

УДК 612.014.46:577.352.3

DOI 10.5281/ZENODO.20787632

**ВЛИЯНИЕ ИЗОЛИРОВАННОГО И КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ
НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ КРАЙНЕ
ВЫСОКОЙ ЧАСТОТЫ И ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ЭКРАНИРОВАНИЯ НА
РЕДОКС-ДИНАМИКУ РАНОЗАЖИВЛЕНИЯ У КРЫС**

*Джелдубаева Э. Р., Ярмолюк Н. С., Борисенко Д. А.,
Ковальчук И. О., Туманянц К. Н.*

*ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», Симферополь,
Республика Крым, Российская Федерация
E-mail: delviza@mail.ru*

Работа посвящена оценке влияния изолированного и комбинированного действия низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ и умеренного ЭМЭ на динамику редокс-показателей NADH и FAD в процессе ранозаживления у крыс. Наиболее значимые изменения отмечены при комбинированном воздействии КВЧ-излучения и электромагнитного экранирования, что проявлялось максимальным снижением NADH, устойчивым уменьшением FAD и повышением редокс-индекса на всех этапах наблюдения. Показано, что электромагнитные факторы, особенно при комбинированном воздействии, оказывают существенное влияние на редокс-гомеостаз, способствуя ускорению метаболической перестройки и оптимизации регенераторных процессов.

Ключевые слова: электромагнитное экранирование, острая кожная рана, ранозаживление, NADH и FAD.

ВВЕДЕНИЕ

Процесс ранозаживления представляет собой сложный многоэтапный процесс регенерации, включающий воспаление, пролиферацию и ремоделирование тканей, сопровождающийся активными метаболическими и окислительно-восстановительными реакциями [1]. Одним из ключевых факторов, определяющих эффективность данного процесса, является состояние клеточного энергетического обмена и баланс окислительно-восстановительных систем, в которых важную роль играют коферменты NADH и FAD [2, 3].

Нарушение редокс-гомеостаза и избыточное образование активных форм кислорода приводят к развитию окислительного стресса, замедлению регенерации и формированию труднозаживаемых хронических ран [4]. В этой связи особый интерес представляет поиск факторов, способных модулировать метаболические процессы и повышать адаптационный потенциал тканей в условиях повреждения.

В последние годы активно изучается влияние физических факторов, в частности электромагнитных полей, на процессы регенерации. Показано, что

низкоинтенсивное электромагнитное излучение (ЭМИ) способно оказывать стимулирующее действие, влияя на пролиферацию клеток, микроциркуляцию и активность ферментных систем [5, 6]. В частности, воздействие низкоинтенсивного ЭМИ крайне высокого диапазона (КВЧ) изменяет проницаемость клеточных мембран, активность митохондрий и уровень энергетического обмена, что имеет значение для ускорения заживления ран [7].

В то же время влияние умеренного электромагнитного экранирования (ЭМЭ) на биологические системы изучено значительно меньше. Показано, что данный фактор может оказывать как стимулирующее, так и ингибирующее влияние на метаболические процессы в зависимости от их интенсивности и условий воздействия [8].

Несмотря на значительный объем исследований, остаётся недостаточно изученным вопрос о комплексном влиянии низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ и умеренного ЭМЭ на показатели окислительно-восстановительного обмена раневого процесса. Особенно актуальным является изучение изменений редокс-показателей – уровней NADH и FAD как чувствительных индикаторов метаболической активности клеток.

В связи с этим целью данной работы явилась оценка влияния изолированного и комбинированного действия низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ и умеренного ЭМЭ на динамику редокс-показателей NADH и FAD в процессе ранозаживления у крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент выполнен на 40 половозрелых самцах крыс линии *Wistar* с массой тела 250–300 г. Содержание животных осуществлялось в стандартных условиях вивария в соответствии с требованиями ГОСТ 33216-2014 и действующими рекомендациями по работе с лабораторными животными. Все этапы исследования проводились с соблюдением норм биоэтики и требований законодательства Российской Федерации, включая положения ГОСТ 31887-2012 «Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP)». Эксперимент был одобрен локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского» (протокол № 5, 2022 г.).

