

Ибрагимова Жаля Мухтар гызы,
кандидат биологических наук, доцент,
Министерство науки и образования Азербайджанской Республики,
Институт физиологии имени академика Абдуллы Гараева,
Лаборатория физиологии радиации, Баку
Ibragimova Jale Muchtar, PhD, Associate Professor,
Institute of Physiology named academician Abdulla Garayev,
Ministry of Science and Education of the Republic of Azerbaijan, Baku

Мухтаров Махир Мазахир оглы,
Министерство науки и образования Азербайджанской Республики,
Институт физиологии имени академика Абдуллы Гараева,
Лаборатория физиологии радиации, Баку
Mukhtarov Mahir Mazahir, Institute of Physiology named academician Abdulla Garayev,
Ministry of Science and Education of the Republic of Azerbaijan, Baku

Гурбанова Гилас Алигулу гызы,
Министерство науки и образования Азербайджанской Республики,
Институт физиологии имени академика Абдуллы Гараева,
Лаборатория физиологии радиации, Баку
Gurbanova Gilas Aligulu, Institute of Physiology named academician Abdulla Garayev,
Ministry of Science and Education of the Republic of Azerbaijan, Baku

Байрамова Саадет Давахан гызы,
Министерство науки и образования Азербайджанской Республики,
Институт физиологии имени академика Абдуллы Гараева,
Лаборатория физиологии радиации, Баку
Bayramova Saadet Davahan, Institute of Physiology named academician Abdulla Garayev,
Ministry of Science and Education of the Republic of Azerbaijan, Baku

Ибрагимова Жаля Халыг гызы,
Министерство науки и образования Азербайджанской Республики,
Институт физиологии имени академика Абдуллы Гараева,
Лаборатория физиологии радиации, Баку
Ibragimova Zhalia Halyg, Institute of Physiology named academician Abdulla Garayev,
Ministry of Science and Education of the Republic of Azerbaijan, Baku

**ТИОЛОВЫЙ ГОМЕОСТАЗ В ХРУСТАЛИКЕ ГЛАЗА И ВЛИЯНИЕ
НА НЕГО ЭМИ ДЕЦИМЕТРОВОГО ДИАПАЗОНА (ЭКСПЕРИМЕНТЫ НА КРЫСАХ)
THIOL HOMEOSTASIS IN THE CRYSTALLINE EYE AND INFLUENCE
ON IT IRRADIATION BY DECIMETER ELECTROMAGNETIC RADIATION
(EXPERIMENTS ON RATS)**

Аннотация. ЭМИ СВЧ-диапазона вызывает значимые биохимические и физиологические изменения в живых организмах. Данная работа посвящена изучению механизма реализации ЭМИ-эффекта в хрусталике глаза на уровне элементов редокс-состояния. Эксперименты проводились на крысах с использованием ЭМИ 460МГц. Выявлено, что хроническое воздействие ЭМИ вызывает изменения окислительно-восстановительного состояния хрусталика.

Ключевые слова: электромагнитное излучение, хрусталик глаза, тиолы, катаракта.



