

М.С. Петросян, Л.С. Нерсесова, Е.М. Каралова, А.С. Аветисян, Л.О. Аброян, Л.А. Акопян,
М.Г. Газарянц, Ж.И. Акопян

ПОСТЛУЧЕВЫЕ ЭФФЕКТЫ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ С ЧАСТОТОЙ 900 МГц В ПЕЧЕНИ КРЫС

Институт молекулярной биологии НАН Республики Армении, Ереван, Армения

Контактное лицо: Нерсесова Людмила Степановна, l.nersesova@yahoo.com

РЕФЕРАТ

Цель: Исследование изменений активности креатинкиназы (КК) печени и сыворотки крови крыс и ядерно-ядрышкового аппарата гепатоцитов, индуцированных действием низкоинтенсивного электромагнитного излучения с параметрами 900 МГц и плотностью потока энергии 25 мкВт/см², характерными для мобильных телефонов.

Материал и методы: Опыты проводили на белых беспородных крысах-самцах 6-месячного возраста, массой тела 180–200 г. В качестве источника излучения с частотой 900 МГц использовали генераторный блок панорамного измерителя Х1-42. Активность КК в сыворотке крови и экстрактах печени определяли спектрофотометрически по накоплению свободного креатина. На основании данных по содержанию ДНК в гепатоцитах крыс, соотнесенных к эталону, выявляли распределение гепатоцитов по плоидности и определяли соотношение зу- и анэуплоидных клеток.

Результаты: Показано, что 2-часовое однократное общее облучение крыс вызывает более выраженные изменения уровня активности как печеночной, так и сывороточной КК, чем равноценное по времени дробное облучение: при этом фермент проявляет значительные адаптационные свойства. Уменьшение среднего содержания ДНК ядер и ядрышек и среднего числа ядрышек на ядро, а также увеличение количества безядрышковых ядер после однократного радиочастотного облучения свидетельствует об угнетении транскрипционной активности гепатоцитов. В то же время пострadiационное увеличение количества гиподиплоидных клеток, половину из которых составляют безядрышковые гепатоциты, а также возрастание количества триплоидных клеток, сопровождающееся уменьшением числа тетраплоидных гепатоцитов и исчезновением гипертетраплоидных гепатоцитов, свидетельствуют о гибели значительного количества гепатоцитов.

Заключение: Активность КК печени крыс чувствительна к действию как однократного, так и дробного облучения. При этом биологический эффект однократного облучения более выражен. Динамика пострadiационных изменений, происходящих в популяции гепатоцитов при однократном облучении крыс свидетельствует об угнетении транскрипционной активности гепатоцитов и гибели значительной части их.

Ключевые слова: электромагнитное излучение, низкая интенсивность, частота 900 МГц, однократное и дробное облучение, креатинкиназа, ядерно-ядрышковый аппарат, печень, сыворотка крови, крысы

Для цитирования: Петросян М.С., Нерсесова Л.С., Каралова Е.М., Аветисян А.С., Аброян Л.О., Акопян Л.А., Газарянц М.Г., Акопян Ж.И. Постлучевые эффекты низкоинтенсивного электромагнитного излучения с частотой 900 МГц в печени крыс. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2020;65(3):53-58.

DOI: 10.12737/1024-6177-2020-65-3-53-58

Введение

За последние 25 лет произошло глобальное изменение электромагнитной обстановки на Земле, связанное с широчайшим использованием населением беспроводной связи, что значительно изменило ситуацию искусственного загрязнения окружающей среды электромагнитными полями (ЭМП). Это нашло свое выражение в широком потоке соответствующих экспериментальных и теоретических работ из различных лабораторий по всему миру, очередной критический обзор которых сделан недавно в работах Ю.Г. Григорьева и соавт. [1, 2]. Так, на конкретных примерах рассмотрены факты относительного увеличения риска развития опухолей мозга после длительного периода активного использования сотовых телефонов. Впервые за весь период цивилизации в группу риска включены дети. Согласно выводам Международного агентства по изучению раковых заболеваний (IARC), ЭМП мобильных телефонов отнесены к классу 2В – агентам, потенциально канцерогенным для человека [3]. В то же время ряд ученых и международных организаций [2, 4] до сих пор считают, что для этого нет абсолютных доказательств. Таким образом, в настоящее время отсутствует единый подход к оценке опасностей для здоровья воздействия ЭМИ, связанного с мобильной связью; недооценена возможность развития долгосрочных неблагоприятных последствий. Кроме того, технические решения по созданию новых типов беспроводной связи опережают научные ис-

следования по оценке опасности для населения этих новых решений. В связи с этим цитируемые выше авторы характеризуют сложившуюся сегодня ситуацию как электромагнитный хаос в окружающей среде [1, 2].

