

ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ КЛЕТОЧНОЙ МЕМБРАНЫ В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ

Т.Н. Замай, Е.В. Маркова, Н.М. Титова*

В работе исследовалось влияние электромагнитного поля на функциональное состояние ионных насосов в миокарде и головном мозге крыс, интенсивность энергообмена в этих тканях, а также уровень перекисного окисления липидов в миокарде, головном мозге и клетках крови. Кроме того, оценивалась вязкость мембран саркоплазматического ретикулума, эритроцитов и лимфоцитов и химический состав мембран эритроцитов. Показано, что адаптация крыс к электромагнитному полю активизирует работу ионных насосов в миокарде и головном мозге. Предполагается, что причиной активации Са-насоса в миокарде и Na,K-АТФазы в головном мозге может быть изменение структурно-функциональных характеристик мембран вследствие снижения свободно-радикальных процессов. Выявлено также, что электромагнитное поле стимулировало у крыс интенсивность процессов эритропоэза.

В настоящее время факт неблагоприятного воздействия электромагнитных полей (ЭМП) на здоровье человека не подвергается сомнению. Полагают, что электромагнитное излучение увеличивает риск возникновения опухолей мозга, вызывает рост частоты выкидышей и рождения детей с различной патологией [2,3,7,16,27,28]. Однако убедительные доказательства в пользу этих предположений немногочисленны. До сих пор не предложено биологических механизмов, которые могли бы убедительно объяснить, каким образом техногенные электромагнитные поля могут инициировать развитие патологий.

Гипотезы, объясняющие действие ЭМП на клетку, связаны, в основном, с его влиянием на мембранные структуры. Предполагают, что это вызвано, в первую очередь, модуляцией скорости диффузии через клеточные мембраны, изменением ориентации биологических макромолекул, изменением состояния электронной структуры свободных радикалов, разрывом водородных связей [18,19] и десинхронизацией собственных сигнальных систем [7]. С другой стороны, есть предположения о том, что неблагоприятное воздействие ЭМП на мембранные структуры обусловлено стимуляцией окислительного стресса [23], приводящего к развитию перекисного окисления липидов и, соответственно, модификации структуры и функционального состояния клеточной мембраны [7].

Однако данные об усилении перекисного окисления липидов в условиях воздействия электромагнитного поля подтверждаются не всеми исследователями [2]. По-видимому, интенсивность перекисного окисления липидов зависит от длительности воздействия электромагнитного излучения на живой организм и характеристик самого поля.

Естественно, все эти изменения в клетке под действием ЭМП будут вызывать нарушения метаболизма, что может способствовать развитию патологических состояний. Именно поэтому исследование влияния электромагнитных полей на живой организм достаточно актуально.

Цель нашей работы - поиск универсального механизма воздействия электромагнитного поля на различные ткани организма. Для этого нами было проведено исследование влияния электромагнитного поля на состояние некоторых тканей, различающихся по своим функциональным характеристикам: 1) миокарда, основной функцией которого является сокращение; 2) головного мозга, отвечающего за передачу нервного импульса; 3) клеток крови, выполняющих транспортную и защитную функции.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования служили белые беспородные крысы массой 200-250 г. Крысы адаптировались к электромагнитному излучению, находясь от экрана монитора персонального компьютера на расстоянии 4-6 см по 6-8 часов в сутки 6 раз в неделю в течение трех недель. Характеристики монитора персонального компьютера, перед которым находились опытные крысы, были следующими: электрическое поле при 2 кГц – 72 В/м, при 2-400 кГц – 9 В/м, магнитное поле при 5-2000 Гц – 1960 нТл, при 2-400 кГц – 196 нТл, электростатический потенциал – 2,53 кВт.

Относительную микровязкость мембран оценивали методом латеральной диффузии гидрофобного зонда пирена. Микровязкость липидного бислоя мембран определяли при длине волны возбуждения 334 нм, а микровязкость в зоне белок-липидных контактов – при 286 нм [4]. Инкубацию суспензии, содержащей эритроциты, лимфоциты или саркоплазматический ретикулум, с пиреном (3 мкМ на 1 мл суспензии) проводили при 25°C в течение 1 минуты при постоянном перемешивании на магнитной мешалке. Интенсивность флуоресценции ди-

* © Т.Н. Замай, Е.В. Маркова, Н.М. Титова, Кафедра биохимии и физиологии человека и животных, 2003.

меров и мономеров пирена определяли на спектрофлуориметре Aminco Bowman Series 2 фирмы Thermo Spectromic USA [8].

Состояние перекисного окисления липидов в миокарде, головном мозге и крови оценивали по содержанию малонового диальдегида [22].

