

НЕИОНИЗИРУЮЩИЕ ИЗЛУЧЕНИЯ

УДК 612.014.426:599.323.4:577.151.62:591.111.1

**ДЕЙСТВИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО
ИЗЛУЧЕНИЯ С ЧАСТОТОЙ 900 МГц НА ФЕРМЕНТНЫЕ АКТИВНОСТИ
ПЕЧЕНИ И СЫВОРОТКИ КРОВИ КРЫС**

© 2014 г. Л. С. Нерсесова*, М. С. Петросян, М. Г. Газарянц, З. С. Мкртчян, Г. О. Меликсетян,
Л. Г. Погосян, Ж. И. Акопян

Институт молекулярной биологии НАН РА, Ереван, Республика Армения

Сравнительный анализ изменений уровней активности креатинкиназы, аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы, щелочной фосфатазы и пуридиннуклеозидфосфорилазы печени и сыворотки крови крыс в разные сроки после общего 2-часового однократного и фракционного воздействий на животных низкоинтенсивного электромагнитного излучения с частотой 900 МГц показал, что при обоих режимах воздействия наиболее заметными являются изменения активности ферментов: в печени – креатинкиназы, в сыворотке крови – креатинкиназы и щелочной фосфатазы. Согласно анализу динамики пострадиационных изменений активности изученных здесь ферментов как однократное, так и фракционное облучение существенно не влияет на проницаемость клеточных мембран гепатоцитов, но вызывает изменения в энергетическом метаболизме их; при этом имеют место адаптационные изменения активности креатинкиназы гепатоцитов, которые компенсируют последствия этого воздействия. Корреляционный анализ пострадиационных изменений уровней активности исследованных ферментов не выявил взаимосвязи между ними. Сравнение пострадиационных эффектов использованных режимов облучения на активность ферментов в изученные сроки значимых различий между ними не выявило.

Мобильные телефоны, низкоинтенсивное электромагнитное излучение с частотой 900 МГц, однократное и фракционное общее облучение, креатинкиназа, аланинаминотрансфераза, аспаратаминотрансфераза, щелочная фосфатаза, пуридиннуклеозидфосфорилаза, печень, сыворотка крови, крысы.

DOI: 10.7868/S0869803114050129

Бурное развитие телевидения, радиовещания, систем связи и особенно широкомасштабное использование мобильной связи вызвали существенное изменение электромагнитной среды обитания людей, что, в свою очередь, стимулировало в последние годы всплеск научных исследований в области изучения влияния электромагнитных полей (ЭМП) на здоровье человека с целью оценки возможных рисков [1, 2]. Несмотря на противоречивый характер накопленных данных, широко представленных в аналитическом обзоре Лаци-Халберта и соавт. [2], большинство экспериментальных и эпидемиологических работ свидетельствует о негативном воздействии низкоинтенсивных ЭМП на репродуктивную функцию, развитие плода, нейрологические функции и поведенческие реакции [3, 4]. Показано иммуностимулирующее действие прямого и опосредованного воздействия низкоинтенсивных ЭМП: например, облучение мышей-самцов, экспози-

ция макрофагов *in vitro* или даже предварительное облучение среды для культивирования клеток в ЭМП с малой напряженностью (1 мкВт/см²) вызывали значительное увеличение продукции фактора некроза опухолей в перитонеальных макрофагах [5]. Получены данные о повышении онкологических рисков, особенно, что касается рака головного мозга у детей [6–8]. Более того, в обосновании Международной научной программы ВОЗ по биологическому действию ЭМП (1996–2005) высказано предположение, что такие медицинские последствия, как потеря памяти, изменения в поведении, болезни Паркинсона и Альцгеймера, детский синдром внезапной смерти, рак и другие могут быть результатом воздействия ЭМП [9]. В серии экспериментальных работ Ю.Г. Григорьева и сотр. [10–13], проведенных недавно в рамках Международной программы ВОЗ, подтверждены полученные ранее этими авторами данные о наличии иммунологических и репродуктивных эффектов при хроническом облучении радиочастотными электромагнитными полями. Тесная близость антенны используемых мобильных телефонов, являющихся источниками

* Адресат для корреспонденции: Республика Армения, 0014 Ереван, ул. Асратяна, 7, Институт молекулярной биологии НАН РА; тел.: (37410) 28-75-06, (37410) 28-16-26; факс: (37410) 28-21-60; e-mail: l.nersesova@yahoo.com.