Электромагнитное излучение (ЭМИ) одновременно действует на все клетки и ткани организма, что на клеточном уровне выражается, в частности, в пострadiационных изменениях активности ключевых ферментов клеточного метаболизма. Тесная близость антенны используемых мобильных телефонов 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. Как известно, креатинкиназа (КК), ключевой фермент энергетического обмена клетки, катализирующий обратимую реакцию переноса фосфорильного остатка с креатинфосфата (КФ) на АДФ, проявляет высокую чувствительность к окислительному стрессу как на посттранскрипционном, так и на генном уровнях [5–7]. Будучи гарантом поддержания энергетического гомеостаза клетки, КК вовлечена в немедленную ответную реакцию клетки на воздействие стресса, приводящего ее к энергетическому истощению. В связи с этим данный фермент, а также уровни отношений КФ/АТФ и КФ/Кр принято рассматривать как показатель энергетического статуса клетки [5]. Вместе с тем, одними из показателей функциональных изменений, проис-

ходящих в клетках при действии различных стрессорных факторов, являются изменения содержания ДНК и состояния ее ядрышкового аппарата, которые могут объективно отражать степень напряженности рибосомального синтеза и пролиферативной активности гепатоцитов [4, 8, 9]. Ранее нами было исследовано влияние сублетальных доз рентгеновского излучения на активность ряда ключевых ферментов клеточного метаболизма, в том числе и КК и на ядерно-ядрышковый аппарат гепатоцитов; наиболее радиочувствительным и адаптабельным ферментом оказалась КК, а пострadiационные изменения содержания ДНК в ядрышках гепатоцитов, площади и периметра ядрышек, а также среднего числа ядрышек на ядро носили компенсаторно-адаптивный характер и, в целом, свидетельствовали о возрастании транскрипционной активности гепатоцитов [10].

Исходя из высокой радиочувствительности КК и из того, что ядерно-ядрышковый аппарат является первичной мишенью радиационного поражения, целью настоящей работы явилось исследование изменений активности КК печени и сыворотки крови крыс и ядерно-ядрышкового аппарата гепатоцитов, индуцированных действием низкоинтенсивного ЭМИ с параметрами 900 МГц и плотностью потока энергии 25 мкВт/см², характерными для мобильных телефонов.

Материал и методы

Опыты проводили на белых беспородных крысах-самцах 6-месячного возраста с массой тела 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 дробному 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 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 мм) 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. Во время сеанса облучения крысы имели возможность свободного перемещения в клетке.

Декапитацию животных проводили после эфирного наркоза. Кровь после свертывания центрифугировали в рефрижераторной центрифуге при 800 г в

течение 20 мин и полученную сыворотку использовали в тот же день для определения активности ферментов. Печень тщательно отмывали от крови охлажденным физиологическим раствором и гомогенизировали в экстрагирующем растворе 0,1 моль/л HCl, pH 7,2, содержащем 5 ммоль/л дитиотреитола и 1 ммоль/л этилендиаминтетраацетата. Экстракты, полученные после центрифугирования гомогенатов при 23000 g в течение 30 мин, использовали для определения активности ферментов.

