

УДК 621.372.8

ИЗУЧЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КЛЕТОК КРОВИ ЧЕЛОВЕКА К МИКРОВОЛНОВОМУ ИЗЛУЧЕНИЮ

К. Д. Казаринов, В. А. Щелконогов, А. В. Чеканов

Фрязинский филиал Института радиотехники и электроники им. В.А.Котельникова
РАН, 141190, Московская область, г. Фрязино, пл. академика Введенского, д. 1

Статья поступила в редакцию 21 августа 2019 г.

Аннотация. В предлагаемой статье представлены результаты экспериментальной работы по изучению эффектов микроволнового излучения на межклеточные взаимодействия элементов крови человека в присутствии этанола. Микроволновое излучение низкой интенсивности снижало активность тромбоцитов в среде этанола. Рассматривается механизм обнаруженного эффекта, связанный с усилением апоптоза клеток.

Ключевые слова: КВЧ излучение, обогащенная тромбоцитами плазма, межклеточное взаимодействие, этанол, индукторы агрегации, микроволновое излучение, алкогольная интоксикация.

Abstract. The action of electromagnetic radiation (EMR) in the microwave range on biological objects has been studied for more than half a century. During this time, significant success has been achieved in the practical use of this physical effect for therapeutic purposes. It is believed that oxidative stress, which is a consequence of a shift in the balance of pro- and antioxidant systems, is among the causes leading to a large number of diseases. Oxidative stress leads to cell death, the main mechanism of which is apoptosis. Microwaves can affect various processes associated with the development of oxidative stress. In this work, we studied the interaction of blood cells - platelets upon irradiation with microwaves in the presence of ethanol. Platelet activation is the cause of vascular catastrophes, but it is not always possible to prevent the development of complications with the help of medications. Therefore, recently in experimental studies often proposed exposure to electromagnetic radiation in order to correct violations of the rheological properties of blood. Such effects

include low-intensity microwave radiation. By modulating the activation of platelets with microwave radiation, we can thereby reject various platelet subpopulations. In addition, EHF radiation due to the effect on the water environment and the structure of platelet membranes can accelerate the process of adjusting the state of platelets.

Before controlling the level and speed of platelet aggregation, they were subjected to EHF irradiation for 30 minutes. In another series of experiments, ethanol was added to the cell incubation medium. In both cases, both a decrease in cell aggregation and a decrease in the rate of aggregation after EHF irradiation with platelet-rich plasma (PRP) were observed. The addition of ethanol to the PRP led to a further decrease in the magnitude of the controlled parameters. The mechanism of the observed effect is proposed, associated with an increase in the rate of formation of free radicals in PRP under the influence of EHF irradiation. The results of the research presented at VI Congress of Biophysicists of Russia and XIV International Scientific Conference "Actual Problems of Biological Physics and Chemistry". The results of the work can be useful in practical medicine for the correction of violations of the rheological properties of human blood and, in particular, with alcohol intoxication.

Keywords: EHF radiation, platelet-rich plasma, intercellular interaction, ethanol, aggregation inducers, microwave radiation, alcohol intoxication.

Введение

На протяжении последних десятилетий различными авторами высказывались предположения относительно результатов наблюдаемых биологических эффектов электромагнитного излучения (ЭМИ) в ВЧ, СВЧ и КВЧ диапазонах. Избыточное образование свободных радикалов в организме или окислительный (оксидативный) стресс, вызванный воздействием ЭМИ данных диапазонов частот в последнее время рассматривается некоторыми специалистами как один из основных механизмов биологической активности радио- и микроволн [1-3]. В ряде исследований показано, что микроволны могут влиять на различные процессы, связанные с развитием окислительного стресса: изменение структуры и функции ферментов, в частности, усиление активности пероксидаз [4-5], интенсивность свободно-радикальных процессов в

клетках и тканях и усиление активации клеток, изменение ответа клеток иммунной системы и модуляцию иммунного ответа организма в целом [6-7].

В отличие от ВЧ и СВЧ, биологическим эффектам КВЧ излучения (30 - 300 ГГц) уделялось гораздо меньшее внимание. Это обусловлено тем, что излучение в этом диапазоне не считается повсеместным, и люди мало контактируют с ним. К тому же, это излучение проникает в тело человека на небольшую глубину от поверхности. Тем не менее, исполнителям приходится контактировать с КВЧ излучением при его использовании в непосредственной близости от специализированного оборудования [8].

Следует отметить, что именно слабое проникновение КВЧ в глубоко расположенные органы от поверхности тела открывает перспективы для использования КВЧ с целью направленной локальной терапии с минимальными побочными эффектами и повреждениями окружающих тканей. Считается, что воздействие на организм человека происходит при интенсивностях облучения, которые вызывают слабое нагревание ткани, но биохимические механизмы эффектов облучения не совсем понятны.

Любопытно утверждение Х. Швана о невозможности получить существенные нетермические эффекты ЭМИ при интенсивности излучения, которое не вызывает заметного нагрева [9]. Р. Эйди, в свою очередь, отмечает [10], что микроволновое излучение интенсивностью менее 10 мВт/см^2 вряд ли способно вызвать физиологические эффекты посредством нетермических механизмов, поскольку фундаментальной особенностью биологических систем является наличие «шума» как на молекулярном, так и на клеточном уровне, и эффект, вызванный ЭМИ, должен превышать уровень этого повсеместного эндогенного шума, чтобы проявиться.

Воздействия ЭМИ на клетки человека, по мнению авторов работы [11], могут вызывать: программируемую смерть клеток (апоптоз), модификацию дифференциации клеток, адаптивную реакцию клеток, изменение процессов пролиферации.

Механизмы, с помощью которых КВЧ излучение способно производить

системные эффекты всего организма при локальных воздействиях, где проникновение осуществляется на небольшую глубину, до сих пор недостаточно изучены. Эта ситуация таит в себе, с одной стороны, нераскрытые возможности КВЧ терапии, а с другой – возможную опасность для здоровья людей использования данного вида излучения. Результаты наших предшествующих экспериментов следует отнести к изучению влияния микроволнового излучения на клетки человека, которые находились в стрессовом состоянии [12-13]. Известно, что окислительный стресс играет существенную роль при патологических процессах (ишемии, воспалении), токсических воздействиях и т.п. В тканях окислительный стресс приводит к гибели клеток, основным механизмом которой является апоптоз (генетически запрограммированный процесс гибели клетки). Механизмы запуска программы апоптоза, вызванного стрессом, чрезвычайно разнообразны, однако все эти механизмы сходятся на уровне митохондрии и приводят к запуску каскада протеолитических ферментов и деградации клетки. Следует отметить, что апоптозу (программируемой смерти клеток) подвергаются не только ядродержащие клетки, но и безъядерные клетки, такие как эритроциты [14] и тромбоциты [15].