Введение

Биологические ткани имеют определенный уровень окислительно-восстановительного баланса (редокс-состояния). Этот баланс является динамичным и поддерживается непрерывными окислительными и восстановительными процессами, происходящими в клетках и тканях. При выполнении физиологических функций в соответствующих органах и тканях окислительно-восстановительный баланс может претерпевать значительные изменения в течение определенного интервала (по большей части баланс смещается в сторону окисленного состояния), однако за счет внутренних клеточных механизмов нарушенный баланс восстанавливается в исходное состояние. Другое дело, что окислительно-восстановительный гомеостаз нарушается вследствие специфических патологий в организме или под воздействием неблагоприятных факторов внешней среды. Например, многочисленные исследования различных биологических систем показывают, что неионизирующее электромагнитное излучение (ЭМИ) СВЧ-диапазона, даже нетепловой интенсивности, вызывает значительные физиологические изменения в живых организмах и, в частности, изменения окислительно-восстановительного баланса в тканях [1, 2]. Интерес к такого рода исследованиям обусловлен отсутствием конкретных данных, касательно биохимических и биофизических механизмов действия ЭМИ, хотя накоплено огромное количество экспериментальных данных, полученных на биологических системах различного уровня и сложности. Результаты экспериментов на животных, подвергшихся воздействию СВЧ-излучения, полученные в последние годы, указывают на окислительный характер воздействия радиации на организмы [3, 4]. В частности, серьезный вклад в исследование вносят полученные в нашей лаборатории (Лаборатория физиологии радиации) данные о хроническом влиянии дециметрового излучения на процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантную систему в некоторых структурах головного мозга и глаза. В последние годы мы работаем с хрусталиком глаза, который является хорошей моделью для изучения окислительного действия внешних факторов (в частности неионизирующего ЭМИ). О том, что хрусталик глаза является удобной и приемлемой моделью также свидетельствуют литературные сведения [5, 6, 7]. Уже известно, что обеспечение прозрачности хрусталика связано с балансом его окислительно-восстановительного состояния. Высокий уровень эндогенных тиолов, особенно глутатиона, играет жизненно важную роль в поддержании восстановленного состояния белков хрусталика [8, 9]. Наряду с этим для поддержания функции хрусталика постоянно работают две системы внутренней репарации (глутаредоксиновая и тиоредоксиновая системы), которые деиолируют смешанные дисульфиды белково-небелкового тиолового типа или белково-белковые дисульфиды, образующиеся при окислительном стрессе [10, 11]. Ранее нами было показано, что воздействие ЭМИ СВЧ на крыс изменяет активность перекисного окисления липидов (ПОЛ) в хрусталике [12, 13]. Поскольку уровень ПОЛ тесно связан с антиоксидантной защитой в тканях, в том числе с содержанием эндогенных восстановленных тиолов, последние окисляются преимущественно продуктами перекисного окисления липидов, защищая тем самым другие функциональные группы и молекулы от окисления. Смещение окислительно-восстановительного баланса в хрусталике (которое может возникнуть под действием низкоэнергетического излучения) может служить индикатором условий развития патологий со свободнорадикальным механизмом, в частности предкатарактового состояния [14, 15]. С учётом этих данных мы поставили цель – выяснить, как изменения процессов ПОЛ (вызванные воздействием неионизирующего ЭМИ) в хрусталике глаза связаны с изменением содержания тиолов.



Материал и методы

Эксперименты проведены на 3-месячных крысах-самцах, которых облучали генератором «Волна-2» (460 МГц). Более подробно методика эксперимента описана в статье Аббасовой и Гаджиева [16]. Эксперименты с низкоинтенсивным и относительно высокоинтенсивным облучением проводились при плотности потока мощности 10 и 30 мкВт/см². Значения удельного коэффициента поглощения (УКП) электромагнитной энергии, усредненные по всему телу животного, оценены как 5 и 15 мВт/кг для двух режимов интенсивности соответственно. Для каждого конкретного воздействия крысы были разделены на три группы по шесть крыс в каждой: одну контрольную группу (ложнооблученные) и две экспериментальные группы соответственно малоинтенсивного и относительно высокоинтенсивного облучения. Экспериментальные группы подвергались воздействию ЭМИ по 20 мин ежедневно в течение 1, 3, 5, 7, 10 и 14 дней. После соответствующей лучевой нагрузки линзы контрольной и опытной групп изолировали для исследования с соблюдением правил работы с экспериментальными животными. Для определения содержания тиолов в гомогенатах хрусталика использовали модифицированный метод Седлака-Линдсея, основанный на реакции Элмана [17]. Концентрации легкодоступных (РА) (сумма низкомолекулярных тиолов и поверхностно расположенных белковых тиолов) и скрытых (замаскированных в структуре белка) тиолов в коре и ядре хрусталика, которые затем пересчитывались на 1 мг белка (нмоль/мг белка). Статистический анализ данных проводили с использованием программного пакета SPSS для Windows версии 22.0. Различия между контрольными и экспериментальными измерениями исследовали с помощью t-критерия для парных образцов.

Результаты исследования

Было исследовано содержание легкодоступных (РА) (суммы низкомолекулярных тиолов и поверхностно расположенных тиоловых групп белков, которые также можно назвать цитоплазматическими) и скрытых (замаскированных в структуре белка) тиоловых групп в коре и ядре клеток хрусталика крыс при хроническом облучении сроком до 14 дней. Изменение содержания цитоплазматических тиолов в коре и ядре хрусталика при различных воздействиях высокоинтенсивного облучения показаны на рис.1 и 2.

