

ОЦЕНКА МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СТАТУСА ОРГАНИЗМА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО СЛОЖНОМОДУЛИРОВАННОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Ю. Е. Ананьева, О. В. Куканова, Е. С. Бахрах, О. М. Лабынцева

ФГУП «РФЯЦ-ВНИИЭФ», г. Саров Нижегородской обл.

Введение

Обширный экспериментальный материал свидетельствует о том, что под действием электромагнитных полей (ЭМП) низкой интенсивности происходят метаболические изменения в организме животных и человека, которые могут приводить к нарушению функции клеток [1].

Важнейшими компонентами в развитии метаболических нарушений являются: активация свободнорадикального окисления, структурно-функциональная дестабилизация клеточных мембран, повышение активности антиоксидантной системы, эндогенная интоксикация – накопление продуктов нормального или нарушенного обмена веществ (молекул средней массы) [2].

В ряде работ получено, что наиболее чувствительными к воздействию магнитного поля являются мембранные структуры клеток, в которых происходят изменения процессов свободнорадикального окисления [3–6]. По современным представлениям, свободнорадикальное окисление является одним из компонентов нормального течения метаболических процессов и играет существенную роль в регуляции мембранной проницаемости и в транспорте питательных и регуляторных веществ через клеточные мембраны [7].

Изменение интенсивности перекисидации, ее избыточность приводит к повреждению мембранных структур клеток и к накоплению продуктов распада липидов (альдегиды, диальдегиды), которые, в свою очередь, оказывают повреждающее действие на мембранные белки, что приводит к их деградации и образованию токсических фрагментов – молекул средней массы (МСМ). Маркером функционального состояния клеточной мембраны является сорбционная способность эритроцитов, поскольку повышение этого

показателя указывает на повреждение эритроцитарных мембран и является характерным признаком синдрома эндогенной интоксикации [8].

Результаты исследований, проводимых в НИО-48, выявили изменения процессов перекисного окисления липидов в сыворотке крови лабораторных животных после многократного воздействия сложномодулированного ЭМИ *in vivo*. Однако комплексной оценки метаболических изменений в организме лабораторных животных после многократного воздействия ЭМИ не проводилось.

Поэтому целью данной работы явилось исследование эффектов многократного действия низкоинтенсивного сложномодулированного электромагнитного излучения *in vivo* на метаболическое состояние организма лабораторных животных.

Материалы и методы исследования

Исследования были проведены на белых беспородных крысах-самцах. В силу длительности эксперимента, в начале экспериментальных работ масса тела животных составляла 180–220 г, в конце исследований – 320–420 г. Всего в эксперименте использовали 200 животных.

Животных подвергали действию сложномодулированного низкоинтенсивного ЭМИ частотой 1 ГГц и максимальной плотностью потока энергии 47 мкВт/см². В ходе эксперимента были проведены четыре серии воздействия, разделенные перерывами длительностью по 48 ч. Каждая серия воздействия состояла из двух последовательных циклов, разделенных 24-часовым перерывом. Схема реализации одной серии воздействия ЭМИ представлена в табл. 1.

Таблица 1

Схема проведения одной серии воздействия ЭМИ

Цикл 1					Перерыв между циклами	Цикл 2				
ЭМП	пауза	ЭМП	пауза	ЭМП		ЭМП	пауза	ЭМП	пауза	ЭМП
Время						Время				
мин					ч	мин				
10	10	10	10	10	24	10	10	10	10	10

Забой животных для подготовки проб проводили через 24 ч после окончания каждой серии воздействия для экспериментальных групп (или ложного воздействия – для контрольных групп), а также на 5-, 8-, 16-, 22- и 29-е сутки после окончания всех серий воздействия.

Для оценки уровня процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ) в сыворотке крови крыс использовали спектрофотометрический метод по определению малонового диальдегида (МДА) [9].

