

УДК 577.3

ВЛИЯНИЕ ПОСТОЯННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ, ИОНОВ МЕДИ И ТЕМПЕРАТУРЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ НА СОДЕРЖАНИЕ МАЛОНОВОГО ДИАЛЬДЕГИДА У ТРУБОЧНИКА

© 2003 Т.Н. Картавых, В.Г. Подковкин, Е.Г. Гуреева¹

В экспериментах на трубочнике изучалось влияние изменений окружающей среды на уровень малонового диальдегида на фоне воздействия постоянного магнитного поля и различных концентраций ионов меди. Проанализированы биологические эффекты изолированного и комбинированного влияния исследованных экологических факторов.

Введение

Возрастающее влияние на природную среду приводит к появлению приспособлений у живых организмов, адекватных ее изменениям, поэтому проблема адаптации является весьма актуальной. Один из важных вопросов этой проблемы связан с широкомасштабным распространением металлов и различных химических веществ вследствие антропогенного загрязнения [4]. Еще одна тенденция связана с достижениями научно-технического прогресса, приводящего к расширению контактов живых организмов с различными воздействиями электромагнитной природы [3, 10, 11]. В их числе практическую значимость представляют гипогеомагнитные поля, сильные постоянные магнитные поля искусственного происхождения, электромагнитные излучения [10]. Большинство исследований, рассматривающих влияние магнитных полей различной природы, проводилось на млекопитающих. Достаточно подробно изучено влияние постоянного магнитного поля на протекание ферментативных реакций [13], обменные процессы, рост и разви-

¹ Картавых Татьяна Николаевна (artemisias@pisem.net), Подковкин Владимир Георгиевич (podkovkin@rambler.ru), Гуреева Екатерина Геннадьевна, кафедра биохимии Самарского государственного университета, 443011, Самара, ул. Акад. Павлова, 1.

тие растений, жизнедеятельность микроорганизмов [5]. Малоизученной остается проблема влияния постоянного магнитного поля (ПМП) и действия химических факторов на беспозвоночных. Особый интерес при этом представляют водные олигохеты, являющиеся основной группой донной фауны Самарской области, определяющей стабильность водных экосистем [8]. В связи с этим необходимо выявление глубины адаптационных возможностей олигохет в условиях комбинированного действия физических и химических факторов, которое не рассматривается в литературе, доступной нам, но имеет место в естественных условиях.

Важным элементом развития реакции на различные воздействия является стресс, с которым связана активация многих процессов, в частности интенсификация перекисидации липидов. Интерес к изучению перекисного окисления липидов (ПОЛ) резко возрос в последние десятилетия. Одной из причин подобной тенденции стала тесная взаимосвязь процессов перекисного окисления с проблемой злокачественного роста, развитие перекисной гипотезы гибели клетки, установленная закономерность между развитием ряда патологических состояний и интенсификацией перекисного окисления [2].

Специфику изучения ПОЛ определяет то, что в отличие от большинства других внутриклеточных систем процессы ПОЛ сами по себе и компоненты очень устойчивы, а их нарушение связано с изменением концентрации соединений, регулирующих скорость этих реакций в клетках [2]. Комбинированное влияние различных факторов на процессы перекисидации липидов изучено недостаточно. Особый интерес в связи с этим представляет реакция организма в условиях, близких к естественным, так как результаты исследований *in vitro* не всегда справедливы для закономерностей *in vivo*.

Целью нашего исследования является изучение влияния ПМП, ионов меди и повышенной температуры на концентрацию малонового диальдегида (МДА) у трубочника.

Методика исследования

Эксперимент проведен на трубочнике (*Tubifex* sp.). Животных подвергали воздействию температуры, низких концентраций меди и ПМП.

Для исследования влияния температуры животных ($m = 400$ мг) помещали в пробирках в термостат при температуре 25, 30 и 35 °С с длительностью экспозиции 10, 30 и 60 минут. Затем олигохет гомо-

генизировали и определяли содержание МДА. В дальнейшем использовали режим теплового воздействия 30 °С, 30 минут.

Олигохет разбивали на 5 групп. Первые две содержались в среде с концентрациями меди 10^{-6} и 10^{-7} мг/л (0,1 и 0,01 ПДК). Третья группа подвергалась воздействию ПМП с помощью магнита с индукцией 5 мТл. Четвертая и пятая группы подвергались комбинированному воздействию меди в концентрациях 0,1 и 0,01 ПДК и ПМП. Червей всех групп содержали в сосудах емкостью 0,5 л. Воздействие осуществляли в течение 1, 6 и 9 суток. Контрольных животных содержали в аналогичных условиях в емкостях объемом 0,5 л и не подвергали экспериментальному воздействию.

