

## ИЗМЕНЕНИЯ РЕАКЦИИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НЕТЕПЛОВОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ В ПРЕНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

© 2021 г. Ж.М. Ибрагимова\*, А.М. Гаджиев\*, А.Ш. Ибрагимов\*\*

\*Институт физиологии им. А.И. Караева НАН Азербайджана,  
AZ1100, Баку, ул. Шарифзаде, 78, Азербайджанская Республика  
E-mail: jaluzi2009@gmail.com, ahmed.hajiyev@yahoo.com

\*\*Лицо Публичного Права объединение СМЭ и ПА Минздрава Азербайджанской Республики,  
Баку, ул. М. Мир-Касимова, 1, Азербайджанская Республика  
E-mail: medkrim@list.ru

Поступила в редакцию 28.11.2019 г.

После доработки 11.12.2020 г.

Принята к публикации 18.12.2020 г.

Исследовано состояние редокс-гомеостаза в хрусталиках глаз у крольчат (породы «Шиншилла») первого месяца жизни, которых во время внутриутробного развития подвергали сочетанному воздействию гипоксии и электромагнитного излучения нетепловой интенсивности. Взрослые самки кроликов (12 особей) были разделены поровну на опытную и контрольную группы. После спаривания беременных животных из опытной группы в течение шести суток подвергали гипоксии и облучали электромагнитным излучением, а контрольную группу подвергали ложному облучению без гипоксии. После рождения крольчат из них также были сформированы соответствующие контрольная и опытная группы. Крольчат забивали на 20-е и 30-е сутки после рождения и изымали у них хрусталики глаз. Об интенсивности перекисного окисления липидов в хрусталике глаз судили по накоплению молекулярного продукта перекисного окисления липидов малонового диальдегида. Было установлено, что реакции перекисного окисления липидов в хрусталиках крольчат подвержены сдвигу в сторону окисления в связи со сбоем в механизме антиоксидантной защиты. Тем самым было определено, что процессы, приводящие к смещению редокс-гомеостаза, которые запускаются во внутриутробной стадии животных, продолжают негативно сказываться и в постнатальном периоде. Степень изменений в протекании процессов перекисного окисления липидов на 20-е и 30-е сутки постнатального периода почти не отличаются.

*Ключевые слова:* перекисное окисление липидов, хрусталик глаза, электромагнитное облучение, внутриутробное развитие, гипоксия.

DOI: 10.31857/S0006302921020228

Давно известен тот факт, что электромагнитное излучение имеет пагубное влияние на человека. Мы повсюду окружены техникой, проводами, бытовыми приборами и т.д. Переизбыток таких воздействий влечет за собой изменения в иммунном фоне человека, что приводит к различным заболеваниям, которых можно было избежать, находясь в нормальной среде и окружении. В указанном контексте изучение влияния неионизирующего электромагнитного излучения (ЭМИ) на органы зрения людей и животных в последние десятилетия является весьма актуальной проблематикой [1, 2]. Имеется достаточно много фактов,

свидетельствующих о том, что длительное облучение живых организмов ЭМИ дециметрового диапазона (нетепловая интенсивность) вызывает изменения в хрусталике глаза и служит одной из причин развития катаракты [3–5]. С учетом приведенных фактов было решено изучить состояние редокс-гомеостаза в хрусталике глаза у детенышей кроликов, подвергавшихся воздействию неионизирующего ЭМИ во время внутриутробного развития.

Конкретной целью представленной работы было исследование интенсивности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в хрусталике детенышей кроликов в возрасте 20 и 30 дней, которых во время зародышевой, предплодной и плодной фазы пренатального развития подверга-

*Сокращения:* ЭМИ – электромагнитное излучение, ПОЛ – перекисное окисление липидов, МДА – малоновый диальдегид.

ли воздействию гипоксии и неионизирующего ЭМИ.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

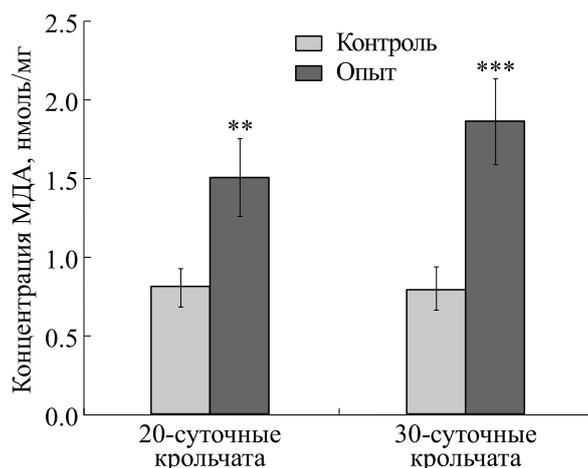
Исследовали кроликов (половозрелые самки и их приплод — крольчата первого месяца жизни) породы «Шиншилла». Изучаемая группа (12 особей) была разделена поровну на контрольную, которую подвергали ложному облучению, и опытную группы. Контрольную группу животных подвергали тем же процедурам «облучения» (т.е. ложное облучение), только при выключенном аппарате. Остальные условия для опытной и контрольной группы старались создать максимально приближенными. Перед началом опытов обе группы животных в течение нескольких дней помещали в камеру облучения для адаптации к условиям эксперимента. Группу животных в качестве контроля без выключенного аппарата (в отсутствие аппарата) не использовали.