Исследование уровня молекул средней массы (МСМ) проводили спектрофотометрическим методом по методике Малаховой М. Я. [10]. Общее содержание молекул средней массы (МСМ) определяли по формуле (1)

$$\text{МСМ} = E_{250} + E_{254} + E_{260} \dots + E_{290} \text{ (опт. ед.)}. \quad (1)$$

Для выявления содержания продуктов нормального и нарушенного обмена веществ в плазме крови животных вычисляли фракции катаболического и анаболического пулов от общего количества МСМ по формулам (2) и (3) [10]

$$\text{катаболический пул} = E_{250} + E_{254}, \quad (2)$$

$$\text{анаболический пул} = E_{260} + E_{270} + E_{280} + E_{290}, \quad (3)$$

где E – оптическая плотность раствора при различных длинах волн (250, 254, 260...290 нм).

Сорбционную способность эритроцитов (ССЭ) оценивали по интенсивности сорбции мембраной эритроцита красителя метиленового синего, изменение количества которого в надосадочной жидкости регистрировали с помощью спектрофотометра при длине волн 630 нм [11] и вычисляли (в %) по формуле (4)

$$A = 100 - 100 \times C/V, \quad (4)$$

где A – количество поглощенного красителя, %; B – оптическая плотность исходного раствора красителя; C – оптическая плотность надосадочной жидкости.

Для каждого показателя проведен расчет основных статистических параметров: среднего значения, стандартного отклонения, дисперсии. Проверка статистической гипотезы о нормальности распределения проводилась с использованием критерия Шапиро – Уилка [12]. Оценку статистически значимых различий средних значений показателей двух независимых выборок при нормальном распределении и равных дисперсиях проводили с использованием t -критерия Стьюдента. Различия между сравниваемыми величинами считали статистически достоверными при уровне значимости $p \leq 0,5$.

Оценку эффективности каждой серии воздействия ЭМИ, а также в отсроченный период проводили по индексу эффекта, который вычисляли как отношение показателей опытной и контрольной групп. При этом контролем являлись результаты, полученные после мнимого действия ЭМИ.

Результаты и их обсуждение

Результаты оценки метаболического состояния лабораторных животных в ходе проведения серий воздействия ЭМИ и в восстановительный период представлены в табл. 2.

После 1-й серии воздействия ЭМИ не было выявлено изменений в активности процессов липопероксидации. Однако уже после 2-й серии применения ЭМИ было зафиксировано повышение образования вторичного продукта ПОЛ – малонового диальдегида на 18 %, а после 3-й серии воздействия уро-

Таблица 2

Биохимические показатели метаболического состояния лабораторных животных в ходе проведения серий воздействия ЭМИ и в восстановительный период

Показатели крови		Серии воздействия				Восстановительный период после воздействия, сут					
		1	2	3	4	5	8	16	22	29	
МДА	Кэф	0,96	1,18	1,20*	1,04	0,65***	1,22***	0,97	1,01	1,18*	
МСМ	общее количество МСМ	1,12***	0,97	1,08**	0,85***	1,82***	0,84***	–	0,96	0,97	
	катаболический пул	% от МСМ	46	47	49	48	64	49,5	–	49,5	50
	анаболический пул	% от МСМ	54	53	51	52	36	50,5	–	50,5	50
ССЭ	Кэф	0,96	1,04	0,93*	0,99	–	1,16*	0,87	0,83**	1,08	

Примечание: * – уровень значимости отличий по отношению к контролю ($p \leq 0,05$); ** – уровень значимости отличий по отношению к контролю ($p \leq 0,01$); *** – уровень значимости отличий по отношению к контролю ($p \leq 0,001$).

вень МДА повысился на 20 % ($p \leq 0,05$), что свидетельствовало о накоплении в организме крыс свободнорадикальных продуктов, что может приводить к нарушению проницаемости биомембран и сопровождаться клеточными и системными изменениями. После 4-й серии обработки ЭМИ содержание МДА в сыворотке крови животных снизилось до контрольного уровня (рис. 1).

