

## ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ АНТИНОЦИЦЕПТИВНЫХ ЭФФЕКТОВ ПРЕВЕНТИВНОГО МИКРОВОЛНОВОГО ОБЛУЧЕНИЯ ТОЧКИ АКУПУНКТУРЫ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО БЛОКИРОВАНИЯ NO-СИНТАЗЫ У МЫШЕЙ

Поступила 15.09.12

В поведенческих опытах на четырех группах мышей в условиях стандартного формалинового теста исследовали влияния, обусловленные предварительным 10-минутным облучением точки акупунктуры (ТА) E-36 миллиметровыми электромагнитными волнами малой интенсивности (посылки длительностью 50 мс, заполненные колебаниями с длиной волны от 4.0 до 7.5 мм и разделенные 50-миллисекундными интервалами) и блокированием NO-синтазы – NOS (инъекции 20 мг/кг конкурентного блокатора NOS L-NAME). В случаях изолированного превентивного облучения ТА и нормального функционирования NOS поведенческие проявления болевой реакции (вылизывание конечности, под кожу стопы которой инъецировали формалин) значительно подавлялись на протяжении почти всего периода наблюдения (60 мин), причем относительная интенсивность такого подавления в интервале 30–50 мин была выше, чем в первые 20 мин развития боли. Изолированное блокирование NOS приводило к более чем двукратному сокращению продолжительности эпизодов вылизывания конечности в пределах начальной фазы болевой реакции (до 20 мин), но в интервале 30–40 мин после инъекции формалина (воспалительная боль) интенсивность данных поведенческих проявлений заметно возрастала. Комбинация предварительного облучения ТА E-36 и введения L-NAME обуславливала существенное усиление анальгетических влияний на протяжении всего периода наблюдения, причем в интервале 40–50 мин анальгезия была практически полной. Общая продолжительность проявлений болевой реакции в пределах периода наблюдения при таком комбинированном воздействии была в среднем на 56 % меньше, чем аналогичный показатель при формалиновом тесте в отсутствие анальгезирующих влияний (облучения ТА и блокирования NOS). Обсуждаются существующие концепции относительно механизмов, опосредующих действия крайне высокочастотных переменных электромагнитных полей на организм млекопитающих (в том числе таких воздействий на ТА), а также механизмов взаимодействия эффектов микроволнового облучения и модуляции интенсивности синтеза NO.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** соматическая боль, анальгезия, точка акупунктуры (ТА) E-36 (St-36), электромагнитные волны миллиметрового диапазона, превентивное облучение ТА микроволнами, блокирование NO-синтазы, L-NAME.

### ВВЕДЕНИЕ

Воздействие электромагнитных полей (ЭМП), имеющих различные параметры, на организм млекопитающих и, в частности, влияния подобных факторов на болевые синдромы были и остаются предметом

многочисленных исследований. Особый интерес при этом вызывают эффекты воздействия крайне высокочастотных (КВЧ) переменных ЭМП – электромагнитных волн миллиметрового диапазона [1–6]. Соответствующие методики уже сейчас нашли весьма широкое применение в клинике, несмотря на то что механизмы модуляции боли под воздействием КВЧ–ЭМП во многих аспектах не до конца ясны [7–9]. Мнения об эффективности антиноцицептивных влияний при воздействии низкоинтен-

<sup>1</sup> Институт физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины, Киев (Украина).

Эл. почта: sushko@biph.kiev.ua (Б. С. Сушко).

сивных КВЧ–ЭМП весьма различны – от высоких оценок до скептических высказываний относительно этого феномена вообще [10]. Подобная противоречивость во всяком случае частично связана с существенными различиями в методиках микроволнового облучения – в одних случаях такое облучение в условиях экспериментов было тотальным [4], в других – ему подвергался очаг, ответственный за индукцию боли [2], в третьих – облучались так называемые рефлексогенные зоны, обычно квалифицируемые как точки акупунктуры (ТА) [3]. Локализация ТА у человека весьма детально определена в ходе специальных наблюдений; достаточно близкие соответствия таких локусов к настоящему времени установлены и у ряда экспериментальных животных [11]. Следует признать, что сомнения в эффективности воздействия миллиметровых волн часто были связаны именно с последним из упомянутых подходов – облучением ТА. Кроме того, следует упомянуть, что в различных экспериментах тестировались влияния КВЧ–ЭМП на различные виды боли (например, соматическую и висцеральную), использовались приборы с различными параметрами генерируемого излучения и разные временные режимы воздействия. В частности, применялось КВЧ-облучение, синхронное с индукцией боли, либо превентивное воздействие, которое реализовывалось предварительно, до момента начала ноцицептивной стимуляции. Все эти обстоятельства значительно затрудняют сопоставление полученных результатов.

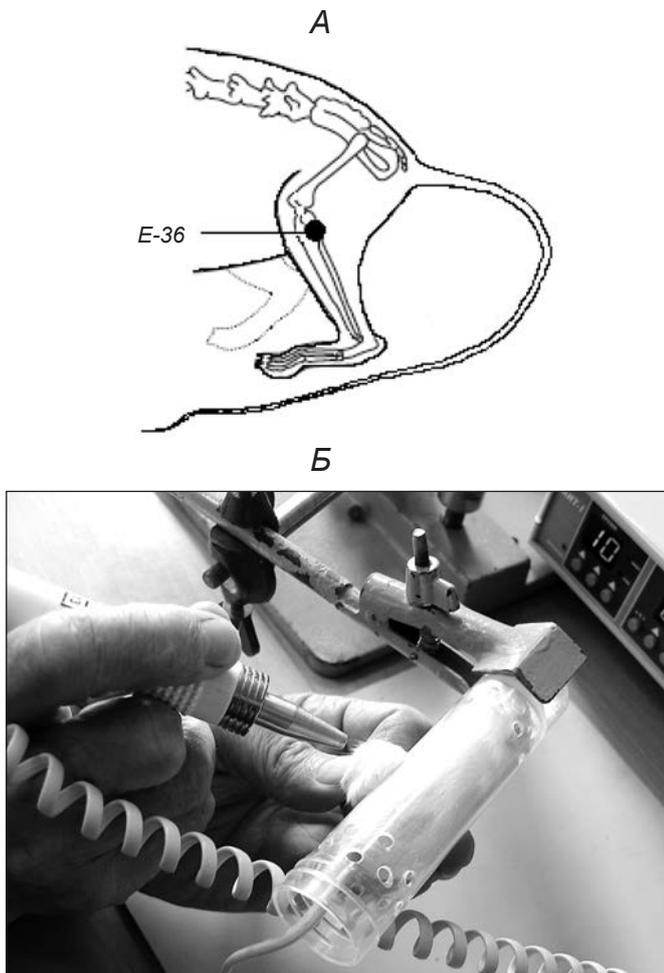
В настоящее время большое внимание привлекает роль, которую в индукции и модуляции боли играет такой агент, как оксид азота (NO) [12–14]. В аспекте нашей работы необходимо упомянуть, что имеются данные о наличии связи между воздействиями на ТА и активацией синтеза NO [15–18]. Эффекты воздействия КВЧ–ЭМП в условиях модуляции интенсивности последнего процесса изучены в весьма ограниченной степени.

