

Влияние ПемП со сложным спектром на процессы перекисного окисления и антиоксидантную систему в разных тканях у белых крыс

¹Кучина Н.Б., ²Мартынюк В.С.

¹Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского (зав. каф. – д.б.н., проф. Коношенко С.В.)

²Крымский научный центр Национальной академии наук Украины (председатель Совета – д.г.н., проф. Багров Н.В.)

Проведена сравнительная оценка влияния низкочастотного магнитного поля со сложным спектром в диапазоне крайне низких частот, которое по своим частотно-амплитудным характеристикам близко к магнитным полям, генерируемых электротранспортом, а влияния также стресса, вызванного ограничением подвижности животных, на процессы перекисного окисления в разных тканях организма животных. Установлено, что воздействие магнитным полем не оказывает существенного влияния на содержание вторичных продуктов перекисного окисления в крови и печени животных. Гипокинетический стресс сопровождается достоверным повышением содержания продуктов перекисного окисления в исследуемых тканях. Одновременно с этим при комбинированном действии гипокинезии и переменного магнитного поля достоверное повышение содержания вторичных продуктов радикального окисления не обнаружено, что указывает на стресс-модифицирующее действие электромагнитных полей. Тиол-дисульфидный обмен, в особенности его небелковое звено, является более чувствительным к действию низкочастотного магнитного поля. Характер выявленных метаболических изменений, вызванных действием переменного магнитного поля, зависит от индивидуально-типологических особенностей животных, что указывает на ведущую роль системных механизмов регуляции в ответе организма животных на действие магнитных полей.

Вплив ЗМП зі складним спектром на процеси перекісного окислення і антиоксидантну систему у різних тканинах білих щурів

Кучіна Н.Б., Мартинюк В.С.

Проведено порівняльну оцінку впливу низькочастотного магнітного поля із складним спектром у діапазоні частот, який за своїми частотно-амплітудними характеристиками близький до магнітних полів, які генеруються електротранспортом, а також вплив гіпокінетичного стресу на процеси перекісного окислення у різних тканинах організму тварин. Встановлено, що дія магнітного поля зі складним спектром суттєво не впливає на вміст вторинних продуктів перекісного окислення в крові та печінці тварин. Гіпокінетичний стрес супроводжується достовірним підвищенням вмісту продуктів окислення у досліджених тканинах. Водночас з цим при комбінованій дії гіпокінезії та магнітного поля достовірно підвищення вмісту вторинних продуктів вільнорадикального окислення не встановлено, що вказує на стрес-модулюючу дію змінного магнітного поля. Тіол-дісульфідний обмін, особливо його небілковий ланцюг, є більш чутливим до дії магнітного поля. Характер встановлених метаболічних змін, які обумовлені дією магнітного поля, залежить від індивідуально-типологічних особливостей тварин, що вказують на значну роль системних механізмів регуляції у відповіді організму тварин на вплив низькочастотних магнітних полів.

Influence of low frequency magnetic fields with complex spectra on free radical oxidation and antioxidant system in different tissue in white rats

Kuchina N.B., Martynyuk V.S.

The comparative estimation of influence of extremely low frequency magnetic fields with complex spectra that have a similar frequency-amplitude parameters to magnetic fields, generated by electro-transport devices? And also influence of hypokinetic stress on free radical oxidation in different tissues in animals. It was revealed that complex spectra magnetic field not influenced the level of free radical oxidation products in blood and liver. Hypokinetic stress statistically significant increased the free radical oxidation products in tissues. At the same time the mutual hypokinetic and magnetic influence not influenced the level free radical oxidation products. This fact evidenced on stress-modified influence of magnetic influence. Thiols, mostly non-protein thiols, were more sensitive to magnetic influence. The metabolic changes, caused by magnetic impact, depend on constitutional features of animals that evidence on important role of system regulator mechanisms for response to magnetic field influence.

