

ВЛИЯНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ДЕЦИМЕТРОВОГО ДИАПАЗОНА НА АКТИВНОСТЬ ЦЕРУЛОПЛАЗМИНА И НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У КРЫС

Аббасова М.Т.

Институт физиологии им. академика Абдуллы Караева НАН Азербайджана
ул. Шарифзаде, 78, г. Баку, AZ1100, Азербайджан; e-mail: biokimya_65@mail.ru
Поступила в редакцию: 15.07.2021

Аннотация. Электромагнитное излучение относится к экзогенным физическим факторам среды воздействия, которое может вызывать значительные изменения в организме человека как позитивного, так и негативного характера. Целью наших экспериментальных исследований было изучение влияния неионизирующим электромагнитным излучением дециметрового диапазона на уровень активности церулоплазмينا в крови. В задачу работы входило изучение содержания церулоплазмينا, сывороточного железа и малонового диальдегида. Результаты исследования показали, что достоверные различия концентрации церулоплазмينا по сравнению с показателями контрольной группы выявлены у облученных в течение 1 и 4 недель. По сравнению с контрольной группой у животных, облученных в течение 1 недели, концентрация церулоплазмينا была больше на 67,2% ($p < 0,01$), чем у животных облученных в течение 4 недель – на 28,7% ($p < 0,05$). При этом концентрация церулоплазмينا было значительно ниже при облучении в течение 4 недель, чем у 1 недельной группы. Сывороточное железо у опытных животных увеличивается на 46,8 % ($p < 0,05$) и 28,3 % по сравнению с контрольной группой ($23,3 \pm 0,8$ мкмоль/л) только после 1 и 3 недельного облучения ($34,2 \pm 5,3$ и $29,9 \pm 2,7$ мкмоль/л). В целом количество железа увеличивается относительно контроля. Однако на 2–4 неделях значительного увеличения не наблюдается. Содержание малонового диальдегида в крови у облученных крыс было повышено по сравнению с контрольными животными. Это повышение было наиболее выражено после 3–4 недельного облучения. В последующие сроки облучения концентрация малонового диальдегида была в среднем на 18% выше контрольных значений. Таким образом, в условиях интенсивной генерации свободных радикалов предварительное введение церулоплазмينا недостаточно эффективно. Более того, существует опасность, что церулоплазмин, как металл-связывающий белок, при окислительном стрессе, снижении pH крови и окислительной деструкции может быть источником активных форм металлов переменной валентности, провоцирующих свободнорадикальное окисление.

Ключевые слова: электромагнитное излучение, церулоплазмин, сывороточное железо, кровь, малондеальдегид,

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день электромагнитное загрязнение окружающей среды представляется одним из наименее изученных факторов. Известно, что электромагнитное излучение способно ускорять свободнорадикальное перекисное окисление липидов [1]. Это было показано нами в предыдущих исследованиях [2]. Свободные радикалы обладают высоким окислительным потенциалом и вызывают повреждения биологических макромолекул (нуклеиновые кислоты, белки т.д.). В литературе также показано что, воздействие электромагнитного излучения уменьшает содержание в сыворотке крови таких элементов, как магний, железо и медь [3]. Но защиту клеток от повреждающего действия свободных радикалов обеспечивают антиоксидантные системы и некоторые существующие в природе железосодержащие соединения, такие как трансферин, ферритин, лактоферрин, церулоплазмин и др. Исследование регуляции этих плазматических белков является чрезвычайно важным для понимания работы в целом защитной системы против свободных радикалов и перекисидации жиров. Из них церулоплазмин (ЦП) играет важную роль в метаболизме меди и железа, а также в механизмах прооксидантных/антиоксидантных реакций. Основная физиологическая роль церулоплазмينا - участие в окислительно-восстановительных реакциях. В этих реакциях церулоплазмин может действовать как прооксидант, выступая катализатором окисления липопротеидов низкой плотности в присутствии супероксид радикала.

Церулоплазмин обладает также антиоксидантными свойствами, поскольку способен разрушать супероксидные радикалы кислорода, предотвращая таким образом, активацию перекисного окисления липидов (ПОЛ). Церулоплазмин активно участвует в защите от свободных радикалов, которые могут генерироваться в присутствии ионов железа (от участия Fe^{2+} в реакции Фентона). Нарушение функции церулоплазмينا необходимо при выявлении различных патологий и действии неблагоприятных факторов среды, как для диагностических целей, так и определения областей применения его как препарата. При нейродегенеративных заболеваниях (болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера, ацерулоплазминемия) была обнаружена связь между снижением концентрации церулоплазмينا в сыворотке и накоплением ионов Fe^{2+} в органах. В результате увеличения накопления Fe^{2+} происходит повреждение клеток свободными радикалами и их апоптоз (смерть).