С учетом всего изложенного выше мы исследовали в опытах на мышах анальгетические эффекты превентивного КВЧ-облучения области антиноцицептивной ТА E-36 в условиях формалинового теста и взаимодействие этих эффектов с влияниями фармакологического блокирования NO-синтазы (NOS). Особое внимание было обращено на стандартизацию условий эксперимента. В работе также обсуждаются возможные механизмы воздействия ЭМП на биологические системы.

## МЕТОДИКА

В наших исследованиях, проведенных с соблюдением принципов гуманного обращения с экспериментальными животными [19], были использованы 48 половозрелых белых мышей-самцов, содержащихся в стандартных условиях вивария со свободным доступом к пище и воде. Животные были разделены на четыре группы по 12 мышей в каждой. За двое суток перед исследованиями животных отсаживали в индивидуальные клетки. В ходе экспериментов проводили регистрацию поведения в условиях стандартного формалинового теста. Как известно, при этом у животных индуцируется переходящая соматическая боль, сопровождаемая хорошо выраженными и легко измеряемыми поведенческими проявлениями. Ноцицептивное воздействие обеспечивалось путем введения 20 мкл 5 %-ного раствора формалина под кожу стопы левой задней конечности. Интенсивность болевой реакции оценивали в основном согласно длительности эпизодов лизания животным участка введения формалина в пределах 60-минутного периода непрерывного наблюдения. Кроме того, подсчитывались количества подергиваний конечности, в которую была произведена инъекция. Измерялись также длительности таких поведенческих проявлений, как локомоция (перемещения по клетке), груминг, потребление пищи и воды, сон. Для измерения указанных параметров применяли специальную программу «Lady Pain» [20]. Программа позволяла также группировать полученные данные в последовательные одинаковые промежутки времени в пределах периода наблюдения.

Для облучения миллиметровыми волнами ТА E-36 (St-36, рис. 1, А) использовали комбинированный аппарат для рефлексотерапии «МИТ-1 ЛТ-КВЧ» («Медицинские инновационные технологии», Украина). Данный аппарат в условиях наших экспериментов генерировал повторяющиеся послышки длительностью по 50 мс, заполненные КВЧ-колебаниями с переменной длиной волны (от 4.0 до 7.5 мм) и разделенные интервалами аналогичной длительности (50 мс). Мощность КВЧ-генератора составляла 2.25 мВт, диаметр наконечника излучателя – 3 мм. Перед облучением животным первой и второй групп внутривентриально вводили 0.15 мл 0.9 %-ного раствора NaCl, а мышам третьей и четвертой групп инъекцировали 20 мг/кг конкурентного блокатора NOS L-NAME («Sigma», США) в таком же объеме данного раствора. Для облучения ТА



**Р и с. 1.** Методика облучения точки акупунктуры (ТА) E-36 миллиметровыми волнами.

*А* – схема расположения ТА E-36 у мыши; *Б* – подведение излучателя к ТА экспериментального животного, находящегося в иммобилизационном контейнере.

**Р и с. 1.** Методика опромінення точки акупунктури E-36 міліметровими хвилями.

или его имитации мышей помещали в пластиковый цилиндрический иммобилизационный контейнер. Сеанс облучения длился 10 мин; излучатель подводился к ТА E-36 на расстояние 3 мм (*Б*). ТА у животных второй и четвертой групп подвергали реальному облучению миллиметровыми волнами. Облучение же ТА у животных первой и третьей групп лишь имитировалось – КВЧ-генератор был отключен от электропитания, однако все сопутствующие процедуры выполнялись. После окончания периода пребывания в контейнере всем животным производилась инъекция формалина, и они отсаживались

в индивидуальные клетки для регистрации поведенческих проявлений. Таким образом, животные всех групп подвергались идентичному комплексу манипуляций. При сопоставлении характеристик поведения в первой (контрольной) и второй группах можно было выявить антиноцицептивные эффекты облучения ТА E-36 в условиях нормального функционирования NOS, а при сравнении соответствующих показателей в первой и третьей группах – оценить возможные эффекты изолированного блокирования синтеза NO. Результаты, полученные в четвертой группе, позволяли определить эффекты комбинации микроволнового облучения ТА и блокирования NOS.

Все тесты проводили в интервале времени 10.00–14.00. В пределах одного дня экспериментов обследовалось одинаковое количество животных всех четырех групп. Очередность обследования мышей устанавливали таким образом, чтобы внутри всех групп она была одинаковой.

При анализе данных сравнивались между собой средние значения характеристик определенного поведенческого проявления по каждой группе животных в пределах одинаковых промежутков времени. Различия рассматривали как достоверные при  $P < 0.05$  согласно критерию Стьюдента [21, 22].

