

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ИНГИБИРУЮЩИХ ЭФФЕКТОВ ГИПОМАГНИТНОГО ПОЛЯ И КОМБИНИРОВАННЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ НА ПРОДУКЦИЮ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА (АФК) НЕЙТРОФИЛАМИ

Новиков В.В.¹, Яблокова Е.В.¹, Шаев И.А.¹, Новикова Н.И.², Фесенко Е.Е.¹

¹ Институт биофизики клетки РАН – обособленное подразделение ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН»

ул. Институтская, 3, г. Пущино, 142290. РФ; e-mail: docmag@mail.ru

² Филиал Института биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН
просп. Науки, 6, г. Пущино, 142290, РФ

Поступила в редакцию 19.07.2023. DOI: 10.29039/rusjbpс.2023.0601

Аннотация. В работе показано, что снижение фоновой продукции активных форм кислорода (АФК) в перитонеальных нейтрофилах мышей после кратковременного (40 минут) пребывания в гипомангнитных условиях (остаточное поле ~ 10 нТл) при физиологических температурах, выявляемое методом люцигенин-зависимой хемиллюминесценции, не сопровождается нарушением хемиллюминесцентного ответа на активаторы респираторного взрыва: формилированный пептид N-formyl-Met-Leu-Phe (fMLF) и форболовый эфир форбол-12-меристат-13-ацетата (ФМА). Эти результаты получены методами активированной хемиллюминесценции с использованием люцигенина и люминола и различных комбинаций применения активаторов продукции АФК (ФМА и/или fMLF). В отличие от этого, действие комбинированных параллельных постоянного (индукция 60 мкТл) и переменного (диапазон амплитуд 60-180 нТл, частота 49,5 Гц) магнитных полей (КМП) приводит к снижению хемиллюминесцентного ответа на эти активаторы. Эти данные свидетельствуют о различных источниках АФК, реагирующих на действия определенных режимов КМП и гипомангнитного поля в нейтрофилах. Проведенное исследование, в совокупности с ранее полученными результатами, позволяет исключить системы, контролируемые респираторный взрыв в нейтрофилах, из числа основных мишеней и акцепторов, реагирующих на кратковременную депривацию магнитного поля.

Ключевые слова: гипомангнитное поле, нейтрофилы, активные формы кислорода, люцигенин, люминол, хемиллюминесценция.

Ранее мы показали, что в результате пребывания нейтрофилов в ослабленном (в ~ 2500 раз) с помощью системы магнитных экранов геомагнитном поле (ГМП) фоновая продукция активных форм кислорода (АФК) в них существенно снижалась [1]. Эти результаты были получены методами флуоресцентной спектроскопии с использованием проникающих в клетку флуоресцентных зондов (дихлордигидрофлуоресцеина-диацетата и дигидрорадамина 123), а также методом хемиллюминесцентного анализа с использованием люцигенина [2], активатора хемиллюминесценции, относительно селективного для супероксидного радикала [3]. При добавке малых концентраций (<1 мкМ) активаторов респираторного взрыва, формилированного пептида N-formyl-Met-Leu-Phe или форболового эфира форбол-12-меристат-13-ацетата, в случае детекции флуоресцентным методом этот эффект гипомангнитного поля (гипоМП) сохранялся, но по величине соответствовал эффектам, полученным в опытах без этих активаторов [1]. На основании этих результатов было сложно сделать однозначные выводы об основных источниках АФК, реагирующих на изменение этих магнитных условий. Далее с использованием ингибиторного анализа в опытах на неактивированных нейтрофилах мы показали, что добавка динитрофенола – разобщителя окисления и фосфорилирования в митохондриях практически полностью нивелирует различия в продукции АФК между контрольными (ГМП) и опытными (гипоМП) группами, в отличие от дифенилйодония – неспецифического ингибитора НАДФН-оксидазы, добавка которого приводила к снижению продукции АФК в обоих случаях и сохранению различий между контролем и опытом [2]. Также на величину эффекта гипоМП влияла добавка ротенона (ингибитора 1 комплекса ЭТС в митохондриях) [4]. Все эти результаты в большей степени свидетельствовали о роли митохондрий, а не НАДФН – оксидазы в эффектах ослабленного ГМП.

