

DOI: 10.26693/jmbs07.05.267

УДК 577.121/.122:57.084:612.015.11

Денисенко С. А., Гойдіна В. С., Попова Т. М.

ПОКАЗНИКИ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ І БІЛКОВОГО ОБМІНУ У ЩУРІВ, ПІСЛЯ ВПЛИВУ СЛАБКИХ ЕЛЕКТРОМАГНІТНИХ ПОЛІВ

Харківський національний медичний університет,
Україна

Мета. Вивчити стан компонентів прооксидантно-антиоксидантної системи та показників білкового обміну у тварин, які зазнали впливу слабких електромагнітних полів із тривалим періодом післядії.

Матеріал та методи. Експеримент проведено на білих безпородних щурах тримісячного віку. Тварини зазнавали впливу низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання сантиметрового діапазону протягом 2 місяців, щодня по 4 години. Вивчення біохімічних показників сироватки крові було проведено через 3 місяці після закінчення експериментального впливу.

Результати. Виявлено, що у тварин, які зазнавали впливу слабого електромагнітного випромінювання, через тривалий період після відміни дії відзначається дисбаланс у прооксидантно-антиоксидантній системі; спостерігається активація неферментативної ланки антиоксидантного захисту - підвищення рівня s-нітрозотіолів на тлі зниження рівня перекисного окиснення ліпідів, яке, крім руйнівної дії на клітинну мембрану, є необхідним елементом підтримки системи оновлення функціонально важливих компонентів ліпідного шару клітинних мембран. Встановлена в експерименті диспротеїнемія (зниження $\alpha 1$ фракції та підвищення $\alpha 2$ фракції глобулінів) у тварин основної групи може свідчити про специфічну зміну ферментного спектру синтезу цих білків у печінці. Виявлена активація компонентів антиоксидантного захисту, ймовірно, є захисним заходом, спрямованим на підтримку гомеостазу після тривалого впливу електромагнітного випромінювання.

Висновки. Виявлено зниження рівня кінцевих продуктів білкового обміну: креатиніну та сечовини, що дозволяє припустити зниження швидкості катаболізму білків. Робиться висновок, що у тварин через тривалий період після дії слабких електромагнітних полів сантиметрового діапазону знижено рівень перекисного окиснення ліпідів, відзначаються специфічні зміни показників білкового обміну, що свідчать про зниження рівня їхнього катаболізму, висловлюється припущення, що це може бути пов'язане зі зниженням м'язової маси.

Ключові слова: електромагнітне випромінювання, щури, сироватка крові.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Представлена робота є фрагментом науково-дослідної теми «Біохімічні механізми розвитку дисметаболических процесів за умов впливу факторів довкілля» № держ. реєстрації 0115U000240.

Вступ. Відомо, що слабкі електромагнітні поля (ЕМП), впливаючи на конформацію білкових макромолекул і на процеси біорегуляції, впливають на живі організми на клітинному та субклітинному рівнях організації [1, 2].

Проблема впливу ЕМП на життя та діяльність людини широко обговорюється у науковій літературі. Сучасна людина піддається впливу слабких електромагнітних полів як у виробництві, так і у побуті. Внутрішні та зовнішні джерела ЕМП, такі як мобільні телефони, базові станції, підсилювачі сигналів GSM, GPRS та SDMA, мережа бездротової локальної мережі (WI-FI), побутові прилади тощо міцно увійшли до нашого життя. Оскільки щільність техногенних ЕМП за останні 10 років збільшилася у кілька разів, у науковій літературі виникло та сформувалося поняття електромагнітне забруднення навколишнього середовища або, по-іншому, «електромагнітний смог». Хоча у звіті ВООЗ щодо ЕМП не робиться висновків про негативні наслідки для здоров'я, у науковій літературі є велика кількість інформації, актуальної для користувачів, які живуть в оточенні слабких ЕМП техногенного походження [3–6]. Маються дані, що до лікарів звертаються пацієнти зі скаргами, які важко пояснити тим чи іншим захворюванням, тому виник і використовується термін електромагнітна гіперчутливість. Симптоми цього стану включають головний біль, проблеми з концентрацією уваги, проблеми зі сном, депресію, нестачу енергії, втому. У наукових працях [7, 8] вказується, що основні системи організму – нервова, ендокринна, імунна – найбільш чутливі до дії електромагнітного випромінювання (ЕМВ). Зокрема, авторами постулюється взаємозв'язок між впливом ЕМВ та нейроповедінковими розладами [9].