Животные были рандомизированы и разделены на четыре равные группы по 10 особей в каждой. У всех крыс моделировали кожную рану путем нанесения линейного разреза длиной 3 см в области холки с формированием полнослойного кожного дефекта, фиксированного шиной, по методике Masson–Meyers и соавт. [9].

Первая группа (контрольная) содержалась в стандартных условиях вивария без дополнительных воздействий на протяжении всего периода наблюдения (14 суток).

Во второй (КВЧ) и четвертой (ЭМЭ+КВЧ) группах применялось воздействие низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ с использованием аппарата «КВЧ. РАМЕД-ЭКСПЕРТ – 01» (Институт технической механики НАНУ, г. Днепр). Использовали длину волны 7,1 мм (частота 42,3 ГГц) при плотности потока мощности 0,1 мВт/см². Облучение проводили ежедневно в утренние часы, воздействуя на затылочно-воротниковую область в течение 30 минут [10] на протяжении 14 дней.

Животные третьей (ЭМЭ) и четвертой (ЭМЭ+КВЧ) групп находились в условиях гипомангнитной среды, создаваемой с помощью экранирующей камеры

размером 2×3×2 м, выполненной из двухслойного железа типа «Динамо». Коэффициент ослабления магнитного поля, определённый феррозондовым магнитометром, составлял 4,375 для вертикальной и 20,0 для горизонтальной компонент.

Оценку параметров окислительного метаболизма проводили с использованием лазерного диагностического комплекса «ЛАЗМА МЦ» (модификация ЛАЗМА-МЦ-III, ООО НПП «ЛАЗМА», Москва). Исследования выполнялись непосредственно в области раневого дефекта. В доплеровском канале использовали лазер с длиной волны 1064 нм, а для регистрации флуоресценции – источники излучения с длинами волн 365 и 450 нм. Передача и регистрация сигнала осуществлялись через оптоволоконный зонд диаметром 3 мм. При проведении измерений особое внимание уделяли минимизации давления зонда на кожу во избежание искажения результатов.

С помощью флуоресцентной спектроскопии определяли [11]:

- индекс тканевого содержания восстановленной формы NADH, отн. ед.;
- индекс содержания окисленной формы FAD, отн. ед.;
- редокс-индекс (РИ), рассчитываемый по формуле:

$$РИ = FAD / (FAD + NADH).$$

Данный показатель отражает соотношение окислительных и восстановительных процессов в тканях и коррелирует с активностью митохондриального дыхания и интенсивностью окислительного фосфорилирования [2, 12].

Регистрация параметров проводилась на 1-е, 3-и, 7-е и 14-е сутки после моделирования раны с целью оценки динамики метаболических изменений в процессе заживления.

Статистическую обработку результатов выполняли с использованием программ GraphPad Prism 8 и MS Excel 2010. Проверку распределения данных осуществляли с помощью критерия Шапиро–Уилка. В связи с преобладанием ненормального распределения применяли непараметрический критерий Краскела–Уоллиса с последующим множественным сравнением по тесту Данна. Полученные данные представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного диапазона 25-й и 75-й процентиля (Q1; Q3). Различия считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ полученных данных показал, что в процессе ранозаживления у крыс наблюдаются выраженные изменения показателей окислительно-восстановительного обмена, отражённые в динамике уровней NADH и FAD, как в контрольной группе, так и при воздействии различных электромагнитных факторов.