низкоинтенсивных ЭМП, к абдоминальным органам, в частности, к печени, повышает риск поражения этого органа. Кроме того, печень – важнейший метаболический орган и основной орган детоксикации, отличается высокой чувствительностью к действию вредных экологических факторов. В связи с этим в настоящей работе исследовано воздействие низкоинтенсивного электромагнитного излучения (ЭМИ) с частотой 900 МГц (используемого обычно в мобильной радиотелефонной связи) одновременно на активность следующих ферментов в печени и сыворотке крови крыс: креатинкиназы (КК), аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспаратаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ) и пуриноклеозидфосфорилазы (ПНФ). АЛТ, АСТ и ЩФ – основные биохимические маркеры функционального состояния печени, КК – ключевой фермент энергетического обмена клеток и ПНФ характеризует иммунный статус организма. В доступной нам литературе не обнаружено данных о влиянии ЭМИ радиочастотного диапазона на активность КК и ПНФ; что касается АСТ, АЛТ и ЩФ сыворотки крови и печени, то в ряде работ исследовано воздействие ЭМИ на активность этих ферментов, однако при других режимах облучения и отдельно, либо в сыворотке крови, либо в печени [14–6]. Последнее не позволило обсудить взаимосвязь изменений активности сывороточных и печеночных ферментов и оценить связь их регистрируемой активности с изменениями проницаемости мембран гепатоцитов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Опыты проводили на белых беспородных крысах-самцах 6-месячного возраста, весом 180–200 г, содержащихся в строго стандартных условиях. Экспериментальные животные были разделены на две опытные группы, каждая по 20 крыс, и на две контрольные группы, каждая по 12 крыс. В первой опытной группе крыс подвергали облучению однократно в течение 2 ч, во второй группе – кратковременному фракционному облучению в течение 4 дней по 0.5 ч ежедневно, таким образом, набирая 2-часовое воздействие ЭМИ из четырех отдельных сеансов облучения. Клетку с соответствующей каждой опытной группе контрольной группой крыс помещали под выключенным генератором. Пострадиационные эффекты изучали через 1, 5, 10 и 20 сут путем отбора из 20 облученных крыс на каждый срок подгрупп по 5 опытных крыс и по 3 соответствующих им контрольных животных.

В качестве источника излучения использовали генераторный блок “панорамного измерителя Х1-42” (СССР) с мощностью на выходе 8 мВт, диапазоном генерируемых частот 0.1–1250 МГц, позволявший в цифровой индикации с большой точностью устанавливать как центральную частоту, так и полосу генерации во всем диапазоне перестройки генератора. Излучателем служила компактная (117 × 120 мм²) антенна Минковского фрактального типа нового поколения. Резонансная частота антенны была рассчитана таким образом, чтобы ее центральная частота соответствовала 900 МГц.

Общее облучение крыс проводили в изолированном помещении, предназначенном для подобных опытов. В нем отсутствовали работающие приборы, а экранирование внешних ЭМП обеспечивалось наличием в стенах каркаса из медной сетки и отдельного заземления. Животных каждой опытной группы в одно и то же время суток помещали в контейнер из пластиковый сетки (габариты 25 × 22 × 15 см³), который ставили на деревянный стол рядом с генератором, и подвергали тотальному воздействию полосой микроволн с центральной частотой 900 МГц в непрерывном режиме. Во время сеанса облучения крысы имели возможность свободного перемещения в клетке. Антенна располагалась почти вплотную к верхней поверхности клетки, так что расстояние от антенны до дна контейнера составляло ~15 см, а до спины животных ~8 см. Площадь поверхности антенны, коэффициент усиления, диаграмма направленности от амплитудного значения были рассчитаны так, чтобы телесный угол излучения соответствовал площади излучения, т.е. зоне охвата объекта облучения. Так, при измерении диаграммы направленности антенны на уровне 3 дБ от амплитудного (максимального) значения определяли угол ±40°. Следовательно, телесный угол излучения (на уровне тел облучаемых животных) был равен ~80°, что соответствовало площади покрытия облучаемых объектов излучением, почти одинаковой по двум плоскостям. Расчеты дальней зоны проведены по классической формуле:

$$R \geq 2D^2/\lambda, \quad (1)$$

где R – расстояние дальней зоны; $D \approx 120$ мм – наибольший размер антенны; $\lambda = 330$ мм – рабочая длина волны излучения. Подставляя эти значения в формулу (1), получим $R \geq 90$ мм = 9 см.

Исходя из этих данных, а именно: значения дальней зоны 9 см, рабочего расстояния от плоскости антенны до дна клетки с крысами 15 см, величины телесного угла облучения 80°, а также с

учетом размеров клетки, можно утверждать, что крысы надежно находились в поле облучения по всем направлениям.

Мощность излучения, измеренная с помощью ваттметра “МЗ_10” непосредственно на выходе приемной антенны, расположенной на расстоянии 15 см, т.е. на таком же расстоянии от аналогичной передающей антенны, как и до дна клетки, составляла ~2 мВт.

Достоверность результатов измерения проверяли также теоретическими расчетами по формуле:

$$P_{\text{прием}} = P_{\text{перед}}(G_1 \cdot G_2)/L, \quad (2)$$

где $P_{\text{прием}}$ — мощность на выходе приемной антенны; $P_{\text{перед}}$ — мощность на входе приемной антенны; G_1 — усиление передающей антенны: $G_1 = 4 \text{ дБ} = 2.5$ (раза); G_2 — усиление приемной антенны: как и G_1 , $G_2 = 4 \text{ дБ} = 2.5$ (раза); $L = (4\pi R/\lambda)^2$ — потери, обусловленные поглощением энергии в пространстве между антеннами на рабочей длине волны; R — расстояние между антеннами: $R = 15$ см; λ — рабочая длина волны, равная 33 см, так как используемая частота 900 МГц. Подставляя эти значения в формулу (2), получим значение $P_{\text{прием}} = 1.66$ мВт, которое с учетом ошибок измерения достаточно близко по величине с измеренной.