Как известно, что в реализации ответа организма человека и животных на внешние воздействия разной природы большое значение имеет состояние антиоксидантной системы и процессов перекисного окисления липидов различных тканях [1]. Исследование указанных процессов также позволяет судить о степени повреждающего действия факторов и развитии патологии как на уровне клетки, так и на уровне целого организма [1,2]. В настоящее время фоновый уровень электромагнитных полей техногенного происхождения неуклонно возрастает, что вынуждает рассматривать их в качестве одного из экологически важных факторов.

В связи с этим целью настоящего исследования явилось сравнительная оценка влияния низкочастотного магнитного поля со сложным спектром в диапазоне крайне низких частот, которое по своим частотно-амплитудным характеристикам близко к магнитным полям, генерируемых электротранспортом, а влияния также стресса, вызванного ограничением подвижности животных, на процессы перекисного окисления в разных тканях организма животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальная часть данной работы проведена на кафедре биохимии и физиологии человека и животных Таврического Национального университета им. В.И. Вернадского. Объектом исследования служили белые беспородные крысы самцы массой 180-205 грамм половозрелых одного возраста (4-6 месяцев). Материалом исследований служили кровь и печень.

Индивидуальные особенности устанавливали по поведению животных в тесте «открытого поля» [3]. Тест «открытого поля» позволяет оценивать целостную физиологическую реакцию животных на новую обстановку, которая является своеобразным стрессирующим фактором. В зависимости от индивидуально-типологических особенностей ЦНС, поведенческая реакция и эмоциональное состояние животных проявляется по-разному.

На основании данных двигательной активности животных в „открытом поле” составлялись следующие группы: животные с низкой (НДА), средней и высокой двигательной активностью (СДА) и (ВДА), При этом выделенные группы животных характеризовались близким уровнем груминга и дефекации, различие между которыми носили недостоверный характер. В состав каждой экспериментальной группы вошло одинаковое количество животных с разными индивидуально-типологическими особенностями.

Стресс-реакцию (гипокинетический стресс) моделировали посредством ограничения подвижности животных.

В настоящем исследовании магнитное поле создавали тремя парами колеи

Гельмгольца, располагавшимися по трем взаимно-перпендикулярным осям x, y, z. Такая система позволяет создать ПеМП с комплексными пространственными характеристиками, т.е. когда вектор напряженности ПеМП изменяется не вдоль одной оси, а может изменять свое положение в трехмерном пространстве. Это обеспечивает воспроизведение не только частотных характеристик магнитного поля, но и вращение вектора поляризации в любом заданном режиме. Магнитно-полевой паттерн, используемый в эксперименте, имел амплитудно-частотные и поляризационные характеристики, определяемые для магнитно-полевых вариаций в электролокомотивах. Магнитно-полевой сигнал создавали системой компьютерного моделирования. Цифровое представление сигнала в компьютере подавалось на цифро-аналоговый преобразователь, сигнал с которого подавался на усилитель. К выходу каждого сигнала подсоединялась пара колец Гельмгольца. Контроль индукции ПеМП осуществляли магнитометром MVC-2. Такая система для моделирования низкочастотных магнитных полей является уникальной.

Активность процессов перекисного окисления липидов оценивали по реакции конечных продуктов окисления (ТБК-активных продуктов) с 2-тиобарбитуровой кислотой. За основу был взят метод предложенных [4], в модификации [5].

В основе определения суммарных тиоловых групп использована реакция тиоловых групп с реактивом Элмана (5,5 – дитиобис (2-нитробензойная) кислота ДТНБ) [6]. Использовали модификацию метода, предложенную в [5]. Для количественного определения небелковых тиоловых групп в ткани печени проводили осаждение белковой компоненты гомогената 3% -ной сульфосалициловой кислотой в объемном соотношении гомогенат: раствор кислоты – 1:1, после чего проводили определение тиоловых групп согласно [5]. Содержание белковых тиоловых групп определяли как разницу между содержанием суммарных и небелковых тиоловых групп.

