

На правах рукописи



Жаркова Любовь Петровна

**РЕАЛИЗАЦИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В ПЕЧЕНИ И КРОВИ  
ПОСЛЕ КРАТКОВРЕМЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НАНОСЕКУНДНЫХ  
ИМПУЛЬСНО-ПЕРИОДИЧЕСКИХ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ  
ИЗЛУЧЕНИЙ**

Специальность 03.03.01 – физиология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Томск – 2010

Работа выполнена на кафедре физиологии человека и животных в ГОУ ВПО «Томский государственный университет»

**Научный руководитель:** доктор биологических наук, доцент  
**Большаков Михаил Алексеевич**

**Официальные оппоненты:** доктор биологических наук, профессор  
**Замощина Татьяна Алексеевна**

доктор биологических наук  
**Прокопьева Валентина Даниловна**

**Ведущая организация:** Учреждение Российской академии наук  
Институт физиологии Коми НЦ  
Уральского отделения РАН

Защита состоится 22 декабря 2010 г. в 10.00 часов на заседании диссертационного совета Д 212.267.10 при ГОУ ВПО «Томский государственный университет» по адресу: 634050, г.Томск, пр. Ленина, 36.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке ГОУ ВПО «Томский государственный университет» по адресу: 634050, г.Томск, пр. Ленина, 34а.

Автореферат разослан \_\_\_\_\_ ноября 2010г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
канд. биол. наук



Е.Ю. Просекина

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** Любой организм - иерархически организованная система со сложным набором прямых и обратных связей. Электромагнитное воздействие, начинающееся с поглощения энергии веществом, первоначально проявляет себя на молекулярно-клеточном уровне и затем сложным, нелинейным образом реализуется на более высоких уровнях организации вплоть до целого организма (Агаджанян, 2001, Кудряшов, 2008). Подобным образом реализуют свое действие электромагнитные излучения широкого спектра, включающие в себя, в том числе микроволновые и рентгеновское излучения. Исследование механизмов влияния таких электромагнитных факторов, в частности импульсно-периодических электромагнитных излучений (ИП ЭМИ), на системы разных уровней организации и их соотношения в формировании ответных реакций организма является актуальной физиологической проблемой.

В рамках этой проблемы значительный интерес проявляется к исследованию реакций организмов на воздействие радиочастотного (микроволнового) и рентгеновского излучений низкой интенсивности (Chemeris, 2004; Григорьев, 1996; Бурлакова, 1999). В последнем случае это связано с проблемой малых доз ионизирующих излучений (Бурлакова, 1999; Фиалковская, 2009). Биологическое действие микроволн определяется рядом механизмов, которые принято подразделять на тепловые и нетепловые (Шванн, 1980; Давыдов, 1984; Григорьев, 2003; Gorge, 2008). Тепловое действие обусловлено преобразованием электромагнитной энергии в тепловую, что сопровождается повышением температуры в облучаемом объекте. Нетепловое влияние обусловлено сильным или слабым взаимодействием электрического поля излучения с атомами или молекулами вещества и не связано с нагревом. Биологическое действие такого рода излучений характеризуется тем, что эффекты воздействия зависят от частоты модуляции или частоты повторения импульсов (Adey, 1980, 1981, 1993, 1996; Григорьев, 2005; Большаков, 2002; Chemeris, 2004; Кудряшов, 2008). Наиболее чувствительными к электромагнитному воздействию считаются центральная нервная, иммунная, эндокринная и сердечно-сосудистая системы (Давыдов, 1984). В то же время, мало что известно о реакциях печени, а также непосредственной реакции клеток крови на такие воздействия.

В настоящее время большое внимание уделяется изучению биологических эффектов малых доз радиации, в реализации которых большую роль играют окислительные процессы (Мазурик, 2003; Кудряшов, 2004). В частности, такие воздействия стимулируют образование АФК и усиление процессов ПОЛ в облученных клетках и организме (Мазурик, 2005; Yamaoka, 2006; Simone, 2009). При этом реакции биологических объектов на такие воздействия нелинейно зависят от дозы (Фиалковская, 2009). В области малых доз эффект нарастает, достигая максимума, с увеличением дозы излучения снижается (в некоторых случаях знак эффекта меняется на противоположный) и с дальнейшим повышением дозы вновь нарастает (Бурлакова, 1999, Конопля, 1999). Подобные зависимости характерны для слабых и сверхслабых

воздействий любой природы на живые системы (Галль, 2009). В случае низкодозовых ионизирующих излучений у млекопитающих возникают немонотонные изменения в скоростях протекания биохимических процессов клеточного метаболизма критических систем и активируются функции органов и тканей, компенсирующие возникающие нарушения (Фиалковская, 2009).

В последние несколько десятилетий были разработаны и начали использоваться для различных научных и технических целей релятивистские сверхвысокочастотные (СВЧ) генераторы мощных электромагнитных импульсов наносекундной длительности (Месяц 1974; Бугаев, 1996; Коровин, 1996; Лонин, 2008). Влияние, оказываемое такими микроволновыми излучениями на живые системы, может оказаться значительным, поскольку при импульсно-периодическом режиме генерации интенсивность в импульсе будет достигать очень высоких значений энергии при длительностях импульса порядка десятков наносекунд и плотности потока мощности порядка нескольких киловатт на квадратный сантиметр (Бугаев, 1996; Klimov, 2008). Воздействие импульсно-периодическим микроволновым излучением (ИПМИ) может оказаться весьма эффективным из-за очень высокой напряжённости электрического поля, достигающего значений мегавольт на метр. Помимо генераторов наносекундных ИПМИ так же разработаны генераторы импульсно-периодического рентгеновского излучения (ИПРИ), генерирующие импульсы длительностью от единиц до десятков наносекунд, в дозах от 10 мкГр до единиц мГр за импульс при частотах повторения от единиц до ста импульсов в секунду (Артемов, 2004). Такие излучения характеризуется высокой дозой излучения в импульсе, в то время как ее средняя величина за экспозицию будет в пределах диапазона малых доз.

Тенденции в разработке источников ИП ЭМИ таковы, что область их использования будет расширяться. Соответственно, будет увеличиваться вероятность попадания под влияние таких излучений живых организмов, в том числе и человека. Поэтому возникает необходимость понять степень их возможного неблагоприятного влияния. Более того, в настоящее время изучается возможность применения источников ИПМИ и ИПРИ в медицине, прежде всего в онкологии (Литвяков, 2006; Булдаков, 2006), и биотехнологиях (Bolshakov, 2000; Лонин, 2008). Поэтому для успешного решения задач, связанных с использованием наносекундных импульсно-периодических излучений в новых областях применения, крайне необходимо знание корректных физиологических механизмов и общих закономерностей биологического действия ИПМИ и ИПРИ.

В ранее проведенных исследованиях было показано, что воздействие ИПМИ увеличивает количество морфозов и процент прерванного развития у дрозофил, тормозит удельную скорость роста кишечной палочки *E. Coli* и плесневого грибка *Fusarium* (Большаков, 2000), нарушает сократительные свойства миокарда и электрическую активность нейронов (Pakhomov, 2000), пролиферацию опухолевых клеток (Rostov, 2004; Litvyakov, 2005). Кроме того, воздействие ИПМИ и ИПРИ изменяет некоторые морфологические показатели такого радиостойчивого органа как печень, а так же биохимические

показатели крови облученных крыс, свидетельствующие о неблагоприятном влиянии этих излучений на печень (Коровин, 2005; Большаков, 2005). При этом влияние повреждений печени после действия наносекундных ИПРИ и ИПМИ на показатели крови, а также механизм формирования ответных реакций и роль окислительных процессов в этом остаются не ясными.

На основании вышеизложенного, **целью исследования** было изучение реализации окислительных процессов в печени и крови после кратковременного воздействия наносекундных импульсно-периодических электромагнитных излучений (микроволнового и рентгеновского).

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

1. Исследовать окислительные процессы в печени мышей после воздействия наносекундных импульсно-периодических микроволнового и рентгеновского излучений
2. Изучить содержание активных форм кислорода в гепатоцитах мышей и митохондриях из гепатоцитов после воздействия.
3. Оценить состояние мембран гепатоцитов и их митохондрий, эритроцитов и лейкоцитов крови человека после воздействия.
4. Проанализировать частотную зависимость эффектов воздействия импульсно-периодических электромагнитных излучений.

#### **Научная новизна.**

Впервые исследованы окислительные процессы в печени и крови мышей после воздействия наносекундных импульсно-периодических микроволнового и рентгеновского излучений.

Установлено разнонаправленное действие наносекундных импульсно-периодических микроволнового и рентгеновского излучений на импеданс клеток крови и печени, а также на уровень активных форм кислорода в них. Впервые показано, что после облучения суспензии митохондрий гепатоцитов снижается их импеданс и происходит как набухание так и сокращение их объёма.

Величина и направленность изменения всех изученных показателей определяется частотой повторения импульсов, интенсивностью/дозой, а так же природой воздействующего электромагнитного фактора и объекта.

