

УДК 577.3.043;577.3:537

## СТИМУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ПОЛИМОРФНО-ЯДЕРНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ПОЛЯ НИЗКОЙ НАПРЯЖЕННОСТИ

**Е. И. КОВАЛЕНКО<sup>1)</sup>, А. М. ЮШКЕВИЧ<sup>1)</sup>, Е. А. КОВАЛЕНКО<sup>1)</sup>, А. Н. КОВАЛЕНКО<sup>2)</sup>**

<sup>1)</sup>Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

<sup>2)</sup>Институт ядерных проблем БГУ, ул. Бобруйская, 11, 220006, г. Минск, Беларусь

Предполагается, что электростимуляция может быть важнейшим физическим воздействием, обеспечивающим регуляцию активности иммунных клеток класса полиморфно-ядерных лейкоцитов (ПМЯЛ). Для изучения влияния электрической стимуляции на активность ПМЯЛ разработана комплексная установка на основе генератора электрических сигналов и биохемилюминометра, позволяющая выполнять электростимуляцию клеток и одновременно проводить исследование генерации активных форм кислорода (АФК) в ПМЯЛ. На клетки воздействовали с помощью погружаемых в инкубационную среду электродов, подключенных к генератору электрических сигналов. Создавалось неоднородное электрическое поле, напряженность которого убывала с расстоянием и во времени, что имитировало характеристики эндогенных электрических полей в местах воспаления в организме.

---

### Образец цитирования:

Коваленко ЕИ, Юшкевич АМ, Коваленко ЕА, Коваленко АН. Стимуляция активности полиморфно-ядерных лейкоцитов при воздействии электрического поля низкой напряженности. *Журнал Белорусского государственного университета. Физика*. 2020;3:112–121.  
<https://doi.org/10.33581/2520-2243-2020-3-112-121>

### For citation:

Kavalenka AI, Yushkevich AM, Kavalenka EA, Kavalenka AM. Stimulation of polymorphonuclear leukocyte activity under the influence of low strength electric field. *Journal of the Belarusian State University. Physics*. 2020;3:112–121. Russian.  
<https://doi.org/10.33581/2520-2243-2020-3-112-121>

---

### Авторы:

**Елена Иосифовна Коваленко** – кандидат биологических наук, доцент; доцент кафедры биофизики физического факультета.

**Артеми́й Михайлович Юшкевич** – студент физического факультета. Научный руководитель – Е. И. Коваленко.

**Елизавета Антоновна Коваленко** – магистрант кафедры биофизики физического факультета. Научный руководитель – Е. И. Коваленко.

**Антон Николаевич Коваленко** – старший научный сотрудник лаборатории аналитических исследований.

### Authors:

**Alena I. Kavalenka**, PhD (biology), docent; associate professor at the department of biophysics, faculty of physics.

[ai0628k@gmail.com](mailto:ai0628k@gmail.com)

<https://orcid.org/0000-0001-6813-9154>

**Artsemi M. Yushkevich**, student at the faculty of physics.

[geneprog@gmail.com](mailto:geneprog@gmail.com)

<https://orcid.org/0000-0002-8729-9281>

**Elizaveta A. Kavalenka**, master's degree student at the department of biophysics, faculty of physics.

[kovalenko.elizabeth@gmail.com](mailto:kovalenko.elizabeth@gmail.com)

<https://orcid.org/0000-0002-2648-044X>

**Anton M. Kavalenka**, senior researcher at the laboratory of analytical research.

[anton@inp.bsu.by](mailto:anton@inp.bsu.by)

<https://orcid.org/0000-0002-0320-2092>

При стимуляции напряженность поля была низкой – до 1 В/см. Обнаружено, что в результате электростимуляции происходит изменение функциональных возможностей ПМЯЛ крови человека. Выраженность эффектов зависит от прикладываемого к электродам напряжения и длительности наблюдения. В начальный период при воздействии электрического поля в ПМЯЛ усиливаются процессы генерации АФК и секреции ими фермента миелопероксидазы, являющиеся ключевыми проявлениями активности данных клеток. Спустя несколько часов после электростимуляции наблюдаются угнетение активности ПМЯЛ и постепенное разрушение клеток. Полученные данные свидетельствуют в пользу регуляторной роли электростимуляции в отношении активности ПМЯЛ, необходимых для реализации иммунной защиты организма.

**Ключевые слова:** электрическое поле; хемилюминесценция; полиморфно-ядерные лейкоциты; активные формы кислорода; миелопероксидаза.

**Благодарность.** Исследование выполнено при финансовой поддержке грантами Министерства образования Республики Беларусь и Белорусского государственного университета для студентов и магистрантов. Авторы благодарят компанию «Новые аналитические системы» за предоставленные для экспериментального стенда генератор тестовых сигналов и систему сбора и обработки данных *UniChrom-97*.

## STIMULATION OF POLYMORPHONUCLEAR LEUKOCYTE ACTIVITY UNDER THE INFLUENCE OF LOW STRENGTH ELECTRIC FIELD

A. I. KAVALENKA<sup>a</sup>, A. M. YUSHKEVICH<sup>a</sup>, E. A. KAVALENKA<sup>a</sup>, A. M. KAVALENKA<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Belarusian State University, 4 Niezaliežnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

<sup>b</sup>Institute for Nuclear Problems, Belarusian State University,  
11 Babrujskaja Street, Minsk 220006, Belarus

Corresponding author: A. I. Kavalenka (ai0628k@gmail.com)

It is assumed that electrical stimulation can be the most important physical effect providing regulation of the activity of immune cells such as polymorphonuclear leukocytes (PMNL). To study the effect of electrical stimulation on PMNL activity, the experimental setup based on electric signal generator and biochemiluminometer was developed, which allows performing electrostimulation of cells and studying the generation of reactive oxygen species (ROS) in PMNL simultaneously. Impact on the cells was carried out using electrodes immersed in incubation medium connected to electric signal generator. Non-uniform electric field was established, the intensity of which decreased with distance and time that imitated the characteristics of endogenous electric fields in places of inflammation in organism. During stimulation, the field strength was low, up to 1 V/cm. It was found that as a result of electrical stimulation, a change in the functional capabilities of human blood PMNL is observed. The severity of effects depends on the voltage applied to the electrodes and the duration of the observation. The key functional processes in PMNL such as ROS generation and myeloperoxidase enzyme secretion are enhanced in the initial period of electric field influence. A few hours after electrical stimulation, inhibition of PMNL activity and the gradual destruction of cells are observed. The obtained data testify the regulatory role of electrical stimulation in relation to PMNL activity which necessary for the implementation of the body's immune defense.