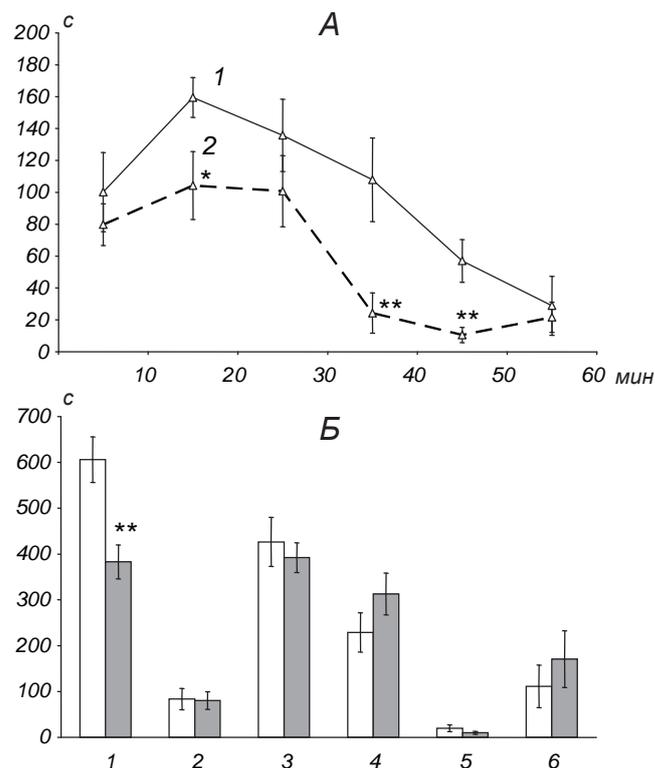
## РЕЗУЛЬТАТЫ

У животных первой (контрольной) группы (предварительная инъекция 0.9 %-ного раствора NaCl и 10-минутная имитация облучения ТА E-36) интенсивность болевой поведенческой реакции на ноцицептивное воздействие (длительность эпизодов лизания животным конечности, в которую вводили формалин) была наибольшей. В этой группе мышей нормированная общая длительность проявлений болевой реакции в пределах 60-минутного периода наблюдений составляла  $42 \pm 3$ , длительность перемещений по клетке –  $32 \pm 5$ , а груминг занимал в среднем  $15 \pm 2$  %. Эпизоды подёргивания конечности и потребления пищи и воды занимали остальное время, т. е. около 10 %. Обычно в конце экспериментов большинство животных засыпали. Измерение длительности сна во всех группах начинали приблизительно через 30 с неподвижного состояния мыши при закрытых глазах. Сон часто прерывался и наблюдался не у всех животных. Среднее по группе общее время сна в условиях контроля составляло около 2 мин (рис. 2, *Б*).

При относительно большой длительностью последовательных тест-интервалов (10 мин; рис. 2–5) четкой двухфазности динамики проявлений болевой поведенческой реакции, которая обычно отмечается в условиях формалинового теста на крысах, не наблюдалось. В случаях же более дробного деления общего периода наблюдения (пятиминутные интервалы) двухфазность выявлялась более отчетливо. Таким образом, есть основания полагать, что первые 10–20 мин наблюдений в наших экспериментах в основном можно отнести к начальной фазе острой боли, а последующие временные интервалы соответствуют фазе тонической воспалительной боли. Не исключено, что на динамику болевой поведенческой реакции оказывал также влияние стресс, связанный с 10-минутным пребыванием животных в иммобилизационном контейнере во время облучения или его имитации. Однако необходимо подчеркнуть, что все сопровождающие манипуляции с животными во второй–четвертой группах были идентичны таковым в первой (контрольной) группе. Это дает все основания для сравнения результатов, полученных в указанных группах.

У мышей второй группы (инъекция 0.9 %-ного раствора NaCl, 10-минутное реальное предварительное КВЧ-облучение ТА Е-36) болевые реакции на введение формалина были явно слабее, чем в первой (контрольной) группе. Это отмечалось на протяжении всего периода наблюдения, причем различия средних значений суммарной длительности болевой реакции в интервалах 10–20 и 30–50 мин в данных группах животных оказались достоверными (рис. 2, А). В целом проявления анальгетического влияния превентивного облучения ТА Е-36 КВЧ–ЭМП были относительно более значительными во второй половине периода наблюдения. Во временном интервале 10–50 мин суммарная длительность болевых проявлений у мышей второй группы была на 42 % меньше, чем в контрольной ( $P < 0.01$ ). Максимум интенсивности таких проявлений во второй группе, как и в контрольной, регистрировался в пределах интервала 10–20 мин, т. е., видимо, соответствовал фазе острой боли. В пределах же всего периода наблюдений средняя суммарная продолжительность болевой реакции во второй группе с КВЧ-облучением ( $383 \pm 37$  с) оказалась на 37 % меньше, чем в контрольной ( $606 \pm 50$  с;  $P < 0.01$ ; Б).

Динамика других поведенческих проявлений у мышей второй группы также претерпевала некоторые изменения. У этих животных более продолжи-



**Р и с. 2.** Влияние превентивного облучения точки акупунктуры (ТА) Е-36 миллиметровыми волнами на поведенческие проявления у мышей в условиях формалинового теста. А – динамика продолжительности (с) эпизодов вылизывания конечности, в которую вводился формалин (поведенческих проявлений болевой реакции), в пределах 10-минутных интервалов периода наблюдения (60 мин) у животных первой (формалиновый тест с имитацией облучения) и второй (формалиновый тест после предварительного реального 10-минутного облучения ТА Е-36) групп. Нуль на оси абсцисс соответствует моменту подкожной инъекции раствора формалина в заднюю конечность. Б – диаграмма суммарных длительностей (с) эпизодов вылизывания конечности (1), подергиваний конечности (2), локомоции (3), груминга (4), потребления пищи и воды (5) и сна (6) в пределах 60-минутного периода наблюдения. Белые и заштрихованные столбики – значения в первой и второй группах соответственно. Одной и двумя звездочками отмечены случаи достоверных межгрупповых различий с  $P < 0.05$  и  $P < 0.01$  соответственно.

**Р и с. 2.** Вплив попереднього опромінення точки акупунктури Е-36 міліметровими хвилями на поведінкові прояви у мишей в умовах формалінового тесту.

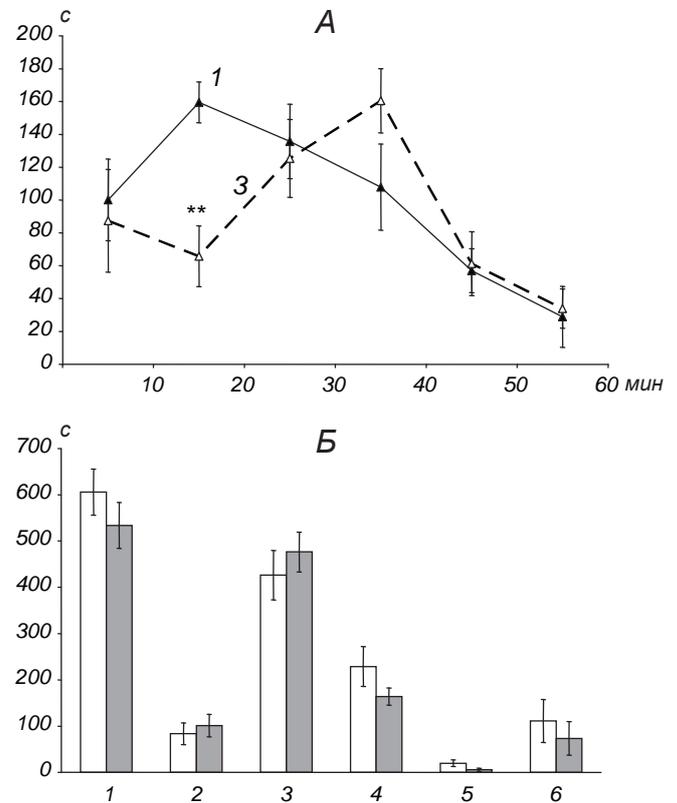
тельными были эпизоды груминга, причем особенно в пределах первой половины периода наблюдений. Во второй половине упомянутого периода меньшей становилась длительность перемещений по клетке и проявлялась тенденция к возрастанию длительности сна. Суммирование длительности «неболе-

вых» поведенческих проявлений в пределах всего периода наблюдений (60 мин) достоверных отличий соответствующих значений от контрольных не выявило (рис. 2, Б). Таким образом, относительно непродолжительное одноразовое предварительное воздействие ЭМП–КВЧ на ТА Е-36 приводило к заметному ослаблению проявлений болевой реакции, двигательной активности, а также к увеличению времени сна во второй половине периода наблюдений. При этом подавление тонической воспалительной боли было более значительным.