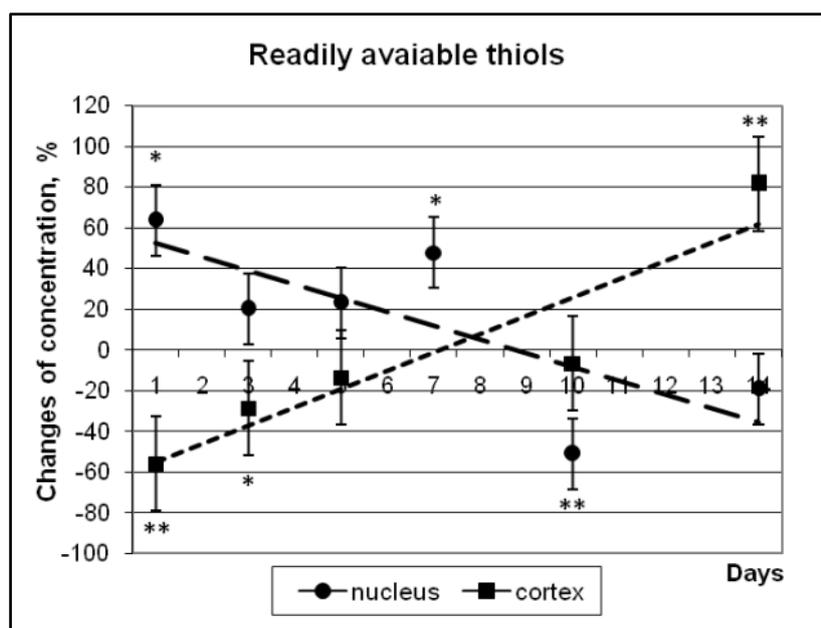


Рисунок 1. Изменение содержания легкодоступных тиолов в субструктурах хрусталика крыс, облучённых высокоинтенсивным ЭМИ 460 МГц.



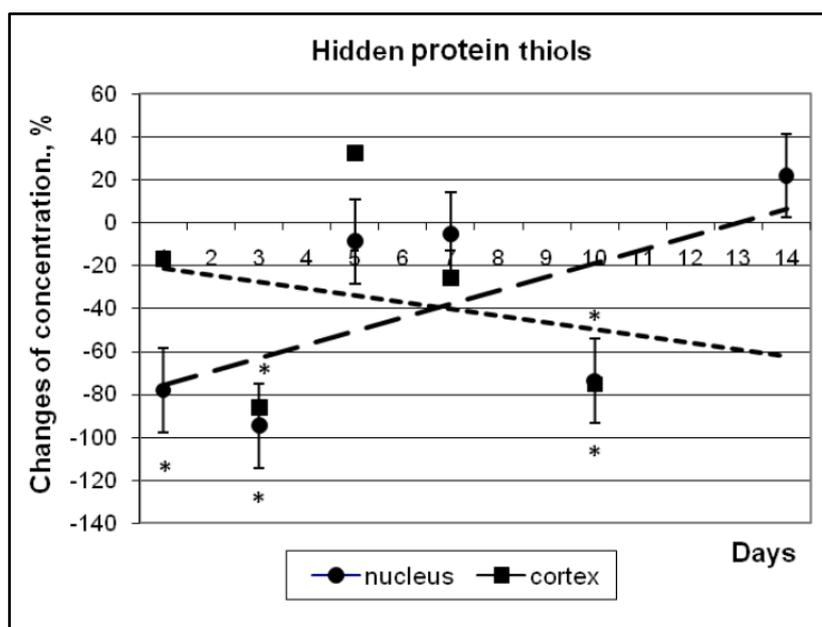


Рисунок 2. Изменение содержания скрытых тиолов в субструктурах хрусталика крыс, подвергнутого высокоинтенсивному облучению ЭМИ 460 МГц.

Пояснения. Средняя концентрация легкодоступных тиолов для контрольной группы составила 473 ± 31 нмоль/мг белка в ядре и 464 ± 39 нмоль/мг белка в коре головного мозга. Среднее значение концентрации скрытых внутримолекулярных тиолов белка в контрольной группе, рассчитанное по разнице общего количества тиолов и легкодоступных тиолов, составило 565 ± 126 нмоль/мг белка в ядре и 296 ± 100 нмоль/мг белка в коре. Пунктирные линии указывают общую тенденцию изменений в различных субструктурах и проводились с использованием линейной аппроксимации экспериментальных точек.