После отработки модели (температурный тест) часть животных (400 мг) на 1, 6 и 9 сутки эксперимента из каждой группы подвергали температурному воздействию при 30 °С в течение 30 минут. После завершения экспериментов червей гомогенизировали в течение 2 минут после теплового воздействия и определяли содержание МДА.

Трубочника гомогенизировали в 2 мл 15% трихлоруксусной кислоты. Гомогенат центрифугировали при 3000 об/мин 15 минут. Определение содержания МДА проводили с помощью тиобарбитуровой кислоты [7]. Измерение оптической плотности осуществляли с помощью КФК-2.

Полученные в экспериментах результаты подвергали статистической обработке стандартным способом с помощью критерия Стьюдента [9]. Измерения исследуемых показателей считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследований

Протекание ПОЛ различно для температур 25, 30 и 35 °С. При температуре 25 °С при воздействии в течение 10 минут содержание МДА отличается от контроля недостоверно (табл. 1). Увеличение времени воздействия до 30 и 60 минут приводит к уменьшению концентрации МДА по сравнению с контролем в 1,5 и 2 раза соответственно ($p < 0,01$).

В случае повышения температуры до 30 и 35 °С динамика изменения уровня МДА была иной. Десятиминутное воздействие вызывало незначительное увеличение содержания МДА при обеих температурах. Наибольшая концентрация МДА обнаруживалась при режиме воздействия 30 °С, 30 мин с достоверной вероятностью $p < 0,001$. После инкубации в течение 60 мин содержание МДА понижалось до уровня контроля и ниже. При воздействии 35 °С уровень МДА для

Таблица 1

**Влияние температуры на содержание МДА (нмоль/г)
у трубочника**

Температура инкубации, °С	Время инкубации, мин		
	10	30	60
25	9,62±0,81	6,64±0,61**	5,19±0,36*
30	10,96±0,39**	13,75±0,39*	7,89±0,74
35	10,39±0,22**	12,98±0,28*	11,15±0,34**
Контроль	9,41±0,22		

Примечание: * — отличия от контроля достоверны для $p < 0,001$;

** — отличия от контроля достоверны для $p < 0,01$; $n = 6$ во всех случаях.

всех трех сроков воздействия превышал контрольное значение и достигал максимума при 30 мин инкубации. К 60 мин он незначительно снижался.

ПМП стимулировало развитие ПОЛ. Концентрация МДА последовательно увеличивалась и была наибольшей, превысив контрольное значение в 2 раза, на 9 сутки эксперимента. Комбинированное воздействие с температурой достоверно усиливало этот эффект. Максимальная концентрация МДА обнаруживалась в этом случае на 9 сутки эксперимента и превышала контрольное значение в 2,7 раза (табл. 2).

Воздействие меди (10^{-4} мг/л) приводило к увеличению содержания МДА ($p < 0,01$) на 6 и 9 день воздействия. Однако тенденция роста концентрации МДА была менее выраженной по сравнению с группой, подвергавшейся воздействию ПМП. После первых суток наблюдалось небольшое увеличение содержания МДА. Дополнительное повышение температуры в этих же условиях приводило к интенсификации ПОЛ, в результате чего концентрация МДА увеличивалась в 3 раза по сравнению с контролем. Необходимо отметить, что инкубация усиливала действие металла в большей степени, чем влияние ПМП. При комбинированном воздействии ПМП и меди (10^{-4} мг/л) наблюдалось увеличение концентрации МДА ($p < 0,01$). Дополнительная температурная нагрузка усиливала эту тенденцию, которая, однако, была менее выраженной по сравнению с аналогичными показателями воздействия каждого из факторов в отдельности.

При содержании червей в среде с концентрацией меди 10^{-5} мг/л изменения уровня МДА по сравнению с контрольными значениями в течение всех трех сроков воздействия не наблюдалось. Однако при дополнительном температурном влиянии отмечалось достоверное уве-

Таблица 2

**Влияние низких концентраций меди, ПМП и температуры
на содержание МДА (нмоль/г) у трубочника**

Условия экспери- мента	Длительность воздействия					
	1 сутки		6 суток		9 суток	
	30 °C	не инку- бировали	30 °C	не инку- бировали	30 °C	не инку- бировали
Медь (10 ⁻⁴ мг/л)	29,14± 1,29*	11,48± 0,77***	31,33± 1,53*	13,10± 0,94**	27,29± 0,53*	18,87± 1,59*
ПМП	24,41± 0,62*	13,79± 0,43*	21,06± 0,93*	18,18± 0,32*	25,68± 0,26*	18,75± 0,36*
Медь (10 ⁻⁴ мг/л) + ПМП	17,48± 0,50*	12,17± 0,73**	19,10± 0,43*	14,94± 0,43*	18,87± 0,59*	14,37± 1,12**
Медь (10 ⁻⁵ мг/л)	25,79± 0,59*	9,98± 0,38	19,10± 0,43*	9,52± 0,26	24,64± 0,28*	9,98± 0,38
Медь (10 ⁻⁵ мг/л) + ПМП	19,10± 0,67*	12,17± 0,64**	13,10± 0,89**	12,64± 0,43*	18,64± 0,78*	11,25± 0,36**
Контроль	9,41±0,22					