Функционирование тромбоцитов является одной из основных причин сосудистых патологий – клеток кровяного русла. Как показано в работах Свешниковой А.Н. с соавторами, эндотелий сосудов и секреторные органы влияют на активацию тромбоцитов, вырабатывая как усиливающие, так и ингибирующие её вещества, тем самым устанавливая соотношение сигналов активации и ингибирования, которое играет важную роль в формировании тромбоцитарного агрегата в норме и в условиях патологии. Пути агрегации тромбоцитов еще слабо изучены, и их исследование представляет собой актуальную задачу как для фундаментальной клеточной биологии, так и для разработки новых лекарственных препаратов, методов диагностики и способов лечения нарушений системы гемостаза.

Активация этих клеток приводит не только к образованию сгустка –

субстрата атеротромбоза, но и к формированию значительного набора биохимических веществ. Такая универсальность позволяет этим клеткам выполнять ключевую роль как в системе гемостаза, так и в регуляции репаративных процессов. Повышенная агрегация тромбоцитов лежит в основе патогенеза большого количества заболеваний. Тромбоциты, как известно, являются одними из основных участников сосудистых катастроф при ишемической болезни сердца (ИБС). Однако не всегда удается преодолеть агрегацию тромбоцитов и предотвратить развитие тромботических осложнений с помощью антитромбоцитарных препаратов. Попыткой преодолеть некоторые нежелательные явления, связанные с активацией тромбоцитов, а также регламентировать их участие в различных патологических состояниях, обусловлен поиск иных подходов к проблеме, в том числе и рассмотрение участия в апоптозе этих клеток известных индукторов агрегации: коллагена, арахидоновой кислоты, тромбина, АДФ, ионофора кальция А23187 и др. [16-17].

Установлен бимодальный характер влияния, в зависимости от величины концентрации индуктора. При низких концентрациях наблюдается активация тромбоцитов, а при высоких – запускается программа апоптоза (транслокация фосфатидилсерина с внутренней поверхности цитоплазматической мембраны на внешнюю, открытие гигантских митохондриальных пор и выход *cyt c*, каскадная активация каспаз и фрагментация клетки для последующей утилизации фагоцитами). При апоптозе прерываются патологические процессы, приводящие к стимуляции тромбообразования. Модулируя с помощью микроволнового излучения активацию тромбоцитов, мы тем самым можем осуществлять выбраковку различных субпопуляций тромбоцитов.

Воздействие электромагнитных полей (ЭМП) на окружающую среду растет из года в год. Увеличивается не только интенсивность электромагнитного фона, но и меняются характеристики электромагнитных сигналов. Причем, даже если средний уровень фона ЭМИ по значительной территории невелик, то локальные и временные характеристики могут

отличаться на порядки величин. В частности, это касается персонала, обслуживающего оборудование систем связи, медицинские приборы, локационные станции, а также системы безопасности в общественных местах. С другой стороны, известен положительный терапевтический эффект при использовании ЭМИ и разрабатываются все новые и новые методы лечения различных заболеваний [18-20].

В данной работе рассматривается один из аспектов применения КВЧ излучения в медицинских приложениях, а именно, как фактор коррекции нарушений реологических свойств крови в клинической практике.

1. Материалы и методы исследования

1.1. Объекты исследования

Эксперименты проводятся *in vitro* на образцах крови, взятых у здоровых доноров в полистирольные вакуумные пробирки с цитратом натрия IMPROVACUTER Кат. № 455689. Кровь, стабилизированную цитратом натрия, центрифугировали 10 минут при 200g со скоростью 1000 оборотов в минуту для получения обогащенной эритроцитами плазмы (ОТП). Далее ОТП отбиралась в чистую пробирку. Оставшуюся плазму повторно центрифугировали в течение 25 минут при 400g со скоростью 2800 оборотов в минуту, для получения бедной тромбоцитами плазмы. Далее БТП отбиралась в отдельную чистую пластиковую пробирку. Образцы хранили при +37 °С не более 3 часов.

1.2 Агрегометрия тромбоцитов

После выделения ОТП производился подсчет клеток. Проба была объемом 250 мкл. Количество клеток составляло примерно 300 тыс/мл. Затем добавляли индуктор агрегации - водные растворы ристомидина. Конечная концентрация составляла 0,1 мг/мл.

Для исследования влияния КВЧ на агрегацию тромбоцитов использовался метод агрегометрии. Измерения были проведены на четырехканальном приборе AggRam Helena (Великобритания). Кюветы для данного прибора были из силиконизированного стекла, размер их составлял 8 ×

60 мм². Температура инкубации 37°C ± 1°C. Длина волны, на которой проводились измерения, 650 нм. Для перемешивания использовались магниты с покрытием, размером 3,5 × 4 мм².

Далее регистрировали кинетику агрегации в течение 20 минут. В качестве контроля использовали пробу, которая представляла ОТП с добавлением индуктора. Калибровка прибора осуществлялась с помощью бедной тромбоцитами плазмы (БТП). Оценка производилась по изменению светопропускания ОТП при добавлении индуктора агрегации, в нашем случае ристомидина. После добавления индуктора образуются агрегаты тромбоцитов. Параллельно с этим процессом увеличивается светопропускание до достижения плато, что указывает на необратимую агрегацию. Степень агрегации представляет собой разницу между минимальным и максимальным процентами светопропускания. Скорость агрегации оценивалась по тангенсу угла наклона агрегатограммы [15]. Полученные результаты обрабатывались с помощью программ Exel (Microsoft office) и STATISTICA версия 6, StatSoft Corporation (USA). Для анализа различий количественных признаков в трех и более несвязанных группах использовался статистический критерий Краскелла-Уоллиса ANOVA, в двух несвязанных группах применялся критерий Манна-Уитни. Достоверными считались различия при $p < 0,05$.

1.3 Условия КВЧ облучения

Генератор на основе диода Ганна с частотой в диапазоне от 32,9 до 39,6 ГГц (длина волны, соответственно, от 9,1 до 7,6 мм) и мощностью излучения от 3 до 30 мВт использовался в качестве источника микроволнового излучения. Установка микроволнового облучения обеспечивала подведение излучения к исследуемому объекту с помощью волновода сечением 7,2×3,4 мм² с согласующими элементами. Осуществлялся контроль режима бегущей волны, мощности микроволнового излучения и длины волны излучения. Образцы подвергались микроволновому воздействию в ближнем поле рупорной антенны, расположенной вертикально, и находясь над ней на расстоянии 6 см от открытого конца рупора. Образцы перемешивали осторожным

встряхиванием каждые 5 мин. Температуру в образцах измеряли с использованием волоконно-оптического микротермодетектора МТ-4МО (Россия) с точностью 0,05 °С.