Комбинированные постоянные и переменные магнитные поля (КМП), напротив, вызывают в основном стимулирующие эффекты на продукцию АФК в нейтрофилах, что было отмечено многими авторами [5-8]. Однако обнаружены определенные режимы (например: ПМП 60 мкТл, ПеМП 60-180 нТл, частота 49,5 Гц), вызывающие ингибирующий эффект [9]. В случае КМП ингибирующий эффект проявляется при предварительной обработке полем нейтрофилов и последующем введении активаторов респираторно взрыва, как снижение хемиллюминесцентного ответа на эти активаторы. Для более полного сравнения ингибирующих эффектов гипомангнитного поля и ингибирующих эффектов этих КМП были проведены специальные эксперименты, чтобы определить, как пребывание в гипоМП влияет на хемиллюминесцентный ответ нейтрофилов на введение активаторов респираторного взрыва.

Действие гипоМП проверяли на способность осуществлять преактивацию (прайминг)/деактивацию нейтрофилов. Для проверки этого действия суспензия нейтрофилов предварительно инкубировалась на протяжении 40 минут в гипомангнитных условиях, а затем к ней добавляли активатор хемиллюминесценции люминол (или люцигенин) и один из активаторов респираторного взрыва, формилированный

пептид N-формил-Met-Leu-Phe (fMLF) или другой активатор генерации АФК, форболовый эфир, форбол-12-меристат-13-ацетат (ФМА). Также применялись варианты совместного использования этих двух активаторов продукции АФК, о чем будет сказано ниже.

Работа выполнена на перитонеальных нейтрофилах мышей. Для получения перитонеальных нейтрофилов использованы лабораторные мыши самцы линии Balb/c массой 24–26 г, полученные из питомника лабораторных животных ФИБХ РАН (Пушино, Московская область). Для выполнения измерений в рамках одного экспериментального дня использовалась суспензия нейтрофилов, полученная из одной мыши. Выделение клеток проводилось в день проведения измерений. Для получения клеток в перитонеальную полость мыши было инъецировано 150 мкл суспензии опсонизированного зимозана с концентрацией 5 мг/мл (Zymozan A из *Saccharomyces cerevisiae*, Sigma, США). После этого через 16 часов животных умерщвляли методом перикальной дислокации, и их брюшную полость промывали тремя миллилитрами охлажденного раствора Хенкса без кальция. Экссудат собирали пипеткой и центрифугировали в течение 5 мин при 600 g. Супернатант декантировали, а осадок разводили в 1 мл бескальциевого раствора Хенкса и оставляли не менее чем на 1 час при 4° С. Эта процедура позволяла снизить спонтанную хемилюминесценцию нейтрофилов и перевести эти клетки в «одинаковое» состояние, характеризующееся их равномерным хемилюминесцентным ответом, что обеспечивало возможность работы с ними в течение экспериментального дня. Количество выделенных клеток подсчитывали в камере Горяева. Жизнеспособность клеток определяли, используя витальный краситель трипановый синий. Содержание живых клеток при этом составляло не менее 98%.

Для выполнения опытов образцы получали путем разведения суспензии нейтрофилов модифицированной средой Хенкса (138 mM NaCl, 6 mM KCl, 1 mM MgSO₄, 1 mM Na₂HPO₄, 5 mM NaHCO₃, 5,5 mM глюкозы, 1 mM CaCl₂, 10 mM HEPES, pH 7,4; Sigma, США) до концентрации 1 млн кл/мл. Образцы по 0,25 мл находились в круглодонных кюветках из полистирола (d = 1,2 см, l = 5,5 см), в которых в дальнейшем проводили измерение хемилюминесценции. Нейтрофилы инкубировали при 37±0,1°С в течение 40 минут. Заданная температура поддерживалась циркуляционным водным термостатом УН 4 (MLW, Германия).

Образцы контрольных групп находились в локальном геомагнитном поле (ГМП) с постоянной составляющей ~ 44 мкТл и уровнем магнитного фона на 50 Гц 15-50 нТл при таком же температурном режиме, как и опытные образцы, и одновременно с ними (также одновременно проводилась последующая регистрация хемилюминесценции контрольных и экспериментальных образцов). В опытах была использована специальная исследовательская аппаратура – установка для формирования гипомагнитных условий, которая позволяла получить высокую степень ослабления ГМП – до 10000 раз (остаточное постоянное поле не превышало 10 нТл), и существенно ослабляла переменные техногенные помехи (до единиц нТл). Эта установка детально описана нами ранее [1,2]. Установка состояла из трех, вставленных соосно один в другой, цилиндрических магнитных экранов из пермаллоя (толщиной 1 мм), и была снабжена внутри специальным индуктором (соленоидом) для проведения размагничивания системы и подачи в случае необходимости слабого постоянного тока для формирования поля, заданной величины. Определение остаточных полей внутри установки проводили прямым измерением с помощью феррозондового магнитометра Mag – 03 MS 100 (Bartington, UK). Замеры экспериментального участка внутри системы экранов (диаметр 20 см, длина 40 см) позволяли поместить одновременно в зону однородного слабого магнитного поля достаточное для опытов число экспериментальных образцов (не менее 6). Опыты повторяли не менее трех раз.