**Keywords:** electric field; chemiluminescence; polymorphonuclear leukocytes; reactive oxygen species; myeloperoxidase.

**Acknowledgements.** This research has been supported by grants for students from the Ministry of Education of the Republic of Belarus and Belarusian State University. The authors thank the company *New Analytical Systems Ltd.* for test signal generator and data acquisition and processing system *UniChrom-97* that were kindly provided for the experimental stand.

### Введение

В настоящее время электростимуляцию рассматривают как один из перспективных инструментов для решения задач регенеративной медицины и инженерии тканей, основываясь на многочисленных экспериментальных данных о возможностях регуляции клеточной активности с помощью электрических полей [1–3]. Установлено, что в организме человека и животных эндогенные электрические поля (ЭЭП) способствуют процессам миграции, позиционирования и деления клеток в ходе эмбрионального развития, а также могут регулировать процессы репарации поврежденных тканей и заживления ран [4–8]. Генерация ЭЭП с напряженностью до 2 В/см была выявлена в экспериментальных исследованиях при кожном и кожно-мышечном иссечении в результате хирургических операций, при

травмах роговицы и повреждениях эпителиальных тканей [9–11]. Такие физиологические ЭЭП возникают вследствие изменения работы ионных транспортеров  $\text{Cl}^-$  и  $\text{Na}^+$  в местах нарушения целостности клеточных слоев [9–11]. Предполагается, что активирующее действие на клетки электрических полей с низкой напряженностью (сопоставимой с напряженностью ЭЭП) обусловлено макроструктурной поляризацией клеток и последующей активацией определенных белков, из которых охарактеризована лишь небольшая часть [12–15]. Ведущую роль в защитных процессах в организме играют полиморфно-ядерные лейкоциты (ПМЯЛ) [16–19], накапливающиеся в местах повреждения первыми из всех иммунных клеток. Для ПМЯЛ был обнаружен «гальванотаксис» – стимуляция направленной миграции клеток под действием слабых электрических полей, аналогичных ЭЭП [13–15]. Однако эффекты электрических полей с низкой напряженностью на ряд других проявлений функциональной активности ПМЯЛ еще не изучены. В биотехнологиях часто применяют воздействие электрическими импульсами с высокой напряженностью (0,6–20,0 кВ/см, что на несколько порядков выше, чем напряженность ЭЭП) в целях формирования пор в липидных слоях клеточных мембран и переноса через них крупных молекул ДНК и РНК [20–23]. Имеются данные о стимуляции образования в ПМЯЛ активных форм кислорода (АФК) и формирования ими внеклеточных ДНК-белковых сетчатых структур при воздействии на ПМЯЛ электрическими импульсами высокой напряженности, но в организме такие условия не реализуются и применяются исключительно *in vitro* [23].

Цель данной работы – изучить влияние электрических полей низкой напряженности, по характеристикам соответствующих физиологическим ЭЭП, на генерацию АФК при активации ПМЯЛ и жизнеспособность этих клеток.

### Материалы и методы исследования

**Реагенты и клетки.** В работе использованы реагенты: декстран-500, фикоколл-400, люминол, 30 % раствор  $\text{H}_2\text{O}_2$ , fMLP, Triton X-100 (*Sigma-Aldrich*, США); урографин (*Schering AG*, Германия); NaCl, KCl,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{NaHCO}_3$ , глюкоза (ЗАО «Пять океанов», Беларусь); гепарин (РУП «Белмедпрепараты», Беларусь). Клетки изолировали из консервированной крови здоровых доноров по методу, описанному в работе [24]. Процедура выделения ПМЯЛ включала градиентное центрифугирование лейкоцитарных клеток с использованием фиколла – урографина (плотность  $1,077 \text{ г/см}^3$ ), очистку фракции ПМЯЛ, имеющих плотность более  $1,077 \text{ г/см}^3$ , от примеси эритроцитов путем гипотонического лизиса и затем отмывку полученных клеток в 0,15 моль/л NaCl. Изолированные ПМЯЛ далее суспензировали в буферной солевой среде Эрла (рН 7,3), доводя их концентрацию в суспензии до  $1 \cdot 10^6$  клеток в 1 мл.

**Электрическая стимуляция клеток.** Для изучения стимулирующего действия электрического поля на ПМЯЛ разработана установка, схематично представленная на рис. 1. Электроды (1) диаметром 1 мм из коррозионно-стойкой нержавеющей стали закреплены в держателе, фиксирующем их вертикальное параллельное расположение на расстоянии 1 см друг от друга. Для электрической стимуляции электроды погружаются в суспензию клеток, находящуюся в цилиндрической стеклянной кювете (2) внутри металлического кюветного отделения (3). Генератор электрических сигналов ГТС-1 (ООО «Новые аналитические системы», Беларусь) (4) используется для прикладывания к электродам напряжения от 0 до 1 В (нулевые значения устанавливаются для контрольных образцов). В целях предотвращения воздействия электромагнитных помех электроды подключаются к ГТС-1 с помощью экранированной витой пары (5).

Электрическое воздействие на клетки осуществляли на протяжении 20 мин. Создавалось неоднородное электрическое поле, напряженность которого убывала с расстоянием и во времени, что частично имитировало характеристики ЭЭП в местах воспаления в организме. Функциональную активность и жизнеспособность клеток оценивали через 20 мин, а также через 1–8 ч после электрической стимуляции.

**Хемилюминесцентный анализ генерации клетками АФК.** При активирующих воздействиях ПМЯЛ могут генерировать продукты с повышенной химической активностью, такие как  $\cdot\text{O}_2^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\cdot\text{OH}$ ,  $\text{OSi}^-$ ,  $\text{ONOO}^-$ , относящиеся к АФК [24; 25]. В результате взаимодействия АФК друг с другом возникает серия химических реакций, сопровождающихся люминесценцией слабой интенсивности. Для усиления хемилюминесценции (ХЛ) в работе использован химический усилитель свечения люминол (50 мкмоль/л), который при взаимодействии с различными АФК превращается в 3-аминофталат в возбужденном состоянии [24–26]. Люминесцентный спектр испускания 3-аминофталата наблюдается в диапазоне длин волн 340–500 нм с максимумом интенсивности испускания на длине волны 434 нм. Кинетические зависимости интенсивности ХЛ  $I(t)$  характеризуют изменение скорости генерации АФК в образце; площади под кривыми  $I(t)$  за определенные промежутки времени вычисляются для установления суммарного выхода АФК в образцах. В работе для регистрации  $I(t)$  использован биохемилюминесцентный прибор БХЛ-1