Таким образом, основные функции церулоплазмينا в организме человека: повышение стабильности клеточных мембран; участие в иммунологических реакциях (в формировании защитных сил организма), ионном обмене; оказание антиоксидантного (препятствующего окислению липидов клеточных мембран) действия; стимулирование гемопоэза (крововетворения). Целью наших экспериментальных исследований было изучение влияния неионизирующим электромагнитным излучением дециметрового диапазона на уровень активности церулоплазмينا в крови. В связи с этим в данное исследованое входило изучение содержания церулоплазмينا (ЦП), малонового диальдегида (МДА) и сывороточного железа в крови.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведено на крысах линии Вистар массой 250-300 г, содержащихся в обычных условиях вивария. Животные были разделены на экспериментальную и контрольную группы. Экспериментальная группа животных облучалась ЭМИ 460 МГц на аппарате «Волна-2» (Россия) в металлической цилиндрической камере с диаметром и высотой 15 см. Облучение проводилось ежедневно в течение 20 мин до 4 недель при плотности прямого потока мощности 10 мкВт/см² (соответствует выходной мощности 20 Вт). Сывороточное железо (СЖ) определяли с помощью набора реагентов IRON Liquicolor фирмы «Human» (Германия). В соответствии с инструкцией к набору концентрация железа при определении СЖ измерялась непосредственно в сыворотке. Содержание малонового диальдегида (МДА) исследовали по методу Л.И.Андреевой и соавтр. [4] Содержание церулоплазмينا определяли по методу Ревина Принцип метода основан на окислении р-фенилендиамина при участии церулоплазмينا [5].

Опыты на животных проводились в соответствии с этическими нормами, изложенными в Женевской конвенции «International Guiding principles for Biomedical Research Involving Animals» (Geneva, 1990 г.), протокол эксперимента был одобрен местным комитетом по этике экспериментов на животных (28.11.2012, протокол №18).

Нормальность распределения выборок проверялась с помощью теста Шапиро-Уилка, уровень достоверности различий показателей в экспериментальной и контрольной группах оценивался по t-критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Церулоплазмин является одним из основных антиоксидантов крови. Он обеспечивает защиту липопротеидов плазмы и липидов клеточных мембран от перекисидации и воздействия гидроксильных радикалов.

Результаты исследований, показатели - церулоплазмينا, железа и перекисного окисления липидов в крови у крыс в экспериментальной и контрольной группах, приведены в таблице. Достоверные различия концентрация церулоплазмينا по сравнению с показателями контрольной группы (332,2 ± 56,7 мг/л) обнаружены в облученных в течение 1 и 4 недель (555,4 ± 96,0 и 427,6 ± 46,4 мг/л соответственно). По сравнению с контрольной группой у животных, облученных в течении 1 недели, концентрация ЦП была больше на 67,2% (p<0,01), у животных облученных в течение 4 недель – на 28,7% (p<0,05), при этом концентрация ЦП было значительно ниже при облучении в течение 4 недель, чем 1 недели. Сывороточное железо у животных экспериментальной группе увеличивается на 46,8 % (p<0,05) и 28,3 % по сравнению с контрольной группой (23,3 ± 0,8 мкмоль/л) только после 1 и 3 недельного облучения (34,2 ± 5,3 и 29,9 ± 2,7 мкмоль/л). В целом количество железа увеличивается относительно контроля. Однако на 2–4 неделях значительного увеличения не наблюдается.

Основная физиологическая роль церулоплазмينا определяется его участием в окислительно-восстановительных реакциях. Действуя как ферроксидаса, церулоплазмин выполняет важнейшую роль в регуляции ионного состояния железа – окисление Fe^{2+} в Fe^{3+} . Это делает возможным включение железа в трансферрин без образования токсических продуктов железа. Поддержание нормального транспорта и метаболизма железа – жизненная функция церулоплазмينا.

Компенсаторное увеличение активности церулоплазмينا в первую неделю облучения, сменяется на спад активности, вызванный окислительным повреждением металлофермента под влиянием ЭМИ на организм, что

Таблица 1. Влияние электромагнитный излучение дециметровым диапазоне на содержание церулоплазмينا, сывороточного железа и малондеалдегида. (M ± п)

Показатели	Контрольная группа	Экспериментальная группа			
		1 нед. облучения	2 нед. облучения	3 нед. облучения	4 нед. облучения
Церулоплазмин мг/л	332,2± 56,7	555,4 ± 96,0	202,1 ± 16,0	289,7 ± 15,3	427,6 ± 14,6
Сывороточное железо мкмоль/л	23,3± 0,82	34,2 ± 5,3	24,5 ± 0,98	29,9 ± 2,7	24,8 ± 1,5
МДА мкмоль/л	7,95± 1,02	7,8± 0,83	7,2± 1,2	9,1± 1,1	9,4± 1,7

может быть следствием изменения отношения активных и неактивных форм церулоплазмина. С другой стороны, пониженный уровень церулоплазмина или присутствие его неактивной формы связано со сниженной ферментативной и антиоксидантной активностью. Его пониженная активность как ферроксидазы ограничивает связывание железа трансферрином. Здесь стоит упомянуть, что трансферрин обладает только способностью связывать ионы Fe^{3+} .