Исследование энергообмена миокарда и головного мозга проводили путем определения скорости потребления кислорода гомогенатами ткани на кислородомере типа №5221, используя электрод №5972 с тефлоновой мембраной. Скорость дыхания измеряли при температуре 37°C в изолированной ячейке объемом 1 мл в среде выделения без сахарозы. Уабаин-чувствительное дыхание вычисляли по разнице потребления кислорода пробами без уабаина и после добавления 0,1 мМ уабаина [15].

Для выделения фракции «грубых микросом» миокард гомогенизировали в среде, содержащей: сахароза – 0,3 М, азид натрия – 3 мМ, трис-НСl – 30 мМ, рН 8,3. Обломки клеток, миофибриллы и митохондрии осаждали при 10000g в течение 20 минут [25]. Супернатант центрифугировали 60 минут при 35000g. Функциональную активность Са-насоса саркоплазматического ретикулула оценивали в ресуспендированном осадке с помощью катионселективных электродов. Сигналы от электродов усиливались и поступали на аналого-цифровой преобразователь (АЦП), откуда передавались на компьютер, где обрабатывались с помощью специальной программы. Скорость гидролиза АТФ определяли по нарастанию в среде протонов водорода, транспорт Ca^{2+} через мембрану СР – по уменьшению активности катионов кальция в инкубационной среде. Среда инкубации в ячейке объемом 4 мл содержала трис-НСl-буфер - 5 мМ, КСl - 100 мМ, $MgCl_2$ - 3мМ, АТФ - 3 мМ, микросомальный препарат (40 мкл), рН 7,4 при температуре 25°C. Реакцию начинали добавлением 40 мкл 3М $CaCl_2$ [25].

Получение мембранных препаратов головного мозга крыс и определение активности Na,K-АТФазы проводили в соответствии с общими принципами [14]. Количественное определение неорганического фосфата проводили методом Ратбуна и Бетлах [25], белка – методом Бредфорда.

Из гепаринизированной крови выделяли и отмывали физиологическим раствором эритроциты [1]. Лимфоциты отделяли от эритроцитов центрифугированием в градиенте плотности фикола-верографина [17] с последующим подсчетом в камере Горяева. Эритроциты дополнительно разделяли на фракции молодых и старых многократным центрифугированием клеток с последовательным отбором верхней и нижней части эритроцитарного столба [1]. Качество фракционирования контролировали подсчетом ретикулоцитов. Из негепаринизированной крови получали сыворотку. В цельной крови крыс стандартными методами определяли содержание эритроцитов, ретикулоцитов и гемоглобина [13].

Липидный состав эритроцитов исследовали с использованием тонкослойной хроматографии с базовым определением общих липидов [20]. Общие липиды в сыворотке крови и эритроцитах определяли с помощью стандартных наборов (Lachema).

Восстановительный потенциал крови оценивали потенциометрически по увеличению содержания протонов водорода, образующихся в среде после добавления образцов крови. Инкубационная среда представляла 0,02 %-й раствор феррицианида калия, содержащий 20 мМ NaOH. Определение проводили в термостатируемой кювете при 25°C при постоянном перемешивании на магнитной мешалке. Сигналы от рН-электрода поступали через аналого-цифровой преобразователь на компьютер, где обрабатывались с помощью специальной программы.

Состояние антиоксидантной системы оценивали по активности антиоксидантных ферментов – глутатионпероксидазы и глутатион-S-трансферазы, а также по содержанию восстановленного глутатиона [29].

В цельной крови крыс определяли содержание эритроцитов, ретикулоцитов и гемоглобина [1].

Статистическую значимость различий между средними величинами оценивали по t-критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Функциональное состояние миокарда

Результаты изучения функционального состояния миокарда показали, что скорость гидролиза АТФ Са-насосом саркоплазматического ретикулула под влиянием адаптации к ЭМП возросла на 39,9%, $P < 0,05$. Скорость входа Ca^{2+} из инкубационной среды в саркоплазматический ретикулум также увеличилась, причем это повышение было многократным, в результате чего отношение $Ca^{2+}/АТФ$ возросло с $2,44 \pm 0,33$ до $12,61 \pm 1,41$ (табл. 1). Таким образом, адаптация к ЭМП увеличила сопряжение между каталитической активностью и транспортной способностью Са-насоса. Са-АТФаза является энергозависимым ферментом, поэтому нами оценивался также уровень энергообмена миокарда в условиях адаптации. Проведенные эксперименты показали отсутствие изменений метаболизма миокарда в условиях адаптации к электромагнитному излучению (табл. 1). Не претерпела изменений и та часть дыхания, которая ингибировалась уабаином, то есть определялась работой другого энергозависимого фермента – Na,K-АТФазы. Неизменность эндогенного и уабаин-чувствительного дыхания, с одной стороны, и увеличение каталитической активности Са-насоса - с другой, свидетельствуют о перераспределении энергетических потоков в пользу Са-насоса и о торможении других энергозависимых процессов в миокарде крыс в условиях адаптации к электромагнитному полю.