В третьей группе экспериментальных животных (блокирование NOS, обусловленное инъекцией раствора L-NAME, и 10-минутная имитация облучения ТА Е-36 КВЧ–ЭМП) динамика болевой реакции демонстрировала весьма специфические изменения. Средняя длительность проявлений данной реакции в первые 20 мин после инъекции формалина в третьей группе была примерно вдвое меньше, чем в контрольной, причем в интервале 10–20 мин различия были статистически достоверными. Это свидетельствовало о существенном анальгезирующем влиянии блокирования NOS в пределах первой фазы болевой реакции (фазы острой боли). Затем, однако, проявления данной реакции становились более интенсивными, достигая максимума в интервале 30–35 мин после инъекции формалина (примерно на 15 мин позже, чем в первой, контрольной, группе) (рис. 3, А). Суммарная же длительность эпизодов вылизывания конечности за 60 мин наблюдения почти не отличалась от контрольных значений (Б, 1). У животных третьей группы также отмечалось несколько большее количество подергиваний лапы, в которую инъекцировали формалин. Достоверных изменений длительности остальных поведенческих проявлений не обнаруживалось (Б). Таким образом, фармакологическое блокирование синтеза NO обуславливало существенный анальгетический эффект в начале периода наблюдения (в фазе острой боли), однако в последующем (фаза тонической воспалительной боли) соответствующие поведенческие проявления не только не ослабевали, но даже заметно усиливались.

В четвертой группе экспериментальных животных (комбинация 10-минутного предварительного облучения ТА Е-36 и инъекций раствора L-NAME) совместные влияния упомянутых факторов обуславливали заметно бóльшие антиноцицептивные эффекты в условиях формалинового теста, чем влияния таких факторов в отдельности. В интервале 10–50 мин относительное сокращение длительно-

сти проявлений болевой реакции было высокодостоверным, а на отрезке 40–50 мин болевая реакция в рассматриваемой группе практически отсутствовала (рис. 4, А). Суммарная продолжительность эпизодов вылизывания конечности в пределах всего периода наблюдений составляла  $270 \pm 34$  с, что на 56 % меньше аналогичной величины в контрольной (первой) группе ( $P < 0.01$ ). Кроме того, совместное влияние КВЧ-облучения ТА Е-36 и блокирования NOS обуславливало заметное (хотя и недостоверное) уменьшение суммарных продолжительностей эпизодов подергиваний конечности, перемещений по клетке и грумिंगа. В то же время в четвертой



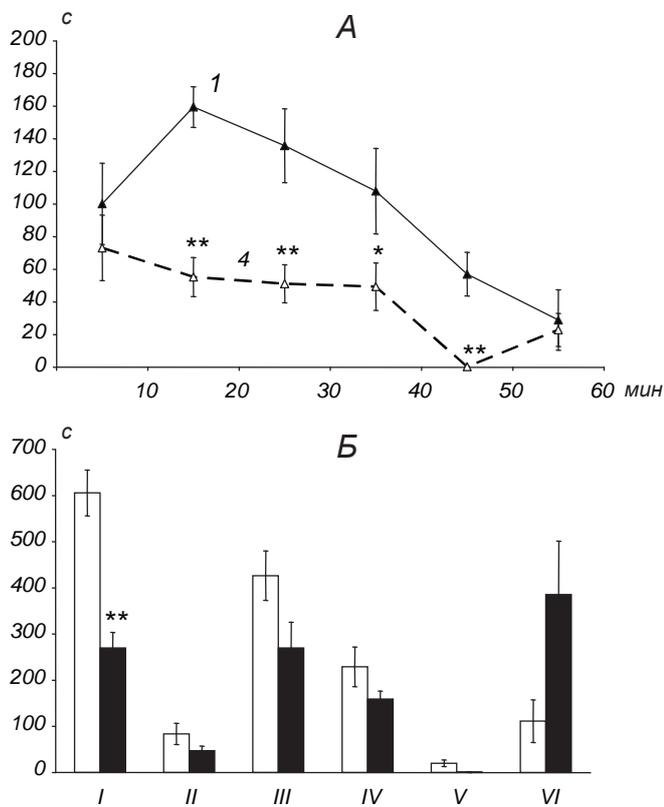
Р и с. 3. Влияние блокирования NO-синтазы (NOS) на поведенческие проявления у мышей в условиях формалинового теста.

А – сравнение динамики продолжительности (с) проявлений болевой реакции вылизывания конечности у животных первой и третьей (формалиновый тест после фармакологического блокирования NOS в результате введения L-NAME) групп; Б – диаграмма суммарных длительностей различных поведенческих проявлений у животных упомянутых выше групп (белые и заштрихованные столбики) в пределах периода наблюдения. Остальные обозначения те же, что и на рис. 2.

Р и с. 3. Вплив блокування NO-синтази на поведінкові прояви у мишей в умовах формалінового тесту.

группе мышей оказалась значительно большей по сравнению с контролем продолжительность периодов сна ( $P < 0.05$ ; *Б*). Если сравнивать динамику болевой реакции в третьей и четвертой группах животных, то становится очевидным, что превентивное микроволновое облучение ТА Е-36 в комбинации с блокированием NOS оказывало мощное антиноцицептивное влияние прежде всего в пределах фазы развития тонической боли – начиная с 20–25-й мин периода наблюдений. Начальная же фаза острой боли, заметно подавленная под воздействием L-NAME, претерпевала относительно незначительные изменения (рис. 5, *А*).