Изменения содержания цитоплазматических тиолов в коре и ядре хрусталика при различных экспозициях показаны на рисунке 1. Уровень легкодоступных тиолов (ЛД-тиолов) в коре хрусталика, снизившийся после 1-го дня облучения, постепенно повышался, достигая контрольного уровня на 7-8-е сутки и при дальнейшем облучении увеличивался по сравнению с контролем на ~60%; в ядре, наоборот, повышенный после 1-го дня облучения уровень тиолов постепенно падает до контрольного уровня на 8-9-е сутки с дальнейшим снижением по отношению к контролю на ~30%. Такой характер изменения содержания ЛД-тиолов коррелировал с изменениями процесса ПОЛ в тех же тканях. Динамика изменения содержания скрытых тиолов в коре и ядре хрусталика при относительно высокоинтенсивном облучении была противоположной изменениям ЛД-тиолов (рисунок 2). При линейной аппроксимации временной зависимости экспериментальных данных видно, что первоначальное снижение уровня скрытых тиолов на 80% в ядре сменилось постепенным увеличением до его восстановления до контроля в конце облучения. В коре хрусталика в начале воздействия ЭМИ также наблюдалось снижение уровня скрытых тиолов (изначально на ~20%), которое развивалось в дальнейшем при продолжении облучения и к концу воздействия достигало ~60 % ниже уровня контроля. Важным результатом было то, что оценка общего количества тиолов, как для коры, так и для ядра, показала стабильный уровень в течение всего периода облучения, который был примерно на 20% ниже контрольного уровня. Воздействие облучением малой интенсивности приводило к закономерности изменения тиолов различного типа в коре и ядре хрусталика, в целом



противоположной картине при облучении высокой интенсивности (данные здесь не приведены). Уменьшение количества легкодоступных тиолов в коре хрусталика компенсировалось увеличением количества скрытых белковых тиолов при низкоинтенсивном облучении. В ядре характер изменений легкодоступных и скрытых тиолов был такой же, как и в коре, но эти изменения были более умеренными. Экспериментальные исследования проводились в несколько этапов. Прежде всего, во всех исследованных структурах у интактных животных регистрировали параметры амплитуды вызванного потенциала (ВП) отдельных компонентов (суммарного, положительного, отрицательного). Затем в соответствии с методикой Ноэля была создана экспериментальная модель дистрофии сетчатки путем введения МИАА в ушную вену животных. Экспериментальная дистрофия сетчатки средней степени формировалась в течение 28-30 дней. Через 30 дней после инъекции вновь регистрировали ВП и наблюдали соответствующее уменьшение амплитудных показателей ВП в каждой структуре. Снижение составило 40-50% в КС и ЛГБ и 20-25% в ВК по сравнению с контролем. Затем куркумин добавляли в корм животным на протяжении 30 дней. После этого параметры ВП записывались еще раз. Из полученных результатов стало известно, что амплитудные параметры ВП во всех структурах после приема куркумина частично увеличились. Однако положительное влияние куркумина на амплитудные параметры ВП в структурах CS и LGB было значительно меньше, чем в VC (рис.1 и 2).

В коре хрусталика в начале воздействия ЭМИ также наблюдалось снижение уровня скрытых тиолов (изначально на ~20%), которое развивалось в дальнейшем при продолжении облучения и к концу воздействия достигало ~60 % ниже уровня контроля. Важным результатом было то, что оценка общего количества тиолов, как для коры, так и для ядра, показала стабильный уровень в течение всего периода облучения, который был примерно на 20% ниже контрольного уровня. Воздействие облучением малой интенсивности приводило к закономерности изменения тиолов различного типа в коре и ядре хрусталика, в целом противоположной картине при облучении высокой интенсивности (данные здесь не приведены). Уменьшение количества легкодоступных тиолов в коре хрусталика компенсировалось увеличением количества скрытых белковых тиолов при низкоинтенсивном облучении. В ядре характер изменений легкодоступных и скрытых тиолов был такой же, как и в коре, но эти изменения были более умеренными.