#### **Теоретическая и практическая значимость работы.**

Результаты значительно углубляют теоретические представления о биологическом действии наносекундных ИП ЭМИ. Установленные закономерности развития окислительных процессов в печени и крови после воздействия наносекундных импульсно-периодических микроволнового и рентгеновского излучений характеризуются зависимостью биологических эффектов от частоты повторения импульсов, интенсивности/дозы и типа воздействующего фактора. Понимание основных закономерностей и возможных механизмов воздействия наносекундных импульсно-периодических излучений имеет важное практическое значение, поскольку полученные данные могут быть использованы при разработке и усовершенствовании гигиенических и экологических норм безопасного действия наносекундных ИПМИ и ИПРИ, а также могут быть востребованы медициной и ветеринарией.

Результаты работы используются при чтении лекционных курсов «Физиология», «Экологическая физиология», «Основы безопасности жизнедеятельности», «Электромагнитная экология» и «Биофизика мембран», а так же при проведении работ большого практикума на кафедре физиологии человека и животных Томского государственного университета.

**Основные положения, выносимые на защиту.**

1. Воздействие наносекундных импульсно-периодических электромагнитных излучений амбивалентно влияет на интенсивность окислительных процессов в печени и крови.

2. Величина и направленность исследованных эффектов зависят от частоты повторения импульсов, интенсивности/дозы и природы фактора и объекта.

**Апробация работы.** Результаты исследования по теме диссертации, доложены и обсуждены на научных конференциях и симпозиумах разного уровня: «Старт в науку» (Томск, 2005 - 2007); «Нейрогуморальные механизмы регуляции органов пищеварительной системы в норме и при патологии» (Томск, 2007); «Студент и научно-технический прогресс» (Новосибирск, 2007, 2008, 2010); VIII Международном симпозиуме по электромагнитной совместимости и электромагнитной экологии (Санкт-Петербург, 2009); «Биология 21 век» (Пушино, 2009); «17th IEEE International pulsed power conference» (Washington, 2009); IV Всероссийской конференции молодых ученых «Материаловедение, технологии и экология в третьем тысячелетии» (Томск, 2009); конференции посвященной 120-летию кафедры физиологии ТГУ (Томск, 2009); XVI Международной научно-практической конференции студентов и молодых учёных «Современные техника и технологии» (Томск, 2010); V научно-практической конференции «Медицинские и экологические эффекты ионизирующего излучения» (Северск-Томск, 2010); 21 Съезде физиологического общества им. И.П. Павлова (Калуга, 2010); 16<sup>th</sup> International Symposium on High-Current Electronics (Tomsk, 2010); VI Съезд по радиационным исследованиям (Москва, 2010).

Работа выполнялась при поддержке гранта РФФИ № 09-02-99014-р\_офи; проекта АВЦП № 2.1.1/2777 и «У.М.Н.И.К.» № 7058p/9654.

Публикации. Основные научные результаты по теме диссертации опубликованы в 26 печатных работах, в числе которых 5 статей в изданиях, рекомендованных ВАК.

**Объем и структура работы.** Работа изложена на 124 страницах машинописного текста, содержит 41 рисунок, 4 таблицы и состоит из введения, 3 глав (литературный обзор, материалы и методы, результаты и обсуждение), заключения, выводов и списка литературы, который состоит из 288 источников, из которых 152 – иностранные.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Эксперименты выполнены на 506 беспородных белых мышах массой 25-30 г, их клетках, органах и тканях. Животные содержались в стандартных условиях, в клетках с режимом освещения 12:12, на стандартном рационе вивария со свободным доступом к воде. В экспериментах использовались

группы облученных животных и, для сравнения, группы ложнооблученных (ЛО) животных, которые подвергались всем аналогичным манипуляциям, что и опытные, но без включения источников излучения. Распределение объектов исследования по группам в соответствии с используемыми экспериментальными методами представлены в таблице 1.

При проведении экспериментов соблюдались все правила гуманного обращения с животными («Правила проведения работ и использования экспериментальных животных», утвержденные Приказом МЗ СССР № 775 от 12 августа 1977; Хельсинская Декларация Всемирной Медицинской Ассоциации от 1964, дополненная в 1975, 1983 и 1989; Euroguide on the accommodation and care of animals used for experimental and other scientific purposes, 2007).

Воздействие ИПМИ или ИПРИ на мышей осуществлялось на область проекции печени однократно в течение 5 минут. Затем через 6, 12, 24, 36 и 72 часа после воздействия выделялись суспензия гепатоцитов и кровь облученных и ЛО мышей для дальнейшего определения содержания окисленных липидов и белков.

В экспериментах по измерению электропроводности ткани печени, суспензии гепатоцитов, крови или её компонентов, образцы подвергались воздействию 4000 импульсов ИПМИ и ИПРИ. Показатели электропроводности печени, суспензии гепатоцитов, культуры лейкоцитов и цельной крови измерялись непосредственно до и после воздействия ИП ЭМИ. Емкость суспензии эритроцитов регистрировалась до, после, а так же во время воздействия. Во всех случаях эффект воздействия оценивался относительно показателей, измеренных у анализируемого объекта до воздействия. Для оценки изменений лейкоцитарной формулы крови мышей облучали 4000 импульсов ИПМИ и ИПРИ, затем, через 24 и 72 часа после воздействия, отбирались образцы крови облученных и ЛО мышей и оценивалось соотношение разных форм лейкоцитов.

Для исследования содержания АФК изолированные гепатоциты или митохондрии гепатоцитов однократно подвергались воздействию 4000 импульсов ИПМИ или ИПРИ. Уровень супероксиданиона ( $O_2^{\cdot-}$ ) измерялся на протяжении 60 минут после процедуры облучения или ложного облучения суспензии гепатоцитов. При определении содержания перекиси водорода ( $H_2O_2$ ) в гепатоцитах измерения проводились после облучения и ложного облучения.

При исследовании влияния излучений на состояние мембран митохондрий гепатоцитов по импедансу и набуханию суспензии, исследуемые образцы однократно облучались 4000 импульсов ИПМИ и ИПРИ. Измерения импеданса облученных и ЛО образцов проводились в каждом из дыхательных состояний по Чансу. Набухание оценивалось по оптической плотности облученной и ЛО суспензий митохондрий, находящихся во втором дыхательном состоянии (в котором работает дыхательная цепь, но не происходит образование АТФ).

Таблица 1 – Распределение объектов исследования по группам в соответствии с используемыми экспериментальными методами

Решаемая задача	Облучаемый объект	Метод оценки	Кол-во объектов, проб
Определение окислительной модификации липидов	Мышь	Спектрофотометрическое определение ТБК активных продуктов в крови и печени (Ushijama, 1978; Чиркин, 2002)	160 мышей, 320 проб
Определение окислительной модификации белков	Мышь	Спектрофотометрическое определение уровня карбонилированного белка в крови и печени (Дубинина, 2004)	
Оценка уровня супероксиданиона	Изолированные гепатоциты печени мышей	Спектрофотометрическое определение НСТ-восстановленных продуктов (Schrenzel, 1998; Taprey, 2001)	20 мышей, 120 проб
Оценка уровня перекисей	Изолированные гепатоциты мышей, митохондрии гепатоцитов	Определение флуоресценции зонда 2,7– ДХФДА (Halliwell, 2006)	102 мыши, 620 проб
Оценка состояния мембран тканей, клеток и митохондрий	Печень и кровь мышей, компоненты крови человека, митохондрии печени мышей	Метод измерения электропроводности (импедансометрия) (Shwan, 1980; Озерова, 2006); Метод измерения степени набухания митохондрий (Оливьер, 2006; Пазялова, 2007; Crichton, 2009); Метод оценки скорости дыхания митохондрий для определения их функционального состояния (Jonson, 1969);	180 мышей 1500 проб  +900 проб крови человека
Оценка лейкоцитарной формулы крови	Мышь	Методика подсчета лейкоцитарной формулы (Гольдберг, 1989)	24 мышей 72 мазка крови

Для генерации ИПМИ использовался лабораторный импульсный генератор микроволнового излучения на основе магнетрона МИ-505 (несущая частота 10 ГГц, длительность импульсов на половинном уровне мощности 100 нс, частота повторения 4-25 имп./с, пиковая ППМ от 50 до 1700 Вт/см<sup>2</sup>) (Klimov, 2008). Для генерации ИПРИ использовался ускоритель Sinus 150 (энергия фотонов 90-120 кЭв, длительность импульса 4 нс, частота повторения 4-25 имп./с, доза в импульсе 0,3 – 4 мР/имп, суммарная поглощенная доза от 12 мГр до 160 мГр), разработанный в Институте сильноточной электроники СО РАН (г.Томск).

Во всех проведенных сериях опытов использовались выборки из 6-7 тест-объектов. При статистической обработке результатов рассчитывалась средняя

арифметическая величина показателя и её стандартная ошибка. Значимость различий между показателями облученных выборок и ЛО определялась с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни с уровнем значимости  $p \leq 0,05$ , коэффициенты корреляции между динамиками различных показателей рассчитывались по Спирмену (Ефимов, 2008). Все расчёты выполнены с использованием пакета компьютерных программ Statistica 6.0 для Windows.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Оценка реакций печени и крови мышей на однократное кратковременное воздействие ИП ЭМИ (микроволнового и рентгеновского) по показателям окислительной модификации липидов белков.** В работах Коровина (2004) и Большакова (2005) было показано, что однократное кратковременное воздействие ИПМИ и ИПРИ вызывает альтеративные и деструктивные сдвиги в морфологии печени. Было высказано предположение, что такие эффекты могли быть инициированы развитием процессов ПОЛ в результате воздействия. Для проверки правильности такого предположения нами были проведены эксперименты, в которых область проекции печени мышей облучалась ИПМИ и ИПРИ.

