

ВЛИЯНИЕ ДЕЦИМЕТРОВОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА СОДЕРЖАНИЕ ВОССТАНОВЛЕННЫХ ТИОЛОВ В ПЕЧЕНИ КРЫС ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЛЕТАЛЬНОЙ ДОЗЫ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

© 2011 **Эминов А.У.**

Институт физиологии им. А. И. Караева НАН Азербайджана

Целью данного исследования явилось изучение влияния неионизирующего электромагнитного излучения (ЭМИ) дециметрового диапазона на содержание различных тиолов и восстановленного глутатиона в печени крыс на фоне воздействия рентгеновским излучением в летальной дозе. Показано, что облучение животных ЭМИ 460 МГц в течение 10 дней при плотности потока мощности 10 мкВт/см^2 приводит к частичному восстановлению содержания белковых тиолов и глутатиона в печени, значительное снижение уровня которых наблюдалось в результате предварительного облучения летальной дозой рентгеновского излучения. Эффект восстановления содержания тиолов дециметровыми ЭМИ с течением времени после облучения ослабляется. Полученные результаты обсуждаются в контексте усиления антиоксидантной защитной системы организма под воздействием неионизирующих ЭМИ низкой интенсивности.

The basic aim of the research was to study the effect of low-intensity decimeter non-ionizing electromagnetic radiation (EMR) on the content of SH-groups and reduced glutathione in a rat liver after exposure to a lethal dose of X-ray radiation (6.9 Gr). It has been showed that exposure of animals to 460 MHz EMR with 10 мкВт/см^2 power flux density in the course of 10 days results in partial restoration of protein thiol and glutathione content, considerable reduction of which was observed as a result of proirradiation with a lethal dose of X-rays. Effect of thiol content restoration by means of low-intensity decimeter non-ionizing EMR weakens within the course of time after irradiation. Obtained results are considered in the context of enhancement of the antioxidant protection system of the organism by low-intensity non-ionizing EMR.

Ключевые слова: электромагнитные излучения, рентгеновское излучение, тиолы, глутатион, печень, антиоксидантное действие.

Keywords: Electromagnetic waves, X-rays, Thiols, glutathione, liver, antioxidant effect.

Изучение влияния электромагнитных излучений на живые организмы находится в центре внимания исследователей уже давно. Достаточно длительное время основной упор в наблюдении эффектов и выяснении механизмов действия делался на ионизирующие излучения, такие как ультрафиолетовое, рентгеновское излучения, которые в силу высокой

энергии кванта могут взаимодействовать непосредственно с атомами и молекулами вещества, превращая их, в частности, в свободные радикалы. Последние несколько десятилетий охарактеризованы бурным ростом искусственных источников ЭМИ в радио- и микроволновом диапазонах, к которым относятся, в первую очередь, радиолокационные станции, средства

мобильной связи. И именно благодаря этому исследования влияния облучения живого организма неионизирующими ЭМИ получили широкое распространение.

Биологическое действие ионизирующего излучения проявляется в виде первоначальных физико-химических процессов, происходящих в клетках и субстратах, окружающих эти клетки. Происходящие в клетках под действием ионизирующего излучения физико-химические и биохимические изменения приводят к нарушению жизнедеятельности клетки. Среди них можно отметить повреждение всех органоидов клеток, мембран внутриклеточных структур – ядер, митохондрий, лизосом, эндоплазматического ретикулума, нарушение процесса окислительного фосфорилирования в мембранах митохондрий и т.д. [1, 5, 11. С. 700-705]. Причем свойство и степень радиационного повреждения прежде всего зависят от дозы облучения.