2. Экспериментальная часть

В процессе ишемического повреждения развивается воспалительная реакция как ответ организма на повреждение сосудистого эндотелия, а в случае инфаркта мозга происходит проникновение токсических веществ из сосудистого русла в мозговую ткань. Это вызывает запуск каскада оксидативных и прокоагулянтных реакций, в результате которых происходит активация клеток микроглии, что приводит к главной утрате - гибели жизненно важных нейронов с формированием инфарктного очага. Поэтому, для предотвращения данного патологического процесса и снижения последствий от его наличия, необходимо воздействовать на систему гемостаза, чтобы нарушить «замкнутый» сигнальный круг. К важнейшим проблемам современной медицины причисляют различные тромбоемболические явления, которые возникают при избыточной активности тромбоцитов (Тц). Для лечения и профилактики ишемических нарушений кровообращения у больных применяют антитромбоцитарные антиагрегантные препараты [21]. Однако, несмотря на значительные усилия, приложенные в этом направлении, проблема еще далека до своего разрешения. Поэтому наряду с медикаментозными средствами в медико-биологических исследованиях все чаще предлагаются электромагнитные воздействия с целью коррекции нарушений реологических свойств крови. К этим воздействиям относятся низкоинтенсивные световые и микроволновые излучения.

Так в работе [22] приведены изучения воздействия ЭМИ КВЧ на крыс, после воздействия на них γ облучением в дозе 1 Гр. В результате проведенного экспериментального исследования было установлено, что у животных подвергнутых γ облучению, последующее воздействие ЭМИ КВЧ приводит к нормализации всех показателей агрегации. Кроме того, было отмечено, что характер наблюдаемых КВЧ эффектов зависел, не в последнюю

очередь также и от индивидуальных особенностей организма.

В работе саратовских ученых было установлено, что КВЧ облучение в определенных условиях вызывает значительное ингибирование функциональной активности тромбоцитов в нативной плазме по сравнению с контролем [23].

Влияние микроволнового излучения на частоте 2450 МГц на тромбоциты у собак было проанализировано *in vitro* путем изучения агрегации, активированной аденозин - 5-дифосфатом. При плотностях мощности превосходящих 10 мВт/см^2 были продемонстрированы различные проявления агрегации тромбоцитов: гиперагрегация, уменьшенная скорость агрегации, пониженная агрегация, восстановление. Отсутствие эквивалентных реакций агрегации с изотермическим проводящим нагревом авторы работы связывают с различиями в скорости нагревания образца [24].

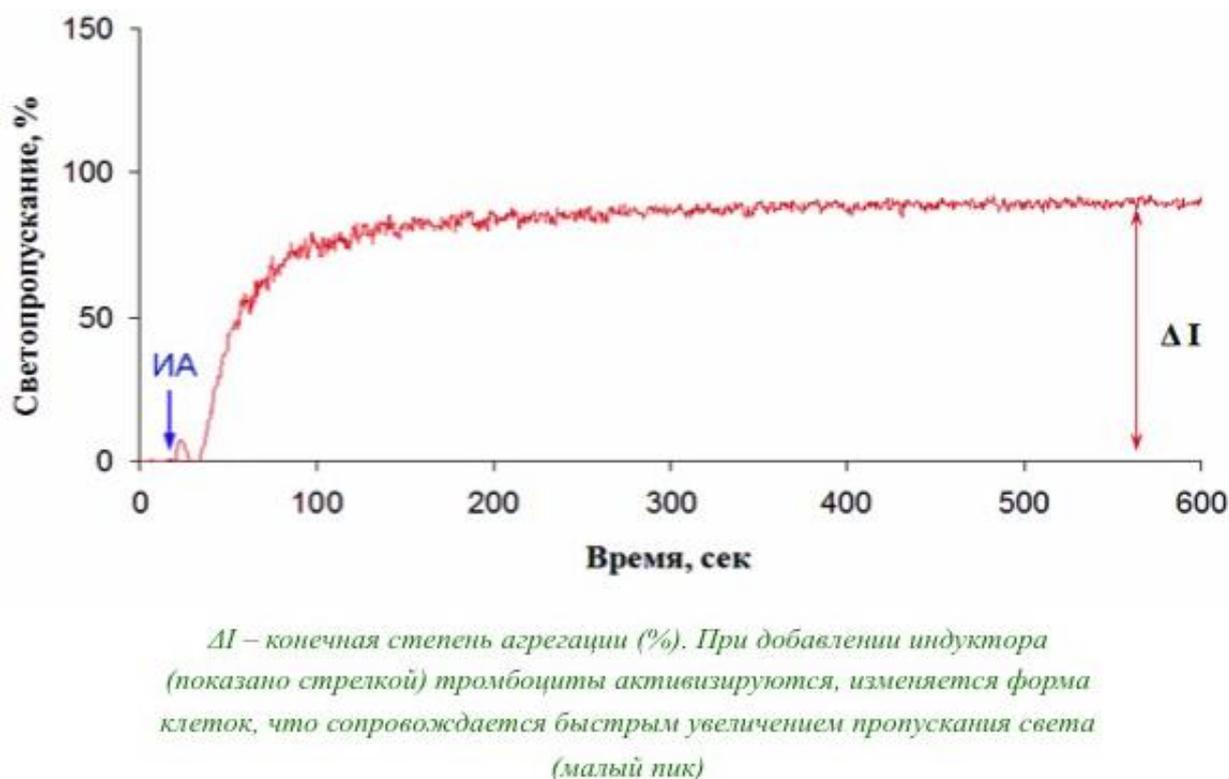


Рис. 1. Типичная кинетика агрегации тромбоцитов при добавлении индуктора агрегации.

В наших экспериментах обогащенную тромбоцитами плазму (ОТП) инкубировали при комнатной температуре в условиях КВЧ облучения в

течение 30 минут и переносили в прибор AggRam Helena (Великобритания) для измерения уровня и скорости агрегации тромбоцитов. В результате был получен набор агрегатограмм. Типичная кинетика агрегации представлена на рис. 1. В ходе работы оценивались степень агрегации и скорость агрегации тромбоцитов. Кинетику агрегации регистрировали в течение 10 минут.

На рис. 2 представлена одна из реализаций проведенного нами эксперимента по изучению влияния КВЧ излучения на степень агрегации тромбоцитов в ОТП.