Однократное кратковременное облучение мышей ИПМИ или ИПРИ с частотами повторения в диапазоне от 10 до 25 имп./с способно инициировать окислительную модификацию липидов и белков в печени, которая может сохраняться до 72 часов после воздействия. Эффект воздействия проявляется как в повышении, так и в понижении содержания продуктов окислительной модификации липидов и белков, в зависимости от частоты повторения импульсов. При этом наиболее эффективно на показатели окислительной модификации оказывают влияние ИПМИ и ИПРИ частотами повторения 13 и 25 имп./с (рисунок 1).

Ранее было показано (Коровин, 2004), что воздействие ИПМИ и ИПРИ влияет на показатели крови, такие как содержание глюкозы и белков в крови. Нами была проведена экспериментальная оценка содержания продуктов окислительной модификации липидов и белков в крови облученных мышей. Оказалось, что уровень этих показателей в крови может как понижаться, так и повышаться (рисунок 2), причем после некоторых воздействий в 2 – 6 раз (например, 13 и 10 имп./с соответственно) (рисунок 2, в).

Из полученных результатов следовало, что наиболее выражен эффект облучения ИПМИ с частотами повторения импульсов 13 и 25 имп./с. Поскольку исследуемые показатели окислительной модификации липидов и белков через 24 и 72 часа существенно различались, то необходимо было уточнить динамику протекания окислительных процессов. Для этого образцы гепатоцитов и крови анализировались через 6, 12, 24, 36, 48 и 72 часа после облучения. Оказалось, что динамики показателей двух тканей после воздействия ИПМИ и ИПРИ с частотами 13 и 25 имп./с имеют как общий характер (рисунок 3, а), так и существенные отличия (рисунок 3, б).

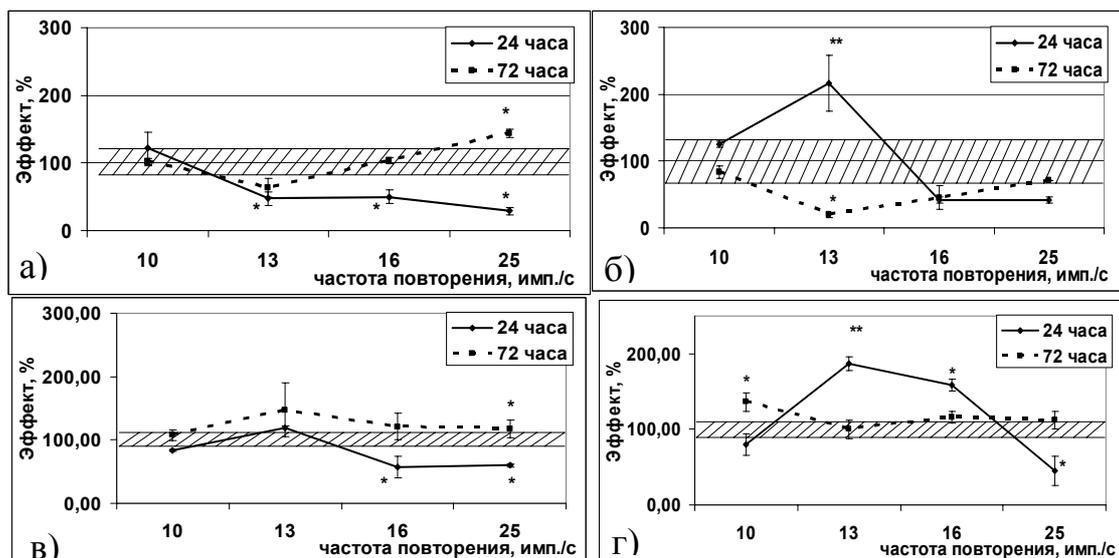


Рисунок 1 – Изменение уровня продуктов ПОЛ (а, в) и карбонилированного белка (б, г) в гепатоцитах облученных мышей через 24 и 72 часа после воздействия разными частотами повторения импульсов ИПМИ (а, б) и ИПРИ (в, г). Сплошная линия – показатель измерен через 24 часа после облучения мышей, пунктирная линия – через 72 часа.

Примечания: а, в) показатели представлены в % от уровня ТБК-РП в группе ЛО (100% =  $3,1 \pm 0,3$  мкмоль/мг); б, г) показатели представлены в % от уровня карбонилированного белка в группе ЛО (100% =  $4 \pm 0,5$  мкмоль/мг). Заштрихованное пространство – 95% доверительный интервал среднего значения показателя в группе ЛО животных. \* - различия между показателями облученной и ЛО выборки статистически значимы с уровнем  $p \leq 0,05$

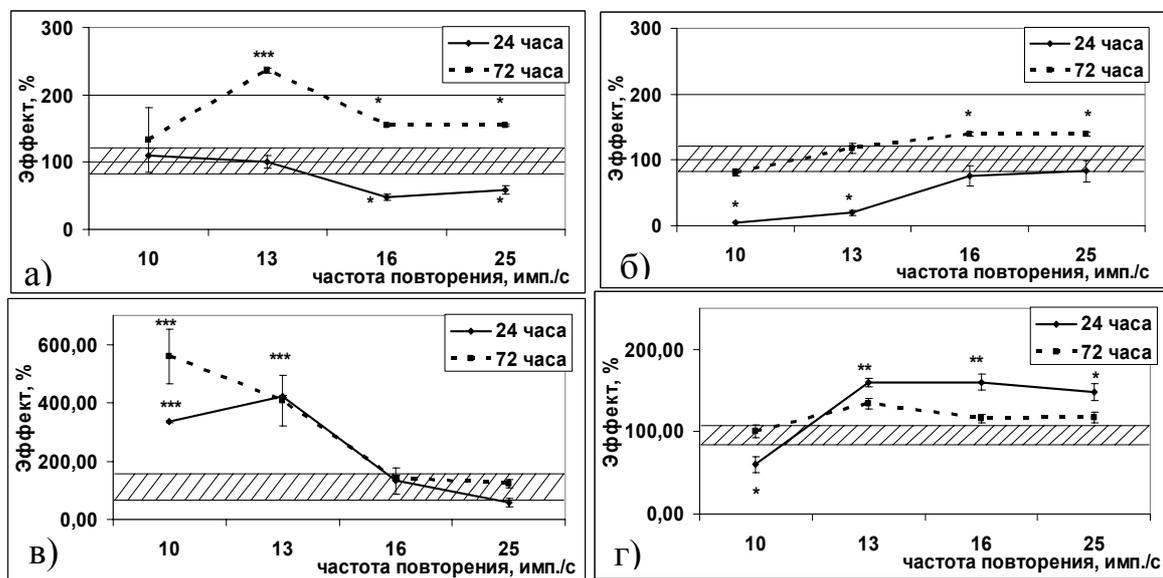


Рисунок 2 – Изменение уровня продуктов ПОЛ (а, в) и карбонилированного белка (б, г) в крови облученных мышей, через 24 и 72 часа после воздействия разными частотами повторения импульсов ИПМИ (а, б) и ИПРИ (в, г). Сплошная линия – показатель измерен через 24 часа после облучения мышей, пунктирная линия – через 72 часа.

Примечания аналогичны рисунку 1.

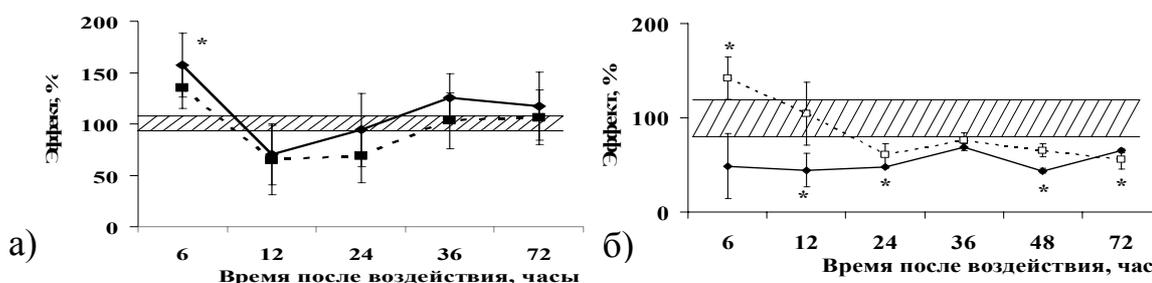


Рисунок 3 – Динамика изменения уровня продуктов ПОЛ после воздействия ИПМИ (а) и ИПРИ (б) с частотой повторения 25 имп./с в крови (сплошная линия) и в суспензии гепатоцитов (пунктирная линия).