Изменение некоторых функциональных показателей миокарда крыс при адаптации к электромагнитному облучению

Группа крыс	МДА, мкмоль/г ткани	Вязкость (липидный бислой) Экс/Емон	Вязкость (белок-липидный контакт) Экс/Емон	Дыхание		Активность Са-з
				Эндог. мкмоль О ₂ /г ткани в час	Уабинчувствит. мкмоль О ₂ /г ткани в час	
Контр.	1,18±0,18 (n=15)	0,094±0,002 (n=10)	0,084±0,003 (n=10)	53,7±4,8 (n=9)	19,6±4,8 (n=9)	17,58±2,00 (n=10)
Опыт	0,89±0,09 (n=15)	0,097±0,002 (n=10)	0,079±0,007 (n=10)	55,4±6,2 (n=9)	20,1±2,4 (n=9)	24,59±2,56 (n=10)
Изменение, %	-25,0**	+15,3*	-19,7**			39,9*

Примечание: * - достоверность различий P<0,05, ** - достоверность различий P<0,01

Функциональное состояние Са-насоса зависит от интенсивности свободно-радикальных процессов [6], поэтому для исследования механизма активации Са-насоса в саркоплазматическом ретикулуме миокарда определяли содержание одного из продуктов перекисного окисления липидов – малонового диальдегида (МДА). В норме свободно-радикальные процессы – необходимое звено метаболизма, обеспечивающее нормальную жизнедеятельность клетки. В частности, активные формы кислорода осуществляют физико-химическую модификацию биологических мембран, а также служат вторичными мессенджерами, регулирующими метаболизм клетки [9]. Нами обнаружено, что содержание МДА в миокарде облучавшихся крыс снизилось на 25%, $P < 0,01$ (табл. 1).

Снижение интенсивности свободно-радикальных процессов могло привести к развитию ряда неблагоприятных последствий для клетки – сдвигам в работе мембранно-связанных ферментов, нарушению регуляции метаболических процессов в клетке, в том числе и к увеличению текучести мембран. Поэтому для исследования структурно-функциональных изменений мембран оценивали их вязкость. Обнаружено, что текучесть липидного бислоя в микросомальных мембранах миокарда у адаптированных крыс была выше на 13% ($P < 0,05$), а в зоне белково-липидного контакта, наоборот, текучесть мембран снизилась на 19% ($P < 0,05$) (табл. 1), что свидетельствует об изменении физико-химических свойств мембран.

Структурно-функциональное состояние клеток крови

Структурно-функциональные свойства клеток крови в значительной мере определяются степенью перекисного окисления липидов. Наше исследование показало, что в условиях воздействия ЭМП содержание МДА в цельной крови крыс снижалось на 31,5% (Таб.2). Содержание восстановленного глутатиона в эритроцитах крови крыс в условиях адаптации к электромагнитному облучению увеличилось на 35% (контроль $3,13 \pm 0,07$ мкмоль/г Hb, опыт – $4,23 \pm 0,09$ мкмоль/г Hb) (табл. 2).

Однако восстановительный потенциал цельной крови при этом снизился на 33,3% ($P < 0,05$) (в контрольной группе животных он составлял $75,0 \pm 14,7$ мВ, а в опытной – $45,0 \pm 9,8$ мВ), что свидетельствует об уменьшении общего количества восстановленных субстратов в крови. Окислительно-восстановительный статус клетки определяется внутриклеточным соотношением окисляющих и восстанавливающих эквивалентов. Нарушение его баланса внутри клетки может происходить под действием активных радикалов кислорода. Тонкий внутриклеточный баланс между окисляющими и восстанавливающими эквивалентами - важный механизм регуляции функций клетки. Снижение восстановительного потенциала крови стало еще одним доказательством уменьшения интенсивности свободно-радикальных процессов в крови в условиях воздействия электромагнитного излучения, поскольку известно, что при окислительном стрессе восстановительный потенциал клеток возрастает за счет роста количества субстратов и коферментов в восстановленном состоянии [9,30].