Критерий Стьюдента использовали для оценки достоверности выявляемых различий.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рисунке 1 представлены результаты исследования содержания ТБК-активных продуктов в плазме крови белых крыс, подвергшихся действию сложноспектрального ПеМП и ограничению подвижности. Как видно, однократное воздействие ПеМП не приводило к достоверному изменению накопления вторичных продуктов перекисного окисления липидов в плазме крови (рис. 1). Однако кратковременное ограничение подвижности приводило к повышению уровня ТБК-активных продуктов. При этом дополнительное воздействие ПеМП на стрессированных животных не влияло на уровень активности перекисного окисления липидов в плазме крови животных данной группы (рис. 12 А). Данные результаты хорошо согласуются с современными представлениями о динамике перекисных процессов при развитии стресс-реакции у животных [???] и свидетельствуют об активации системных процессов, определяющих ход развития общей неспецифической адаптационной реакции в организме.

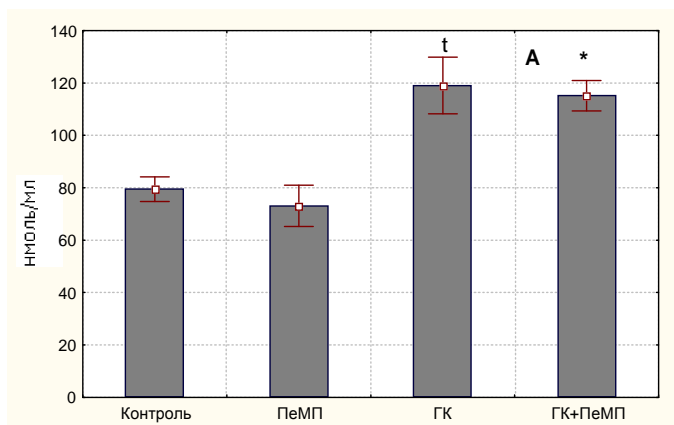


Рис. 1. Содержание ТБК-активных продуктов в плазме крови крыс при однократном действии ПеМП со сложным спектром (без учета конституциональных особенностей животных). Обозначения те же, что на рис. 3.

Таблица 1. Содержание ТБК-активных продуктов (нмоль/мл) в плазме крови крыс с разной активностью в тесте «открытого поля» при однократном 3-х часовом воздействии ПеМП со сложным спектром на интактных и стрессированных животных

Экспериментальные группы	N	M ± m	P	% относительно контрольной группы
<i>НИЗКАЯ АКТИВНОСТЬ</i>				
Контроль	5	76,300 ± 7,570	-	
ПеМП	5	63,860 ± 16,562	н.д.	-16,3
Гипокинезия	5	95,925 ± 23,810	н.д.	+25,7
ПеМП+ гипокинезия	5	107,26 ± 13,018	н.д. (p=0,074)	+40,6
<i>СРЕДНЯЯ АКТИВНОСТЬ</i>				
Контроль	5	64,960 ± 16,261	-	
ПеМП	5	88,780 ± 42,787	н.д.	+36,7
Гипокинезия	5	97,020 ± 10,472	н.д.	+49,4
ПеМП+ гипокинезия	5	100,72 ± 17,340	н.д.	+55,1
<i>ВЫСОКАЯ АКТИВНОСТЬ</i>				
Контроль	5	97,120 ± 18,483	-	
ПеМП	5	66,520 ± 8,2099	н.д.	-31,5
Гипокинезия	5	159,56 ± 53,165	н.д.	+64,23
ПеМП+ гипокинезия	5	137,36 ± 24,072	н.д.	+41,4

Дифференциальный анализ, который учитывает конституциональные особенности исследуемых животных, показал, что отдельные тенденции в изменении содержания ТБК-активных продуктов в плазме крови животных являются достаточно устойчивыми. Так из таблицы 1 видно, что кратковременное ограничение подвижности животных всех групп вызывает у них однотипную тенденцию к повышению содержания ТБК-активных продуктов. Это приводит к тому, при интегральном анализе данных, не учитывающем индивидуальные особенности организма, вследствие увеличения выборки регистрируется достоверное повышение данного показателя. В ответ на действие ПеМП реакция у животных со средней активностью характеризуется противоположной тенденцией, по сравнению с животными с низкой и высокой активностью в «открытом поле».