Примечания: показатели представлены в % от уровня ТБК-РП в группе ЛО (100 % =  $3,1 \pm 0,3$  мкмоль/л). Заштрихованное пространство – 95 % доверительный интервал среднего значения показателя в группе ЛО животных. \* - различия между показателями облученной и ЛО выборок статистически значимы с уровнем  $p \leq 0,05$

Для уточнения взаимосвязи между показателями окислительной модификации липидов и белков в печени и крови был проведен корреляционный анализ динамик содержания окислительно-модифицированных продуктов в этих двух тканях. Выяснилось, что динамики этих процессов в двух разных тканях могут быть как скоррелированными, так и слабо скоррелированными в зависимости от режима воздействия (таблица 2). В случае высокой скоррелированности можно говорить о непосредственном влиянии на печень (поскольку облучалась именно область печени) и через неё на кровь. В случае слабо скоррелированных динамик можно предполагать не только влияние через печень, но и влияние непосредственно на кровь, а так же на другие физиологические системы, реакция которых отражается на показателях окислительной модификации крови.

Таблица 2. Коэффициенты корреляции Спирмена (R) для динамик окислительной модификации липидов и белков в печени и крови (уровень значимости  $p \leq 0,05$ )

	ИПМИ		ИПРИ	
	13имп./с	25имп./с	13имп./с	25имп./с
Значения R для ТБК-РП в печени и крови	<b>0,74</b>	<b>0,91</b>	0,6	0,02
Значения R для карбонилированного белка в печени и крови	0,62	0,61	0,42	0,4

Для того чтобы разделить эффекты воздействия ИПМИ и ИПРИ на печень и кровь в облученном организме, необходимо было исследовать их влияние на печень и кровь в изолированном состоянии.

**Содержание АФК в изолированных гепатоцитах после воздействия ИПМИ и ИПРИ.** Окислительная модификация биополимеров может быть инициирована активными формами кислорода (Мазурик, 2003; Dei Rio, 2005; Suwannalert, 2007). АФК могут образовываться в тканях (Halliwell., 2006; Луцак, 2007; Jones, 2008; Шумаев, 2010), и в водной среде (Gudkova, 2005) по схеме последовательного одноэлектронного восстановления кислорода (Скулачев, 1996). В этом ряду окислительно-восстановительных превращений

первым продуктом является  $O_2^{\cdot-}$ , что и определило проведение следующих экспериментов. Эксперименты показали, что облучение изолированной печени не меняет уровень  $O_2^{\cdot-}$  в ней (рисунок 4, а, б).

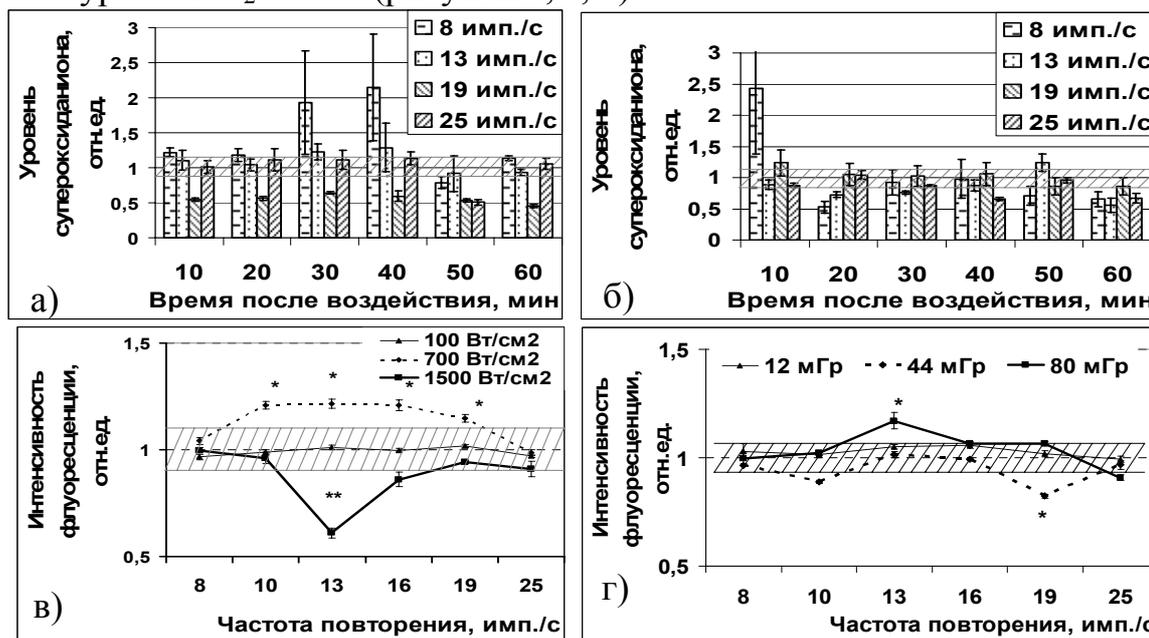


Рисунок 4 – Содержание супероксид аниона (а, б) и перекиси водорода (в, г) в гепатоцитах мышей, облученных ИПМИ (а, в) и ИПРИ (б, г) с разными частотами повторения импульсов.

Примечания: а, б) по оси абсцисс указано время после воздействия в минутах, по оси ординат – содержание супероксиданиона в относительных единицах; в, г) по оси абсцисс указаны частоты повторения импульсов, по оси ординат – значения интенсивности флуоресценции зонда в относительных единицах, пропорциональные содержанию  $H_2O_2$ . Показатели ЛО образцов взяты за 1. Заштрихованное пространство – 95 % доверительный интервал среднего значения показателя в ЛО образцах. \* - различия между показателями облученной и ЛО выборок статистически значимы с уровнем  $p \leq 0,05$

Такой результат можно объяснить отсутствием влияния излучений на образование  $O_2^{\cdot-}$ . Однако возможно и другое объяснение: под действием излучения повышается активность супероксиддисмутазы, которая переводит  $O_2^{\cdot-}$  в  $H_2O_2$ .

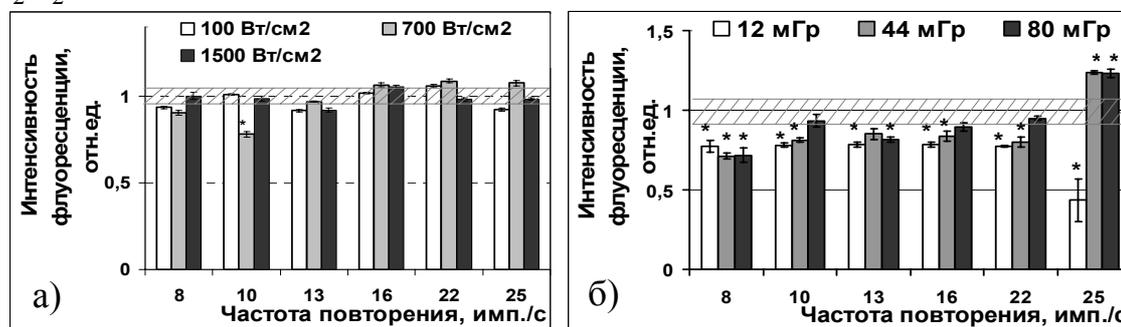


Рисунок 5 – Влияние ИПМИ (а) и ИПРИ (б) на содержание пероксида в изолированных митохондриях гепатоцитов мышей в зависимости от частоты повторения импульсов.

Примечания: Показатели ЛО образцов взяты за 1. Заштрихованное пространство – 95 % доверительный интервал среднего значения показателя в ЛО образцах. \* - различия между показателями облученной и ЛО выборок статистически значимы с уровнем  $p \leq 0,05$

С помощью флуоресцентного зонда ДХФДА была проведена оценка содержания перекиси водорода непосредственно в гепатоцитах, облученных ИП ЭМИ. Выяснилось, что уровень  $H_2O_2$  мог повышаться или понижаться и характер изменений зависел от режима воздействия (рисунок 4, в,г). В гепатоцитах главные источники  $O_2^{\cdot -}$  и  $H_2O_2$ - митохондрии (Болдырев, 1999, 2003; Cadenas, 2000; Inarrea, 2005). Однако воздействие ИПМИ на суспензию митохондрий не изменяет уровень  $H_2O_2$  в них (рисунок 5,а), а воздействие ИПРИ с большинством режимов снижает его (рисунок 5,б)

### **Влияние ИП ЭМИ на состояние клеток печени, крови и их мембран.**

Выявленная окислительная модификация липидов может сопровождаться повреждением клеточных мембран и, соответственно, изменением их функциональных характеристик. Состояние мембран в нашей работе оценивалось с помощью метода импедансометрии, с использованием переменного тока в области  $\beta$ -дисперсии, проводимость в которой напрямую связана с состоянием биомембран (Foster, 1980, 1986; Gabriel, 1996; Озерова, 2006; Константиновская, 2006).

Оказалось, что облучение печени ИПМИ не вызывает статистически значимых изменений сопротивления (рисунок 6, а), а воздействие ИПРИ с частотами повторения 19 и 25 имп./с снижает сопротивление ткани печени, измеренное на частоте переменного тока 50 кГц (рисунок 6, б). Это свидетельствует о влиянии ИПРИ на состояние именно мембран печени, поскольку показатели электропроводности на частоте 2,5 кГц не изменялись (рисунки не приведены), следовательно влияния на внеклеточную среду не оказывалось.