Активность КК в сыворотке крови и экстрактах печени определяли спектрофотометрически по накоплению свободного креатина [11] и выражали в единицах мкмоль использованного субстрата или полученного продукта на 1 г влажной ткани в мин, а для сыворотки крови – в мкмоль/л/мин. Поскольку величины уровней активностей фермента в контрольных подгруппах при обоих режимах облучения статистически достоверно не отличались друг от друга, для удобства восприятия диаграммы нашли возможным дать объединенный контроль. Для наглядного изображения рассчитанные средние и их стандартные отклонения для уровней активности КК и содержания креатина (Кр) на графиках выражены в % по отношению к контрольному уровню. Для статистической обработки данных использована программа SPSS. Характер распределения значений полученных данных определен методом Колмогорова – Смирнова. Сравнительный анализ проводили с использованием непараметрического теста Манна – Уитни. Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Одновременно с приготовлением экстрактов печени и сыворотки крови готовили отпечатки печени. Для определения ультраструктурных изменений и содержания ДНК в ядрах гепатоцитов на предметных стеклах готовили отпечатки ядер, которые затем фиксировали в 96 %-этиловом спирте в течение 30 мин [12]. Препараты окрашивали по общепринятой методике реактивом Шиффа по Фельгену: гидролиз в 5 н HCl в течение 60 мин при 22 °C [13]. Определение количества ДНК в условно сравнимых единицах при длине волны 575 нм и цитоморфометрию ядер проводили телевизионным методом на сканирующем анализаторе изображений (увеличение 100 × 1,30), созданном на базе микроскопа-фотометра SMP 05 (OPTON, ФРГ), оснащенный компьютером. В связи с этим перед сканированием оконтуривали изображения ядер и каждого из ядрышек в тех клетках, где они выявлялись. Измерения в каждом случае производили в 100 ядрах. В качестве диплоидного эталона ДНК использовали лимфоциты периферической крови здоровых крыс. На основании данных по содержанию ДНК в гепатоцитах крыс, соотношенных к эталону, выявляли распределение гепатоцитов по плоидности в % и определяли соотношение эу- и анэуплоидных клеток. Значения исследованных параметров выражали в условных единицах [12]. Значимость различий средних величин между контрольными и опытными группами оценивали с помощью t -критерия Стьюдента.

Результаты

КК – ключевой фермент энергетического обмена клеток, обеспечивающий поддержание на постоянном

уровня содержания АТФ. 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. Эта способность КК лежит в основе широкого применения этого фермента в качестве биохимического маркера в клинической практике [5].

Данные, представленные на рис. 1, показывают, что при однократном длительном облучении, в отличие от равноценного по длительности дробного облучения, ответная реакция печеночной КК на воздействие излучения имеет место быть уже в первые сутки после облучения в виде повышения уровня активности фермента более чем в 1,5 раза. При этом повышение уровня активности фермента продолжается вплоть до 20-х пострадиационных суток и, дополнительно к этому, в последние сроки исследования определяется значительное повышение активности сывороточной КК – в 2–2,5 раза по сравнению с контрольным уровнем. При дробном режиме облучения только на 5-ые сут намечается тенденция к повышению КК-активности печени, которое становится достоверным и значимым по величине лишь на 10-е сут – в 2,5 раза, а к 20-м сут определяется достоверное снижение уровня активности фермента с тенденцией возвращения к контрольному уровню. Следует отметить, что указанное повышение активности печеночного фермента на 10-ые сут сопровождается повышением активности и сывороточной КК.

Известно, что в гепатоцитах после облучения наступает ряд ультраструктурных нарушений, которые приводят к функциональному дисбалансу органа [8, 9]. В связи с этим методами цитоморфометрии и цитоспектрофотометрии в тех же группах крыс оценивали состояние ядерно-ядрышкового аппарата гепатоцитов путем сравнения распределений ядер гепатоцитов крыс по классам плоидности и морфометрическим параметрам клеточных ядер и ядрышек. Как видно из табл. 1, среднее содержание ДНК в ядрах и ядрышках гепатоцитов крыс в контрольной группе достоверно выше, чем в пострадиационных группах. При этом небольшие постлучевые изменения в площадях ядер гепатоцитов носят недостоверный характер, тогда как достоверность различий площадей ядрышек между контрольной и опытными группами равна $p < 0,05–0,001$. При этом сокращается и периметр ядрышек.

Достоверно уменьшается и число ядрышек на ядро в опытных группах по сравнению с контролем,

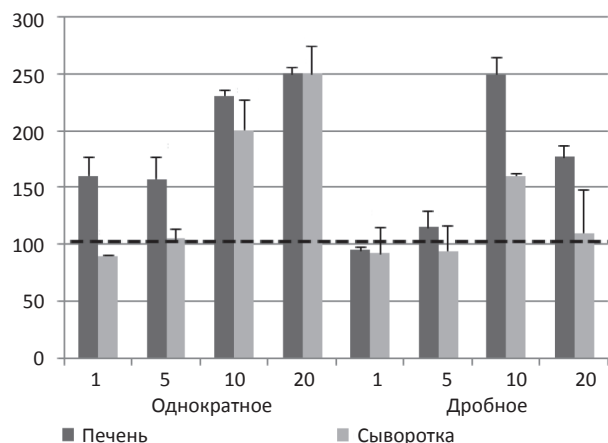


Рис. 1. Активность КК (%) в печени и сыворотке крови крыс в разные сроки после воздействия электромагнитного излучения с частотой 900 МГц при однократном и дробном режимах облучения