Нині відомо, що будь-який адаптивний чи патологічний процес протікає на фоні активації вільнорадикального окиснення, не винятком є вплив слабких електромагнітних полів на організм. Так, у науковому дослідженні [10] показано, що при

опроміненні тварин мобільними телефонами формується окислювальний стрес і, як наслідок, змінюються параметри сперми та знижується фертильність. Наявність окислювального стресу та пошкодження ДНК при впливі низькоінтенсивного ЕМВ виявлено в роботі Капу Megha та співавт. [11].

Відомо, що причиною розвитку окислювального стресу є недостатність антиоксидантної системи (АОС), яка є багатокомпонентною і включає як ферментативну, так і неферментативну ланку. Встановлено, що співвідношення ПОЛ/АОС може характеризувати стресостійкість організму. Тому актуальним є вивчення системи ПОЛ/АОС при дії ЕМВ. При окислювальному стресі відбувається порушення як ліпідного, так і білкового спектра (утворення карбонильованих білків) не тільки у самій клітині, а і у сироватці крові. Віддалені наслідки перенесеного тривалого окислювального стресу не вивчені. У зв'язку з цим безперечний інтерес представляє вивчення стану системи ПОЛ/АОС та особливості білкового обміну у віддалені періоди після впливу ЕМВ.

Метою роботи було з'ясувати стан компонентів прооксидантної – антиоксидантної системи та показників білкового обміну у тварин, які зазнали впливу слабких електромагнітних полів із тривалим періодом післядії.

Матеріал та методи дослідження. Експериментальну роботу було проведено на білих безпородних щурах тримісячного віку. Щури-самки основної групи (n=10) піддавалися впливу низькоінтенсивного ЕМВ сантиметрового діапазону протягом 2 місяців. Моделювання ЕМВ здійснювалося щодня по 4 години у спеціально обладнаному боксі. При проведенні дослідження використовувався випромінювач у вигляді рупора прямокутної форми з площею основи 875 см (випромінювач - високочастотний генератор Г4-190-3/1, що випромінює антена типу П-6-23А). Випромінювання енергії виражалось в щільності потоку потужності в зоні де знаходилися експериментальні тварини, становило менше 3 мВт/см² (рівень не перевищував теплового ефекту) [12]. У групі порівняння (n=10) тварини щодня висаджувалися в аналогічну камеру, але не зазнавали впливу ЕМВ. Дослідження проводились у першій половині дня з урахуванням циркадних ритмів. Аналіз біохімічних показників сироватки крові було проведено через 3 місяці після закінчення впливу, тобто для щурів віком 8 місяців. У сироватці крові активність каталази та вміст малонового діальдегіду (МДА) визначали спектрофотометричними методами [13], рівень S-нітрозотіолів визначали флуориметричним методом [14]. Білкові фракції, рівень сечовини та рівень креатиніну визначали за допомогою наборів реактивів фірми «Філісіті-Діагностика» (Україна).

Тварини містилися у стандартних умовах на збалансованому раціоні віварію. Постановка експерименту проведена згідно з вимогами до експериментів на тваринах (Україна, 2001, Страсбург, 1985). Отриманий цифровий матеріал статистично оброблений з допомогою t критерію Стьюдента (з визначенням показника значимості P).