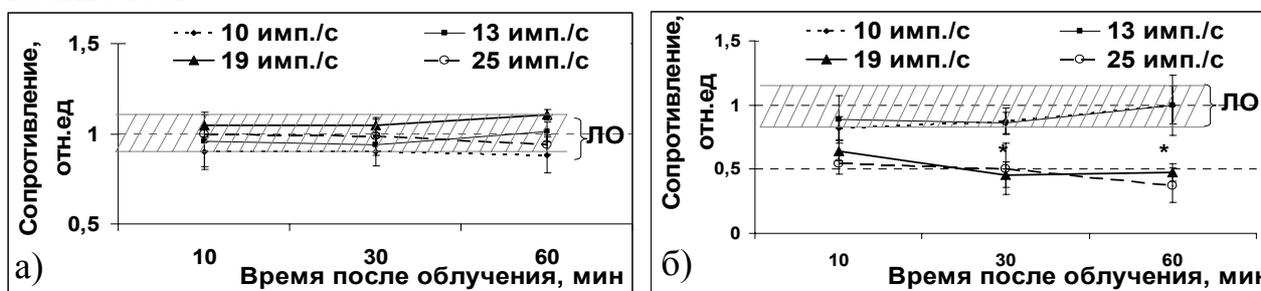


Рисунок 6 – Динамика изменения сопротивления ткани печени, измеренного на частотах переменного тока в области  $\beta$ - дисперсии (50 кГц) после облучения ИПМИ (а) и ИПРИ (б) с разными частотами повторения импульсов.

Примечания: показатели ЛО образцов взяты за 1. Заштрихованное пространство – 95 % доверительный интервал среднего значения показателя в группе ЛО \* - различия между показателями облученной и ЛО выборок статистически значимы с уровнем  $p \leq 0,05$

Поскольку, как отмечалось ранее, воздействие ИП ЭМИ на мышей изменяет содержание продуктов окислительной модификации белков и липидов в крови, то возникает вопрос, что же происходит с клетками крови непосредственно во время облучения и сразу после него. Если в них происходит окислительная модификация липидов или белков мембран то должна меняться их электропроводность в области  $\beta$ -дисперсии. Система цельной крови содержит широкий набор клеток с разными свойствами (Новицкий, 2006). Поэтому

эксперименты были выполнены на наиболее важных функциональных элементах крови - эритроцитах и лейкоцитах человека. Облучение суспензии эритроцитов минимально и обратимо влияет на электропроводность суспензии (рисунок 7, а,б). При этом во время облучения емкость суспензии эритроцитов меняется двухфазно в пределах 2-3 % и к концу облучения возвращается к исходному уровню (рисунок 7, в). По-видимому такой незначительный эффект не может быть связан с развитием окислительной модификации липидов и белков мембран эритроцитов.

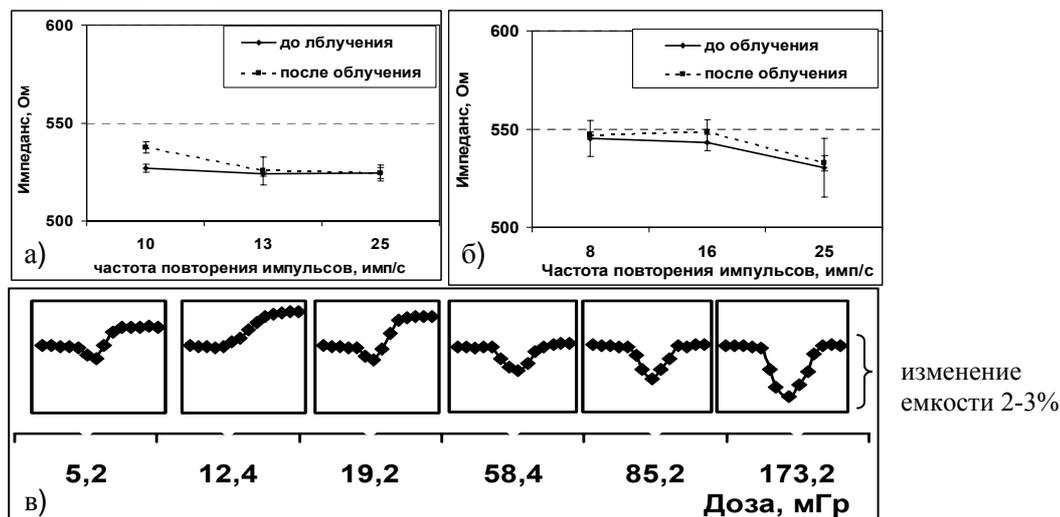


Рисунок 7 – Импеданс суспензии эритроцитов, облученной ИПМИ (а) и ИПРИ (б) с разными частотами повторения импульсов. в) - Дозовая зависимость относительного изменения ёмкости суспензии эритроцитов во время воздействия ИПРИ (частота повторения 8 имп./с).

Примечания: сплошной линией обозначены показатель импеданса до облучения, пунктирной – после облучения. \* - различия между показателями облученной и ЛО выборок статистически значимы с уровнем  $p \leq 0,05$

Лейкоциты реагируют на воздействие иначе, чем эритроциты. После облучения культуры лейкоцитов человека ИПМИ с частотами повторения 10 и 16 имп./с импеданс увеличивается (рисунок 8,а). Воздействие ИПРИ, в отличие от ИПМИ, сопровождается как снижением, так и ростом импеданса, и характер реагирования зависит от частоты и дозы воздействия (рисунок 8,б).

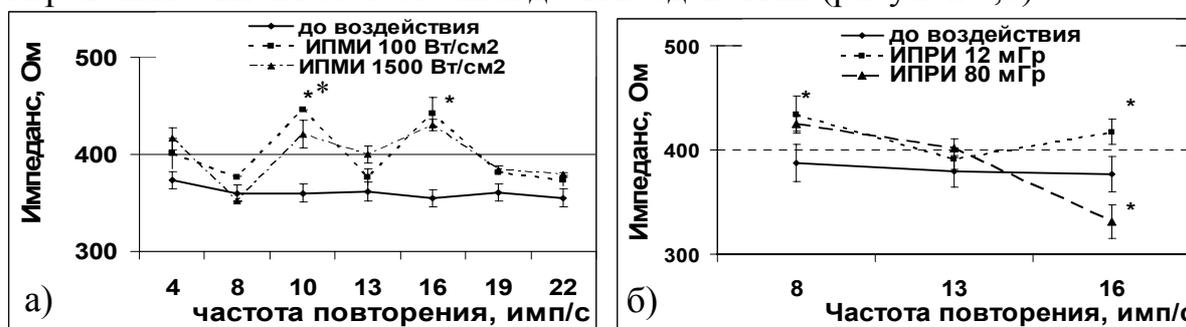


Рисунок 8 – Импеданс культуры лейкоцитов облученной ИПМИ (а) и ИПРИ (б) с разными режимами.

Примечания: Сплошной линией обозначены показатель импеданса до облучения, пунктирной – после облучения. \* - различия между показателями облученной и ЛО выборок статистически значимы с уровнем  $p \leq 0,05$

Усиление окислительных процессов в крови облученных животных наносекундными ИП ЭМИ приводит к изменению состояния клеток крови, что может повлиять на количественное соотношение клеток. Проведенные эксперименты показали, что воздействие ИПМИ на организм мышей изменяет лейкоцитарную формулу крови, причем эффект зависит от частоты повторения импульсов. Воздействие с частотой 25 имп./с не вызывает существенных изменений в лейкоцитарной формуле, а после облучения частотой 13 имп./с наблюдаются изменения в соотношении молодых и зрелых форм нейтрофилов как через 24 часа, так и через 72 часа после облучения. Облучение ИПРИ с частотами 13 и 25 имп./с не сопровождается статистически значимыми изменениями лейкоцитарной формулы (таблицы в автореферате не представлены).

**Влияние ИПМИ и ИПРИ на мембраны митохондрий.** Как было показано нами в экспериментах с импедансометрией, воздействие ИПМИ и ИПРИ существенно изменяло физико-химическую организацию мембран лейкоцитов, но не эритроцитов. Возможно, это связано с наличием митохондрий в лейкоцитах, в отличие от эритроцитов. Выше отмечалось, что митохондрии являются серьезным источником АФК в клетке. Не исключено, что они могут сами подвергаться действию ИП ЭМИ, и это будет отражаться на состоянии их мембран и, соответственно, на их импедансе. В нашем эксперименте митохондрии находились в разных дыхательных состояниях (Николс, 1985). Проведенные эксперименты показали, что воздействие ИПМИ и ИПРИ снижает импеданс митохондрий (рисунок 9, а,б). Это может быть следствием увеличения проводимости митохондриальных мембран после облучения, которое может быть вызвано ростом ее проницаемости для ионов через уже имеющиеся транспортные структуры, либо индуцированные воздействием (порин, неспецифические поры). Это может привести к нарушению продукции АТФ, изменению метаболических процессов и сдвигу окислительно-восстановительного гомеостаза в клетке.