На рисунке 2 представлены результаты влияния ПеМП и гипокинезии на уровень ТБК-активных продуктов в печени исследуемых животных без учета их индивидуальных особенностей. Как видно, в печени имеет место сходные с плазмой крови тенденции в изменении данного показателя при однократном действии ПеМП и кратковременной гипокинезии (рис. 1 и 2). Достоверные изменения имели место только при ограничении подвижности у животных.

Дифференциальный анализ показывает, что указанные выше достоверные изменения и тенденции в содержании ТБК-активных продуктов в печени, вызванные однократным действием ПеМП и кратковременной гипокинезии, обусловлены в основном животными с низкой и высокой активностью в «открытом поле» (табл. 2).

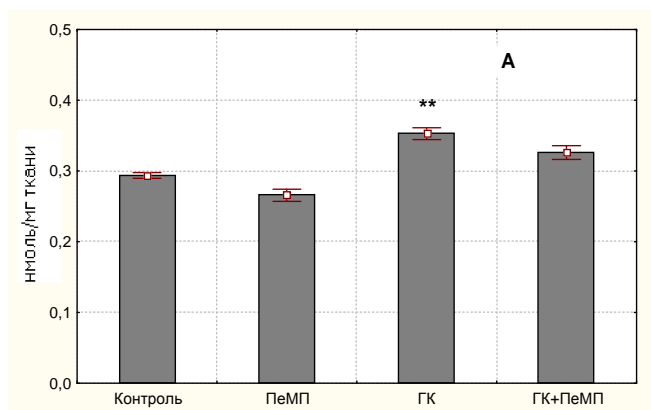


Рис. 2. Содержание ТБК-активных продуктов в печени крыс при однократном действии ПеМП со сложным спектром (без учета конституциональных особенностей животных). Обозначения те же, что на рис. 3.

Таблица 2. Содержание ТБК-активных продуктов (нмоль/мг ткани) в печени крыс с разной активностью в тесте «открытого поля» при однократном 3-х часовом воздействии ПеМП со сложным спектром на интактных и стрессированных животных

Экспериментальные группы	N	M ± m	P	% относительно контрольной группы
<i>НИЗКАЯ АКТИВНОСТЬ</i>				
Контроль	5	0,308 ± 0,006	-	
ПеМП	5	0,248 ± 0,026	н.д. (p=0,059)	-19,3
Гипокинезия	5	0,388 ± 0,031	p=0,0373	+26,0
ПеМП+ гипокинезия	5	0,366 ± 0,042	н.д.	+18,7
<i>СРЕДНЯЯ АКТИВНОСТЬ</i>				
Контроль	5	0,294 ± 0,009	-	
ПеМП	5	0,251 ± 0,024	н.д.	-14,8
Гипокинезия	5	0,307 ± 0,017	н.д.	+4,1
ПеМП+ гипокинезия	5	0,328 ± 0,015	н.д. (p=0,099)	+11,3
<i>ВЫСОКАЯ АКТИВНОСТЬ</i>				
Контроль	5	0,277 ± 0,018	-	
ПеМП	5	0,296 ± 0,032	н.д.	+7,1
Гипокинезия	5	0,362 ± 0,022	p=0,0190	+30,7
ПеМП+ гипокинезия	5	0,283 ± 0,021	н.д.	+2,2

Как известно, активность свободнорадикального окисления в клетках и тканях регулируется антиоксидантной системой, включающей в себя два основных звена – небелковое (неферментативное) и белковое (ферментативное). Тиол-содержащие соединения в клетке играют важную роль в регуляции уровня активных форм кислорода, являющихся инициаторами перекисного окисления биосубстратов. Тиол-содержащие соединения – это широкая группа веществ белковой и небелковой природы.

На рисунке 3 представлены результаты анализа изменения суммарных тиоловых групп в печени животных при действии ПеМП и гипокинетического стресса.