Плотность потока энергии S_G рассчитывали по формуле:

$$S_G = P_{\text{ген}} \cdot G_A / 4\pi R^2, \quad (3)$$

где $P_{\text{ген}}$ — мощность излучения в непрерывном режиме на выходном фланце генератора, Вт (8 мВт); G_A — усиление антенны: $G_A = 4 \text{ дБ} = 2.5$ (раза); R — расстояние между антенной и дном клетки (15 см), или же от антенны до спины животных (8 см). Подставляя эти значения в формулу (3), получим величину плотности потока энергии S_G на дне клетки 7 мкВт/см², а на уровне спины крыс — 25 мкВт/см², что в первом случае ниже установленного межгосударственными санитарными правилами и нормами в Российской Федерации предельно допустимого уровня (ПДУ) электромагнитных полей радиочастотного диапазона в 10 мкВт/см², а во втором случае — хотя несколько выше установленных в РФ норм, но намного ниже ПДУ, принятых в США (300–1200 мкВт/см²) [17].

Декапитацию животных проводили после эфирного наркоза. Кровь после свертывания центрифугировали в рефрижераторной центрифуге $k = 24$ (“Janetsky”, ГДР) при 800 g в течение 20 мин и полученную сыворотку использовали в тот же день для определения активности ферментов. Печень тщательно отмывали от крови охла-

жденным физиологическим раствором и гомогенизировали в экстрагирующем растворе 0.1 моль/л трис-НСI, pH 7.2, содержащем 5 ммоль/л дитиотреитола (ДТТ) и 1 ммоль/л этилендиаминтетраацетата (ЭДТА). Экстракты, полученные после центрифугирования гомогенатов при 23000 g в течение 30 мин, использовали для определения активности ферментов.

Активность ферментов в сыворотке крови и экстрактах печени определяли: КК — по накоплению свободного креатина [18], ПНФ — по накоплению гуанина [19], ЩФ — по накоплению тимолфалеина в реакции дефосфорилирования тимолфалеин монофосфата [20], АЛТ и АСТ — на основе измерения убыли восстановленного никотинамидадениндинуклеотида (НАДН) в сопряженных реакциях с лактатдегидрогеназой и малатдегидрогеназой, соответственно [20]. Активность ферментов выражали в мкмоль использованного субстрата или полученного продукта на 1 г влажной ткани в мин, а для сыворотки крови — в мкмоль/л/мин.

Для статистической обработки данных использован пакет программ SPSS. Характер распределения значений полученных данных определен методом Колмогорова—Смирнова. В связи с непараметрическим распределением их они приведены в таблицах в виде показателя медиана/интерквартильный диапазон. Сравнительный анализ проводили с использованием непараметрического теста Манна—Уитни. Различия считались достоверными при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

КК — ключевой фермент энергетического обмена клеток, обеспечивающий поддержание на постоянном уровне содержания универсального источника энергии — АТФ. Как показано рядом авторов, выраженность фермента КК, как маркера энергетического статуса клетки, проявляет высокую чувствительность к окислительному стрессу, причем как на посттранскрипционном, так и на генном уровнях [21, 22]. Одной из особенностей КК как фермента является его способность тонко реагировать на структурно-функциональные изменения в клетке, что проявляется в изменениях активности КК и ее изоферментного состава [23, 24]. Именно эта способность креатинкиназы лежит в основе широкого применения этого фермента в качестве биохимического маркера энергетического статуса клеток.

Данные, приведенные в табл. 1, хорошо согласуются с вышеприведенными положениями. Ответная реакция печеночной КК на воздействие

Таблица 1. Активность КК (медиана и (в скобках) интерквартильный диапазон) в печени и сыворотке крови крыс в разные сроки после воздействия электромагнитного излучения с частотой 900 МГц в одноразовом и фракционном режимах

Однократное облучение				Фракционное облучение				Контроль
Пострадиационные дни								
1	5	10	20	1	5	10	20	
Печень								
0.65 (0.53–0.70)**	0.58 (0.51–0.73)**	0.90 (0.85–0.94)**	0.97 (0.93–1.03)**	0.52 (0.51–0.53)**	0.47 (0.38–0.49)	0.99 (0.82–1.10)*	0.69 (0.62–0.76)**	0.39 (0.38–0.40)
Сыворотка крови								
0 (0.00–13.76)**	64.96 (57.25–66.99)	120.18 (94.20–145.36)**	144.55 (115.72–185.97)**	0 (0.00–17.05)**	0 (0.00–17.46)**	94.6 (86.28–107.19)*	69.84 (62.94–124.25)	56.84 (54.01–66.99)

Примечание. $n = 5$ в каждой опытной подгруппе; $n = 24$ в объединенной контрольной группе.