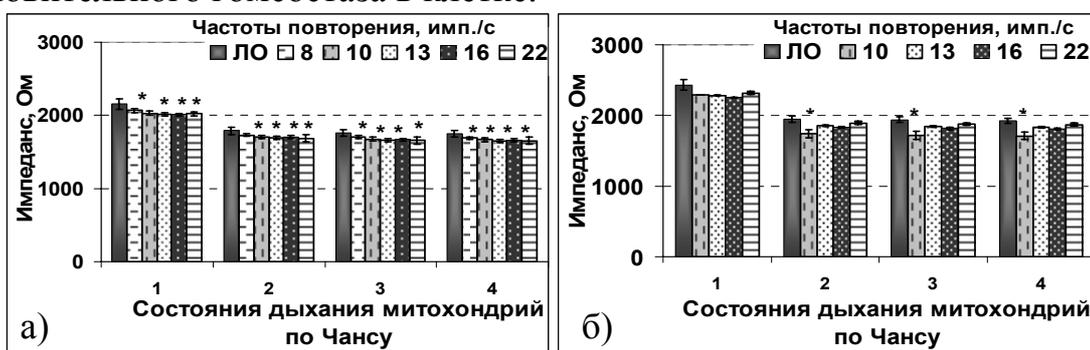


Рисунок 9 – Импеданс суспензии митохондрий после воздействия ИПМИ (а) и ИПРИ (б) с разными частотами повторения импульсов.

Примечания: В подписи к рядам данных указаны частоты повторения импульсов. По оси абсцисс указаны четыре дыхательных состояния митохондрий по Чансу (Николс, 1985), в которых и производились измерения импеданса. \* - различия между показателями облученной и ЛО выборки статистически значимы с уровнем  $p \leq 0,05$

Снижение импеданса свидетельствует об увеличении проницаемости (специфической и неспецифической) мембран у облученных митохондрий и изменении ионных потоков через них. Изменение ионных потоков через мембрану будет сопровождаться накоплением или обеднением матрикса теми или иными ионами, что должно сопровождаться переносом воды в матрикс или из него соответственно. Это будет приводить к набуханию или сморщиванию митохондрий, что можно зарегистрировать по оптической плотности суспензии митохондрий (Оливьер, 2006; Пазялова, 2007; Crichton, 2009). Воздействие ИПМИ с пППМ 700 и 1500 Вт/см<sup>2</sup> при всех использованных частотах не влияло на степень набухания митохондрий в облученной суспензии. Однако, воздействие ИПМИ с наименьшей из использованных интенсивностей (100 Вт/см<sup>2</sup>) приводило к значимому увеличению оптической плотности суспензии митохондрий (рисунок 10, а). Это может быть связано с выходом электролитов из митохондриального матрикса и уменьшением объема митохондрий. Воздействие ИПРИ с дозой 12 мГр так же увеличивало оптическую плотность суспензии митохондрий. Однако, ИПРИ с более высокими дозами (44 и 80 мГр) при всех частотах повторения импульсов, наоборот, снижало оптическую плотность облученной суспензии на 10% (рисунок 10, б). Это значит, что при воздействии с такими режимами потоки ионов устремляются в матрикс митохондрий, вслед за ними поступает вода, что приводит к набуханию митохондрий.

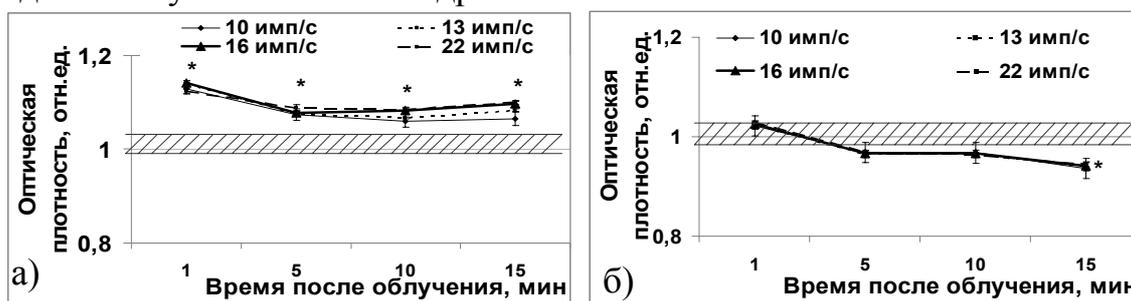


Рисунок 10 – Изменение оптической плотности суспензии митохондрий после воздействия ИПМИ (а) и ИПРИ (б).

Примечания: В подписи к рядам данных указаны частоты повторения импульсов. По оси абсцисс время после воздействия., по оси ординат оптическая плотность в относительных единицах. Заштрихованное пространство – 95 % доверительный интервал среднего значения показателя в группе ЛО. \* - различия между показателями облученной и ЛО выборки статистически значимы с уровнем  $p \leq 0,05$

Таким образом, воздействие ИП ЭМИ изменяет импеданс и набухание митохондрий не более чем на 5-10%. По-видимому, это не может быть связано с серьезными повреждениями митохондриальных мембран сразу после импульсного электромагнитного воздействия.

**Зависимость эффектов воздействия ИПМИ и ИПРИ на клетки и ткани от частоты повторения импульсов.** Считается, что частота повторения импульсов является важнейшим биотропным фактором (Adey W.R., 1980, 1981; Григорьев Ю.Г, 1998, 2000; Большаков М.А, 2000, 2001, 2005). В ходе работы выяснилось, что воздействия с разными частотами повторения импульсов

оказались неодинаково эффективными с точки зрения запуска окислительных процессов и дальнейшей их реализации. Поэтому отдельно был проведен анализ зависимости полученных эффектов от частоты повторения импульсов. На основании этого анализа были определены частоты повторения импульсов, воздействие с которыми оказывало наиболее существенное влияние на облучаемые объекты. Среди них наиболее эффективно способствуют запуску и реализации окислительных процессов воздействия ИПМИ с частотами повторения 13 и 25 имп./с, а так же воздействие ИПРИ с частотами повторения 10, 13, 16 и 25 имп./с (рисунков в автореферате не представлено).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования выяснилось, что однократные кратковременные воздействия ИП ЭМИ способны оказывать влияние на реализацию окислительных процессов в печени и крови. Результаты этого могут проявляться как непосредственно после воздействия (например, повышение или понижения уровня перекиси водорода в гепатоцитах и их митохондриях; снижение импеданса, набухание митохондрий), так и сохраняться в течение продолжительного времени (например, повышение или понижение уровня продуктовв ПОЛ и карбонилированных белков в печени и крови в течение 72 часов после воздействия). Выявленные в ходе исследования эффекты были разнонаправленными или реализовались со знакопеременными динамиками, что зависело от режима воздействия ИП ЭМИ. Такие формы реагирования могут означать, что воздействие наносекундными импульсно-периодическими излучениями влияет как минимум на два одновременно протекающих процесса, но противоположных по своему регулирующему влиянию на регистрируемые показатели. Такие процессы явно имеют разные чувствительность к воздействию и кинетику реагирования. Поэтому, соотношение вклада таких процессов в формировании оцениваемого эффекта будет определять его величину и направленность (рисунок 11).

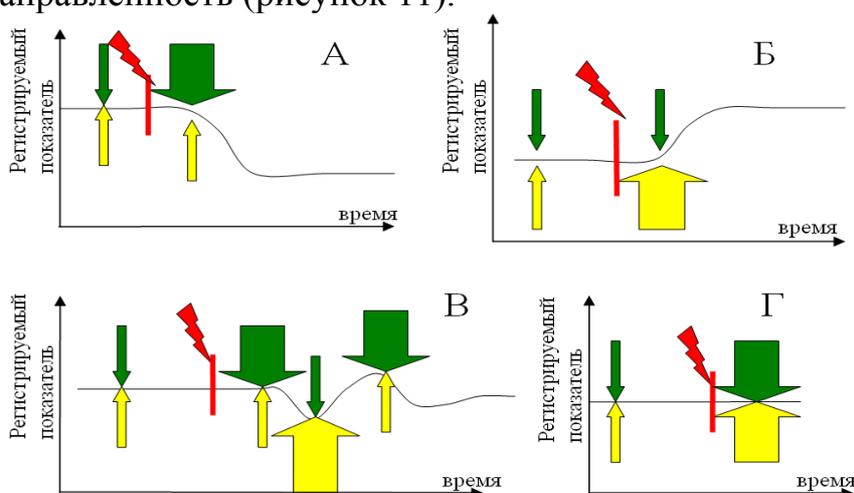


Рисунок 11 – Варианты реагирования объектов на воздействие ИП ЭМИ. А – вариант, когда после воздействия регистрируется снижение показателя, Б – вариант, когда после воздействия регистрируется увеличение показателя, В – варианты, когда после воздействия показатель не изменяется, хотя воздействие

оказывается на два противоположных процесса и в организме возникает напряжение, Г – воздействие при котором динамика изменения регистрируемого показателя знакопеременна, и через некоторое время возвращается к исходному состоянию. Темная и светлая стрелки обозначают степень регулирующего влияния противоположных процессов на регистрируемый показатель.