Результати дослідження та їх обговорення. Як відомо, інтегральним показником стійкості біомембран організму є стан перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та антиоксидантної системи. Активність перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) оцінювали за рівнем малонового діальдегіду, стан АОС – за активністю каталази та вмістом s-нітрозотіолів у сироватці крові. (табл. 1).

Таблиця 1 – Показники перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи у восьмимісячних щурів, M±m

Групи	Каталаза ^a	МДА ^b	s-нітрозотіоли ^c
Контроль, n=10	297,5±12,5	4,68±0,32	0,26±0,01
Дослід, n=10	254,3±10,7	3,52±0,22*	0,42±0,03*

Примітки: ^a – мМоль/хв/г Нb; ^b – мМ/л; ^c – мМ/л; * р<0,01 – відносно контрольної групи

Як видно з отриманих даних, у тварин знижується вміст МДА (порівняно з тваринами контрольної групи), активність каталази не відрізняється від такої у щурів контрольної групи, а вміст s-нітрозотіолів підвищений. Враховуючи, що це слідові реакції (через віддалений проміжок часу) можна припустити, що особливості стану системи ПОЛ/АОС пов'язані зі змінами ферментативного спектру клітин, що відбивається на багатьох метаболічних процесах.

Відомо, що джерелом реактивного кисню – стимулятора процесів ПОЛ – є не тільки токсична дія, але й важливі метаболічні процеси – тканинне дихання та мітросомальне окиснення [15, 16]. Тому встановлене в даному дослідженні зниження ПОЛ у тварин основної групи може бути несприятливою ознакою, тому, найімовірніше, пов'язане зі зниженням процесів біологічного окиснення в організмі, тобто із продукцією АТФ. Можливо, зниження рівня ПОЛ пов'язані з високим рівнем АОС. Однак досліджувалися лише два показники, (при цьому NO не завжди є антиоксидантом). Тому найімовірнішим є припущення зниження рівня тканинного дихання, тобто низькоенергетичному зрушенні в аденіловій системі, що обмежує можливість протікання синтетичних та транспортних процесів.

Відомо, що зниження продукції АТФ відбивається на рівні всіх метаболічних процесів, зокрема одного з центральних обмінів – білкового обміну, який можна оцінити при вивченні білкових фракцій.

Вивчення фракційного складу білків сироватки крові (табл. 2) у тварин основної групи виявило зниження α_1 -глобулінової фракції та підвищення α_2 -глобулінів.

Таблиця 2 – Білкові фракції сироватки крові восьми-місячних щурів, (%), $M \pm m$

Групи	Аль-бумін	Глобуліни			
		α_1	α_2	β	γ
Контроль, n=10	60,10 \pm \pm 0,54	6,83 \pm \pm 0,30	5,83 \pm \pm 0,42	11,18 \pm \pm 0,32	16,1 \pm \pm 0,34
Дослід, n=10	59,28 \pm \pm 0,46	3,97 \pm \pm 0,35*	7,62 \pm \pm 0,37*	12,07 \pm \pm 0,25	17,07 \pm \pm 0,35

Примітки: * $p < 0,05$ – відносно контрольної групи

Таблиця 3 – Показники білкового обміну в сироватці крові щурів; $M \pm m$

Групи	Креатинін ^a	Сечовина ^b
Контроль, n=10	181,6 \pm 10,6	4,56 \pm 0,3
Дослід, n=10	103,3 \pm 6,8*	2,76 \pm 0,7*

Примітки: ^a - мкМ/л; ^b - мМ/л; * $p < 0,001$ - відносно контрольної групи

Кінцевими продуктами білкового обміну є сечовина та креатинін. Вивчення цих показників у сироватці крові експериментальних тварин виявило зниження рівня креатиніну та сечовини у сироватці крові у щурів експериментальної групи порівняно з контролем.

Протягом життя організм піддається впливу різноманітних факторів. Це можуть бути як природні так і штучні. Кожен штучний фактор (це можуть бути хімічні речовини, або фізичний вплив тощо), який з'являється у житті людини має бути контрольований і для цього проводяться дослідження в яких основним моментом є постулат: а які наслідки можуть виникнути відразу, або у віддалений період. І якщо параметри гомеостазу, і насамперед біохімічні параметри через віддалений період, або при зниженні дози впливу не відрізняються від референтних величин, то цей фактор вважається умовно безпечним.