После спаривания беременные животные из опытной группы в течение шести суток подвергали гипоксии. На первом этапе эксперимента моделировали гипоксию в специально вентилируемой камере, куда подавали воздушную смесь (95% азота и 5% кислорода) в течение 20 мин. Априори предполагалось, что гипоксия должна ослаблять механизмы антиоксидантной защиты и на этом фоне удастся более отчетливо зафиксировать пагубное действие ЭМИ на окислительно-восстановительные процессы. После этого животных подвергали облучению с помощью физиотерапевтической установки «Волна-2». Аппарат представляет собой генератор ЭМИ, позволяющий в терапевтических целях осуществлять дозированное воздействие на животных (а также на пациентов в физиотерапевтических лечебницах) электромагнитным полем с частотой 460 МГц. Проникающая способность дециметровых волн в ткани составляет примерно 8–11 см. Облучение сразу всех животных (опытная группа) проводили в специальной цилиндрической камере и в зависимости от цели эксперимента для реализации режимов высокой и низкой интенсивности облучения применяли выходную мощность излучателя 20 Вт в дециметровом диапазоне (длина волны 65 см), где плотность потока энергии в камере составляла 30 мкВт/см<sup>2</sup>. Ввиду того, что период беременности у кроликов длится 28–30 суток, интервал с первых по седьмые сутки считается зародышевым периодом, во время которого и было проведено облучение. За одну условную физиотерапевтическую единицу времени принято время от 5 до 15 мин. Дальше этих пороговых значений наблюдаются негативные явления. Опыты проводили в утренние часы при естественном освещении.

После рождения детенышей были сформированы контрольная и опытная группы (по 20 крольчат). На 20-е сутки после рождения половину крольчат из опытной и контрольной групп забивали и извлекали хрусталики (на холоду) для исследования. Другую партию животных забивали на 30-е сутки после рождения. После декаптации животных хрусталики извлекали из обоих глаз и препарировали на холоду исследуемую ткань, из которой готовили гомогенат в физиологическом растворе (0.9% NaCl) для дальнейшего биохимического анализа. Процедура работы с лабораторными животными соответствовала требованиям международной конвенции по защите животных.

Количество белка в гомогенатах тканей определяли по методу Бредфорда [6]. Реактив Бредфорда готовили к каждой серии экспериментов: 100 мг красителя кумасси бриллиантового голубого (G250) растворяли в 50 мл этилового спирта, добавляли 100 мл 85% раствора фосфорной кислоты и объем доводили бидистиллированной водой до 1 л. Калибровочную кривую для приготовленного реактива строили на основе растворов бычьего сывороточного альбумина с известными концентрациями. Для определения количества белка к 0.05 мл гомогената исследуемой ткани (10%-я суспензия) добавляли 2.5 мл реактива Бредфорда. Оптическую плотность полученного окрашенного раствора измеряли на спектрофотометре Spekol-221 (Германия) на длине волны 595 нм (не ранее чем через 2 мин и не позже 1 ч). Количество белка в пробе определяли по калибровочной кривой.

Об интенсивности ПОЛ судили по содержанию продукта ПОЛ малонового диальдегида (МДА), которое определяли по методу, описанному в работе [7]. Исследуемые ткани гомогенизировали в 0.2 N глицин-HCl-буфере (pH 3.6), получали 10%-ю суспензию. Данный метод предусматривает определение параллельно двух промежуточных продуктов ПОЛ — гидроперексидов липидов и МДА, поэтому отбирали две пробы по 0.1 мл 10%-й суспензии и к одной из них добавляли 0.1 мл 0.27% раствора FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O; 1.5 мл 0.2 N глицин-HCl-буфера (pH 3.6); 1.5 мл реагента, содержащего 0.5 г 2-тиобарбитуровой кислоты и 0.3 г додецилсульфатанатрия в 100 мл воды. Во вторую пробу для определения МДА добавляли 0.1 мл 0.27% раствора ионола в этиловом спирте; 1.5 мл 0.2 N глицин-HCl-буфера (pH 3.6); 1.5 мл тиобарбитурового реагента. Затем пробы кипятили 15 мин, охлаждали в ледяной бане, добавляли по 1 мл ледяной уксусной кислоты и 2 мл хлороформа. После этого пробы центрифугировали 10 мин при 2500 g. Оптическую плотность супернатанта измеряли на спектрофотометре Spekol-221 (длина волны 532 нм). Расчет со-



Интенсивность реакции перекисного окисления липидов при воздействии электромагнитного излучения нетепловой интенсивности в пренатальном периоде.