После инкубации нейтрофилов измеряли интенсивность хемилюминесценции полученных образцов при добавке в них раствора люминола (Enzo Life Sciences, США) в конечной концентрации 0,35 мМ. В суспензию нейтрофилов помимо люминола был добавлен активатор генерации АФК: хемотаксический формилованный пептид N-формил-Met-Leu-Phe (fMLF) (Sigma, США) в конечной концентрации 1 мкМ. В разных вариантах опытов были использованы и другие концентрации fMLF. Для регистрации хемилюминесценции был использован 12-канальный хемилюминометр Lum-1200 (ООО ДИСофт, Россия). Для анализа результатов использована программа «PowerGraph».

В части опытов вместо fMLF был добавлен другой активатор генерации АФК – форболовый эфир, форбол-12-меристат-13-ацетат (ФМА) (Sigma, США), в низких концентрациях (5 или 20 нМ),

В части опытов была использована схема двойной последовательной стимуляции нейтрофилов [10]. Для этого до начала инкубации в гипомагнитном поле в суспензию клеток был добавлен активатор генерации АФК – ФМА в концентрации (5 нМ), а после окончания инкубации хемилюминесцентный ответ регистрировали на введение люминола и пептида fMLF. В этом случае на первом этапе опытов нейтрофилы стимулировали ФМА, агентом с внутриклеточным механизмом действия (имитирующим диацилглицерол и напрямую активирующим мембранную протеинкиназу С [11]), а на втором этапе (при регистрации хемилюминесценции) проводили основную стимуляцию fMLF, агентом с внеклеточным механизмом действия (осуществляющим передачу сигнала через рецепторы fMLP [12]). Такая двойная стимуляция приводила к более полному ответу нейтрофилов на эти стимулы и, следовательно, к возможности повышения чувствительности использованного метода [10].

Наряду с люминол-зависимой хемилюминесценцией регистрировали люцигенин-зависимую хемилюминесценцию нейтрофилов для определения спонтанной продукции АФК, а также при использовании активаторов АФК. Для этого после инкубации суспензии нейтрофилов измеряли интенсивность хемилюминесценции образцов в контрольных и опытных случаях после добавки в них раствора люцигенина (Enzo Life Sciences, США) в конечных концентрациях 0,2 или 0,4 мМ. Следует отметить, что в ряде случаев

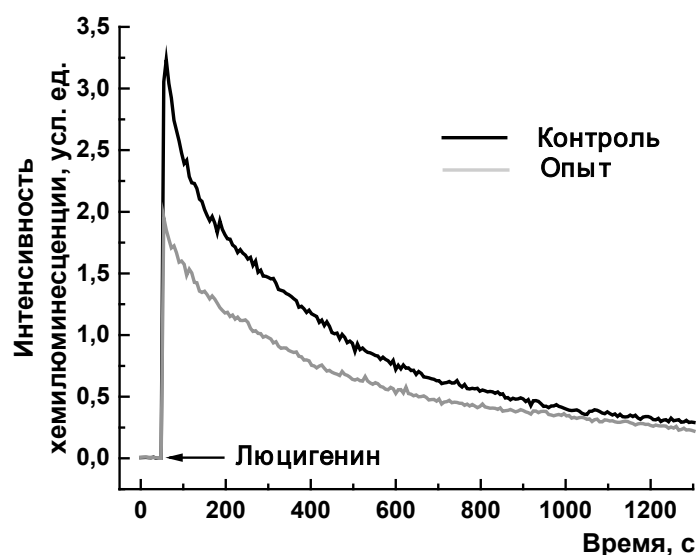


Рисунок 1. Кинетические кривые хемилюминесцентного ответа суспензии нейтрофилов на 0,4 мМ люцигенина после действия «нулевого» МП

дополнительная стимуляция активаторами продукции АФК (ФМА или fMLF) не проводилась, то есть в этих опытах определяли фоновую продукцию супероксидного анион-радикала в нейтрофилах. В других вариантах опытов были использованы fMLF и/или ФМА, в тех же концентрациях и последовательности, что и ранее, при проведении опытов и регистрации люминол-зависимой хемилюминесценции.