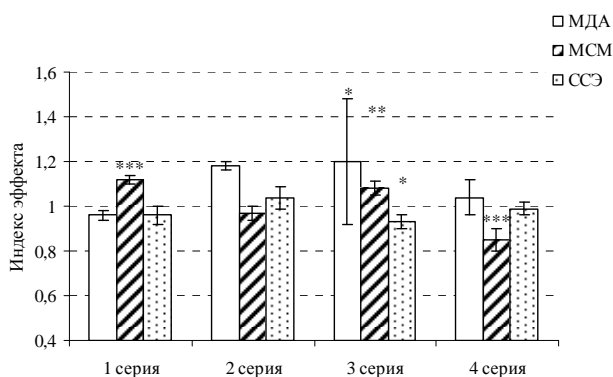


Рис. 1. Изменение показателей метаболического состояния лабораторных животных после каждой из четырех серий воздействия ЭМИ

При рассмотрении одного из показателей эндогенной интоксикации – уровня среднемолекулярных пептидов (МСМ) было получено, что его концентрация после 1-й и 3-й серий воздействия ЭМИ возросла по сравнению с контролем на 12 % ($p \leq 0,001$) и 8 % ($p \leq 0,01$) соответственно (см. табл. 1 и рис. 1). После последнего воздействия общее содержание МСМ в плазме крови уменьшилось на 15 % ($p \leq 0,001$) по сравнению с контрольными значениями, что говорит о начале адаптационных изменений в организме лабораторных животных в ответ на регулярное физическое воздействие.

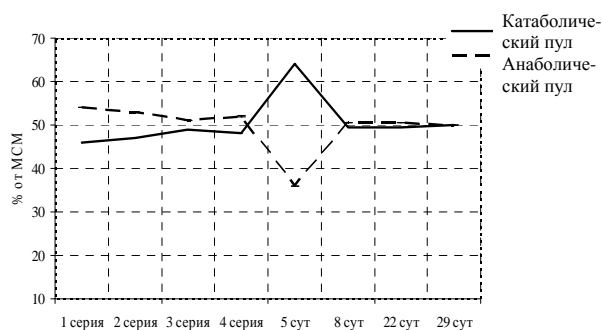


Рис. 2. Содержание продуктов нормального и нарушенного обмена веществ в плазме крови лабораторных животных после серий воздействия ЭМИ и в отсроченный период

Анализируя результаты эксперимента, выявили, что возрастание общего уровня МСМ в плазме крови после 1-й и 2-й серий воздействия ЭМИ происходило преимущественно за счет веществ анаболической фазы (табл. 1 и рис. 2). Фракция анаболического пула после первого цикла воздействия составила 54 %,

в то время как на катаболический пул пришлось только 46 % от общего количества МСМ. После 3-й и 4-й серий воздействия доли анаболической и катаболической фаз были примерно одинаковыми.

Показано, что ЭМИ значимо повлияло на функциональное состояние мембран эритроцитов лишь после 3-й серии воздействия: сорбционная емкость эритроцитов снизилась на 7 % ($p \leq 0,05$) относительно контрольного уровня, что свидетельствует о патологической загруженности клеточной поверхности и ее неспособности к эффективной транспортировке метаболитов по кровяному руслу [13].

Таким образом, уже после 1-й серии воздействия ЭМИ происходило увеличение содержания МСМ в плазме крови крыс, в основном за счет веществ анаболического пула, который включает в себя продукты белковых молекул, содержащих ароматические аминокислоты, пуриновые и пиримидиновые основания (табл. 1 и рис. 2) [14]. Эти продукты интоксикации по своему строению близки к регуляторным пептидам, следовательно, способны соединяться и блокировать рецепторы любой клетки, неадекватно влияя на ее метаболизм и функции. После 3-й серии воздействия ЭМИ выявлены наиболее значимые изменения метаболического состояния организма крыс, что выражалось в активации процессов перекисидации, нарушении выведения продуктов нормального распада белковых молекул (МСМ) из организма животных и снижении функционального состояния мембран эритроцитов. Однако уже после 4-й серии воздействия наблюдались уменьшение уровня МСМ в плазме крови животных и нормализация активности процессов ПОЛ и ССЭ, что свидетельствует о развитии приспособительных реакций в организме лабораторных животных в ответ на многократное воздействие ЭМИ.

Изменения показателей метаболического состояния лабораторных животных в отсроченный период после воздействия ЭМИ представлены на рис. 3.