Примечание: * — отличия от контроля статистически значимы ($p < 0,001$);

** — отличия от контроля статистически значимы ($p < 0,01$);

*** — отличия от контроля статистически значимы ($p < 0,05$);

для контроля $n = 12$, в остальных случаях $n = 5$.

личение концентрации МДА ($p < 0,001$). Таким образом, концентрация меди 10⁻⁵ мг/л отражается на динамике ПОЛ незначительно и в отсутствие инкубации уровень МДА достоверно ниже аналогичных значений для концентрации металла 10⁻⁴ мг/л.

Комбинированное воздействие ПМП и меди (10⁻⁵ мг/л) приводит к росту содержания МДА, которое выражено в меньшей степени по сравнению с результатом влияния одного ПМП. При дополнительной температурной нагрузке концентрация МДА достоверно увеличивалась по сравнению с аналогичными показателями в группе, подвергавшейся комбинированному воздействию меди и ПМП, на 1 и 9 сутки эксперимента. При совместном действии ПМП с медью более высокой концентрации (10⁻⁴ мг/л) этот эффект снижался.

Таким образом, содержание МДА превышало контроль в случае воздействия меди в концентрации 10⁻⁴ мг/л и ПМП, увеличивалось при росте длительности воздействия и дополнительной температурной нагрузке. При совместном влиянии металла и ПМП такие изменения были менее выраженными.

Обсуждение результатов

Развитие ПОЛ в случае температуры 30 и 35 °С во времени и отсутствие такового для 25 °С можно объяснить, исходя из представления зависимости реакции организма от силы воздействия. Температура 25 °С близка к естественной температуре воды в теплое время года, поэтому данные по концентрации МДА не превышают контрольных значений. Эти результаты согласуются с литературными данными о стабильности метаболизма трубочника в интервале температур 2–25 °С [12]. При повышении температуры до 30 °С содержание МДА существенно изменяется, достигая максимума при экспозиции 30 мин. Такая температура, вероятно, является для трубочника повышенной, что приводит к развитию реакции, аналогичной стрессу у млекопитающих, и, как следствие, активации процессов перекисного окисления. Подобные закономерности для гипертермии были выявлены на крысах и описаны в литературе [6]. Понижение концентрации МДА в случае воздействия в течение 60 мин может быть объяснено адаптацией трубочника, так как данная температура критической для водных олигохет не является. Воздействие температуры 35 °С приводит к увеличению содержания МДА при всех временных значениях, однако отличие от контроля незначительное и максимум при 30 мин выражен слабее, что свидетельствует о незначительной интенсификации ПОЛ.

Концентрация меди, соответствующая 0,1 ПДК, согласно полученным данным, увеличивает уровень МДА, что объясняется развитием адаптационной реакции и возможным участием меди в активации ПОЛ на стадии иницирования. Доказано, что *in vitro* низкие концентрации металлов способствуют развитию перекисного окисления, являясь инициаторами и повреждая мембранные структуры [1]. Однако в случае целого организма повышенное содержание меди воспринимается скорее хеморецепторами трубочника, импульсация которых к нервной системе запускает активаторы ПОЛ гормональной природы. Необходимо отметить, что содержание трубочника в среде с концентрацией меди 10^{-5} мг/л, соответствующей 0,01 ПДК, слабо изменяет уровень МДА и уменьшается со временем. Таким образом, к подобному воздействию трубочник адаптируется достаточно легко. Однако дополнительное температурное влияние даже в этом случае существенно повышает содержание МДА. Это обстоятельство свидетельствует о существенной роли температурного фактора в механизме реализации действия меди.

ПМП, очевидно, является стрессором для трубочника и активирует ПОЛ. Инкубация (30 °С, 30 мин) при воздействии ПМП резко увеличивает эффект накопления МДА, таким образом усиливая влияние фактора. Существование магниторецепторов доказано для бактерий [5]. Не исключено наличие подобных структур у водных олигохет. Теоретически обосновано активирующее влияние ПМП на свободно радикальные реакции, протекающие через состояния с различной спиновой мультиплетностью. Вероятность этих реакций увеличивается с напряженностью ПМП.