Обсуждение результатов исследования

Результаты тотального воздействия на организмы ЭМИ относительно высокой и низкой интенсивности выявили сдвиги окислительно-восстановительного состояния хрусталика соответственно в сторону окисления и в сторону восстановления. И, по-видимому, одним из способов реализации смещения окислительно-восстановительного баланса является переход между разными типами тиолов. Уровень ПОЛ можно считать показателем окислительно-восстановительного состояния ткани [6]. Потому что скорость накопления его продуктов зависит от баланса между скоростью этого процесса и антиоксидантной способностью среды разрушать его продукты. Увеличение ПОЛ указывает на сдвиг окислительно-восстановительного состояния в сторону большего окисления клеточной среды; это происходило при высокоинтенсивном облучении. Снижение скорости ПОЛ, как это происходит при малоинтенсивном облучении хрусталика, свидетельствует о сдвиге в сторону меньшего окисления, т.е. большего восстановления. Так же, как и при высокой окисленности тканевой среды, когда мы говорим об окислительном стрессе, при высокой восстановленности среды с некоторых пор стали говорить о редуکتивном (восстановительном) стрессе. Ссылки на сообщения о явлении редуکتивного стресса по отношению к другим тканям (печени, мышцам) можно найти в статье Clanton et al. [18]. По-



видимому, в клетках существуют системы защиты от редуцированного стресса, способные маскировать избыток восстановителей и различных тиолов. При низкоинтенсивном облучении хрусталика мы сталкиваемся именно с такой ситуацией [12]. При пониженном уровне ПОЛ открытые белковые тиолы переходят в замаскированное (скрытое) состояние, когда они не способны восстанавливать окисленные продукты ПОЛ. Таким образом, под действием высокоинтенсивного облучения происходит переход от одного типа тиола к другому. Подобная трансформация белковых тиолов в тканях, в частности, в хрусталике под действием окислительных факторов обсуждается в литературе, и регуляция этих процессов с помощью реакций тиолирования и дитиолирования с помощью определенных ферментов является важным предметом изучения хрусталика [19]. На основании наших результатов и данных литературы можно обсудить разработку нового неинвазивного немедикаментозного метода профилактики катаракты путем воздействия низкоинтенсивным дециметровым ЭМИ для изменения двух факторов: окислительно-восстановительного сдвига и агрегации белков, приводящих к потере прозрачности хрусталика [15, 20]. Переход белковых тиолов из одного состояния в другое под действием физического фактора позволяет выдвинуть идею о супрамолекулярном механизме регуляции гомеостаза (в частности, тиолового гомеостаза) в такой высокобелковой структуре, как хрусталик, который может осуществляться путем агрегации и дезагрегации белковых молекул (кристаллинов). Существует определенный пороговый размер белковых агрегатов (молекулярная масса около 107Да), выше которого такие агрегаты при достаточной концентрации вызывают значительное рассеяние света, падающего на хрусталик, что проявляется в потере прозрачности последнего. Можно полагать, что белки хрусталика в физиологической норме представлены их небольшими агрегатами в пределах, которые не влияют на прозрачность. В то же время эти агрегированные молекулы скрывают свои SH-группы. Под действием окислительных факторов (при развитии окислительного стресса), возможно, на каком-то определенном этапе этого развития, вступает в действие путь антиоксидантной защиты, реализуемый путем дезагрегации супрамолекулярной структуры белка, в результате чего ранее скрытые SH-группы могут выступать в качестве дополнительных восстановителей. Когда угроза окислительного повреждения клеточных структур или ферментов хрусталика исчезает, белковые молекулы снова могут образовывать высокомолекулярные агрегаты без ущерба для прозрачности этой зрительной структуры.

Выводы

Установлено, что сдвиги окислительно-восстановительного состояния выявляются в субструктурах хрусталика (в его ядерной и кортикальной частях) в результате облучения организма неионизирующими ЭМИ определенной интенсивности. Полученные данные свидетельствуют о том, что одним из путей реализации смещения окислительно-восстановительного баланса в хрусталике, скорее всего, является переход между разными формами SH-групп белков. Выдвинуто предположение о супрамолекулярном механизме регуляции тиолового гомеостаза в хрусталике глаза, позволяющем посредством агрегации-деагрегации SH-содержащих белковых молекул кристаллинов защищаться от окислительно-повреждающих факторов.

Список литературы:

1. Родченко Д., Кириченко М., Сарчук Е. Влияние микроволнового излучения на организм человека: аспекты проблемы. Научное обозрение. Фундаментальные и прикладные исследования, 2020, №3, с. 1-11.