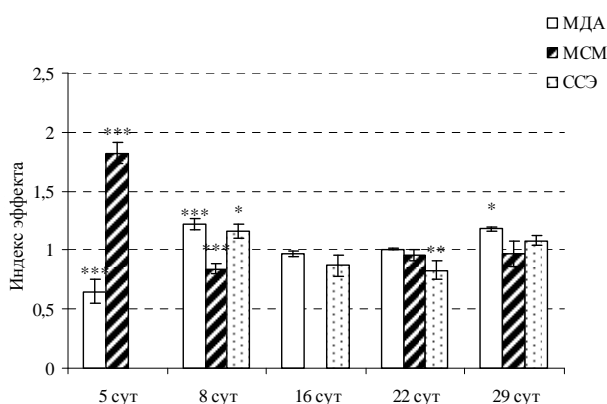


Рис. 3. Изменение показателей метаболического состояния лабораторных животных в восстановительный период после воздействия ЭМИ

Как следует из рис. 3, на 5-е сутки после окончания всех серий воздействия наблюдалось уменьшение исходного уровня МДА на 35 % ($p \leq 0,001$), в то время

как через 8 и 29 суток после воздействия исходный уровень МДА увеличился на 22 % ($p \leq 0,001$) и 18 % ($p \leq 0,05$), соответственно. Данные результаты свидетельствуют о возросшей активности процессов ПОЛ.

На 5-е сутки после окончания всех серий воздействия наблюдалось достоверное увеличение общего уровня МСМ в плазме крови животных на 82 % ($p \leq 0,001$), причем, преимущественно за счет веществ катаболической фазы, которая включает в себя такие продукты белковых молекул, как мочевины, креатинин, мочевины. На долю катаболической фазы пришлось 64 %, тогда как анаболическая фаза составила всего 36 % от общего уровня МСМ. Спустя 8 суток после окончания периода воздействия ЭМИ произошло падение общего уровня МСМ в плазме до значений на 16 % ($p \leq 0,001$) ниже контрольного уровня, а к 29-м суткам эти значения не отличались от контроля.

На 8-е сутки восстановительного периода выявлено достоверное увеличение сорбционной способности эритроцитов (ССЭ) на 16 % ($p \leq 0,05$), на 22-е сутки наблюдали достоверное снижение количества этого показателя на 17 % ($p \leq 0,01$), а на 29-е сутки показатели ССЭ не отличались от контрольных значений.

Таким образом, в восстановительный период после воздействия ЭМИ наблюдались колебания всех исследуемых показателей и постепенное возвращение их значений к контрольному уровню. Спустя 5 суток после воздействия был отмечен резкий подъем уровня МСМ в плазме крови животных, преимущественно за счет веществ катаболического пула. Поскольку в состав данного пула веществ входят мочевины и мочевины, которые могут оказывать антиоксидантное действие, увеличение концентрации данной фракции белковых молекул может служить компенсаторной реакцией на воздействие ЭМИ [15]. Наибольшие изменения метаболического состояния организма лабораторных животных в отсроченный период после воздействия ЭМИ произошли на 8-е сутки. С одной стороны, наблюдалась активация перекисного окисления липидов, однако уровень МСМ в плазме крови животных снизился, что вероятно связано с включением приспособительных реакций в организме крыс, направленных на выведение продуктов распада. Эти данные могут быть подтверждены результатами, полученными нами при оценке функционального состояния мембран эритроцитов, поскольку было выявлено увеличение показателя ССЭ спустя 8 суток после окончания всех серий воздействия. Возможно, выявленные изменения являются необходимой составной частью естественной детоксикации организма, при которой эндотоксины связываются с трансмембранным белком эритроцитов – гликофоринном и в таком виде транспортируются к органам детоксикации. Поэтому компенсаторное увеличение ССЭ в ответ на накопление в плазме крови эндотоксинов является нормальным физиологическим ответом и способствует детоксикации продуктами распада белковых молекул вследствие активации ПОЛ [16].

Выводы

1. Полученные результаты по оценке метаболического состояния организма свидетельствуют о кумулятивном эффекте воздействия низкоинтенсивного сложномодулированного ЭМИ: после 3-й серии воздействия выявлены выраженная активация процессов перекисидации, нарушение выведения продуктов нормального распада белковых молекул (МСМ) из организма животных и ухудшение функционального состояния мембран эритроцитов.

2. Длительное (четырёхсерийное) фракционированное воздействие ЭМИ вызывало включение адаптационных механизмов в организме лабораторных животных: наблюдались уменьшение показателей эндогенной интоксикации в плазме крови и нормализация показателя сорбционной способности мембран эритроцитов.