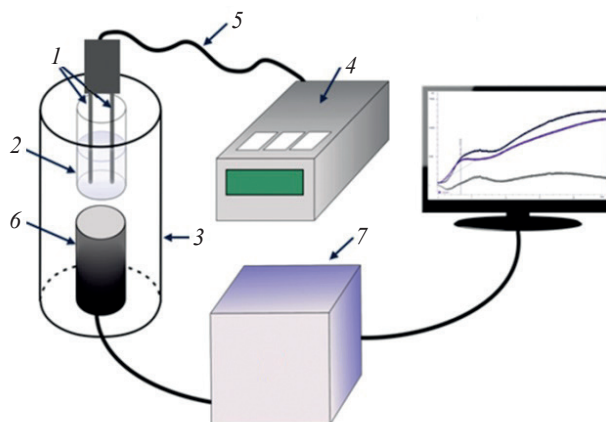


Рис. 1. Схема установки для электрической стимуляции клеток и регистрации хемилюминесценции: 1 – электроды; 2 – кювета; 3 – затемненное металлическое кюветное отделение БХЛ-1; 4 – генератор ГТС-1; 5 – экранированная витая пара; 6 – ФЭУ-39А; 7 – блок получения и преобразования данных

Fig. 1. The scheme of experimental setup for electrical stimulation of cells and chemiluminescence registration: 1 – electrodes; 2 – cuvette; 3 – darkened metal cuvette compartment of BCL-1; 4 – generator GTS-1; 5 – shielded twisted pair; 6 – PMT-39A; 7 – data acquisition and processing unit

(БГУ, Беларусь), включающий ФЭУ-39А (см. рис. 1, 6), сопряженный с аппаратно-программным комплексом получения и обработки данных *UniChrom-97* (ООО «Новые аналитические системы», Беларусь). Параметры, характеризующие суммарный выход АФК в образцах, подвергнутых воздействию электрического поля ( $\Sigma I$ ), и в контрольных образцах ( $\Sigma I_k$ ), определяли в программе *UniChrom*, затем для оценки стимулирующего эффекта находили отношение  $\Sigma I / \Sigma I_k$ .

**Изучение разрушения клеток.** Разрушение и агрегацию клеток исследовали с помощью светового микроскопа Olympus BX51WI с цифровой камерой Olympus DP20 U-TV0.63XC (*Olympus*, Япония) при различных увеличениях с использованием сухого и водно-иммерсионного объективов.

**Исследование секреторной дегрануляции клеток.** Для изучения высвобождения ферментов из гранул ПМЯЛ во внеклеточную среду клетки осаждали центрифугированием при 1500 об/мин в течение 8 мин. Полученные супернатанты собирали, а клетки из осадка ресуспендировали до исходного объема и разрушали трехкратным замораживанием и оттаиванием. Далее в образцах внеклеточной жидкости (супернатантах) и образцах разрушенных клеток определяли содержание фермента миелопероксидазы (МПО), секретированного наружу ( $X_{\text{секр}}$ ) и оставшегося внутри клеток ( $X_{\text{внутр}}$ ). Количественное присутствие МПО в образцах оценивали по интенсивности ХЛ, возникающей при катализируемом МПО окислении люминола (50 мкмоль/л) при добавлении пероксида водорода (50 мкмоль/л). Уровень секреции рассчитывали в процентах от общего содержания МПО снаружи и внутри клеток, находя отношение  $X_{\text{секр}} / (X_{\text{секр}} + X_{\text{внутр}})$ .

**Статистическая обработка данных.** Статистический анализ полученных результатов выполняли в программе *Excel*. На графиках представлены средние значения и стандартные отклонения величин. Уровни значимости различий  $p$  по отношению к контролю определяли по парному критерию Стьюдента, различия считали достоверными при  $p < 0,05$  (помечено звездочкой).

### Результаты и их обсуждение

В отсутствие стимуляции ПМЯЛ неактивны и не способны продуцировать значительные количества АФК. Активация ПМЯЛ наблюдается при их адгезии, т. е. прикреплении и распластывании на определенных поверхностях, при специфическом взаимодействии с молекулами-активаторами через рецепторы на поверхности клеток, а также при взаимодействии с частицами, которые могут захватываться внутрь клеток путем фагоцитоза [16; 18; 24; 27]. В организме адгезия клеток, их направленная миграция и фагоцитоз являются ключевыми процессами для вовлечения ПМЯЛ в воспалительные реакции и репаративную регенерацию поврежденных тканей [12; 13; 16–19]. В работе изучено модулирующее действие электрического поля на формирование АФК при следующих видах активации ПМЯЛ: в ходе адгезии клеток на стекло, при добавлении пептида fMLP (аналога бактериального пептида, вызывающего миграцию клеток и воспалительный ответ) и внесении частиц латекса, выступающих индукторами фагоцитоза.

Значения напряжения, прикладываемого к электродам, устанавливали следующие: 0,1; 0,25; 0,5 и 1,0 В – и затем в течение 20 мин регистрировали изменение интенсивности  $I(t)$  люминолопосредованной ХЛ в образцах. На рис. 2 показаны средние значения параметров  $\Sigma I/\Sigma I_k$ , характеризующих усиление генерации АФК в образцах ПМЯЛ под воздействием электрического поля. Как следует из рис. 2, при приложении электрического поля наблюдается стимуляция образования АФК в ПМЯЛ. Наиболее значительное повышение выхода АФК (в 2–3 раза по сравнению с контролем) обнаружено в образцах ПМЯЛ при приложении к электродам напряжения 0,25 или 0,5 В (см. рис. 2, б, в). Однако при более высоком значении напряжения 1,0 В усиление выхода АФК за 20 мин регистрации активности ПМЯЛ менее значительно, чем при напряжении 0,25 или 0,5 В (см. рис. 2, г).