Fig. 1. Activity of KAT (%) in the liver and blood serum of rats at different times after exposure to electromagnetic radiation with a frequency of 900 MHz under single and fractional irradiation modes

что особенно выражено на 20-е пострадиационные сутки (табл. 2). Таким образом эти данные свидетельствуют о развитии процесса постлучевого подавления транскрипционной активности гепатоцитов.

Применение метода количественной цитохимии позволило получить гистограммы распределения ядер гепатоцитов, окрашенных по Фельгену по плоидности, дискретные пики которых соответствуют определенным классам плоидности (рис. 2). Сравнительный анализ данных, представленных на рис. 2, свидетельствует о значительных различиях в распределении ядер гепатоцитов по плоидности между контрольной и опытными группами. Полученные в контроле результаты соответствуют литературным данным [8, 9], где, как и в нашем случае, подавляющее число клеток (около 93 %), составляют эуплоидные гепатоциты. Из них, согласно полученным данным, около 52 % популяции приходится на диплоидные гепатоциты, 41 % составляют тетраплоидные клетки, октаплоидные ядра полностью отсутствуют, а гипертетраплоидные клетки составляют всего 1,5 % популяции гепатоцитов. Примерно 7,0 % приходится на анеуплоидные ядра, среди которых 2 % составляют гиподиплоидные гепатоциты. Число синтезирующих ДНК клеток с “промежуточными” между 2с и 4с и между 4с и 8с значениями достаточно низкое (около 4,5 %), и наличие их обусловлено скорее всего

Таблица 1

Среднее содержание ДНК в ядрах и околядрышком хроматине, площадь и периметр ядер и ядрышек клеток печени крыс контрольных и пострадиационных групп
The average content of DNA in nuclei and paratid chromatin, the area and perimeter of nuclei and nucleoli of liver cells in rats of control and radiation groups

Группы	Ядро			Ядрышко		
	ДНК	Площадь	Периметр	ДНК	Площадь	Периметр
Контроль n = 129	93,4 ± 3,1	46,9 ± 1,4	15,3 ± 0,3	4,1 ± 0,2	2,7 ± 0,1	3,3 ± 0,2
5-е сут после радиации n = 102	81,7 ± 3,0*	44,1 ± 1,5	14,5 ± 0,3	3,0 ± 0,3*	2,1 ± 0,2*	2,5 ± 0,2*
10-е сут после радиации n = 100	85,6 ± 3,1	48,4 ± 1,4	15,3 ± 0,3	3,4 ± 0,4	2,1 ± 0,2**	2,8 ± 0,2
20-е сут после радиации n = 100	66,0 ± 2,4*	44,2 ± 1,2	15,0 ± 0,3	1,8 ± 0,2*	1,5 ± 0,1**	2,1 ± 0,2**

Примечание: * – достоверное различие с контролем ($p < 0,05$); ** – достоверное различие с контролем ($p < 0,001$)

Таблица 2

Распределение гепатоцитов по числу ядрышек и среднее число ядрышек на ядро в контрольной и в пострadiационных группах крыс (в %)**Distribution of hepatocytes by the number of nucleoli and the average number nuclei per nucleus in the control and radiation groups of rats (in %)**

Опытные группы	0 ядрышек	1 ядрышко	2 ядрышка	Среднее число ядрышек/ядро
Контроль	13,5 ± 1,4	71,0 ± 5,1	15,5 ± 1,4	1,0 ± 0,1
5-ые сут после радиации	37,6 ± 3,5	54,7 ± 3,3*	6,1 ± 0,6*	0,8 ± 0,1*
10-ые сут после радиации	24,3 ± 2,2	56,5 ± 3,8*	17,2 ± 1,6	0,9 ± 0,1
20-ые сут после радиации	35,7 ± 3,2	59,3 ± 4,1	4,0 ± 0,5*	0,7 ± 0,1*

Примечание: * – достоверное различие с контролем ($p < 0,05$)

прохождением клетками S-фазы клеточного цикла или задержкой во второй ее половине. При этом 13,5 % приходится на безядрышковые клетки, несколько больше (около 15 %) составляют двуядрышковые гепатоциты, а 71 % ядер представлены одноядрышковыми гепатоцитами (табл. 2).