Динамика протекания окислительных процессов в печени и крови, в принципе, была представлена все варианты реагирования (рисунок 11), что определялось соотношением активности про- и антиоксидантных процессов. При этом стоит обратить внимание на вариант реагирования Г, поскольку он отображает отсутствие реакции по регистрируемому параметру. В приведенной работе было обнаружено отсутствие эффектов влияния практически по всем показателям после воздействия ИПМИ и ИПРИ с определенными режимами. Это может означать, что мишени влияния, ответственные за формирование эффекта, компенсируют друг друга в условиях, хотя физиологическая система или клетка реально подвергается воздействию и расходует свои ресурсы. В такой ситуации влияние ИПМИ и ИПРИ на эти мишени может быть зарегистрировано по другому показателю.

Результаты, полученные в работе в совокупности с литературными данными, позволяют представить обобщенную схему реализации биологического действия ИП ЭМИ (рисунок 12). Облучение животных приводит к изменению уровня АФК в клетках и митохондриях. В случае повышения уровня АФК, они инициируют окислительную модификацию липидов и белков в цитоплазме и клеточных мембранах. Это запускает процесс ПОЛ, что по данным литературы (Кудряшов, 2001) может сопровождаться понижением микровязкости липидного матрикса, в результате чего становится возможна ди- или полимеризация рецепторов (рисунок 12) с изменением их активности при передаче сигналов в клетку. Кроме того, увеличение или уменьшение содержания АФК в клетке может влиять на сигнальные пути, которые включают в себя эти молекулы (Jones, 2008). Поэтому, воздействие ИП ЭМИ может быть причиной запуска или выключения таких сигнальных путей в клетке, что приведет к соответствующему изменению физиологических ответов, или же будет способствовать развитию окислительного стресса (Jones, 2008). Возникающее в результате электромагнитного воздействия нарушение баланса про- и антиоксидантной системы в клетке в сторону избыточной продукции АФК и, соответственно, окислительно-модифицированных липидов и белков, так же может сопровождаться изменением функциональных возможностей мембран и сигнальных путей в клетке (Мазурик, 2003). При усилении процессов ПОЛ мембран гепатоцитов становится возможным локальное повреждение этих мембран, что может быть причиной деструктивных сдвигов морфологии печени (Большаков, Иванова, 2005) и выхода глюкозы и белков из печени в кровь (Коровин, 2004).

Предложенная схема включает в себя возможный вариант объяснения зависимости эффекта от частоты повторения импульсов. По механизму,

предложенному Adey (1980, 1981) облучение может влиять на связывание ионов кальция с полианионным слоем мембран, в результате чего изменяется микроокружение рецепторов и, соответственно, их функционирование. Связывание ионов кальция с полианионным слоем имеет кооперативный, колебательный характер и происходит с частотами единицы-десятки герц. Поэтому внешнее воздействие с частотами, близкими к частотам обратимого связывания кальция, будет инициировать изменение состояния гликокаликса.

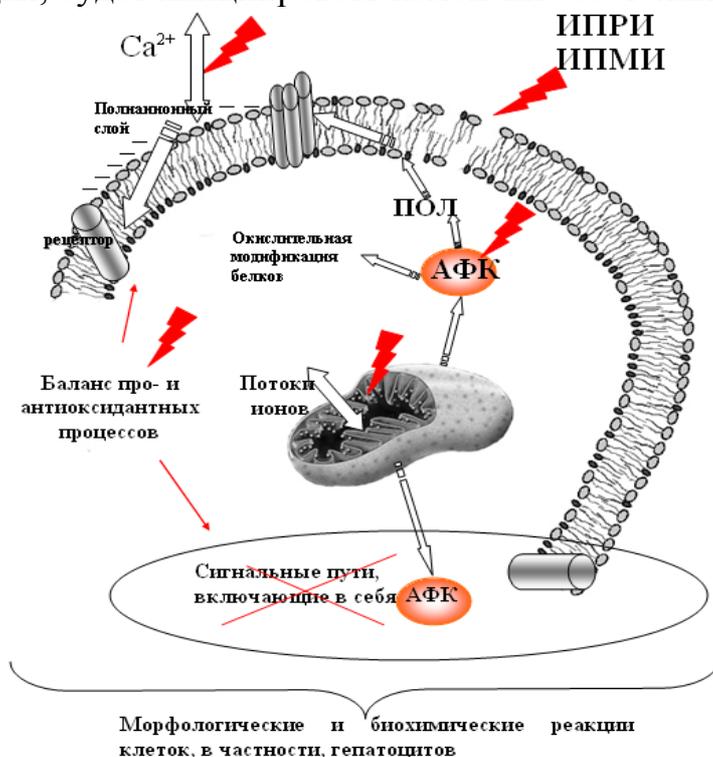


Рисунок 12 – Схема возможных механизмов влияния ИПМИ и ИПРИ, основанная на результатах проведенной работы и данных литературы

Реализация окислительных процессов в печени после воздействия ИП ЭМИ может привести к нарушению ряда её функций, таких как, например, способность к синтезу ферментов, депонирование витаминов, микроэлементов, а так же детоксикация вредных веществ. Увеличение уровня карбонилированных белков в крови свидетельствует об окислительном повреждении белков крови, в том числе альбуминов и глобулинов. Это будет сопровождаться утратой их функций, прежде всего, транспорта гормонов, витаминов, ферментов и других биологически активных веществ. Кроме того возможно изменение свертываемости крови и снижение иммунитета (в случае окисления иммуноглобулинов). О возможности влияния на иммунные свойства крови указывают данные о влиянии на мембраны лейкоцитов и соотношении зрелых и молодых форм нейтрофилов после воздействия ИПМИ. Не исключено так же влияние этих излучений на дыхательную (газопереносящую) функцию крови, поскольку воздействие ИПМИ и ИПРИ оказывало влияние на емкость эритроцитов.

Таким образом, однократное кратковременное воздействие наносекундными ИПМИ и ИПРИ на клетки, ткани и организм мышей способно инициировать

целый ряд реакций на разных уровнях организации, характер и величина которых зависят от частоты повторения импульсов и интенсивности/дозы воздействия. Полученные результаты приблизили к пониманию реальности высокой биологической эффективности действия наносекундных импульсно-периодических излучений. Особенно это касается рентгеновского излучения, биологическое действие которого до настоящего времени оставалось практически не изученным

## ВЫВОДЫ

1. После однократного кратковременного воздействия импульсно-периодическими электромагнитными излучениями на мышью наблюдается амбивалентное изменение динамики окислительных процессов в печени и крови на протяжении 72 часов в зависимости от частоты повторения импульсов и интенсивности/дозы.

2. Содержание супероксиданиона в печени не изменяется, а уровень перекиси водорода в гепатоцитах и их митохондриях повышается или понижается в зависимости от параметров воздействия. Электрическое сопротивление печени после воздействия импульсно-периодического рентгеновского излучения понижается вдвое. Воздействие импульсно-периодических электромагнитных излучений не оказывает влияния на импеданс цельной крови и эритроцитов, но способно снижать или повышать импеданс лейкоцитов в зависимости от параметров воздействия.

3. Величина и направленность выявленных эффектов определяется частотой повторения импульсов, интенсивностью/дозой, а так же природой воздействующего электромагнитного фактора и объекта.

4. Наиболее эффективно инициирует окислительные процессы в печени и крови воздействие импульсно-периодических микроволнового излучения с частотами повторения 13 и 25 имп./с и рентгеновского излучения с частотами повторения 10, 13, 16 и 25 имп./с.

## Список работ, опубликованных по теме диссертации

### Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК

1. Жаркова Л.П., Афанасьев К.В., Большаков М.А., Князева И.Р., Ростов В.В. Оценка влияния импульсно-периодического рентгеновского и микроволнового излучений на биологические структуры с помощью измерения импедансных характеристик // Вестник Томского государственного университета. – 2008. – № 312. – С. 180-183.

2. Князева И.Р., Медведев М.А. Жаркова Л.П. Афанасьев К.В., Большаков М.А. Ростов В.В. Воздействие импульсно-периодическим микроволновым и рентгеновским излучениями на эритроциты человека // Бюллетень сибирской медицины. – 2009. – № 1. – С. 24-29.

3. Жаркова Л.П., Князева И.Р., Иванов В.В., Большаков М.А., Кутенков О.П., Ростов В.В. Влияние импульсно-периодического рентгеновского и микроволнового излучений на уровень перекисей в изолированных гепатоцитах

// Вестник Томского государственного университета. – 2010. – № 333. – С. 161-163.

4. Жаркова Л.П., Мамонова Н.В., Князева И.Р., Кутенков О.П., Ростов В.В., Большаков М.А. Регенерация нейрогенных изъязвлений слизистой желудка после облучения импульсно-периодическим микроволновым излучением // Вестник Томского государственного университета. Биология. – 2010. – № 2. – С. 112-122.

5. Bol'shakov M.A., Knyazeva I.R., Rostov V.V., Korovin M.S., Neverova L.P. (Zharkova L.P.), Afanas'ev K.V., Klimov A.I. Initiation of free-radical oxidation in albino mice by exposure to pulse periodic microwaves and x-rays // Biophysics. – 2005. – Vol.50. – Suppl.1. - P.104-109.

### **Публикации в других научных изданиях**

6. Большаков М.А., Князева И.Р., Неверова Л.П. (Жаркова Л.П.), Афанасьев К.В., Климов А.И., Ростов В.В. Изменение активности окислительных процессов в печени и крови мышей после воздействия импульсно-периодического микроволнового излучения // Материалы V Съезда по радиационным исследованиям. – Москва, 2005. – С. 234-238.