держания МДА и гидроперекисей липидов проводили по формуле:

$$C = D/\varepsilon \cdot l,$$

где  $C$  – концентрация МДА и гидроперекисей липидов;  $D$  – оптическая плотность исследуемого образца;  $\varepsilon$  – молярный коэффициент экстинкции, равный  $1.56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ;  $l$  – длина оптического пути, равная 1 см. Концентрацию МДА выражали в нмоль/мг белка.

Вариационный анализ и сравнение групп по изучаемым характеристикам проводили с помощью стандартных биометрических методов [8]. В частности, использовали двухвыборочный  $U$ -критерий Манна–Уитни для независимых выборок.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В одной из работ нами была сделана попытка истолкования процесса перехода энергии ЭМИ в энергию превращений свободно-радикальных процессов [9]

Наши эксперименты на крысах показали, что при относительно интенсивном ( $30 \text{ мкВт/см}^2$ ) облучении до 14 суток в корковой части хрусталика происходит постепенный переход скрытых в структуре белка тиоловых групп в открытое (реакционноспособное) состояние, тогда как в ядре хрусталика проявляется обратный процесс – растет содержание скрытых (неракционноспособных) белковых тиолов. Низкоинтенсивное облучение ( $10 \text{ мкВт/см}^2$ ) приводит к снижению содержания легкодоступных тиолов (глутатиона и поверхностно расположенных белковых тиолов) в коре (и не так заметно в ядре) хрусталика на фоне низкого уровня ПОЛ. Причиной этому, по-видимому, является переход части белковых открытых сульфгидрильных групп в замаскированную

форму в результате процессов глутатионилирования и умеренного образования белковых дисульфидов. Переход белковых тиолов из одного состояния в другой под действием физического фактора позволяет выдвинуть идею о надмолекулярном механизме регуляции гомеостаза (в частности, тиолового) в высокобелковых образованиях, который может реализоваться путем агрегации–деагрегации белковых молекул.

Настоящее исследование показало, что в хрусталиках глаз кроликов, изъятых у 20-суточных крольчат, в пренатальном периоде жизни подвергавшихся электромагнитному облучению и гипоксии, происходят изменения в протекании процессов ПОЛ. У животных, облученных и подвергшихся гипоксии в пренатальном периоде жизни (опытная группа), концентрация МДА составила в среднем  $1.50 \text{ нмоль/мг}$ , а у животных из контрольной группы –  $0.81 \text{ нмоль/мг}$ . Отсюда следует, что в опытной группе мы наблюдаем повышенные концентрации МДА на  $85.5\%$  (достоверность различий между группами надежная:  $p < 0.01$ ). Следовательно, имеет место смещение редокс-гомеостаза, сопровождающееся увеличением интенсивности ПОЛ. После соответствующей лучевой нагрузки у 30-суточных животных концентрация МДА в гомогенате хрусталиков составила  $1.88 \text{ нмоль/мг}$  белка, а у не подвергавшихся облучению и гипоксии так же, как и в предыдущем случае, составляла  $0.81 \text{ нмоль/мг}$  белка, т.е. мы видим повышение концентрации МДА на  $131.7\%$ . Достоверность различий между показателями в контрольной и опытной группе оказалась высокой –  $p < 0.001$ . Результаты экспериментов представлены на рисунке.

Гистограммы показывают содержание МДА (нмоль/мг белка) в структурах хрусталика глаз 20- и 30-суточных кроликов, в пренатальном воз-

Сравнение активности ПОЛ в хрусталиках глаз 20- и 30-суточных крольчат, подвергавшихся и не подвергавшихся ЭМИ и гипоксии в пренатальном периоде жизни

Возраст	Контроль	Опыт
20 суток	0.81	1.89
30 суток	0.82	1.90

расте подвергнутых гипоксии и облученных ЭМИ (аппарат «Волна-2», частота 460 МГц, плотность энергии 30 мкВт/см<sup>2</sup>) в течение шести суток (ежедневное моделирование гипоксии и облучение по 20 мин).

Наше исследование показало, что в пренатальном периоде жизни в хрусталиках глаз кроликов, находящихся под воздействием гипоксии и электромагнитного облучения, происходит смещение редокс-гомеостаза, которое характеризуется изменениями в протекании процессов ПОЛ.