Уже на 5-е сут после однократного 2-часового облучения выявляются серьезные различия в популяции гепатоцитов опытных крыс: более чем в 13 раз увеличивается число гиподиплоидных клеток, составляя 31 % популяции, среди которых на безядрышковые гиподиплоидные гепатоциты приходится 17,5 %. В 2,5 раза увеличивается число тетраплоидных безядрышковых клеток и во столько же раз уменьшается число двуядрышковых гепатоцитов. На 10-е сут после облучения общая тенденция, изменений в популяции по сравнению с контролем сохраняется, но они менее выражены, чем на 5-е сут. К 20-м сут на гиподиплоидные клетки приходится около половины популяции гепатоцитов, а около 40 % составляют триплоидные клетки и всего 14 % приходится на долю эуплоидных гепатоцитов.

Обсуждение

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. Как следствие, повреждаются такие компоненты клеток, как ферменты, ДНК, липиды [1, 4]. 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 биохимическим критерием повреждения ферментов является утрата присущей им активности. Исходя из того, что окончательное проявление биологического поражения ферментных молекул может растягиваться на дни, в качестве пострadiационных сроков исследования были выбраны 1-е, 5-е, 10-е и 20-е сут.

Следует отметить, что КК выявлена как один из наиболее чувствительных к окислительному стрессу ферментов, причем как на посттранскрипционном, так и на генном уровнях [6, 7]. Как и следовало ожидать, учитывая аналогичные механизмы этиопатогенеза рентгеновского и радиочастотного излучений, выражающиеся в развитии последствий окислитель-

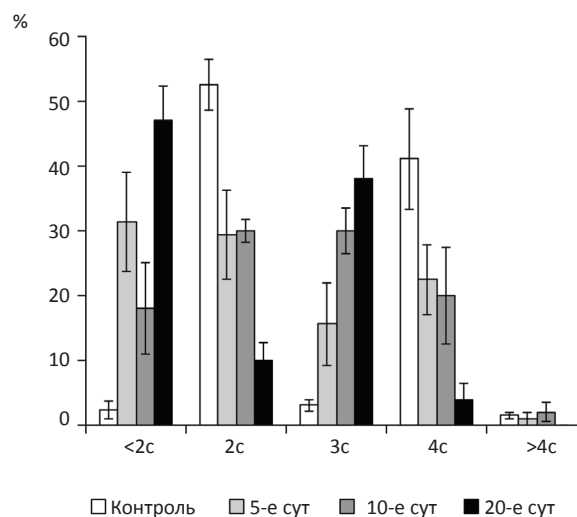


Рис. 2. Распределение ядер гепатоцитов по плоидности в контрольных и опытных образцах гепатоцитов (в каждой группе $n = 5$), подвергнутых воздействию общего однократного ЭМИ с частотой 900 МГц (в %)

Fig. 2. Distribution of hepatocyte nuclei by ploidy in control and experimental samples of hepatocytes (in each group $n = 5$) exposed to a common single EMP with a frequency of 900 MHz (in %)

ного стресса, ответная реакция Кр-КК системы печени на радиочастотное облучение оказалась подобной, обнаруженной нами ранее для сублетальных доз рентгеновского облучения [10]. Пострadiационные изменения уровня КК активности имеют развитие во времени и носят компенсаторно-адаптационный характер, что выражается в случае однократного облучения в виде постепенного повышения активности фермента, начиная с первых и вплоть до 20-ых пострadiационных сут, а в случае дробного облучения, в виде более замедленного повышения и к 20-м сут намечающегося возвращения к контрольному уровню. Такая динамика изменений уровня активности КК однозначно свидетельствует, с одной стороны, о высокой чувствительности КК к обоим режимам радиочастотного облучения и, с другой стороны, о более выраженном биологическом эффекте однократного длительного облучения по сравнению с равноценным по времени, но дробным облучением.

Кроме того, приведенные данные подтверждают значительные адаптационные возможности Кр-КК системы, направленные на восстановление энергетического гомеостаза клетки. Как свидетельствуют многочисленные данные литературы, воздействие на печень стрессорных факторов вызывает в печеночной ткани компенсаторное повышение экспрессии КК. Так например, сверхэкспрессия изоферментов КК

для стабилизации энергетического обмена показана в печени трансгенных мышей, подвергнутых кислород-дефицитному или метаболическому стрессу, а также в случаях ускорения регенерации печени после обширной гепатэктомии [14, 15].