Так, в первой группе животных (К) отмечено постепенное снижение уровня NADH с 7,85 (7,00; 8,53) отн. ед. на первые сутки до 2,77 (2,16; 2,83) отн. ед. на 14 сутки, что соответствует естественному течению раневого процесса и показывает снижение интенсивности метаболической активности по мере перехода к фазе ремоделирования. Динамика показателя FAD характеризовалась увеличением показателя с 1,43 (0,82; 2,19) отн. ед. на первые сутки до максимума 1,73 (1,24; 2,28)

отн. ед. на седьмые сутки с последующим снижением до 0,7602 (0,75; 1,39) отн.ед. на 14 сутки (рис. 1), что отражает пик энергетического обмена в фазу пролиферации.

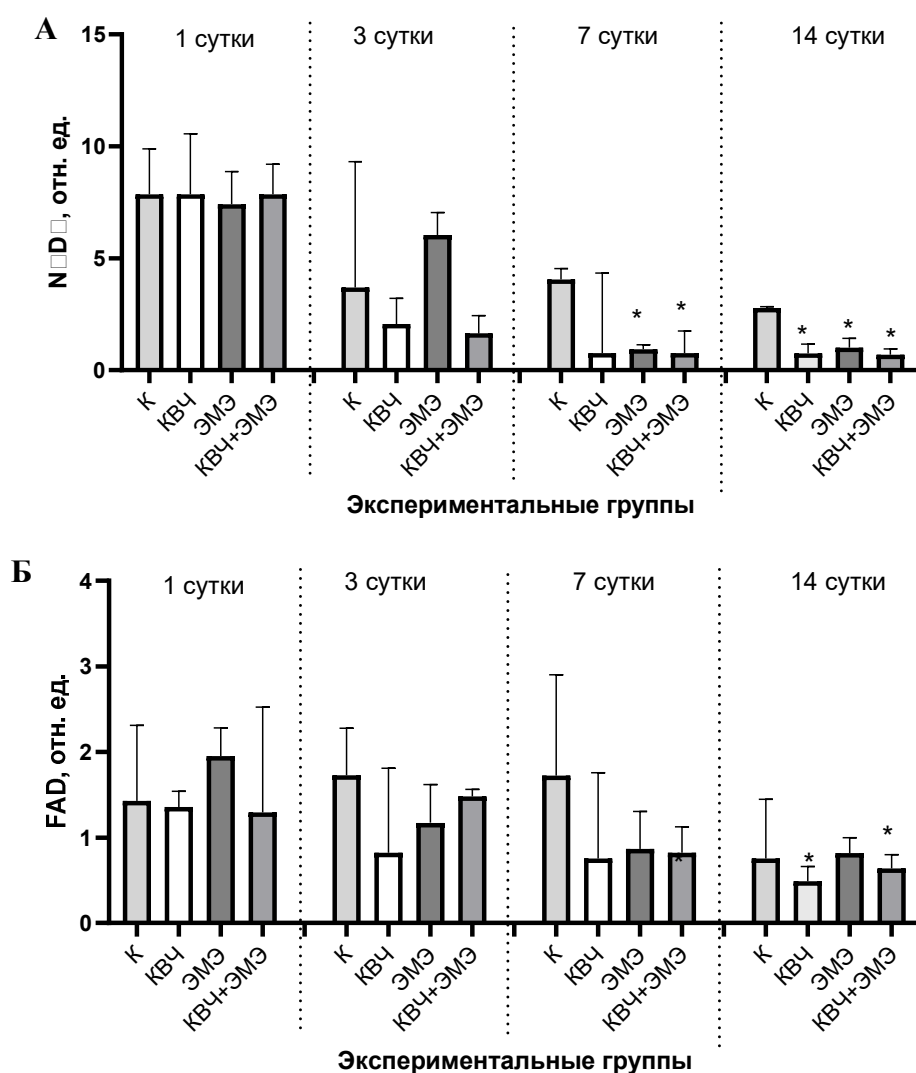


Рис. 1. Изменение показателей NADH (А) и FAD (Б) у крыс в контроле (К), под влиянием низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты (KBЧ) и умеренного электромагнитного экранирования (ЭМЭ) в процессе ранозаживления крыс.