* Отличие от контроля достоверно, $p < 0.05$; ** отличие от контроля достоверно, $p < 0.001$.

радиочастотного излучения 900 МГц как при однократном, так и при фракционном режимах облучения проявляется в виде повышения уровня активности фермента, причем на 10-е и 20-е сут более чем в 2 раза. Следует отметить, что если при однократном облучении имеет место постепенное нарастание эффекта, то при фракционном облучении к 20-м сут намечается тенденция возвращения к контрольному уровню (примечание: поскольку величины уровней активностей всех исследованных ферментов в контрольных подгруппах при обоих режимах облучения статистически достоверно не отличались друг от друга, для удобства восприятия табл. 1–4 представляется возможным дать объединенный контроль).

В сыворотке крови труднообъяснимое падение активности КК в 1-е сут как после однократного, так и фракционного облучения сменялось ее постепенным повышением в последующие пострадиационные сроки, и к 20-м сут в случае фракционного облучения наблюдалась тенденция к стабилизации значений показателя на уровне, близком к контрольному.

Как известно, АЛТ, АСТ и ЩФ – основные клинические биохимические маркеры функционального состояния печени [20]. В табл. 2 представлены данные по влиянию радиочастотных электромагнитных волн на активность АСТ и АЛТ в печени и сыворотке крови. Как видно из этих данных, при однократном 2-часовом общем облучении у крыс на 10-е и 20-е сут после воздействия ЭМИ в печени регистрируется достоверное понижение уровня активности АСТ по сравнению с контролем, тогда как в сыворотке крови достоверных изменений уровня активности АСТ не наблюдается ни в один из исследуемых пострадиационных сроков. Это свидетельствует об отсутствии связи между уменьшением активности

фермента в печени и сохранением ее в сыворотке крови, что указывает на отсутствие изменений проницаемости для фермента клеточных мембран гепатоцитов.

В этой же серии опытов уровень активности АЛТ как в печени, так и в сыворотке крови достоверно не изменялся.

4-дневное фракционное облучение крыс по 0.5 ч ежедневно в случае АСТ вызывало уже в 1-е сут после окончания воздействия радиации 25%-ное падение уровня ферментной активности в печени, сопровождавшееся соизмеримым по величине повышением активности в сыворотке крови, однако достоверной корреляции между этими изменениями не было ($r = -0.378$; $p = 0.023$). Колебания активности печеночной АСТ около контрольного уровня в последующие дни к 20-м сут переходили в достоверное 30%-ное понижение активности этого фермента по сравнению с контролем при том, что активность сывороточной АСТ в эти сроки достоверно не изменялась. В связи с последним можно предположить, что понижение активности печеночной АСТ не связано с изменением клеточной проницаемости гепатоцитов, а может быть вызвано ингибированием ее или понижением уровня экспрессии этого ферментного белка.

Достоверное понижение активности АЛТ печени после фракционного облучения обнаруживается только на 10-е сут, а к 20-м сут она возвращается к контрольному уровню. При этом активность сывороточной АЛТ остается без изменений по сравнению с контролем, что указывает на вероятное отсутствие связи между изменениями активности печеночной и сывороточной АЛТ и, таким образом, косвенно, на сохранение целостности клеточной мембраны гепатоцитов.

Таблица 2. Активность (медиана и (в скобках) интерквартильный диапазон) АСТ и АЛТ в печени и сыворотке крови крыс в разные сроки после однократного и фракционного воздействия электромагнитного излучения с частотой 900 МГц

Однократное облучение		Фракционное облучение					Контроль	
Пострадиационные дни								
1	5	10	20	1	5	10	20	
АСТ печени								
45600 (30755–47950)	40000 (19723–52315)	34780 (26390–36035)**	35340 (31715–38100)**	32650 (29915–34335)**	44150 (33615–54495)	35400 (31647–36385)*	30880 (27155–36225)**	42600 (40995–50820)
АЛТ печени								
10530 (9682–12089)	8995 (6624–12460)	10650 (8360–12680)	12230 (9770–13495)	7924 (6832–9016)	7937 (6520–9354)	7545 (5525–8845)*	10750 (8205–13845)	10500 (8715–13660)
АСТ сыворотки крови								
164.4 (157.7–197.0)	186.9 (153.2–221.6)	143.7 (133.1–197.1)	176.4 (142.2–188.2)	212.9 (180.6–280.4)*	164.4 (152.4–192.2)	137.4 (130.6–169.4)	146.1 (133.0–169.1)	151.8 (120.8–182.4)
АЛТ сыворотки крови								
69.6 (58.9–91.7)	53.4 (47.3–55.7)	36.7 (32.4–45.9)	40.6 (32.6–41.8)	77.1 (64.1–87.3)	66.6 (53.5–83.9)	63.8 (46.2–117.8)	82.6 (71.4–84.7)	75.0 (51.6–82.1)

Примечание. $n = 5$ в каждой опытной подгруппе; $n = 24$ в объединенной контрольной группе.

* Отличие от контроля достоверно, $p < 0.05$; ** отличие от контроля достоверно, $p < 0.001$.