Цитоспектрофотометрия ядер и ядрышек гепатоцитов позволила выявить и определить их распределение по классам пloidности с 10 % отклонением каждого класса. Оказалось, что вклад в отклонение от «средней» ядер промежуточной пloidности, содержащих ДНК в количестве меньшем, чем 2с в контроле, не превышает 2,5 %, в то время как после однократного облучения уже на 5-ые пострadiационные сутки их количество достигает 31 %, а к 20-м сут составляет около половины популяции гепатоцитов. При этом если процент ядер гепатоцитов с промежуточными значениями между 2с и 4с ДНК в контроле не превышает 7 %, то с развитием постлучевых процессов их процент постепенно увеличивается, достигая к 20-му пострadiационному дню 37 %. Это, с одной стороны, может быть связано с увеличением числа синтезирующих ДНК клеток, а с другой стороны, являться следствием гибели части гепатоцитов, вероятнее всего путем апоптоза. Последнее предположение основывается на обнаружении в исследованных препаратах клеток с «апоптотными тельцами» и на отсутствии воспалительного процесса в печени облученных крыс, являющимся отличительным признаком некроза [16]. Следует отметить, что независимо от механизма гибели на гистограммах всех пострadiационных групп обнаруживается достаточно высокий процент анеуплоидных клеток.

Следует отметить, что данные, обсуждаемые в литературе относительно активации апоптоза под воздействием ЭМИ, носят противоречивый характер. Так, например, показано, что ЭМИ с частотой 1800 МГц не вызывает апоптоз в мононуклеарных клетках периферической крови [17]. В то же время аналогичное облучение с плотностью потока энергии 2 Вт/кг стимулирует апоптоз в иммунных клетках человека MAC6 and K562 [18]. Указанные противоречия скорее всего обусловлены такими факторами, как различия типов клеток, уровней их дифференциации и клеточного цикла, пострadiационных сроков исследования и т.п.

Таким образом, анализ пострadiационных изменений, происходящих в популяции гепатоцитов, сви-

детельствует, что во все сроки достоверно уменьшается среднее содержание ДНК ядер и ядрышек и среднее число ядрышек на ядро. Достоверно увеличивается количество безъядрышковых ядер. Резко увеличивается число гиподиплоидных и триплоидных гепатоцитов, на фоне выраженного достоверного уменьшения числа ди- и тетраплоидных ядер. Важно отметить, что резкое увеличение (более чем в 12 раз) количества триплоидных клеток сопровождается значительным уменьшением числа тетраплоидных гепатоцитов (более чем в 10 раз) и полным исчезновением гипертетраплоидных гепатоцитов, что вероятнее всего связано с их гибелью, о чем также свидетельствует резкое увеличение количества гиподиплоидных клеток, половину из которых составляют безъядрышковые гепатоциты.

Выводы

1. Активность КК печени крыс чувствительна к действию как длительного однократного низкоинтенсивного электромагнитного излучения с частотой 900 МГц, так и равноценного по времени дробного облучения. При этом биологический эффект однократного облучения более выражен, чем дробного.

2. Динамика пострadiационных изменений уровня активности КК свидетельствует о значительных адаптационных свойствах фермента.

3. Динамика пострadiационных изменений, происходящих в популяции гепатоцитов, выражается в уменьшении среднего содержания ДНК ядер и ядрышек и среднего числа ядрышек на ядро, а также в увеличении количества безъядрышковых ядер, что свидетельствует об угнетении транскрипционной активности гепатоцитов при их однократном радиочастотном облучении.

4. Увеличение количества гиподиплоидных клеток, половину из которых составляют безъядрышковые гепатоциты, а также возрастание количества триплоидных клеток, сопровождающееся уменьшением числа тетраплоидных гепатоцитов и исчезновением гипертетраплоидных гепатоцитов, свидетельствуют о гибели значительного количества гепатоцитов, индуцированной действием исследованного однократного облучения.

