

Воздействие импульсно-периодическим микроволновым и рентгеновским излучениями на эритроциты человека

Князева И.Р.¹, Медведев М.А.¹, Жаркова Л.П.², Афанасьев К.В.³,
Большаков М.А.², Ростов В.В.³

Pulse-repetitive microwave and X-ray exposure on human erythrocyte

Knyazeva I.R., Medvedev M.A., Zharkova L.P., Afanasyev K.V.,
Bolshakov M.A., Rostov V.V.

¹ Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

² Томский государственный университет, г. Томск

³ Институт сильноточной электроники СО РАН, г. Томск

© Князева И.Р., Медведев М.А., Жаркова Л.П. и др.

Исследовано влияние воздействия импульсно-периодического рентгеновского (ИПРИ) и микроволнового (ИПМИ) излучений на суспензию эритроцитов человека по показателю электрической емкости. Установлено, что однократное кратковременное воздействие сопровождается изменением емкости суспензии эритроцитов. Величина эффекта зависит от вида излучения, частоты повторения импульсов, поглощенной дозы (для ИПРИ) и интенсивности воздействия (для ИПМИ).

Ключевые слова: импульсно-периодическое рентгеновское и микроволновое излучения, эритроциты, электрическая емкость.

The effects of pulse-repetitive X-ray radiation and microwaves on the suspension of human erythrocyte was investigated in present work taking in to account changing their electrical capacitance. It was shown that the single 5-min exposure of suspension of erythrocyte to pulse periodic x-rays and microwaves causes the changes of the capacitance. The of the effect depends on the radiation type, the pulse repetition frequency, the radiation absorbed dose (in case of x-rays) and power flow density (in the case of microwaves).

Key words: pulse-repetitive X-ray radiation and microwaves, erythrocyte, electrical capacitance.

УДК 612.111:614.875/.876:612.08

Введение

При исследовании биологического действия импульсно-периодического рентгеновского (ИПРИ) и импульсно-периодического микроволнового (ИПМИ) излучений были обнаружены изменения в биохимических показателях крови облученных лабораторных животных, в частности в уровне окислительной модификации липидов и белков [18]. Это обстоятельство связывалось с возможностью повреждения клеточных мембран и, соответственно, с изменением их функциональных характеристик [9]. Данное предположение было подтверждено результата-

ми экспериментов, в которых исследовалось влияние ИПРИ и ИПМИ на электропроводность цельной крови и суспензии митохондрий гепатоцитов мышей [8]. Эффект воздействия, регистрировавшийся после облучения, проявлялся в сдвиге импедансных диаграмм Коул-Коула и уменьшении коэффициента поляризации, которые зависели от частоты повторения импульсов и вида излучения. Сдвиг импедансных характеристик для крови и суспензий митохондрий был противоположным: после облучения импеданс крови повышался, в то время как у суспензии митохондрий он снижался. Отличия в характере реагирования могут быть обусловлены разными

схемами формирования биологического эффекта. Отмеченная выше окислительная модификация липидов и белков в сыворотке крови определялась через достаточно продолжительное время после воздействия (6–72 ч) [9]. Поэтому полученные данные не позволяют установить место и время появления агентов, инициирующих окисление. Инициаторы пероксидации липидов и белков, появляющиеся в ходе воздействия ИПРИ и ИПМИ, должны изменять электропроводность клеточных суспензий, что можно измерить непосредственно во время облучения и в последующие моменты.

Из всех форменных элементов крови наиболее удобным объектом для исследования влияния излучения на электропроводность клеток являются эритроциты [11]. Выбор эритроцитов в качестве объекта исследования был продиктован тем, что их структурная организация дает возможность изучать функциональные свойства плазматической мембраны без помех, накладываемых внутриклеточными мембранными образованиями и органеллами [11]. Кроме того, теория электропроводности крови, и прежде всего эритроцитов, хорошо изучена [15], а электрическая емкость мембраны эритроцитов является информативным показателем исследования функционального состояния [14].

На основании вышеизложенного цель настоящей работы состояла в исследовании влияния однократного кратковременного воздействия ИПМИ и ИПРИ на суспензию эритроцитов человека с использованием в качестве индикатора реагирования электрической емкости клеточной суспензии — показателя, который можно регистрировать как во время микроволнового, так и рентгеновского облучения.