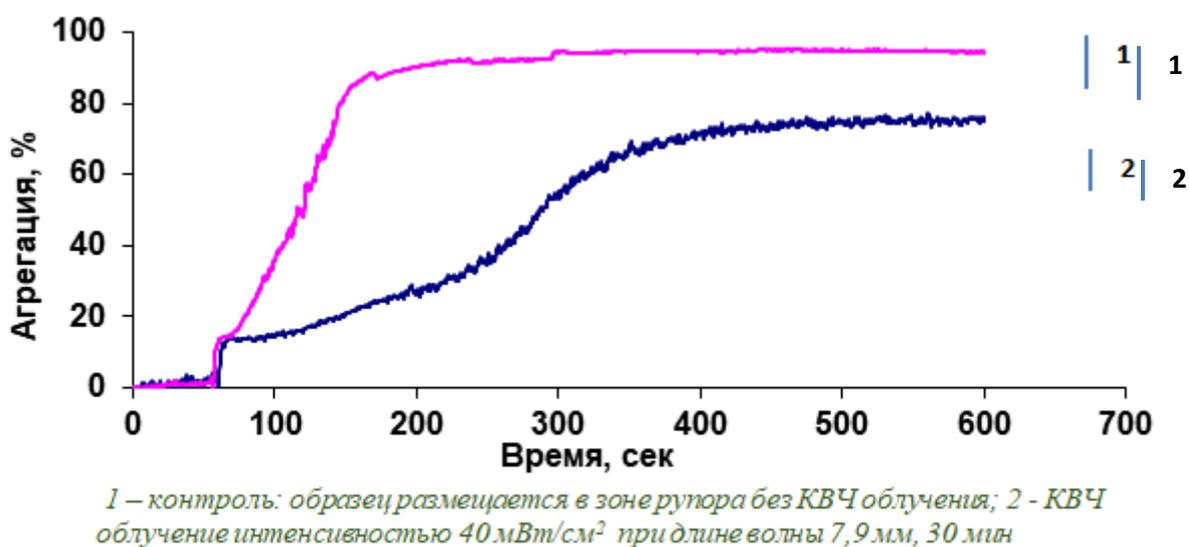
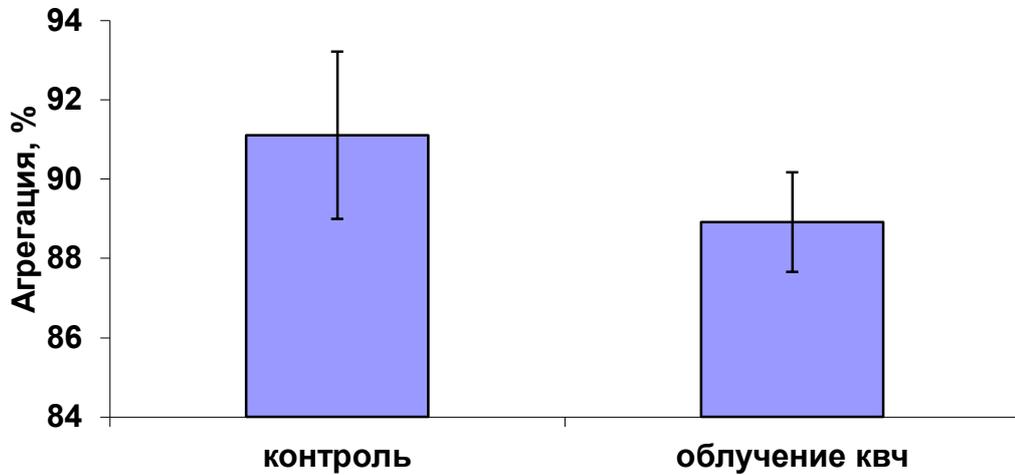


Рис. 2. Пример реализации измерения агрегации тромбоцитов

Итоговые результаты нашего предварительного эксперимента представлены на рис. 3 и рис. 4.

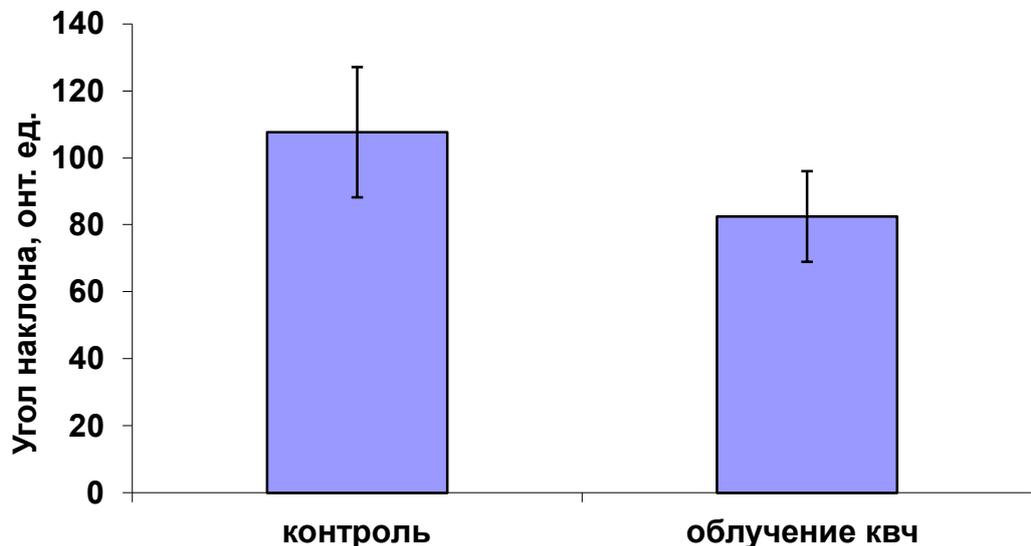
Как следует из приведенных выше рисунков, КВЧ излучение снижает степень агрегации по сравнению с контролем при добавлении индуктора ристомицина. Кроме того, представленные результаты, показывают, что КВЧ излучение изменяет угол наклона по сравнению с контролем при добавлении того же индуктора. Аналогичный эффект наблюдался также и при агрегации тромбоцитов коллагеном. Однако, наиболее выраженный эффект имел место при использовании ристомицина, что, возможно, является косвенным отражением влияния КВЧ излучения на активность фактора фон Виллебранда, т.е. на высвобождение этого гликопротеина из α -гранул тромбоцитов. Как

известно, фактор фон Виллибранда не только включает внешний и внутренний механизмы коагуляции, но и активирует противосвертывающую систему, предупреждая, таким образом, избыточное тромбообразование.



Образец содержит 225 мкл плазмы донора и 25 мкл индуктора ристомидина с конечной концентрацией в образце 0,1 мг/мл. 1 – контроль: образец размещается в зоне рупора без КВЧ облучения; 2 - КВЧ облучение интенсивностью 40 мВт/см² при длине волны 7,9 мм в течение 30 минут

Рис. 3. Результаты статистической обработки экспериментальных данных



Образец содержит 225 мкл плазмы донора и 25 мкл индуктора ристомидина с конечной концентрацией в образце 0,1 мг/мл. 1 – контроль: образец размещается в зоне рупора без КВЧ облучения; 2 - КВЧ облучение интенсивностью 40 мВт/см² при длине волны 7,9 мм в течение 30 минут

Рис. 4. Результаты статистической обработки экспериментальных данных по измерению скорости агрегации тромбоцитов при КВЧ облучении.