Данные при комбинированном воздействии ПМП и меди отличаются меньшей выраженностью роста концентрации МДА по сравнению с изолированным влиянием ПМП. Инкубация также менее существенно сказывается на результате при совместном влиянии ПМП с металлом, что говорит об антагонизме взаимодействия факторов.

Выводы

1. При воздействии температуры 25 °С в течение 1 часа наблюдается понижение уровня малонового диальдегида у трубочника. Повышение температуры до 30 и 35 °С приводит к росту содержания малонового диальдегида, максимум которого соответствует 30 минутам воздействия.

2. При содержании трубочника в среде с концентрацией ионов меди 10^{-4} мг/л наблюдается повышенное содержание малонового диальдегида, возрастающее от первых к девятым суткам. При концентрации ионов меди 10^{-5} мг/л исследуемый показатель не изменяется.

3. Воздействие постоянного магнитного поля с индукцией 5 мТл приводит к увеличению содержания малонового диальдегида у олигохет от первых к девятым суткам эксперимента. Этот эффект усиливается при дополнительном температурном воздействии (30 °С, 30 минут).

4. При комбинированном воздействии постоянного магнитного поля с индукцией 5 мТл и ионов меди обеих концентраций наблюдается рост уровня малонового диальдегида, выраженный в меньшей степени по сравнению с изолированным действием постоянного магнитного поля.

Литература

- [1] Бурлакова Е.Б., Храпова Н.Г. Перекисное окисление липидов мембран и природные антиоксиданты // Успехи химии. 1985. № 9. С. 1540–1557.

- [2] Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука, 1972. 252 с.
- [3] Григорьев Ю.Г., Степанов В.С., Григорьев О.А. и др. Электромагнитная безопасность человека. М.: Российский национальный комитет по защите от неионизирующего излучения, 1999. 146 с.
- [4] Крылов Ю.М. Металлы в пресноводных экосистемах: механизмы воздействия и адаптации, миграция и депонирование // Экологические проблемы бассейнов крупных рек. Тезисы международной конференции. Тольятти: ИЭВБРАН, 1993. С. 90–91.
- [5] Павлович С.А. Влияние магнитных полей на микроорганизмы // В кн.: Влияние магнитных полей на биологические объекты. М. Наука. 1971. С. 41–52.
- [6] Панасенко О.М., Панасенко О.О., Бривибя К. и др. Гипохлорит разрушает каратиноиды в липопротеинах низкой плотности, снижая их резистентность к перекисной модификации // Биохимия. 1997. № 10. С.1332–1338.
- [7] Подковкин В.Г., Слободянюк И.Л., Углова М.В. Влияние электромагнитных полей окружающей среды на системы гомеостаза. Самара: Изд-во СамГУ, 2000. 108 с.
- [8] Поздняков Ю.Н. Адаптационные возможности олигохет: вопросы влияния аммонийного иона // Экологические проблемы бассейнов крупных рек. Тезисы международной конференции. Тольятти: ИЭВБРАН, 1998. С. 117–118.
- [9] Фролов Ю.П. Математические методы в биологии. ЭВМ и программирование: теоретические основы и практикум. Самара: Изд-во СамГУ, 1997. 265 с.
- [10] Холодов Ю. А. Минутя органы чувств? М.: Знание, 1991. 64 с.
- [11] Холодов Ю.А. Нервная система требует зону электромагнитного комфорта // Электромагнитное загрязнение окружающей среды. Тез. докл. конференции. СПб., 1993. С. 41–42.
- [12] Цветкова Л.И. О роли тубифицид в кислородном балансе водоемов // В кн.: Водные малощетинковые черви. М.: Наука, 1972. С. 118–119.
- [13] Шишло М.А. Влияние магнитных полей на ферменты, тканевое дыхание и некоторые стороны обмена в интактном организме // В кн.: Влияние магнитных полей на биологические объекты. М.: Наука, 1971. С. 24–56.

**THE EFFECT OF PERMANENT MAGNETIC
FIELD, Cu^{2+} AND AMBIENT TEMPERATURE
ON THE CONTENT OF MALONYL
DIALDEHYDE IN OLIGOCHETS**

© 2003 T.N. Kartavykh, V.G. Podkovkin, E.G. Gureeva²

The effect of environmental changes on the level of malonyl dialdehyde in oligochets on the background of permanent magnetic field and different Cu^{2+} concentrations' action is studied. Biological effects of isolated and combined influence of ecological factors investigated are analysed.

Поступила в редакцию 14/V/2003.

² Kartavykh Tatiana Nikolaevna (artemisia@pisem.net), Podkovkin Vladimir Georgievich (podkovkin@rambler.ru), Gureeva Ekaterina Gennadievna, Dept. of Biochemistry, Samara State University, Samara, 443011, Russia.