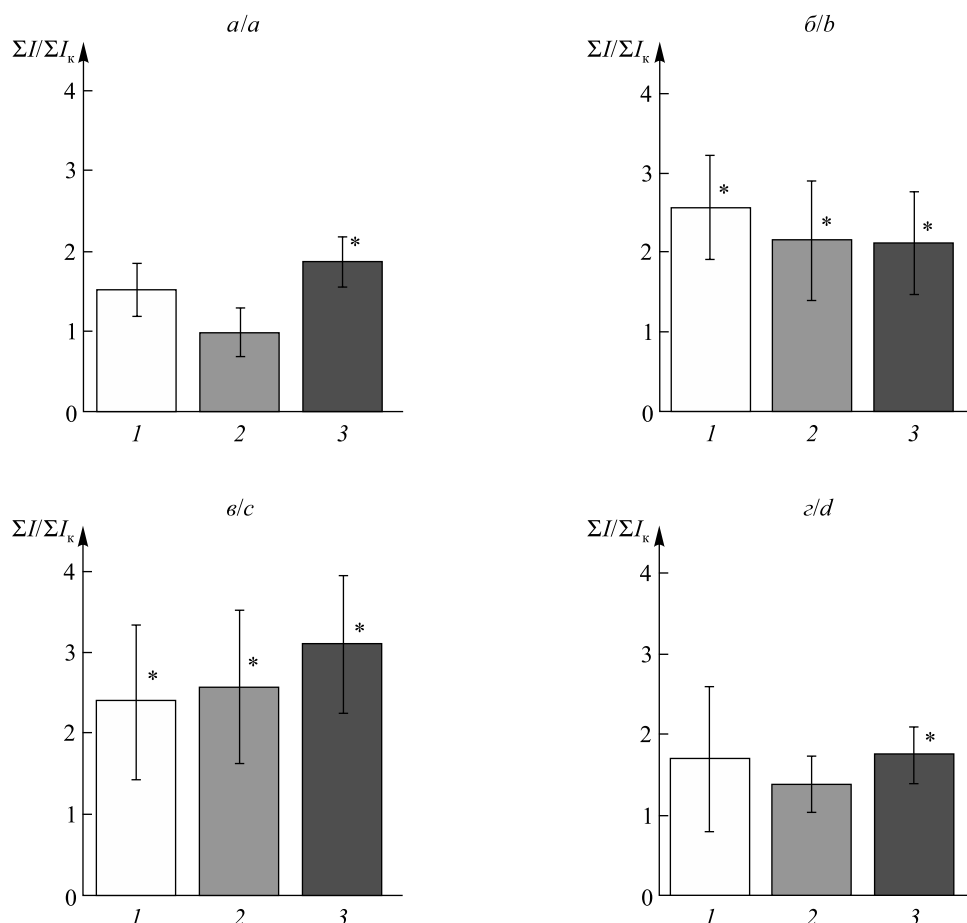


Рис. 2. Усиление выхода АФК в образцах активированных ПМЯЛ, индуцированное воздействием электрического поля при напряжении на электродах 0,1 В (а), 0,25 В (б), 0,5 В (в) и 1,0 В (г):

1 – в ходе адгезии клеток на стекло; 2 – при добавлении к клеткам fMLP;  
 3 – при добавлении частиц латекса; \* –  $p < 0,05$

Fig. 2. The enhancement of the ROS yield in activated PMNL samples, induced by electric field action at electrode voltage of 0.1 V (a), 0.25 V (b), 0.5 V (c) and 1.0 V (d):  
 1 – during adhesion of cells to glass; 2 – at addition of fMLP; 3 – at addition of latex particles; \* –  $p < 0.05$

Причиной снижения суммарного выхода АФК за длительные промежутки времени исследования может быть угнетение активности клеток избыточным количеством АФК, образуемых в начальные моменты электростимуляции. Это соответствует полученным ранее данным о повреждающем действии АФК в больших концентрациях на молекулярно-мембранные структуры, что приводит к нарушению функционирования и в конечном итоге гибели гиперактивированных клеток [18; 24; 25]. То есть подвергнутые электрической стимуляции ПМЯЛ могут быстрее и сильнее активироваться, но и быстрее подвергаться деструкции.

Тот факт, что во внешнем электрическом поле при напряжении на электродах 0,25 и 0,5 В наблюдается значительное усиление генерации АФК в ПМЯЛ, позволяет высказать предположение об ускорении следующих за активацией процессов разрушения клеток образующимися АФК. В связи с этим проведена оценка функциональных способностей ПМЯЛ и сохранения их структурной целостности в отдаленные промежутки времени, через несколько часов после электростимуляции при напряжении

0,25 и 0,5 В. На рис. 3 показано изменение способности ПМЯЛ генерировать АФК спустя длительное время после электростимуляции. Установлено, что через несколько часов после электрической стимуляции способность ПМЯЛ к формированию АФК снижается (см. рис. 3). После воздействия электрического поля при напряжении на электродах 0,5 В спустя 4–12 ч обнаружено угнетение активности клеток, подвергнутых электрической стимуляции, по сравнению с контрольными образцами.

Методом световой микроскопии изучено изменение содержания клеток в образцах, подвергнутых электрической стимуляции, по отношению к контролю. На рис. 4 и 5 приведены фотографии ПМЯЛ в контрольных образцах и после электростимуляции клеток при напряжении 0,5 В, полученные спустя 20 мин и 12 ч инкубирования. Не обнаружено значительных различий между стимулированными и контрольными образцами по количеству и форме клеток спустя 20 мин (см. рис. 4) и 1–2 ч инкубирования (данные не показаны). При этом во всех образцах присутствует множество целостных активированных (распластанных, вытянутых) ПМЯЛ. Однако через 8–12 ч выявлены существенные деструктивные изменения клеток. Как показано на рис. 5, спустя 12 ч в контрольном образце (см. рис. 5, а) преобладают округлые целостные ПМЯЛ, тогда как в образце, подвергнутом электростимуляции (см. рис. 5, б), визуализируется множество мелких частиц, представляющих собой остатки разрушенных клеток, и присутствует лишь немного целостных ПМЯЛ. Это подтверждает предположение о разрушении клеток после гиперпродукции АФК в электростимулированных ПМЯЛ.

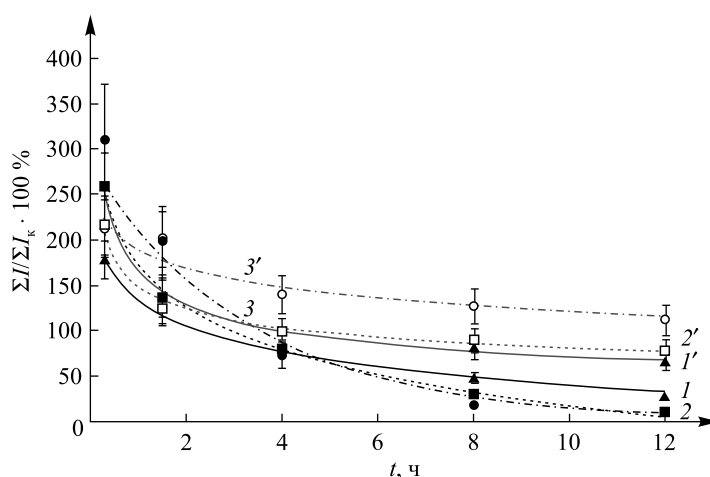


Рис. 3. Изменение выхода АФК через несколько часов после электрической стимуляции ПМЯЛ при напряжении на электродах 0,5 В (1–3) и 0,25 В (1'–3'). Клетки активированы: 1, 1' – в ходе адгезии на стекло; 2, 2' – при добавлении fMLP; 3, 3' – при добавлении частиц латекса. Значения приведены в процентах относительно контроля

Fig. 3. Changes in the ROS yield in PMNL samples several hours after electrical stimulation at a voltage of 0.5 V (1–3) and 0.25 V (1'–3'). Cells were activated: 1, 1' – during adhesion to glass; 2, 2' – by fMLP addition; 3, 3' – by latex addition. The values are represented in percents relative to the control

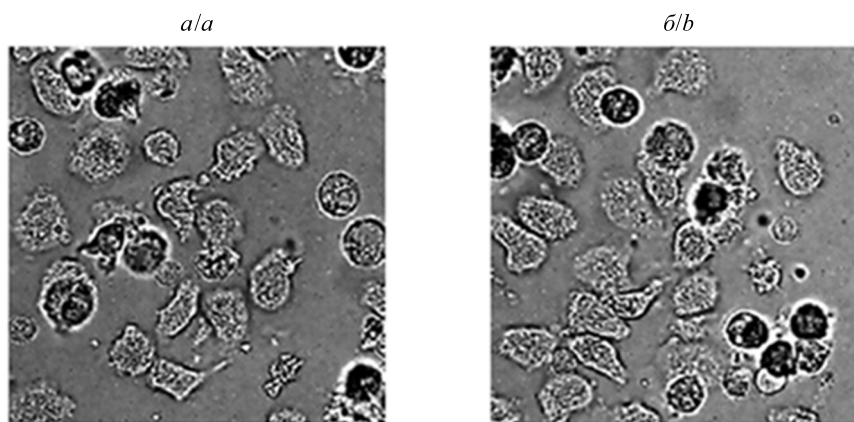


Рис. 4. Активированные ПМЯЛ через 20 мин после начала электрической стимуляции: а – 0 В (контроль); б – 0,5 В

Fig. 4. Activated PMNL 20 min after the beginning of electrical stimulation: а – 0 V (control); б – 0.5 V

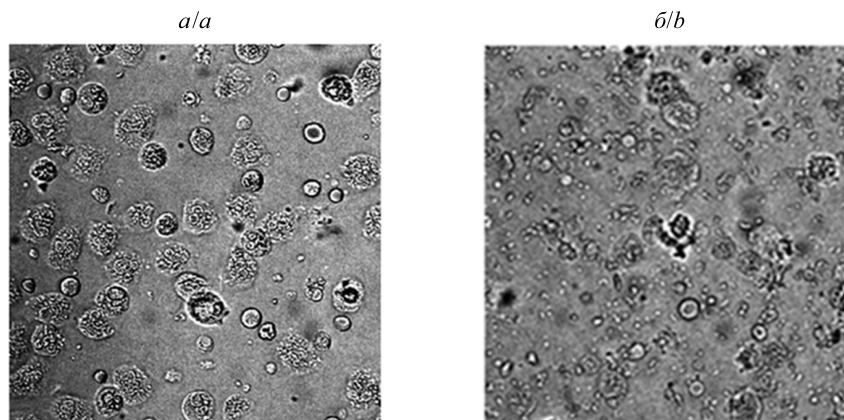


Рис. 5. Разрушение ПМЯЛ спустя 12 ч после воздействия электрического поля: а – 0 В (контроль); б – 0,5 В

Fig. 5. The destruction of PMNL the 12 h after exposure to electric field: a – 0 V (control); b – 0.5 V

ПМЯЛ могут генерировать значительные количества АФК внутри и у внешней поверхности клеток с участием МПО. В работе исследовано влияние электростимуляции на изменение высвобождения МПО из ПМЯЛ (рис. 6). Установлено, что уровни секреции МПО клетками, подвергнутыми действию электрического поля при 1,0 В, в первые минуты и часы выше, чем в контроле (см. рис. 6), что подтверждает активирующее действие электрического поля низкой напряженности на способность клеток ферментативно генерировать АФК.

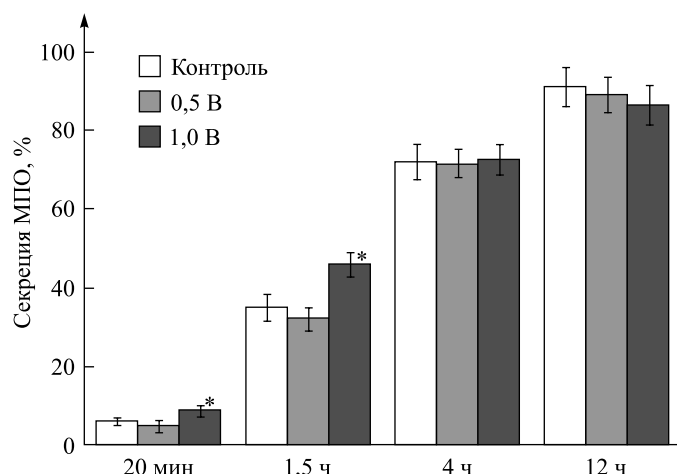


Рис. 6. Изменение высвобождения МПО из ПМЯЛ в контрольных и электростимулированных образцах спустя различные промежутки времени (\* –  $p < 0,05$ )

Fig. 6. Changes in MPO release from PMNL exposed to electric field and in control samples after various time intervals (\* –  $p < 0.05$ )

При приложении постоянного напряжения к электродам, помещенным в суспензию клеток в солевой среде, возникает электрический ионный ток и происходит постепенное уменьшение напряженности поля. Следует отметить, что при наибольшем использованном в работе значении напряжения 1,0 В величина электрического тока не превышала 1 мА, что существенно не меняло температуру среды, т. е. обнаруженные эффекты не относятся к тепловым. Электрические токи 2–3 мА применяются в физиотерапии в методе гальванизации для стимуляции движения жидкостей тела и регуляции активности некоторых типов клеток [2; 3; 28; 29]. В настоящее время вопросы взаимодействия электромагнитных полей с различными физическими объектами, начиная от элементарных частиц, наноматериалов и заканчивая живыми системами, активно изучаются [1–6; 30–32]. Причем имеется множество теорий и исследований, рассматривающих более простые физические объекты, которые включают глубокую проработку физико-математических моделей взаимодействия частиц с электромагнитным полем [30–32]. Однако анализ влияния физических факторов на сложные и разнообразные биологические объекты во многих случаях

представляет собой этап обнаружения и детального рассмотрения эффектов в динамичной живой системе и является важным практико-ориентированным исследованием, но без построения теоретической физико-математической модели [1–3; 13; 15; 33; 34]. Выявленные в наших экспериментах эффекты могут быть обусловлены как поляризацией ПМЯЛ и их молекул под действием электрического поля, так и перемещением ионов и заряженных молекул в среде инкубирования, задающей условия функционирования клеток, однако для уточненной формулировки физических механизмов, лежащих в основе наблюдаемых эффектов, необходимо проведение дополнительных модельных экспериментов.