На следующем этапе работы мы наблюдали динамику процессов ПОЛ в хрусталиках глаз 30-суточных крольчат, которых во время предплодной фазы пренатального развития подвергали сочетанному воздействию гипоксии и неонизирующего электромагнитного излучения. Данные, полученные в ходе этих исследований, показали, что как у 20-суточных детенышей, так и у 30-суточных крольчат также происходит смещение окислительно-восстановительного состояния хрусталиков в сторону окисления в раннем постнатальном онтогенезе. Для наглядности сравнительные данные по изменениям МДА для двух разных сроков постнатального развития представлены в таблице.

Из таблицы видно, что у 20-суточных животных по отношению к контролю перекисное окисление липидов в опытной группе возрастает на 233%. То же самое можно сказать про 30-суточных животных, где концентрация МДА в группе облученных животных увеличивается на 232% относительно группы контрольных животных.

## ВЫВОДЫ

1. Наблюдаемый в наших опытах вектор изменений указывает на то, что окислительно-восстановительные реакции в хрусталиках глаз животных под воздействием гипоксии и ЭМИ определенной интенсивности подвержены сдвигу в сторону окисления в связи со сбоями в механизме антиоксидантной защиты.

2. Установлено, что механизм, запущенный во внутриутробной стадии жизни организма, продолжает негативно сказываться и в постнатальном периоде. Сопоставимые по степени измене-

ния в протекании процессов ПОЛ наблюдаются на 20-е и 30-е сутки постнатального периода.

3. Результаты работы являются серьезным посылком для проведения дальнейших исследований. Важным моментом в данном аспекте является выяснение конкретного механизма преобразования энергии (или иного воздействия) ЭМИ в соответствующих биохимических процессах.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и институциональные принципы ухода и использования животных при выполнении работы были соблюдены.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ж. М. Дадашева, Э. Ю. Юсифов и А. М. Гаджиев, в сб. *Материалы 5-й Междунар. конф. «Экология и безопасность жизнедеятельности»* (Баку, 2004), сс. 49–50.
2. Л. Ф. Исмаилова и А. М. Гаджиев, в *Сб. науч. трудов Ин-та физиологии НАН Азербайджана* (Баку, 2002), т. 20, сс. 117–125.
3. Ж. М. Ибрагимова, Дис. ... канд. мед. наук (Баку, 2009).
4. Н. Н. Омельчук и Ю. Г. Симаков, *Инновации и инвестиции*, № 4, 163 (2014).
5. A. Spector, *FASEB J.* **9**, 1173 (1995).
6. M. M. Bradford, *Biochemistry* **72**, 248 (1976).
7. T. Asakawa and S. Matsushita, *Lipids* **15** (3), 137 (1980).
8. С. А. Гланц, *Медико-биологическая статистика* (М., 1999).
9. А. М. Гаджиев и Ж. М. Ибрагимова (Санкт-Петербург, 2018).

## Changes in Lipid Peroxidation Resulting from Exposure to Electromagnetic Radiation of Nonthermal Intensity in the Prenatal Period

J.M. Ibragimova\*, A.M. Gadjev\*, and A.Sh. Ibragimov\*\*

*\*Institute of Physiology named after A.I. Karaev, Azerbaijan National Academy of Sciences, ul. Sharifzadeh 78, Baku, AZ1100 Republic of Azerbaijan*

*\*\*Scientific, Practical and Education Unit "Forensic Medicine Expertise and Pathological Anatomy", Ministry of Health of the Republic of Azerbaijan, ul. M. Mir-Kasimova 1, Baku, Republic of Azerbaijan*

The study focused on redox homeostasis in the ocular lens of 20- and 30-day-old baby chinchillas (kits) exposed to combination of hypoxia and electromagnetic radiation at non-thermal intensity during intrauterine development. Adult female rabbits (called does) ( $n = 12$ ) were divided into equal-sized experimental and control groups. After mating, pregnant animals from the experimental group were exposed to hypoxia and electromagnetic radiation for 6 days, and the control animals were sham-irradiated but not exposed to hypoxia. After the day of birth, newborn rabbits were also divided into experimental and control groups. Kits were slaughtered on the 20th and 30th days after the day of birth and the ocular lens were removed. The lipid peroxidation intensity was estimated by the measurement of malondialdehyde in lens tissue samples. It was found that redox status in the lenses of experimental rabbit kits changed towards oxidation, probably due to the antioxidant defense system impairment. Thus, it was proven that prenatally induced disturbance of redox homeostasis negatively affects the postnatal period as well. No significant differences were found between the extent of lipid peroxidation by the 20th and 30th days of the postnatal period.

*Keywords: lipid peroxidation, eye lens, electromagnetic irradiation, intrauterine development, hypoxia*