Примечание: * – достоверность ($p < 0,05$) полученных данных по критерию Краскела–Уоллиса в сравнении с данными в контрольной группе.

При воздействии низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ у животных второй группы (КВЧ) наблюдалось более выраженное снижение уровня NADH уже на ранних сроках: на третьи сутки показатель составил 2,05 (0,91, 2,62) отн. ед., что более чем в 2,6 раза ($p < 0,05$) ниже контрольного значения (см. рис. 1). На 7 и 14 сутки значения сохранялись на низком уровне (0,76 и 0,74 отн. ед. соответственно), что свидетельствует о существенном изменении метаболических процессов. Также зарегистрировано снижение уровня FAD на всех сроках наблюдения. Уже на 3 сутки показатель составил 0,82 (0,62; 0,90) отн. ед., а к 14-м суткам снизился до 0,49 (0,47; 0,63) отн. ед., что почти в 2 раза ($p < 0,05$) ниже контрольного значения.

В третьей группе крыс (ЭМЭ), подвергнутых воздействию умеренного ЭМЭ, на третьи сутки уровень NADH практически не отличался от контроля (6,04 (5,22; 6,95) отн. ед.), однако на 7-е сутки наблюдалось резкое снижение до 0,93 (0,47; 1,05) отн. ед., с сохранением низких значений на 14-е сутки. В динамике FAD также наблюдалось снижение показателя в разные сутки наблюдения: до 0,87 (0,72; 0,96) отн. ед. на седьмые сутки и 0,82 (0,66; 0,92) отн. ед. на 14 сутки (см. рис. 1).

Наиболее выраженные изменения выявлены у крыс четверной группы (ЭМЭ+КВЧ) при комбинированном воздействии КВЧ и ЭМЭ. Уже на третьи сутки уровень NADH снижался до 1,64 (1,16; 2,21) отн. ед., а к 14 суткам достигал минимального значения – 0,69 (0,67; 0,74) отн. ед., что является наименьшим показателем среди всех экспериментальных групп. На седьмые сутки показатель FAD составил 0,87 (0,67; 0,95) отн. ед., а на 14-е сутки – 0,64 (0,57; 0,79) отн. ед., что значительно ниже контрольных значений (см. рис. 1).

Таким образом, во всех экспериментальных группах наблюдается более выраженное снижение уровня NADH по сравнению с контролем, наиболее выраженные изменения обоих показателей отмечаются при комбинированном воздействии низкоинтенсивного ЭМЭ КВЧ и ЭМЭ.

Для оценки направленности окислительно-восстановительных процессов при ранозаживлении был рассчитан РИ. В первой группе животных отмечалось постепенное увеличение РИ с 0,176 на 1 сутки до максимального значения 0,337 на седьмые сутки, с последующим незначительным снижением до 0,301 на 14-е сутки. Такая динамика соответствует физиологическому усилению окислительных процессов в фазе пролиферации.

При воздействии КВЧ наблюдалось более раннее увеличение РИ. На 7 и 14 сутки значения оставались повышенными (0,344 и 0,392 соответственно), что свидетельствует об ускорении перехода к окислительному типу метаболизма.

В третьей группе животных (ЭМЭ) РИ на первые-третьи сутки оставался на уровне контроля, однако на седьмые сутки отмечался резкий подъем до 0,547 – максимального значения среди всех групп. На 14-е сутки показатель сохранялся на высоком уровне (0,440), что может указывать на выраженный сдвиг в сторону окислительных процессов.

При комбинированном воздействии ЭМИ КВЧ и ЭМЭ у животных четвертой группы РИ увеличивался уже на третьи сутки до 0,451 и оставался высоким на протяжении всего периода наблюдения (0,448 на седьмые сутки и 0,471 на

14 сутки), что свидетельствует о стойком смещении метаболизма в сторону окислительного типа.