Интенсивность свободно-радикальных процессов определяется состоянием ферментов антиоксидантной системы [21,24]. Результаты исследования показали, что активность глутатионпероксидазы (ГПО) в эритроцитах контрольной группы крыс была $23,93 \pm 3,16$ мкмоль/мин/г Hb, а в опытной – $19,15 \pm 1,89$ мкмоль/мин/г Hb, снижение составило 25% ($P < 0,05$) (табл. 2). Активность другого фермента антиоксидантной системы - глутатион-S-трансферазы (GST) - также упала с $9,59 \pm 0,14$ мкмоль/мин/г Hb в контроле до $6,76 \pm 0,37$ мкмоль/мин/г Hb в эритроцитах облученных крыс, это падение активности фермента было еще ниже – 39%.

Определяющим фактором функционального состояния клеточной мембраны является ее химический состав. Исследование содержания липидов в эритроцитах и сыворотке крови крыс показало, что ЭМП

Таблица 2

Содержание МДА, восстановленного глутатиона (GSH), липидов, активность глутатионпероксидазы (ГПО) и глутатион-S-трансферазы (GST) в эритроцитах и восстановительный потенциал крови у крыс в условиях адаптации к ЭМП

Показатель	Группа крыс	
	Контроль (n=15)	Опыт (n=10)
МДА, Мкмоль/мл	0,32±0,03	0,19±0,02*
GSH, мкмоль/г Hb	3,13±0,04	4,23±0,11**
ГПО, мкмоль/мин/г Hb	23,93±0,67	19,15±0,22*
GST мкмоль/мин/г Hb	9,59±0,14	6,76±0,20**
Восстановительный потенциал, мВ/мл	75,0±14,7	45,0±9,8**
Общие липиды эритроцитов, пг/кл	0,412±0,061	0,826±0,066**
Общие липиды сыворотки, г/л	3,445±0,264	3,458±0,286
Общие липиды сыворотки, г/л	0,188±0,014	0,322±0,034**
Холестерин эритроцитов, пг/кл	0,232±0,04	0,459±0,065**

Примечание: * - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$

оказывает влияние на липиды эритроцитарных мембран, но не влияет на липиды сыворотки крови. Так, содержание общих липидов в сыворотке крови в группах экспериментальных и контрольных крыс было одинаковым и составило $3,445 \pm 0,264$ г/л и $3,458 \pm 0,286$ г/л соответственно. В то же время концентрация общих липидов в расчете на один эритроцит в экспериментальной группе животных равнялась $0,829 \pm 0,066$ пг/кл, что превысило соответствующий параметр в группе контрольных крыс в 2 раза. Такие данные позволяют предположить, что повышение содержания липидов в эритроцитах под влиянием ЭМП, по всей видимости, не определяется сывороточными липидами. Уровень липидов, как по нашим данным, так и по данным литературы [13], очень варьирующий параметр и зависит от многих факторов, таких, в частности, как пол, возраст и масса животных.

При исследовании липидных составляющих эритроцитарных мембран крыс, подвергавшихся влиянию электромагнитных излучений, выяснено, что происходящее повышение липидов затрагивает как фосфолипиды, так и холестерин. В процентном выражении различия по содержанию фосфолипидов и холестерина между контрольной и экспериментальной группой отсутствовали. В контрольной группе содержание фосфолипидов составило $44,53 \pm 3,26\%$, а в экспериментальной – $38,61 \pm 1,32\%$; содержание холестерина в контрольной и экспериментальной группе было $49,78 \pm 3,37\%$ и $53,19 \pm 1,60\%$ соответственно.

Увеличение липидов в эритроцитах крыс экспериментальной группы позволяет сделать предположение о том, что эффект ЭМП с данными характеристиками реализовались не на уровне циркулирующих в крови эритроцитов, а на уровне образования этих клеток в костном мозге.

Такое предположение отчасти подтверждается полученными нами данными о том, что в крови крыс, подвергавшихся электромагнитному облучению, содержание ретикулоцитов было повышено (табл. 3). Количество ретикулоцитов в экспериментальной группе крыс превысило показатель контрольной группы на 55%. Это может свидетельствовать о том, что у крыс под влиянием ЭМП происходило определенное усиление эритропоэза, сопровождающееся изменением возрастного состава эритроцитов и появлением большего количества молодых клеток в периферической крови. Эритроциты крыс, подвергавшихся действию ЭМП, характеризовались также большим содержанием гемоглобина в расчете на один эритроцит. В опытной группе крыс содержание гемоглобина в одном эритроците составило $24,3$ пг/кл, что превышало соответствующий параметр контрольных крыс примерно на 20%.