Материал и методы

Эксперименты выполнены с использованием эритроцитарной массы донорской крови человека. Воздействию подвергалась суспензия эритроцитов, доведенная изотоническим раствором NaCl до физиологической концентрации. В каждом эксперименте образцы суспензии объемом 1 мл заливались в две измерительные ячейки (одна — для облучения, вторая — для

ложного облучения) с электродами для тестирующего тока. Образцы в ходе ложного облучения подвергались всем процедурам, кроме самого воздействия излучением. Электроды подключались к прибору для измерения электрических характеристик тканей «Измеритель иммитанса Е7-20» (ОАО «МНИПИ», Республика Беларусь). Измерение емкостной составляющей импеданса проводилось при переменном токе 5 мА частотой 10^5 Гц, что соответствует области β -дисперсии [6]. Прибор позволяет измерять емкости в пределах 10^{-6} –1 Ф с точностью $\pm 0,1\%$.

В проведенных экспериментах суспензии эритроцитов подвергались однократному воздействию 4 000 импульсов ИПМИ и ИПРИ с частотами повторения 8, 10, 13, 16, 19, 22 и 25 импульсов в секунду, продолжительность сеанса от 8 до 3 мин соответственно. В качестве источника ИПМИ использовался лабораторный импульсный генератор на основе магнетрона МИ-505 (Россия) (несущая частота 10 ГГц, выходная пиковая мощность генератора 180 кВт, длительность импульсов на половинном уровне мощности 100 нс). Во время воздействия ячейки с образцами помещались на расстоянии 10 и 25 см от раскрыва рупора антенны сечением 40×89 мм. Это обеспечивало воздействие на эритроциты при двух фиксированных значениях плотности потока мощности (ППМ) 1,7 мВт/см² и 100 мкВт/см². Клетки подвергались облучению с удельной поглощенной мощностью (УПМ) от 1,2 до 12,0 Вт/кг в зависимости от ППМ и частоты повторения импульсов. УПМ оценивалась в соответствии с общепринятой методикой [13, 19] по скорости нагрева физиологического раствора. Определение скорости нагрева, а также контроль температуры в суспензии эритроцитов во время экспериментов осуществлялись с помощью волоконно-оптического термометра МТ-4МО-1 (Россия). Все эксперименты были проведены при комнатной температуре (20–22 °С).

Источником ИПРИ служил лабораторный ускоритель электронов «Синус-150» производства Института сильноточной электроники СО РАН (г. Томск) (ускоряющее напряжение 300 кВ, ток электронного пучка 2,5 кА, длительность импуль-

са на полувысоте 4 нс) [1]. Образцы подвергались воздействию ИПРИ в дозах от 0,1 до 4,3 мГр за импульс, величина которых зависела от расстояния от анода ускорителя до ячейки с эритроцитами. Измерение и контроль поглощенных доз проводились с помощью электростатического дозиметра с кварцевым волокном Arrow-Tech 138 (Arrow-Tech Inc., США).

В каждом эксперименте регистрировались значения электрической емкости суспензии в течение 5 мин до воздействия (фон), во время воздействия и в течение 5–10 мин после облучения. Реакции на каждый из режимов воздействия определялись по результатам измерений в ходе 4–5 повторностей. Эффект оценивался по усредненному максимальному изменению величины емкости образца во время облучения относительно его усредненного фонового значения. Статистическая значимость эффекта оценивалась с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни.

Результаты и обсуждение

Влияние ИПМИ на емкость суспензии эритроцитов

В проведенных экспериментах было обнаружено, что однократное облучение суспензии эритроцитов 4 000 импульсов приводило к значимому увеличению электрической емкости на 1–3% от фонового значения (рис. 1,а), что регистрировалось параллельно росту температуры (рис. 1,б). Такое развитие событий позволяет предполагать в качестве первопричины влияния микроволновый нагрев суспензии эритроцитов, поскольку есть данные о том, что с ростом температуры емкость клеточных суспензий увеличивается [12].