Полученные результаты показывают, что в контрольной группе раневой процесс сопровождался закономерной перестройкой окислительно-восстановительного обмена: уровень NADH последовательно снижался к 14-м суткам, тогда как FAD возрастал к седьмым суткам с последующим снижением к 14-м суткам. Известно, что активные формы кислорода и связанные с ними окислительно-восстановительные процессы необходимы для нормального заживления, умеренный редокс-сдвиг поддерживает миграцию клеток, ангиогенез и ремоделирование тканей, тогда как избыточный окислительный стресс замедляет репарацию [4, 13].

Воздействие низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ сопровождалось более ранним и более выраженным снижением NADH, стойким снижением FAD и повышением редокс-индекса по сравнению с контролем. Это указывает на ускоренную метаболическую перестройку ткани и более ранний переход к окислительному типу обмена. Показано, что низкоинтенсивные миллиметровые волны изменяют активность пролиферации клеток, активность ферментов, состояние мембран и регуляцию клеточного метаболизма, активации процессов, связанных обеспечением клеточной пролиферации [6, 7].

При умеренном ЭМЭ метаболическая реакция имела иной характер: в ранние сроки показатели NADH были близки к контролю, но к седьмым суткам возникал наиболее резкий сдвиг редокс-индекса в сторону окислительного типа метаболизма. Такая реакция указывает о фазозависимой перестройке клеточного ответа на изменение электромагнитного фона. В литературе показано, что ослабление внешнего электромагнитного воздействия способно изменять реактивность биологических систем [5].

Наиболее выраженные изменения выявлены при комбинированном воздействии низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ и ЭМЭ. Это указывает на синергическое влияние двух факторов на тканевой метаболизм, т.е. более быстрое включение окислительно-зависимых механизмов регенерации и сокращение длительности ранней воспалительной фазы.

Таким образом, полученные данные согласуются с представлениями о том, что редокс-показатели NADH и FAD являются чувствительными маркерами тканевого метаболизма при заживлении ран, а электромагнитные факторы способны существенно модифицировать их динамику.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённое исследование показало, что процесс ранозаживления у крыс сопровождается закономерной динамикой окислительно-восстановительных показателей, отражающей фазность регенеративного процесса.

Установлено, что воздействие низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ приводит к более раннему и выраженному снижению NADH, снижению уровня FAD и увеличению

редокс-индекса, что свидетельствует об ускоренной метаболической перестройке тканей и более раннем переходе к окислительному типу обмена.

При воздействии умеренного электромагнитного экранирования выявлена фазозависимая реакция: в ранние сроки показатели сохранялись на уровне контроля, однако в последующем наблюдался выраженный сдвиг редокс-баланса окислительных процессов.

Наиболее значимые изменения отмечены при комбинированном воздействии КВЧ-излучения и электромагнитного экранирования, что проявлялось максимальным снижением NADH, устойчивым уменьшением FAD и повышением редокс-индекса на всех этапах наблюдения. Это свидетельствует о синергическом эффекте данных факторов и их способности усиливать метаболическую активность тканей в зоне повреждения.

Таким образом, полученные результаты показывают, что электромагнитные факторы, особенно при комбинированном воздействии, оказывают существенное влияние на редокс-гомеостаз, способствуя ускорению метаболической перестройки и оптимизации регенераторных процессов.