Во фракциях крови, соответствующих молодым и старым эритроцитам, определялось содержание фосфолипидов. Результаты даны в табл. 4. Данные экспериментов показали, что содержание фосфолипидов в молодых эритроцитах у крыс, адаптирующихся к ЭМП, было повышено в сравнении с содержанием фосфолипидов в контрольной группе крыс в 1,8 раза, а во фракции старых эритроцитов - в 1,4 раза. Такое повышение фосфолипидов было аналогично тому, что происходит при напряженном эритропоэзе [5]. Омоложенные эритроциты, характерные для крыс, подвергавшихся действию электромагнитного поля, характеризуется большим содержанием липидов, фосфолипидов и гемоглобина. Их функциональные характеристики отличаются от обычных эритроцитов [15].

Полученные нами данные о повышении содержания восстановленного глутатиона также могут свидетельствовать в пользу того, что эритроциты экспериментальной группы крыс более молодые, так как имеющиеся литературные источники говорят о том, что в молодых клетках, в частности ретикулоцитах, уровень восстановленного глутатиона выше, чем в зрелых эритроцитах [15,31].

Изменение интенсивности перекисного окисления липидов, как и омоложение эритроцитов в кровеносном русле, должно вызывать модуляцию физико-химических свойств мембран. Исходя из этих соображений, нами была определена микровязкость мембран, являющаяся интегральным показателем физико-химических свойств мембраны. Результаты исследований показали, что относительная микровязкость мембран эритроцитов, измеренная по соотношению $E_{\text{экс}}/E_{\text{мон}}$, в зоне липидного бислоя у опытных животных снизилась на 31,0% ($P < 0,05$) (контроль – $0,0396 \pm 0,0041$, опыт – $0,0574 \pm 0,0062$) (табл. 5).

Такое снижение микровязкости липидного бислоя мембран хорошо совпадает с изменением ее химических свойств под влиянием адаптации к электромагнитному полю – уменьшением уровня продукта перекисного окисления липидов малонового диальдегида и неизменностью соотношения фосфолипиды/холестерин в мембране эритроцита, поскольку известно, что МДА, так же как холестерин, служат факторами, увеличи-

Таблица 3

Содержание ретикулоцитов в крови и количество гемоглобина в одном эритроците у крыс в условиях адаптации к ЭМП

Показатель	Группа крыс	
	Контроль (n=15)	Опыт (n=12)
Ретикулоциты, %	$4,30 \pm 0,15$	$6,7 \pm 0,27^*$
Гемоглобин, пг/кл	$19,9 \pm 1,6$	$24,3 \pm 2,4^*$

Примечание: * - $P < 0,05$

Таблица 4

Содержание фосфолипидов во фракциях молодых и старых эритроцитов у крыс в условиях адаптации к ЭМП

Фосфолипиды	Группа крыс	
	Контроль n=15	Опыт n=12
Фракция молодых эритроцитов, пг/кл	0,235 ± 0,041	0,443 ± 0,035**
Фракция старых эритроцитов, пг/кл	0,173 ± 0,030	0,245 ± 0,017*

Примечание: * - P<0,05; ** -P<0,01

Таблица 5

Микровязкость мембран эритроцитов и лимфоцитов у крыс в условиях адаптации к ЭМП

Группа крыс	Эритроциты		Лимфоциты	
	Липидный бислои, Экс/Емон	Зона белок-липидного контакта, Экс/Емон	Липидный бислои, Экс/Емон	Зона белок-липидного контакта, Экс/Емон
Контроль (n=10)	0,039±0,004	0.035±0,005	2,119±0,300	2,350±0,341
Опыт (n=10)	0.057±0,006*	0,036±0,005	1,128±0,223**	1,201±0,235**

Примечание: * - P<0,05; ** -P<0,01

вающими вязкость мембран. Таким образом, снижение вязкости липидного бислоя мембран – еще одно подтверждение омоложения эритроцитов в кровяном русле и свидетельство усиления эритропоза под влиянием ЭМП. Микровязкость мембран эритроцитов в зоне белок-липидного контакта осталась на прежнем уровне (табл. 5).

Наибольшие изменения микровязкости под влиянием электромагнитного облучения наблюдались у крыс в мембранах лимфоцитов. Так, относительная микровязкость липидного бислоя в лимфоцитах контрольных животных составляла 2,1194±0,3002, а в лимфоцитах животных, подвергавшихся электромагнитному облучению, – 1,1285±0,2234, т.е. относительная текучесть снизилась на 87,6%. Относительная текучесть мембран лимфоцитов опытных животных в зоне белок-липидного контакта также заметно снизилась, это снижение было еще большим и составило 95,6% (табл. 5). Таким образом, микровязкость мембран лимфоцитов у крыс, подвергавшихся влиянию ЭМП, значительно возросла, несмотря на снижение количества продукта перекисного окисления липидов – малонового диальдегида в цельной крови, что свидетельствует, по-видимому, о значительных метаболических перестройках в лимфоцитах. Можно предположить, что увеличение микровязкости липидного бислоя связано с включением большего количества холестерина в мембраны лимфоцитов, увеличением степени насыщенности жирных кислот, входящих в состав мембран, увеличением содержания белковых фракций, либо с изменением мембранного потенциала.

