторів, що репресують, і знижувати ефект гноблення імунної системи при стресі, що вказує на можливість використання ЕМВ даного діапазону для імуностимуляції при стресі. Вибір потилично-комірної зони локалізації впливу ЕМВ НВЧ обумовлений тим, що ця зона є однією з рефлексогенних зон, у якій виявлена велика кількість рецепторних закінчень, судин мікроциркуляторного русла, лімфатичних судин, БАК, гладких кліток. Відомо, що саме судини мікроциркуляторного русла, нервові закінчення й елементи АРУД-системи, до якої, зокрема, відносяться гладкі клітки, відіграють важливу роль у механізмах фізіологічної дії ЕМВ НВЧ. З цих позицій не дивно, що найбільш виражений ефект нами виявлений при впливі ЕМВ НВЧ саме на потилично-комірну зону, в якій у великій кількості присутні первинні мішені для впливу хвиль НВЧ-діапазона.

Реалізація винаходу здійснюється в такий спосіб. Для вивчення імуномодуючої здатності ЕМВ НВЧ була проведена серія експериментів на самцях білих безпородних пацюків. Для експериментів відбирали тварин однакового віку і ваги, із середнім рівнем рухової активності і низькою емоційністю, обумовлених у тесті «відкритого поля». Подібний добір дозволив сформувати однорідні групи тварин з однаковими конституціональними особливостями, що однотипно реагують на дію різних факторів. Попередньо відібрані тварини були розділені на 5 груп. До першої і другої груп відносилися тварини, що містяться в звичайних умовах віварію. Третю групу складали пацюки, піддані дії стресу. Стрес моделювався обмеженням рухливості (гіпокінезією, ГК), що досягалося приміщенням пацюків у спеціальні касети з оргскла, у яких вони знаходилися протягом 9 діб по 22 години щодня. Тварини четвертої групи піддавалися дії ЕМВ НВЧ. П'яту групу склали тварини, що знаходилися в умовах ГК і одночасно піддавалися впливу ЕМВ НВЧ (ГК+НВЧ).

Вплив ЕМВ НВЧ здійснювалося щодня по 30 хвилин на потилично-комірну зону протягом 9 діб експерименту за допомогою генератора «ПРОМІНЬ. КВЧ - 071» з довжиною хвилі 7,1мм, щільністю потоку потужності 0,1мвт/см².

Після превентивних впливів, на 10 добу експерименту було проведено зараження пацюків. З цією метою використовувалася *Mycoplasma Hominis*, отримана з промивних вод бронхів хворих у лабораторії мікробіології інституту нефрології й урології (м. Київ). *Mycoplasma Hominis* вводилася по 0,2мол (концентрація 10⁶ мікробних тіл у 1мол) у хвостову вену пацюкам 2-й (інфіковані, ДО+І), 3-ій (ГК+І), 4-ої (НВЧ+І) і 5-ої (ГК+НВЧ+І) груп. 1-а група служила біологічним контролем (ДО). Відповідно до сучасних представлень, адекватними методами, що характеризують неспецифічну резистентність, є цитохімічні методи оцінки функціонального стану нейтрофілів і лімфоцитів крові. Кров для дослідження брали з хвостової вени щодня протягом 28 діб експерименту. Досліджувалися бактеріцидні (пероксидаза (ПО), катіонні білки (КБ)), гідролітичні системи (кисла фосфатаза (КФ), протеаза (ПР)), зміст ліпідів у нейтрофілах і окислювально-відновний ферменти (сукцинатдегідрогеназа (СДГ) і (-глицерофосфатдегідрогеназа ((-ГФДГ)) у лімфоцитах і нейтрофілах крові. Цитохімічний зміст ПО визначали за допомогою реакції Грехема (Лилли, 1969), КБ за способом М.Г. Шубича (1974), ліпідів за допомогою судану чорного Б (Sheehan, Sforey, 1947). Кількісну оцінку досліджуваних показників робили відповідно до принципу Karlow (1955) на підставі обчислення цитохімічного показника змісту (ЦПС) у розрахунку на 100

нейтрофілів. Середній зміст СДГ і (-ГФДГ визначали по методу Р.П. Нарцисова (1969) шляхом кількісного підрахунку сферичних гранул формазана. Крім того, у мазках крові, пофарбованих по Романовському - Гимзі визначалася лейкоцитарна формула (ЛФ).