Неионизирующие ЭМИ различной частоты и интенсивности вызывают разнообразные биологические эффекты, включая активацию ряда онкогенов, угнетение иммунной системы, различные неврологические симптомы, нарушение функции гипоталамо-гипофизарной и репродуктивной систем и, наконец, увеличивают риск возникновения новообразований [19. С. 599-606]. Считается, что самыми чувствительными к воздействию неионизирующих ЭМИ являются эндокринная и центральная нервная системы [4. С. 26-32; 14. С. 187-191]. Механизмы биологического действия неионизирующих электромагнитных излучений на сегодня неизвестны, однако в литературе существуют различные гипотезы, среди которых одна из наиболее обсуждаемых – свободнорадикальный окислительный механизм действия микроволновых излучений [2. С. 186-191; 16. С. 161-168]. Для выявления эффекта свободнорадикального действия неионизирующих ЭМИ в различных исследованиях на молекулярно-

клеточном и надклеточном уровнях используют изменения процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ), который является составной частью клеточного метаболизма, и нарушения, происходящие в ее течении, могут привести к развитию различных патологических состояний.

Интенсивность свободнорадикальных процессов в клетке зависит от состояния антиоксидантной защитной системы. Регуляция уровня пероксидов и свободных радикалов в тканях обеспечивается разными ферментными системами и природными антиоксидантами. Наряду с ферментными антиоксидантами (к ним относятся супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, каталаза и др. [7. С. 281-284; 8. С. 18-22]), в защите организма от эндогенных и экзогенных окислителей важную роль играют тиолы – высокомолекулярные (белковые) и низкомолекулярные соединения с SH-группами, которые, легко подвергаясь окислению, предохраняют клеточные компоненты от окислительного повреждения. Тиолы являются незаменимыми метаболитами в мышечном сокращении, окислительном фосфорилировании, делении клеток, передаче нервных импульсов, поддержании уровня биологически активных веществ, активировании и транспортировке жирных кислот, обезвреживании чужеродных веществ и металлов, поступающих в организм выше допустимой дозы, и регулировании митотического аппарата клеток [17. Р. 763-772]. Глутатион – трипептид из аминокислот глицина, цистеина и глутаминовой кислоты – представляет собой очень важный антиоксидант, который встречается во всех тканях организма, в частности в печени в миллимолярных количествах.

Неионизирующие ЭМИ в зависимости от интенсивности оказывают разностороннее воздействие на уровень ПОЛ в организме. Опираясь на литературные данные и результаты наших исследований, можно предположить, что

ионизирующее рентгеновское излучение активизирует ПОЛ [13. С. 414-422]. Учитывая антиоксидантный характер воздействия низкоинтенсивного неионизирующего ЭМИ [3. С. 13-17; 12. С. 216-222; 15. С. 19], было бы целесообразным изучить влияние облучения организма микроволнами после воздействия на него рентгеновским излучением.

Цель данной работы – выявить эффект влияния дециметрового ЭМИ низкой интенсивности на содержание SH-групп (легкодоступных, расположенных на поверхности белков и скрытых в их структуре) и глутатиона в тканях печени после воздействия летальной дозы рентгеновского облучения (6,9 Гр).

Материалы и методы

Исследования проводились на белых беспородных крысах, содержащихся в обычных условиях вивария. Белые крысы весом 180 ± 20 гр были разделены на 4 группы: I группа – интактные животные; II группа – животные, подвергающиеся облучению летальной дозой рентгеновского излучения; III группа – животные, подвергающиеся облучению дециметровым ЭМИ 460 МГц; IV группа – животные, подвергающиеся облучению последовательно рентгеновским и дециметровым излучениями. Рентгеновское облучение проводилось на аппарате «РУМ-17» при следующих параметрах: напряжение – 180 кВ, сила тока – 15 мА, фильтры 0,5 мм Cu + 1,0 мм Al, фокусное расстояние 30 см, без тубуса, мощность дозы – 0,86 Гр/с. Общая доза облучения животных рентгеновским излучением составляла 6,9 Гр. Облучение животных ЭМИ 460 МГц проводилось на аппарате «Волна-2» при выходной мощности 20 Вт. Низкоинтенсивное облучение соответствовало плотности потока мощности 10 мкВт/см^2 в камере облучения, где на время эксперимента находились крысы. Облучение животных ЭМИ 460 МГц после рентгеновского облучения проводилось в течение 10 дней, по 20 минут в день. Показатели во всех группах определялись через 1 час, 3

и 6 дней после облучения. Экспериментальные животные подвергались декапитации под уретановым наркозом согласно принципам Международной Конвенции; суммарная доза наркоза соответствовала 008-0,1 гр гексенала на 1 кг веса животного.

Содержание различных типов сульфгидрильных групп в гомогенате (легкодоступных, находящихся на поверхности белков (ЛД-SH-группы) и структурно-замаскированных белковых SH-групп (СЗБ-SH-группы)) определяли по методике Ellman (1959) с некоторыми модификациями Sedlak J., Lindsey R.N. (1968) [18. С. 192-205].

О статистической значимости выявленных различий между группами судили по t-критерию Стьюдента [10]. Вычисления проводились при помощи статистических программ Microsoft Excel (Office-2003).

Результаты и их обсуждение

В результате проведенных исследований отмечена определенная динамика изменения содержания тиолов и глутатиона в тканях печени белых крыс при облучении рентгеновским излучением с летальной дозой (6,9Гр), облучением дециметровым ЭМИ низкой интенсивности и при последовательном воздействии обоих видов излучений. В таблице и на рисунках (1-3) показана динамика изменений в тканях печени белых крыс после облучения летальной дозой рентгеновского излучения (6,9 Гр), хронического облучения дециметровым ЭМИ низкой интенсивности и при последовательном воздействии обоих излучений.

Как видно из таблицы, содержание легкодоступных SH-групп печени через час после облучения животных летальной дозой рентгеновского излучения (II группа) снижено на 45% по сравнению с группой интактных животных, а через 3 и 6 дней после облучения – на 60%. Облучение дециметровым ЭМИ низкой интенсивности приводит к относительно небольшому снижению содержания ЛД-SH групп в печени по отношению к

интактным животным через час после облучения; через 3 дня после облучения ЭМИ снижение составляет 25%, а через 6 дней – 20% (рис. 1).

При последовательном воздействии летальной дозы рентгеновского

излучения и неионизирующего ЭМИ низкой интенсивности содержание ЛД-5Н групп через 1 час после облучения было близко к показателю группы интактных животных.

Таблица

Изменения содержания сульфгидрильных групп в печени белых крыс после воздействия летальной дозой рентгеновского излучения (6,9 Гр) и дециметрового электромагнитного излучения 460 МГц низкой интенсивности (нмоль/мг белка), $M \pm m$, $n = 10$, $p < 0,05$ (по сравнению с группой интактных животных)

Определенные показатели	Время определения показателей	Виды излучений			
		Интакт	Рентгеновское излучение	Электромагнитное излучение	Рентгеновское и электромагнитное излучения
Легкодоступные сульфгидрильные группы	1 час	34,67 ± 1,10	18,81 ± 0,66	29,68 ± 0,25	29,33 ± 0,26 ^{б,г}
	3 дня		13,92 ± 0,04	26,08 ± 0,35	22,13 ± 0,30 ^{б,в}
	6 дней		14,30 ± 0,03	27,79 ± 0,58	18,66 ± 0,06 ^{б,в}
Структурно-замаскированные белковые сульфгидрильные группы	1 час	22,71 ± 1,00	13,97 ± 0,38	17,84 ± 0,23	18,54 ± 0,22 ^{б,в}
	3 дня		10,21 ± 0,07	16,88 ± 0,21	20,59 ± 0,69 ^{а,б,в}
	6 дней		10,74 ± 0,04	18,65 ± 0,11	15,54 ± 0,05 ^{б,в}
Глутатион	1 час	12,44 ± 0,45	8,34 ± 0,26	10,67 ± 0,08	10,38 ± 0,08 ^{б,в}
	3 дня		6,29 ± 0,06	9,90 ± 0,11	9,97 ± 0,02 ^{б,г}
	6 дней		6,90 ± 0,04	10,75 ± 0,07	9,37 ± 0,10 ^{б,в}

Примечание: а – $p > 0,05$ по сравнению с группой интактных животных, б – $p < 0,05$ по сравнению с группой животных, подвергшихся облучению летальной дозой рентгеновского излучения, в – $p < 0,05$ по сравнению с группой животных, подвергшихся облучению дециметровым ЭМИ, г – $p > 0,05$ по сравнению с группой животных, подвергшихся облучению дециметровым ЭМИ

Однако по сравнению со II группой (летальная доза рентгена) этот показатель был выше на 55% (рис. 1). Между показателями III и IV групп достоверного отличия не наблюдалось. Через 3 дня после эксперимента содержание ЛД-SH групп стало ниже на 35% показателя интактных животных, оставаясь на 60% больше, чем показатель по II группе. Через 6 дней содержание ЛД-SH групп было меньше на 45% показателя интактных животных, больше на 30% II группы и меньше на 33% уровня этого показателя в III группе (рис. 1).

Как показано в таблице, через час после воздействия летальной дозы рентгеновского излучения содержание структурно-замаскированных белковых SH-групп резко снизилось на 40%, а через 3 и 6 дней на 55% по сравнению с показателями интактных животных. При воздействии неионизирующих ЭМИ низкой интенсивности через час содержание СЗБ-SH групп было на 20%, через 3 дня на 25%, а через 6 дня на 20% ниже показателя интактных животных.

При последовательном воздействии летальной дозы рентгеновского излучения и неионизирующих ЭМИ

низкой интенсивности через час содержание СЗБ-SH групп было ниже на 20% показателя интактных животных (рис. 2).

По сравнению со II группой (летальная доза рентгена) содержание СЗБ-SH групп оказалось больше на 33%, при сравнении с III группой (ЭМИ) показатели не имели достоверных различий. Через 3 дня содержание СЗБ-SH групп стало ближе к показателю интактных животных, при сравнении со II группой этот показатель был в два раза больше, а при сравнении с III группой – на 20% больше. На 6-й день эксперимента содержание СЗБ-SH групп было ниже на 30% показателя интактных животных, при сравнении со II группой – больше на 45% и приближался к показателям в III группе (рис. 2).

Как показано в таблице, через час после воздействия летальной дозы рентгеновского излучения содержание глутатиона (GSH) резко снизилось и стало на 35%, через 3 дня на 50%, а через 6 дней на 45% ниже показателя интактных животных. Через час после воздействия неионизирующего ЭМИ низкой интенсивности содержание GSH было близко к показателю интактных животных, к 3-му дню эксперимента –

ниже на 20% показателя интактных животных, а через 6 дней вновь

приближалось к показателю интактных животных.

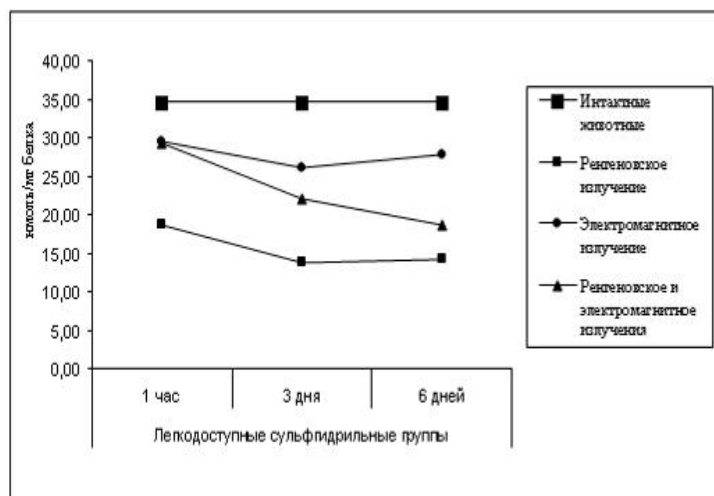


Рис. 1. Динамика изменения содержания легкодоступных сульфидрильных групп в печени белых крыс после воздействия летальной дозой рентгеновского излучения (6,9Гр) и дециметрового электромагнитного излучения 460 МГц низкой интенсивности

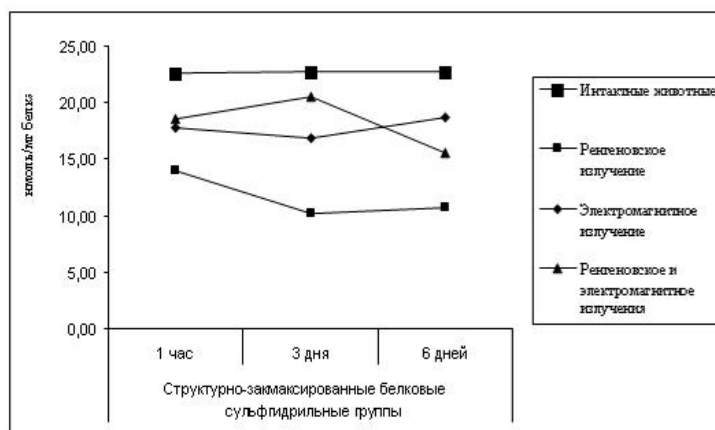


Рис. 2. Динамика изменения содержания структурно-замаскированных белковых сульфидрильных групп в печени белых крыс после воздействия летальной дозой рентгеновского излучения (6,9Гр) и дециметрового электромагнитного излучения 460 МГц низкой интенсивности

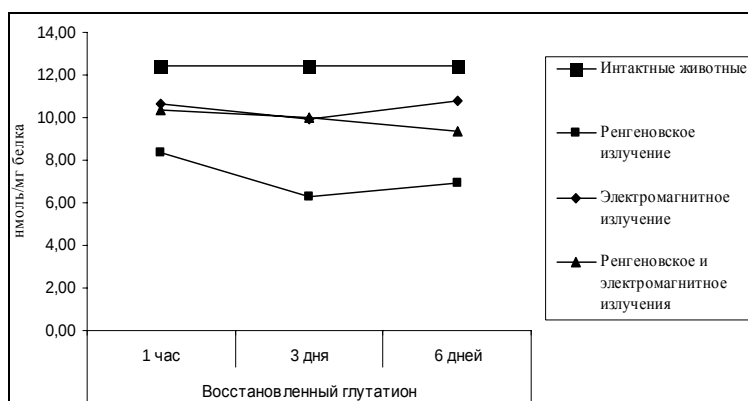


Рис. 3. Динамика изменения содержания восстановленного глутатиона в печени белых крыс после воздействия летальной дозы рентгеновского излучения (6,9Гр) и дециметрового электромагнитного излучения 460 МГц низкой интенсивности

При последовательном воздействии летальной дозы рентгеновского излучения и неионизирующего ЭМИ низкой интенсивности через час содержание GSH было больше на 25% показателя во II группе и достоверно не отличалось от показателя в III группе (рис. 3).

Через 3 дня содержание GSH стало ниже на 20% показателя интактных животных, больше на 60% показателя во II группе и было близко к показателю в III группе. На 6-й день эксперимента наблюдалось снижение в содержании GSH на 25% по сравнению с показателем интактных животных и в то же время при сравнении со II группой наблюдалось повышение этого показателя на 35%, что было близко к показателю в III группе (рис. 3).

Результаты проведенных исследований выявили, что воздействие рентгеновским излучением в летальной дозе приводит к явным изменениям в содержаниях ЛД-SH, СЗБ-SH групп и глутатиона в тканях печени белых крыс, что, в свою очередь, связано с усилением процесса ПОЛ [11. С. 700-705]. Известно, что SH-содержащие соединения в первую очередь подвергаются окислению под действием продуктов ПОЛ, образуя дисульфидные связи, и этим они предотвращают окисление других функциональных групп и молекул. Снижение уровня ЛД-SH групп можно объяснить окислением тиоловых групп продуктами ПОЛ, резко усиливающимися в результате облучения. SH-группы могут участвовать в образовании связей между ферментами, субстратами или кофакторами, то есть могут входить в состав участков связи апоферментов. Кроме того, SH-группы в некоторых случаях участвуют в стабилизации каталитически активной конформации белковой молекулы ферментов. Именно поэтому окисление SH-групп приводит к нарушению конформационной структуры ряда ферментов, что, в свою очередь, способствует торможению активности

этих ферментов. Снижение содержания ЛД-SH групп, в состав которых входят низкомолекулярные тиолы, выполняющие различные важные антиоксидантные функции, в свою очередь, приводят к снижению уровня СЗБ-SH групп. Очень вероятно, что это связано с потерей структуры белков в результате прооксидантного действия рентгеновских излучений и окислительной модификацией белковых молекул клеток под действием продуктов свободных радикалов ПОЛ.

Глутатион в организме встречается как в окисленной – GSSG, так и восстановленной формах – GSH. Это соединение, как и другие SH-содержащие белки, является ингибитором активных форм кислорода и стабилизатором мембран [6. С. 46-54; 7. С. 281-284]: как компонент, сохраняющий редокс-равновесие в клетках и тканях, в первую очередь, окисляясь, образует дисульфидные связи и тем самым выполняет антиоксидантную функцию, что предотвращает окисление других функциональных групп и молекул [13. С. 414-422]. Этим можно объяснить снижение содержания глутатиона в печени под воздействием летальной дозы рентгеновского облучения.

Таким образом, результаты данного экспериментального исследования свидетельствуют об изменениях в содержании различных тиоловых групп (в частности, поверхностно-расположенных и структурно-замаскированных белковых) и глутатиона в тканях печени белых крыс при воздействии рентгеновским излучением в летальной дозе (6,9Гр) и неионизирующим электромагнитным излучением низкой интенсивности дециметрового диапазона (частота 460 МГц) как в отдельности, так и в комбинации. Было выявлено, что содержание ЛД-SH групп, СЗБ-SH групп и GSH во всех случаях после облучения резко снижается и с течением времени это понижение усугубляется. Это свидетельствует о возможности, в

зависимости от времени, усиленного оксидантного воздействия на ткани печени рентгеновского излучения в летальной дозе.

Облучение животных ЭМИ низкой интенсивности приводит к нивелированию интенсификации процессов ПОЛ во всех тканях, что отражается и в антиоксидантной защитной системе. Так, было установлено, что микроволны низкой интенсивности приводят к повышению активности фермента глутатионредуктаза, играющего важную роль в антиоксидантной системе [12. С. 216-222; 15. С. 19]. Наши исследования выявили, что воздействие дециметровым ЭМИ низкой интенсивности способствует незначительным изменениям в содержании ЛД-SH, СЗБ-SH групп и глутатиона, а с увеличением срока воздействия уровень тиолов приближается к показателям интактного контроля. Таким образом, облучение неионизирующим ЭМИ низкой интенсивности способствует активизации защитной системы глутатиона и за счет этого играет важную роль в поддержании стационарного уровня эндогенных тиолов.

Из литературных данных известно, что неионизирующие ЭМИ низкой интенсивности, снижая процессы ПОЛ и активизируя антиоксидантную защитную систему в тканях печени, проявляют

антиоксидантное действие [1], что, по-видимому, и объясняет полученные нами результаты.

При последовательном воздействии летальной дозы рентгеновского излучения и дециметрового ЭМИ низкой интенсивности резко сниженные после воздействия рентгеновским излучением в летальной дозе содержания ЛД-SH групп, СЗБ-SH групп и GSH, после, при облучении с частотой 460 МГц, повышаются. Предварительное облучение животных ЭМИ низкой интенсивности, ингибируя свободнорадикальные процессы, способствует усилению антиоксидантной системы организма, что, в свою очередь, модифицирует изменения, происходящие в результате окислительного действия рентгеновского излучения. Предотвращение структурных изменений в клетках и тканях существенно повышает резистентность организма к действию лучевого поражения.

Таким образом, полученные экспериментальные данные свидетельствуют о способности неионизирующих ЭМИ низкой интенсивности предотвращать, в некоторой степени, вредные воздействия на организм ионизирующих излучений. Дальнейшее развитие подобного рода исследований может иметь большое значение в решении проблемы защиты организма от негативных последствий ионизирующих излучений.

Примечания

1. Адо А. Д. Патологическая физиология. М. : Медицина, 2000. 607 с.
2. Васильева Е. Г. Механизм влияния электромагнитных полей на живые организмы // Вестник АГТУ. 2008. № 3(44). С. 186-191.
3. Гаджиев А. М., Мусаев А. В., Исмаилова Л. Ф. Влияние микроволн дециметрового диапазона на тиоловую систему защиты в зрительных структурах // Физиотерапия, бальнеология, реабилитация. 2005. № 6. С. 13-17.
4. Григорьев О. А. Электромагнитные поля и здоровье человека. Состояние проблемы // Энергия: Экон., техн., экол. 1999. № 5. С. 26-32.
5. Зайко Н. Н., Быць Ю. В., Атаман А. В. Патологическая физиология. К. : Логос, 1996. 640 с.
6. Калинина Е. В., Чернов Н. Н., Алеид Р. Современные представления об антиоксидантной роли глутатиона и глутатионзависимых ферментов // Вестник РАМН. 2010. № 3. С. 46-54.
7. Луцкий М. А., Боготишев О. А., Фролов В. М. Активность эндогенной системы антиоксидантной защиты организма // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. 2010. Т. 9. № 2. С. 281-284.
8. Немцова Е. Р., Уткин М. М., Звягин А. А. Антиоксиданты в интенсивной терапии // Российский медицинский журнал. 2006. № 4. С. 18-22.
9. Павлов А. Н. Воздействие электромагнитных излучений на жизнедеятельность // Учебное пособие. М. : Гелиос АРВ, 2002. 224 с.
10. Урбах В. Ю. Вариационная статистика для биологов и медиков. М. : Изд-во АН СССР, 1962. 321 с.
11. Чиженова Р. А. Импульсные потоки популяций корковых нейронов при СВЧ-облучении: межспайковые интервалы // Радиационная биология. Радиоэкология. 2001. V. 41. № 6. С. 700-

705. **12.** Шабанова А. Б., Юсифов Э. Ю. Изучение активности глутатионредуктазы в тканях зрительной системы молодых и взрослых крыс, облучаемых дециметровыми микроволнами // Вопросы физиологии и биохимии / Сб. науч. тр. Института физиологии НАН Азерб. Баку, 2002. Т. 20. С. 216-222. **13.** Arrigo A. P., Viot S., Chaufour S., Firdaus W., Kretz-Remy C., Diaz-Latoud C. // Antioxid. Redox Signaling. 2005. V. 7. P. 414-422. **14.** Barquinero J., Barrios L., Cabbalin M. et al. Occupational exposure to radiation induces an adaptive response in human lymphocytes // In. J. Radiat. Biol. 1995. V. 65. № 2. P. 187-191. **15.** Ismailova L., Shabanova A., Yusifov E., Hajiyev A. Adaptive changes of redox status in rat brain tissues due to decimeter microwave irradiation // Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 2004. № 3. P. 19. **16.** Kula B., Sovczak A., Kuska R. A study of the effects of static magnetic fields on lipid peroxidation products in subcellular fibroblast fractions // Electromagnetic Biol. and Med. 2002. V. 21. № 2. P. 161-168. **17.** Moran L., Gutteridge J., Quinlan G. Thiols in cellular redox signaling and control // Curr. Med. Chem. 2001. V. 8. № 7. P. 763-772. **18.** Sedlak J., Lindsey R. Estimation of Total, Protein-Bound and Nonprotein Sulfhydryl Groups in Tissue with Ellman's Reagent // Analit. Biochem. 1968. V. 25. P. 192-205. **19.** Sqtranova V. G., Gabdoulkhakova A. G., Santalov B. F. Immunomodulating action of low intensity millimeter waves on primed neutrophils // Bioelectromagnetics. 2002. V. 23. P. 599-606.

Статья поступила в редакцию 25.09.2011 г.