Обсуждая механизм наблюдаемого эффекта действия КВЧ излучения на процесс агрегации тромбоцитов, индуцированный ристомицином, следует учесть наличие двух структурных переходов в мембранах тромбоцитов при изменении температуры в области 10-30 °С. Переход при 23-25 °С инициируется в липидной фазе, а при температурах 13-14 °С - в белках. При этих же температурах происходят изменения скорости агрегации тромбоцитов под действием агрегирующих агентов. Так что температура облучаемого в эксперименте образца может рассматриваться как один из регуляторных факторов агрегационной способности тромбоцитов.

Как было показано выше [1-3], в последнее время процессам образования свободных радикалов в биологических структурах после воздействия микроволнового облучения придается важное значение. Последствиями такого воздействия могут служить структурные и функциональные изменения ферментов [5-6]. С другой стороны, показано [25], что процесс перекисного окисления липидов (ПОЛ) может участвовать в регуляции агрегационной активности тромбоцитов. Таким образом, можно предположить, что микроволновое облучение, стимулируя увеличение скорости образования свободных радикалов в ОТП, может регулировать агрегационную активность тромбоцитов.

В этой связи мы предприняли исследования влияния этанола на изучаемую систему при действии микроволнового излучения. Известно, что алкоголь вызывает апоптоз в эукариотических клетках, таких как гепатоциты, нервные клетки, фибробласты роговицы, и недавно было показано, что алкоголь стимулирует апоптоз тромбоцитов [26]. Этанол индуцирует митохондриально-опосредованный внутренний апоптоз тромбоцитов, приводит к снижению числа циркулирующих тромбоцитов и ухудшает гемостаз *in vivo*. В указанной выше работе было показано, что острая алкогольная интоксикация снижает количество циркулирующих тромбоцитов, продлевает время кровотечения и вызывает кровоизлияние в слизистую желудка *in vivo*. Эти данные показывают

возможный патогенез геморрагических симптомов у пациентов с алкогольной интоксикацией.

Кроме того, известны литературные экспериментальные данные о влиянии этанола на агрегацию тромбоцитов. Так, при потреблении крысами этанола в течение 21 дня было обнаружено снижение агрегации тромбоцитов [27]. В исследованиях [28] было показано, что снижение уровня холестерина - ЛПВП (липопротеины высокой плотности) может объяснить только 50% защитного эффекта алкогольных напитков; остальные 50% могут быть частично связаны с уменьшением активности тромбоцитов. Эта антитромбоцитарная активность вина объясняется как этанолом, так и полифенольными компонентами, которыми богаты красные вина.

Оценка межклеточного взаимодействия производилась по изменению светопропускания обогащенной тромбоцитами плазмы, при добавлении индуктора агрегации, в нашем случае ристомицина. После добавления индуктора образуются агрегаты тромбоцитов, в результате этого процесса увеличивается светопропускание обогащенной тромбоцитами плазмы крови (ОТП) до достижения плато, что указывает на необратимую агрегацию. В ходе активации тромбоцитов происходит изменение структуры плазматической мембраны, осуществляется активное перераспределение и движение ионов через мембрану, наблюдается гидролиз инозитольных фосфолипидов, что приводит к присоединению или отсоединению от биомембраны различных белков. Также происходит высвобождение и окисление арахидоновой кислоты и изменение метаболизма циклических нуклеотидов.

На гистограммах (рис. 5, 6) представлено влияние этанола на агрегацию и скорость агрегации тромбоцитов. Из результатов видно, как добавление этанола незначительно снижает степень агрегации (в пределах ошибки эксперимента) по сравнению с контролем при добавлении индуктора ристомицина.

Аналогичные результаты были получены для угла наклона кривой агрегации (рис. 6).

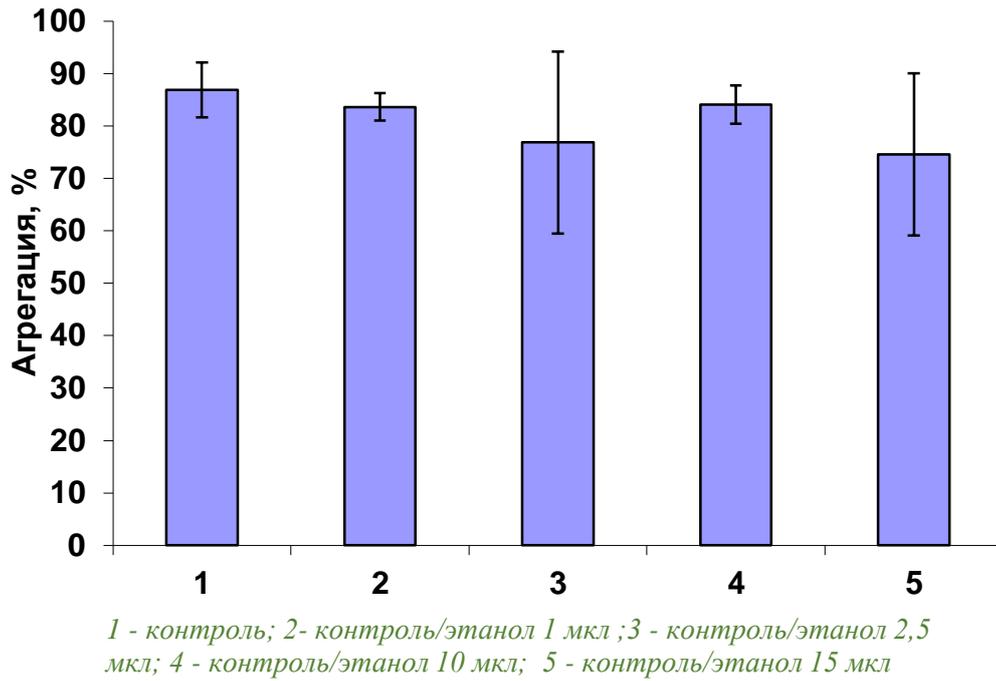


Рис. 5. Влияние этанола на степень агрегации тромбоцитов.