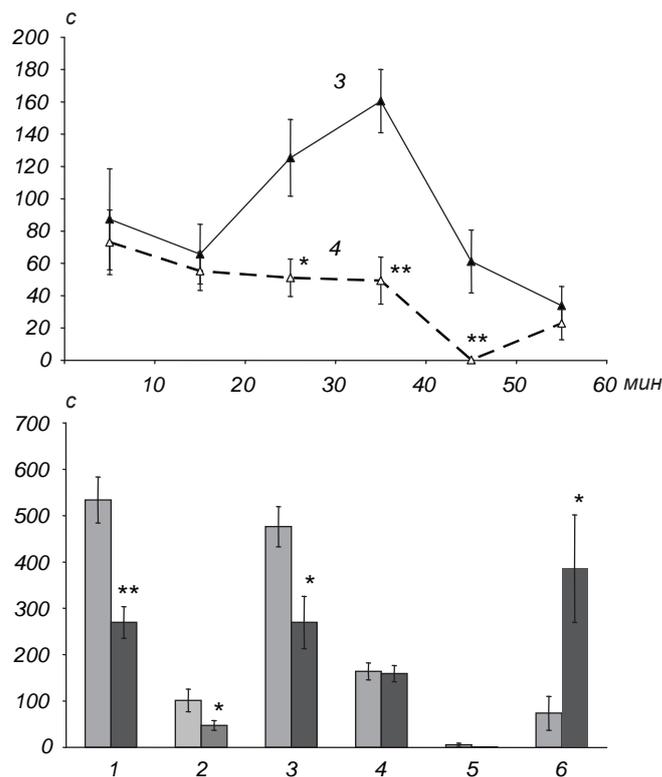
В отдельной серии опытов была проведена про-



**Рис. 4.** Влияние комбинации превентивного облучения точки акупунктуры (ТА) Е-36 и блокирования NO-синтазы (NOS) на поведенческие проявления в условиях формалинового теста. *А* – сравнение продолжительности (с) проявлений болевой реакции у животных первой и четвертой (формалиновый тест при совместном воздействии предварительного облучения ТА и блокирования NOS) групп; *Б* – диаграмма суммарных длительностей поведенческих проявлений у мышей первой и четвертой (черные столбики) групп. Остальные обозначения те же, что и на рис. 2 и 3.

**Рис. 4.** Вплив комбінації попереднього опромінення точки акупунктури Е-36 і блокування NO-синтази на поведінкові прояви в умовах формалінового тесту.

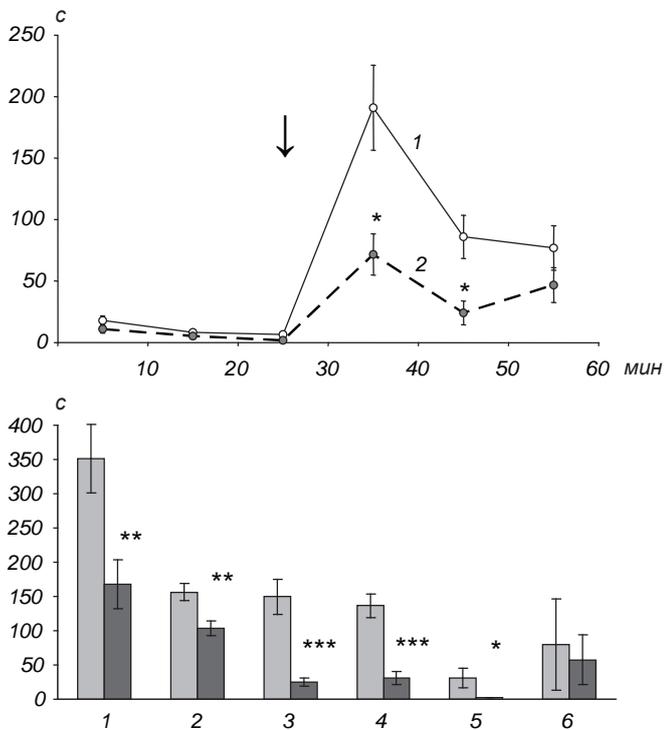
верка возможного влияния стрессорной обстановки на эффекты блокирования NOS. В этих экспериментах животные не помещались на 10 мин в контейнеры для облучения КВЧ–ЭМП (или его имитации). Опыты проводились на двух группах мышей по 10 особей в каждой. Животным одной группы внутрибрюшинно инъецировали раствор L-NAME (20 мг/кг), а другой – физиологический раствор (контрольная группа), причем объемы инъекций (0.15 мл) были идентичными. После инъекций животные возвращались в индивидуальные клетки для регистрации поведения. По истечении 25 мин животные обеих групп получали подкожную инъекцию формалина в лапу и снова возвращались в индивидуальные клетки. Таким образом, в этих исследованиях можно было оценить поведенческие проявления животных в условиях формалинового теста и блокирования NOS без стрессорной иммобилизации. В контроле (внутрибрюшинное введе-



**Рис. 5.** Сравнение эффектов изолированного блокирования NO-синтазы (NOS) и комбинированного действия предварительного облучения точки акупунктуры Е-36 и блокирования NOS (третья и четвертая группы мышей соответственно). Фрагменты рисунка и обозначения соответствуют таковым на рис. 2–4.

**Рис. 5.** Порівняння ефектів ізольованого блокування NO-синтази (NOS) та комбінованої дії попереднього опромінення точки акупунктури Е-36 і блокування NOS (третя та четверта групи мишей відповідно).

ние физиологического раствора) наиболее интенсивные проявления болевой реакции (вылизывание конечности, в которую был введен формалин) наблюдались в течение первых 10 мин после инъекции последнего. В последующем длительность эпизодов вылизывания снижалась более чем вдвое. Если же синтез NO был блокирован, интенсивность таких поведенческих проявлений в начальные 10 мин после введения формалина соответствовала менее чем 40 % аналогичного показателя в контроле. Значительное подавление поведенческих проявлений боли наблюдалось и в течение последующего 10-минутного интервала, но в последние 10 мин проявлялась тенденция к их усилению (рис. 6, А).



**Р и с. 6.** Влияние блокирования NO-синтазы на поведенческие проявления у мышей в условиях контрольных опытов (формалиновый тест без предварительного облучения точки акупунктуры E-36 или его имитации).

А – сравнение динамики продолжительности (с) проявлений болевой реакции у крыс после введения физиологического раствора (1) или L-NAME (2). Нуль на оси абсцисс соответствует моменту введения указанных растворов; стрелкой указан момент подкожной инъекции формалина. Б – диаграмма суммарных длительностей поведенческих проявлений у животных упомянутых групп (заштрихованные и темные столбики соответственно). Остальные обозначения те же, что и на рис. 2–5.

**Р и с. 6.** Вплив блокування NO-синтази на поведінкові прояви у мишей в умовах контрольних дослідів (формаліновий тест без попереднього опромінення точки акупунктури E-36 або його імітації).

Блокирование NOS обуславливало не только явный интегральный анальгетический эффект в течение начального 30-минутного периода наблюдения после инъекции формалина, но и значительное подавление иных, «неболевого», поведенческих феноменов (локомоции, груминга, потребления воды и пищи) в пределах этого временного интервала (рис. 6, Б). Следует упомянуть, что значительное снижение количества стоек и времени перемещения по клетке наблюдалось у данных животных почти сразу после инъекции L-NAME, т. е. до индукции боли в результате инъекции формалина.