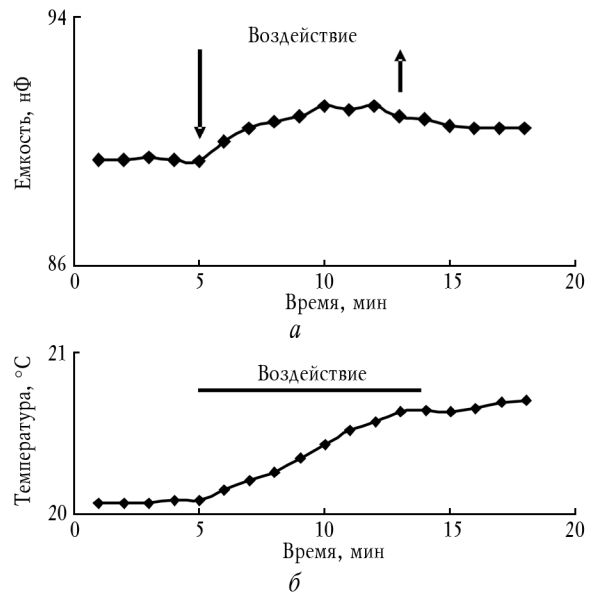


Рис. 1. Динамика изменения электрической емкости (а) и температуры (б) суспензии эритроцитов в ходе воздействия ИПМИ (частота повторения 10 импульсов в секунду, УПМ 5,1 Вт/кг)

Величина эффекта оказалась зависимой от интенсивности воздействия и от частоты повторения импульсов (рис. 2). При воздействии ИПМИ с большим значением ППМ (1,7 мВт/см²) с частотами повторения от 8 до 19 с⁻¹ электрическая емкость суспензии уменьшалась сильнее, нежели при воздействии с ППМ 0,1 мВт/см² с теми же частотами повторения. Наибольшее, статистически значимое различие между эффектами облучения с разными интенсивностями наблюдалось в ходе воздействия ИПМИ с частотой повторения 16 с⁻¹. Эффект облучения при большем значении ППМ характеризовался обратно пропорциональной зависимостью от частоты повторения импульсов (рис. 2) и, соответственно, УПМ. Величина изменения емкости во время менее интенсивного воздействия изменялась по-другому, немонотонно, что характерно для нетепловых эффектов. Такое различие зависимости эффекта от частоты повторения импульсов при разных значениях ППМ указывает на сложный характер реагирования, в основе которого лежат, по меньшей мере, два механизма: тепловой и нетепловой.



Рис. 2. Динамика изменения электрической емкости суспензии эритроцитов в зависимости от частоты повторения импульсов ИПМИ при уровнях ППМ 1,7 и 0,1 мВт/см². Для кривой изменения эффекта при большей ППМ представлена линейная аппроксимация эффекта ($y = -0,003x + 0,0317$). На графиках цифрами указаны значения УПМ, Вт/кг

Влияние ИПРИ на емкость суспензии эритроцитов

Однократное облучение суспензии эритроцитов ИПРИ на фоне постоянной температуры (рис. 3,б) сопровождалось либо увеличением емкости, либо двухфазной реакцией понижения с последующим ростом емкости (рис. 3,а). Этот эффект зависел от частоты повторения импульсов (рис. 4) и величины поглощенной дозы (рис. 5). Малые изменения электрической емкости суспензии эритроцитов (не более 2% относительно фонового значения) при некоторых режимах воздействия тем не менее были статистически значимы. При воздействии ИПРИ дозой 19,3 мГр наблюдалось как увеличение, так и понижение емкости, что немонотонно зависело от частоты повторения импульсов, и наибольший эффект наблюдался при частотах повторения 8 и 19 с⁻¹. Известно, что в области малых доз ионизирующих излучений эффекты воздействия могут иметь нелинейный и немонотонный характер [4]. Поэтому были проведены эксперименты для установления дозовой зависимости при воздействии ИПРИ с частотой повторения импульсов 8 с⁻¹. Полученная дозовая зависимость действительно оказалась немонотонной (рис. 5,а), она также позволила разделить компоненты эффекта (повышение емкости, понижение емкости) (рис. 5,б). Наибольшее увеличение емкости наблюдалось при

Воздействие ИПМИ и ИПРИ на эритроциты человека

дозе 12,4 мГр, в то время как наибольший противоположный эффект, а именно понижение емкости, наблюдался при дозе 173,2 мГр. Таким образом, можно предположить наличие двух противоположных механизмов влияния ИПРИ на емкость суспензии эритроцитов.