Через 19 днів після зараження тварин декапітирували. У плазмі крові визначали концентрації фактора некрозу пухлини (ФНО-) і інтерферону (ИФН-). ФНО-(тестували по цитопатичній дії на клітках (-929 (мишачі фібробласти). Результати оцінювали на мультискані «Dynatech» (Швейцарія) при довжині хвилі 556нм. Активність ФНО визначали у виді індексу цитотоксичності по формулі: $ИЦ = (ДО - Д) / ДО * 100\%$, де К - оптична щільність у контрольній, Д - у досліджених пробах.

Тестування ИФН-(проводили на первинній культурі кліток ембріонів пацюків по придушенню цитопатичної дії тест-вірусу (вірусу везикулярного стоматиту - ВВС). Клітки вирощували в 96-ти ямкової культуральної панелі. Після утворення клітинного моношару, у лунки вносили по 0,1мол. досліджуваних зразків у 2-кратних розведеннях. Проби сироватки попередньо розводилися середовищем культивування в пропорції 1:10. Як контроль у лунки вносили такий же обсяг середовища. Через 18 годин додавали по 0,1мол попередньо відтитрований вірус (ВВС) у робочому розведенні. Плати інкубували протягом 24-х годин при $t=24^{\circ}\text{C}$ в атмосфері O_2 . Облік результатів проводили мікроскопічно. За титр ИФН приймають величину, зворотну розведенню проби, при якому спостерігається 50% захист кліток від цитопатичної дії тест-вірусу. Титр ИФН- (виражали в умовних одиницях (ум.од.).

З огляду на наявність тісного зв'язку коагуляційних властивостей крові з клітинними елементами неспецифічної резистентності, а також зміни згортаємості крові в процесі запальної реакції було проведено дослідження змін системи гемостазу:

Визначалися показники коагулограми: протромбиновий індекс (ПІ), час рекальцифікації (ВР), концентрація фібриногену «А» (ФА), зміст фібрину (Ф), фібриногену «У», фібринолітична активність плазми (ФАП) і толерантність плазми до гепарину (ТПГ) по стандартних методиках, широко застосовуваним у клінічній і лабораторній практиці (Меньшиков, 1987).

Статистичний аналіз результатів проводили з використанням параметричних і непараметричних методів на РС "Pentium III 800" з використанням пакета статистичних програм «Statistica-5.5». Вірогідність відмінностей між показниками оцінювали за допомогою t-критерію Стюдента. Силу і спрямованість зв'язку між досліджуваними показниками оцінювали за допомогою кореляційного аналізу.

Результати досліджень свідчать про те, що зміна імунологічної реактивності в інфікованих тварин залежить від вихідного стану організму. Так, послідовна дія гіпокінетичного стресу і *Micoplasma Hominis* приводить до істотного зниження продукції фактора некрозу пухлини (ФНО-), інтерферону (ИФН-), гнобленню неспецифічних захисних реакцій нейтрофілів і лімфоцитів крові (бактерицидних, гідролітичних, енергетичних систем), розвитку гіперкоагуляційного зрушення крові на тлі депресії противозвертувальної і фібринолітичної систем, що є причиною виникнення тромботичних ускладнень.

Превентивний вплив ЕМВ НВЧ на інфікованих тваринах, що знаходяться в умовах як звичайного, так і обмеженого рухового режиму, привів до значного збільшення продукції ФНО- (і інтерферону ИФН- (підвищенню захисно-приспосувального потенціалу системи крові, що виражалось в збільшенні функціональної активності бактерицидних, гідролітичних, енергетичних систем нейтрофілів і лімфоцитів. Зміни в системі гемостазу в результаті інфекційного процесу, що розвивається, у тварин, що піддавалися як ізолюваному, так і комбінованому з гіпокінезією дією ЕМВ НВЧ свідчать про збільшення потенціалу прокоагулянтної ланки, що супроводжується компенсаторним підвищенням потенціалу фібринолітичної і антикоагуляційної систем.

Таким чином, ЕМВ НВЧ низької інтенсивності лімітує розвиток стрес-реакції і знижує ефект гноблення імунної системи при стресі, що вказує на можливість використання ЕМВ даного діапазону для імуномодуляції.

Отримані результати дозволяють значно підвищити ефективність і розширити можливості застосування НВЧ - терапії для корекції і профілактики імунодефіцитних станів, викликаних стрес - реакцією. Ці дані можуть бути використані у тваринництві, ветеринарії, виробничій діяльності людей і практичній охороні здоров'я, наприклад, можливе застосування ЕМВ НВЧ по заданому способу перед проведенням вакцинації.