Таким образом, если иммобилизационный стресс в условиях основной серии наших опытов и модулировал каким-то образом поведенческие эффекты блокирования синтеза NO в условиях формалинового теста, то соответствующие изменения носили количественный, а не качественный характер.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Есть основания полагать, что в механизмы противоболевых эффектов, инициируемых влияниями ЭМП, задействованы в той или иной мере все (или почти все) основные нейрхимические системы организма млекопитающих [23, 24]. В то же время представления о конкретных механизмах, опосредующих модуляцию состояния этих систем под воздействием ЭМП (в том числе и КВЧ-диапазона), пока еще очень ограничены.

Многочисленные клинические наблюдения, полученные в ходе применения различных акупунктурных методик, позволили выделить ряд специфических локусов – ТА, воздействие на которые обеспечивает выраженные антиноцицептивные эффекты. К подобным наиболее известным точкам и относится ТА E-36, аналог которой достаточно хорошо идентифицирован у экспериментальных животных [25]. Результаты многочисленных исследований различных авторов и наши собственные данные свидетельствуют о том, что ТА E-36 восприимчивы к влияниям ЭМП, имеющих самые разные характеристики, вплоть до ЭМП-колебаний оптического и близких к нему диапазонов [26]. В обзоре литературы, касающемся использования акупунктуры, упоминается, что анальгезия и сопутствующие эффекты наблюдаются не только после иглоукалывания и электростимуляции ТА, но и после действия на эти локусы тепла, давления и различных электромагнитных факторов [27].

В то же время следует признать, что принципиальный вопрос, каким же именно образом реализуются влияния ЭМП при их воздействии на ТА, далек от окончательного решения. Согласно рефлекторной теории эффектов акупунктуры, анальгезия в условиях воздействия на соответствующие точки обеспечивается интегративными процессами на разных уровнях ЦНС при взаимодействии болевой импульсации, поступающей от пораженных зон, и влияний, идущих от ТА. Конечные анальгетические эффекты в данном случае определяются как нейрогенными, так и гуморальными факторами. Понятно, однако, что подобная концепция страдает недостаточной конкретностью.

Существуют ряд указаний на то, что воздействия на ТА способны заметно модулировать уровень синтеза NO. Сообщалось, что электроакупунктура ТА St-36 (другое обозначение E-36) приводила к повышению экспрессии всех изоформ NOS в гипоталамусе и надпочечниках крыс. Такое воздействие способствовало сокращению сроков заживления язв, вызванных экспериментальным холодным стрессом [28]. У человека (в тестах с участием добровольцев) электроакупунктура приводила к повышению уровня NO в области воздействия и усиливала циркуляцию крови [18, 29]. Таким образом, в немногочисленных упомянутых выше работах акцентируется тот факт, что воздействия на ТА (в том числе ЭМП-воздействия) вызывают в основном активацию NOS. Основываясь на этом, можно прийти к выводу, что и развитие болевого синдрома, и акупунктурные воздействия будут обуславливать активацию данного фермента, а суммация таких эффектов должна вызывать однонаправленные эффекты (значительное повышение уровня NO) и способствовать процессу сенситизации по отношению к боли. То, что такой вывод противоречит основной массе накопленных экспериментальных фактов (в том числе полученных в нашей работе), очевидно. Причина такой противоречивости, видимо, двояка. Прежде всего, не учитывается то обстоятельство, что уровень NO, вероятно, является фактором, по-разному влияющим на разные виды боли (это будет рассмотрено ниже). Кроме того, акупунктурные воздействия приводят к сложным изменениям в различных областях ЦНС и сопровождаются модуляцией продукции не только NO, но и опиоидов, катехоламинов, серотонина, глутамата, ГАМК [30]. В формировании интегральной болевой реакции одновременно участвуют большинство функциональных систем организма – нервная, мышеч-

ная, сердечно-сосудистая, эндокринная, иммунная. Поскольку боль является полисистемной реакцией, определить значимость какого-либо одного фактора при воздействиях, модулирующих такую реакцию, затруднительно.

Результаты наших опытов свидетельствуют о том, что в случае ноцицептивной стимуляции в условиях формалинового теста блокирование NOS (т. е. ограничение продукции NO) приводит к транзитному ослаблению болевого синдрома, причем преимущественно на начальных отрезках периода наблюдения, т. е. в фазе острой боли. Аналогичные анальгетические влияния блокирования NOS были показаны и другими исследователями [13, 27].

В то же время в последующие временные интервалы, соответствующие развитию тонической воспалительной боли, блокирование NOS не только не ослабляет поведенческих проявлений болевой реакции, но даже явно их усиливает (рис. 3, А). Это приводит к смещению максимума таких проявлений (его запаздыванию) (рис. 3). Облучение ТА E-36 миллиметровыми волнами обуславливало иные изменения динамики болевой реакции. Подавление поведенческих проявлений рассматриваемой реакции отмечалось на протяжении всего периода развития боли после инъекции формалина. Однако на начальных участках периода наблюдения интенсивность вылизывания очага боли в случаях превентивного воздействия КВЧ-ЭМП на ТА была меньше контрольных значений примерно на 50 %, а в интервале 30–50 мин – в несколько раз. Таким образом, изолированное микроволновое облучение ТА E-36 преимущественно подавляет тоническую боль; подавление же острой боли несколько слабее (хотя и заметно) (рис. 2).

Комбинация превентивного КВЧ-облучения ТА E-36 и фармакологического блокирования NOS приводила к суммеции и потенцированию антиноцицептивных эффектов таких воздействий. Подавление поведенческих проявлений болевой реакции (вылизывания конечности) в начальной части периода наблюдения (на протяжении фазы острой боли) становилось несколько более глубоким по сравнению с соответствующим эффектом изолированного блокирования NOS, а «позднее» повышение интенсивности упомянутых проявлений, очевидное при последнем воздействии, практически устранялось. Это особенно отчетливо заметно в случае сравнения эффектов изолированного блокирования NOS и комбинации такого блокирования с КВЧ-облучением ТА (рис. 5, А).