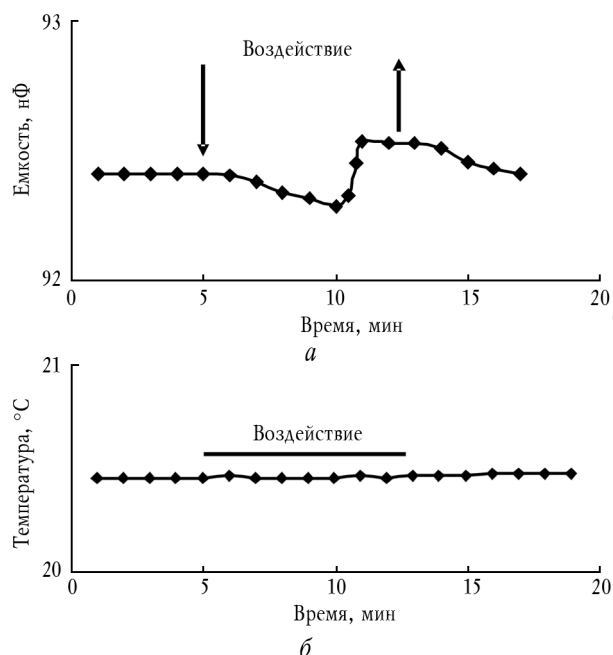


Рис. 3. Динамика изменения электрической емкости суспензии эритроцитов (а) в ходе воздействия ИПРИ (частота повторения 8 импульсов в секунду, импульсная доза 0,48 мкГр). Температура суспензии во время облучения (б) 19,5 °С

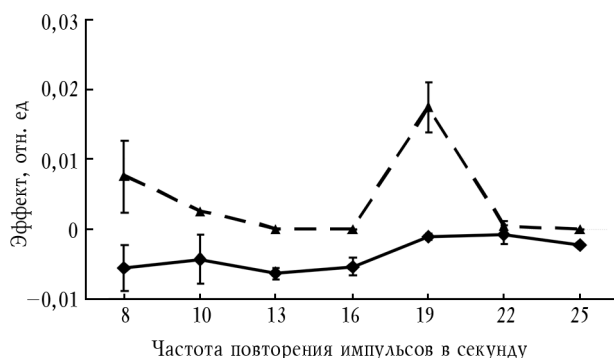


Рис. 4. Относительное изменение электрической емкости суспензии эритроцитов в зависимости от частоты повторения импульсов ИПРИ с суммарной дозой 19,3 мГр. Штриховая кривая отображает компонент эффекта увеличения емкости, сплошная кривая — компонент эффекта уменьшения емкости суспензии эритроцитов

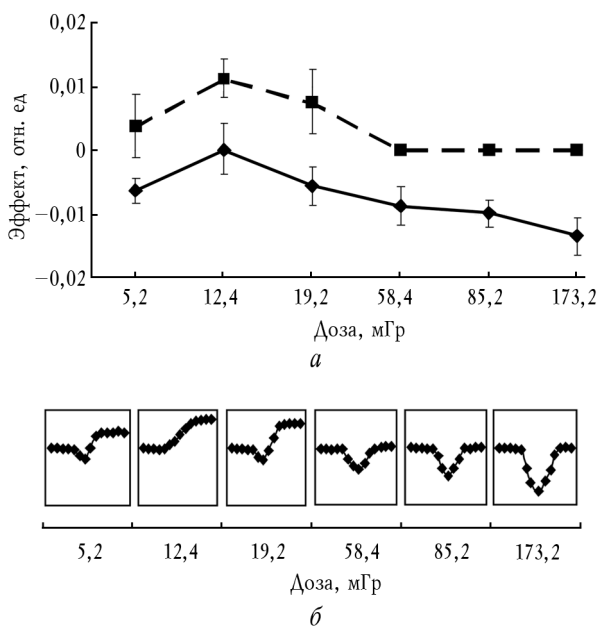


Рис. 5. Дозовая зависимость относительного изменения емкости суспензии эритроцитов во время воздействия ИПРИ (частота повторения 8 импульсов в секунду): а – штриховая кривая отображает компонент эффекта увеличения емкости суспензии эритроцитов; сплошная кривая – компонент эффекта уменьшения емкости суспензии эритроцитов; б – характер изменения емкости во время облучения ИПРИ при разных значениях доз

Изменение величины электрической емкости суспензии эритроцитов во многом обусловлено наличием емкости клеточных мембран, а также так называемой поляризационной емкости двойного электрического слоя на поверхности эритроцитов [14]. Не исключено, что изменение емкости суспензии эритроцитов при воздействии ИПРИ и ИПМИ обусловлено схемой, предложенной в свое время W.R. Adey [16, 17]. Согласно его мнению, полианионный слой на поверхности клеточных мембран может связывать Ca^{2+} из окружающего раствора. Динамика связывания ионов кальция поверхностью мембран носит кооперативный характер. Это определяет возможность существования некоего предельного цикла молекулярного поведения, при котором мембранно-кальциевое взаимодействие будет колебаться с фиксированной частотой и амплитудой [16, 17]. Небольшое изменение за счет какого-либо внешнего воздействия, в том числе и радиочастотного, частота модуляции которого совпадает с частотой колебания ион-