Результаты статистически обработаны с применением t -критерия Стьюдента. Значения интенсивности люминесценции соответствовали световому потоку, т.е. количеству фотонов в единицу времени: 1 Вольт (В) соответствует ≈ 1000 фотонов / с. Часть результатов представлена в процентах по отношению к амплитудам хемилюминесцентного ответа в контроле, принятым за 100%. Также для сравнения приведены некоторые данные из ранее опубликованной работы [6] по действию ингибирующих режимов КМП на люминол-зависимую хемилюминесценцию нейтрофилов при стимуляции fMLF.

После инкубации суспензии нейтрофилов в течение 40 минут в гипомангнитных условиях регистрируется существенное снижение (примерно на 30%, с $3,41 \pm 0,36$ В до $2,40 \pm 0,16$ В, $n=6$, $p=0,00029$) хемилюминесцентного сигнала на введение 0,4 мМ люцигенина (Рис.1), что согласуется с данными предыдущих работ. Введение активатора продукции АФК – 1 мкМ fMLF приводит к существенному росту амплитуды сигнала люцигенин-зависимой хемилюминесценции (до $6,37 \pm 0,68$ В в контроле и до $6,05 \pm 0,51$ В в опыте, $n=6$, $p = 0,41921$) и нивелирует различия между контрольными и опытными группами (рис. 2).

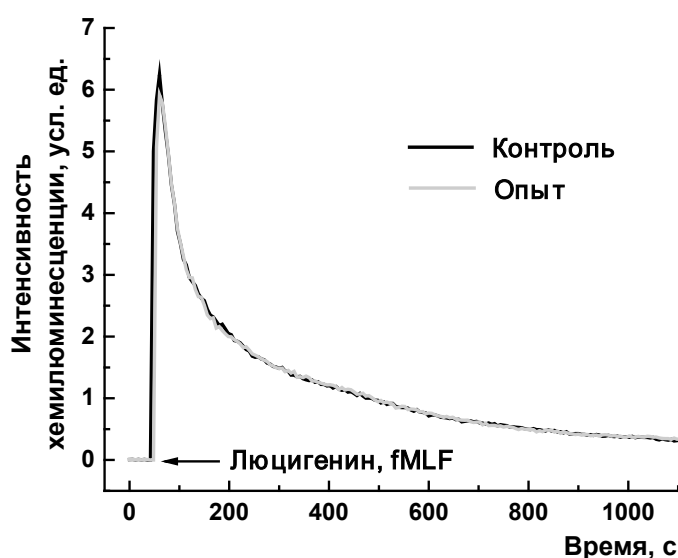


Рисунок 2. Кинетические кривые хемилюминесцентного ответа суспензии нейтрофилов после действия «нулевого» МП на 0,4 мМ люцигенина и 1 мкМ fMLF

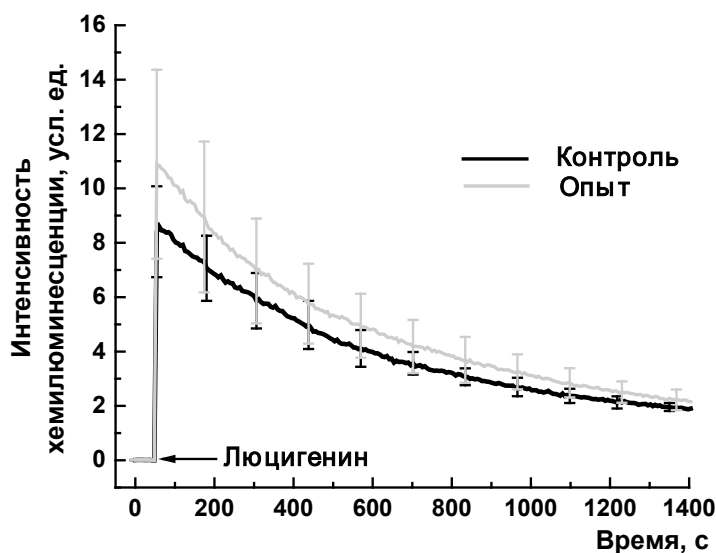


Рисунок 3. Кинетические кривые хемилюминесцентного ответа суспензии нейтрофилов после действия «нулевого» МП в присутствии 5 нМ ФМА на 0,2 мМ люцигенина

Также не проявляются различия при инкубации нейтрофилов в присутствии 5 нМ ФМА и последующем введении 0,2 мМ люцигенина (рис. 3), и в опытах с двойной последовательной стимуляцией 5 нМ ФМА и 1 мкМ fMLF (рис. 4). Таким образом, эти эксперименты, проведенные методом люцигенин-зависимой хемилюминесценции, в совокупности показывают, что реакция систем нейтрофилов по продукции супероксида на введение активаторов респираторного взрыва после кратковременного пребывания в гипомагнитных условиях полностью сохраняется.