Таблица 3. Активность (медиана и (в скобках) интерквартильный диапазон) ЩФ в сыворотке крови крыс в разные сроки после однократного и фракционного воздействия электромагнитного излучения с частотой 900 МГц

Однократное облучение				Фракционное облучение				Контроль
Пострадиационные дни								
1	5	10	20	1	5	10	20	
120.5 (88.5–153.0)*	130.1 (119.5–141.0)**	31.5 (27.9–34.3)**	60.0 (52.5–90.0)	100.0 (88.3–111.8)*	117.2 (110.0–125.1)**	126.0 (106.5–145.5)*	147.5 (127.5–150.0)**	80.0 (55.0–90.3)

Примечание. $n = 5$ в каждой опытной подгруппе; $n = 24$ в объединенной контрольной группе.

* Отличие от контроля достоверно, $p < 0.05$; ** отличие от контроля достоверно, $p < 0.001$.

Таблица 4. Активность ПНФ (медиана и – в скобках: интерквартильный диапазон) в печени крыс в разные сроки после однократного и фракционного воздействия электромагнитного излучения с частотой 900 МГц

Однократное облучение				Фракционное облучение				Контроль
Пострадиационные дни								
1	5	10	20	1	5	10	20	
0.18 (0.12–0.20)	0.22 (0.18–0.25)	0.16 (0.15–0.19)	0.18 (0.11–0.21)	0.18 (0.16–0.22)	0.21 (0.16–0.24)*	0.22 (0.21–0.25)	0.19 (0.19–0.20)	0.18 (0.15–0.21)

Примечание. $n = 5$ в каждой опытной подгруппе; $n = 24$ в объединенной контрольной группе.

* Отличие от контроля достоверно, $p < 0.05$; ** отличие от контроля достоверно, $p < 0.001$.

Что касается сывороточной ЩФ (табл. 3), то активность ее реагирует на воздействие как однократного, так и фракционного облучения почти во все исследованные пострадиационные сроки. В первой серии опытов значительное повышение активности фермента в первые два пострадиационных срока на 10-е сут сменяется понижением активности ЩФ более чем в 2 раза, а к 20-м сут возвращается к контрольному уровню. Необходимо отметить, что колебательные изменения активности, а также изоферментных спектров и кинетических параметров показаны для ряда ферментов и, в целом, характерны для пострадиационных биологических эффектов [24–28]. При фракционном облучении активность сывороточной ЩФ повышается параллельно удлинению пострадиационного срока и на 20-е сут почти вдвое превышает контрольный уровень. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о значительной чувствительности сывороточной ЩФ к воздействию радиочастотного излучения.

ПНФ – фермент, характеризующий иммунный статус организма, поскольку ингибирование этого фермента ведет к нарушению гомеостаза нуклеозидов, что вызывает Т-клеточный иммунодефицит [28, 30]. Кроме того, как показано в одном из последних широкомасштабных совместных международных проектов по использованию протеомных методов для идентификации маркеров гепатотоксичности, индуцированной различными агентами, ПНФ вместе с

витамин Д-связывающим белком, малатдегидрогеназой, параоксаназой, клеточным ретинол-связывающим белком и F-протеином идентифицирована в числе шести наиболее ранних и эффективных сывороточных маркеров гепатотоксичности [31]. Последнее в настоящем исследовании послужило основанием для выбора этого фермента в качестве маркера как иммунного статуса организма [19], так и функционального состояния печени. Как видно из табл. 4, если не учитывать факт небольшого активирования фермента на 5-е сут после фракционного облучения, печеночная ПНФ проявляет значительную резистентность к воздействию как при однократном, так и при фракционном облучении.

ОБСУЖДЕНИЕ

Как показано в ряде работ, радиочастотное излучение, испускаемое мобильными телефонами, индуцирует в клетках образование свободных радикалов кислорода, которые вызывают перекисное окисление липидов и изменения в антиоксидантной системе, ведущие к оксидативному стрессу и, как следствие, к повреждению компонентов клеток, таких как ферменты, ДНК, липиды [14, 17, 32]. Эффект оксидативного стресса зависит от силы его выраженности. Клетки могут вернуться в исходное состояние при небольших нарушениях. Однако более выраженный оксидативный стресс вызывает клеточную смерть. Известно, что биохимический

мическим критерием повреждения ферментов является утрата присущей им активности. Окончательное проявление биологического поражения ферментных молекул может растягиваться на дни. Исходя из этого нами в качестве пострadiaционных сроков исследования как в серии опытов по однократному облучению, так и в серии опытов по фракционному облучению были выбраны 1-е, 5-е, 10-е и 20-е сут. Более того, последнее было обусловлено тем, что, согласно данным, полученным нашими коллегами, использовавшими идентичную экспериментальную модель, при обоих режимах облучения как на 1-е, так и на 5-е сут после облучения имеет место повышение значений показателей интенсивности перекисного окисления липидов мембран эритроцитов, метаболические процессы в которых при стрессе и клинической патологии отражают реакцию клеток на уровне всего организма [17].

