

УДК 537.811.57

ЭПР СПЕКТРОСКОПИЯ СВОБОДНЫХ РАДИКАЛОВ, ВЫЗВАННЫХ ВОЗДЕЙСТВИЕМ ЭМП НЧ У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ**Леошко И.С., Ильченко Г.П., Шашков Д.И., Дубинина В.Н.***ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный университет», Краснодар, e-mail: lis-mj23@mail.ru*

Воздействие низкочастотного электромагнитного поля в течение 1 часа в день, в течение 10 дней на лабораторных животных приводит к возникновению окислительного стресса. Их регистрацию в плазме крови производили с помощью хемилюминесценции, а в тканях органов – с помощью ЭПР спектроскопии. При этом, в группе лабораторных животных до начала электромагнитного воздействия употреблявших воду, обогащенную по дейтерию (100 ppm) в течение 30 дней окислительный стресс не возникает.

Ключевые слова: свободные радикалы, низкочастотное электромагнитное поле, дейтерий, лабораторные животные, ЭПР спектроскопия, хемилюминесценция

EPR SPECTROSCOPY OF FREE RADICALS CAUSED BY EXPOSURE TO LOW-FREQUENCY EMFS IN LABORATORY ANIMALS**Leoshko I.S., Ilchenko G.P., ShaShkov D.I., Dubinina V.N.***Kuban state university, Krasnodar, e-mail: lis-mj23@mail.ru*

The impact of low-frequency electromagnetic field for 1 hour per day for 10 days in laboratory animals produces oxidative stress. They are registered in the plasma produced by chemiluminescence, and in organ tissues – by EPR spectroscopy. Thus, in the group of laboratory animals prior to exposure to electromagnetic use water depleted in deuterium (100 ppm) for 30 days oxidative stress occurs.

Keywords: free radicals, low-frequency electromagnetic field, deuterium, laboratory animals, EPR spectroscopy, chemiluminescence

В настоящее время опубликовано большое количество научных работ, подтверждающих нетепловые эффекты электромагнитных полей при воздействии на живые системы [1, 2]. Живые организмы различных классов – начиная от одноклеточных и заканчивая человеком проявляют чрезвычайно высокую чувствительность к воздействиям низкочастотного электромагнитного поля [2, 3]. Биологические исследования показали, что самые различные организмы чувствительны к постоянному магнитному и переменному электромагнитному полю различных частот [3-5].

Теоретические модели, описывающие возможные механизмы действия низкочастотного электромагнитного поля (ЭМП НЧ) на живые системы сделали принципиально возможным прогноз действия этих полей на биологические объекты. Одним из основных ограничений теоретических работ стала локальность исходных данных, из-за этого весь спектр возможных резонансных механизмов сводился лишь к действию на концентрации нескольких ионов. В.В. Новиков предположил, что конструктивным может оказаться подход к теоретическому анализу эффектов действия ЭМП НЧ при учете коллективных взаимодействий внешних электрических и магнитных полей с ансамблем большого числа ионов. Система взаимодействующих ионов, веро-

ятно, приводит к образованию заряженных поле ионных структур – кластеров и их взаимодействию с ЭМП НЧ. Эти структуры могут обладать свойством электрохимического аккумулятора, преобразующего энергию внешнего электрического поля, а также часть энергии среды в энергию химических реакций, при управляющем действии на эти процессы слабых компонентов поля, обеспечивающих их когерентность. Очевидно, что низкочастотное ЭМП может выполнять лишь управляющую функцию, производя перераспределение суммарной энергии между компонентами раствора. При этом инициация химических реакций типа конденсации аминокислот является следствием снижения барьера энергии активации за счет ионной организации структуры раствора, т.е. ЭМП НЧ может выполнять функцию селективного катализатора. Согласно этой концепции снимается ряд ограничений на возможность резонансного избирательного действия таких полей на биологические системы [2, 3].

Так, например, Н.А. Темурьянц на 1330 беспородных белых крысах было показано, что ежедневное трехчасовое воздействие переменного магнитного поля с частотой 8 Гц индукцией 5 мк Тл приводит к снижению функционального состояния нейтрофилов на 8–12% уже в первые дни эксперимента.