Postradiation Effects of Low Intensity Electromagnetic Radiation with a Frequency of 900 MHz in Rat Liver

M.S. Petrosyan, L.S. Nersesova, E.M. Karalova, A.S. Avetisyan, L.O. Abroyan, L.A. Akopian, M.G. Gazaryants, J.I. Akopian

Institute of Molecular Biology of NAS of Republic Armenia, Erevan, Armenia

ABSTRACT

Purpose: To study the changes in the activity of the liver and blood serum creatine kinase (KK) and the nucleus-nucleolus apparatus of hepatocytes of rats, subjected to the low-intensity electromagnetic radiation of 900 MHz and 25 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ energy flux density, typical for a range of mobile phones.

Material and methods: The experiments were carried out on white outbred male rats of 6 months of age, weighing 180–200g. The generator Panoramic X1-42 was used as a source of radiation having a frequency of 900 MHz. The activity of CK in the blood serum and liver extracts respectively was determined spectrophotometrically, based on the accumulation of free creatine. Using the

extent of the DNA content in rat hepatocytes relative to the accepted standard, the distribution of hepatocytes in ploidy (measured in percentage points) was detected; so was determined the ratio of eu- and aneuploid cells.

Results: It appears that the two-hour single total exposure of rats causes more substantial changes in the activity levels of rats both liver and serum creatine kinase than the total time-wise comparable fractional exposure; while the enzyme exhibits signs of significant adaptation. A decrease in the average DNA content of the nucleus and nucleolus, as well as the average number of nucleolus per nucleus, along with an increase in the number of nucleolus-free nuclei after a single radiofrequency irradiation act indicates certain inhibition of the transcriptional activity of hepatocytes. At the same time, a post-radiation increase of hypodiploid cells, half of which are nucleolus-free hepatocytes, as well as an increase in the number of triploid cells, accompanied by a decrease in the number of tetraploid hepatocytes and the disappearance of hypertetraploid hepatocytes, indicate the incidence of death of a significant number of hepatocytes.

Conclusion: The rat liver CK is sensitive to the action of both single low-intensity electromagnetic radiation with a frequency of 900 MHz and that dispersed through fractional exposure: the biological effect of a single exposure is more pronounced. The dynamics of the post-radiation changes occurring in the hepatocyte population upon their single radiofrequency irradiation indicates certain inhibition of the transcriptional activity of the hepatocytes, as well as the incidence of death of a significant number of hepatocytes.

Key words: *electromagnetic radiation, low intensity, frequency 900 MHz, single and fractional irradiation, creatine kinase, nucleus-nucleolar apparatus, liver, blood serum, rats*

For citation: Petrosyan MS, Nersesova LS, Karalova EM, Avetisyan AS, Abroyan LO, Akopian LA, Gazaryants MG, Akopian JI. Postradiation Effects of Low Intensity Electromagnetic Radiation with a Frequency of 900 MHz in Rat Liver. Medical Radiology and Radiation Safety. 2020;65(3):53-8. (In Russ.).