Хемилюминесцентный ответ на введение 0,35 мМ люминола у нейтрофилов после 40 минут пребывания в гипоМП полностью сохраняется (рис. 5). Также не выявлено достоверных отличий (контроль – $7,80 \pm 1,59$ В, опыт – $6,78 \pm 1,31$ В, $n=6$, $p=0,298$) в реакции на введение 2 мкМ fMLF в присутствии люминола (рис. 6), в опытах с двойной последовательной стимуляцией (рис. 7) и в реакции на ФМА (рис. 8). Таким образом, эксперименты, проведенные методом люминол-зависимой хемилюминесценции, дополнительно к опытам с люцигенином, показывают, что продукция и других АФК (перекиси водорода, гипохлорита), помимо супероксида, не нарушается в ответ на активаторы респираторного взрыва после кратковременного пребывания нейтрофилов в гипомагнитных условиях. Единственным выявленным значительным эффектом гипоМП остается снижение фоновой продукции супероксида, регистрируемое в опытах с люцигенином без активаторов продукции АФК.

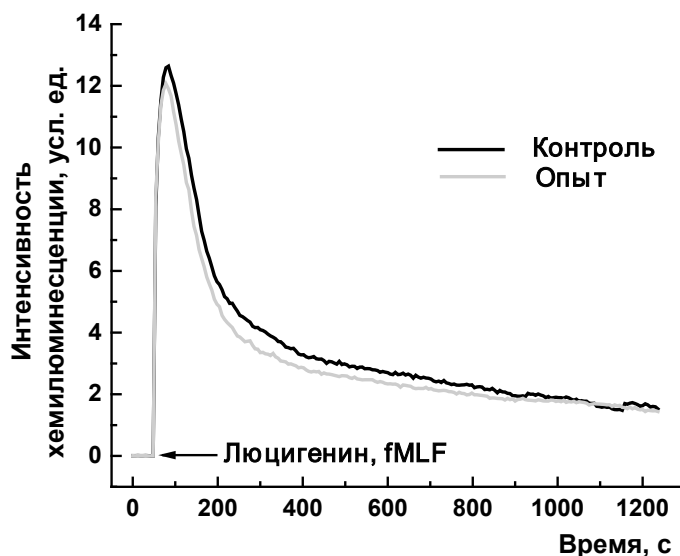


Рисунок 4. Кинетические кривые хемилюминесцентного ответа суспензии нейтрофилов после действия «нулевого» МП в присутствии 5 нМ ФМА на 0,2 мМ люцигенина и 1 мкМ fMLF

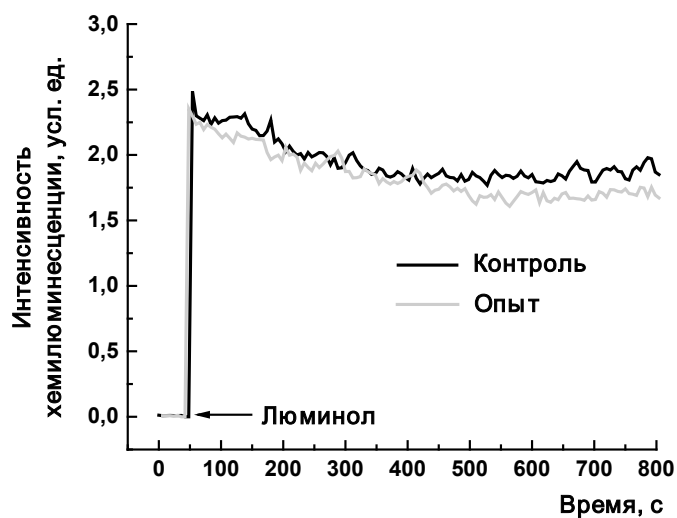


Рисунок 5. Кинетические кривые хемилюминесцентного ответа суспензии нейтрофилов после действия «нулевого» МП на добавку 0,35 мМ люминола