Очевидные недостатки рефлекторной теории эффектов воздействия ЭМП на живые организмы обусловили предложение рядом исследователей альтернативных гипотез, при формировании которых привлекались понятия «полевой низкоэнергетической терапии», «живого матрикса» и т. п. [31]. В рамках подобных гипотез предполагается, что клетки, ткани и системы организма, объединенные в единую сеть «живого матрикса», способны специфически воспринимать и генерировать ЭМП, имеющие определенные характеристики. Воздействие на организм низкоинтенсивных ЭМП, близких по своим параметрам к эндогенным ЭМП, может эффективно модулировать (согласовывать между собой) работу функциональных систем организма [31]. В этих случаях ТА выступают в качестве полимодальных рецепторов эоцептивной чувствительности [32]. Предполагается, что внешние ЭМП определенной частоты и интенсивности способны интерферировать с результирующими полями живых систем, модулируя электрические взаимодействия молекул данных систем. В рамках упомянутых гипотез считается, что в живом организме существуют две сигнальные и регуляторные системы – электромагнитная и автохимическая. Констатируется, что в настоящее время исследования сосредоточены на второй из них (автохимической), а электромагнитной уделяется недостаточное внимание [33]. Многообразие эффектов, наблюдаемых при воздействии ЭМП на живые организмы (например, изменения эритропоза, снижение уровня перекисного окисления липидов, модуляция функционирования ионных насосов и ферментов, модуляция электрических характеристик нейронов и их импульсной активности) [34, 35], заставляет с определенным вниманием относиться к «электромагнитным» гипотезам. В то же время нельзя не признать, что их фактологическое подтверждение пока явно недостаточно, и такие гипотезы остаются в значительной мере умозрительными.

Боль и обезболивание являются исключительно сложными феноменами. На сегодня в основе методологии объективного измерения интенсивности боли в условиях экспериментов на высших животных лежит регистрация тех или иных поведенческих проявлений, что дает лишь ограниченную оценку болевого синдрома и не в полной мере соответствует интенсивности болевого переживания. Очевидно, что получаемые в таких опытах результаты могут «переноситься» на человека с очень

большой осторожностью. В данном аспекте, безусловно, актуален поиск новых методических подходов, причем особое внимание надо обращать на стандартизацию условий опытов и уменьшение возможных влияний экспериментатора. Необходимость экспериментального поиска новых приемов, обеспечивающих подавление или устранение боли с параллельной минимизацией побочных эффектов, абсолютно очевидна; при этом разработка способов применения ЭМП-терапии и определение эффективных параметров соответствующих воздействий выглядят достаточно перспективными.

Суммируя результаты наших экспериментов, можно заключить, что одноразовое превентивное воздействие КВЧ-ЭМП на ТА Е-36 обеспечивает достоверное подавление соматической боли у мышей в условиях формалинового теста. Такое облучение ТА миллиметровыми волнами в большей степени влияет на тоническую воспалительную боль, чем на острую фазу боли. Фармакологическое блокирование NOS способствует подавлению боли лишь в начальной фазе развития болевой реакции, но даже несколько усиливает воспалительную боль. Комбинация предварительного воздействия на ТА Е-36 и блокирования NOS обеспечивает суммацию и потенциацию антиноцицептивных эффектов данных воздействий и более эффективное подавление болевой реакции.

Автор приносит глубокую благодарность проф. Ю. П. Лиманскому, который долгое время руководил исследованиями, направленными на раскрытие механизмов влияния низкоинтенсивных ЭМП различных диапазонов на болевые синдромы, и всем сотрудникам возглавляемого им отдела. Я также искренне признателен проф. Д. А. Василенко за ценные рекомендации относительно представления полученного материала в настоящем сообщении.

*Б. С. Сушко<sup>1</sup>*

ВЗАЄМОДІЯ АНТИНОЦИЦЕПТИВНИХ ЕФЕКТИВ ПРЕВЕНТИВНОГО МІКРОХВИЛЬОВОГО ОПРОМІНЕННЯ ТОЧКИ АКУПУНКТУРИ ТА ФАРМАКОЛОГІЧНОГО БЛОКУВАННЯ NO-СИНТАЗИ У МИШЕЙ

<sup>1</sup>Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ (Україна).

**Резюме**

У поведінкових дослідях на чотирьох групах мишей в умовах стандартного формалінового тесту досліджували впли-