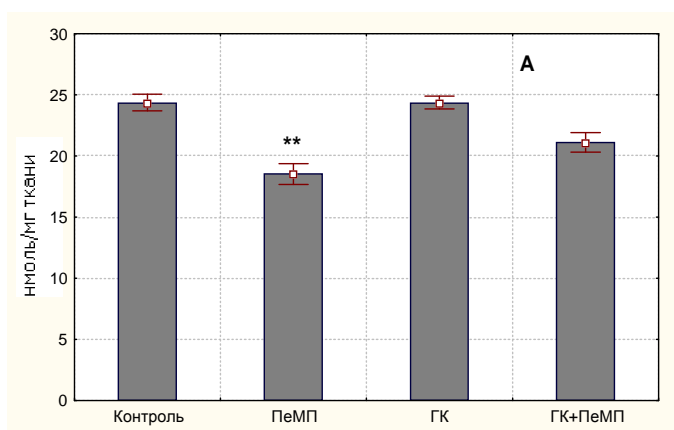


Рис. 3. Суммарное содержание тиоловых групп в печени крыс при однократном действии ПеМП со сложным спектром (без учета конституциональных особенностей животных). Обозначения те же, что на рис. 3.

Таблица 3 Содержание суммарных тиолов (нмоль/мг ткани) в печени крыс с разной активностью в тесте «открытого поля» при однократном 3-х часовом воздействии ПеМП со сложным спектром на интактных и стрессированных животных

Экспериментальные группы	N	M ± m	P	% относительно контрольной группы
<i>НИЗКАЯ АКТИВНОСТЬ</i>				
Контроль	5	24,76 ± 0,70	-	
ПеМП	5	13,88 ± 1,80	p=0,00055	-43.9
Гипокинезия	5	25,26 ± 1,39	н.д.	+2.0
ПеМП+ гипокинезия	5	21,58 ± 1,78	н.д.	-12.9
<i>СРЕДНЯЯ АКТИВНОСТЬ</i>				
Контроль	5	25,79 ± 3,46	-	
ПеМП	5	19,46 ± 2,23	н.д.	-24.5
Гипокинезия	5	21,66 ± 1,51	н.д.	-15.9
ПеМП+ гипокинезия	5	23,44 ± 1,59	н.д.	-9.1
<i>ВЫСОКАЯ АКТИВНОСТЬ</i>				

Контроль	5	22,55 ± 0,42	-	
ПеМП	5	22,18 ± 2,25	н.д.	-1.6
Гипокинезия	5	26,19 ± 1,04	p=0,0119	+16.2
ПеМП+ гипокинезия	5	18,30 ± 3,24	н.д.	-18.8

Как видно из рисунка 3 однократное 3-х часовое действие ПеМП вызывает достоверное снижение суммарных тиоловых групп в печени животных. Это подтверждает представления о том, что тиол-дисульфидный обмен является одним из наиболее чувствительных в действие электромагнитных полей метаболических звеньев [Мартынюк].

Дифференциальный анализ показал, что достоверное снижение содержания суммарных тиолов в печени при однократном действии ПеМП обусловлено в основном за счет животных с низкой и средней активностью в «открытом поле» (табл. 3).

Анализ влияния исследуемых факторов на уровень низкомолекулярных тиолов небелковой природы показал, что для данного показателя тенденции, характерные для суммарных тиолов, выражены значительно сильнее. Так же как и в случае показателя суммарных тиолов, однократное действие ПеМП приводит к достоверному снижению содержания небелковых тиоловых групп (рис. 4).

Дифференциальный анализ по конституциональным группам животных показал, что достоверное снижение низкомолекулярных тиолов обусловлено в основном за счет животных и низкой и высокой активностью в «открытом поле» (табл. 4).