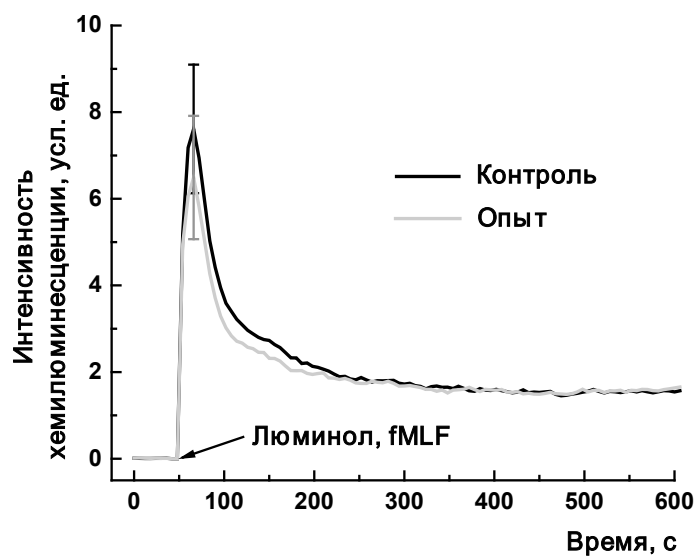


Рисунок 6. Кинетические кривые хемилюминесцентного ответа суспензии нейтрофилов после действия «нулевого» МП на 0,35 мМ люминола и 2 мкМ fMLF

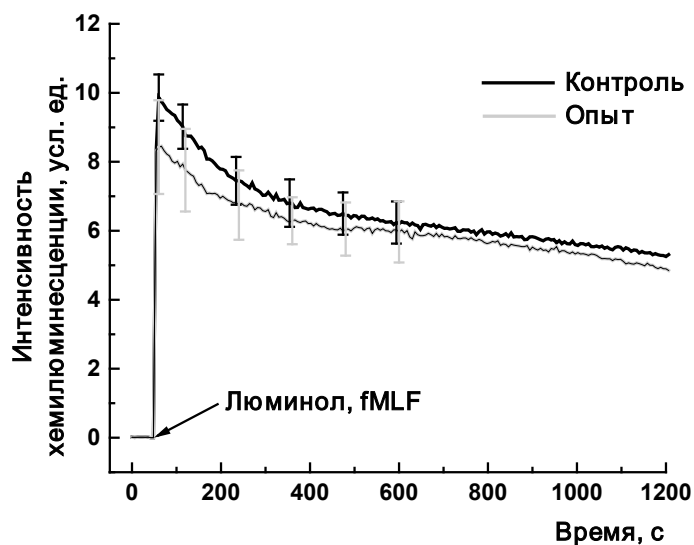


Рисунок 7. Кинетические кривые хемилюминесцентного ответа суспензии нейтрофилов после действия «нулевого» МП в присутствии 20 нМ ФМА на 0,35 мМ люминола и 2 мкМ fMLF

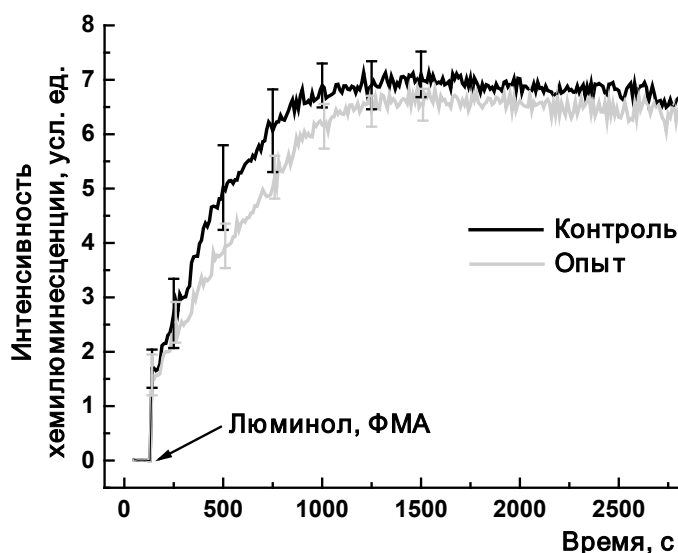


Рисунок 8. Кинетические кривые хемилюминесцентного ответа суспензии нейтрофилов после действия «нулевого» МП на 0,35 мМ люминола и 20 нМ ФМА

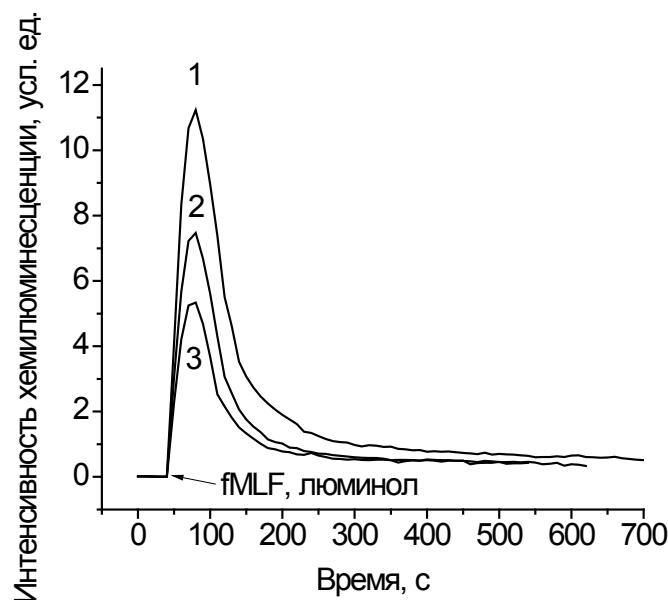


Рисунок 9. Влияние комбинированных магнитных полей с постоянным МП 60 мкТл на кинетику и интенсивность хемилюминесценции нейтрофилов при стимуляции 1 мкМ fMLF в присутствии люминола [9].

1 – контроль

2 - сумма частот 33; 46; 48,5; 49,5 Гц, амплитуда 480 нТл

3 – 49,5 Гц, амплитуда 120 нТл

В отличие от результатов опытов в гипомагнитном поле, в опытах при действии ингибирующих продукцию АФК режимов КМП [9], отмечается выраженное снижение ответа нейтрофилов на активаторы респираторного взрыва (рис. 9).

Проведенное исследование, в совокупности с ранее полученными результатами, позволяет более уверенно исключить системы, контролируемые респираторный взрыв в нейтрофилах, из числа основных мишеней и акцепторов, реагирующих на депривацию магнитного поля. Напротив, действие определенных комбинаций постоянных и переменных магнитных полей может быть реализовано через эти системы.

Список литературы / References:

1. Новиков В.В., Яблокова Е.В., Фесенко Е.Е. Влияние «нулевого» магнитного поля на продукцию активных форм кислорода в нейтрофилах. *Биофизика*, 2018, т. 63, № 3, с. 484-488 [Novikov V.V., Yablokova E.V., Fesenko E.E. The effect of a «zero» magnetic field on the production of reactive oxygen species in neutrophils. *Biophysics (Moscow)*, 2018, vol. 63, no. 3, pp. 365-368 (In Russ.)].

2. Новиков В.В., Яблокова Е.В., Шаев И.А., Фесенко Е.Е. Снижение продукции супероксидного анион-радикала в нейтрофилах в результате действия «нулевого» магнитного поля. *Биофизика*, 2020, т. 65, № 4,

c. 735-740 [Novikov V.V., Yablokova E.V., Shaev I.A., Fesenko E.E. Decreased production of the superoxide anion radical in neutrophils exposed to a near-null magnetic field. *Biophysics (Moscow)*, 2020, vol. 65, no. 4, pp. 625-630 (In Russ.)].

3. Aasen T.B., Bolann B., Glette J., Ulvik R.J., Schreiner A. Lucigenin-dependent chemiluminescence in mononuclear phagocytes. Role of superoxide anion. *Scand J Clin Lab Invest*, 1987, vol. 47, pp. 673-679.

4. Новиков В.В., Яблокова Е.В., Валеева Э.Р., Фесенко Е.Е. К вопросу о молекулярных механизмах действия «нулевого» магнитного поля на продукцию активных форм кислорода в неактивированных нейтрофилах. *Биофизика*, 2019, т. 64, № 4, с. 720-725 [Novikov V.V., Yablokova E.V., Valeeva E.R., Fesenko E.E. On the molecular mechanisms of the effect of a zero magnetic field on the production of reactive oxygen species in inactivated neutrophils. *Biophysics (Moscow)*, 2019, vol. 64, no. 4, pp. 371-375 (In Russ.)].

5. Шаев И.А., Новиков В.В. Влияние слабых переменных магнитных полей на нейтрофильные гранулоциты. Аналитический обзор. *Физика биологии и медицины*, 2023, № 1, с. 26-43, doi: 10.7256/2730-0560.2023.1.40410 [Shaev I.A., Novikov V.V. Influence of weak alternating magnetic fields on neutrophilic granulocytes. Analytical review. *Physics of Biology and Medicine*, 2023, no. 1, pp. 26-43 (In Russ.)].

6. Cuppen J., Gradinaru C., Raap-van Sleuwen B., de Wit A., van der Vegt T., Savelkoul H. LF-EMF Compound block type signal activates human neutrophilic granulocytes in vivo. *Bioelectromagnetics*, 2022, vol. 43, no. 5, pp. 309-316.

7. Poniedzialek B., Rzymiski P., Nawrocka-Bogusz H., Jaroszyk F., Wiktorowicz K. The effect of electromagnetic field on reactive oxygen species production in human neutrophils in vitro. *Electromagn Biol Med*, 2013, vol. 32, no. 3, pp. 333-341.