### Заключение

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о регуляторной роли электростимуляции в отношении активности ПМЯЛ, необходимых для реализации иммунной защиты организма. Электрические поля низкой напряженности, соответствующие по характеристикам ЭЭП, при кратковременном воздействии стимулируют активность данных клеток, вызывают усиление генерации АФК и секреции фермента МПО во внеклеточную среду. Спустя несколько часов после электростимуляции наблюдаются подавление функциональной активности ПМЯЛ и разрушение клеток.

### Библиографические ссылки

1. Chen C, Bai X, Ding Y, Lee I-S. Electrical stimulation as a novel tool for regulating cell behavior in tissue engineering. *Biomaterials Research*. 2019;23:25. DOI: 10.1186/s40824-019-0176-8.
2. Hunckler J, de Mel A. A current affair: electrotherapy in wound healing. *Journal of Multidisciplinary Healthcare*. 2017;10:179–194. DOI: 10.2147/JMDH.S127207.
3. Sun Y-S. Electrical stimulation for wound-healing: simulation on the effect of electrode configurations. *BioMed Research International*. 2017;2017:5289041. DOI: 10.1155/2017/5289041.
4. Levin M. Molecular bioelectricity: how endogenous voltage potentials control cell behavior and instruct pattern regulation *in vivo*. *Molecular Biology of the Cell*. 2014;25(24):3835–3850. DOI: 10.1091/mbc.E13-12-0708.
5. Funk RHW. Endogenous electric fields as guiding cue for cell migration. *Frontiers in Physiology*. 2015;6:143. DOI: 10.3389/fphys.2015.00143.
6. Iwasa SN, Babona-Pilipos R, Morshead CM. Environmental factors that influence stem cell migration: an «Electric field». *Stem Cells International*. 2017;2017:4276927. DOI: 10.1155/2017/4276927.
7. Robinson KR, Messerli MA. Left/right, up/down: the role of endogenous electrical fields as directional signals in development, repair and invasion. *BioEssays*. 2003;25(8):759–766. DOI: 10.1002/bies.10307.
8. McCaig CD, Rajnicek AM, Song B, Zhao M. Controlling cell behavior electrically: current views and future potential. *Physiological Reviews*. 2005;85(3):943–978. DOI: 10.1152/physrev.00020.2004.
9. Driban JB, Swanik CB, Huxel KC, Balsubramanian E. Transient electric changes immediately after surgical trauma. *Journal of Athletic Training*. 2007;42(4):524–529.
10. Nuccitelli R, Nuccitelli P, Ramlatchan S, Sanger R, Smith PJS. Imaging the electric field associated with mouse and human skin wounds. *Wound Repair and Regeneration*. 2008;16(3):432–441. DOI: 10.1111/j.1524-475X.2008.00389.x.
11. Dubé J, Rochette-Drouin O, Lévesque P, Gauvin R, Roberge CJ, Auger FA, et al. Restoration of the transepithelial potential within tissue-engineered human skin *in vitro* and during the wound healing process *in vivo*. *Tissue Engineering. Part A*. 2010;16(10):3055–3063. DOI: 10.1089/ten.tea.2010.0030.
12. Brown SB, Dransfield I. Electric fields and inflammation: may the force be with you. *The Scientific World Journal*. 2008;8:1280–1294. DOI: 10.1100/tsw.2008.158.
13. Keese CR, Wegener J, Walker SR, Giaever I. Electrical wound-healing assay for cells *in vitro*. *PNAS*. 2004;101(6):1554–1559. DOI: 10.1073/pnas.0307588100.
14. Zhao M, Song B, Pu J, Wada T, Reid B, Tai G, et al. Electrical signals control wound healing through phosphatidylinositol-3-OH kinase- $\gamma$  and PTEN. *Nature*. 2006;442(7101):457–460. DOI: 10.1038/nature04925.
15. Kindzelskii AL, Petty HR. Ion channel clustering enhances weak electric field detection by neutrophils: apparent roles of SKF96365-sensitive cation channels and myeloperoxidase trafficking in cellular responses. *European Biophysics Journal*. 2005;35(1):1–26. DOI: 10.1007/s00249-005-0001-2.
16. Hind LE, Vincent WJB, Huttenlocher A. Leading from the back: the role of the uropod in neutrophil polarization and migration. *Developmental Cell*. 2016;38(2):161–169. DOI: 10.1016/j.devcel.2016.06.031.
17. Smirnova EI, Semenkova GN, Kovalenko EI, Gerein V, Cherenkevich SN. Generation of active oxygen forms by neutrophils and granulocytopenia in patients with acute lymphoblastic leukemia under therapy with use of G-CSF granocyte. In: Hiddemann W, Büchner T, Wörmann B, Ritter J, Creutzig U, Keating U, et al., editors. *Acute leukemias VII: experimental approaches and novel therapies*. Berlin: Springer; 1998. p. 387–393. (Haematology and blood transfusion; volume 39). DOI: 10.1007/978-3-642-71960-8\_51.
18. Semenkova GN, Kavalenka AI, Krukau AA, Zhernosek VF, Smirnova EN, Zhirkevich II, et al. Ability of phagocytes to generate reactive oxygen species in children with pollinosis. *Physica Medica*. 2004;20(suppl. 1):132–134.
19. Semenkova GN, Smirnova EN, Kavalenka AI, Gerin V, Savanovich II, Cherenkevich SN. Oxygen-activating ability of neutrophils from children with non-Hodgkin's lymphomas in the therapy with G-CSF. *Experimental Oncology*. 1997;19(2):153–156.
20. Forjanić T, Miklavčič D. Numerical study of gene electrotransfer efficiency based on electroporation volume and electrophoretic movement of plasmid DNA. *BioMedical Engineering OnLine*. 2018;17:80. DOI: 10.1186/s12938-018-0515-3.
21. Koga T, Morotomi-Yano K, Sakugawa T, Saitoh H, Yano K-I. Nanosecond pulsed electric fields induce extracellular release of chromosomal DNA and histone citrullination in neutrophil-differentiated HL-60 cells. *Scientific Reports*. 2019;9:8451. DOI: 10.1038/s41598-019-44817-9.