Сравнительный анализ изменений уровней активности КК, АЛТ, АСТ, ЩФ и ПНФ печени и сыворотки крови крыс, подвергнутых тотальному однократному и фракционному воздействию ЭМИ с частотой 900 МГц, показал, что наиболее чувствительным к обоим режимам воздействия ферментом печени является КК. Пострадиационное повышение уровня активности КК вплоть до 20-х сут при обоих режимах облучения может быть обусловлено как дополнительной экспрессией ферментного белка, так и химической модификацией его структуры, что, возможно, компенсирует нарушения энергетического гомеостаза гепатоцитов. Разнонаправленные колебания уровня активности сывороточной КК в разные пострadiaционные сроки труднообъяснимы (табл. 1). При этом корреляционный анализ не выявил связи между уровнями активности КК печени и сывороточной КК ни в один из исследованных сроков, что, возможно, указывает на отсутствие факта выхода цитоплазматической КК клеток печени в кровоток, а следовательно, и нарушения проницаемости клеточной мембраны гепатоцитов под влиянием неионизирующего излучения.

О пострadiaционной сохранности проницаемости клеточной мембраны гепатоцитов косвенно свидетельствуют и данные об отсутствии достоверных изменений активности сывороточных АЛТ и АСТ, служащих общепринятыми маркерами целостности клеточных мембран гепатоцитов. Исключение составляют только первые сутки после фракционного облучения, на которые отмечается достоверное 30%-ное повышение активности сывороточной АСТ ($p = 0.028$), которое, однако, не противоречит указанному выше

предположению, поскольку оно корреляционно не связано ($r = -0.378$; $p = 0.023$) с достоверным ($p = 0.05$) понижением активности АСТ в печени в этот же срок. Здесь следует отметить, что АСТ, которая, в отличие от АЛТ, присутствует как в гиалоплазме, так и в митохондриях гепатоцитов, проявляет большую, чем АЛТ, чувствительность к облучению в обоих режимах (табл. 2). Так, например, угнетение активности АСТ в печени наблюдается на 10-е и 20-е сут после однократного облучения и на 1-е, 10-е, 20-е сут после фракционного облучения. Последнее также может свидетельствовать о возможном влиянии облучения на энергетический метаболизм гепатоцитов. Аналогичные данные об изменениях активности сывороточных АСТ и АЛТ крыс при длительном воздействии ЭМИ с частотой 900 МГц получены в работе [14], авторы которой отмечают пострadiaционное повышение активности АСТ сыворотки крови (которое соизмеримо по величине с нашими данными – табл. 2) при неизменной активности АЛТ и делают вывод о возможных нарушениях энергетического метаболизма.

Как следует из данных по ПНФ (табл. 4), печеночная ПНФ проявляет значительную резистентность к воздействию как однократного, так и фракционного облучений. Это, с одной стороны, указывает на отсутствие значимых изменений в иммунном статусе организма, а в совокупности с данными по пострadiaционным изменениям активностей АСТ и АЛТ печени и сыворотки крови, косвенно свидетельствующими о сохранении целостности клеточной мембраны гепатоцитов, предполагает, что использованный нами режим облучения, по-видимому, не вызывает токсических эффектов в гепатоцитах.

Что касается ЩФ, к сожалению, из-за ограниченности биологического материала, активность этого фермента в печени облученных крыс не была изучена. А в сыворотке крови после фракционного облучения наблюдалось устойчивое повышение активности фермента во все исследованные сроки, тогда как однократное облучение в разные сроки вызывало разнонаправленные изменения активности ЩФ, которые к 20-м сут стабилизировались на контрольном уровне.

Корреляционный анализ уровней активностей всех пяти исследованных ферментов как в печени, так и в сыворотке крови в разные сроки после воздействия неионизирующего ЭМИ со средней частотой 900 МГц не выявил статистически достоверных взаимосвязей между ними. Как предполагает ряд авторов, отсутствие взаимосвязей между уровнями активностей ферментов в случае облучения может быть связано с нарушением

этих связей вследствие пострadiационного разбалансирования метаболизма клетки [26, 28].

Таким образом, сравнительный анализ изменений уровней активности КК, АЛТ, АСТ, ЩФ и ПНФ в печени и сыворотке крыс, подвергнутых общему однократному и кратковременному фракционному воздействию ЭМИ с частотой 900 МГц, показал, что наиболее чувствительными к обоим режимам воздействия ферментами в печени являются КК, а в сыворотке крови – КК и ЩФ. Согласно анализу изменений активности КК, АЛТ, АСТ и ПНФ, как однократное, так и фракционное облучение 900 МГц электромагнитными волнами, испускаемыми мобильными телефонами, существенно не влияет на проницаемость клеточных мембран гепатоцитов, но вероятно вызывает изменения в их энергетическом метаболизме. Между пострadiационными изменениями уровней активности исследованных ферментов, вызванных воздействием использованных нами однократного и фракционного режимов облучения, в изученные нами сроки существенных различий не обнаружено. Для обнаружения более выраженных пострadiационных эффектов в отношении исследованных ферментов предполагается провести изучение более длительного воздействия на крыс низкоинтенсивного электромагнитного излучения с частотой 1800 МГц, также соответствующего одному из стандартов сотовой связи.