мембранного взаимодействия, может легко разрушить существовавшее динамическое равновесие (степень связывания кальция), что и будет определять эффект влияния. В экспериментах Adey наиболее эффективными были частоты от 6 до 20 Гц с максимумом на частоте 16 Гц. В настоящей работе наблюдалась немонотонная зависимость эффекта ИПМИ с ППМ $0,1 \text{ мВт/см}^2$ от частоты, аналогичная частотной зависимости Adey. При более же интенсивном воздействии, по-видимому, большую роль играет тепловой механизм [12], в рамках которого повышение температуры, обусловленное микроволновым нагревом, меняет физико-химическую структуру мембраны эритроцитов, что, в свою очередь, меняет ее диэлектрическую проницаемость и, соответственно, электрическую емкость.

Реакция на воздействие ИПРИ, возможно, имеет другую причину. В частности, хорошо известно, что в реализации биологического действия любыми физическими и химическими факторами важную роль могут играть активные формы кислорода (АФК) и вода [2, 7]. АФК, равно как и другие радикальные молекулы, могут эффективно влиять на динамику водородных связей воды, меняя ее взаимодействие с растворенными молекулами или степень их гидратации. Также известно, что микроволновое [7] и рентгеновское [10] излучения могут инициировать образование АФК. Применительно к клеточным мембранам это может сопровождаться перекисным окислением липидов [5] и карбонилированием белка [3]. Ранее при изучении динамики содержания супероксидного аниона в печени и сердце мышей было показано, что сразу же после воздействия ИПМИ и ИПРИ в течение 1 ч уровень супероксидного аниона либо не изменялся, либо был пониженным. Поэтому данный агент не может рассматриваться в качестве инициатора пероксидации [9, 18]. Тем не менее не исключено, что в результате воздействия ИПРИ и ИПМИ могут образовываться другие формы АФК, благодаря чему возможна незначительная окислительная модификация компонентов мембран с соответствующим изменением емкости.

Рассмотренные эффекты изменения электропроводности суспензии эритроцитов если и связаны с окислительной модификацией мембран, то в основе их лежат незначительные изменения фона АФК. В то же время облучение целого организма может запускать процесс продукции АФК и в других клетках крови, например в лейкоцитах, или вообще в других физиологических системах. Весьма вероятным местом наработки АФК, прежде всего супероксидного аниона, могут быть митохондрии. Ранее было показано, что облучение суспензии митохондрий печени ИПРИ помимо сдвига импедансных характеристик в сторону снижения сопротивления суспензии уменьшало коэффициент поляризации, указывавшее на ухудшение состояния митохондрий [8]. Последнее могло быть результатом повреждения внутренней мембраны митохондрий вследствие избыточного количества АФК, обусловленного облучением.

Заключение

Полученные результаты позволяют констатировать, что однократное воздействие 4 000 импульсов ИПМИ и ИПРИ влияет на величину электрической емкости суспензии эритроцитов. Установлено, что величина эффекта зависит от вида излучения, частоты повторения импульсов, поглощенной дозы и интенсивности воздействия.

Литература

1. Артёмов К.П., Ельчанинов А.А., Кутенков О.П. и др. Импульсно-периодический источник рентгеновского излучения // Приборы и техника эксперимента. 2004. № 5. С. 67–68.
2. Беловолова Л.В., Глушков М.В. Физико-химические механизмы биологического действия гомеопатических лекарственных средств. Роль активных форм кислорода и воды // Гомеопат. ежегодник. Ч. 3. М.: Моск. гомеопат. центр, 2003. С. 38–43.
3. Болдырев А.А. Карнозин. Биологическое значение и возможности применения в медицине. М.: МГУ, 1998. 319 С.
4. Бурлакова Е.Б., Голощапов А.Н., Жижина Г.П., Конрадов А.А. Новые аспекты закономерностей действия низкоинтенсивного облучения в малых дозах // Радиационная биология. Радиоэкология. 1999. Т. 39. № 1. С. 26–34.
5. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы в биоло-