Функциональное состояние головного мозга

В головном мозге на поддержание ионного градиента, осуществляемого Na,K-насосом, затрачивается до 25% всей потребляемой им энергии. Na,K-насос формирует на мембране нервной клетки электрохимический градиент, энергия которого используется для процессов возбуждения, транспорта аминокислот, сахаров и других метаболитов через плазматическую мембрану. Исследование функционального состояния Na,K-АТФазы в головном мозге в условиях воздействия электромагнитного поля (табл. 6) показало значительную (почти в 3 раза) активацию фермента. Это явилось причиной увеличения эндогенного (на 67%) и убаин-чувствительного (на 86%) дыхания.

Na,K-АТФаза является мембранно-связанным ферментом, активность которого определяется физико-химическими свойствами мембраны, зависящими, в частности, от перекисного окисления липидов. Определение содержания малонового диальдегида в головном мозге крыс при адаптации к электромагнитному полю показало, что в этих условиях количество малонового диальдегида снизилось на 33%. Однако снижение содержания МДА в мозге так же, как и в крови, не было следствием активации антиоксидантной системы. Активность ферментов глутатионного звена – глутатион-S-трансферазы и глутатионпероксидазы - в головном мозге под влиянием электромагнитного поля не увеличивалась (табл. 6).

Наши исследования показали, что адаптация крыс к ЭМП низкой интенсивности уменьшала уровень перекисного окисления липидов во всех исследованных нами тканях (крови, головном мозге и миокарде). Причины такого снижения не совсем понятны, поскольку это уменьшение сопровождалось также и торможением активности ферментов антиоксидантной системы, во всяком случае, его глутатионного звена. Но

Влияние ЭМП на энергообмен, активность Na,K-АТФазы, ГПО и GST и содержание МДА и GSH в головном мозге крыс

Показатель	Группа крыс	
	Контроль (n=10)	Опыт (n=10)
МДА, мкмоль/г ткани	3,22±0,33	2,48±0,38*
GSH, мкмоль/г ткани	0,928±0,037	1,205±0,040*
ГПО, мкмоль/мин/г ткани	6,720±0,052	6,652±0,039
GST ммоль/мин/г ткани	0,816±0,029	0,776±0,014
Эндогенное дыхание, мкмоль O ₂ /г ткани/час	66,6±1,8	111,6±6,6**
Убаин-чувствительное дыхание, мкмоль O ₂ /г ткани/час	25,8±3,6	48,0±16,3*
Активность Na,K-АТФазы, мкмоль Рн/мг белка/час	4,6±1.2	17,3±1,5**

Примечание: * - P<0,05; ** - P<0,01

в то же время было отмечено, что, несмотря на падение активности глутатионпероксидазы и глутатион-S-трансферазы в эритроцитах и неизменность их активности в головном мозге, содержание восстановленного глутатиона все же возрастало как в эритроцитах, так и в головном мозге. Поэтому нами было сделано предположение о том, что ЭМП изменило состояние электронной структуры свободных радикалов, как это уже было отмечено в литературе [7], следствием чего стало снижение уровня перекисного окисления липидов.

Возможно, именно снижение перекисного окисления липидов, в свою очередь, привело к изменению физико-химических свойств биологических мембран, т.е. к увеличению ее текучести, что способствовало активации ионных насосов (Са-насоса в саркоплазматическом ретикулуме миокарда и Na,K-АТФазы в головном мозге). Само увеличение активности ионных насосов, по-видимому, было компенсаторным и осуществилось в ответ на усиление диффузионных процессов, которые обычно развиваются в условиях влияния ЭМП [7].

Немаловажным выводом данной работы явилось также заключение об усилении эритропоэза в условиях воздействия ЭМП низкой интенсивности, что доказывается значительным омоложением эритроцитов в кровеносном русле у адаптирующихся крыс и увеличением количества ретикулоцитов в периферической крови.

На основании анализа комплекса исследованных параметров нами предложена схема влияния ЭМП низкой интенсивности на мембранные структуры клеток различных тканей крыс (рис. 1).