8. Белова Н.А., Поцелуева М.М., Сребницкая Л.К., Знобищева А.В., Леднев В.В. Регуляция скорости образования активных форм кислорода в перитонеальных нейтрофилах мышей с помощью слабых магнитных полей. *Биофизика*, 2010, т. 55, № 4, с. 657-663 [Belova N.A., Potselueva M.M., Srebnitskaya L.K., Znobishcheva A.V., Lednev V.V. Effects of weak magnetic fields on the production of reactive oxygen species in peritoneal neutrophils in mice. *Biofizika*, 2010, vol. 55, no. 4, pp. 657-663 (In Russ.)].

9. Новиков В.В., Яблокова Е.В., Фесенко Е.Е. Снижение интенсивности респираторного взрыва в нейтрофилах после воздействия определенных режимов слабых комбинированных магнитных полей. *Биофизика*, 2020, т. 65, № 1, с. 97-103 [Novikov V.V., Yablokova E.V., Fesenko E.E. A decrease of the respiratory burst in neutrophils after exposure to weak combined magnetic fields of a certain duration. *Biophysics (Moscow)*, 2020, vol. 65, no. 1, pp. 82-87 (In Russ.)].

10. Проскурнина Е.В., Созарукова М.М., Полимова А.М., Прудникова М.А., Аметов А.С., Владимиров Ю.А. Новый хемилуминесцентный метод оценки функциональной активности нейтрофилов при обследовании пациентов с сахарным диабетом 2-го типа. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*, 2016, т. 161, № 2, с. 288-291 [Proskurnina E.V., Sozarukova M.M., Polimova A.M., Prudnikova M.A., Ametov A.S., Vladimirov Yu.A. A new chemiluminescent method for assessing the functional activity of neutrophils in the examination of patients with type 2 diabetes mellitus. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2016, vol. 161, no. 2, pp. 288-291 (In Russ.)].

11. Rossi F., Bellavite P., Berton G. et al. The respiratory burst of phagocytic cells: facts and problems. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 1982, vol. 141, pp. 283-322.

12. Сафронова В.Г., Габдулхакова А.Г., Миллер А.В. и др. Вариабельность действия инсулина на респираторный взрыв в нейтрофилах. Роль тирозинкиназ и фосфатаз. *Биохимия*, 2001, т. 66, с. 840-849 [Safronova V.G., Gabdulhakova A.G., Miller A.V. et al. Variability of insulin action on respiratory burst in neutrophils. The role of tyrosine kinases and phosphatases. *Biokhimiya*, 2001, vol. 66, pp. 840-849 (In Russ.)].

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE INHIBITORY EFFECTS OF THE HYPOMAGNETIC FIELD AND COMBINED MAGNETIC FIELDS ON THE PRODUCTION OF REACTIVE OXYGEN SPECIES (ROS) BY NEUTROPHILS

Novikov V.V.¹, Yablokova E.V.¹, Shaev I.A.¹, Novikova N.I.², Fesenko E.E.¹

¹ Institute of Cell Biophysics of the Russian Academy of Sciences – a separate subdivision of the Federal Research Center "Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences"

Institutskaya str., 3, Pushchino, 142290, Russia; e-mail: docmag@mail.ru

² Branch of Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences
Prospekt Nauki, 6, Pushchino, 142290, Russia

Received 19.07.2023. DOI: 10.29039/rusjbc.2023.0601

Abstract. The article reveals that a decrease in the background production of reactive oxygen species (ROS) in the peritoneal neutrophils of mice after a short-term (40 minutes) stay in hypomagnetic conditions (residual field ~ 10 nT) at physiological temperatures, detected by the method of lucigenin-dependent chemiluminescence, is not accompanied by a violation of chemiluminescent response to respiratory burst activators: formylated peptide N-formyl-Met-Leu-Phe (fMLF) and phorbol ester of phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA). These results were obtained by activated chemiluminescence using lucigenin or luminol and various combinations of ROS production activators (PMA and/or fMLF). In contrast, the action of combined parallel constant (induction 60 μ T) and alternating (amplitude range 60-180 nT, frequency 49.5 Hz) magnetic fields (CMF) leads to a decrease in the chemiluminescent response to these activators. These data indicate different sources of ROS that respond to certain modes of CMF and hypomagnetic field in neutrophils. The conducted research and the previously obtained results enable to exclude the systems that control the respiratory burst in neutrophils from the main targets and acceptors that respond to short-term deprivation of the magnetic field.

Key words: *hypomagnetic field, neutrophils, reactive oxygen species, lucigenin, luminol, chemiluminescence.*