- гических системах // Соросовский образовательный журнал. 2000. Т. 6. № 12. С. 13–19.
6. Грачёв Н.Н., Мырова Л.О. Защита человека от опасных излучений. М.: БИНОМ, 2005. 320 С.
7. Гудкова О.Ю., Гудков С.В., Гапеев А.Б., Чемерис Н.К. Исследование механизмов образования активных форм кислорода в водных растворах под действием импульсного электромагнитного излучения крайне высоких частот с большой пиковой мощностью // Биофизика. 2005. Т. 50. № 5. С. 773–779.
8. Жаркова Л.П., Афанасьев К.В., Большаков М.А. и др. Оценка влияния импульсно-периодического рентгеновского и микроволнового излучений на биологические структуры с помощью измерения импедансных характеристик // Вестн. ТГУ. 2008. № 312. С. 180–183.
9. Князева И.Р., Большаков М.А., Жаркова Л.П. и др. Исследование окислительных процессов в тканях белых мышей после кратковременного воздействия импульсно-периодических микроволновых и рентгеновских излучений // Нейрогуморальные механизмы регуляции органов пищеварительной системы в норме и при патологии: Материалы Междунар. конф., посвящ. 100-летию со дня рождения проф. Е.Ф. Ларина / Под ред. М.А. Медведева. Томск: СибГМУ, 2007. С. 89–94.
10. Михайлов В.Ф., Мазурик В.К., Бурлакова Е.Б. Сигнальная функция активных форм кислорода в регуляторных сетях ответа клеток на повреждающие воздействия: участие в реализации радиочувствительности и нестабильности генома // Радиационная биология. Радиоэкология. 2003. Т. 43. № 1. С. 5–18.
11. Новицкий В.В., Рязанцева Н.В., Степовая Е.А. и др. Молекулярные нарушения мембраны эритроцитов при патологии разного генеза являются типовой реакцией организма: контуры проблемы // Бюл. сиб. медицины. 2006. Т. 5. № 2. С. 62–69.
12. Поливода Б.И. Температурная зависимость электропроводности клеточных суспензий // Биофизика. 1969. Т. 14. № 3. С. 16–19.
13. Уилл К.М., Кинн Д.Б. Современные методы экспериментальных исследований биологического действия ВЧ-излучения // ТИИЭР. 1983. Т. 71. № 2. С. 37–48.
14. Челидзе Т.Л., Кикнадзе В.Д., Кевлишвили Г.Е. Диэлектрическая спектроскопия крови. О механизме диэлектрической поляризации крови в области β -дисперсии // Биофизика. 1974. Т. 19. № 5. С. 859–862.
15. Челидзе Т.Л., Кикнадзе В.Д., Кевлишвили Г.Е., Чхайдзе В.Т. Диэлектрическая спектроскопия крови. К расчету емкости мембран эритроцитов человека по диэлектрическим спектрам крови // Биофизика. 1973. Т. 18. № 5. С. 168–172.
16. Adey W.R. Frequency and power windowing in tissue interaction with weak electromagnetic fields // Proc. IEEE. 1980. V. 68. P. 119–125.
17. Adey W.R. Tissue interaction with nonionising electromagnetic fields // Phys. Rev. 1981. V. 61. № 2. P. 435–514.
18. Bolshakov M.A., Knyazeva I.R., Rostov V.V. et al. Initi-

Экспериментальные и клинические исследования

ation of Free Radical Oxidation in Albino Mice by Exposure to Pulse Periodic Microwaves and X-rays // Biophysics. 2005. V. 50. S. 1. P. 104—109.
19. *Pakhomov A.G., Mathur S.P., Akyel Y. et al.* High-reso-

lution microwave dosimetry in lossy media // Radio Frequency Radiation Dosimetry / Eds B.J. Klauenberg and D. Miklavcic. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2000. P. 187—197.

Поступила в редакцию 12.11.2008 г.

Сведения об авторах

И.Р. Князева — канд. биол. наук, докторант кафедры нормальной физиологии СибГМУ (г. Томск).

М.А. Медведев — д-р мед. наук, академик РАМН, профессор, зав. кафедрой нормальной физиологии СибГМУ (г. Томск).

Л.П. Жаркова — аспирант кафедры физиологии человека и животных ТГУ (г. Томск).

К.В. Афанасьев — инженер отдела физической электроники Института сильноточной электроники СО РАН (г. Томск).

М.А. Большаков — д-р биол. наук, профессор кафедры физиологии человека и животных ТГУ (г. Томск).

В.В. Ростов — д-р физ.-мат. наук, профессор, зав. отделом физической электроники Института сильноточной электроники СО РАН (г. Томск).

Для корреспонденции

Князева Ирекле Рашидовна, тел. (382-2) 52-93-64, факс (382-2) 52-98-61, e-mail: kir@rubl.tomsk.ru