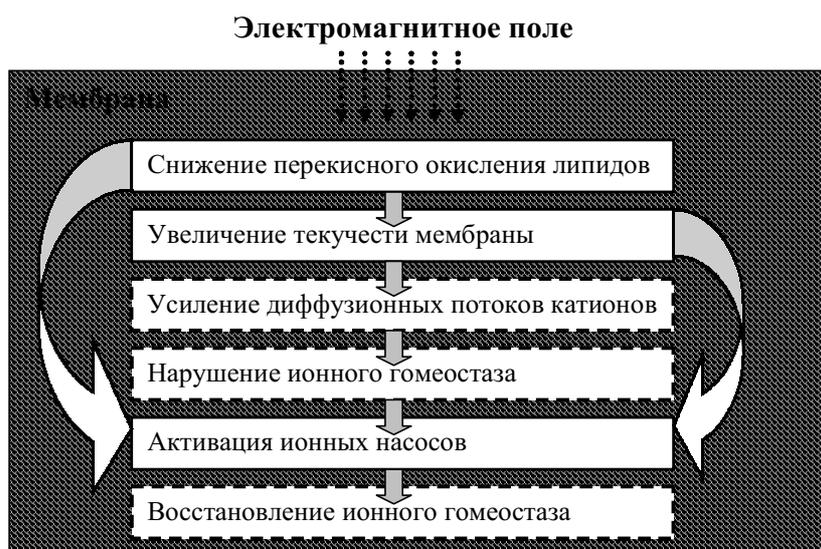


Рис. 1. Влияние ЭМП на функциональное состояние клеточных мембран

Снижение перекисного окисления липидов под действием ЭМП увеличивает текучесть мембраны, что, в совокупности с другими факторами, стимулирует диффузию катионов через клеточную мембрану и нарушает ионный гомеостаз. Нарушение ионного гомеостаза компенсаторно приводит к активации ионных насосов и восстановлению ионного гомеостаза. Условием для активации ионных насосов является снижение уровня перекисного окисления липидов и увеличение текучести мембранных структур.