3. В восстановительный период, на 5-е сутки после воздействия ЭМИ выявлены колебания всех исследованных показателей: снижение уровня продуктов липопероксидации и увеличение общего содержания МСМ в плазме крови преимущественно за счет катаболической фракции веществ, которые обладают антиоксидантными свойствами.

4. К 8-м суткам восстановительного периода адаптационные реакции были направлены на выведение накопившихся продуктов распада. Увеличение сорбционной способности мембран эритроцитов обуславливает перераспределение токсической нагрузки между плазмой и эритроцитами крови и является необходимой составной частью естественной детоксикации организма.

Литература

1. Lacy–Hulbert A., Metcalfe J. C., Hesketh R. Biological responses to electromagnetic fields // *FASEB*. 1998. Vol. 12, N 6. P. 395–420.

2. Попова Т. П. Свободнорадикальные процессы в крови и структурно-функциональное состояние мембран эритроцитов при метаболическом синдроме: Автореф. дисс. на соискание ученой степени канд. мед. наук, 2009.

3. Рыбаков Ю. Л. Биологические предпосылки и возможные механизмы действия переменных магнитных полей // *Сб. материалов научно-практической конф. «Генератор электромагнитного поля»*. Саров, 1995. С. 20–22.

4. Кашкалда Д. А., Пашенко Е. А., Зюбанова Л. Ф. Влияние импульсного магнитного поля на процессы перекисного окисления липидов и антиоксидантную систему семенников экспериментальных животных // *Медицина труда и промышленная экология*. 1995, № 10. С. 14–17.

5. Перекисное окисление и стресс / Под ред. В. А. Барабой, И. И. Брехман, В. Г. Галотина. СПб.: Наука, 1992.

6. Прохорова В. И., Машевский А. А. и др. Способ оценки эффективности детоксикационной терапии, проводимой при многокомпонентном лечении онкологических больных, по лабораторным показателям крови. Беларусь, 2003.

7. Тингиналли Дж. Э., Кроума Рл., Руиза Э. Неотложная медицинская помощь. М.: Медицина, 2001.

8. Серебрякова Е. Н. Функциональные особенности эритроцитов у новорожденных с респираторным дистресс синдромом: Автореф. дисс. на соискание ученой степени канд. мед. наук. Челябинск, 2007.

9. Медицинские лабораторные технологии: Справочник / Под ред. А. И. Карпищенко. СПб.: Интермедика, 1999. Т. 2.

10. Крылов В. Н., Анисимов С. И., Капустина Н. Б., Корнаухов А. В. Влияние КВЧ-излучения на содержание веществ средней молекулярной массы и общего белка в плазме крови крыс при комбинированном радиационном поражении // Миллиметровые волны в биологии и медицине. Н. Н.: ННГУ им. Н. И. Лобачевского, 2002. № 4 (28). С. 55–59.

11. Гунина Л. М., Кабан А. П., Коробко В. Б. Роль изменений структурно-функционального состояния

мембраны эритроцита в развитии анемии у больных раком желудка // Онкология. 2000. Т. 2, № 4. С. 247–249.

12. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1999.

13. Добротина Н. А., Копытова Т. В., Щелкова Н. А. Характеристика функционального состояния мембран эритроцитов при эндогенной интоксикации у больных хроническими распространенными дерматозами // Фундаментальные исследования. Н. Н.: ННГУ им. Н. И. Лобачевского, 2010. № 2. С. 39–44.

14. Копытова Т. В. Механизмы эндогенной интоксикации и детоксикации организма в норме и при морфо-функциональных изменениях в коже: Автореф. дисс. на соискание ученой степени доктора биол. наук. Нижний Новгород, 2007.

15. Попова Т. П. Свободнорадикальные процессы в крови и структурно-функциональное состояние мембран эритроцитов при метаболическом синдроме: Автореф. дисс. на соискание ученой степени доктора биол. наук. Ростов-на-Дону, 2009.

16. Копытова Т. В. Молекулы средней массы как субстрат интоксикации при тяжелых дерматозах // Успехи современного естествознания. Н. Н.: ННГУ им. Н. И. Лобачевского, 2006. № 9. С. 7–10.