Приносим нашу глубокую благодарность сотрудникам Научного центра радиационной медицины и ожогов МЗ РА проф. С.А. Баджиняну и ст. науч. сотр. М.Г. Малакян за проведение облучения экспериментальных животных и обсуждение полученных данных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Григорьев Ю.Г., Григорьев О.А., Иванов А.А. и др. Аутоиммунные процессы после пролонгированного воздействия электромагнитных полей малой интенсивности (результаты эксперимента). Сообщ. 1. Мобильная связь и изменение электромагнитной среды обитания населения. Необходимость дополнительного обоснования существующих гигиенических стандартов // Радиационная биология. Радиоэкология. 2010. Т. 50. № 1. С. 5–11
2. Lacy-Hulbert A., Metcalfe J.C., Hesketh R. Biological responses to electromagnetic fields. // *Faceb J.* 1998. V. 12. № 6. P. 395–420.
3. Zecca L., Coelho A.M., Mantegazza C. et al. Biological effects of prolonged exposure to ELF electromagnetic fields in rats // *Bioelectromagnetics.* 1995. V. 19. P. 57–66.
4. Stuchly M.A., McLean J.R., Burnett R. et al. Modification of tumour promoters in the mouse skin by exposure to an alternating magnetic field // *Cancer Lett.* 1992. V. 65. № 1. P. 1–7.
5. Novoselova E.T., Fesenko E.E. Stimulation of production tumor necrosis factor by murine macrofages when exposed *in vivo* and *in vitro* to weak electromagnetic waves in the centimeter range // *Biofizika.* 1998. V. 48. № 6. P. 1132–1136.
6. Olsen J.H., Nielsen A., Schulgen G. Residence near high high-voltage facilities and risk of cancer in children // *Br. Med. J.* 1995. V. 307 № 6909. P. 891–895.
7. Wertheimer N., Savitz D.A., Leeper E. Childhood cancer in relations to indicators of magnetic fields from ground current sources. // *Bioelectromagnetics.* 1995. V. 16. № 2. P. 86–96.
8. IARC classifies radiofrequency electromagnetic fields as possibly carcinogenic to humans // *Int. Agency Res. Cancer* 31 May 2011. № 208. P. 4–6.
9. Григорьев Ю.Г. Отдаленные последствия биологического действия электромагнитных полей: обзор публикаций по воздействию ЭМП на развитие опухолевых и нейродегенеративных болезней // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2000. Т. 40. № 2. С. 217–225.
10. Григорьев Ю.Г., Григорьев О.А., Меркулов А.В. и др. Аутоиммунные процессы после пролонгированного воздействия электромагнитных полей малой интенсивности (результаты эксперимента). Сообщ. 2. Общая схема и условия проведения исследования. Создание условий облучения электромагнитными полями в соответствии с задачами эксперимента. Состояние животных в течение пролонгированного облучения // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2010. Т. 50. № 1. С. 12–16.
11. Иванов А.А., Григорьев Ю.Г., Мальцев В.Н. и др. Аутоиммунные процессы после пролонгированного воздействия электромагнитных полей малой интенсивности (результаты эксперимента). Сообщ. 3. Влияние ЭМП РЧ нетепловой интенсивности на уровень комплементфиксирующих противотканевых антител // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2010. Т. 50. № 1. С. 17–21.
12. Григорьев Ю.Г., Михайлов В.Ф., Иванов А.А. и др. Аутоиммунные процессы после пролонгированного воздействия электромагнитных полей малой интенсивности (результаты эксперимента). Сообщ. 4. Проявление оксидативных внутриклеточных стресс-реакций после хронического воздействия ЭМП РЧ низкой интенсивности на крыс // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2010. Т. 50. № 1. С. 22–27.
13. Лягинская А.М., Григорьев Ю.Г., Осипов В.А. и др. Аутоиммунные процессы после пролонгированного воздействия электромагнитных полей малой интенсивности (результаты эксперимента). Сообщ. 5. Исследование влияния сыворотки облученных крыс электромагнитными полями малой интенсивности на течение беременности, развития плода и потомства // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2010. Т. 50. № 1. С. 28–36.
14. Dindic B., Sokolovic D., Krstic D. et al. Biochemical and histopathological effects of mobile phone exposure on rat hepatocytes and brain // *Acta Medica Medianae.* 2010. V. 49. № 1. P. 37–42.