Также, ЭМП НЧ способно оказывать влияние на содержание эритроцитов в периферической крови животных. Экспериментально установлено, что после начала ежедневного воздействия на 4-5 сутки у опытных животных наблюдается достоверное (на 15-19%) снижение количества эритроцитов в крови по сравнению с контрольными животными. На 16 сутки ежедневного воздействия магнитным полем низкой частоты в эритроцитах у животных увеличивается содержание более мелких форм клеток. То есть при многодневном действии происходят значительные обратимые изменения морфологического состава крови у мышей, что закономерно проявляется в заметном снижении количества эритроцитов в циркулирующей крови, увеличении размеров депо крови (печени и селезенки) [4].

Таким образом, ЭМП НЧ способно вызывать образование свободных радикалов в организме лабораторных животных при длительном воздействии.

В ряде работ было показано, что употребление обедненной по дейтерию воды лабораторными животными может приводить к усилению иммунитета и изменению окислительного метаболизма [7, 8].

Целью данной работы являлось исследование возможности купирования окислительного стресса, вызванного воздействием ЭМП НЧ на лабораторных животных с помощью длительного употребления воды, обедненной по дейтерию.

Материалы и методы исследования

На основе ранее проведенных работ, было принято решение подвергать кровь и лабораторных животных обработке электромагнитным полем в диапазоне 3-16 Гц, магнитной индукцией 30 мкТл. Обработку крыс низкочастотным электромагнитным полем про-

изводили по методике, описанной в [3]. Время, в течение которого проводили воздействие составляло 1 час. Измерение магнитной индукции проводили при помощи портативного прибора «Экофизика-110А», погрешность измерений которого составляла $\pm 3\%$.

В эксперименте крысы были разделены на несколько групп:

- пьющие дистиллированную минерализованную воду, лабораторные животные ($n = 7$);

- пьющие дистиллированную минерализованную воду, лабораторные животные, подвергаемые воздействию ЭМП НЧ 1 час ежедневно, в течение 10 дней ($n = 7$);

- пьющие дистиллированную минерализованную воду, обедненную по дейтерию (100 ppm), лабораторные животные, подвергаемые 1 час ежедневно воздействию ЭМП НЧ, в течение 10 дней ($n = 7$).

Измерение спектров ЭПР лиофилизированных органов проводили при комнатной температуре на спектрометре JES Fa 300 (JEOL, Япония) в X-диапазоне. Лиофилизацию проводили при помощи лиофильной сушилки ЛС-1000.

Воду с пониженным содержанием дейтерия получали на установке, разработанной в Кубанском государственном университете [9]. Исходная концентрация дейтерия в получаемой воде составляла 40 ppm (≈ 85 мг/л). Ее разбавляли дистиллированной водой с содержанием дейтерия 150 ppm до концентрации 100 ppm. По международному стандарту SMOW абсолютное содержание дейтерия в океанической воде составляет $155,76 \pm 0,05$ ppm (≈ 330 мг/л). Определение концентрации дейтерия в полученной воде были проведены на импульсном ЯМР спектрометре JEOL JNM-ECA 400MHz [10].

Для определения частоты, наиболее эффективно вызывающей окислительный стресс у лабораторных животных, образцы крови в объеме 0,5 мл помещали в пластиковые кюветы (14 штук для крыс употреблявших обычную воду и 14 штук для крыс, употреблявших воду с содержанием дейтерия 100 ppm). Каждый образец подвергали воздействию ЭМП НЧ с различной частотой (3-16 Гц) в течение 10 минут. Изучали показатели хемилюминесценции крови после обработки ЭМП НЧ, по полученным данным производили выбор наиболее оптимальной частоты для воздействия на лабораторных животных.