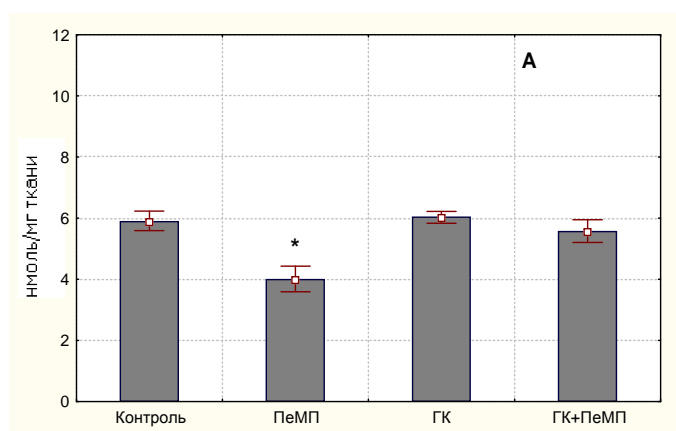


Рис. 4. Содержание небелковых тиоловых групп в печени крыс при однократном действии ПеМП со сложным спектром (без учета конституциональных особенностей животных). Обозначения те же, что на рис. 3.

Таблица 4. Содержание небелковых тиолов (нмоль/мг ткани) в печени крыс с разной активностью в тесте «открытого поля» при однократном 3-х часовом воздействии ПеМП со сложным спектром на интактных и стрессированных животных

Экспериментальные группы	N	M ± m	P	% относительно контрольной группы
<i>НИЗКАЯ АКТИВНОСТЬ</i>				
Контроль	5	5,45 ± 1,06	-	
ПеМП	5	1,14 ± 0,69	p=0.0095	-79,0

Гипокинезия	5	5,81 ± 0,56	н.д.	+6,4
ПеМП+ гипокинезия	5	7,46 ± 0,43	н.д.	+36,6
<i>СРЕДНЯЯ АКТИВНОСТЬ</i>				
Контроль	5	6,29 ± 1,11	-	
ПеМП	5	6,70 ± 0,65	н.д.	+6,5
Гипокинезия	5	6,02 ± 0,55	н.д.	-4,3
ПеМП+ гипокинезия	5	5,85 ± 0,70	н.д.	-7,0
<i>ВЫСОКАЯ АКТИВНОСТЬ</i>				
Контроль	5	5,97 ± 0,80	-	
ПеМП	5	4,16 ± 0,64	н.д.	-30,2
Гипокинезия	5	6,24 ± 0,66	н.д.	+4,5
ПеМП+ гипокинезия	5	3,40 ± 1,15	н.д.	+42,9

На рисунке 5 представлены результаты изучения влияния ПеМП и гипокинезии на тиолы белковой природы в печени животных. Видно, что однократное ПеМП, так же как и случае с суммарными и небелковыми тиолами, вызывает достоверное снижение данного показателя (рис. 5). Таким образом, однократное действие ПеМП приводит к синхронным изменениям как со стороны белковой, так и небелковой компоненты тиолдисульфидного обмена.

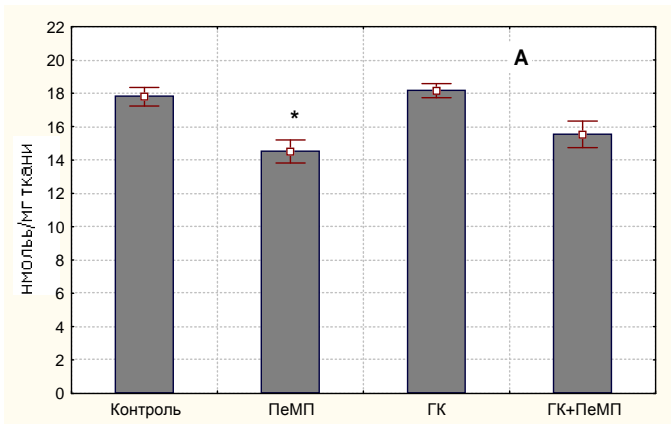


Рис. 5. Содержание белковых тиоловых групп в печени крыс при однократном действии ПеМП со сложным спектром (без учета конституциональных особенностей животных). Обозначения те же, что на рис. 3.