В цьому дослідженні були досліджені довготривалі ефекти після впливу фактора.

У тварин, які зазнавали впливу слабого ЕМВ, через тривалий період після відміни впливу виявили дисбаланс у прооксидантно-антиоксидантній системі. Так, спостерігається активація неферментативної ланки антиоксидантного захисту – підвищення рівня s-нітрозотіолів на тлі зниження рівня перекисного окиснення ліпідів, яке, крім руйнівної дії на клітинну мембрану, є необхідним фактором у підтримці системи оновлення функціонально важливих елементів ліпідного шару клітинних мембран.

З літературних даних відомо, що за безпосередньої дії слабких ЕМП на організм спостерігається підвищення вільнорадикальних процесів, що призводить до активації деструктивних процесів [7, 17].

За тривалий період (3 місяці) після закінчення впливу ЕМВ в організмі тварин міг сформуватися певний рівень гомеостазу, при якому при такій же, як у контролі активності каталази виявлено нижчий рівень метаболітів ПОЛ (МДА). Відомо, що метаболіти ПОЛ індують гени стресової реакції через фактор транскрипції NRF-2 безпосередньо регулюючи адаптивну реакцію клітини [18]. У статті автор пише: «є свідчення того, що помірні рівні активних форм кисню (АФК) мають антивікову дію, викликаючи реакцію зняття стресу (гормезіс). Дозування має вирішальне значення в оцінці АФК у контексті старіння, але зменшення кількості АФК саме собою не збільшує тривалість життя у фізіологічних умовах». Виявлений в даному дослідженні дисбаланс між компонентами антиоксидантного захисту та ПОЛ, ймовірно, є захисним заходом, спрямованим на підтримку гомеостазу після тривалого впливу ЕМВ.

Відомо, що більшість білків сироватки крові синтезується у печінці. Виявлений дисбаланс у співвідношенні білкових фракцій може свідчити про специфічну зміну ферментного спектру синтезу цих білків у печінці.

Також цікавим є виявлене зниження рівня кінцевих продуктів білкового обміну: креатиніну та сечовини, що свідчить про зниження катаболізму білка. Можна зробити припущення щодо зниження м'язової маси у експериментальних тварин, базуючись на тому, що креатинін є кінцевим продуктом білкового обміну який виробляється при м'язовому скороченні.

Висновки

1. Виявлені особливості в системі ПОЛ/АОС свідчать про стійкий слідовий ефект, що сформувався завдяки дії низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання сантиметрового діапазону.
2. Дисбаланс у вмісті білків α_1 - та α_2 -глобулінової фракції може свідчити про специфічну зміну ферментного спектру синтезу цих білків у печінці.
3. Зниження вмісту кінцевих продуктів азотистого обміну (сечовини та креатиніну) може свідчити про зниження катаболізму білка у віддалений період після того, як вплив електромагнітного випромінювання закінчився.

Перспективи подальших досліджень. У подальших дослідженнях планується вивчити морфологічні зміни у тканинах тварин під час моделювання низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання.