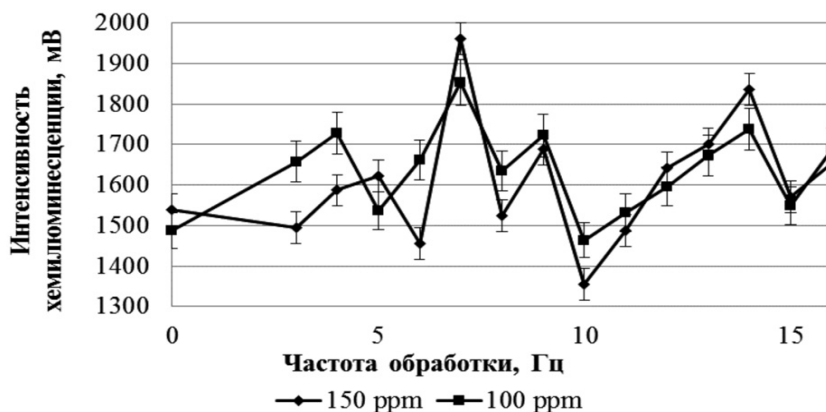


Рис. 1. Результаты измерения хемилюминесценции крови крыс, употреблявших обычную воду и воду с содержанием дейтерия 100 ppm

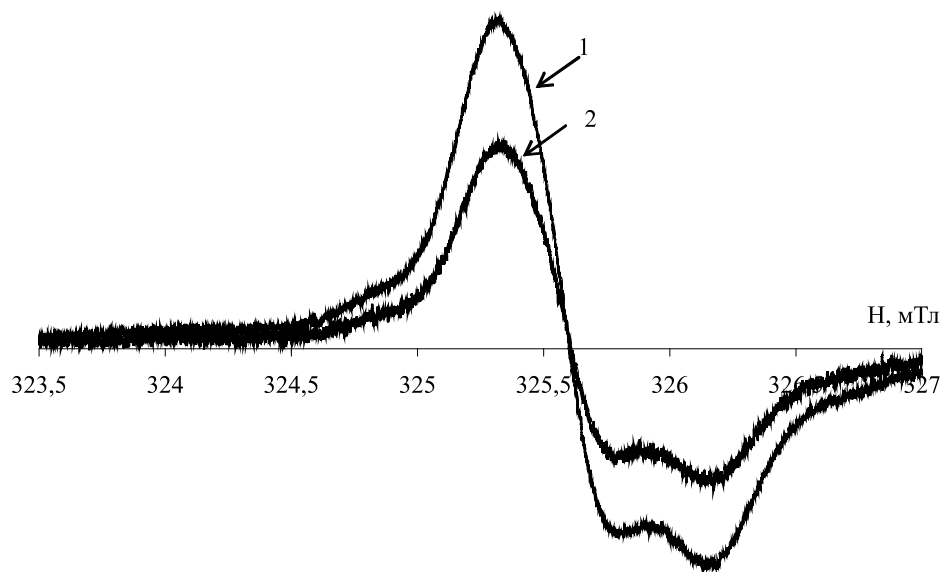


Рис. 2. ЭПР спектры лиофилизированных тканей печени лабораторных животных, подвергнутых воздействию ЭМП НЧ (1) и контрольной группы (2)

Использованный в работе хемилуминометр Lum-5773 измеряет интенсивность света, возникающего в химических и биологических образцах. Значения интенсивности свечения соответствуют световому потоку, т.е. количеству фотонов в единицу времени. При этом $1 \text{ мВ} \approx 1 \text{ фотону/сек}$.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли методами вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента. Достоверным считали различие при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты исследования образцов крови лабораторных животных, на хемилуминометре представлены на рис. 1.

Как видно из рис. 1, направленность хемилуминоесценции при обработке образцов крови крыс употреблявших обычную воду и воду с пониженным содержанием дейтерия при ее обработке в диапазоне 3-16 Гц одинакова. Наиболее предпочтительной частотой для обработки лабораторных животных ЭМП НЧ является 7 Гц, т.к. в обоих случаях на этой частоте наблюдается максимальная вспышка хемилуминоесценции.

На рис. 2 представлен типичный спектр ЭПР лиофилизированных тканей лабораторных животных.

Исходя из вида ЭПР спектра, можно сделать вывод, что мы наблюдали семихиноновые радикалы убихинона. Согласно полученным данным ЭПР спектроскопии у крыс, употреблявших обычную воду (с содержанием дейтерия 150 ppm) наблюдали увеличение количества парамагнитных центров на 16-19% по сравнению с контрольной груп-

пой. У крыс, употреблявших обедненную по дейтерию воду в лиофилизированных органах (печени, почках, сердце) наблюдали увеличение количества парамагнитных центров в сравнении с контрольной группой на 3-5%. Это свидетельствует о том, что вода с пониженным содержанием дейтерия оказывает влияние на прооксидантно-антиоксидантную систему организма, снижая интенсивность свободно-радикального окисления и восстанавливая потенциал эндогенной антиоксидантной системы при воздействии внешнего ЭМП НЧ на организм. При воздействии низкочастотным электромагнитным полем положительный эффект воды с пониженным содержанием дейтерия объясняется ее возможным иммуномодулирующим эффектом, позволяющим уменьшить отрицательное воздействие электромагнитного поля на организм.