22. Rosazza C, Meglic SH, Zumbusch A, Rols M-P, Miklavcic D. Gene electrotransfer: a mechanistic perspective. *Current Gene Therapy*. 2016;16(2):98–129. DOI: 10.2174/1566523216666160331130040.
23. Johnson JL, Ellis BA, Munafo DB, Brzezinska AA, Catz SD. Gene transfer and expression in human neutrophils. The p47<sup>phox</sup> homology domain of p47<sup>phox</sup> translocates to the plasma membrane but not to the membrane of mature phagosomes. *BMC Immunology*. 2006;7:28. DOI: 10.1186/1471-2172-7-28.
24. Kavalenka AI, Semenkova GN, Cherenkevich SN. Effects of hydrogen peroxide on neutrophil ability to generate reactive oxygen and chlorine species and to secrete myeloperoxidase *in vitro*. *Cell and Tissue Biology*. 2007;1(6):551–559. DOI: 10.1134/S1990519X07060120.
25. Starodubtseva MN, Kavalenka AI, Petrenyov DR, Cherenkevich SN. Effects of peroxydinitrite on morphology and functions of neutrophils. In: Kozyrev D, Slutsky V, editors. *Handbook of free radicals: formation, types and effects*. [S. l.]: Nova Science Publishers; 2010. p. 479–503.
26. Khan P, Idrees D, Moxley MA, Corbett JA, Ahmad F, von Figura G, et al. Luminol-based chemiluminescent signals: clinical and non-clinical application and future uses. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2014;173(2):333–355. DOI: 10.1007/s12010-014-0850-1.
27. Starodubtseva MN, Kavalenka AI, Yegorenkov NI, Petrenyov DR, Cherenkevich SN. Peroxydinitrite regulates exocytosis of neutrophil granules. *Biochemistry (Moscow). Supplement Series A: Membrane and Cell Biology*. 2010;4(4):332–342. DOI: 10.1134/S1990747810040021.
28. Zeng F-G, Tran P, Richardson M, Sun S, Xu Y. Human sensation of transcranial electric stimulation. *Scientific Reports*. 2019;9:15247. DOI: 10.1038/s41598-019-51792-8.
29. Park RJ, Son H, Kim K, Kim S, Oh T. The effect of microcurrent electrical stimulation on the foot blood circulation and pain of diabetic neuropathy. *Journal of Physical Therapy Science*. 2011;23(3):515–518. DOI: 10.1589/jpts.23.515.
30. Вакулина ЕВ, Максименко НВ. Точные решения волновых уравнений для частиц с дипольными поляризуемостями в поле плоской электромагнитной волны. *Журнал Белорусского государственного университета. Физика*. 2019;1:12–18.
31. Яковлева МА, Батраков КГ. Усиление поглощения электромагнитного излучения в графене дифракционной решеткой. *Журнал Белорусского государственного университета. Физика*. 2018;1:88–94.
32. Шуба МВ, Юко ДИ, Мейсак ДН, Седелникова ОВ, Каныгин МА, Окотруб АВ. Влияние эффекта экранирования на частотную зависимость электропроводности композитного материала на основе углеродных нанотрубок. *Журнал Белорусского государственного университета. Физика*. 2018;1:80–87.
33. Самцов МП, Тарасов ДС, Воропай ЕС, Ляшенко ЛС, Петров ПТ, Насек ВМ и др. Оптимизация параметров источника фотовоздействия при фотохимиотерапии опухолевых тканей лабораторных животных. *Журнал Белорусского государственного университета. Физика*. 2019;1:19–26.
34. Воропай ЕС, Самцов МП, Ляшенко ЛС. Регистрация флуоресценции зондов на основе полиметиновых красителей в тканях *in vivo*. *Журнал Белорусского государственного университета. Физика*. 2017;1:28–33.

## References

1. Chen C, Bai X, Ding Y, Lee I-S. Electrical stimulation as a novel tool for regulating cell behavior in tissue engineering. *Biomaterials Research*. 2019;23:25. DOI: 10.1186/s40824-019-0176-8.
2. Hunckler J, de Mel A. A current affair: electrotherapy in wound healing. *Journal of Multidisciplinary Healthcare*. 2017;10:179–194. DOI: 10.2147/JMDH.S127207.
3. Sun Y-S. Electrical stimulation for wound-healing: simulation on the effect of electrode configurations. *BioMed Research International*. 2017;2017:5289041. DOI: 10.1155/2017/5289041.
4. Levin M. Molecular bioelectricity: how endogenous voltage potentials control cell behavior and instruct pattern regulation *in vivo*. *Molecular Biology of the Cell*. 2014;25(24):3835–3850. DOI: 10.1091/mbc.E13-12-0708.
5. Funk RHW. Endogenous electric fields as guiding cue for cell migration. *Frontiers in Physiology*. 2015;6:143. DOI: 10.3389/fphys.2015.00143.
6. Iwasa SN, Babona-Pilipos R, Morshead CM. Environmental factors that influence stem cell migration: an «Electric field». *Stem Cells International*. 2017;2017:4276927. DOI: 10.1155/2017/4276927.
7. Robinson KR, Messerli MA. Left/right, up/down: the role of endogenous electrical fields as directional signals in development, repair and invasion. *BioEssays*. 2003;25(8):759–766. DOI: 10.1002/bies.10307.
8. McCaig CD, Rajnicek AM, Song B, Zhao M. Controlling cell behavior electrically: current views and future potential. *Physiological Reviews*. 2005;85(3):943–978. DOI: 10.1152/physrev.00020.2004.
9. Driban JB, Swanik CB, Huxel KC, Balsubramanian E. Transient electric changes immediately after surgical trauma. *Journal of Athletic Training*. 2007;42(4):524–529.
10. Nuccitelli R, Nuccitelli P, Ramlatchan S, Sanger R, Smith PJS. Imaging the electric field associated with mouse and human skin wounds. *Wound Repair and Regeneration*. 2008;16(3):432–441. DOI: 10.1111/j.1524-475X.2008.00389.x.
11. Dubé J, Rochette-Drouin O, Lévesque P, Gauvin R, Roberge CJ, Auger FA, et al. Restoration of the transepithelial potential within tissue-engineered human skin *in vitro* and during the wound healing process *in vivo*. *Tissue Engineering. Part A*. 2010;16(10):3055–3063. DOI: 10.1089/ten.tea.2010.0030.
12. Brown SB, Dransfield I. Electric fields and inflammation: may the force be with you. *The Scientific World Journal*. 2008;8:1280–1294. DOI: 10.1100/tsw.2008.158.
13. Keese CR, Wegener J, Walker SR, Giaever I. Electrical wound-healing assay for cells *in vitro*. *PNAS*. 2004;101(6):1554–1559. DOI: 10.1073/pnas.0307588100.
14. Zhao M, Song B, Pu J, Wada T, Reid B, Tai G, et al. Electrical signals control wound healing through phosphatidylinositol-3-OH kinase- $\gamma$  and PTEN. *Nature*. 2006;442(7101):457–460. DOI: 10.1038/nature04925.
15. Kindzelskii AL, Petty HR. Ion channel clustering enhances weak electric field detection by neutrophils: apparent roles of SKF96365-sensitive cation channels and myeloperoxidase trafficking in cellular responses. *European Biophysics Journal*. 2005;35(1):1–26. DOI: 10.1007/s00249-005-0001-2.