References

1. Stein S, Udasin IG. Electromagnetic hypersensitivity (EHS, microwave syndrome) - Review of mechanisms. *Environ Res*. 2020 Jul;186:109445. PMID: 32289567. doi: 10.1016/j.envres.2020.109445
2. Belpomme D, Hardell L, Belyaev I, Burgio E, Carpenter DO. Thermal and non-thermal health effects of low intensity non-ionizing radiation: An international perspective. *Environ Pollut*. 2018 Nov;242(Pt A):643-658. PMID: 30025338. doi: 10.1016/j.envpol.2018.07.019
3. Sage C, Carpenter DO. BioInitiative Report: A Rationale for a Biologically- based Public Exposure Standard for Electromagnetic Radiation BioInitiative Working Group. 2012 Dec 31. Available from: <https://bioinitiative.org/>
4. Gruber MJ, Palmquist E, Nordin S. Characteristics of perceived electromagnetic hypersensitivity in the general population. *Scand J Psychol*. 2018 Aug;59(4):422-427. PMID: 29741795. doi: 10.1111/sjop.12449
5. Kaszuba-Zwoińska J, Gremba J, Galdzińska-Calik B, Wójcik-Piotrowicz K, Thor PJ. Electromagnetic field induced biological effects in humans. *Przegl Lec*. 2015;72(11):636-41. PMID: 27012122
6. Wang J, Li M, Zhu D, Cao Y. Smartphone Overuse and Visual Impairment in Children and Young Adults: Systematic Review and Meta-Analysis. *J Med Internet Res*. 2020 Dec 8;22(12):e21923. PMID: 33289673. PMCID: PMC7755532. doi: 10.2196/21923
7. Belyaev I, Dean A, Eger H, Hubmann G, Jandrisovits R, Kern M, et al. Guideline 2016 for the prevention, diagnosis and treatment of EMF-related health problems and illnesses. *Rev Environ Health*. 2016 Sep 1;31(3):363-97. PMID: 27454111. doi: 10.1515/reveh-2016-0011
8. Yang M, Guo W, Yang C, Tang J, Huang Q, Feng S, et al. Mobile phone use and glioma risk: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2017 May 4;12(5):e0175136. PMID: 28472042. PMCID: PMC5417432. doi: 10.1371/journal.pone.0175136
9. Shahin S, Banerjee S, Singh SP, Chaturvedi CM. 2.45 GHz Microwave Radiation Impairs Learning and Spatial Memory via Oxidative/Nitrosative Stress Induced p53-Dependent/Independent Hippocampal Apoptosis: Molecular Basis and Underlying Mechanism. *Toxicol Sci*. 2015 Dec;148(2):380-99. PMID: 26396154. doi: 10.1093/toxsci/kfv205
10. Gautam R, Singh KV, Nirala J, Murmu NN, Meena R, Rajamani P. Oxidative stress-mediated alterations on sperm parameters in male Wistar rats exposed to 3G mobile phone radiation. *Andrologia*. 2019 Apr;51(3):e13201. PMID: 30461041. doi: 10.1111/and.13201
11. Megha K, Deshmukh PS, Banerjee BD, Tripathi AK, Ahmed R, Abegaonkar MP. Low intensity microwave radiation induced oxidative stress, inflammatory response and DNA damage in rat brain. *Neurotoxicol*. 2015 Dec;51:158-65. PMID: 26511840. doi: 10.1016/j.neuro.2015.10.009
12. Presman AS. *Elektromagnytnye polya y zhyvaya pryroda* [Electromagnetic fields and wildlife]. M: «Nauka»: 1968. 288 s. [Russian]
13. Kamyshnykov VS. *Klynycheskiye laboratornyye testy ot A do Ya y ykh dyagnostycheskiye profily* [Clinical laboratory tests from A to Z and their diagnostic profiles]. Spravochnoe posobyе. M: «MEDpress-Inform»; 2007. 320 c. [Russian]
14. Marzinzig M, Nussler AK, Stadler J, Marzinzig E, Barthlen W, Nussler NC, et al. Improved methods to measure and products of nitric oxide in biological fluids: nitrite, nitrate and s-nitrosothiols. *Nitric Oxide*. 1997 Apr;1(2):177-89. PMID: 9701056. doi: 10.1006/niox.1997.0116
15. Rahal A, Kumar A, Singh V, Yadav B, Tiwari R, Chakraborty S, et al. Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. *Biomed Res Int*. 2014;2014:761264. PMID: 24587990. PMCID: PMC3920909. doi: 10.1155/2014/761264
16. Menshchikova EB, Lankyn VZ, Zenkov NK, Bondar IA, Krugovykh NF, Trufakin V. *Okyslytelnyy stress. Prooksydanty y antyoksydanty* [Oxidative stress. Prooxidants and antioxidants]. M: Firma «Slovo»; 2006. 556 s. [Russian]
17. Singh KV, Gautam R, Meena R, Nirala JP, Jha SK, Rajamani P. Effect of mobile phone radiation on oxidative stress, inflammatory response, and contextual fear memory in Wistar rat. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2020 Jun;27(16):19340-19351. PMID: 32212071. doi: 10.1007/s11356-020-07916-z
18. Catic A. Cellular Metabolism and Aging. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2018;155:85-107. PMID: 29653684. PMCID: PMC5967871. doi: 10.1016/bs.pmbts.2017.12.003