Ryszard Krzyminiwski et al. [6] показали, что у пациентов с раком молочной железы получавших лучевую терапию, наблюдалось уменьшение количества ионов Cu^{2+} в церулоплазмине после облучения, что приводило к снижению функции белка. Этот эффект может свидетельствовать о чрезмерном напряжении организма и постепенном истощении его защитных возможностей. С другой стороны, он также может отражать реакцию организма на терапию, направленную на устранение опухоли.

Снижение содержания церулоплазмина в сыворотке крови является, возможно ответной реакцией на уменьшение уровня свободнорадикального окисления при адаптации организма к электромагнитному излучению.

Имея ввиду, существенную роль ионов железа в образовании активных форм кислорода и возникновении окислительного стресса в клетках с их участием, мы параллельно исследовали содержание продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в крови у облученных крыс в тех же условиях и сроках. Как показано в таблице, содержание малонового диальдегида в крови у облученных крыс было повышено по сравнению с контрольными животными. Это повышение было наиболее выражено после 3-4 недели облучения. В последующие сроки облучения концентрация малонового диальдегида была в среднем на 18% выше контрольных значений.

Повышенный уровень ПОЛ (малоновый диальдегид) в крови у крыс, облученных ЭМИ дециметрового диапазона, свидетельствует об окислительном действии данного вида неионизирующего излучения. С другой, стороны повышение концентраций продуктов перекисного окисления липидов может быть обусловлено как усилением окислительной дегградации мембран эритроцитов, так и поступлением этих продуктов из других органов с повышенной скоростью образования активных форм кислорода при участии ионов железа.

Н.И.Рябченко и др. [7] показали, что повышение содержания перекисных окислительных эквивалентов и концентрации ионов железа в сыворотке крови облученных крыс создают условия для протекания реакции Фентона, приводящей к повышению концентрации гидроксильного радикала, способного к индуцированию дополнительных повреждений ядерных и мембранных структур облученных клеток.

І.Уакуменко и соавт. [8] приводят многочисленные данные *in vitro* и *in vivo* экспериментов о том, что низкоинтенсивное излучение радиочастотного диапазона, в частности в диапазоне частот, генерируемых мобильными телефонами, вызывает окислительный стресс в различных органах и тканях, в том числе в крови. Увеличение содержания сывороточного железа может быть результатом гемолиза эритроцитов вследствие окислительного стресса, вызванного облучением. М.Lewicka et al [9] показали в работе повышение содержания малонового диальдегида и активности каталазы в плазме и форменных элементах крови под действием излучения мобильного телефона и физиотерапевтического аппарата.

Таким образом, в условиях интенсивной генерации свободных радикалов предварительное введение церулоплазмина не достаточно эффективно. Боле того, существует опасность, что церулоплазмин, как металлсвязывающий белок, при окислительном стрессе, снижении рН крови и окислительной деструкции может быть источником активных форм металлов переменной валентности, провоцирующих свободнорадикальное окисление.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Получены экспериментальные данные, подтверждают способность неионизирующего электромагнитного излучения дециметрового диапазона к окислительному действию на организм в условиях тотального хронического облучения. По изменению содержания церулоплазмина и других параметров (сывороточный железа и МДА) в сыворотке крови можно судить о степени воздействия неионизирующего ЭМИ на организм, а также функциональное состояние системы гомеостаза железа.

Список литературы / References:

1. Александрова Э.Б. Динамика антиоксидантной системы организма под действием сверхвысокочастотного излучения. *Вестник Челябинского государственного университета*, 2014, № 13, с. 324. [Aleksandrova E.B. Dinamika antioksidantnoi sistemi organizma pod deistviem sverhvisokochastotnogo izlucheniya. *Vestnik Chelyabinskogo gosudarstvennogo universiteta*, 2014, no. 13, p. 324. (In Russ.)]
2. Abbasova M.T., Gadzhiev A.M. Study of changes of protein carbonyl content and lipid peroxidation product in blood of rats exposed to desimeter electromagnetic radiation (460 MHz). *Journal of Medical and Biological sciences*, USA, 2014, vol. 1, pp. 89-92.
3. Burchard J.F., Nguyen D.H., Black E. Macro- and utrace element concentrations blood plazma and cerebrosplinal fluid of dairy cows exposed to electric and agnetic fields. *Bioelectromagnetics*, 1999, vol. 20, pp. 358-364.
4. Андреева Л.И., Кожемякин Л.А., Кишкун А.Л. Модификации метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой. *Лабораторное дело*, 1988, no. 11, pp. 41-44. [Andreeva L.I., Kojemyakin L.A.,

Kishkun A.L. Modifikacii metoda opredeleniya perekisei lipidov v teste s tiobarbiturovoi kislotoi. *Laboratornoe delo*, 1988, no. 11, pp. 41-44. (In Russ.)]