Работа выполнена на оборудовании ЦКП научным оборудованием «Экспериментальная физиология и биофизика» ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского» в рамках инициативной темы № 126060421664-2 «Закономерности и механизмы адаптации организма к факторам разной природы»

Список литературы

1. Singer A. J. Cutaneous wound healing / Singer A. J., Clark R. A. F. // New England Journal of Medicine. – 1999. – Vol. 341, № 10. – P. 738–746.
2. Chance B. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs / Chance B., Sies H., Boveris A. // Physiological Reviews. – 1979. – Vol. 59, № 3. – P. 527–605.
3. Vander Heiden M. G. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation / Vander Heiden M. G., Cantley L. C., Thompson C. B. // Science. – 2009. – Vol. 324, № 5930. – P. 1029–1033.
4. Schäfer M. Oxidative stress in normal and impaired wound repair / Schäfer M., Werner S. // Pharmacological Research. – 2008. – Vol. 58, № 2. – P. 165–171.
5. Markov M. S. Pulsed electromagnetic field therapy: history, state of the art and future / Markov M. S. // The Environmentalist. – 2007. – Vol. 27, № 4. – P. 465–475.
6. Funk R. H. W. Electromagnetic effects – From cell biology to medicine / Funk R. H. W., Monsees T., Özkucur N. // Cells Tissues Organs. – 2009. – Vol. 189, № 1–4. – P. 70–75.
7. Pakhomov A. G. Current state and implications of research on biological effects of millimeter waves / Pakhomov A. G., Akyel Y., Pakhomova O. N., Stuck B. E., Murphy M. R. // Bioelectromagnetics. – 1998. – Vol. 19, № 7. – P. 393–413.
8. Novoselova E. G. Effects of low-level electromagnetic radiation on immune system / Novoselova E. G., et al. // Bioelectrochemistry and Bioenergetics. – 1999. – Vol. 48, № 1. – P. 71–76.
9. Masson-Meyers D. S. Experimental models and methods for cutaneous wound healing assessment. / Masson-Meyers D. S., Andrade T. A. M., Caetano G. F., et al. // International Journal of Experimental Pathology. – 2020 – 101(1–2) – P. 21–37.
10. Чуян Е. Н. Изменение кожной микроциркуляции в ответ на воздействие низкоинтенсивного электромагнитного излучения миллиметрового диапазона / Е. Н. Чуян, Н. С. Трибрат, Э. Р. Джелдубаева // Медицина труда и промышленная экология. – 2020. – Т. 60, № 9. – С. 605–609. – DOI: 10.31089/1026-9428-2020-60-9-605-609.

11. Крупаткин А. И. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови: руководство для врачей. / А. И. Крупаткин, В. В. Сидоров. – М.: Медицина, 2005. – 254 с.
12. Skala M. C. In vivo multiphoton fluorescence lifetime imaging of protein-bound and free NADH in normal and precancerous epithelia / Skala M. C., Riching K. M., Gendron-Fitzpatrick A., et al. // Journal of Biomedical Optics. – 2007. – Vol. 12(2). – 024014.
13. Jones K. H. Optical redox ratio differentiates metabolic changes associated with wound healing / K. H. Jones, et al. // Scientific Reports. – 2019. – Vol. 9. – Article 18105. DOI: 10.1038/s41598-019-54404-2

THE EFFECT OF ISOLATED AND COMBINED EXPOSURE TO LOW-INTENSITY ELECTROMAGNETIC RADIATION OF ULTRAHIGH FREQUENCY AND ELECTROMAGNETIC SHIELDING ON THE REDOX DYNAMICS OF WOUND HEALING IN RATS

*Dzheldubaeva E. R., Yarmolyuk N. S., Borisenko D. A.,
Kovalchuk I. O., Tumanyants K. N.*

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia
E-mail: delviza@mail.ru*

The wound healing process is a complex, multi-stage regenerative process involving inflammation, proliferation, and tissue remodeling, accompanied by active metabolic and redox reactions [1]. One of the key factors determining the effectiveness of this process is the state of cellular energy metabolism and the balance of redox systems, in which the coenzymes NADH and FAD play an important role [2, 3].

Despite a significant body of research, the combined effects of low-intensity UHF electromagnetic radiation and moderate EME on wound healing parameters remain understudied. Of particular relevance is the study of changes in redox parameters—NADH and FAD levels—as sensitive indicators of cellular metabolic activity.