15. *El Bediwi Abu Bakr, El-Kott Attal F., Mohamed Saad et al.* Effects of Electromagnetic Radiation Produced by Mobile Phone on Some Visceral Organs of Rat // *J. Med. Sci.* 2011. 15th Aug. V. 11. № 6. P. 256–260.
16. *Zecca L., Mantegazza C., Margonato V. et al.* Biological effects of prolonged exposure to ELF electromagnetic fields in rats: iii. 50Hz electromagnetic fields // *Bioelectromagnetics.* 1998. V. 19. № 1. P. 57–66.
17. *Баджигян С.А., Малакян М.Г., Егиазарян Д.Э. и др.* Влияние электромагнитного излучения с частотой 900 МГц на некоторые показатели крови // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2013. Т. 53. № 1. С. 63–70.
18. *Петрова Т.А., Лызлова С.Н.* Оптимизация условий определения активности креатинкиназы колориметрическим методом // *Вестн. ЛГУ.* 1985. № 24. С. 88–90.
19. *Bzowska A., Kulikovska E., Shugar D.* Purine nucleoside phosphorylase: properties, functions and clinical aspect // *Pharmacol. & Therapeut.* 2000. V. 88. № 3. P. 349–425.
20. *Tietz N.W.* Clinical guide to laboratory tests. 3d ed. Philadelphia, PA.: Saunders Co, 1995. P. 374.
21. *Salomons G.S., Wyss M.* (Eds.) Creatine and Creatine Kinase in Health and Disease. Netherlands: Springer, 2007. P. 335.
22. *Malone J., Ullrich R.* Novel radiation response genes identified in gene-trapped MCF10A mammary epithelial cells // *Radiat. Res.* 2007. V. 167. № 2. P. 176–84.
23. *Лызлова С.Н., Стефанов В.Е., Сотофатори Е.* Полиморфизм и активность креатинкиназы: диагностическое значение // *Вестн. АМН СССР.* 1987. Т. 7. № 1. С. 29–34.
24. *Нерсесова Л.С., Газарянц М.Г., Мкртчян З.С. и др.* Влияние ионизирующей радиации на ферментные активности и состояние ядерно-ядрышкового аппарата гепатоцитов крыс // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2013. Т. 53. № 1. С. 55–62.
25. *Catras G.N., McHale C.G.* Changed activities of brain enzymes involved in neurotransmitter metabolism in rats exposed to different qualities of ionizing radiation // *J. Neurochem.* 1975. V. 24. № 4. P. 673–667.
26. *Бурлакова Е.Б.* Особенности действия сверхмалых доз биологически активных веществ и физических факторов низкой интенсивности // *Рос. хим. журн.* 1999. Т. 43. № 5. С. 3–11.
27. *Нерсесова Л.С., Газарянц М.Г., Меликсетян Г.О. и др.* Влияние ионизирующей радиации на ключевые ферменты клеточного метаболизма // *Вопр. биол. мед. фармац. химии.* 2011. № 3. С. 40–45.
28. *Нагиев Э.Р.* Влияние ионизирующей радиации и физической нагрузки на молекулярную гетерогенность нуклеозидфосфаткиназ в субклеточных фракциях печени // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 1995. Т. 35. Вып. 4. С. 494–499.
29. *Snyder F.F., Jenuth J.P., Mably E.R. et al.* Point mutation at the purine nucleoside phosphorylase locus impair thymocyte differentiation in the mouse // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997. V. 94. № 6. P. 2522–2527.
30. *Toro A., Grunbaum E.* TAT-mediated intracellular delivery of purine nucleoside phosphorylase corrects its deficiency in mice // *J. Clin. Invest.* 2006. V. 116. № 10. P. 2717–2726.
31. *Amacher D.E., Adler R., Herath A. et al.* Use of proteomic methods to identify serum markers associated with rat liver toxicity or hypertrophy // *Clin. Chem.* 2005. V. 51. № 10. P. 1796–1803.
32. *Kesari K.K., Kumar S., Behari J. et al.* Effects of radio-frequency electromagnetic wave exposure from cellular phones on the reproductive pattern in male wistar rats // *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2011. V. 164. № 4. P. 546–559.

Поступила в редакцию
20.06.2013

Effect of Low-Intensity 900 MHz Frequency Electromagnetic Radiation on Rat Liver and Blood Serum Enzyme Activities

L. S. Nersesova, M. S. Petrosyan, M. G. Gazaryants, Z. S. Mkrтчyan, G. O. Meliksetyan,
L. G. Pogosyan, J. I. Akopian

*Institute of Molecular Biology, National Academy of Sciences of Republic of Armenia, Yerevan, 0014 Republic of Armenia;
e-mail: l.nersesova@yahoo.com*

The comparative analysis of the rat liver and blood serum creatine kinase, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase and purine nucleoside phosphorylase post-radiation activity levels after a total two-hour long single and fractional exposure of the animals to low-intensity 900 MHz frequency electromagnetic field showed that the most sensitive enzymes to the both schedules of radiation are the liver creatine kinase, as well as the blood serum creatine kinase and alkaline phosphatase. According to the comparative analysis of the dynamics of changes in the activity level of the liver and blood serum creatine kinase, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase and purine nucleoside phosphorylase, both single and fractional radiation schedules do not affect the permeability of a hepatocyte cell membrane, but rather cause changes in their energetic metabolism. The correlation analysis of the post-radiation activity level changes of the investigated enzymes did not reveal a clear relationship between them. The dynamics of post-radiation changes in the activity of investigated enzyme levels following a single and short-term fractional schedules of radiation did not differ essentially.