Таблица 5. Содержание белковых тиолов (нмоль/мг ткани) в печени крыс с разной активностью в тесте «открытого поля» при однократном 3-х часовом воздействии ПеМП со сложным спектром на интактных и стрессированных животных

Экспериментальные группы	N	M ± m	P	% относительно контрольной группы
<i>НИЗКАЯ АКТИВНОСТЬ</i>				

Контроль	5	19,31 ± 1,16	-	
ПеМП	5	12,72 ± 1,83	p=0,0163	-34,1
Гипокинезия	5	19,45 ± 0,97	н.д.	+0,7
ПеМП+ гипокинезия	5	14,11 ± 1,37	p=0,0202	-26,9
<i>СРЕДНЯЯ АКТИВНОСТЬ</i>				
Контроль	5	17,50 ± 2,39	-	
ПеМП	5	12,76 ± 1,64	н.д.	-27,1
Гипокинезия	5	15,44 ± 1,24	н.д.	-11,8
ПеМП+ гипокинезия	5	17,59 ± 1,78	н.д.	+0,5
<i>ВЫСОКАЯ АКТИВНОСТЬ</i>				
Контроль	5	16,58 ± 1,10	-	
ПеМП	5	18,02 ± 1,91	н.д.	+8,7
Гипокинезия	5	19,55 ± 0,41	p=0,0366	+17,9
ПеМП+ гипокинезия	5	14,89 ± 3,52	н.д.	-10,2

Дифференциальный анализ показал, что основной вклад в наблюдаемые изменения уровня белковых тиоловых групп при однократном воздействии ПеМП и кратковременном ограничении подвижности вносят животные с низкой активностью (табл. 5). Таким образом данные результаты являются дополнительным свидетельством в пользу развиваемых представлений [7] о том, что реакция организма человека и животных на относительно слабые факторы сильно зависит от конституциональных свойств организма.

ВЫВОДЫ.

1. Воздействие магнитным полем со сложным спектром в диапазоне крайне низких частот не оказывает существенного влияния на содержание вторичных продуктов перекисного окисления в крови и печени животных.
2. Гипокинетический стресс сопровождается достоверным повышением содержания продуктов перекисного окисления в исследуемых тканях. Одновременно с этим при комбинированном действии гипокинезии и переменного магнитного поля достоверное повышение содержания вторичных продуктов радикального окисления не обнаружено, что указывает на стресс-модифицирующее действие электромагнитных полей.
3. Тиол-дисульфидный обмен, в особенности его небелковое звено, является более чувствительным к действию низкочастотного магнитного поля.
4. Характер выявленных метаболических изменений, вызванных действием переменного магнитного поля, зависит от индивидуально-типологических особенностей животных, что указывает на ведущую роль системных механизмов регуляции в ответе организма животных на действие магнитных полей.

Литература.

1. Владимирова Ю.А., Азизова О.А., Деев А.И. и др. Свободные радикалы в живых системах. Итоги науки и техники, сер. «Биофизика». – Москва, ВИНТИ. – 1991. – Т.29. – 250 с.
2. Воскресенская О.Н. Биоантиоксиданты и свободнорадикальная патология. – МОИП, Полтава. – 1987. – С.5-11.

3. Кулагин Д.А., Болондинский В.К. Нейрохимические аспекты эмоциональной реактивности и двигательной активности крыс в новой обстановке// Успехи физиологических наук. – 1986. – Т.17, №1. – С.92-109.
4. Oikawa H., Ohishi M., Gagi K.// Analytical Biochem. 1979. – v. 95. – P.351-358
5. Мартынюк В.С. Влияние слабых переменных магнитных полей инфранизких частот на временную организацию физиологических процессов. Дис ... канд. биол. наук. – Симферополь, 1992. – 181 с.
6. Веревкина И.В., Тосилкин А.И., Попова Н.А. Колориметрический метод определения SH-групп и –S-S связей в белках при помощи 5,5 – дитиобис (2-нитробензойной) кислоты // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина , 1977. – С. 223-231.
7. Темурьянц Н.А., Грабовская Е.Ю. Реакция крыс с различными конституциональными особенностями на действие переменных магнитных полей сверхнизких частот // Биофизика. – 1992. – Т.37, в.37. – С.817.