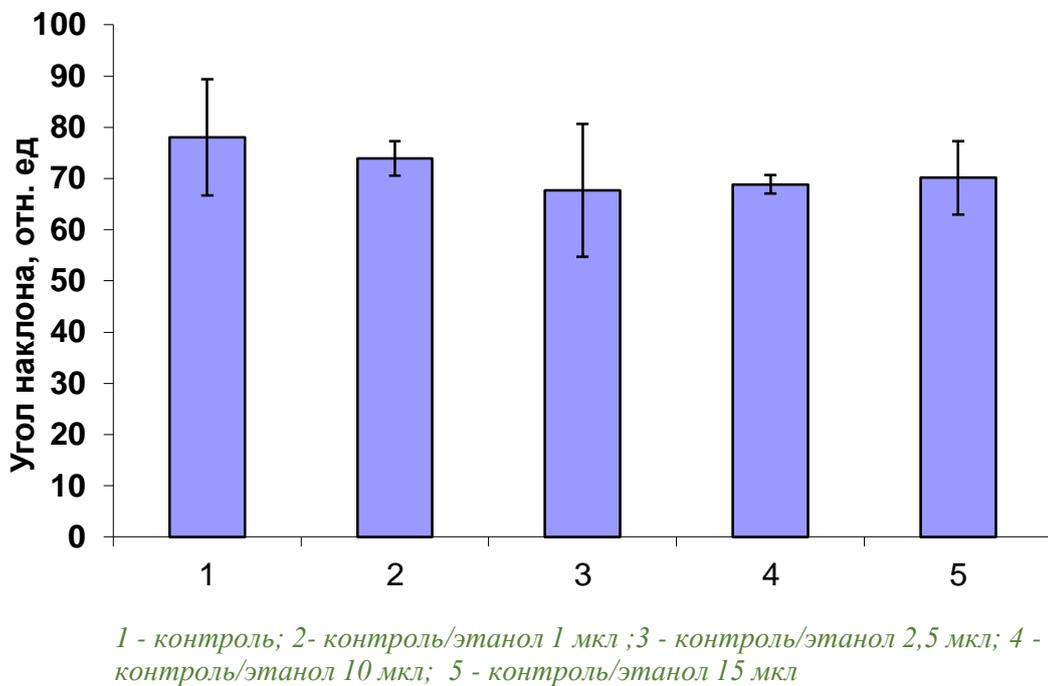


Рис. 6. Влияние этанола на угол наклона кривой агрегации тромбоцитов.

На рис. 7, 8 представлены результаты, показывающие влияние КВЧ излучения в присутствии этанола на степень агрегации и скорость агрегации тромбоцитов.

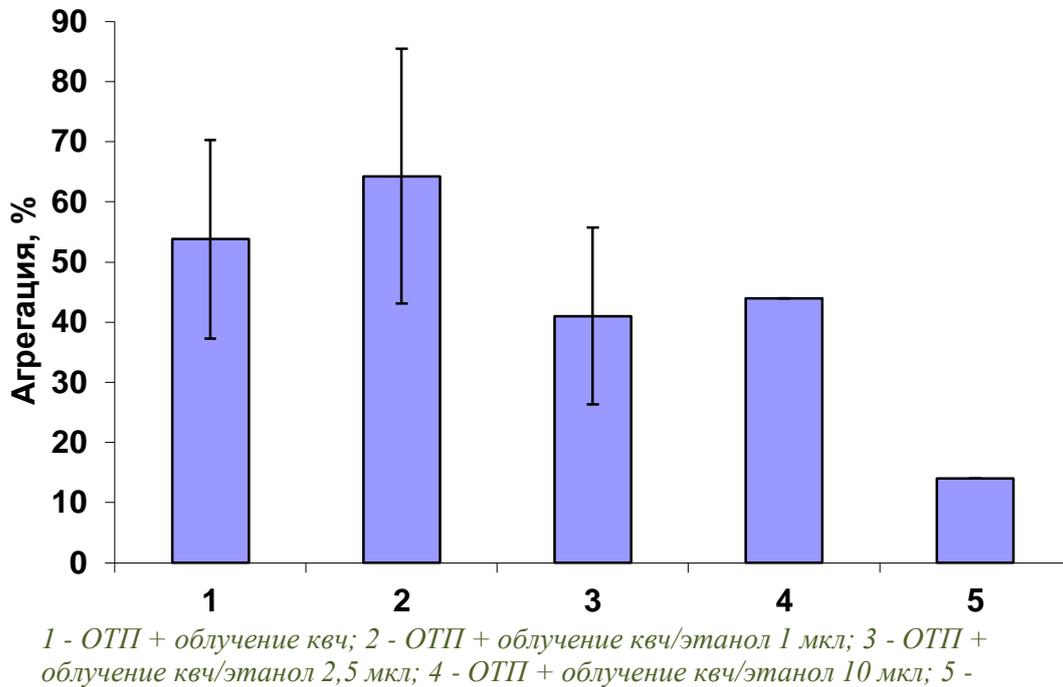


Рис. 7. Влияние КВЧ на степень агрегации тромбоцитов в присутствии этанола.

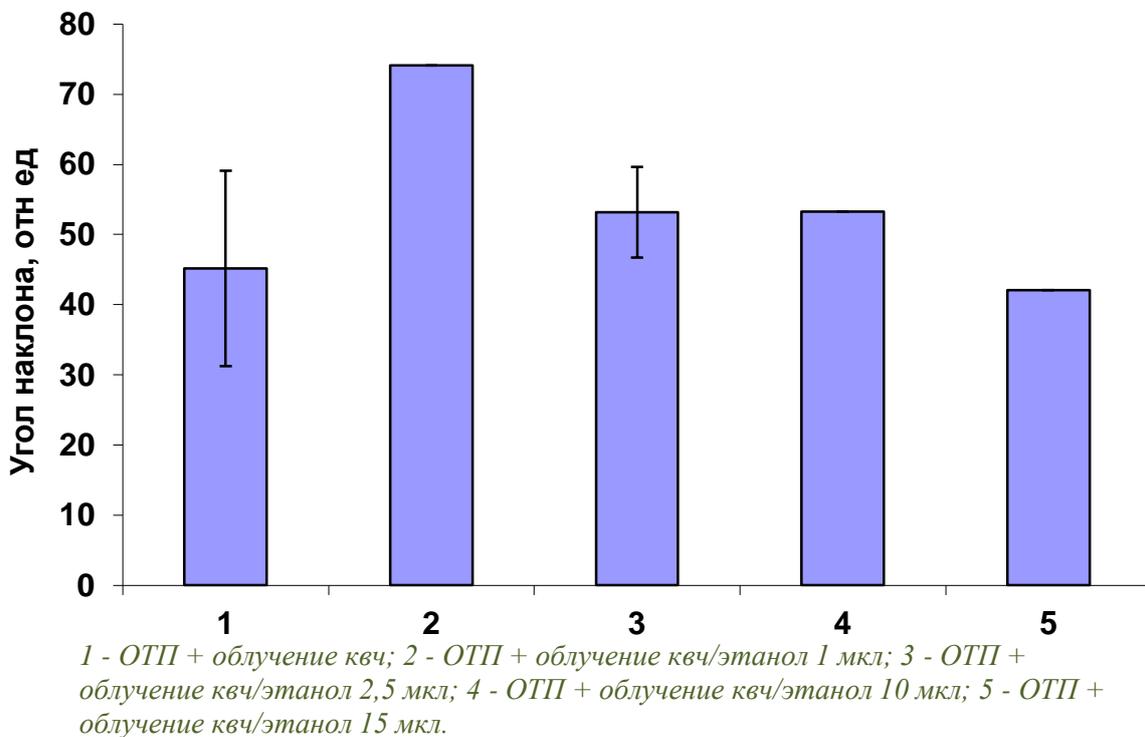


Рис. 8. Влияние КВЧ на скорость агрегации тромбоцитов в присутствии этанола

Данные были получены при обработке агрегатограмм тромбоцитов крови здоровых доноров. Как видно, добавление 1 мкл этанола вызывало незначительное повышение степени агрегации тромбоцитов, что возможно обусловлено образованием гидроксипропиловых радикалов, которые являются дополнительными модуляторами тромбоцитарной активности [29-30].