7. Закирова Г.М., Неверова Л.П. (Жаркова Л.П.) Изучение динамики окислительных процессов в организме белых мышей после воздействия импульсно-периодическим рентгеновским излучением // Материалы LV научной студенческой конференции «Старт в науку». – Томск, 2006. – С. 48.

8. Князева И.Р., Большаков М.А., Неверова Л.П. (Жаркова Л.П.), Закирова Г.М., Афанасьев К.В., Климов А.И., Ростов В.В. Динамика процессов перекисной модификации липидов и белков после облучения мышей импульсно-периодическим рентгеновским излучением // Вестник Томского государственного университета. Приложение № 21: Материалы Всероссийской конференции «Механизмы индивидуальной адаптации». – Томск, 2006. – С. 62-63.

9. Неверова Л.П. (Жаркова Л.П.), Закирова Г.М. Изучение процессов окислительной модификации в тканях белых мышей после воздействия импульсно-периодических микроволнового и рентгеновского излучений // Материалы LVI научной студенческой конференции биолого-почвенного факультета «Старт в науку». – Томск, 2007. – С. 4-5.

10. Гостюхина А.А., Неверова Л.П. (Жаркова Л.П.) Изучение влияния импульсно-периодического рентгеновского и микроволнового излучений на электропроводность крови белых мышей // Материалы LVI научной студенческой конференции биолого-почвенного факультета «Старт в науку». – Томск, 2007. – С. 58-59.

11. Князева И.Р., Большаков М.А., Неверова Л.П. (Жаркова Л.П.), Закирова Г.М., Афанасьев К.В., Климов А.И., Ростов В.В. Окислительные процессы в печени и крови мышей после действия импульсно-периодического излучения // Тезисы докладов XX съезда Физиологического общества им. И.П. Павлова. – Москва, 2007. – С. 265.

12. Князева И.Р., Большаков М.А., Жаркова Л.П., Закирова Г.М., Гостюхина А.А., Афанасьев К.В., Климов А.И., Ростов В.В. Исследование окислительных процессов в тканях белых мышечных после кратковременного воздействия импульсно-периодических микроволновых и рентгеновских излучений // Материалы Научной конференции с международным участием «Нейрогуморальные механизмы регуляции органов пищеварительной системы в норме и при патологии» посвященной 100-летию со дня рождения профессора Ларина Е.Ф. – Томск, 2007. – С. 89-94.

13. Князева И.Р., Большаков М.А., Жаркова Л.П., Афанасьев К.В., Гостюхина А.А., Закирова Г.М., Климов А.И., Ростов В.В. Изменение электропроводности гепатоцитов после воздействия импульсно-периодического микроволнового и рентгеновского излучения. Тезисы докладов VI Сибирского физиологического съезда. – Барнаул, 2008. – С. 44-45.

14. Жаркова Л.П., Князева И.Р., Афанасьев К.В., Кутенков О.П., Ростов В.В., Большаков М.А. Действие импульсно-периодического микроволнового излучения с импульсами наносекундной длительности на заживление поверхностных ран у мышей // Труды 8 международного симпозиума по электромагнитной совместимости и электромагнитной экологии. – Санкт-Петербург, 2009. – С. 399-402.

15. Князева И.Р., Большаков М.А., Жаркова Л.П., Ростов В.В. Анализ показателей окислительной модификации липидов и белков после воздействия наносекундного импульсно-периодического микроволнового излучения / Труды 8-го Международного симпозиума по электромагнитной совместимости и электромагнитной экологии. – Санкт-Петербург, 2009. – С. 395-398.

16. Rostov V.V., Bolshakov M.A., Buldakov M.A., Knyazeva I.R., Kutenkov O.P., Litvyakov N.V., Zharkova L.P., Cherdyntseva N.V. Sensitivity of some biological tissues and cellular cultures to repetitive submicrosecond microwave pulses // «17th IEEE International pulsed power conference». – Washington, 2009. – С. 2565-2569.

17. Жаркова Л.П., Иванов В.В., Кереев А.В., Князева И.Р., Ростов В.В., Большаков М.А. Изменение уровня активных форм кислорода в гепатоцитах мышечных после воздействия наносекундными импульсно-периодическими микроволновым и рентгеновским излучениями / Нейрогуморальные механизмы регуляции висцеральных органов и систем в норме и патологии. Материалы научной конференции с международным участием. – Томск, 2009. – С. 34-36.

18. Князева И.Р., Гостюхина А.А., Жаркова Л.П., Ростов В.В., Большаков М.А. Влияние импульсно-периодического микроволнового излучения на процессы регенерации мышечных / Нейрогуморальные механизмы регуляции висцеральных органов и систем в норме и патологии. Материалы научной конференции с международным участием. – Томск, 2009. – С. 37-39.

19. Мамонова Н.В., Жаркова Л.П., Князева И.Р., Ростов В.В., Большаков М.А. Действие наносекундного импульсно-периодического микроволнового излучения на желудок мышечных с поврежденной слизистой оболочкой / Нейрогуморальные механизмы регуляции висцеральных органов и систем в норме и патологии. Материалы научной конференции с международным участием. – Томск, 2009. – С. 127-129.

20. Пигузова А.И., Жаркова Л.П. Влияние импульсно-периодического микроволнового излучения на регенераторные процессы в организме мышей // Материалы XVI международной научно-практической конференции студентов и молодых учёных «Современные техника и технологии». – Томск, 2010. – С. 38-39.

21. Керя А.В., Жаркова Л.П. Уровень пероксидации в гепатоцитах, облученных импульсно-периодическим микроволновым и рентгеновским излучениями // Материалы международной научной студенческой конференции «Студент и научно-технический прогресс». – Новосибирск, 2010. – С. 30.

22. Жаркова Л.П., Князева И.Р., Булдаков М.А., Кутенков О.П., Большаков М.А., Ростов В.В. Биологические эффекты воздействия наносекундного импульсно-периодического рентгеновского излучения // Материалы V международной научно-практической конференции «Медицинские и экологические эффекты ионизирующего излучения». – Томск-Северск, 2010. – С. 84-86.

23. L.P. Zharkova, I.R. Knyazeva, M.A. Bolshakov, V.V Rostov The biological effect of pulse-periodic microwave and x-ray radiation // Proceedings of the 16th International Symposium on High-Current Electronics. – Tomsk, 2010. – P. 527-529.

24. Жаркова Л.П., Князева И.Р., Кутенков О.П., Ростов В.В., Большаков М.А. Влияние импульсно-периодических наносекундных ионизирующих и неионизирующих излучений на лейкоциты и уровень кортизола в крови мышей // Тезисы докладов 21 Съезда физиологического общества им. И.П. Павлова. – Москва-Калуга, 2010. – С. 209-210.

25. Князева И.Р., Жаркова Л.П., Кутенков О.П., Ростов В.В., Большаков М.А. Изучение функционирования митохондрий после воздействия импульсно-периодических микроволнового и рентгеновского излучений // Тезисы докладов 21 Съезда физиологического общества им. И.П. Павлова. – Москва-Калуга, 2010. – С. 276 – 277.

26. Большаков М.А., Жаркова Л.П., Князева И.Р., Ростов В.В. Некоторые закономерности биологического действия наносекундного импульсно-периодического микроволнового излучения // VI Съезд по радиационным исследованиям. – Москва, 2010. – Т. 2. – С.160.

### **Перечень использованных сокращений**

АОС – антиоксидантная система

АФК – активные формы кислорода

ИПМИ – импульсно-периодическое микроволновое излучение

ИПРИ – импульсно-периодическое рентгеновское излучение

ИП ЭМИ – импульсно-периодическое электромагнитное излучение

ЛО – ложное облучение

НСТ – нитросиний тетразолий

ПОЛ – перекисное окисление липидов

ППМ – плотность потока мощности

ТБК – тиобарбитуровая кислота

ТБК-РП – ТБК-реактивные продукты  
УПМ – удельная поглощённая мощность  
2,7- ДХФДА – 2,7-дихлорфлуоресцеиндиацетат  
 $O_2^{\cdot -}$  - супероксиданион  
 $H_2O_2$  – пероксид водорода

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Сердечно благодарю научного руководителя работы доктора биологических наук М.А. Большакова за помощь и поддержку при проведении и анализе исследования, за чуткость, мудрые советы и наставления в научном и жизненном пути.

Высказываю слова благодарности и признательности заведующему кафедрой физиологии человека и животных Ю.В. Бушову, а также всем сотрудникам кафедры за чуткое, внимательное отношение, проявленные в ходе выполнения работы.

Выражаю глубокую признательность заведующему отделом физической электроники Института сильноточной электроники СО РАН доктору физико-математических наук, профессору В.В. Ростову, а также кандидату физико-математических наук А.И. Климову, кандидату биологических наук И.Р. Князевой, кандидату биологических наук В.В. Иванову и кандидату биологических наук М.А. Булдакову за помощь при проведении экспериментов и полезные советы при обсуждении полученных результатов. Благодарю О.П. Кутенкова, К.В. Афанасьева и В.О. Кутенкова за качественное техническое обеспечение экспериментов.