16. Hind LE, Vincent WJB, Huttenlocher A. Leading from the back: the role of the uropod in neutrophil polarization and migration. *Developmental Cell*. 2016;38(2):161–169. DOI: 10.1016/j.devcel.2016.06.031.
17. Smirnova EI, Semenkova GN, Kovalenko EI, Gerein V, Cherenkevich SN. Generation of active oxygen forms by neutrophils and granulocytopenia in patients with acute lymphoblastic leukemia under therapy with use of G-CSF granulocyte. In: Hiddemann W, Büchner T, Wörmann B, Ritter J, Creutzig U, Keating U, et al., editors. *Acute leukemias VII: experimental approaches and novel therapies*. Berlin: Springer; 1998. p. 387–393. (Haematology and blood transfusion; volume 39). DOI: 10.1007/978-3-642-71960-8\_51.
18. Semenkova GN, Kavalenka AI, Krukau AA, Zhernosek VF, Smirnova EN, Zhirkevich II, et al. Ability of phagocytes to generate reactive oxygen species in children with pollinosis. *Physica Medica*. 2004;20(suppl. 1):132–134.
19. Semenkova GN, Smirnova EN, Kavalenka AI, Gerin V, Savanovich II, Cherenkevich SN. Oxygen-activating ability of neutrophils from children with non-Hodgkin's lymphomas in the therapy with G-CSF. *Experimental Oncology*. 1997;19(2):153–156.
20. Forjanič T, Miklavčič D. Numerical study of gene electrotransfer efficiency based on electroporation volume and electrophoretic movement of plasmid DNA. *BioMedical Engineering OnLine*. 2018;17:80. DOI: 10.1186/s12938-018-0515-3.
21. Koga T, Morotomi-Yano K, Sakugawa T, Saitoh H, Yano K-I. Nanosecond pulsed electric fields induce extracellular release of chromosomal DNA and histone citrullination in neutrophil-differentiated HL-60 cells. *Scientific Reports*. 2019;9:8451. DOI: 10.1038/s41598-019-44817-9.
22. Rosazza C, Meglic SH, Zumbusch A, Rols M-P, Miklavcic D. Gene electrotransfer: a mechanistic perspective. *Current Gene Therapy*. 2016;16(2):98–129. DOI: 10.2174/1566523216666160331130040.
23. Johnson JL, Ellis BA, Munafò DB, Brzezinska AA, Catz SD. Gene transfer and expression in human neutrophils. The phox homology domain of p47<sup>phox</sup> translocates to the plasma membrane but not to the membrane of mature phagosomes. *BMC Immunology*. 2006;7:28. DOI: 10.1186/1471-2172-7-28.
24. Kavalenka AI, Semenkova GN, Cherenkevich SN. Effects of hydrogen peroxide on neutrophil ability to generate reactive oxygen and chlorine species and to secrete myeloperoxidase *in vitro*. *Cell and Tissue Biology*. 2007;1(6):551–559. DOI: 10.1134/S1990519X07060120.
25. Starodubtseva MN, Kavalenka AI, Petrenyov DR, Cherenkevich SN. Effects of peroxynitrite on morphology and functions of neutrophils. In: Kozyrev D, Slutsky V, editors. *Handbook of free radicals: formation, types and effects*. [S. l.]: Nova Science Publishers; 2010. p. 479–503.
26. Khan P, Idrees D, Moxley MA, Corbett JA, Ahmad F, von Figura G, et al. Luminol-based chemiluminescent signals: clinical and non-clinical application and future uses. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2014;173(2):333–355. DOI: 10.1007/s12010-014-0850-1.
27. Starodubtseva MN, Kavalenka AI, Yegorenkov NI, Petrenyov DR, Cherenkevich SN. Peroxynitrite regulates exocytosis of neutrophil granules. *Biochemistry (Moscow). Supplement Series A: Membrane and Cell Biology*. 2010;4(4):332–342. DOI: 10.1134/S1990747810040021.
28. Zeng F-G, Tran P, Richardson M, Sun S, Xu Y. Human sensation of transcranial electric stimulation. *Scientific Reports*. 2019;9:15247. DOI: 10.1038/s41598-019-51792-8.
29. Park RJ, Son H, Kim K, Kim S, Oh T. The effect of microcurrent electrical stimulation on the foot blood circulation and pain of diabetic neuropathy. *Journal of Physical Therapy Science*. 2011;23(3):515–518. DOI: 10.1589/jpts.23.515.
30. Vakulina EV, Maksimenko NV. Exact solutions of wave equations for particles with dipole polarizabilities in the field of a plane electromagnetic wave. *Journal of the Belarusian State University. Physics*. 2019;1:12–18. Russian.
31. Yakovleva MA, Batrakov KG. Electromagnetic radiation absorption enhancement in graphene by diffraction grating. *Journal of the Belarusian State University. Physics*. 2018;1:88–94. Russian.
32. Shuba MV, Yuko DI, Meisak DN, Sedelnikova OV, Kanygin MA, Okotrub AV. Influence of the screening effect on the frequency dependence of the electrical conductivity of a composite material based on carbon nanotubes. *Journal of the Belarusian State University. Physics*. 2018;1:80–87. Russian.
33. Samtsov MP, Tarasov DS, Voropay ES, Lyashenko LS, Petrov PT, Nasek VM, et al. Photodynamic therapy using the photosensitizer based on tricarboyanine dye with polyethylene glycol on a model for tumor bearing laboratory animals. *Journal of the Belarusian State University. Physics*. 2019;1:19–26. Russian.
34. Voropay ES, Samtsov MP, Lyashenko LS. Recording of fluorescence from the probes based on polymethine dyes in the tissues *in vivo*. *Journal of the Belarusian State University. Physics*. 2017;1:28–33. Russian.

Статья поступила в редколлегию 13.02.2020.  
Received by editorial board 13.02.2020.