ви, зумовлені попереднім 10-хвилинним опроміненням точки акупунктури (ТА) Е-36 міліметровими електромагнітними хвилями малої інтенсивності (посилання тривалістю 50 мс, заповнені коливаннями з довжиною хвилі від 4.0 до 7.5 мм і розділені 50-мілісекундними інтервалами) та блокуванням NO-синтази – NOS (ін'єкції 20 мг/кг конкурентного блокатора NOS L-NAME). У разі ізольованого превентивного опромінення ТА і нормального функціонування NOS поведінкові прояви больової реакції (вилузування кінцівки, під шкіру стопи котрої ін'єкували формалін) значно пригнічувалися протягом усього періоду спостереження (60 хв), причому відносна інтенсивність такого пригнічення в інтервалі 30–50 хв була вищою, ніж у перші 20 хв розвитку болю. Ізольоване блокування NOS призводило до більш ніж дворазового скорочення тривалості епізодів вилузування кінцівки в межах початкової фази больової реакції (до 20 хв), але в інтервалі 30–40 хв після ін'єкції формаліну (запальний біль) інтенсивність даних поведінкових проявів помітно зростала. Комбінація попереднього опромінення ТА Е-36 і введення L-NAME зумовлювала істотне посилення анагетичних впливів протягом усього періоду спостереження, причому в інтервалі 40–50 хв анагезія була практично повною. Загальна тривалість проявів больової реакції в межах періоду спостереження при такій комбінованій дії була в середньому на 56 % меншою, ніж аналогічний показник при формаліновому тесті за відсутності анагезуючих впливів (опромінення ТА та блокування NOS). Обговорюються існуючі концепції щодо механізмів, опосередковуючих дії надвисокочастотних змінних електромагнітних полів на організм ссавців (включно з такими діями на ТА), а також механізмів взаємодії ефектів мікрохвильового опромінення і модуляції інтенсивності синтезу NO.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. В. П. Казначеев, Л. П. Михайлова, *Биоинформационная функция естественных электромагнитных полей*, Наука, Сиб. отд-ние, Новосибирск (1985).
2. С. И. Герашенко, *Основы лечебного применения электромагнитных полей микроволнового диапазона*, Радуга, Киев (1997).
3. Ю. П. Лиманский, З. А. Тамарова, Е. Г. Битков, Н. Д. Колбун, “Угнетение ноцицептивных реакций мышей под влиянием низкоинтенсивного микроволнового облучения точек акупунктуры”, *Нейрофизиология/Neurophysiology*, **31**, № 4, 318-322 (1999).
4. Е. Н. Чуян, Э. Р. Джелдубаева, *Механизмы антиноцицептивного действия низкоинтенсивного миллиметрового излучения*, ДИАИПИ, Симферополь (2006).
5. R. Mathur, “Effect of chronic intermittent exposure to AM radiofrequency field on responses to various types of noxious stimuli in growing rats,” *Electromagn. Biol. Med.*, **27**, No. 3, 266-276 (2008).
6. A. Radziewsky and O. Gordienko, “Millimeter-wave-induced hypoalgesia in mice,” *Bioelectromagnetics*, **29**, No. 4, 284-295 (2008).
7. C. Del Seppia, S. Ghione, P. Luschi, et al., “Pain perception and electromagnetic fields,” *Neurosci. Biobehav. Rev.*, **31**, No. 4, 619-642 (2007).
8. R. H. W. Funk and Th. K. Monsees, “Effects of electromagnetic fields on cells: physiological and therapeutical approaches and molecular mechanisms of interaction,” *Cells Tissues Organs.*, **182**, 59-78 (2006).
9. Th. Monsees, R. H. W. Funk, and N. Özkucur, “Electromagnetic effects – from cell biology to medicine,” *Prog. Histochem. Cytochem.*, **43**, 177-264 (2009).
10. Frank de Vocht, “Dirty electricity”: what, where, and should we care?” *J. Exposure Sci. Environment. Epidemiol.*, **20**, 399-405 (2010).
11. I. A. Bab, C. Hajbi-Yonissi, Y. Gabet, and R. Müller, *Micro-Tomographic Atlas of the Mouse Skeleton*, Springer (2007).
12. I. D. G. Duarte and S. H. Ferreira, “L-NAME causes antinociception by stimulation of the arginine-NO-cGMP pathway,” *Mediators Inflamm.*, **9**, 25-30 (2000).
13. J. Wu, L. Fang, Q. Lin, and W. D. Willis, “Nitric oxide synthase in spinal cord central sensitization following intradermal injection of capsaicin,” *Pain*, **94**, Iss. 1, 47-58 (2001).
14. K. Okuda, Ch. Sakurada, M. Takahashi, et al., “Characterization of nociceptive responses and spinal releases of nitric oxide metabolites and glutamate evoked by different concentrations of formalin in rats,” *Pain*, **92**, Iss. 1, 107-115 (2001).
15. S.-X. Ma, J. Ma, G. Moise, and X.-Y. Li, “Responses of neuronal nitric oxide synthase expression in the brainstem to electroacupuncture Zusanli (ST 36) in rats,” *Brain Res.*, **1037**, Nos. 1/2, 70-77 (2005).
16. M. Tsuchiya, E. F. Sato, M. Inoue, and A. Asada, “Acupuncture enhances generation of nitric oxide and increases local circulation,” *Anesth. Analg.*, **104**, 301-307 (2007).
17. R. T. Almeida and I. D. Duarte, “Nitric oxide/cGMP pathway mediates orofacial antinociception induced by electroacupuncture at the St36 acupoint,” *Brain Res.*, **1188**, 54-60 (2008).
18. N. T. Jou and S. X. Ma, “Responses of nitric oxide-cGMP release in acupuncture point to electroacupuncture in human skin *in vivo* using dermal microdialysis,” *Microcirculation*, **5**, 434-443 (2009).
19. Про захист тварин від негуманного поводження (Закон України № 3447-IV від 21 лютого 2006 р.), *Відомості Верхов. Ради України*, **27**, 990 (2006).
20. А. В. Будаков, Б. С. Сушко, “Гипералгезивное влияние эмоционального стресса у мышей линий C57BL/6J и CBA/CaLaс на фоне заданного суточного ритма”, *Нейрофизиология/Neurophysiology*, **38**, № 5/6, 466-471 (2006).
21. Е. И. Пустыльник, *Статистические методы анализа и обработки наблюдений*, Наука, Москва (1991).
22. Э. Леман, *Теория точечного оценивания*, Наука, Москва (1991).
23. Е. В. Гура, Е. В. Багацкая, Ю. П. Лиманский, “Участие серотонинергической системы ствола мозга в анагезии, вызванной действием низкоинтенсивных микроволн на противоболовую точку акупунктуры”, *Нейрофизиология/Neurophysiology*, **34**, № 4, 303-308 (2002).
24. E. N. Chuyan and É. R. Dzheldubayeva, “Roles of different neurochemical systems in mechanisms underlying the antinociceptive effect of extrahigh-frequency electromagnetic radiation,” *Neirofiziologiya/Neurophysiology*, **39**, No. 2, 165-173 (2007).
25. R. T. Almeida, A. C. Perez, J. N. Francischi, et al., “Opioid-ergic orofacial antinociception induced by electroacupuncture at acupoint St36,” *Braz. J. Med. Biol. Res.*, **41**, No. 7, 621-626 (2008).

26. Yu. P. Limansky, Z. A. Tamarova, S. A. Gulyar, et al., "Suppression of pain by exposure of acupuncture points to polarized light," *Pain Res. Manag.*, **11**, No. 1, 49-57 (2006).
27. М. Л. Кукушкин, В. Н. Графова, В. С. Смирнова и др., "Роль индукторов и ингибиторов синтеза оксида азота в механизмах развития центральной боли", *Боль*, № 1, 25-28 (2006).
28. J. P. Sun, H. T. Pei, X. L. Jin, et al., "Effects of acupuncture Tsusanli (ST36) on expression of nitric oxide synthase in hypothalamus and adrenal gland in rats with cold stress ulcer," *World J. Gastroenterol.*, **32**, No. 11, 4962-4966 (2005).
29. M. Tsuchiya, E. F. Sato, M. Inoue, and A. Asada, "Acupuncture enhances generation of nitric oxide and increases local circulation," *Anesth. Analg.*, **104**, 301-307 (2007).
30. Z. Q. Zhao, "Neural mechanism underlying acupuncture analgesia," *Prog. Neurobiol.*, **85**, No. 4, 355-375 (2008).
31. Ю. П. Лиманский, И. З. Самосюк, "Концепция электромагнитного гомеостаза и ее обоснование", *Рефлексотерапия*, **11**, № 4, 3-9 (2004).
32. Ю. П. Лиманский, "Гипотеза о точках акупунктуры как полимодальных рецепторах эоцептивной чувствительности", *Физиол. журн.*, **36**, № 4, 115-121 (1990).
33. D. Church, *The Genie in Your Genes: Epigenetic Medicine and the New Biology of Intention*, Energy Psychol. Press, Santa Rosa (2007).
34. Т. Н. Замай, Е. В. Маркова, Н. М. Титова, "Особенности функционирования клеточной мембраны в условиях воздействия электромагнитного поля", *Вестн. КрасГУ, Сер. Биохимия*, **134**, № 12, 167-169 (2002).
35. V. Píkov, X. Arakaki, M. Harrington, et al., "Modulation of neuronal activity and plasma membrane properties with low-power millimeter waves in organotypic cortical slices," *J. Neural. Eng.*, **7**, 045003 (9pp) (2010).