На основании результатов недавних исследований можно предположить, что активированные тромбоциты образуют две субпопуляции, одна из которых способна эффективно агрегировать, а другая осуществляет экстернализацию фосфатидилсерина на внешней стороне мембраны и таким образом ускоряет ход мембранно-зависимых реакций свертывания крови. При этом происходит активация тромбоцитов и увеличение концентрации кальция в его цитоплазме.

В дальнейшем происходит аккумуляция кальция в митохондриях до «критического уровня», что является пусковым моментом апоптоза в тромбоцитах. Запускается процесс «митохондриального некроза» клеток, который сопровождается активным выходом кальция и свободных радикалов из митохондрий, а также деградацией и разрушением цитоскелета, что сопровождается сильным увеличением размера тромбоцитов [31-32]. В работе [33] было показано, что в активированных тромбоцитах повышается синтез активных форм кислорода. Этанол индуцирует митохондриально-опосредованный внутренний апоптоз тромбоцитов и, таким образом, приводит к снижению количества циркулирующих тромбоцитов. Он вызывает деполяризацию митохондриального внутреннего трансмембранного потенциала, активацию Вах, подавление Bcl-2 и активацию каспазы-3, блокирует поверхностную экспрессию связывания Р-селектина или PAC-1 [34].

В покоящихся (интактных) тромбоцитах мембранные фосфолипиды распределены асимметрично: фосфатидилхолин и сфингомиелин в основном локализируются на внешней поверхности плазматической мембраны, тогда как фосфатидилэтаноламин (ФЭ) и фосфатидилсерин (ФС) в основном локализируются на внутренней поверхности. Эта асимметрия поддерживается действием двух мембранных липидных транспортеров, флиппазы и флоппазы

[35-36]. После активации тромбоцитов сильными агонистами эта асимметрия теряется из-за активации Ca^{2+} -зависимых фосфолипидных скремблаз, которые двунаправлено переносят фосфолипиды [37]. Таким образом, активность скремблазы приводит к экспрессии отрицательно заряженных фосфолипидов, особенно ФС, на внешней стороне мембраны тромбоцитов, обеспечивая тем самым необходимую поверхность для сборки компонентов коагуляции, необходимых для генерации тромбина. Эта последовательность реакций приводит к гибели значительного количества тромбоцитов, участвующих в агрегации и, следовательно, к снижению регистрируемого уровня агрегации и скорости ее нарастания в процессе эксперимента.

Заключение

Полученные в данной работе результаты свидетельствуют о том, что КВЧ облучение низкой интенсивности в условиях нашего эксперимента способно уменьшить уровень агрегации тромбоцитов. Эффект облучения проявлялся в снижении степени агрегации тромбоцитов по сравнению с контролем при добавлении индуктора агрегации – ристомидина, а также в уменьшении угла наклона агрегатограммы (скорости агрегации тромбоцитов). Добавление этанола в среду тромбоцитов способствовало дальнейшему снижению контролируемых параметров. Предполагается, что микроволновое облучение, стимулируя увеличение скорости образования свободных радикалов в ОТП, может регулировать агрегационную активность тромбоцитов. Предлагается механизм обнаруженного эффекта, связанный с усилением апоптоза клеток. Предложенный мембранный механизм обнаруженного эффекта – влияния КВЧ излучения низкой интенсивности на процесс агрегации тромбоцитов, существенно расширяет наши прежние представления о мембранотропном действии микроволнового излучения. Результаты работы представлены на VI съезде биофизиков России, а также на XIV Международной научной конференции «Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ-2019» в 2019 г. Результаты работы могут быть полезны в практической

медицине для коррекции нарушений реологических свойств крови человека и, в частности, при алкогольной интоксикации.

Работа выполнялась в рамках госзадания.

Литература

1. Barteri M., De Carolis R., Marinelli F., Tomassetti G., Montemiglio L.C. Effects of microwaves (900 MHz) on peroxidase systems: A comparison between lactoperoxidase and horseradish peroxidase // *Electromagnetic Biology Medicine*. -2016. -V. 35. -P. 126-133.
2. Hou Q., Wang M., Wu S., Ma X., An G., Liu H., Xie F. Oxidative changes and apoptosis induced by 1800-MHz electromagnetic radiation in NIH/3T3 cells // *Electromagnetic Biology Medicine*. -2015. -V. 34. -P. 85-92.
3. Meena R., Kajal, K., Kumar, J., Rajamani P., Verma H. N., Kesari K.K. Therapeutic approaches of melatonin in microwave radiations induced oxidative stress mediated toxicity on male fertility pattern of Wistar rats // *Electromagnetic Biology Medicine*. -2014. -V. 33. -P. 81–91.
4. Marjanovic A.M., Pavicic I., Trosic I. Cell oxidation-reduction imbalance after modulated radiofrequency radiation // *Electromagnetic Biology Medicine*. - 2015. -V. 34. -P. 381-386.
5. Manna D., Ghosh R. Effect of radiofrequency radiation in cultured mammalian cells: A review // *Electromagnetic Biology Medicine*. -2016. V. 35. -P. 265-301.
6. Koyama S., Narita E., Suzuki Y., Taki M., Shinohara N., Miyakoshi J. Effect of a 2.45- GHz radiofrequency electromagnetic field on neutrophil chemotaxis and phagocytosis in differentiated human HL-60 cells // *Journal of Radiation Research*. -2015. -V. 56. -P. 30-36.
7. Aly A.A., Cheema M.I., Tambawala M., Laterza R., Zhou E., Rathnabharathi K., Barnes F.S. Effects of 900-MHz radio frequencies on the chemotaxis of human neutrophils in vitro // *IEEE Transactions Biomedical Engineering*. -2008. -V 55. -P. 795–797.