Таким образом, проведенные нами исследования позволяют считать метаболические изменения, происходящие под влиянием ЭМП в различных тканях крыс, компенсаторно-приспособительными, развивающимися в ответ на нарушения гомеостаза.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аврамова Т.В., Титова Н.М. Руководство по большому биохимическому практикуму, I. Углеводный обмен. - Красноярск: Изд-во Краснояр. гос. ун-та, 1978. – 101 с.
2. Анисимов В.Н., Арутян А.В., Бурмистров С.О. и др. Влияние облучения видеотерминалом персонального компьютера на свободно-радикальные процессы у крыс // Бюлл. экспериментальной биологии и медицины. - 1997. - 124. - №8. - С.192-194.
3. Бениашвили Д.Ж., Биланшвили В.Г., Менатде М.З. и др. Модифицирующее влияние режима освещения и электромагнитных полей на развитие опухолей молочной железы, индуцируемых N-нитрозометилмочевой у самок крыс // Вопр. онкологии. - 1993. - №2. - С.52-60.
4. Бордюшков Ю.Н., Горошинская И.А., Франциянц Е.М., Ткачева Г.Н., Горло Е.И., Нескубина И.В. Структурно-функциональные изменения мембран лимфоцитов и эритроцитов под воздействием переменного поля // Вопр. медицинской химии. - 2000. - №1. - С.72-80.
5. Боровкова Г.И. Фосфолипиды и холестерин при старении эритроцитов, продуцированных в условиях нормального и напряженного эритропоэза: Автореф. Дис. ... канд. биол. наук. – Л., 1983. - 20 с.
6. Введение в биомембранологию/ Под ред. А.А. Болдырева. - М.: Изд-во МГУ, 1990. – 206 с.
7. Гичев Ю.П., Гичев Ю.Ю. Влияние электромагнитных полей на здоровье человека. – Новосибирск: ГПНТБ СО РАН, 1999. – 91 с.
8. Добрецов Г.Е. Флюоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеинов. - М.: Наука, 1989. – 277 с.
9. Дубинина Е.Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состояниях окислительного стресса// Вопр. медицинской химии. - 2001. - 47. - №6. - С.561-581.
10. Замай Т.Н., Маркова Е.В., Титова Н.М. Структурно-функциональные изменения мембран эритроцитов у крыс при адаптации к электромагнитному облучению // Рук. деп. в ВИНТИ: 1616: В2002 от 25.09.2002. – 18 с.
11. Замай Т.Н., Титова Н.М., Замай А.С. и др. Влияние алкогольной интоксикации на содержание воды и активность Na,K-АТФазы и Са-АТФазы в головном мозге крыс. Бюл. экспериментальной биологии и медицины, - 2002. – 134. - №12. - С. 167-169.
12. Замай Т.Н., Замай А.С., Немцева Е.В. Особенности функционирования Са-насоса саркоплазматического ретикулума миокарда крыс в условиях адаптации к электромагнитному полю // Бюлл. экспериментальной биологии и медицины. – 2002. - 134.-№12. – С. 164-166.
13. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Липиды, липопротеиды и атеросклероз. – СПб: ПитерПресс, 1995. – 304 с.
14. Кудряшов А.М., Титова Н.М. Биохимические и физиологические особенности функционирования высокоспециализированных клеток на примере эритроцитов // Рук. деп. в ВИНТИ: 1946: В2001 от 11.09.2001. - 26с.
15. Кудряшов А.М. Исследование роли глутатионовой системы в естественном старении эритроцитов, продуцированных в условиях нормального и напряженного эритропоэза // Автореф. Дис. ... канд. биол. наук. - Тюмень, 2002. – 19 с.
16. Леонова Л.А., Лукьянец Г.Н. Возрастные особенности реакции организма детей 5-7 лет на работу с ПЭВМ // Физиология человека. - 2001. - Т.27. - №6. - С.23-28.
17. Лимфоциты: Методы/ Под ред. Дж.Клауса. - М.: Мир, 1990. – 392 с.
18. Патологическая физиология. - Томск: Изд-во Том. ун-та, 2001.
19. Ремизов А.Н. Медицинская и биологическая физика. - М.: Высш. шк., 1999. – 615 с.
20. Ростовцев В.Н., Резник Г.Е. Количественное определение липидных фракций плазмы крови // Лабораторное дело. - 1982. - №4. – С.218-221.
21. Соколовский В.В. Тиоловые антиоксиданты в молекулярных механизмах неспецифической реакции организма на экстремальные воздействия // Вопр. медицинской химии. - 1988. - 34. - Вып.6. - С.2-11.
22. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. - М.: Медицина, 1977. - С.66-68.
23. Суханова Г.А., Серебров В.Ю. Биохимия клетки. - Томск: Чародей, 2000. – 184 с.
24. Тиунов Л.А. Механизмы естественной детоксикации и антиоксидантной защиты // Вестн. РАМН. - 1995. - № 3. - С.9-13.
25. Транспортные аденозинтрифосфатазы. Современные методы исследований. - М.: Изд-во МГУ, 1977.
26. Фок М.В., Зарицкий А.Р., Зарицкая Г.А., Переведенцева Е.П. Авторегуляция неспецифической проницаемости мембраны эритроцита. - М.: Наука, 1999. – 77 с.
27. Шуленина Н.С. Морфологическое и психофизиологическое состояние учащихся при углубленном использовании компьютера в учебном процессе // Автореф. дис... канд. биол. наук. - Томск, 2002. – 21 с.

28. Anisimov V.N., Zhucova O.V., Beniashvili D.S. et al. Light deprivation, electromagnetic fields and mammary carcinogenesis // Adv. Pineal. Res. –1994.- №7.- P.229-234.
29. Beutler E. Red cell metabolism. A manual of biochemical methods.- Grune & Stratton, Orlando, 1990.-P.131-134.
30. Davies K. J. A., Delsignore M.E. Protein damage and degradation by oxygen radicals. III. Modification of Secondary and Tertiary Structure // J. Biol. Chem. - 1987. – 262. - P.9908-9913.
31. Roth E.F., Grossman H.A., Tanowitz H, Nagel R.L. Reticulocytes Contain Increased Amounts of Reduced Glutathion Except When Produced by Acetylphenylhydrazine // Biochemical Medicine.- 1979.- 21.- P.331-341.

**THE CELL MEMBRANE FUNCTIONING PECULIARITIES UNDER THE INFLUENCE
OF ELECTROMAGNETIC FIELD**

T.N. Zamay, E.V. Markova, N.M. Titova

An affects of the electromagnetic field upon an ion pump functioning condition, energy exchange intensity and a level of lipids peroxide oxidation in the rat's myocardium, cerebrum and blood cells was investigated. Besides, a membrane viscosity of sarcoplasmic reticulum, erythrocytes and lymphocytes was evaluated. It was revealed that electromagnetic field activates ion pumps of the rat's myocardium and cerebrum.

We assume that the reason of Ca-pump (in the myocardium) and Na,K-ATPase (in the cerebrum) activation may be the changing of the membrane's structural and functional characteristics, as a result of a free radical processes reduction. It was discovered that the electromagnetic field stimulates erythropoese.