5. Камышников В. *Методы клинических лабораторных исследований*. Минск, 2016, с. 716. [Kamishnikov V. *Metodi klinicheskikh laboratornih issledovaniy*. Minsk, 2016, p. 716. (In Russ.)]

6. Krzyminiowski R., Dobosz B., Kubiak T. The influence of radiotherapy on ceruloplasmin and transferrin in whole blood of breast cancer patients. *Radiat Environ Biophys*, 2017, vol. 56, pp.345-352.

7. Рябченко Н.И., Иванник Б.П., Рябченко В.И., Дзиковская Л.А. Влияние ионизирующего излучения, введения ионов железа и их хелатных комплексов на оксидантный статус сыворотки крови крыс. *Радиационная биология. Радиоэкология*, 2011, vol. 51, no. 2, pp. 229-232. [Ryabchenko N.I., Ivannik B.P., Ryabchenko V.I., Dzikovskaya L.A. Vliyanie ioniziruyushchego izlucheniya_ vvedeniya ionov jeleza i ih helatnih kompleksov na oksidantnii status sivorotki krovi kris. *Radiacionnaya biologiya. Radioekologiya*, 2011, vol. 51, no. 2, pp. 229-32. (In Russ.)]

8. Yakymenko I., Tsybulin O., Sidorik E., Henshel D., Kyrylenko O., Kyrylenko S. Oxidative mechanisms of biological activity of low-intensity radiofrequency radiation. *Electromagn. Biol. Med.*, 2016, vol. 35, no. 2, pp. 186-202.

9. Lewicka M., Henrykowska G., Pacholski K., Szczęsny A, Dziedziczak-Buczynska M., Buczyński A. The Impact of Electromagnetic Radiation of Different Parameters on Platelet Oxygen Metabolism – In Vitro Studies. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 2015, vol. 24, pp. 31-35.

EFFECT OF LOW-INTENSITY ELECTROMAGNETIC RADIATION OF THE DECIMETER RANGE ON THE ACTIVITY OF CERULOPLASMIN AND LIPID PEROXIDATION IN BLOOD SERUM IN RATS

Abbasova M.T.

Institute of Physiology named after academician Abdulla Karaev of the National Academy of Sciences of Azerbaijan

Baku, Azerbaijan; e-mail: biokimya_65@mail.ru

Abstract. Electromagnetic radiation refers to exogenous physical factors of the impact environment, which can cause significant changes in the human body, both positive and negative. The aim of our experimental studies was to investigate the effect of non-ionizing electromagnetic radiation of the decimeter range on the level of ceruloplasmin activity in the blood. The tasks of the work were to identify the content of ceruloplasmin, serum iron and malondialdehyde. The results of the study showed significant differences in the concentration of ceruloplasmin in comparison with the indicators of the control group were found in those irradiated for 1 and 4 weeks. Compared with the control group, in animals irradiated for 1 week, the concentration of ceruloplasmin was higher by 67.2% ($p < 0.01$), in animals irradiated for 4 weeks, by 28.7% ($p < 0.05$). At the same time, the concentration of ceruloplasmin was significantly lower after irradiation for 4 weeks than in the 1-week group. Serum iron in experimental animals increases by 46.8% ($p < 0.05$) and 28.3% compared to the control group (23.3 ± 0.8 mkmol / l) only after 1 and 3 weeks of irradiation (34.2 ± 5.3 and 29.9 ± 2.7 mkmol / l). In general, the amount of iron increases relative to control. However, no significant increase is observed at 2–4 weeks. The content of malondialdehyde in the blood of the irradiated rats was increased in comparison with the control animals. This increase was most pronounced after 3-4 weeks of exposure. In the subsequent periods of irradiation, the concentration of malondialdehyde was, on average, 18% higher than the control values. Thus, under conditions of intensive generation of free radicals, the preliminary introduction of ceruloplasmin is not effective enough. Moreover, there is a danger that ceruloplasmin, as a metal-binding protein, under oxidative stress, a decrease in blood pH and oxidative destruction can be a source of active forms of variable valence metals that provoke free radical oxidation.

Key words: electromagnetic radiation, ceruloplasmin, serum iron, blood, malondealdehyde.