8. Garaj-Vrhovac V., Gajski G., Pažanin S., Sarolić A., Domijan A.M., Flajs D., Peraica M. Assessment of cytogenetic damage and oxidative stress in personnel occupationally exposed to the pulsed microwave radiation of marine radar equipment // *International Journal of Hygiene Environmental Health*. -2011. -V. 214. -P. 59-65.
9. Schwan H.P. Nonthermal cellular effects of electromagnetic fields: AC-field induced ponderomotoric forces // *The British Journal Cancer Supplement*. - 1982. -Is. 5. -P. 220-224.
10. Adair R.K. Biophysical limits on athermal effects of RF and microwave radiation // *Bioelectromagnetics*. -2003. -V. 24. -P. 39-48.
11. Szabo I., Kappelmayer J., Alekseev S.I., Ziskin M.C. Millimeter wave induced reversible externalization of phosphatidylserine molecules in cells exposed in vitro // *Bioelectromagnetics*. 2006. -V. 27. -P. 233-244.
12. Казаринов К.Д., Борисенко Г.Г., Полников И.Г. Влияние ЭМИ низкой интенсивности микроволнового диапазона на окислительные процессы в клетках // *Электронная техника. Сер. 1. СВЧ - техника*. -2018. -Вып. 1 (536). -С. 60-68.
13. Vlasova I.I., E. V. Mikhailchik, A. A. Gusev, N. G. Balabushevich, S. A. Gusev, and K. D. Kazarinov. Extremely high-frequency electromagnetic radiation enhances neutrophil response to particulate agonists // *Bioelectromagnetics*. February -2018. -V. 39, Is. 2. -P. 144-155.
14. Birka C., Lang A.P., Kempe S.D. Hoefling E., Tanneur V., Duranton Ch., Nammi S., Henke G., Myssina S., Krikov M., Huber S., Wieder Th., Lang F. Enhanced susceptibility to erythrocyte «apoptosis» following phosphate depletion // *Eur. J. Physiol*. -2004. -V. 448. -P. 471-477.
15. Leytin V., Mykhaylov S., Starkey A.F., Allen D.J., Lau H., Ni H., Semple J.W., Lazarus A.H., Freedman J. Intravenous immunoglobulin inhibits anti-GPIIb-induced platelet apoptosis in a murine model of ITP // *Br. J. Haematol*. -2006. -V. 133. -P. 78-82.

16. Alberio L., Safa O., Clemetson K.J., Esmon C.T., Dale G.L. Surface expression and functional characterization of alpha-granule factor V in human platelets: effects of ionophore A23187, thrombin, collagen, and convulxin // *Blood*. -2000. -V. 95. -P. 1694-1702.
17. Березовская Г.А. Апоптоз тромбоцитов: причины недостаточной эффективности антитромбоцитарных препаратов // *Бюллетень СО РАМН*. - 2011. - Т. 32, № 4. -С. 17-27.
18. Ордынская Т.А., Поручиков П.В., Ордынский В.Ф. Волновая терапия. – М.: Эксмо. -2008. -496 с.
19. Мырзабаева Н. А. Применение лазеро- и КВЧ пунктуры в эрадикационной терапии больных с функциональной дисперсией, ассоциированной с *Helicobacter pilori* // *Терапевтический вестник*. -2009. -№ 4(24). -С. 48-49.
20. Terpone M., Avakyan R. Extremely high-frequency therapy in oncology // *J. Altern. Complement Med*. -2010. -V. 16 (11). -С. 1211-16.
21. Котова О.В., Акарачкова Е.С. // Хроническая ишемия головного мозга: патогенетические механизмы и принципы лечения // *Фарматека*. -2010. -№ 8 -С. 57-61.
22. Буланова К.Я., Лобанок Л.М., Бакунович А.В., Жив А.Ю., Милевич Т.И. Использование электромагнитных излучений КВЧ (39,5 ГГц) для коррекции радиационно-индуцированных изменений агрегационной способности тромбоцитов белых крыс // *Медицинский журнал (Беларусь)*. -2004. -№ 3 (49). -С. 60-64.
23. Kirichuk V.F., Volin M.V., Majborodin A.V., Krenitskyi A.P., Tupikin V.D. Information EHF-interactions in a system of live objects (human platelets). *Tsitologiya*. -2001. -43(12). -P. 1115-22.
24. Bushberg J.T. Effects of 2450 MHz continuous wave microwave radiation and isothermal conduction on canine platelet aggregometry, survival and margination. Dissertation. -1982. Purdue University.

25. Шаталина Л.В. Перекисное окисление липидов как механизм регуляции агрегационной активности тромбоцитов // Кардиология. -1993 -Т. 33, № 10. -С. 25-28.
26. Liu L., Chen M., Zhao L., Zhao Q., Hu R., Zhu J., Yan R., Dai K. Ethanol Induces Platelet Apoptosis // Alcohol Clin Exp Res. -2017. -V. 41(2). -P. 291-298.
27. Baysan O., Kaptan K., Erinf K., Oztas Y., Coskun T., Kayir H., Uzun M., Uzbay T., Beyan C., ISik E. Chronic heavy ethanol consumption is associated with decreased platelet aggregation in rats // The Tohoku journal of experimental medicine. -2005. -No 2. -P. 85-90.
28. Ruf J.C. Alcohol, wine and platelet function // Biol. Res. -2004. -V. 37(2). -P. 209-215.
29. Ермолаева Е.Н., Кривохижина Л.В., Кантюков С.А., Сурина-Марышева Е.Ф. Свободнорадикальное окисление в интактных и активированных тромбоцитах // Фундаментальные исследования. -2014. -№ 7 (часть 1). -С. 61-65.
30. Sobotková A., Mášová-Chrastinová L., Suttnar J. et all. Antioxidants change platelet responses to various stimulating events // Free Radic. Biol. Med. -2009. -Т.47 (12). -P. 1707-14.
31. Терентьева В.А., Свешникова А.Н., Пантелеев М.А. Биофизические механизмы контактной активации свертывания плазмы крови // Биофизика. -2017. -Т. 62, № 5. -С. 909–919.
32. Hartwig J. H. The platelet: form and function // Seminars in hematology. -2006. - 43(1 Suppl 1):S94-100.DOI:10.1053/j.seminhematol. -2005.11.004.
33. Obydennyu S. I., Sveshnikova A. N., Ataullakhanov F.I., Panteleev M. A. Dynamics of calcium spiking, mitochondrial collapse and phosphatidylserine exposure in platelet subpopulations during activation // Journal of Thrombosis and Haemostasis. - 2016. -V. 14; 9. -P. 1867-81.

34. Liu L., Chen M., Zhao L., Zhao Q., Hu R., Zhu J., Yan R., and Dai K. Ethanol Induces Platelet Apoptosis // Alcoholism, Clinical and Experimental Research. - 2017. -V. 42, N 2. - P. 291-298.
35. Daleke D.L. Regulation of transbilayer plasma membrane phospholipid asymmetry // J. Lipid Res. -2003. -V. 44(2). -P. 233-242.
36. Leventis P.A., Grinstein S. The distribution and function of phosphatidylserine in cellular membranes // Annu Rev. Biophys. -2010. -V. 39. -P. 407-427.
37. Bevers E.M., Williamson P.L. Phospholipid scramblase: an update // FEBS Lett. -2010. -V. 584 (13). -P. 2724-30.

Для цитирования:

К. Д. Казаринов, В. А. Щелконогов, А. В. Чеканов. Изучение чувствительности клеток крови человека к микроволновому излучению. Журнал радиоэлектроники [электронный журнал]. 2019. № 8. Режим доступа: <http://jre.cplire.ru/jre/aug19/10/text.pdf>
DOI 10.30898/1684-1719.2019.8.10