DOI: 10.12737/1024-6177-2020-65-3-53-58

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Григорьев Ю.Г., Григорьев О.А. Сотовая связь и здоровье. М. Энергиздат, 2013. 567 с. [Grigoriev YuG, Grigoriev OA. Mobile communication and health. Moscow. 2013. 567 p. (In Russ.).]
2. Григорьев Ю.Г. От электромагнитного смога до электромагнитного хаоса. К оценке опасности мобильной связи для здоровья человека. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2018;63(3):28-33 [Grigoriev YuG. From Electromagnetic Smog to Electromagnetic Chaos. To Evaluating the Hazards of Mobile Communication for Health of the Population. Medical Radiology and Radiation Safety 2018;63(3):28-33 (In Russ.).]
3. IARC classifies radiofrequency electromagnetic fields as possibly carcinogenic to humans. Int Agency Res Cancer. 2011;(208):4-6.
4. Warille AA, Altun G, Elamin AA, et al. Skeptical approaches concerning the effect of exposure to electromagnetic fields on brain hormones and enzyme activities. 2010. DOI: 10.1016/j.jmau.2017.09.002
5. Nersesova LS. Role of creatine kinase and its substrates in the central nervous system in norm and in various pathologies. Journal Evol Biochem Fiziol. 2011;47(2):120-7.
6. Malone J, Ullrich R. Novel radiation response genes identified in gene trapped MCF10A mammary epithelial cells. Radiat Res. 2007;167(2):176-84.
7. Aksenov M, Aksenova M, Butterfield DA, Markesbery WR. Oxidative modification of creatine kinase BB in Alzheimer's disease brain. J Neurochem. 2000;74(6):2520-7.
8. Мозжухина Т.Г., Азарскова М.В., Литошенко А.Я. Цитофлуориметрический анализ ядер регенерирующей печени крыс в отдаленные сроки после рентгеновского облучения. Цитология и генетика. 1998;32(2):49-56. [Mozzhukhina TG, Azarksova MV, Litoshenko AY. Cytofluorimetric analysis of the nuclei of the regenerating rat liver in the long term after x-ray irradiation. Cytology and Genetics. 1998;32(2):49-56. (In Russ.).]
9. Штейн Г.И., Кудрявцева М.В., Кудрявцев Б.Н. Изменение морфометрических параметров окрашенных серебром ядрышек гепатоцитов крыс при циррозе печени и в процессе их реабилитации. Цитология. 1999;43(41):574-80. [Shtein GI, Kudryavtseva MV, Kudryavtsev BN. Changes in the morphometric parameters of the silver-stained nucleoli of rat hepatocytes during liver cirrhosis and in the process of their rehabilitation. Cytology. 1999;43(41):574-80. (In Russ.).]
10. Нерсесова Л.С., Газарянц М.Г., Мкртчян З.С. и др. Влияние ионизирующей радиации на ферментные активности и состояние ядерноядрышкового аппарата гепатоцитов крыс. Радиационная биология. Радиоэкология. 2013;53(1):55-62 [Nersesova LS, Gazaryants MG, Mkrtchyan ZS, Meliksetyan GO, Poghosyan LH, Poghosyan SA, et al. Influence of Ionizing Radiation on Enzymatic Activity and State of Nucleus Nucleolar Apparatus in Rat Hepatocytes. Radiation Biology Radioecology. 2013;53(1):55-62. (In Russ.).]
11. Петрова Т.А., Лызлова С.Н. Оптимизация условий определения активности креатинкиназы колориметрическим методом. Вестн. ЛГУ. 1985;(24):88-90. [Petrova TA, Lislova SN. Optimization of Conditions for Determining Creatine kinase Activity by the Colorimetric Method. LSU Bulletin. 1985;(24):88-90. (In Russ.).]
12. Магакян Ю.А., Каралова Е.М. Цитофотометрия ДНК. Ереван. 1989. 204 с. [Maghakyan YuA, Karalova EM. Cytomorphometry of DNA. Yerevan. 1989. (In Russ.).]
13. Romeis B. Mikroskopische Technik. München, Leibniz Verlag. 1948.
14. Miller K, Halow J, Koretsky AP. Phosphocreatine protects transgenic mouse liver expressing creatine kinase from hypoxia and ischemia. Am J Physiol. 1993;265(6Pt1):1544-51. DOI: 10.1152/ajpcell.1993.265.6.C1544.
15. Satoh S, Tanaka A, Hatano E, Inomoto T, Iwata S, Kitai T, et al. Energy metabolism and regeneration in transgenic mouse liver expressing creatine kinase after major hepatectomy. Gastroenterology. 1996;110(4):1166-74. PubMed PMID: 8613006.
16. Kerr JF, Winterford CM, Harmon BV. Apoptosis. Its significance in cancer and cancer therapy. Cancer. 1994;73(8): 2013-26. PubMed PMID: 8156506.
17. Capri M, Scarcella E, Bianchi E, Fumelli C, Mesirca P, Agostini C, et al. 1800 MHz radiofrequency (mobile phones, different Global System for Mobile communication modulations) does not affect apoptosis and heat shock protein 70 level in peripheral blood mononuclear cells from young and old donors. Int J Radiat Biol. 2004;80(6):389-97. DOI: 10.1080/09553000410001702346
18. Lantow M, Lupke M, Frahm J, Mattsson MO, Kuster N, Simko M. ROS release and Hsp70 expression after exposure to 1,800 MHz radiofrequency electromagnetic fields in primary human monocytes and lymphocytes. Radiat Environ Biophys. 2006;45(1):55-62. DOI: 10.1007/s00411-006-0038-3.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Financing. The study had no sponsorship.

Участие авторов. Статья подготовлена с равным участием авторов.

Contribution. Article was prepared with equal participation of the authors.

Поступила: 18.03.2019. **Принята к публикации:** 24.06.2020.

Article received: 18.03.2019. **Accepted for publication:** 24.06.2020.