Заключение

Таким образом, вода с пониженным содержанием дейтерия оказывает влияние на прооксидантно-антиоксидантную систему организма, снижая интенсивность свободно-радикального окисления и восстанавливая потенциал эндогенной антиоксидантной системы при воздействии внешнего низкочастотного ЭМП на организм. Следует отметить, что в плазме крови и тканях организма лабораторных животных происходит достоверное снижение концентрации дейтерия при употреблении воды с пониженным содержанием дейтерия. При воздействии низкочастотным электромагнитным полем

положительный эффект воды с пониженным содержанием дейтерия объясняется ее возможным иммуномодулирующим эффектом, позволяющим уменьшить отрицательное воздействие электромагнитного поля на организм.

Список литературы

1. Барышев М.Г., Касьянов Г.И., Джимаков С.С. Влияние низкочастотного электромагнитного поля на биологические системы // Известия вузов. Пищевая технология. – 2007. – № 3. – С. 44–48.
2. Барышев М.Г., Васильев Н.С., Куликова Н.Н., Джимаков С.С. Влияние низкочастотного электромагнитного поля на биологические системы. – Ростов-на-Дону: ЮНЦ РАН, 2008. – 288 с.
3. Барышев М.Г., Васильев Н.С., Джимаков С.С. Влияние воды, обработанной ЭМП КНЧ на микроорганизмы *Saccharomycetes cerevisiae* // Вестник РУДН. Серия Экология и безопасность жизнедеятельности. – 2009. – № 2. – С. 22–25.
4. Барышев М.Г., Джимаков С.С., Кадамша А.М. Исследование влияния магнитообработанной воды на биологические объекты // Вестник РУДН. Серия Экология и безопасность жизнедеятельности. – 2008. – № 2. – С. 69–74.
5. Барышев М.Г., Джимаков С.С., Долгов М.А., Дыдыкин А.С., Касьянов Г.И. О возможности применения воды с модифицированным изотопным составом и pH в мясной промышленности // Известия вузов. Пищевая технология. – 2012. – № 2-3. – С. 42–44.
6. Джимаков С.С., Басов А.А., Федуллова Л.В., Дыдыкин А.С., Быков И.М., Арцыбашева О.М., Наумов Г.Н., Барышев М.Г. Коррекция метаболических процессов у крыс при хроническом эндотоксикозе с помощью реакций изотопного (D/H) обмена // Известия РАН. Серия биологическая. – 2015. – № 5. – С. 518–527.
7. Джимаков С.С., Басов А.А., Копытов Г.Ф., Кашаев Д.В., Соколов М.Е., Арцыбашева О.М., Шарапов К.С., Барышев М.Г. Применение ЯМР-спектроскопии для определения низких концентраций нерадиоактивных изотопов в жидких средах // Известия высших учебных заведений. Физика. – 2015. – Т. 58, №7. – С. 47–52.
8. Дроздов А.В., Нагорская Т.П., Масюкевич С.В., Горшков Э.С. Квантово-механические аспекты эффектов слабых магнитных полей на биологические объекты // Биофизика. – 2010. – Т. 55, № 4. – С. 740–749.
9. Сташков А.М., Горохов И.Е. Гипоксическое и антиокислительное биологическое действие многодневного применения слабого переменного магнитного поля сверхнизкой частоты // Биофизика. – 1998. – Т. 43, Вып. 5. – С. 807–810.
10. Патент РФ № 2438765, 10.01.2012.
11. Фролов В.Ю., Барышев М.Г., Болотин С.Н., Джимаков С.С. Способ получения биологически активной питьевой воды с пониженным содержанием дейтерия // Патент РФ № 2438765. 2012. Бюл. № 1.