Therefore, the aim of this study was to evaluate the effects of isolated and combined low-intensity UHF electromagnetic radiation and moderate EME on the dynamics of NADH and FAD redox parameters during wound healing in rats.

The study showed that wound healing in rats is accompanied by a consistent pattern of changes in redox parameters, reflecting the phased nature of the regenerative process.

It was found that exposure to low-intensity UHF electromagnetic radiation leads to an earlier and more pronounced decrease in NADH, a reduction in FAD levels, and an increase in the redox index, indicating accelerated tissue metabolic restructuring and an earlier transition to oxidative metabolism.

When exposed to moderate electromagnetic shielding, a phase-dependent reaction was revealed: in the early stages, the indicators remained at the control level, but subsequently a pronounced shift in the redox balance of oxidative processes was observed.

The most significant changes were observed with combined exposure to UHF radiation and electromagnetic shielding, manifested by a maximum decrease in NADH, a sustained reduction in FAD, and an increase in the redox index at all observation stages.

This demonstrates the synergistic effect of these factors and their ability to enhance tissue metabolic activity in the damaged area.

Thus, the obtained results show that electromagnetic factors, especially when combined, have a significant impact on redox homeostasis, contributing to the acceleration of metabolic restructuring and optimization of regenerative processes.

Keywords: electromagnetic shielding, acute skin wound, wound healing, NADH and FAD.

References

1. Singer A. J., Clark R. A. F. Cutaneous wound healing, *New England Journal of Medicine*, **341**, **10**, 738 (1999).
2. Chance B., Sies H., Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs, *Physiological Reviews*, **59**, **3**, 527 (1979).
3. Vander Heiden M. G., Cantley L. C., Thompson C. B. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation, *Science*, **324**, **5930**, 1029 (2009).
4. Schäfer M., Werner S. Oxidative stress in normal and impaired wound repair, *Pharmacological Research*, **58**, **2**, 165 (2008).
5. Markov M. S. Pulsed electromagnetic field therapy: history, state of the art and future, *The Environmentalist*, **27**, **4**, 465 (2007).
6. Funk R. H. W., Monsees T., Özkucur N. Electromagnetic effects – From cell biology to medicine, *Cells Tissues Organs*, **189**, **1–4**, 70 (2009).
7. Pakhomov A. G., Akyel Y., Pakhomova O. N., Stuck B. E., Murphy M. R. Current state and implications of research on biological effects of millimeter waves, *Bioelectromagnetics*, **19**, **7**, 393 (1998).
8. Novoselova E. G., et al. Effects of low-level electromagnetic radiation on immune system, *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, **48**, **1**, 71 (1999).
9. Masson-Meyers D. S., Andrade T. A. M., Caetano G. F., et al. Experimental models and methods for cutaneous wound healing assessment, *International Journal of Experimental Pathology*, **101**(1–2), 21 (2020).
10. Chuyan E. N., Tribat N. S., Dzheldubaeva E. R. Changes in skin microcirculation in response to exposure to low-intensity millimeter-wave electromagnetic radiation, *Occupational Medicine and Industrial Ecology*, **60**, **9**, 605 (2020).
11. Krupatkin A. I., Sidorov V. V. *Laser Doppler flowmetry of blood microcirculation: a manual for physicians*, 254 p. (Moscow: Meditsina, 2005).
12. Skala M. C., Riching K. M., Gendron-Fitzpatrick A., et al. In vivo multiphoton fluorescence lifetime imaging of protein-bound and free NADH in normal and precancerous epithelia, *Journal of Biomedical Optics*, **12**(2), 024014. (2007).
13. Jones K. H. et al. Optical redox ratio differentiates metabolic changes associated with wound healing, *Scientific Reports*, **9**, Article 18105 (2019). DOI: 10.1038/s41598-019-54404-2