2. Shahbazi-Gahrouei D., Setayandeh S.S., Aminolroayaei F., Shahbazi-Gahrouei S. Biological Effects of Non-ionizing Electromagnetic Fields on Human Body and Biological System: A Systematic Literature Review. *Journal of Medical Sciences*. 2018; 18:149-156. <https://doi.org/10.3923/jms.2018.149.156>
3. Yakymenko I., Tsybulin O., Sidorik E., Henshel D., Kyrylenko O., Kyrylenko S. Oxidative mechanisms of biological activity of low-intensity radiofrequency radiation. *Electromagnetic Biology and Medicine*. 2016; 35(2):186-202. <https://doi.org/10.3109/15368378.2015.1043557>
4. Yurekli, F., Ozkan, M., Kalkan, T. et al.: GSM base station electromagnetic radiation and oxidative stress in rats. *Electromagnetic Biology and Medicine*. 2006; 25(3):177- 188. <https://doi.org/10.1080/15368370600875042>
5. Гаджиев А.М. Тиоловый гомеостаз в хрусталике глаза и окислительно-восстановительные эффекты микроволнового облучения. Материалы V съезда физиологов Азербайджана, посвященного 50-летию Института физиологии им. А.И.Караева. Баку, 2017; 175- 176.
6. Ibragimova J.M., Gadjiev A.M., Ibragimov A.Sh. Changes in lipid peroxidation under exposure to electromagnetic radiation of non-thermal intensity in the prenatal period. *Biophysics*. 2021; 66(2):352-355. <https://doi.org/10.1134/S0006350921020081>
7. Lou M.F. Redox regulation in the lens. *Retinal and Eye Research*. 2003; 22(5):657- 682. [https://doi.org/10.1016/s1350-9462\(03\)00050-8](https://doi.org/10.1016/s1350-9462(03)00050-8)
8. Lou MF. Thiol regulation in the lens. *J. Ocular Pharmacol. Therapeutics*. 2000; 16:137-148. <https://doi.org/10.1089/jop.2000.16.137>
9. Lou, M.F. Glutathione and Glutaredoxin in Redox Regulation and Cell Signaling of the Lens. *Antioxidants* 2022, 11, 1973. <https://doi.org/10.3390/antiox11101973>
10. Ogata FT., Branco V., Vale FF., Coppo L. Glutaredoxin: Discovery, redox defense and much more. *Redox Biol*. 2021; 43:10197. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.101975>
11. Xing K-Y., Lou MF. Effect of Age on the Thioltransferase (Glutaredoxin) and Thioredoxin Systems in the Human Lens. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 2010; 51:6598–6604. <https://doi.org/10.1167/iovs.10-5672>
12. Musaev AV., Ibragimova JM., Gadzhiev AM. Modification of experimental oxidative stress in lens tissues by 460 MHz EMR irradiation. *Physiotherapy, balneology, rehabilitation*. Moscow. 2009; 2:10-13.
13. Gadzhiev AM. Oxidative Effects of Chronic Whole Body Exposure to Decimeter Electromagnetic Radiation on Separate Brain Structures. *Turkish Journal of Neurology*, 2010, v.16, Suppl.1, p.230. 9th National Neuroscience Congress, April 13- 17, 2010, University of Yeditepe, Istanbul, Turkey
14. Wei M., Xing KY., Fan YC., Libondi T., Lou MF. Loss of thiol repair systems in human cataractous lenses. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci*. 2015; 56:598–605. <https://doi.org/10.1167/iovs.14-15452>
15. Zhang J., Yan H., Lou MF. Does oxidative stress play any role in diabetic cataract formation? Re-evaluation using a thioltransferase gene knockout mouse model. *Exp Eye Res*. 2017; 161:36-42. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2017.05.014>
16. Abbasova MT., Gadzhiev AM. The effects of electromagnetic radiation on lipid peroxidation and antioxidant status in rat blood. *Biophysics*. 2022; 67(1):100-105. <https://doi.org/10.1134/S000635092201002>
17. Sedlak J., Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical Biochemistry*. 1968; 25(C):192– 205



18. Clanton T., Zuo L., Klawitter P.: Oxidants and Skeletal Muscle Function: Physiologic and Pathophysiologic Implications. PSEBM. 1999; 222:253-262.
19. Allen EM., Mieval JJ. Protein-thiol oxidation and cell death: Regulatory role of glutaredoxins. Antioxid. Redox. Signal. 2012; 17: 1748-63.
20. Avetisov SE., Sheremet NL., Muranov KO., Polianskiy NB., Bannik KI., Kurova VS., Polunin GS., Ostrovskiy MA. Experimental study of the influence of disturbing factors and chaperone-like drugs on cataractogenesis. Vestn. Oftalmol. 2013; 129(5):155-159.