UDC 577.121/.122:57.084:612.015.11

Indicators of Prooxidant-Antioxidant System and Protein Metabolism in Rats after the Influence of Weak Electromagnetic Fields

Denysenko S. A., Hoidina V. S., Popova T. M.

Abstract. *The purpose of the work* was to study the state of the components of the prooxidant-antioxidant system and indicators of protein metabolism in animals after a long period after exposure to weak electromagnetic fields.

Materials and methods. The experiment was carried out on three-month-old white outbred rats. The animals were exposed to low-intensity electromagnetic radiation in the centimeter range for 2 months, 4 hours daily. The study of biochemical parameters of blood serum was carried out 3 months after the end of the experimental exposure. When conducting the research, an emitter in the form of a rectangular horn with a base area of 875 cm was used. Energy radiation was expressed in the power flow density in the area where the experimental animals were located. In the comparison group (n=10), animals were placed in a similar chamber every day, but were not exposed to electromagnetic radiation. Research was conducted in the first half of the day, taking into account circadian rhythms. The analysis of biochemical parameters of blood serum was carried out 3 months after the end of exposure, that is, for rats aged 8 months.

Results and discussion. It was revealed that in animals exposed to weak electromagnetic radiation, after a long period after the cancellation of the action, there is an imbalance in the prooxidant-antioxidant system; activation of the non-enzymatic link of antioxidant protection is observed – an increase in the level of s-nitrosothiols against the background of a decrease in the level of lipid peroxidation, which, in addition to a destructive effect on the cell membrane, is a necessary element in maintaining the system of renewal of functionally important component of the lipid layer of cell membranes. The experimentally established dysproteinemia (decrease in the $\alpha 1$ fraction and increase in the $\alpha 2$ fraction of globulins) in animals of the main group may indicate a specific change in the enzymatic spectrum of the synthesis of these proteins in the liver. The activation of antioxidant defense components that we discovered is probably a protective measure aimed at maintaining homeostasis after prolonged exposure to electromagnetic radiation.

Conclusion. A decrease in the level of final products of protein metabolism was revealed: creatinine and urea, which suggests a decrease in the rate of protein catabolism. It is concluded that in animals, after a long period after exposure to weak electromagnetic fields of the centimeter range, the level of lipid peroxidation is reduced, specific changes in the indicators of protein metabolism are noted, indicating a decrease in the level of their catabolism. It is suggested that this may be related to a decrease in total muscle mass.

Keywords: low-intensity electromagnetic radiation, rats, blood serum.

ORCID and contributionship:

Svitlana A. Denysenko : 0000-0002-8457-4436 ^{A,D,F}

Valeriia S. Hoidina : 0000-0002-7062-2003 ^{B,C}

Tetiana M. Popova : 0000-0002-7842-5346 ^E

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis,
C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article,
E – Critical review, F – Final approval of the article

CORRESPONDING AUTHOR

Svitlana A. Denysenko

Kharkiv National Medical University,

Biological Chemistry Department

4, Nauky Ave., Kharkiv 61022, Ukraine

tel: +3805727077371, e-mail: Svet.Deni@ukr.net

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

Стаття надійшла 22.08.2022 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування