

На правах рукописи



Скамрова Галина Борисовна

КОМБИНИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ СЛАБОГО МИКРОВОЛНОВОГО
ИЗЛУЧЕНИЯ И ДНК-СВЯЗЫВАЮЩИХСЯ ПРЕПАРАТОВ НА КЛЕТКИ
БУККАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ ЧЕЛОВЕКА

Специальность 03.01.02 – Биофизика

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор физико-математических наук,
профессор Евстигнеев Максим Павлович

Севастополь 2014

ОГЛАВЛЕНИЕ

| | |
|---|----|
| ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ, УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ, СИМВОЛОВ, ЕДИНИЦ И ТЕРМИНОВ | 5 |
| ВВЕДЕНИЕ | 6 |
| Глава 1. БИОФИЗИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ДЕЙСТВИЯ СЛАБОГО МИКРОВОЛНОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА КЛЕТОЧНОМ УРОВНЕ | 12 |
| 1.1. Влияние неионизирующего микроволнового излучения малой интенсивности на клеточные и субклеточные структуры | 13 |
| 1.2. Возможные механизмы воздействия электромагнитного излучения на клеточные структуры | 22 |
| 1.3. Биологическое действие ароматических биологически активных соединений..... | 26 |
| 1.4. Комбинированное воздействие электромагнитного излучения и биологически активных соединений на живые организмы. | 31 |
| 1.5. Заключение | 35 |
| Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ | 37 |
| 2.1. Объекты экспериментальных исследований..... | 37 |
| 2.2. Метод определения состояния хроматина в клетках буккального эпителия человека | 43 |
| 2.3. Метод внутриклеточного электрофореза клеточных ядер..... | 44 |
| 2.4. Метод определения проницаемости клеточных мембран | 50 |
| 2.5. Биолюминесцентный тест на основе морских светящихся бактерий..... | 51 |
| 2.6. Методы воздействия электромагнитными полями на клетки человека | 52 |
| 2.7. Метод воздействия биологически активных соединений на клетки человека | 55 |
| 2.8. Метод спектрофотометрии..... | 58 |
| 2.9. Методы статистической обработки данных..... | 58 |

| | |
|---|-----|
| Глава 3. ВЛИЯНИЕ МИКРОВОЛНОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ МАЛОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ НА СОСТОЯНИЕ ХРОМАТИНА И МЕМБРАНЫ КЛЕТОК БУККАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ ЧЕЛОВЕКА | 60 |
| 3.1. Введение..... | 60 |
| 3.2. Влияние излучения мобильного телефона на состояние хроматина и мембраны клеток буккального эпителия человека..... | 62 |
| 3.3. Влияние электромагнитного излучения на частоте беспроводной связи WiMAX (3.7 ГГц) на состояние хроматина и мембраны клеток буккального эпителия человека..... | 71 |
| 3.4. Влияние электрической и магнитной составляющей электромагнитного излучения на состояние хроматина и проницаемость мембран клеток буккального эпителия человека | 79 |
| 3.5. Общие представления о механизме нетеплового действия электромагнитного излучения на клетки буккального эпителия человека..... | 86 |
| 3.6. Влияние побочных факторов эксперимента на состояние хроматина и проницаемость мембран клеток буккального эпителия человека | 87 |
| 3.7. Заключение | 91 |
| Глава 4. КОМБИНИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА СОСТОЯНИЕ ЯДРА И ХРОМАТИНА КЛЕТОК БУККАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ ЧЕЛОВЕКА | 94 |
| 4.1. Введение..... | 94 |
| 4.2. Индивидуальное действие биологически активных соединений на клетки буккального эпителия человека | 95 |
| 4.3. Индивидуальное влияние слабого электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на состояние хроматина и ядер клеток буккального эпителия человека..... | 101 |
| 4.4. Комбинированное воздействие слабого электромагнитного излучения миллиметрового диапазона и биологически активных соединений на состояние хроматина и ядер клеток буккального эпителия человека | 103 |

| | |
|---|-----|
| 4.5. Заключение | 110 |
| Глава 5. КОМБИНИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА СОСТОЯНИЕ ЯДРА И ХРОМАТИНА КЛЕТОК БУККАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ ЧЕЛОВЕКА | 112 |
| 5.1. Введение..... | 112 |
| 5.2. Общие представления о механизмах комбинированного действия ДНК-интеркаляторов | 113 |
| 5.3. Комбинированное действие биологически активных соединений на состояние ядра и хроматина клеток буккального эпителия человека | 115 |
| 5.4. Анализ результатов комбинированного действия биологически активных соединений с точки зрения теории интерцепторного и протекторного действия..... | 124 |
| 5.5. Индивидуальное и комбинированное действие биологически активных соединений на биолюминесценцию культуры светящихся бактерий <i>P. leiognathi</i> Sh1 | 134 |
| 5.6. Заключение | 140 |
| ВЫВОДЫ | 143 |
| СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ | 145 |
| ПРИЛОЖЕНИЕ А | 181 |
| ПРИЛОЖЕНИЕ Б | 193 |
| ПРИЛОЖЕНИЕ В | 198 |

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ, УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ, СИМВОЛОВ,
ЕДИНИЦ И ТЕРМИНОВ

- АВЗВ – аномальная временная зависимость вязкости
- БАС – биологически активные соединения
- КГГ – количество гранул гетерохроматина
- ОКИ – окрашенность клеток индигокармином
- РЧ – радиочастотный
- СВЧ – сверхвысокочастотный
- ЭМИ – электромагнитное излучение
- ЭМП – электромагнитное поле
- ЭОЯ – электроотрицательность ядер
- iDEN – интегрированная система мобильной связи (англ. аббр. Integrated Digital Enhanced Network)
- GSM – глобальный стандарт цифровой мобильной сотовой связи (англ. аббр. Global System for Mobile Communications)
- SAR – удельный коэффициент поглощения (англ. аббр. Specific absorption rate)
- TDMA – множественный доступ с разделением по времени (англ. аббр. Time Division Multiple Access)
- WiFi – беспроводная сеть (англ. аббр. Wireless Fidelity)
- WiMAX – технология предоставления беспроводного широкополосного доступа в Интернет (англ. аббр. Worldwide Interoperability for Microwave Access)

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Изучение совместного действия электромагнитного излучения (ЭМИ) и биологически-активных соединений (БАС) на биосистемы различного уровня организации представляет большой интерес в связи с перспективой использования комбинированного воздействия лекарственных препаратов и ЭМИ в терапии различных заболеваний. Особый интерес представляет слабое неионизирующее ЭМИ микроволнового диапазона, не вызывающее деструкцию субклеточных компонент и имеющее нетепловой характер действия.

Существуют основания полагать, что первичной мишенью нетеплового действия слабого излучения микроволнового диапазона на клеточном уровне является ядерный хроматин. Взаимодействие ЭМИ с хроматином может изменять степень электростатических взаимодействий ДНК-белок и вызывать изменение функционального состояния клеток, проявляющееся в разнообразных клеточных эффектах, регистрируемых различными методами. В связи с этим существует мнение, что ЭМИ может определенным образом взаимодействовать с БАС, механизм биологического действия которых обусловлен нековалентным комплексообразованием с ядерной ДНК. Имеющиеся свидетельства действительно указывают на наличие биологического синергизма при совместном действии слабого ЭМИ и ДНК-связывающихся препаратов, а также комбинаций препаратов в отсутствие ЭМИ, в частности при действии на пролиферирующие клеточные линии. Тем не менее, данные о подобном эффекте в непролиферирующих клеточных системах в настоящее время отсутствуют.

Связь работы с научными программами, планами, темами. Диссертационная работа выполнена согласно плану научно-исследовательских работ кафедры физики Севастопольского национального технического университета в рамках государственной бюджетной темы «Действие электромагнитного излучения на молекулярные процессы, свойства клеток и

процессы оплодотворения и эмбриогенеза» («ЭМИ»), № госрегистрации 0112U008334 (2013-2015).

Цель и задачи исследования. Целью исследования являлось установление закономерностей в отклике клеток буккального эпителия человека на комбинированное действие слабого ЭМИ и БАС.

Для достижения данной цели решались следующие задачи:

1. разработка устройства и адаптация методики исследования электрокинетических свойств ядер методом микроэлектрофореза;
2. установление закономерностей изменения состояния хроматина и клеточной мембраны под влиянием слабого ЭМИ миллиметрового диапазона различных характеристик;
3. определение закономерностей процессов гетерохроматинизации в интерфазных ядрах, изменения показателя электроотрицательности ядер и барьерной функции мембран под действием ароматических БАС по отдельности и в комбинациях;
4. изучение закономерностей изменения состояния хроматина и клеточных ядер при совместном действии ЭМИ и ароматических БАС;
5. обсуждение молекулярных механизмов наблюдаемого клеточного отклика при комбинированном действии БАС и ЭМИ.

Объект исследования – реакция клеток буккального эпителия человека на действие слабого ЭМИ микроволнового диапазона и комбинаций ароматических БАС.

Предмет исследования – состояние хроматина и мембран, а также электрокинетические свойства ядер клеток буккального эпителия человека.

Методы исследования.

1. Метод определения степени конденсации хроматина в интерфазных ядрах клеток буккального эпителия по количеству гранул гетерохроматина при окрашивании орсеином.
2. Метод оценки изменения проницаемости мембран клеток буккального эпителия при окрашивании клеток раствором индигокармина.

3. Метод исследования электрокинетических свойств ядер с помощью клеточного микроэлектрофореза.
4. Билюминесцентный тест на основе морских светящихся бактерий.
5. Метод спектрофотометрии в УФ и видимом диапазоне длин волн.
6. Атомно-силовая микроскопия и микроскопия в видимом диапазоне.
7. Методы статистической обработки данных.

Научная новизна полученных результатов.

В настоящей работе впервые проведено комплексное исследование комбинированного действия слабого ЭМИ и ароматических БАС на клетки буккального эпителия человека.

Установлена корреляция между изменениями состояния хроматина и электроотрицательностью клеточных ядер под действием некоторых ДНК-интеркаляторов. Обнаружено концентрационно-зависимое увеличение количества гранул гетерохроматина и снижение электроотрицательности ядер при инкубации клеток буккального эпителия с препаратами от 10 мин до 3 часов.

На непролиферирующих клетках буккального эпителия впервые обнаружен синергетический протекторный эффект при исследовании комбинированного действия электромагнитного излучения с ДНК-интеркаляторами, проявляющийся в уменьшении клеточного отклика, вызываемого электромагнитным излучением и препаратами по-отдельности. Также наблюдался протекторный эффект C_{60} фуллерена и кофеина по отношению к действию электромагнитного излучения.

При исследовании комбинированного действия биологически активных соединений на клетках буккального эпителия обнаружен протекторный эффект кофеина и C_{60} фуллерена по отношению к генотоксическому действию ДНК-интеркаляторов. Данный эффект хорошо описывается в рамках теории интерцепторно-протекторного действия и обусловлен нековалентным комплексообразованием (гетероассоциацией) БАС друг с другом.

Существование протекторного эффекта также подтверждено на пролиферирующей клеточной культуре светящихся бактерий.

Практическое значение полученных результатов. В работе продемонстрирована возможность использования хроматина буккального эпителия человека как достаточно чувствительного объекта для качественной и количественной оценки воздействия ЭМИ и БАС на клеточном уровне. Полученные результаты также указывают на перспективу использования C_{60} фуллерена и кофеина для уменьшения потенциально генотоксического воздействия электромагнитного излучения.

Личный вклад соискателя. Соискателем самостоятельно обрабатывались литературные источники, проведена большая часть экспериментальной работы, выполнен анализ и обобщение результатов, проведена статистическая и математическая обработка данных. Совместно с научным руководителем подготавливались публикации по результатам исследований и выполнялось планирование эксперимента. Постановка методик комплексного исследования состояния ядра и мембраны клеток буккального эпителия человека проводилась совместно с заведующим отделом генетики НИИ Биологии Харьковского национального университета им. В.Н. Каразина д.б.н. Шкорбатовым Ю.Г. Постановка эксперимента по индивидуальному и комбинированному действию биологически активных соединений на биолюминесценцию культуры светящихся бактерий *P. leiognathi* Sh1 проводилась совместно с заведующим кафедрой фармации Крымского государственного медицинского университета д.б.н. Кацевым А.М. Разработка СВЧ части устройства для облучения культуры клеток выполнена доцентом кафедры радиотехники СевНТУ к.т.н. Трушкиным А.Н.

Апробация результатов диссертации. Результаты диссертационной работы были представлены на VII, VIII, IX Международных научно-технических конференциях «Актуальные вопросы биологической физики и химии (БФФХ)» г. Севастополь (2011, 2012, 2013 г.г.); в Материалах Международной научно-методической конференции «Современные проблемы

биофизики сложных систем. Информационно-образовательные процессы» г. Воронеж (Россия) (2013 г.).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 11 работ (из них 3 статьи индексируются в международных наукометрических базах данных).

На защиту выносятся следующие положения:

1. Слабое микроволновое излучение сантиметрового диапазона вызывает статистически-значимый отклик клеток буккального эпителия человека в виде роста количества гранул гетерохроматина и увеличения проницаемости мембран для витального красителя, отражающий изменение функциональной активности клеточного ядра.
2. Введение ароматических ДНК-интеркаляторов (доксорубин, профлавин и бромистый этидий) вызывает конденсацию хроматина и снижение электроотрицательности клеточных ядер.
3. Ароматические ДНК-интеркаляторы (доксорубин, профлавин, бромистый этидий и кофеин) и C_{60} фуллерен проявляют протекторный эффект по отношению к действию слабого микроволнового излучения на хроматин клеток буккального эпителия человека, заключающийся в восстановлении функциональной активности клеточного ядра.
4. Введение C_{60} фуллерена или кофеина совместно с ароматическими ДНК-интеркаляторами позволяет уменьшить эффект, вызванный индивидуальным действием ДНК-интеркаляторов на уровне ядра и хроматина клеток буккального эпителия.
5. Экспериментальные данные изменения числа гранул гетерохроматина как функции концентрации интерцептора (C_{60} фуллерена или кофеина) при введении в клетку ДНК-интеркалятора хорошо описываются в рамках теории интерцепторно-протекторного действия, в основе которой лежит представление о гетероассоциации и конкуренции интеркалятора и интерцептора за места посадки на биорецептор.

Структура и объем работы. Текст диссертации включает введение, 5 глав, выводы, список использованных источников и приложение. Текст диссертации изложен на 203 страницах машинописного текста и включает в себя 44 рисунка и 9 таблиц в основном тексте, и 1 рисунок и 16 таблиц в приложении. Список литературы содержит 287 наименований.

Глава 1. БИОФИЗИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ДЕЙСТВИЯ СЛАБОГО МИКРОВОЛНОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА КЛЕТОЧНОМ УРОВНЕ

Жизнь на земле зародилась и развивалась в условиях природного электромагнитного поля (ЭМП). Сопровождая человечество на всём пути его развития, естественные ЭМП являются условием нормальной жизнедеятельности всех биологических объектов. За последнее столетие это естественное окружение резко изменилось в связи с внедрением огромного и постоянно растущего спектра искусственных ЭМП. Особое внимание следует уделить излучению компьютеров, СВЧ-печи, высоковольтных линий передач, радиолокационных станций, теле- и радиоизлучениям, сотовых телефонам, различному электрооборудованию промышленного производства, бытовым электроприборам и другим техническим средствам, без которых невозможно представить жизнь в современном обществе. Исходя из этого, крайне важно знать, может ли электромагнитное излучение (ЭМИ) искусственного происхождения влиять на состояние живых организмов.

Исходя из моделей, основанных на равновесной термодинамике и тепловых эффектах, данные поля изначально рассматривались как слишком слабые, чтобы взаимодействовать с биологическими системами, а, следовательно, неспособными влиять на их физиологические функции [35]. Несмотря на это существует большое количество свидетельств как положительного, так и отрицательного воздействия ЭМИ на живые организмы. Как следствие, исследования влияния ЭМП на биологические системы различного уровня организации ведутся уже не одно десятилетие и до сих пор являются важным направлением современной биофизики.

1.1. Влияние неионизирующего микроволнового излучения малой интенсивности на клеточные и субклеточные структуры

Одним из наиболее информативных способов выявления механизмов действия ЭМИ на живой объект является изучение вызываемых им эффектов на клеточном и субклеточном уровнях.

Многочисленные лабораторные исследования позволили протестировать спектр электромагнитных полей на предмет биологического воздействия на клеточные и молекулярные структуры, уделяя особое внимание именно нетепловым мощностям излучения. Тем не менее, несмотря на обилие проведенных исследований в данной области, которые будут рассмотрены ниже, механизмы влияния электромагнитных полей на клеточном и молекулярном уровнях остаются малоизученными.

В данном подразделе рассмотрены основные нетепловые эффекты действия неионизирующего ЭМИ на биологические системы клеточного и субклеточного уровней. Особое внимание уделено воздействию микроволнового диапазона на уровне клеток и клеточных органелл. Отдельно проанализированы некоторые наиболее обсуждаемые в настоящее время молекулярные механизмы взаимодействия ЭМП с биосистемами.

1.1.1. Биологические эффекты действия электромагнитного излучения на уровне ДНК и клеточного хроматина

Немногочисленные исследования посвящены воздействию радиочастотного (РЧ) излучения на структуру и функции биологических макромолекул, таких как белки или ДНК. Впервые в 1968 году была выдвинута гипотеза, что поглощенная биополимерами энергия излучения может изменять их структуру и, возможно, биологическую функцию [122].

Начиная с 1980х годов, была проведена серия исследований на выделенной ДНК в растворе, продемонстрировавших частотно-зависимое поглощение ЭМИ плазмидной ДНК или образование разрывов ДНК в растворе,

облученном РЧ ЭМИ [103, 104, 224, 258]. Тем не менее, последующие исследования опровергли данные выводы [119, 124]. Наиболее вероятно, что разрывы ДНК возникли вследствие образования свободных радикалов из-за использования медных электродов и, следовательно, присутствия ионов меди в растворе, но не из-за прямого воздействия ЭМИ [225].

С момента внедрения беспроводных коммуникационных систем возможность того, что РЧ ЭМИ может влиять непосредственно на ДНК, стала предметом многочисленных исследований. Если будет доказано, что воздействие слабого ЭМП может привести к генетическим нарушениям, это, несомненно, будет указывать на потенциальный риск такого излучения для человека.

В эксперименте на бактерии *Escherichia coli* [93] было обнаружено, что количество копий плазмид на клетку не менялось при облучении на частотах 9450 и 2450 МГц в течение часа. Также не было выявлено негативного влияния 900 МГц ЭМИ на изменчивость и репарацию ДНК *E. coli* в работе [47], напротив, в данной работе был обнаружен протекторный эффект, который авторы приписали улучшению эффективности системы репарации. На основе экспериментов на *Salmonella typhimurium* и *E. coli* [77] был сделан вывод, что РЧ излучение на частоте 835 МГц и мощности 4 Вт/кг в течение 48 часов не влияет ни на количество мутаций ДНК, ни на скорость её деградации *in vitro*. Однако группой исследователей кафедры биофизики, радиационной физики и экологии МИФИ под руководством И.Я. Беляева был обнаружен эффект миллиметровых волн (51.64-51.87 ГГц) на конформацию хроматина в *E. coli* с помощью метода аномальной временной зависимости вязкости (АВЗВ) [53].

Серия работ Лаи и Сингха вызвала массу споров и обсуждений в научном сообществе и широкой общественности [155-157, 159, 161, 196]. Авторы провели большое количество исследований *in vitro* с использованием метода геля электрофореза изолированных клеток (метод ДНК-комет) на клетках грызунов и человека. Большинство исследований показали, что микроволновое излучение на частоте 2450 МГц приводило к увеличению количества одно- и

двухцепочечных разрывов ДНК. В работе [197] было продемонстрировано, что различные виды РЧ сигналов (iDEN с частотой 813 МГц и TDMA с частотой 836 МГц и уровнями SAR (англ. аббр.: Specific Absorption Rate - удельный коэффициент поглощения электромагнитного излучения организмом человека) 2.4–26 мВт/кг) в зависимости от уровня SAR приводили либо к увеличению, либо к уменьшению количества повреждений в ДНК Molt-4 Т-лимфобластоидных клеток. Однако, излучение с частотами 847.74 – 813.56 МГц при тех же значениях SAR, что и в предыдущей работе, не приводило к изменению уровня повреждения ДНК и не влияло на индукцию апоптоза в Molt-4 Т-лимфобластоидных клетках в работе [139].

Другие зафиксированные эффекты действия ЭМИ были опубликованы в работах [100, 229, 261]. РЧ воздействие ЭМП (1800 МГц; SAR 1.2 или 2 Вт/кг) в течение 16 ч индуцировало одно- и двунитевые разрывы ДНК [100]. При более длительных временах облучения радиочастотные сигналы с SAR, равным 5 Вт/кг, вызывали повреждения хромосом в лимфоцитах человека. Действие излучений на четырех различных частотах (в диапазоне 837-1909.8 МГц) в течение 24 часов со значением SAR от 5 до 10 Вт/кг привело к существенному и высокоповторяемому увеличению количества лимфоцитов с микроядрами [261]. ЭМП с частотой 1950 МГц, согласно анализу ДНК комет, увеличивали количество повреждений ДНК и частоту центромерно-отрицательных микроядер в культуре фибробластов человека в зависимости от времени и дозы облучения [229]. Однако, экспериментальная методика, используемая для оценки ДНК комет, была подвержена резкой критике. Повторное исследование при 1800 МГц ЭМИ непрерывного или периодического воздействия было частично представлено в работе [253]. Авторы использовали ту же культуру клеток (фибробласты человека ES1), то же оборудование и условия облучения, что и в работе [229], но не обнаружили никакого эффекта. Они также повторили этот эксперимент с клетками китайского хомячка V79, но не обнаружили генотоксического эффекта при анализе результатов метода ДНК-комет и микроядерного теста.

Методом АВЗВ было показано, что ЭМП влияют на изменение конформации хроматина в различных типах клеток, включая лимфоциты человека [49, 51, 52, 125, 190]. Авторы полагают, что, несмотря на то, что результаты работ [155-157, 159, 161] интерпретировались как доказательство возникновения двунитевых разрывов ДНК, другое объяснение, основывающееся на изменении конформации хроматина вследствие отклика на стресс, также вполне возможно [50]. Объясняется это тем, что метод ДНК-комет чувствителен как к двойным разрывам ДНК, так и к релаксации петель ДНК из-за одонитевых разрывов [50, 89], а также разрывов цепи ДНК, имеющих место при транскрипции и репликации [265].

На примере клеток буккального эпителия человека профессором Харьковского национального университета им. В.Н. Каразина Ю.Г. Шкорбатовым и соавторами было продемонстрировано, что микроволновое излучение нетепловой интенсивности приводит к увеличению числа гранул гетерохроматина в ядрах клеток [3, 30, 245, 246]. Также ЭМИ микроволнового диапазона оказывало значительное влияние на электрокинетические свойства клеточных ядер [30, 238, 244, 246]. Авторы связали обнаруженные эффекты с изменением функциональной активности клеточного ядра как реакции на внешнее воздействие в виде ЭМИ.

1.1.2. Биологические эффекты действия электромагнитного излучения на уровне клеточной мембраны

В дополнение к оценке эффектов действия ЭМИ на клеточный хроматин, рассмотренных выше, многочисленные исследования также были обращены к другим проявлениям действия излучения на клеточные функции, которые потенциально могут влиять на развитие заболеваний у людей.

Ряд авторов сходятся во мнении, что значительную роль в рецепции микроволнового излучения играют мембраны. Существуют веские доказательства того что биологические мембраны могут выступать основной мишенью действия миллиметровых волн с частотой в диапазоне 1-80 ГГц [216].

В последние годы такие модели мембран как монослойные фосфолипиды [284], однослойные [87, 217] и монослойные [54] фосфолипидные везикулы, все чаще используются для изучения влияния миллиметровых волн на структуру и функции мембран.

В частности, при облучении на частоте 2.45 ГГц и уровне SAR 5.6 Вт/кг наблюдалось уменьшение активности фермента аскорбатоксидазы, но при этом конформация фермента не изменялась [215]. Авторы предположили, что решающий вклад в выявление этого эффекта внесло взаимодействие ЭМИ с олигосахаридными цепочками фермента. Дальнейшие исследования в этой области при частоте 130 ГГц с использованием фермента карбоангидразы выявили увеличение проницаемости липосом при импульсном воздействии, но только при модуляции 7 Гц, при модуляции 5 или 10 Гц никаких эффектов не наблюдалось [217]. Совсем недавно было показано, что миллиметровое излучение в частотном диапазоне 53-78 ГГц влияет на проницаемость гигантских однослойных везикул для воды при условиях осмотического стресса [87]. Это явление было объяснено частичным обезвоживанием и, как следствие, повышенной жесткостью липидной мембраны [87]. Кроме того, физические изменения в гигантских однослойных везикулах наблюдались при 53.37 ГГц в работе [218]. Полагают, что действие полей на заряды и диполи, расположенные на границе мембрана-вода, является основным фактором, определяющим наблюдаемые изменения в этих везикулах [87, 218]. Эта гипотеза подтверждена результатами анализа методом ^2H -ЯМР спектроскопии воды, связанной с мембранами в многослойных липидных везикулах, облученными при 53-78 ГГц, где наблюдалось увеличение температуры фазового перехода липида из жидко-кристаллического состояния в гель [54].

1.1.3. Биологические эффекты действия электромагнитного излучения на ионные потоки

Одна из важных областей клеточных исследований включает в себя изучение системы клеточных сигналов, как внешних (такие как цитокины,

нейротрансмиттеры и гормоны), так и внутренних, которые могут быть получены, например, путем активации внутриклеточного сигнального каскада.

Ионы кальция Ca^{2+} играют важную роль во внешних и внутренних сигналах в клетке. Внутриклеточный кальций регулирует клеточные белки, участвующие во внутриклеточных сигнальных каскадах и в клеточном гомеостазе [57]. Известно, что кальций также регулирует такие процессы, как клеточное деление, дифференцировку, экзоцитоз и дифференциальную транскрипцию генов. Стимуляция внешними сигналами, к примеру гормонами или нейротрансмиттерами, приводит к внутриклеточной осцилляции Ca^{2+} во многих типах клеток. Они могут распространяться через межклеточные щели и координировать активность группы клеток [57]. Временное увеличение внутриклеточной концентрации ионов калия, т.н. кальциевые «шипы», наиболее выражено в нервных и мышечных клетках и инициирует сокращение клетки.

Ранние исследования, подробно проанализированные в обзоре [36], позволили выявить, что очень низкие уровни ЭМП, слишком слабые для нагрева ткани, увеличивали отток кальция из изолированных полушарий головного мозга. Этот отток оценивался путем измерения движения радиомеченых ионов кальция *in vitro* [58-60, 101, 102] и *in vivo* [34]. Однако, попытки других авторов подтвердить предыдущие результаты не увенчались успехом. В работе [247] при облучении мозга крысы *in vitro* с частотой 1 ГГц, пульсирующей при 16 или 32 Гц, эффекта излучения на отток кальция не наблюдалось. Попытка повторения аналогичного эксперимента на ткани мозга курицы [38], которые были помещены в оксигенированный раствор, а следовательно, оставались жизнеспособными, также не привела к позитивному результату. Таким образом, учитывая противоречивость полученных результатов, надежная их интерпретация, а тем более экстраполяция на организм человека, достаточно проблематичны.

Ранее было показано, что ЭМП низкой интенсивности вызывали прохождение ионов калия и натрия сквозь мембрану эритроцитов по градиенту

концентрации [33]. Схожие эффекты микроволнового облучения наблюдались и в других типах клеток, к примеру в клетках мыши [12] и в бактериях [146]. В работах [238, 244, 249] было показано, что слабое ЭМИ приводит к изменению проницаемости мембран буккального эпителия человека для витальных красителей (индигокармина и трипанового синего), которое является обратимым [192].

Опубликовано несколько сообщений о воздействии РЧ излучения на щелевые контакты. Щелевые контакты представляют собой скопление каналов, образованных белками-коннексинами, посредством которых происходит перенос ионов и небольших молекул между соседними клетками. Дефект в системе межклеточной коммуникации является важным событием в течение многоступенчатого процесса канцерогенеза, и рассматривается в качестве одного из негенотоксичных механизмов канцерогенеза. Таким образом, щелевые контакты могут быть использованы как биомаркер для оценки возможного влияния РЧ излучения на физиологическое состояние биосистемы. Результаты работы [282] показали, что щелевые контакты эпителиальных клеток хрусталика кролика ингибируются в зависимости от дозы РЧ излучения. Тем не менее, в работе [79] подобного эффекта ЭМИ на щелевые контакты выявлено не было.

1.1.4. Влияние электромагнитного излучения на экспрессию генов

Клеточные отклики зависят от производства белков-ферментов, ключевых регуляторов клеточной метаболической активности. Белковые структуры закодированы в ДНК и производятся посредством транскрипции генов в РНК и трансляции мРНК в белок (т.е. генной экспрессии). РЧ излучение может воздействовать на мРНК на уровне транскрипции или на продукцию белка. Большой объем исследований воздействия ЭМИ на экспрессию генов был проведен на клетках млекопитающих, а также на других типах клеток.

Считается, что влияние РЧ ЭМИ на экспрессию генов, связанных с раком (протоонкогенов и генов-супрессоров опухолей) отсутствует или довольно

слабое. В некоторых исследованиях, однако, сообщалось об экспрессии протоонкогена в p53-дефицитных клетках [90] и временном увеличении экспрессии гена *egr-1* [74]. Несмотря на то, что в большинстве работ негативного влияния ЭМИ на экспрессию генов не было обнаружено [78, 132, 185, 277, 278], имеющиеся работы с положительными результатами не должны быть проигнорированы, также как и необходимость дальнейших исследований в этой области.

Многочисленные исследования были посвящены воздействию РЧ ЭМИ на белки стресса, в особенности hsp [96, 97, 99, 154, 172, 182, 226, 260, 275]. Хотя результаты этих работ весьма противоречивы, было получено несколько положительных результатов *in vitro* [99, 182, 260].

В работе [99] облучение раствора альбумина бычьей сыворотки с частотой 3.7 ГГц (15-20 мВт/кг в течение 3-48 часов при температуре от 25 до 45 °С) усиливало агрегацию белка в зависимости от времени и температуры, что свидетельствует о том, что ЭМИ способно изменить конформацию белков без общего нагрева. Позднее [86] было отмечено специфическое влияние излучения при 8.5 ГГц на зеленый флуоресцентный белок. Образцы или облучались ЭМИ или нагревались при помощи резистивного нагрева. В каждом случае нагрев приводил к снижению интенсивности флуоресценции белка, и спектр смещался в красную область. При этом было отмечено, что при одинаковом повышении температуры, наблюдаемое изменение флуоресценции преобладало в облученном образце, что было интерпретировано как нетепловой эффект РЧ излучения.

Группой исследователей [166-168, 188, 189] было отмечено изменение в экспрессии и фосфорилировании белков в двух клеточных линиях, в то время как в работе [283] небольшие изменения, наблюдаемые в другой клеточной линии, объяснены случайным фактором. Таким образом, в настоящее время не определена четкая картина отклика характера экспрессии генов на ЭМИ и имеющиеся данные не позволяют сделать обобщающих выводов.

1.1.5. Влияние электромагнитного излучения на пролиферацию клеток и апоптоз

Некоторые исследования подтверждают возможность негативного влияния РЧ ЭМИ на пролиферацию клеток [75, 76, 281], но также имеются свидетельства и отсутствия данного влияния [85, 187, 255]. В качестве примера приведем следующие результаты.

Ряд работ был посвящен исследованию *in vitro* влияния РЧ излучения при частоте 800-2450 МГц на клеточный апоптоз. Большинство экспериментов на различных клеточных линиях, от дрожжей до эмбриональных стволовых клеток мышей, нейронов крысы, фибробластов и клеток крови человека, привели к выводу, что низкоуровневое РЧ излучение не вызывает апоптоз [76, 143, 177, 187, 226]. Однако в работе [142] обнаружено увеличение апоптоза в нейронах крысы после 24 часового облучения CW-900 МГц с уровнем SAR 2 Вт/кг, в то время как облучение GSM-900 МГц (1 Вт/кг, до 48 часов) не приводило к апоптозу в тех же типах клеток [143].

В целом, рассмотренные выше работы представляют лишь малую часть всех исследований, посвященных нетепловому воздействию РЧ ЭМИ (преимущественно миллиметрового диапазона) на биологические объекты, в частности клетки и органеллы. Однако следует заметить, что большинство результатов экспериментов обладает низкой воспроизводимостью. Одна из причин этому заключается в том, что разные авторы в своих исследованиях используют различные клеточные объекты и разные параметры ЭМИ, что усложняет выявление закономерностей в опубликованном материале. Возможно, зависимость клеточного отклика от некоторых генетических, физиологических и физических параметров может быть причиной противоречий в результатах исследований одного и того же явления, полученных различными авторами.

1.2. Возможные механизмы воздействия электромагнитного излучения на клеточные структуры

Когда ЭМИ взаимодействует с биологическим объектом, наблюдаются эффекты отражения, поглощения, преломления или рассеивания [257]. Для анализа этих процессов используют следующий принцип: только та часть энергии излучения может вызвать изменения в веществе, которая поглощается этим веществом; отраженная или проходящая энергия не оказывает никакого действия (принцип Гротгуса) [98]. Таким образом, для достижения биологического отклика электрическое, магнитное, или электромагнитное поле должно проникнуть внутрь биологической системы и оказать на нее влияние определенным образом. Поглощенная и преломленная энергия РЧ ЭМИ индуцирует электрические и магнитные поля в биологических объектах, которые взаимодействуют с клетками и тканями посредством различных механизмов, в зависимости от частоты, формы и мощности полей, а также энергии, запасенной или поглощенной биологической системой [257].

Для того чтобы ЭМИ привело к ионизации, необходимо определенное количество энергии. Минимальная энергия фотона, ионизирующего воду и атомарный углерод, водород, азот и кислород, составляет примерно 10-25 эВ. Поскольку эти атомы представляют собой основные элементы живых организмов, 10 эВ можно рассматривать как нижний предел для ионизации в биологических системах. Микроволновое излучение обладает энергией порядка 10^{-5} эВ, таким образом, РЧ ЭМИ миллиметрового диапазона рассматривается как неионизирующее [8] и слишком слабое, чтобы причинить значительный ущерб биологическим молекулам, в особенности ДНК, известной её механизмами репарации.

К общим механизмам взаимодействия ЭМИ на молекулярном и клеточном уровне относятся: поляризация связанных зарядов, ориентация постоянных диполей и перемещение носителей свободного заряда [56, 279]. К

примеру, рассеяние энергии может происходить из-за потерь на ориентацию молекулярных диполей (в т.ч. воды) и на индуцированные колебательные и вращательные движения в молекуле [56].

Ниже рассмотрены возможные молекулярные механизмы взаимодействия ЭМП с биологическими объектами.

1.2.1. Индуцированная релаксация заряда и диполей

Полярные молекулы могут смещаться и вращаться в ответ на синусоидальное электрическое поле. Перемещение и вращение затрудняется за счет инерции и сил трения и, таким образом, ориентация полярных молекул не происходит мгновенно, что приводит к зависимому от времени процессу релаксации. Более того, клетки и ткани обладают различными электрическими зарядами. При воздействии ЭМИ, накопление зарядов на поверхности продолжается до тех пор, пока система не достигнет равновесия, что также приведет к явлению релаксации. Многие виды релаксационных процессов протекают в биологических тканях вследствие полярности молекул и мембранных зарядов. Когда диполи распределяются равномерно, соседние диполи «нейтрализуют» заряды друг друга, однако когда диполи расположены хаотично, полной нейтрализации не происходит. Концы диполей создают некомпенсированный заряд на поверхности, эквивалентный связанному заряду в материале. Процесс релаксации, таким образом, можно проиллюстрировать как реакцию связанных зарядов на приложенное электрическое поле [181].

1.2.2. Возможная роль свободных радикалов

Проведенные исследования в миллиметровом диапазоне ЭМИ указывают на возможную роль свободных радикалов [35, 152, 157, 159, 160, 191]. Свободные радикалы могут воздействовать на клетку, повреждая такие макромолекулы, как ДНК, протеины и мембранные липиды. Некоторые работы показали, что действие ЭМП приводит к увеличению активности свободных радикалов в клетках [157, 159, 160, 191], в частности, через реакции Фентона

[159]. Реакция Фентона – это процесс, катализируемый ионами железа, в котором перекись водорода, продукт окислительного дыхания в митохондриях, преобразуется в гидроксильные свободные радикалы, которые являются высокоактивными цитотоксичными молекулами.

В работе [121] рассмотрен детальный молекулярный механизм активации киназного каскада, регулируемого внеклеточными сигналами, а также транскрипции и других клеточных процессов под действием ЭМИ. При облучении происходит быстрая активация митоген-активируемого протеинкиназного каскада и внеклеточной сигнальной киназы. Первый этап проходит непосредственно в плазматической мембране с помощью НАДФ оксидазы, которая генерирует активные формы кислорода, которые, в свою очередь, приводят к активации внеклеточного сигнального каскада.

1.2.3. Белки теплового шока

Все больше и больше данных свидетельствует о существовании конкретного домена, который выполняет роль детектора магнитного поля, присутствующего даже в белках теплового шока [61, 64, 167]. При этом защитная биологическая реакция может быть активирована нетепловым раздражителем при более низком уровне SAR, чем принятые стандарты безопасности [61, 130]. Данному явлению существует убедительное биофизическое доказательство. Специфическая нуклеотидная последовательность ДНК, которая реагирует на ЭМИ, не реагирует на повышение температуры. Когда происходит мутация в чувствительной к ЭМИ последовательности, не наблюдается отклика на ЭМИ. Более того, когда данную последовательность ДНК встраивают в конструкцию, содержащую ген-репортер (CAT или ген фермента люциферазы), ген-репортер активируется под воздействием электромагнитных полей [61, 64, 174].

1.2.4. Электромагнитное поле и электронный перенос

В работах [62, 63] предполагается, что воздействие ЭМП низких уровней оказывает прямое влияние на процессы переноса электронов. Хотя авторы не обсуждают результаты работ в контексте негативного влияния ЭМП на биологические системы, существует вероятность, что ЭМП могут привести к окислительному стрессу.

Что касается влияния ЭМП на биосинтез, также существуют доказательства прямого воздействия ЭМП на перенос электронов в ДНК. ЭМП могут ускорять электроны, движущиеся по основаниям ДНК [39, 91]. Скорость зарядов в Na-, K-АТФазах (103 м/с) подобна скорости переноса электронов в ДНК (400 м/с) [274], следовательно, силы, влияющие на ферментативные реакции при слабых ЭМИ, могут привести к изменениям в ДНК, когда электроны движутся с сопоставимыми скоростями.

Исследования взаимодействия ЭМП с ДНК и другими биохимическими системами позволили сформулировать вероятный механизм, учитывающий многие наблюдаемые нетепловые эффекты [61, 64, 174].

1.2.5. Солитонный механизм

Макконнел [178] отметил, что внедрение белковой нити в искусственный фосфолипидный бислой вызывает когерентное состояние между зарядами на хвостах прилегающих фосфолипидных молекул, приводящее к возникновению энергетических доменов. Результирующее состояние диэлектрической напряженности в липопротеиновых взаимодействиях может определять оптические свойства данных доменов. Как и в оптоволоконных системах, эти оптические свойства могут зависеть от состояния возбуждения мембраны и могут определять стабильность темных солитонов как основных носителей при трансмембранной передаче сигнала [81]. С темными солитонами связывают резкое изменение оптических свойств аксонов, сопровождающее поляризационные токи [263]. Чувствительность бегущих концентрационных

волн реакции Белоусова-Жаботинского к слабым электрическим полям была отмечена в [231] и приписана возможному солитонному явлению.

Большое внимание солитонному эффекту как механизму влияния ЭМП на макромолекулы было уделено в Институте теоретической физики им. Н. Н. Боголюбова НАН Украины Л.С. Брижик и др. [66-69]. В частности, был показан эффект ЭМИ на транспорт заряда в макромолекулах, а также зависимость индуцированного взаимодействия солитона от внешнего поля, рассеяния энергии и симметрии молекулы.

В заключение ещё раз заметим, что, несмотря на то, что существует множество подтверждений биологического отклика на ЭМИ, в силу ограниченности научных знаний и сложности природы данного явления единого мнения о биофизических механизмах взаимодействия волн РЧ и СВЧ диапазона с биологическими объектами не существует.

1.3. Биологическое действие ароматических биологически активных соединений

Биологически активные соединения (БАС) представляют собой важную группу фармацевтических препаратов, нашедших широкое применение в различных областях медицины. Типичными примерами являются антрациклиновые антибиотики (дауномицин, доксорубицин, топотекан, митоксатрон и т.д.), эффективные против солидных опухолей и лейкемии; хинолоновые антибиотики (норфлоксацин, офлоксацин и т.д.), оказывающие широкий спектр антибактериального действия; ароматические витамины (рибофлавин, никотинамид и т.д.), используемые в качестве антиоксидантов в химиотерапии; и многие другие ароматические компоненты, обладающие полезными медико-биологическими свойствами [46, 82].

Практически все ароматические противоопухолевые препараты оказывают побочное токсическое действие при высоких дозах, что

ограничивает их использование в клинической практике. Однако, токсический эффект можно существенно уменьшить, так же как и усилить медикобиологическое действие, при комбинации данных антибиотиков с другими препаратами, к примеру, с другими противоопухолевыми ароматическими антибиотиками (комбинированная химиотерапия) или с витаминами [114].

Многочисленные исследования поведения ароматических молекул в водных растворах показали, что для них характерно стекинг-взаимодействие, приводящее к образованию агрегатов типа «сэндвич», содержащих различное число мономеров (рис. 1.1) [114]. Различают самоассоциацию (взаимодействие одинаковых молекул (рис. 1.1*а*)) и гетероассоциацию (взаимодействие различных молекул (рис. 1.1*б*)) [94].

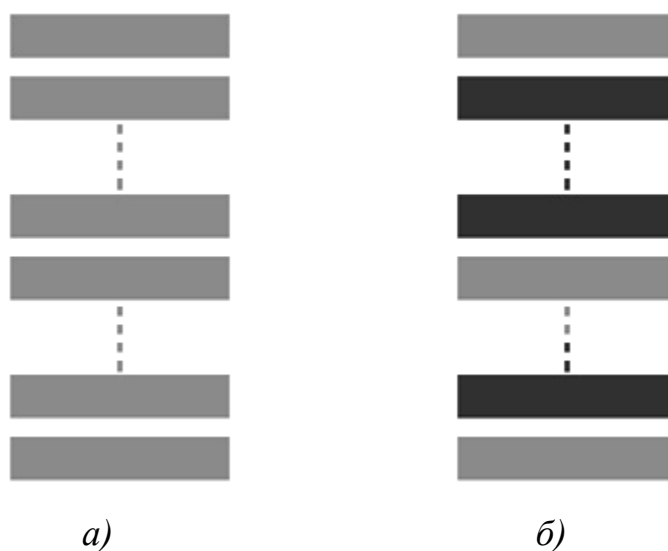


Рисунок 1.1. Самоассоциация (*а*) и гетероассоциация (*б*) ароматических молекул [114]

Несмотря на то, что механизмы биологического действия ароматических БАС до сих пор до конца не изучены, в литературных источниках полагают, что в основе их биологического лежит комплексообразование с ДНК, которое в значительной степени может модулироваться процессами само- и гетероассоциации БАС [114].

1.3.1. Интеркаляционная модель биологического действия ароматических биологически активных соединений

Различают три основных типа нековалентного связывания БАС с ДНК [133, 140]: внешнее электростатическое связывание (рис. 1.2*а*), внешнее связывание с малой или большой канавкой двойной спирали ДНК (рис. 1.2*б*) и интеркаляционное связывание (рис 1.2*в*).

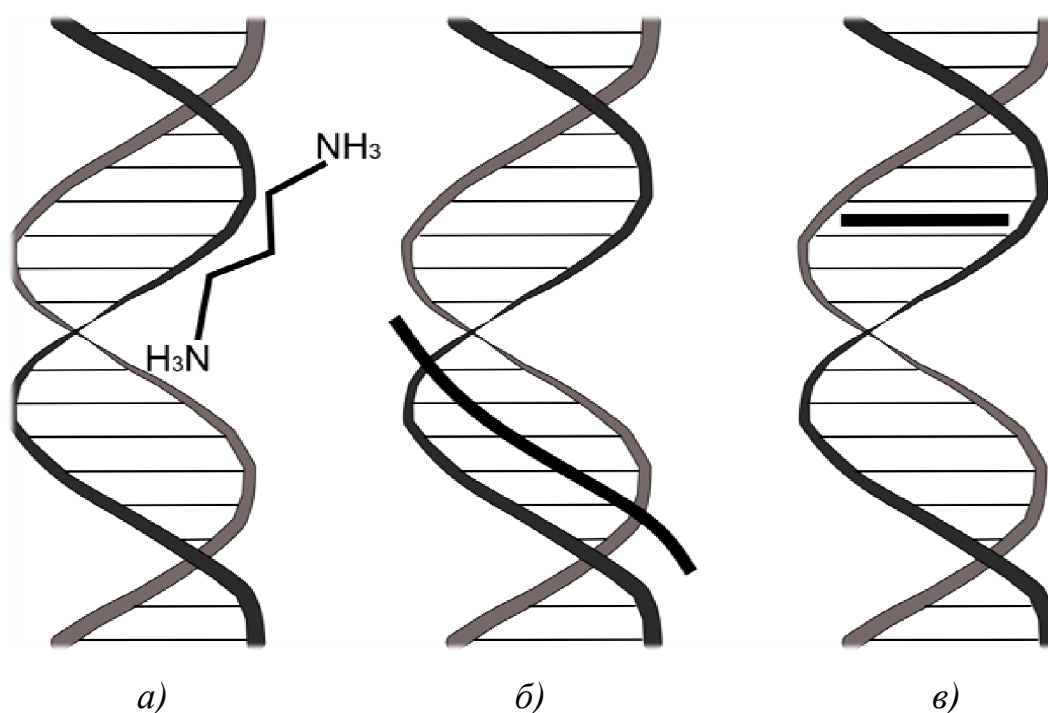


Рисунок 1.2. Модели комплексообразования ароматических молекул с дуплексной формой ДНК [114]. *а*) - внешнее электростатическое связывание, *б*) – внешнее связывание с канавкой, *в*) – интеркаляция между парами оснований

Для большинства ароматических БАС доминирующим типом комплексообразования с ДНК является интеркаляция [55, 133, 211]. В соответствии с интеркаляционной моделью, впервые предложенной Лерманом [165], плоские полициклические хромофоры ароматических молекул размещаются между соседними парами оснований двойной спирали ДНК (рис. 1.2*в*). Плоскость интеркалированной молекулы параллельна плоскости пар оснований ДНК и практически перпендикулярна оси спирали. В формировании данного комплекса основную роль играют электростатические, Ван-дер-

Ваальсовы и гидрофобные взаимодействия, совместно с возможными водородными связями между лигандом и ДНК [55, 133, 165].

1.3.2. Биологические эффекты совместного использования ароматических биологически активных соединений

Ранние исследования показали, что некоторые метилксантины (кофеин, пентоксифиллин и др.) при концентрациях порядка 1 ммоль/л проявляют *in vitro* «протекторный» (защитный) эффект по отношению к клеточной ДНК в присутствии ароматических цитотоксических агентов [223, 266], то есть, они «защищают» целостность ДНК, что приводит к снижению токсичности. При более высоких концентрациях (порядка 10 ммоль/л), кофеин усиливает токсическое действие [219]. На сегодняшний день известно, что одновременно введенный или добавленный сразу после основного лекарственного средства, кофеин уменьшает токсичность противоопухолевых антибиотиков доксорубицина [137, 203, 266], митоксантрона [203, 266], фенотиазиновых [147] и других препаратов [137, 266], так же как и ароматического мутагена бромистого этидия [148]. Было предложено два основных механизма наблюдаемого в клетках эффекта [266]: гетероассоциация кофеина и ароматического антибиотика и конкурентное связывание кофеина с ДНК. Гетероассоциация уменьшает количество мономеров ароматического антибиотика, способных связываться с ДНК, в растворе – этот процесс получил название «интерцепторное» действие кофеина по отношению к ДНК (рис. 1.3а) [95, 162, 203, 266]. Комплексообразование кофеина с ДНК частично вытесняет молекулы антибиотика, обычно связанных с ДНК, таким образом, уменьшая долю комплексов «Антибиотик - ДНК» - данный процесс получил название «протекторное» действие кофеина по отношению к ДНК (рис. 1.3б) [95]. В обоих случаях доля комплексов «Антибиотик - ДНК» уменьшается в присутствии кофеина и, как следствие, так же меняется и биологическая активность лекарственного препарата. Данный эффект потенциально может быть использован в качестве стратегии регуляции медико-биологической

активности ароматических препаратов в клинической практике, к примеру, для уменьшения последствий передозировки лекарств во время химиотерапии или для производства антимуtagenного эффекта *in vivo* [107, 203], регуляции уровня деградации препарата [106, 109] и оптимизации их растворимости [108].

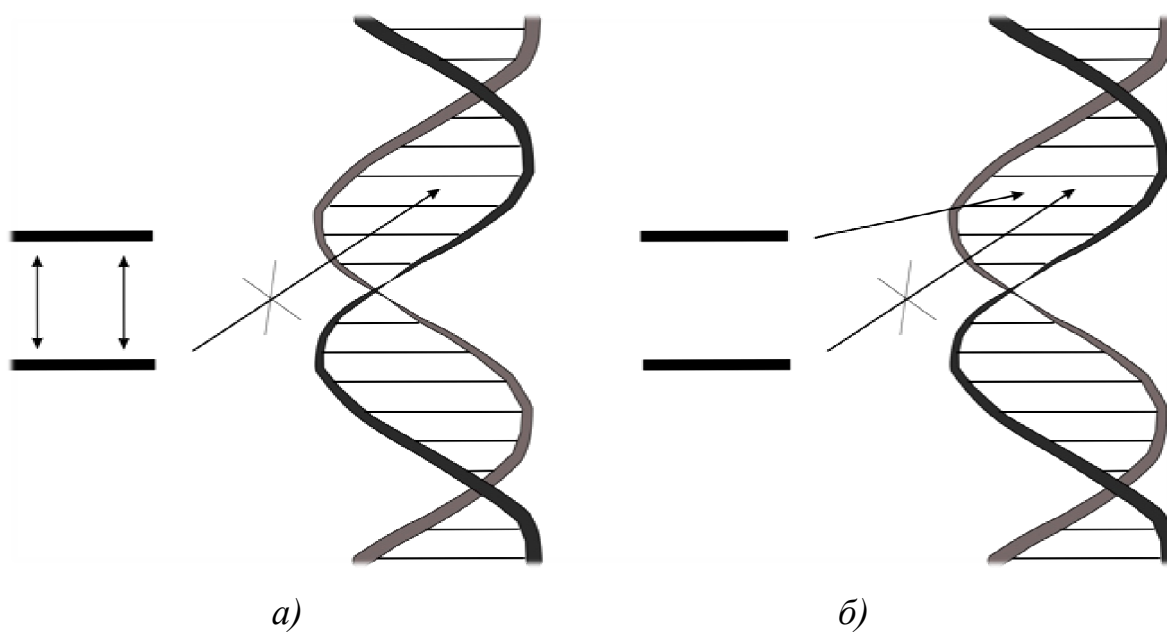


Рисунок 1.3. Схематическое представление интерцепторного (а) и протекторного (б) механизма

Важность интерцепторного механизма была подтверждена многочисленными исследованиями комплексообразования различных ароматических антибиотиков с кофеином и его производными [71, 95, 106, 108-111, 113, 114, 137, 162, 201, 203, 266] и теперь может рассматриваться как общепринятое мнение.

Интерцепторно-протекторный подход был разработан в работах [71, 95, 107, 110, 113, 114, 116] где в итоге был разделен вклад интерцепторного и протекторного механизма в интегральном эффекте вытеснения антибиотика из ДНК. Более того, данные работы продемонстрировали возможность количественной оценки изменений биологического эффекта *in vitro* в системах «Антибиотик - Метилксатин» [110, 114, 116] на основании известных параметров межмолекулярного взаимодействия компонентов смеси. К

сожалению, прямое экспериментальное измерение вклада данных механизмов в настоящее время невозможно, однако, недавние исследования [71] показали, что исключение протекторного механизма из рассмотрения приводит к недооценке экспериментально наблюдаемого молярного поглощения в трехкомпонентной системе «Препарат-Интерцептор-ДНК».

Важно отметить, что молекулярный механизм действия метилксантина, упомянутый выше, так же как и эффекты цитотоксичности, были выявлены именно для группы ароматических интеркаляторов и, в большинстве случаев, не наблюдались для неароматических соединений.

Аналогичные механизмы интерцепторно-протекторного действия в настоящее время также рассматриваются и для других ароматических интерцепторов: витамина В₂ и хлорофиллина [96, 112, 199]. Важно также отметить выявленный недавно на *in vivo* и *in vitro* уровнях протекторный эффект фуллерена С₆₀ по отношению к цитотоксическому действию ароматического антибиотика доксорубина [111, 208], интерпретируемый в терминах интерцепторного механизма действия.

В целом, следует отметить, что представление об интерцепторно-протекторном механизме действия в настоящее время успешно применяется для описания данных биологического эксперимента *in vitro* [71, 107, 110, 113, 116] и теория интерцепторно-протекторного действия остается единственной теорией, позволяющей дать качественное описание биологических данных.

1.4. Комбинированное воздействие электромагнитного излучения и биологически активных соединений на живые организмы.

Возможное взаимодействие ЭМИ микроволнового диапазона с химическими соединениями, в том числе и с БАС, представляет интерес для исследователей по нескольким причинам: из-за возрастающей опасности для здоровья населения, связанной со сложившейся на данный момент сложной

химической атмосферой с постоянно возрастающей интенсивностью РЧ излучения; из-за потенциального использования комбинированного воздействия лекарственных препаратов и ЭМИ в противораковой терапии, а также риска данного подхода для здоровых клеток [84]. Более того, если будет доказано, что слабые ЭМП могут изменять (усиливать или уменьшать) действие лекарственных препаратов, это откроет новые горизонты как в изучении механизмов нетеплового действия ЭМИ, так и в применении слабых ЭМП в лекарственной терапии.

Начиная с 70х годов, большое внимание было уделено исследованию комбинированного влияния микроволнового излучения и лекарственных веществ на нервную систему. Нервную систему относят к наиболее чувствительной к воздействию ЭМП из-за её огромной биоэлектрической активности. Как следствие, особый интерес вызвал возможный синергетический эффект ЭМИ и психоактивных веществ.

В 70х годах в работах [73, 128, 230, 276] был впервые обнаружен эффект комбинированного воздействия препаратов на мышей, крыс и кроликов, облученных микроволновым ЭМИ. Во всех работах наблюдалось увеличение эффективности препарата под воздействием ЭМИ. Авторы пришли к выводу, что эффект препаратов можно регулировать путем кратковременного воздействия низкоинтенсивного микроволнового излучения, даже если ЭМП само по себе не оказывает видимого воздействия на биологический объект.

В работах [120, 158] также был продемонстрирован эффект микроволнового излучения низкой плотности потока мощности, проявившийся в увеличении эффективности действия препаратов налоксона, хлордиазепоксида и галоперидола на крыс. Авторы полагают, что данный эффект наблюдается вследствие передачи энергии ЭМИ допамин-опиатной системе мозга.

Очередное свидетельство усиления медико-биологического действия лекарственных препаратов продемонстрировано в работе [40]. При введении крысам антихолинэстеразных препаратов и облучении в течение 10 минут было

показано статистически значимое уменьшение температуры тела по сравнению с различными контрольными группами. Повышение гипотермии в присутствии микроволнового облучения наблюдалось также при введении крысам другого мощного ингибитора ацетилхолинэстеразы.

В отличие от тепловых уровней воздействий, где эффект ЭМИ может проявляться в увеличении проницаемости кровезолевого барьера [92, 141, 212], механизм влияния слабых ЭМП на действие психоактивных препаратов пока остается невыясненным.

Группой ученых из Института микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины был проведен ряд экспериментов на клетках различных культур дрожжей [204, 271, 272]. Изучение биологических эффектов излучения при действии стрессового фактора в виде фунгицидных антибиотиков позволило авторам выявить протекторный характер влияния слабого ЭМИ, который проявляется в повышении устойчивости микроорганизмов к действию антибиотиков при предварительном облучении. Авторы полагают, что ЭМИ приводит к активации основных внутриклеточных метаболических путей, которые ответственны за сохранение целостности биологической системы в присутствии неблагоприятных деструктивных факторов внешней среды. Подобная защитная роль слабого ЭМИ разных диапазонов частот описана в ряде работ, к примеру [23, 184].

При этом, в клетках дрожжей *S. cerevisiae* [131] не наблюдалось изменений в мутациях, рекомбинациях или геномной стабильности в присутствии неароматического мутагена метилметансульфоната в зависимости от наличия ЭМИ мобильного телефона.

Особое внимание следует уделить комбинированному воздействию слабого ЭМИ с ароматическими БАС, а именно с ДНК-интеркаляторами. Данное направление, помимо применения в лекарственной терапии, при положительных результатах может в очередной раз подтвердить гипотезу о возможности воздействия ЭМИ непосредственно на ДНК [196].

Вклад ЭМИ в повреждение ДНК, индуцированного доксорубицином, и кинетику её восстановления был рассмотрен в работе [287]. Результаты данного исследования *in vitro* на В-лимфобластоидных клетках человека показали, что ЭМИ на частоте 1.8 ГГц непосредственно не вызывало повреждения ДНК, однако могло в некоторой степени влиять на процессы репарации повреждений ДНК, вызванных доксорубицином. Это может быть связано с воздействием ЭМИ на процесс эксцизионной репарации ДНК путем удаления нуклеотидов, однако эта гипотеза требует дальнейшего экспериментального подтверждения.

Тем не менее, при исследовании возможного взаимодействия ЭМИ миллиметрового диапазона с доксорубицином в работе [84] подобного эффекта обнаружено не было. Клетки китайского хомячка подвергались экспозиции доксорубицина и ЭМИ с частотой 2.45 ГГц в течение 2х часов. Было подтверждено, что ЭМИ не оказывало значимого влияния на изменение состояния клеток, вызванного действием антибиотика.

Также не было выявлено синергизма во взаимном действии микроволнового излучения (2.45 ГГц) и ароматического мутагена профлавина в серии экспериментов на лейкемических клетках мышей [180].

В работе Ушакова в соавторстве с Беляевым [269] был исследован комбинированный эффект бромистого этидия (1 мг/мл) и микроволнового излучения круговой поляризации на хроматин клеток методом АВЗВ. При облучении без бромистого этидия левополяризованное излучение приводило к изменениям в конформации хроматина *E.coli*, в то время как правополяризованное не вызывало никаких видимых изменений. При инкубации клеток с бромистым этидием, ситуация менялась на противоположную: правополяризованное ЭМИ становилось более эффективным, чем левополяризованное. Эти данные свидетельствуют о том, что для резонансного взаимодействия с ЭМИ объект воздействия должен обладать хиральной асимметрией и переключаться между правой и левой хиральными формами. ДНК удовлетворяет этим условиям. Известно, что бромистый этидий расслабляет отрицательно закрученные петли ДНК и

стабилизирует правозакрученную В-форму ДНК [273]. Этому факту хорошо соответствует то, что культивирование клеток с бромистым этидием приводило к значительному возрастанию эффекта правополяризованного излучения. В то же время, левополяризованное ЭМИ также вносило небольшой вклад в наблюдаемый эффект. Возможно, бромистый этидий стабилизирует не все последовательности ДНК, ответственные за взаимодействие В-формы с микроволновым излучением.

В целом, существующие немногочисленные данные о комбинированном взаимодействии БАС и ЭМИ достаточно противоречивы. Как видно из данного подраздела, наблюдаемый эффект может зависеть как от выбора биологического объекта исследования, так и от условий облучения ЭМИ. Как следствие, выявить общую картину и механизм их взаимодействия в настоящее время пока ещё не представляется возможным.

1.5. Заключение

В целом, в данной главе были рассмотрены основные нетепловые эффекты действия неионизирующего ЭМИ на биологические системы клеточного и субклеточного уровней, в частности на уровне ДНК и хроматина, клеточной мембраны, ионных потоков и экспрессии генов, а также влияние ЭМИ на пролиферацию клеток и апоптоз. Также были обсуждены основные молекулярные механизмы взаимодействия ЭМП с биологическими объектами. Сделан вывод о том, что в силу ограниченности научных знаний и сложности природы данного явления единого мнения о биофизических механизмах взаимодействия волн РЧ-СВЧ диапазона с биологическими объектами, которое могло бы обеспечить прогностическую основу для определения благоприятных и вредных эффектов ЭМИ, на настоящий момент не существует.

Особое внимание также было уделено механизмам биологического действия ароматических БАС на молекулярном уровне. Рассмотрены основные представления теории интерцепторного и протекторного механизма действия

ароматических БАС по отношению к ДНК, которая дает возможность количественного описания данных биологического эксперимента *in vitro* на основании известных параметров межмолекулярного взаимодействия в трехкомпонентной смеси Препарат-Интерцептор-ДНК.

Последний подраздел был посвящен комбинированному воздействию ЭМИ и БАС на живые организмы. Данное направление представляет большой интерес для исследователей из-за потенциального использования слабых ЭМП в лекарственной терапии. Однако существующие на данный момент немногочисленные данные о комбинированном взаимодействии БАС и ЭМИ достаточно противоречивы, и определить конкретные механизмы их взаимодействия пока ещё не представляется возможным.

Для выявления конкретного механизма и более глубокого понимания общей картины взаимодействия слабых ЭМП и ароматических БАС, как по отдельности, так при совместном использовании, необходимы дальнейшие исследования в данной области. Использование клеточных линий в качестве объекта подобного исследования обусловлено рядом преимуществ [105]. Дозу излучения или исследуемого вещества, получаемого клетками, можно измерять и контролировать с достаточно высокой точностью. Результаты экспериментов на клеточной линии позволяют проводить количественную и качественную оценку зависимости «доза - эффект». Таким образом, исследования на культурах клеток может обеспечить необходимой информацией для оценки потенциального воздействия различных внешних факторов, в том числе слабых ЭМП и ароматических БАС.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Объекты экспериментальных исследований

2.1.1. Клетки буккального эпителия человека

Клетки буккального эпителия являются удобным объектом для оценки функционального состояния организма [262], влияния факторов окружающей среды – пестицидов, выхлопных газов автомобилей [144, 175, 193], химиотерапии [264], курения и алкоголя [213]. Они достаточно крупные, с большими ядрами (порядка 10 мкм в диаметре), которые обычно занимают в клетках центральное положение и легко отделяются от внутренней поверхности щеки. Клетки буккального эпителия остаются жизнеспособными и после переноса в специальный физиологический раствор. К тому же для наблюдения за их ядрами не требуется никакой сложной, дорогостоящей аппаратуры - достаточно обычного микроскопа с 400-кратным увеличением (рис. 2.1). Кроме того, процесс изъятия клеток буккального эпителия совсем бескровный и безболезненный, не связан с риском заражения и не требует сложной аппаратуры [32].

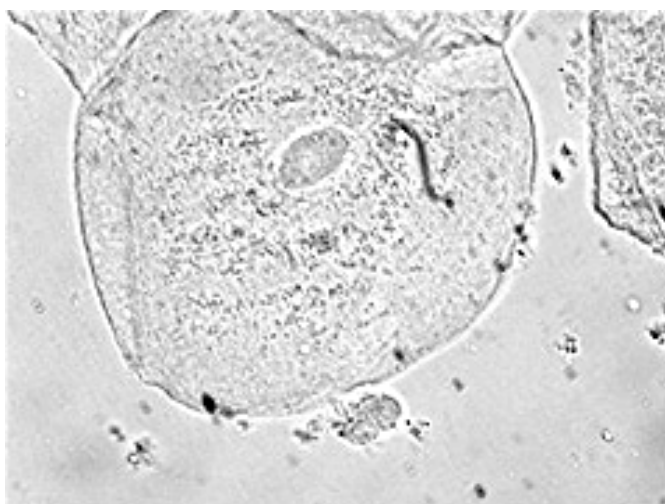


Рисунок 2.1. Клетка буккального эпителия человека (увеличение 400)

Согласно схеме построения слоев буккального эпителия, предложенной А.Н. Захаровым, можно выделить три слоя клеток: базальный слой, граничащий с базальной мембраной, средний слой и верхний слой клеток [13].

Согласно классификации, предложенной В.Л. Быковым, в буккальном эпителии можно выделить четыре слоя клеток: базальный, шиповатый, зернистый, роговой [5].

Базальный слой состоит из эпителиоцитов призматической формы, располагающихся на базальной мембране. Среди них имеются стволовые клетки, способные к митотическому делению. За счет вновь образованных клеток, вступающих в дифференцировку, происходит смена эпителиоцитов вышележащих слоев эпителия.

Шиповатый слой состоит из клеток неправильной многоугольной формы. В базальном и шиповатом слоях в эпителиоцитах хорошо развиты тонофибриллы (пучки тонофиламент), а между эпителиоцитами — десмосомы и другие виды контактов. Верхние слои эпителия образованы плоскими клетками. Заканчивая свой жизненный цикл, они отмирают и отпадают с поверхности эпителия.

В соскобах наблюдаются клетки буккального эпителия четырех типов [32]:

1. Клетки с ядром округлой формы - наиболее молодые, близкие к базальному слою эпителия.
2. Клетки с овальным ядром, в которых уже начинаются процессы снижения содержания РНК и белка.
3. Клетки с палочковидным ядром, у которых наблюдается резкое снижение содержания нуклеиновых кислот, белка и деградация хроматина.
4. Клетки с пикнотичным ядром.

Все исследования в данной работе проводились только на клетках первых двух типов по этой классификации.

Клетки буккального эпителия используют в медицинских и биологических исследованиях. К примеру, в работе [4] установлены изменения

в содержании ДНК в ядрах клеток буккального эпителия в норме и при заболевании пародонтитом. Также отмечены возрастные изменения в морфологии клеток буккального эпителия, в частности, у пожилых людей отмечено повышение количества безъядерных клеток [6].

Клетки буккального эпителия используют также как модельный объект в исследованиях влияния лекарственных веществ [65]. Эпителий внутренней поверхности щеки является первым барьером в ингаляционном или пероральном маршруте и способен метаболизировать препараты химической природы, в том числе и канцерогены [42, 254]. Как следствие, большое количество работ на клетках буккального эпителия посвящено изучению механизмов канцерогенеза [4, 7, 220]. Также было показано, что в клетках буккального эпителия экспрессируются те же гены белков - супрессоров опухолей, что и в других типах клеток [88].

Сбор клеток буккального эпителия человека позволяет получать ДНК для генетических исследований неинвазивным методом [164]. При этом получаемая ДНК вполне пригодна для генотипирования [286]. Так, в одной из работ [267] было установлено, что ДНК из клеток буккального эпителия является удобным объектом для исследования больших фрагментов ДНК методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Результаты данной работы свидетельствуют о том, что клетки буккального эпителия могут стать предпочтительным источником ДНК для генного анализа.

Огромная работа по исследованию воздействия различных экзогенных и эндогенных факторов на функциональное состояние клеток буккального эпителия человека была проведена сотрудниками Харьковского национального университета им. В.Н. Каразина под руководством Ю.Г. Шкорбатова.

Этими авторами было показано, что микроволновое излучение может вызывать переходы из эухроматина в гетерохроматин, т.е. увеличение количества гранул гетерохроматина в ядрах клеток человека [3, 30, 32, 234, 237, 243, 245, 246]. Более того, это явление связано с поляризацией электромагнитной волны [243]. Хроматин представляет собой комплекс ДНК с

белками в интерфазном ядре, который формирует хромосомы в фазе деления клеток. Различают эухроматин, содержащий в основном транскрипционно активные участки хроматина, и компактно упакованный неактивный гетерохроматин. Переход из эухроматина в гетерохроматин и наоборот является структурным представлением изменения активности хроматина. Таким образом, конденсацию хроматина (гетерохроматинизацию) связывают со снижением функциональной активности хроматина [169, 259].

Электрокинетические свойства клеточных ядер также тесно связаны с процессами регуляции и функциональной активности клеток. Для исследования этого параметра на кафедре генетики и цитологии Харьковского национального университета был разработан метод внутриклеточного микроэлектрофореза. Изменение электроотрицательности ядер клеток буккального эпителия человека было выявлено в работах [30, 235, 238, 241, 244, 246].

Также было продемонстрировано, что слабое ЭМИ миллиметрового диапазона, а также магнитное поле отдельно приводило к увеличению проницаемости мембран клеток буккального эпителия для витальных красителей индигокармина и трипанового синего [29, 30, 238, 244, 249]. Явление восстановления клеточных ядер и мембран после ЭМИ исследовалось в работах [192, 233, 234].

Более того, помимо влияния ЭМИ на функциональное состояние клеток буккального эпителия, данной группой ученых были исследованы и другие факторы, такие как возраст, состояние здоровья и физические нагрузки [28, 232, 236, 242], действие гормонов и ингибиторов биосинтеза [240] и влияние различной температуры культивирования [11].

Таким образом, клетки буккального эпителия являются удобным экспериментальным материалом и широко используются в современных биологических и медицинских исследованиях *in vivo* и *in vitro*.

В данной работе эксперименты проводились на краткосрочной культуре клеток буккального эпителия человека. Соскоб клеток делался с внутренней поверхности щеки донора с помощью тупого стерильного шпателя. Данная

процедура является абсолютно бескровной и безболезненной, и все доноры были заранее проинформированы о целях исследования.

Клетки помещались в 3.03 ммоль/л фосфатный буфер (pH = 7.0) с добавлением 2.89 ммоль/л хлорида кальция. Ранее было показано, что при нахождении клеток в растворе такого состава в течение 24 часов, не наблюдается видимых изменений структуры ядра и клеточной мембраны [27, 246]. Более того, данный раствор является удобным для исследования клеток методом внутриклеточного микроэлектрофореза, так как за время исследования (5 мин) никаких видимых повреждений в клетках не наблюдалось, в то время как в более концентрированных солевых растворах и средах для культивирования клеток [24] исследование клеток методом микроэлектрофореза было невозможно, поскольку клетки повреждались электрическим током.

Затем в течение нескольких часов после изъятия, клетки подвергались экспозиции в соответствии с условиями эксперимента. Было отмечено, что в течение всего времени эксперимента у клеток не наблюдалось видимых изменений структуры ядра и клеточной мембраны, а также показателей электроотрицательности клеточных ядер и состояния хроматина.

2.1.2. Культура люминесцентных бактерий *P. leiognathi*

Исследования биолюминесценции Мирового океана показали, что люминесцентные бактерии являются самыми многочисленными одноклеточными обитателями морских вод. Биолюминесценция – это одна из форм хемилюминесцентной реакции, финальным продуктом которой является видимый свет [135].

P. leiognathi – это грамотрицательная бактерия, по форме клетки относимая к *coccobacillus*. *P. leiognathi* могут содержать 1-3 полярных жгутика, но некоторые клетки, находящиеся в симбиозе с рыбой оказывались неподвижными. Индивидуальные клетки не содержат пигментацию и выглядят белыми или бесцветными. Однако когда бактерии образуют колонии, они

проявляют люминесцентные свойства, испуская голубовато-зеленый свет (~490 нм) [134]. Люминесценция имеет место только тогда, когда бактерия находится в колонии, поскольку для активизации гена *lux*, кодирующего люциферазу, необходима высокая концентрация аутоиндуктора [186]. Считается, что *P. leiognathi*, как и многие другие фотобактерии, использует механизм реакций кворум-сенсинга для определения необходимой концентрации аутоиндуцированного фермента и инициации производства люциферазы [123].



Люцифераза (флавинмонооксигеназа) бактерий катализирует реакцию окисления длинноцепочечных алифатических альдегидов (RCHO) до соответствующих жирных кислот (RCOOH) с испусканием кванта света [252].

P. leiognathi – факультативный анаэроб, то есть бактерия может выполнять ферментацию в отсутствие кислорода и дыхательную метаболическую функцию при наличии кислорода. Как и другие фотобактерии, *P. leiognathi* предпочитает кислородную среду, так как кислород играет ключевую роль в люминесценции [123, 163].

Светящиеся бактерии используются во всем мире для быстрой оценки токсичности водных сред, таких как сточные воды предприятий, питьевая и морская вода и т.п. Это связано с тем, что биолюминесценция является интегральным показателем метаболизма бактериальной клетки. Большое количество физических, химических и биологических факторов, влияющих на рост и дыхание клетки, синтез белков и липидов, функционирование клеточной мембраны и генов семейства *lux* влияют на бактериальную биолюминесценцию и могут быть измерены посредством её регистрации [268].

В экспериментах использовались бактерии *P. leiognathi* Sh1 из коллекции Крымского государственного медицинского университета, выделенные из

Азовского моря. До высевания на питательную среду музейная культура хранилась на полужидком агаре под вазелиновым маслом.

2.2. Метод определения состояния хроматина в клетках буккального эпителия человека

Как отмечалось выше, функциональное состояние клеточных ядер напрямую зависит от структурных переходов из гетерохроматина в эухроматин. Исследования процесса гетерохроматинизации позволяет оценить изменения функциональной активности клеточного ядра [259].

Для оценки состояния хроматина профессором Харьковского национального университета Шкорбатовым Ю.Г. был предложен единый параметр – количество гранул гетерохроматина (КГГ) [239]. Повышение величины КГГ свидетельствует о повышении степени гетерохроматизации и, следовательно, об уменьшении транскрипционной активности в ядрах [259].

Оценку параметра КГГ проводили с помощью метода, подробно описанного в работах [239, 243]. Облученные клетки и контрольный образец были окрашены 2% раствором орсеина в 45% уксусной кислоте в течение 20 мин. Ядра клеток были визуально изучены под микроскопом MICROmed XS-3330 с увеличением 1000 (рис. 2.2). В каждом образце параметр КГГ был определен для 30 случайных клеток. Ранее [243] было показано, что этот показатель является близким к оптимальному, т.е. дальнейшее увеличение количества проанализированных ядер не приводит к значительному уменьшению стандартной ошибки, но существенно замедляет процесс анализа.

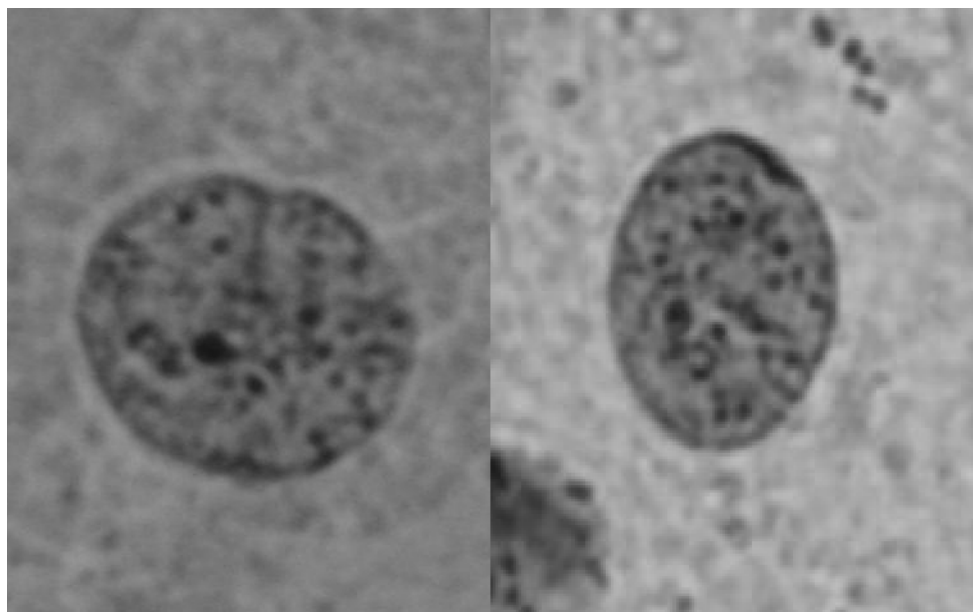


Рисунок 2.2. Ядра буккального эпителия человека, окрашенные орсеином, до (слева) и после (справа) облучения мобильным телефоном (микроскоп MICROmed XS-3330, увеличение 1000)

2.3. Метод внутриклеточного электрофореза клеточных ядер

2.3.1. Установка для проведения микроэлектрофореза

Для того чтобы получить возможность изучать состояние неповрежденного ядра в живой клетке, на кафедре генетики и цитологии ХНУ В.Г. Шахбазовым и Г.С. Лобынцевой был разработан метод внутриклеточного микроэлектрофореза клеточных ядер [26]. На базе данного метода в рамках данной работы была разработана установка (рис. 2.3), позволяющая исследовать клеточный отклик на внешние факторы, проявляющийся в изменении электроотрицательности клеточных ядер.

Установка для микроэлектрофореза состоит из микроскопа со встроенным регулируемым источником питания, USB видеокамеры Apex Minigrab с разрешением до 2 мегапикселей, регулятора тока и полярности, камеры для микроэлектрофореза с платиновыми электродами, и компьютера для контроля напряжения, сбора и дальнейшей обработки данных.

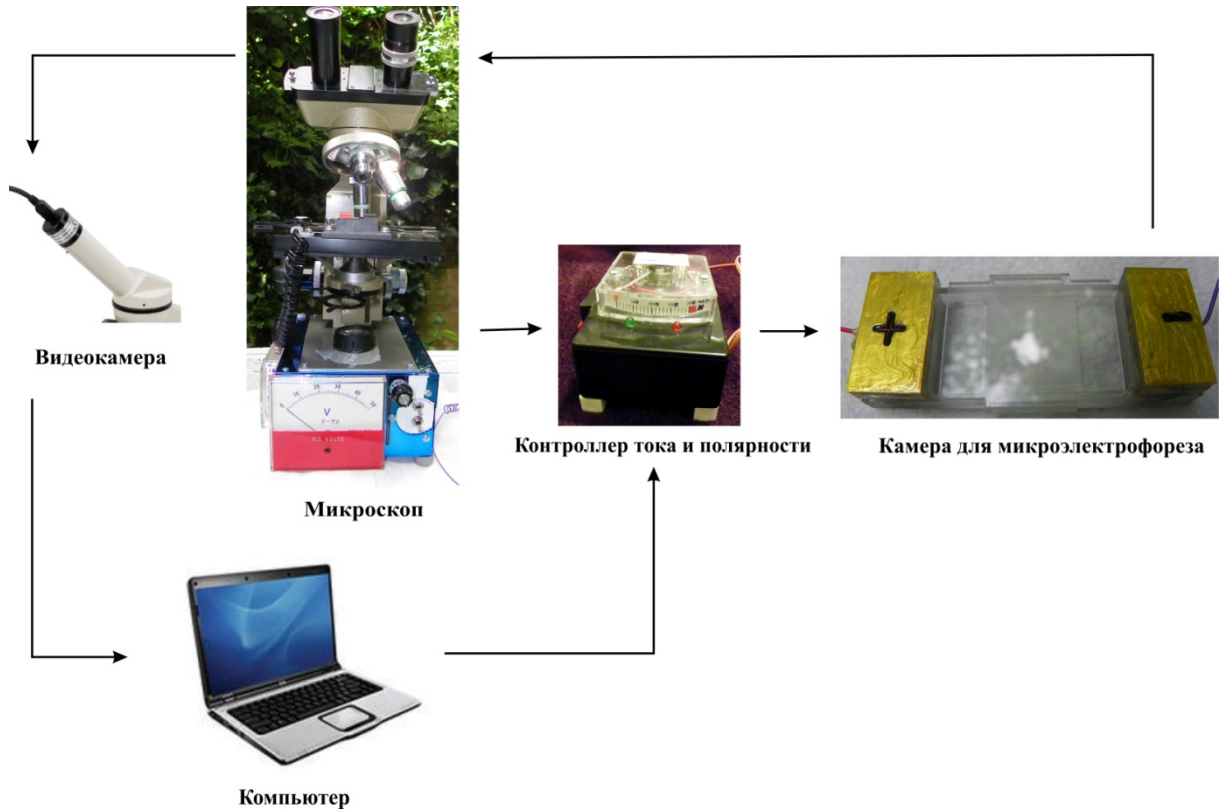


Рисунок 2.3. Установка для проведения микроэлектрофореза

В данной установке используется стандартный микроскоп с регулируемой кратностью увеличения и возможность подключения USB-камеры для получения снимков образцов. В микроскоп встроен источник питания. На лицевой панели находятся вольтметр, переменный резистор для установки значения напряжения, тумблер включения и выключения питания электрофореза и тумблер включения и выключения источника света, состоящего из семи светодиодов (рис. 2.4).

В качестве источника питания для электрофореза используется трансформатор с последующей стабилизацией напряжения (стабилизатор LM317). Для контроля значения силы тока и его полярности, используется драйвер питания RKL298, который управляется микроконтроллером Arduino Nano подключаемый по miniUSB. В специальной программе *Electrophoresis*, разработанной в рамках данной работы, задается значение силы тока, его амплитуда, частота и модуляция.

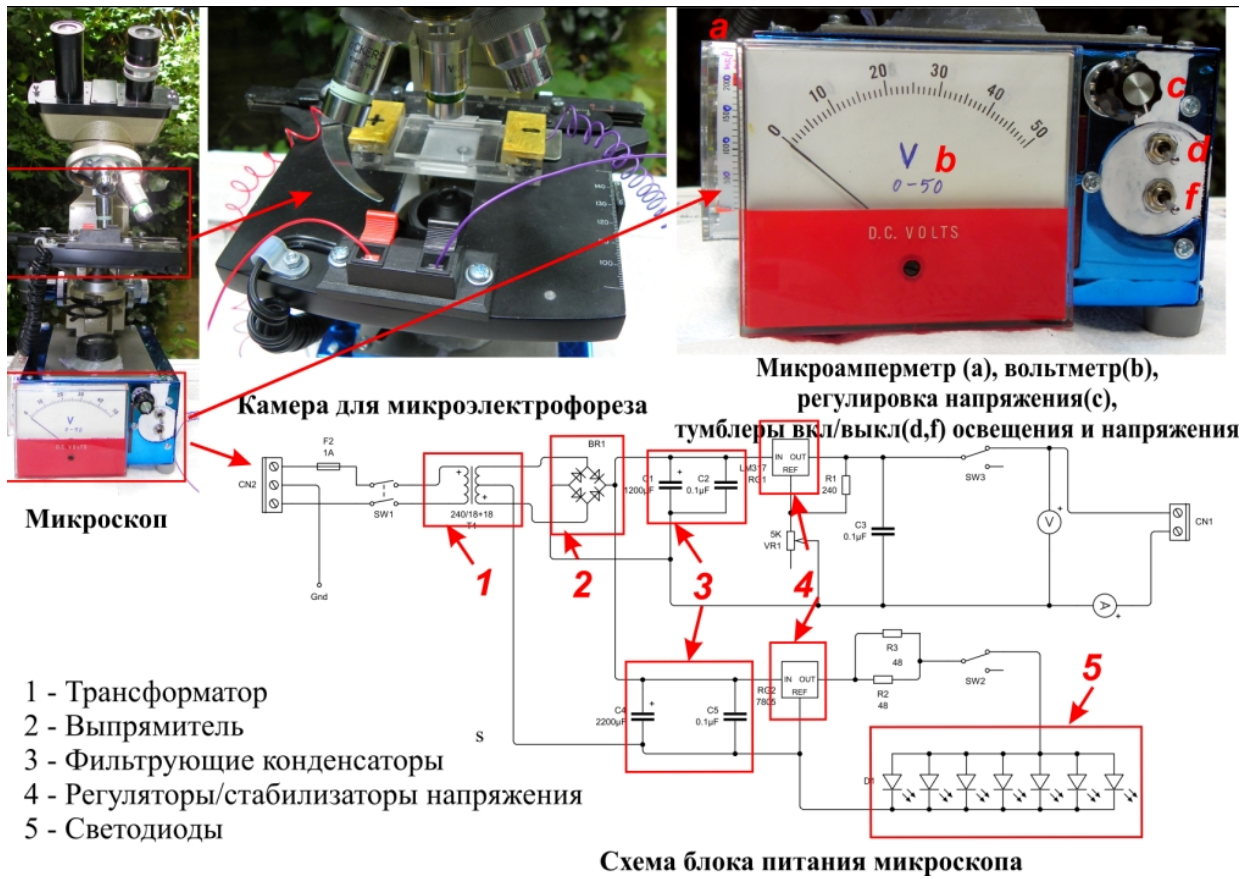


Рисунок 2.4. Общий внешний вид микроскопа и схема блока питания

Камера для электрофореза состоит из рабочей области, в которую помещается исследуемый образец. К платиновым электродам подключаются провода, по которым подается питание (рис. 2.5).

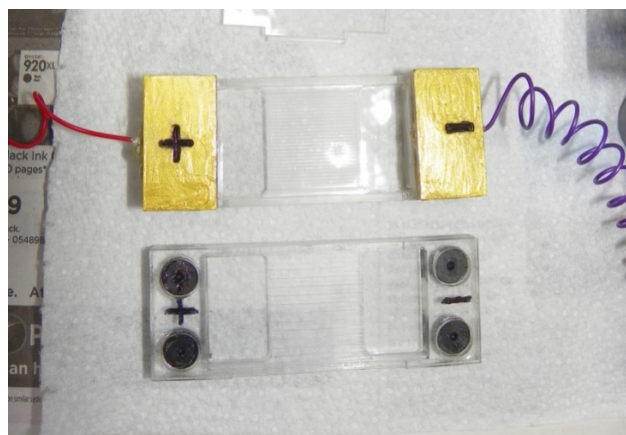


Рисунок 2.5. Внешний вид камеры для микроэлектрофореза

Платиновые электроды подключаются к регулятору тока и полярности, управляемому посредством программы, который преобразует постоянный ток в переменный с заданной формой, амплитудой и частотой.

На рис. 2.6 и 2.7 приведен внешний вид программы *Electrophoresis*. В специальном поле (рис. 2.6а) задаются настройки USB – камеры. Затем можно задать имя рабочей папки и конкретного образца (рис. 2.6б). Подключение контроллера тока и полярности производится с помощью кнопки *connect* (рис. 2.6в), на черном экране при этом должна высветиться надпись *Microelectrophoresis unit*.

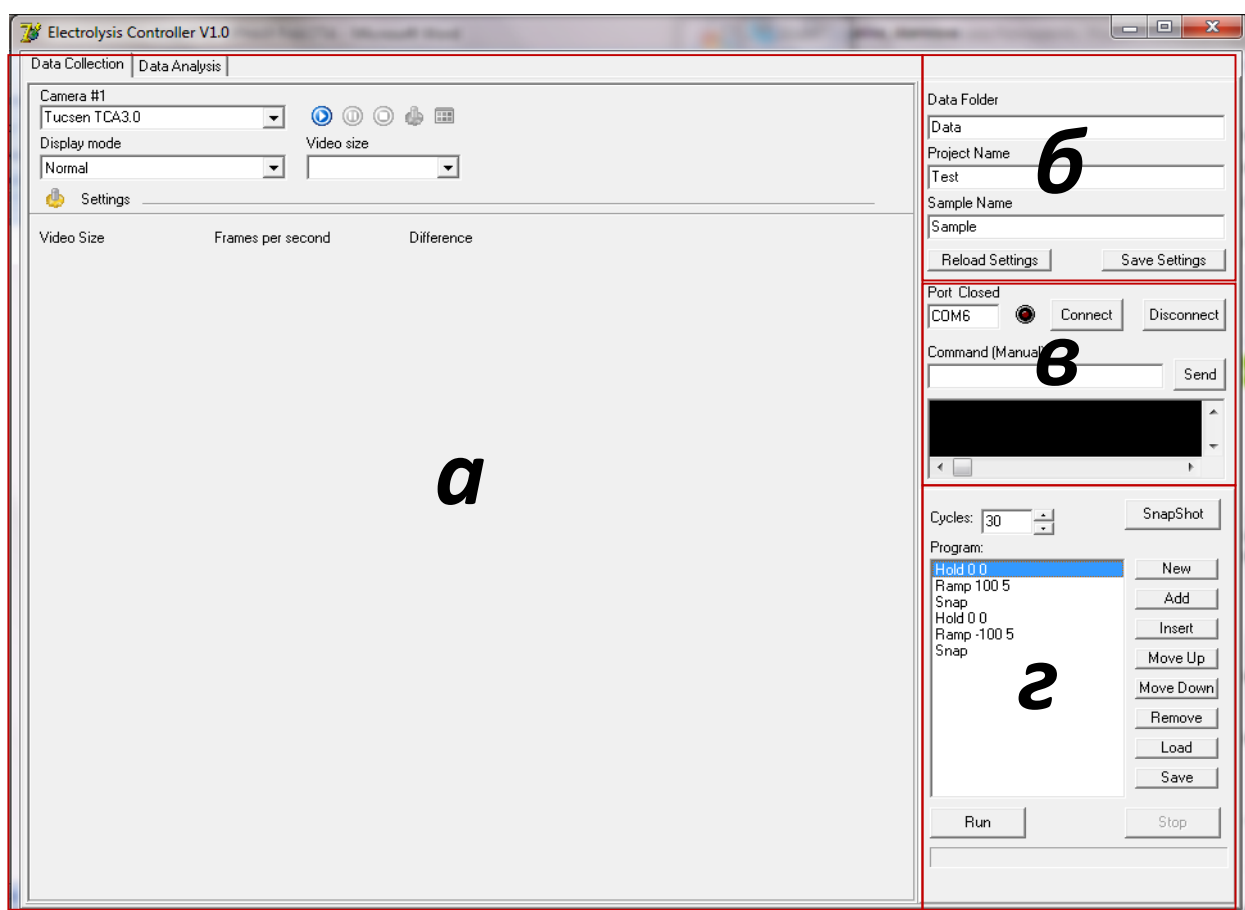


Рисунок 2.6. Внешний вид программы *Electrophoresis* – вкладка для сбора данных: *а* – настройки камеры и вывод изображения на монитор, *б* – меню рабочей папки, *в* – меню соединения с контроллером тока и полярности, *г* – меню управления формой, амплитудой и частотой тока.

Поле на рис. 2.6г позволяет задать форму, амплитуду и частоту подаваемого на электроды сигнала. В данный момент на рис. 2.6г представлен вариант программы для пилообразного сигнала с частотой 0.1 Гц и 30 циклами, рассчитанной на 5 минут эксперимента и 30 пар снимков на максимумах напряжения. Меню программы позволяет изменять ход цикла по желанию пользователя.

Для обработки полученных данных в программе *Electrophoresis* имеется вкладка *Data Analysis* (рис. 2.7). При выборе двух изображений одного цикла, изменение положения клеточного ядра можно зафиксировать либо наложением одного изображения на другое (*Difference image*), либо анимацией (*Animate*).

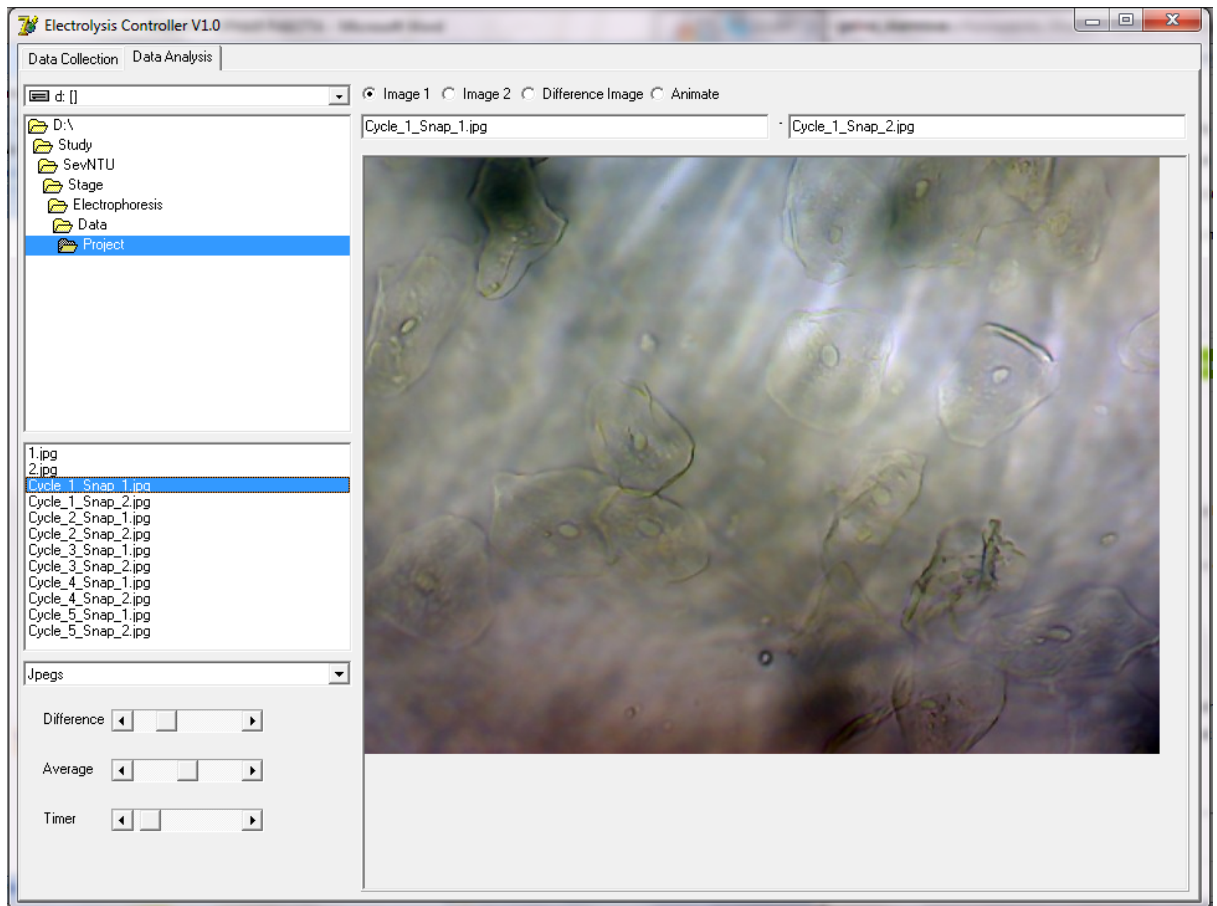


Рисунок 2.7. Внешний вид вкладки для обработки данных в программе *Electrophoresis*

2.3.2. Метод оценки электроотрицательности клеточных ядер

Оценку электроотрицательности ядер (ЭОЯ, %) производили по методу, разработанному на основе работы [26]. Клетки буккального эпителия помещали в камеру для микроэлектрофореза между двумя покровными стеклами. Камеру заполняли фосфатным буфером и помещали под микроскоп. Исследования проводили при напряженности поля 10-12 В/см, электрическом токе 0.2-0.4 мА и фиксированной частоте 0.1 Гц. Время исследования одного образца не превышало 5 мин.

На протяжении эксперимента (на положительных и отрицательных пиках напряженности) производили снимки образца. На рис. 2.8. представлен пример изображения клеток, находящихся под действием переменного электрического поля, демонстрирующий изменение положения клеточного ядра при изменении полярности электродов.

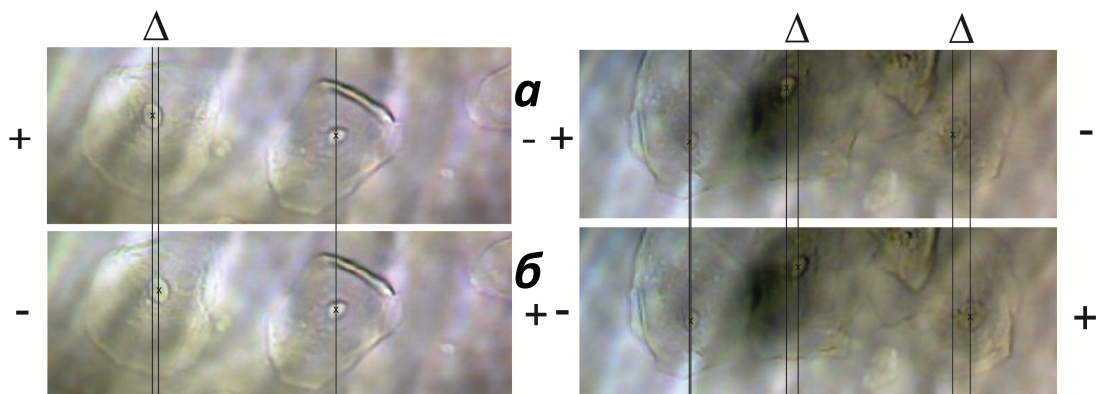


Рисунок 2.8. Смещение клеточного ядра: *а* – анод слева, *б* – анод справа

Ядра в клетках буккального эпителия в данных условиях эксперимента смещаются под воздействием электрического поля, что говорит об их отрицательном заряде, либо не реагируют на приложенное поле, т.е. имеют нейтральный заряд. Показателем электроотрицательности ядер служит процент клеточных ядер, смещающихся в сторону анода, т.е. несущих отрицательный заряд. Для каждого образца производится 3 измерения показателя ЭОЯ по 100

ядер в каждом, а затем рассчитывается его средняя величина. Показатель ЭОЯ определялся по формуле 2.2 как процентное соотношение количества колеблющихся ядер (N_{move}) к общему количеству исследованных ядер (N_0):

$$\text{ЭОЯ} = \frac{N_{move}}{N_0} \cdot 100\% \quad (2.2)$$

2.4. Метод определения проницаемости клеточных мембран

Состояние клеточных мембран было оценено по процентному содержанию клеток, окрашенных 5 ммоль/л раствором индигокармина *in vitro* в течение 5 мин (рис. 2.9) [242]. При воздействии на клетки человека растворов детергентов (Тритон X-100, эсцин), которые, как известно, нарушают целостность мембран клеток, показатель окрашенности клеток индигокармином (ОКИ, %) значительно возрастает, что указывает на связь этого показателя с проницаемостью мембран [242].

Показатель ОКИ определялся по формуле 2.3 как процентное соотношение количества окрашенных клеток ($N_{окр}$) к общему количеству исследованных клеток ($N_{общ}$):

$$\text{ОКИ} = \frac{N_{окр}}{N_{общ}} \cdot 100\% \quad (2.3)$$

При определении показателя ОКИ в каждом образце учитывалось 300 клеток (3 повтора по 100 клеток), а затем была рассчитана его средняя величина. Подсчет клеток производился визуально с помощью микроскопа MICROmed ХС-3330 с увеличением 400.

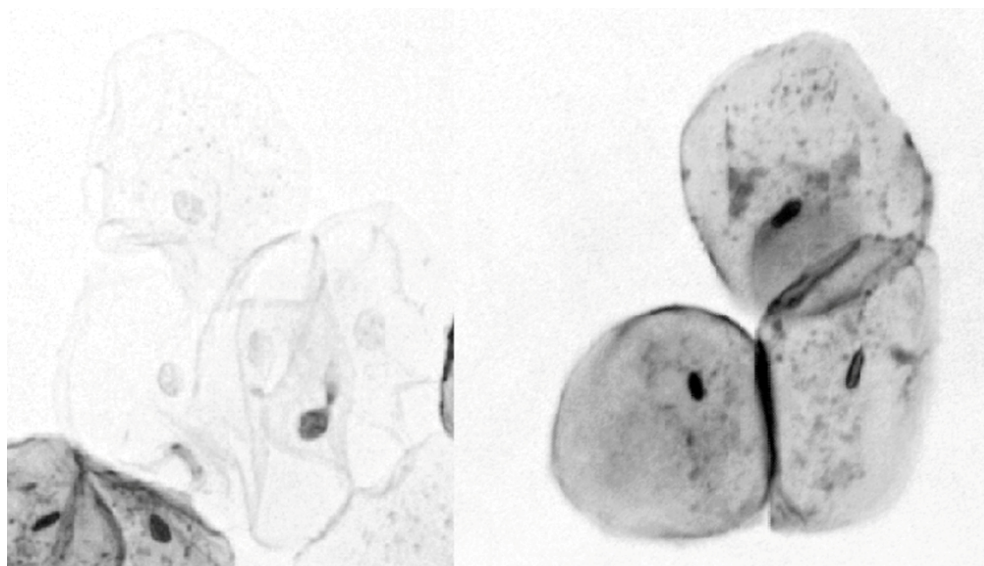


Рисунок 2.9. Клетки буккального эпителия не окрашенные (слева) и окрашенные (справа) индигокармином (микроскоп MICROmed XS-3330, увеличение 400)

2.5. Билюминесцентный тест на основе морских светящихся бактерий

Билюминесцентный анализ проводили с помощью светящихся бактерий *Photobacterium leiognathi* Sh1, выделенных из Азовского моря и обладающих высокой чувствительностью к действию токсических факторов различной природы, а также высокой скоростью роста [145].

Изучение острого действия веществ (токсичности). Подготовку бактерий для биотестирования осуществляли следующим образом. Музейную культуру, которая хранилась на полужидком агаре под вазелиновым маслом, высевали на жидкую питательную среду. После инкубации при температуре 30 °С, бактерии анализировали визуально на наличие билюминесценции. При выявлении свечения, бактерии с жидкой питательной среды высевались на твердую среду с рассевом до отдельных колоний. Для следующего пересева отбирали наиболее ярко светящуюся колонию, которую пересевали на жидкую питательную среду и использовали для проведения биотестирования.

Полученную на предыдущем этапе бактериальную культуру разводили 3 % хлоридом натрия до концентрации клеток $5 \cdot 10^5$ кл/мл. Для определения острого действия (токсичности) образцов, в кюветах люминометра смешивали 0.8–0.9 мл тестируемого раствора в 2.5–3%-ом растворе NaCl, 100 мкл буферного раствора с рН=7.0 и 50 мкл бактериальной суспензии. Регистрировали изменение интенсивности биолюминесценции в течение 30–120 минут с использованием самописца. Результаты представляли в виде зависимости интенсивности биолюминесценции от концентрации вещества по следующей формуле:

$$I = \frac{I_i}{I_0} \cdot 100\% \quad (2.4)$$

где I_i – интенсивность биолюминесценции в присутствии вещества; I_0 – интенсивность биолюминесценции в контроле.

Хроническое действие (токсичность) определяли по эффекту тестируемого объекта на рост и биолюминесценцию светящихся бактерий. В кюветы люминометра вносили 0.8–0.9 мл 3%-го раствора хлорида натрия, 5–50 мкл тестируемого образца и 50 суспензии светящихся бактерий. После измерения биолюминесценции в пробы вносили 20–50 мкл стерильной среды для светящихся бактерий и помещали их в термостат при температуре 30 °С на 16 ч. Измерение биолюминесценции и обработку результатов проводили аналогично методике определения острого действия.

2.6. Методы воздействия электромагнитными полями на клетки человека

2.6.1. Облучение излучением мобильного телефона

В качестве источника микроволнового излучения использовались два мобильных телефона, находящихся в режиме разговора. Частота излучения составляла 900 МГц. Для оценки излучаемой мощности использовался

удельный коэффициент поглощения - SAR, который также является показателем вредного воздействия мобильных телефонов на человека. Согласно паспорту телефонов, значение SAR составляет 0.531 Вт/кг и 1.1 Вт/кг.

Раствор, содержащий клетки и фосфатный буфер, распределялся между несколькими эппендорфами (пробирками по 0.5 мл каждая). Затем эппендорфы помещались в чашку Петри. Телефон, находящийся в режиме разговора, располагался над предметными стеклами на расстоянии 3-4 см. Время экспозиции составляло 1, 2, 5, 10, 15, 30 и 60 минут.

2.6.2. Облучение клеток электромагнитным излучением на частоте 3.7 ГГц (рабочей частоты WiMAX)

Для генерирования ЭМИ с частотой 3.7 ГГц применяли установку, разработанную доцентом Трушкиным А.Н. (СевНТУ) схема и принцип действия которой были подробно описаны в работе [3]. Данная установка состоит из генератора сверхвысоких частот (ГЧ-80), коаксиально-волноводного перехода (КВП), ответвителя круговой поляризации (ОКП) и отрезка согласованного волновода, в котором располагается эппендорф с исследуемым образцом (рис. 2.10). Сигнал с волновода через ответвитель круговой поляризации передается на измеритель отношений (У2-8), который позволяет измерять мощность генерируемой электромагнитной волны.

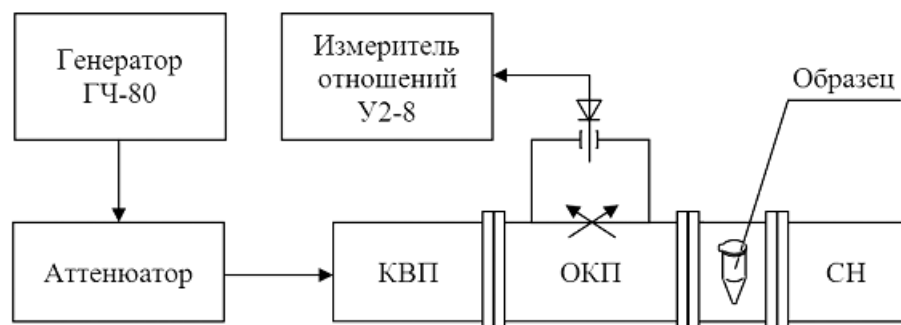


Рисунок 2.10. Принципиальная схема волноводной системы [3]

Раствор, содержащий клетки и фосфатный буфер, распределялся между несколькими пробирками. Электромагнитное облучение проводилось при пяти значениях плотности потока мощности на поверхности исследуемого раствора: 1.25 мкВт/см^2 , 2.5 мкВт/см^2 , 10 мкВт/см^2 , 20 мкВт/см^2 и 40 мкВт/см^2 , в течение 0.5, 1, 5 и 10 минут.

2.6.3. Облучение клеток электрической и магнитной составляющими электромагнитного излучения

Пробирка, содержащая исследуемый образец, помещалась в волноводный тракт, в котором была сформирована стоячая волна с частотой 8 ГГц и плотностью потока мощности $\sim 60 \text{ мВт/см}^2$. Принципиальная схема установки представлена на рис. 2.11.

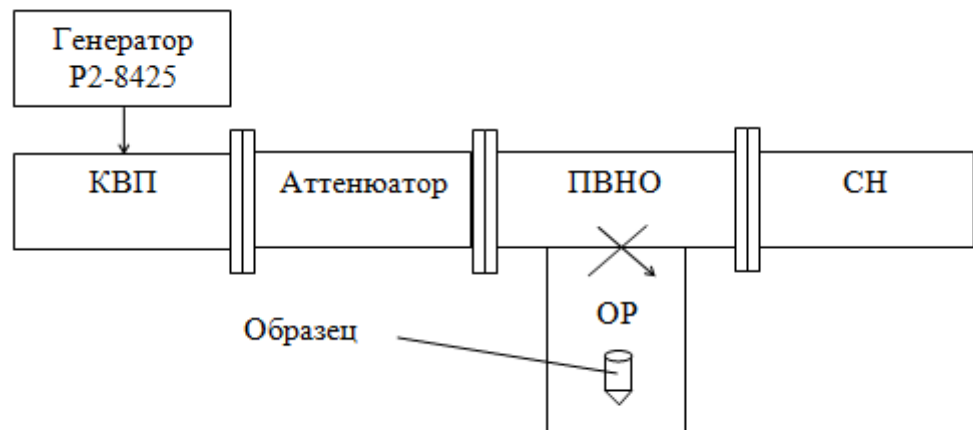


Рисунок 2.11. Принципиальная схема установки для разделения электромагнитного излучения на электрическую и магнитную составляющую

Установка работает следующим образом. С помощью генератора в волноводном тракте формируется волна с частотой 8 ГГц. Первая часть падающей от генератора волны поглощается согласованной нагрузкой (СН) первичного волновода направленного ответвителя (ПВНО). Вторая часть этой волны ответвляется из первичного волновода во вторичный, который работает

в режиме объемного резонатора (ОР). Коаксиально-волноводный переход (КВП) обеспечивает связь между коаксиальным выходом генератора и направленным ответвителем. ОР представляет собой отрезок вторичного волновода направленного ответвителя с двумя короткозамыкателями. Один из них подвижный и обеспечивает настройку резонатора на максимум электрического или магнитного поля в области пробирки.

Образец располагался в рассчитанных в соответствии с частотой и характеристиками волновода максимумах электрической и магнитной составляющей излучения, а также в положении, равноудаленном от данных максимумов. Это позволило сравнить реакцию клеток на электрический и магнитный компонент по отдельности не только с контрольным значением, но также и с реакцией на их совместное действие. Продолжительность облучения составляла 5 минут.

Каждый этап эксперимента для клеток одного донора проводился в течение одного дня, при комнатной температуре и дневном освещении. Признаков деградации клеток в течение эксперимента не наблюдалось, о чем свидетельствует отсутствие изменений морфологии клеток и количества окрашенных клеток в контрольном образце с течением времени.

2.7. Метод воздействия биологически активных соединений на клетки человека

2.7.1. Вещества

Доксорубицин. Раствор доксорубицина (Doxorubicin Teva, Нидерланды) с концентрацией 2 мг/мл ($3.448 \cdot 10^{-3}$ моль/л) был получен путем растворения точной навески (10 мг) вещества в 5 мл буферного раствора. Затем 0.058 мл данного раствора разбавили 0.942 мл фосфатного буферного раствора до концентрации $2 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

Бромистый этидий. Раствор бромистого этидия (Sigma, США) с концентрацией $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л был получен путем растворения 1.97 мг навески вещества в 5 мл фосфатного буфера. Затем 0.4 мл исходного раствора разбавили 0.6 мл буферного раствора до концентрации $4 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

Профлавин. Раствор профлавина (Sigma, США) с концентрацией $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л был получен путем растворения 1.05 мг навески вещества в 5 мл фосфатного буфера. Затем 0.4 мл исходного раствора разбавили 0.6 мл буферного раствора до концентрации $4 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

Кофеин. Раствор кофеина (Sigma, США) с концентрацией $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л был получен путем растворения 9.71 мг навески вещества в 5 мл фосфатного буфера.

2.7.2. Характеризация раствора C_{60} фуллерена

Водный раствор немодифицированного фуллерена C_{60} , используемого в работе, был приготовлен согласно рекомендациям работ [207, 228]. Насыщенный раствор фуллерена C_{60} (чистота 99.5%) в толуоле смешали с таким же количеством дистиллированной воды. На полученную двухфазную систему воздействовали ультразвуком до полного испарения толуола. Далее раствор профильтровали для удаления нерастворенного фуллерена C_{60} . Таким образом, был получен водный раствор фуллерена C_{60} с концентрацией 0.1 мг/мл ($1.39 \cdot 10^{-4}$ моль/л).

Состояние C_{60} фуллерена контролировалось с помощью атомно-силовой микроскопии (АСМ, система «Solver Pro M», Россия). Образец помещался на субстрат путем осаждения из капли водного раствора. Визуализация образца была проведена в полуконтактном режиме после полного испарения растворителя. Полученное изображение (рис. 2.12) наглядно демонстрирует наличие отдельных молекул C_{60} фуллерена в воде, а также их кластеры с типичным диапазоном диаметров 2-100 нм, что согласуется с теоретическими расчетами [72, 205, 210], а также данными малоуглового нейтронного рассеяния [227] и динамического рассеяния света [209].

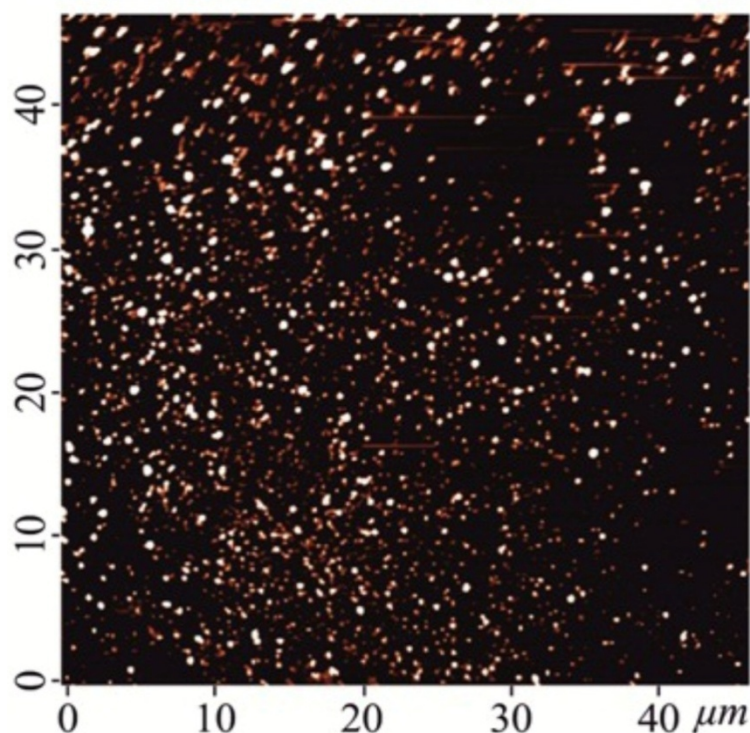


Рисунок 2.12. АСМ изображение структуры C_{60} фуллеренов в водном растворе при концентрации 0.1 мг/мл

2.7.3. Определение токсичности веществ

Клетки инкубировались с перечисленными веществами при различных концентрациях в течение 10 мин, 1 часа и 3 часов при температуре $36 \pm 1^\circ\text{C}$ для определения воздействия исследуемых веществ на мембраны и ядра клеток буккального эпителия, а также оптимальных условий для основного эксперимента. В качестве контрольного образца был взят образец без добавления вещества, содержащийся при той же температуре.

2.7.4. Определение изменения токсичности препарата при добавлении интерцепторов (фуллерена или кофеина)

Для основного этапа экспериментов в отдельной пробирке смешивали 0.05 мл полученного раствора препарата с 0.95 мл раствора фуллерена или кофеина (получив $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л раствор доксорубина или $2 \cdot 10^{-5}$ моль/л

раствор бромистого этидия или профлавина с $1.32 \cdot 10^{-4}$ моль/л фуллерена или $9.5 \cdot 10^{-3}$ моль/л кофеина). В 0.2 мл препарата добавляли 3.8 мл буферного раствора, получив раствор препарата для титрования ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л для раствора доксорубина и $2 \cdot 10^{-5}$ моль/л для раствора бромистого этидия или профлавина).

В 0.5 мл клеточной суспензии добавляли 0.5 мл смеси препарат-интерцептор с различной концентрацией фуллерена или кофеина (стартовая концентрация фуллерена до титрования составила $6.6 \cdot 10^{-5}$ моль/л, кофеина - $4.75 \cdot 10^{-3}$ моль/л). Затем клетки инкубировались в полученных растворах в течение 1 часа при температуре $36 \pm 1^\circ\text{C}$.

В качестве позитивного контроля рассматривались клетки, которые инкубировались только в растворе препарата, в качестве негативного – клетки, содержащиеся без препарата и интерцепторов при той же температуре.

2.8. Метод спектрофотометрии

Спектры были сняты с использованием двухлучевого спектрофотометра SQ-4802 (UNICO, США), позволяющего выполнять измерения в диапазоне длин волн 280-800 нм. Снятие спектров проводилось в полиметилакрилатных кюветах (Испания), имеющих длину оптического пути 1 см, при комнатной температуре.

2.9. Методы статистической обработки данных

Расчеты средних значений и стандартных ошибок среднего производили в программе Microsoft Office Excel и SigmaPlot. Достоверность различий между средними значениями полученных показателей и контролями оценивали с помощью t-критерия Стьюдента. С целью оценки статистической связи между полученными данными и влиянием различных факторов, в программе SigmaStat

в ряде случаев был также проведен дисперсионный анализ ANOVA. В работе был принят уровень достоверности $p < 0.05$.

Представленные в данной главе методики по внутриклеточному микроэлектрофорезу, облучению на частоте 3.7 ГГц а также электрической и магнитной составляющими ЭМИ были подробно изложены и использованы в следующих работах [19, 20, 127].

Глава 3. ВЛИЯНИЕ МИКРОВОЛНОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ МАЛОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ НА СОСТОЯНИЕ ХРОМАТИНА И МЕМБРАНЫ КЛЕТОК БУККАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ ЧЕЛОВЕКА

3.1. Введение

Первичным и необходимым этапом изучения комбинированного действия низкоинтенсивного ЭМИ и лекарственных препаратов на клетки человека является изучение влияния ЭМИ в чистом виде в отсутствие каких-либо биологически активных добавок.

Как указывалось в подразделе 1.2, в настоящее время четкого представления о характере взаимосвязи реакции клетки и параметров ЭМИ (таких как мощность излучения, частота, время экспозиции) в настоящее время не существует. Одна из причин этому заключается в том, что разные авторы в своих исследованиях, к примеру [3, 29, 30, 32, 126, 129, 149, 196, 216, 233-235, 237, 238, 241, 243-246, 271], используют разные клеточные объекты и разные параметры ЭМИ, что усложняет выявление закономерностей в опубликованном материале. Однако некоторые проявления клеточного отклика на ЭМИ малой интенсивности описаны сравнительно неплохо.

Известно, что электрокинетические свойства клеточных ядер тесно связаны с процессами регуляции и функциональной активности клеток [28]. Изменение электроотрицательности ядер клеток буккального эпителия человека было выявлено в работах [30, 235, 238, 241, 244, 246]. Также в работах [3, 234, 243, 245] было показано, что при действии микроволнового излучения на ядра клеток буккального эпителия увеличивается количество гранул гетерохроматина. Допуская, что изменение электроотрицательности ядер и гранулирование хроматина являются реакцией клетки на ЭМИ и отражают изменение её функциональной активности, можно предположить, что отклик на действие ЭМИ может также проявляться и на других клеточных компонентах.

Ряд авторов сходятся во мнении, что значительную роль в рецепции микроволнового излучения, а также в процессах передачи сигнала, индуцированного облучением, на внутриклеточные структуры играют мембраны [9, 29]. Ранее было продемонстрировано, что слабое микроволновое излучение приводило к увеличению проницаемости клеточной мембраны для витальных красителей [192, 238].

В данной главе будет произведена попытка установить характер изменения проницаемости мембран клеток буккального эпителия для витального красителя индигокармина, а также изменения состояния хроматина как факторов реакции клетки на действие ЭМИ в зависимости от различных условий облучения. Эта информация является необходимой для подбора наиболее оптимальных условий и интерпретации эффектов комбинированного действия ЭМИ и препаратов в последующих главах работы. В качестве источников излучения использовались мобильные телефоны (протокол GSM-900) и генераторы ЭМИ с параметрами, максимально приближенными к параметрам беспроводной сети WiMAX (рабочие частоты 1.5-11 ГГц), таким образом, рассматривались две технологии, предоставляющие беспроводную связь на больших расстояниях и активно развивающиеся в настоящее время.

В каждом этапе экспериментов в данной главе исследовались клетки буккального эпителия пяти доноров. Согласно литературным данным, реакция доноров на ЭМИ, проявляющаяся в конденсации хроматина [3, 233, 234], а также восстановление целостности мембран и состояния хроматина после ЭМИ [194, 233], носят подобный характер для всех исследуемых доноров. Более того, авторы утверждают, что результаты экспериментов не выявляли каких-либо гендерных различий в характеристиках конденсации хроматина или проницаемости мембраны [233]. Таким образом, количество доноров, выбранное в данной работе, является оптимальным для определения общих закономерностей реакции клеток на ЭМИ различных характеристик. Разумеется, более детальное исследование механизма действия, либо

установление количественных взаимосвязей, требуют большего количества доноров, однако эти исследования выходят за рамки настоящей работы.

3.2. Влияние излучения мобильного телефона на состояние хроматина и мембраны клеток буккального эпителия человека

Мобильные телефоны, которые в настоящее время производятся во всем мире, отличаются заявленной мощностью излучения. Уровень SAR мобильного телефона используется как характеристика удельного поглощения ЭМИ биологической тканью. Также SAR можно рассматривать как меру взаимодействия ЭМИ и биологического объекта, которая может косвенно влиять на эффект действия мобильных телефонов на человека.

Для определения наиболее распространенных уровней SAR мобильных телефонов, был проведен статистический анализ на основе известных данных по уровню SAR для самых популярных марок мобильных телефонов (Nokia, Samsung, Sony Ericson, Motorola, LG, Siemens, Sony и т.д.), взятых с официальных сайтов производителей. Было показано (см. рис. А.1 Приложения А) что наиболее часто используемые мобильные телефоны соответствуют значениям SAR в интервале от 0.5 до 1.1 Вт/кг. Таким образом, в качестве источника микроволнового излучения были выбраны два мобильных телефона с уровнями SAR, соответствующими границам распределения (0.531 Вт/кг и 1.1 Вт/кг) и частотой излучения 900 МГц, что дополнительно позволило рассмотреть мощность излучения, как один из факторов воздействия ЭМИ на клетки буккального эпителия человека. Следует отметить, что заявленный уровень SAR мобильного телефона и его фактическая мощность во время эксперимента могут отличаться. Тем не менее, учитывая, что оба мобильных телефона работали от одного и того же оператора мобильной связи при одинаковых условиях, в настоящем исследовании можно рассматривать относительный биологический эффект излучений, мощности которых пропорциональны уровням SAR.

3.2.1. Изменение состояния хроматина под действием электромагнитного излучения мобильного телефона

Исследования воздействия ЭМИ мобильного телефона проводились на клетках пяти доноров: трех доноров мужского пола разного возраста: донор А – 35 лет, В – 25 лет, С – 24 года, и двух доноров женского пола: донор D - 22 года, E – 54 года.

В качестве источника микроволнового излучения использовались два мобильных телефона находящихся в режиме разговора с уровнями SAR, равными 0.531 Вт/кг и 1.1 Вт/кг. Время экспозиции составляло 1, 2, 5, 10, 15, 30 и 60 минут. Оценка показателя КГГ производилась по методу, предложенному в работе [243] и подробно изложенному в главе 2.

В качестве основного показателя, определяющего реакцию хроматина на ЭМИ, использовалась разница между КГГ облученного образца и контроля, нормированная к контролю (формула 3.1), т.е. изменение КГГ относительно контрольного значения.

$$\text{рост КГГ} = \frac{\text{КГГ} - \text{КГГ}_{\text{контроля}}}{\text{КГГ}_{\text{контроля}}} \cdot 100\% \quad (3.1)$$

Результаты по влиянию ЭМИ мобильного телефона на состояние хроматина клеток буккального эпителия пяти доноров представлены на рис. 3.1 (показаны значения роста показателя КГГ ± погрешность, исходные данные приведены в таблице А.1 в Приложении А).

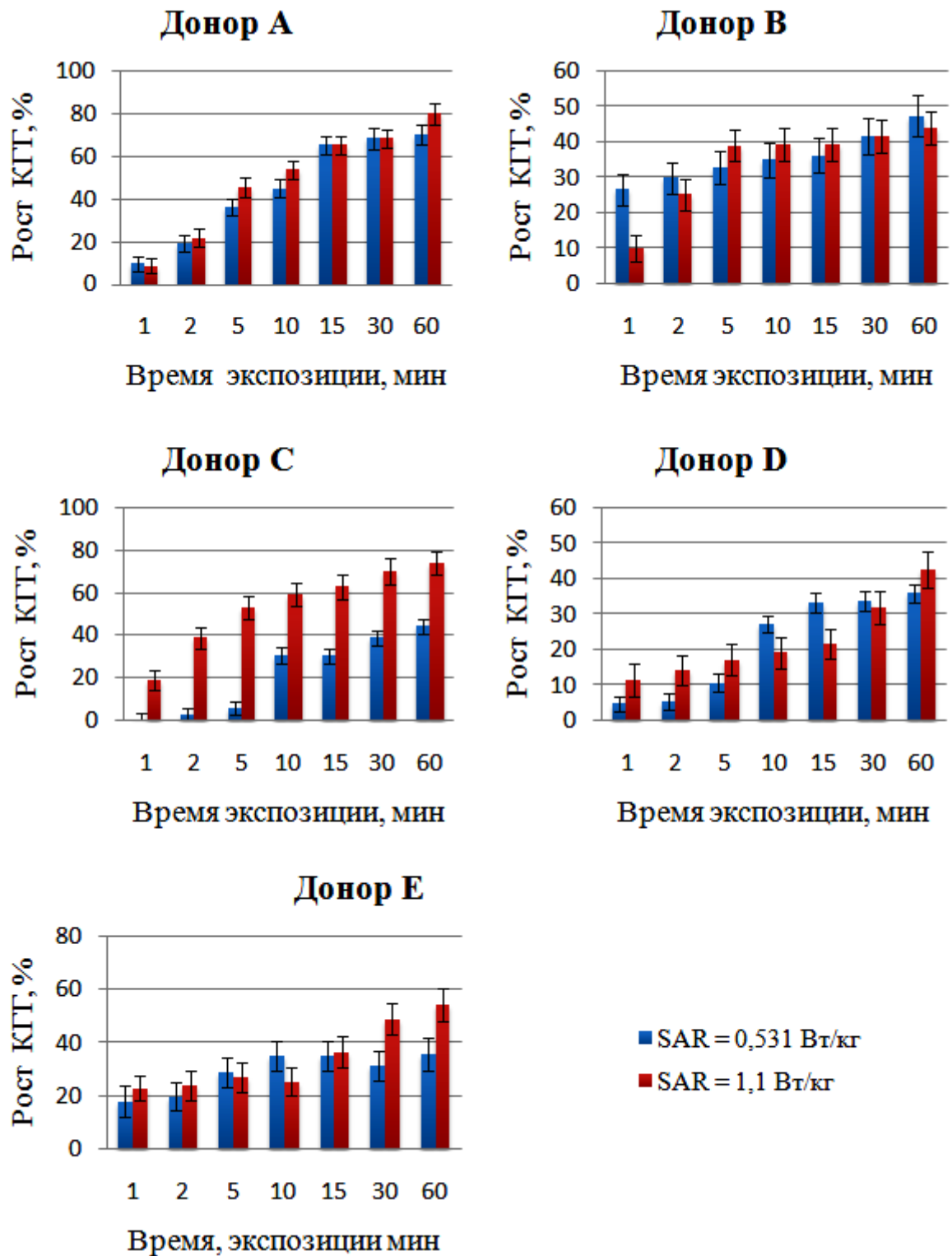


Рисунок 3.1. Влияние электромагнитного излучения мобильного телефона на показатель роста количества гранул гетерохроматина (КГГ) для доноров А – Е

Из приведенных гистограмм следует, что рост КГГ относительно контроля под воздействием ЭМИ мобильного телефона наблюдается для всех исследуемых доноров, следовательно, излучение мобильного телефона приводит к конденсации хроматина в клетках человека. Даже относительно короткое время экспозиции в течение 1 минуты приводит к значительному росту КГГ в клетках доноров А, В, D и Е.

При увеличении времени экспозиции с 1 до 10 мин наблюдается дальнейшее увеличение роста КГГ. В случае донора С излучение с более высоким уровнем SAR привело к существенному росту КГГ при времени экспозиции 1, 2 и 5 мин. Эти результаты свидетельствуют о том, что разным донорам присущи индивидуальные признаки реакции на микроволновое излучение. В клетках донора С излучение с более высоким заявленным уровнем SAR вызывало значительно больший эффект, чем ЭМИ телефона с низким заявленным уровнем SAR. При этом в клетках донора В при малых временах экспозиции излучение мобильного телефона с низким уровнем SAR производило больший эффект, чем с более высоким уровнем SAR. Схожая закономерность наблюдалась у доноров D (10-15 мин) и Е (5-10 мин). В клетках доноров А и В при излучении от 2 до 60 мин не наблюдалось существенных отличий в отклике клеток на различные уровни SAR. Ключевым результатом здесь является то, что ЭМИ мобильного телефона приводит к статистически значимому росту КГГ для всех доноров, начиная с 1 мин экспозиции. Подобный эффект на клетках буккального эпителия наблюдался в работах [243, 245] в случае слабого микроволнового излучения различной поляризации.

Для каждого донора и уровня SAR наблюдается позитивная корреляция между параметром КГГ и временем облучения, т.е. увеличение экспозиции приводит к гранулированию хроматина. Однако никакой статистически значимой разницы в отклике на различные уровни SAR не было отмечено для всех доноров, кроме донора С, где более высокий уровень SAR привел к большему отклику хроматина, чем низкий. Это может быть объяснено индивидуальными различиями в чувствительности клеток буккального

эпителия различных доноров к ЭМИ. *t*-тест Стьюдента показал, что во всех рассмотренных случаях наблюдается статистически значимое изменение КГГ для времени излучения большего, чем 1 мин. Таким образом, нижний порог времени, за которым не наблюдается видимых изменений структуры хроматина под действием ЭМИ мобильного телефона, не превышает 1 мин.

Основываясь на полученных выше результатах, можно утверждать, что конденсация хроматина (увеличение показателя КГГ) может выступать в качестве маркера клеточного отклика на ЭМИ. Считается, что данное явление может быть обусловлено изменением взаимодействия ДНК-белок, вызванным ЭМИ и может привести к мутации [256]. Также важно отметить, что, согласно имеющимся на данное время литературным данным, процесс гетерохроматинизации связывают с уменьшением транскрипционной активности хроматина [171]. Таким образом, ЭМИ с исследуемыми характеристиками изменяет функциональную активность клеток, что проявляется в увеличении количества гранул гетерохроматина.

3.2.2. Изменение проницаемости клеточной мембраны под действием электромагнитного излучения мобильного телефона

Исследования воздействия ЭМИ мобильного телефона на проницаемость клеточной мембраны проводились на клетках пяти доноров: трех доноров мужского пола разного возраста: донор А – 35 лет, В – 25 лет, С – 24 года, и двух доноров женского пола: донор D – 22 года, E – 54 года.

В качестве источника микроволнового излучения использовались два мобильных телефона находящихся в режиме разговора с уровнями SAR, равными 0.531 Вт/кг и 1.1 Вт/кг. Время облучения составляло 1, 2, 5, 10, 15, 30 и 60 минут.

Для определения изменения показателя ОКИ относительно контрольного значения использовалась относительная величина – показатель роста ОКИ, который рассчитывался по следующей формуле:

$$\text{рост ОКИ} = \frac{\text{ОКИ} - \text{ОКИ}_{\text{контроля}}}{\text{ОКИ}_{\text{контроля}}} \cdot 100\% \quad (3.2)$$

Зависимость роста показателя ОКИ от времени облучения и уровня SAR представлены на рис. 3.2 (показаны значения роста показателя ОКИ \pm погрешность, исходные данные приведены в таблице А.2 в Приложения А).

Из полученных результатов следует статистически значимый отклик клеток на ЭМИ с различным временем экспозиции, проявляющийся в увеличении проницаемости мембраны относительно контроля. Как правило, проницаемость мембраны возрастает с увеличением времени от 1 до 10 мин (подобно показателю КГГ).

Дальнейшее изменение времени облучения от 10 до 60 мин привело к спаду роста показателя ОКИ в клетках донора С для всех исследуемых уровней SAR, и в клетках донора В для более низкого заявленного уровня SAR. Что касается клеток других доноров, увеличение времени экспозиции не оказало практически никакого влияния на изменение показателя ОКИ. При этом облучение мобильного телефона с более высоким уровнем SAR вызвало больший эффект на клеточные мембраны при времени экспозиции от 10 до 60 мин для доноров А, В и С.

Изменение показателя ОКИ как функции от времени экспозиции отличается от наблюдаемого выше для гетерохроматина, а именно, для большинства доноров характерен рост показателя ОКИ при времени экспозиции до 10 мин с последующим пиком и спадом показателя. Однако для излучения мобильного телефона с высшим уровнем SAR пик не наблюдается практически у всех доноров, возможно, из-за ограниченного времени экспозиции, использованного в эксперименте. Пороговое значение времени экспозиции, при котором ещё не наблюдается видимых изменений показателя ОКИ, согласно *t*-тесту Стьюдента, для всех доноров превышает 1 мин.

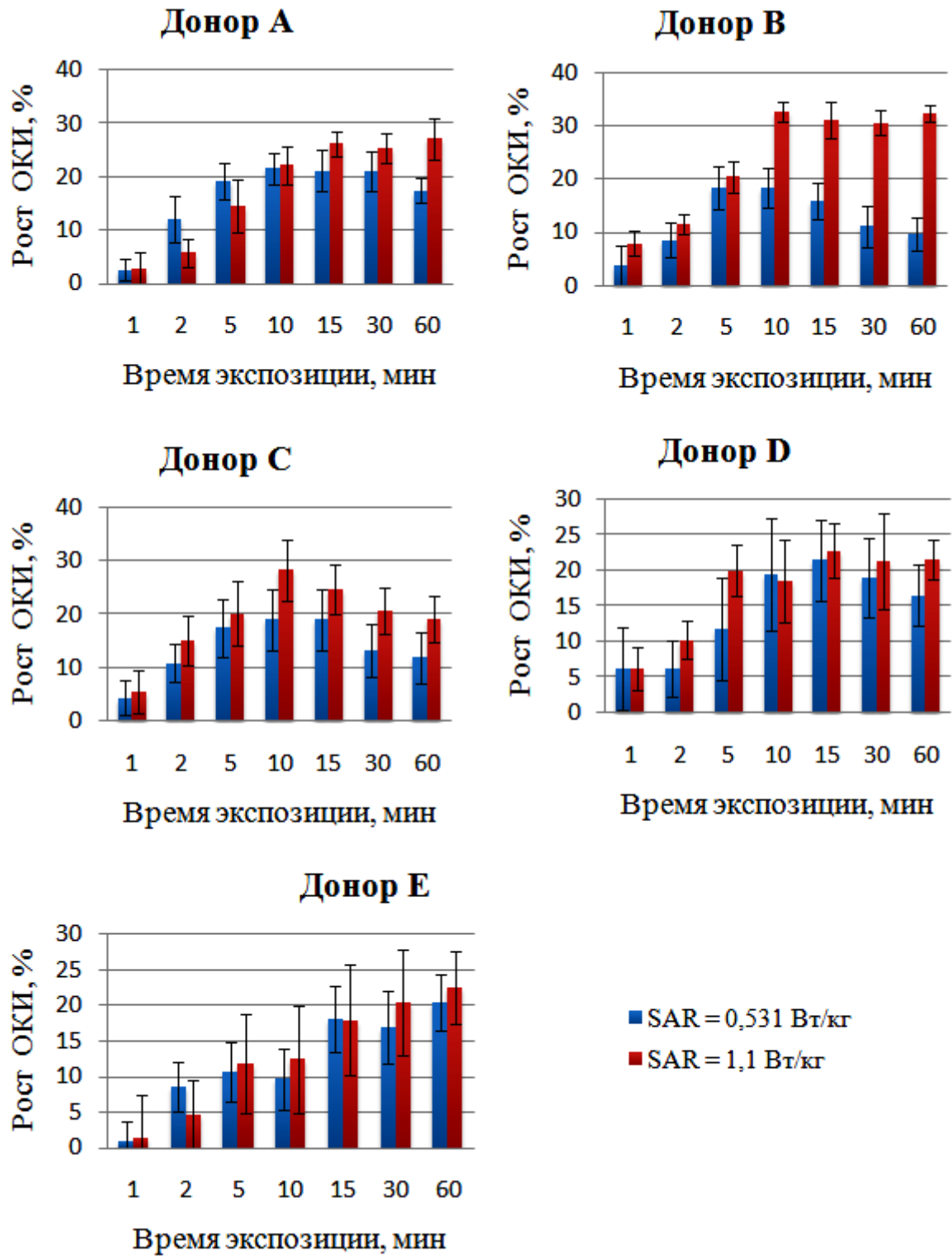


Рисунок 3.2. Влияние электромагнитного излучения мобильного телефона на показатель роста окрашенности клеток индигокармином (ОКИ) для доноров А – Е

Для всех доноров и уровней SAR изменение проницаемости мембраны за время действия излучения от 30 до 60 мин не является статистически значимым. Это наблюдение можно интерпретировать как адаптацию клеток к действию ЭМИ, которая может быть связана с явлением восстановления клеточных мембран после ЭМИ [192, 233]. Есть основания предполагать, что спад роста показателя ОКИ, наблюдаемого на рис. 3.2, также является следствием восстановления клеточной мембраны.

Анализ роста параметра ОКИ как функции от SAR мобильного телефона показал, что для большинства доноров и времен экспозиции существует статистически значимая разница между ростом параметра ОКИ для двух исследуемых уровней SAR, то есть возрастание уровня SAR от 0.531 до 1.1 Вт/кг привело к увеличению проницаемости мембран клеток. Однако важно заметить, что в соответствии с полученными результатами зависимость отклика клеток, выраженного в изменении проницаемости мембран, от уровня SAR мобильного телефона не является очевидной и варьируется в зависимости от донора. Это означает, что уровень SAR мобильного телефона не является важным фактором, определяющим воздействие ЭМИ на состояние мембран буккального эпителия человека.

3.2.3. Анализ полученных результатов исследования эффектов действия электромагнитного излучения мобильного телефона

Сравнивая результаты, полученные с помощью двух методик, можно сделать вывод, что параметры КГГ и ОКИ демонстрируют статистически значимые и качественно аналогичные изменения, характеризуемые определенным пороговым значением времени экспозиции, а также значением времени насыщения. Данные зависимости могут рассматриваться как маркер изменения функциональной активности клеток человека в результате действия ЭМИ и свидетельствовать о едином механизме реакции клетки на ЭМИ, исследование которого выходит за рамки настоящей работы.

Для того чтобы оценить влияние различных факторов, таких как SAR, время экспозиции и индивидуальные особенности доноров, был проведен дисперсионный анализ ANOVA (таблица 3.1). Из результатов дисперсионного анализа следует, что уровень SAR мобильного телефона и время экспозиции оказывают наибольшее влияние на изменение состояния хроматина под действием ЭМИ. Однако эти данные отличаются от реакции клеточной мембраны, так как значительное влияние на проницаемость мембран отмечено за фактором «Донор». Полученные данные косвенно указывают на то, что первичной мишенью действия ЭМИ является ядро и хроматин.

Таблица 3.1

Результаты ANOVA отклика клеток буккального эпителия на электромагнитное излучение мобильного телефона

| Фактор | Критерий Фишера F | Уровень значимости P |
|--|-------------------|----------------------|
| Влияние ЭМИ мобильного телефона на состояние хроматина | | |
| SAR | 875.1 | <0.001 |
| Время | 767.6 | <0.001 |
| SAR*Время | 13.7 | <0.001 |
| Донор | 240.2 | <0.001 |
| Донор*SAR | 618.5 | <0.001 |
| Донор*Время | 28.9 | <0.001 |
| Донор*SAR*Время | 11.7 | <0.001 |
| Влияние ЭМИ мобильного телефона на проницаемость клеточных мембран | | |
| SAR | 267.3 | <0.001 |
| Время | 183.3 | <0.001 |
| SAR*Время | 9.4 | <0.001 |
| Донор | 847.9 | <0.001 |
| Донор*SAR | 122.8 | <0.001 |
| Донор*Время | 6.4 | <0.001 |
| Донор*SAR*Время | 2.3 | <0.001 |

3.3. Влияние электромагнитного излучения на частоте беспроводной связи WiMAX (3.7 ГГц) на состояние хроматина и мембраны клеток буккального эпителия человека

В предыдущем подразделе была проанализирована временная зависимость реакции клеток на ЭМИ с использованием двух уровней SAR. Однако, как было сказано выше, уровень SAR мобильного телефона не всегда соответствует его фактической мощности и может зависеть от множества сторонних факторов. Данное исследование было проведено с целью определения влияния микроволнового излучения на частоте беспроводной связи мобильного WiMAX (3.7 ГГц) на состояние функциональной активности хроматина и клеточных мембран, а также выявления закономерностей в отклике клеток на ЭМИ с различной мощностью и временем экспозиции. Беспроводная технология WiMAX оперирует в диапазоне частот 1.5-11 ГГц, однако в данном исследовании была выбрана частота 3.7 ГГц, которая является одной из наиболее востребованных и интересуют почти всех крупных операторов, в том числе и мобильной связи [80, 83].

Согласно санитарным нормам Украины, гранично-допустимый уровень ЭМИ составляет 2.5 мкВт/см^2 и является одним из самых строгих (для сравнения: в России и Венгрии - 10 мкВт/см^2 , в Скандинавии – 100 мкВт/см^2) [15]. Исходя из этих данных, нами был установлен диапазон экспериментальных мощностей ЭМИ, соответствующий существующим санитарным нормам. Также, учитывая результаты предыдущего подраздела, где для большинства доноров при облучении более 10 мин наблюдается насыщение параметра КГГ, а также пик и спад показателя ОКИ, интерпретируемые как адаптация клеток к действию ЭМИ, в данном исследовании нами не будут рассматриваться времена экспозиции, превышающие 10 мин.

3.3.1. Изменение состояния хроматина под действием электромагнитного излучения на частоте 3.7 ГГц

Исследования проводились на клетках пяти доноров: трех доноров мужского пола разного возраста: донор А – 35 лет, В – 25 лет, С – 24 года, и двух доноров женского пола: донор D – 22 года, Е – 54 года.

Облучение образцов производилось при трех значениях плотности потока мощности на поверхности облучаемого объекта: 40 мкВт/см², 10 мкВт/см², 2.5 мкВт/см². Продолжительность облучения составляла 0.5, 1, 5 и 10 мин. Метод определения параметра КГГ подробно описан в главе 2.

Результаты исследований для пяти доноров представлены на гистограммах, приведенных ниже (рис. 3.3), в виде зависимости роста показателя КГГ от плотности потока мощности излучения, а также в таблице А.3 Приложения А. На рис. 3.3 приведены значения роста показателя КГГ ± погрешность.

Как следует из приведенных гистограмм, ни при одном значении плотности потока мощности для доноров не наблюдается закономерностей в характере изменения показателя КГГ в зависимости от времени экспозиции. Это может быть связано с тем, что исследование клеток одного донора занимало более одного дня и требовало отбора нового образца для каждого этапа эксперимента. Таким образом, в наблюдаемый эффект могли внести вклад факторы, такие как физическое и эмоциональное состояние донора, температурные флуктуации и т.п., контролировать которые в рамках эксперимента не представлялось возможным.

В противоположность фактору времени экспозиции, практически для всех доноров и времен экспозиции наблюдаются схожие закономерности в отклике клеток на ЭМИ в зависимости от мощности излучения, а именно статистически значимое возрастание параметра КГГ с увеличением плотности потока мощности. Исключением является донор В, где при 10 минутном облучении наблюдаемый эффект не зависит от мощности.

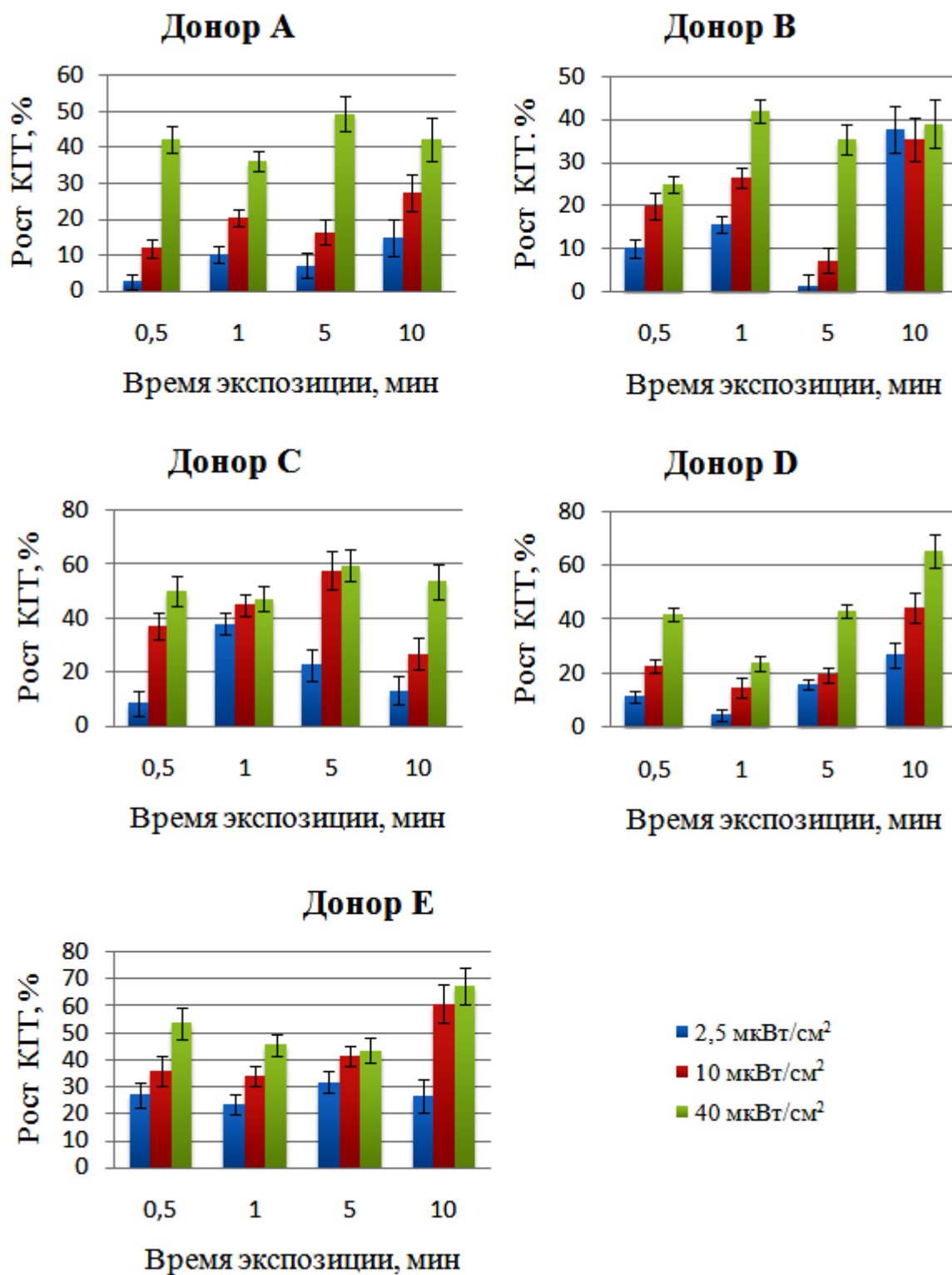


Рисунок 3.3. Влияние электромагнитного излучения на частоте 3.7 ГГц на показатель роста количества гранул гетерохроматина (КГГ) для доноров А – Е

Согласно t-тесту Стьюдента, при 0.5 мин экспозиции у донора А и при 5 мин у донора В и плотности потока мощности, равной 2.5 мкВт/см^2 , показатели КГГ не отличаются от соответствующих контрольных значений, однако в большинстве случаев при данной минимальной мощности облучения изменение показателя КГГ относительно контроля является статистически значимой величиной. Следовательно, нижнее пороговое значение мощности излучения, при котором ещё не наблюдается гранулирования хроматина под действием ЭМИ на частоте 3.7 ГГц, не превышает плотности потока мощности 2.5 мкВт/см^2 .

Таким образом, полученные результаты подтверждают сделанный в предыдущем подразделе вывод о том, что одним из откликов клетки на действие ЭМИ является конденсация хроматина.

Имеет место наличие значительного эффекта ЭМИ микроволнового диапазона рабочей частоты WiMAX 3.7 ГГц при плотностях потока мощности от 2.5 до 40 мкВт/см^2 на клетки человека, проявившегося в увеличение показателя КГГ, что связывают с уменьшением функциональной активности хроматина и клетки в целом [169, 259].

3.3.2. Изменение состояния клеточной мембраны под действием электромагнитного излучения с частотой 3.7 ГГц

Исследования проводились на клетках пяти доноров: трех доноров мужского пола разного возраста: донор А – 35 лет, В – 25 лет, С – 24 года, и двух доноров женского пола: донор D – 22 года, Е – 54 года.

Облучение образцов производилось при пяти значениях плотности потока мощности на поверхности облучаемого объекта: 40 мкВт/см^2 , 20 мкВт/см^2 , 10 мкВт/см^2 , 2.5 мкВт/см^2 и 1.25 мкВт/см^2 . Продолжительность облучения составляла 0.5, 1, 5 и 10 мин. Состояние мембраны определялось методом окрашивания клеток раствором индигокармина.

Данные эксперимента по облучению клеток пяти доноров на частоте WiMAX – 3.7 ГГц, представлены на рис. 3.4 (приведены значения роста показателя ОКИ \pm погрешность).

Как будет показано ниже, выраженной закономерности в характере зависимости ОКИ от времени, так же как и в зависимости КГГ, приведенной выше, для этого типа излучения обнаружено не было, поэтому наиболее наглядным является представление результатов в виде зависимости ОКИ от плотности потока мощности. Специфика проведения данного типа эксперимента для разных мощностей излучения требовала отбора разных контрольных образцов. В этом случае ОКИ уже не является однозначным показателем наблюдаемых эффектов, и более информативным является отображение результатов в виде зависимости роста показателя ОКИ (исходные данные приведены в таблице А.4 Приложения А).

Как следует из рис. 3.4, рост ОКИ демонстрирует одинаковый характер зависимости от мощности для всех времен экспозиции и для всех доноров, проявляющийся в виде начального возрастания а, затем, спада, достигающего экстремума в диапазоне плотностей потока мощности 2.5...10 мкВт/см²; при этом, согласно *t*-тесту, мощность 1.25 мкВт/см² является пороговой, начиная с которой эффект действия ЭМИ на проницаемость мембран приобретает статистическую значимость.

В то же время, как было показано выше, при тех же условиях облучения пика грануляции хроматина клеток буккального эпителия по мере увеличения плотности потока мощности обнаружено не было. По-видимому, здесь может иметь место эффект восстановления мембраны после действия ЭМИ, показанный в работах [192, 233], и не проявляющийся на хроматине. Необходимо, однако, указать на результаты работы [234], в которой пик показателя КГГ был все же зафиксирован, однако при этом использовалось широкополосное импульсное излучение с мощностью, варьируемой от 10⁻⁶ до 10⁻² Вт/см² и временем облучения 10 секунд.

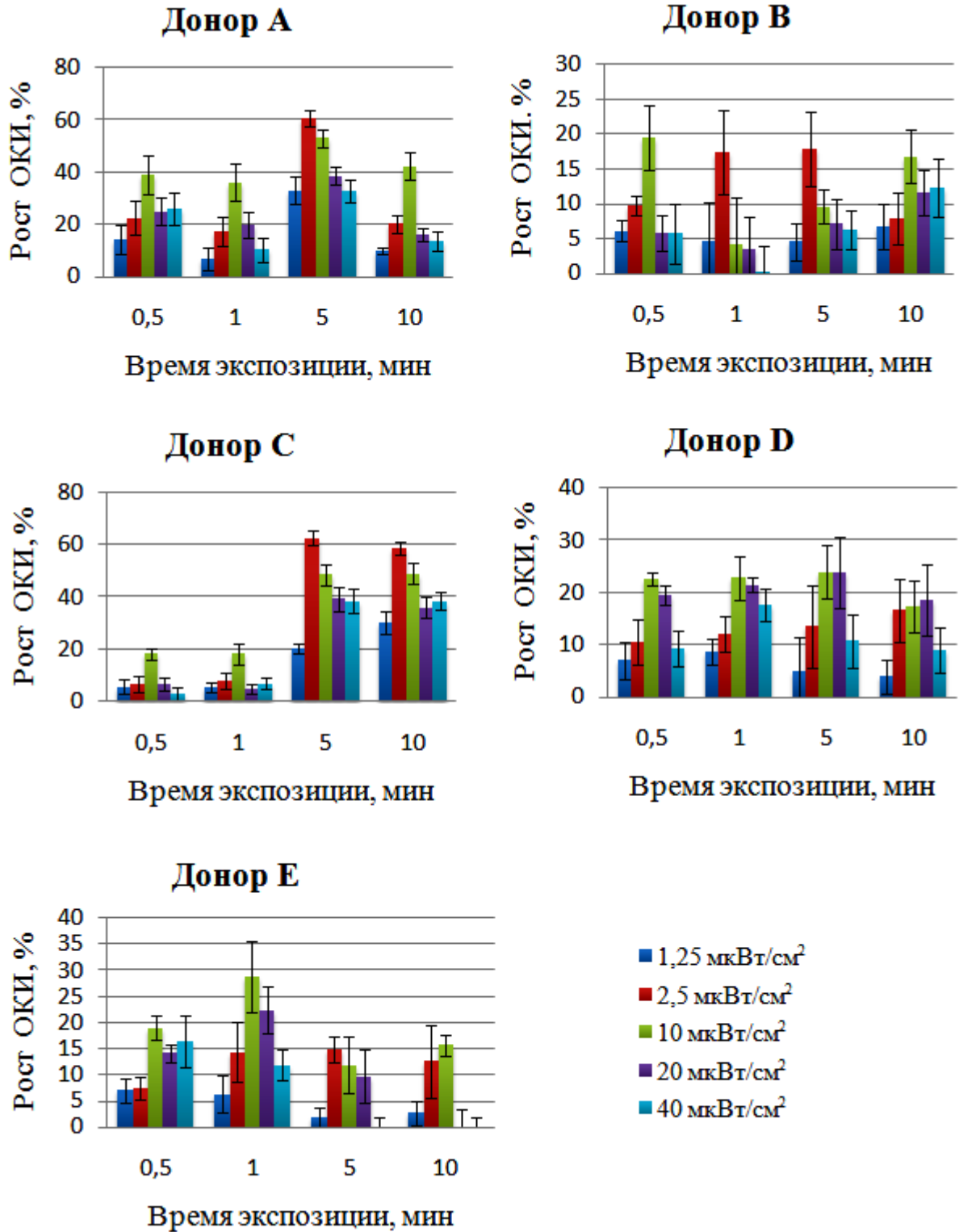


Рисунок 3.4. Влияние электромагнитного излучения на частоте 3.7 ГГц на показатель роста окрашенности клеток индигокармином (ОКИ) для доноров А – Е

Интерпретация этих данных в контексте полученных нами выше результатов в рамках настоящей работы не представляется возможной именно по причине различия характеристик использованного разными авторами ЭМИ.

3.3.3. Анализ результатов исследования эффектов действия электромагнитного излучения на частоте 3.7 ГГц

Анализируя две используемые в данном исследовании методики, можно прийти к выводу, что при малых плотностях потока мощности (до 10 мкВт/см^2) результаты обеих методик являются качественно подобными и демонстрируют увеличение КГГ в ядре и проницаемости мембран при увеличении мощности излучения. Подобная реакция может служить маркером изменения функциональной активности клеток человека после воздействия ЭМИ. Следует также заметить, что показатель КГГ в данной работе являлся более чувствительным к ЭМИ, чем показатель ОКИ. Об этом свидетельствует то, что максимальный рост показателя КГГ колебался от 40 до 70% в зависимости от донора, в то время как максимальный рост показателя ОКИ для большинства доноров был равным 25-30% и только при 5 мин экспозиции для доноров А и С достигал 60%.

Для оценки статистической связи между полученными данными и основными влияющими факторами ЭМИ был проведен дисперсионный анализ ANOVA (таблица 3.2). Среди всех варьируемых факторов на изменение состояние хроматина большее влияние оказывала мощность излучения, в то время как изменение проницаемости клеточных мембран, согласно полученным результатам, проявилось индивидуально для каждого донора, о чем свидетельствует максимальный критерий Фишера для этого фактора.

Результаты ANOVA отклика клеток букального эпителия на электромагнитное излучение с частотой 3.7 ГГц

| Фактор | Критерий Фишера F | Уровень значимости P |
|---|-------------------|----------------------|
| Влияние ЭМИ на частоте 3.7 ГГц на состояние хроматина | | |
| Время | 70.432 | <0.001 |
| Мощность | 416.306 | <0.001 |
| Донор | 196.932 | <0.001 |
| Влияние ЭМИ на частоте 3.7 ГГц на проницаемость клеточных мембран | | |
| Время | 105.1 | <0.001 |
| Мощность | 435.5 | <0.001 |
| Время*Мощность | 17.0 | <0.001 |
| Донор | 1390.8 | <0.001 |
| Донор*Время | 28.8 | <0.001 |
| Донор*Мощность | 25.0 | <0.001 |
| Донор*Время*Мощность | 9.5 | <0.001 |

Исходя из полученных данных в результате двух проведенных в подразделах 3.2 и 3.3 исследований, можно сделать вывод, что, несмотря на различия в источниках (мобильный телефон и искусственный волновод) и характеристиках ЭМИ (мощность, время, частота), наблюдаются схожие закономерности в отклике клеток в зависимости от мощности излучения и времени экспозиции. Тот факт, что параметр КГГ проявил себя как более чувствительный и практически не зависящий от донора в каждом из приведенных выше исследований, может косвенно указывать на единый механизм рецепции ЭМИ, проявляющийся на уровне хроматина и ДНК. Наиболее распространенная гипотеза о влиянии ЭМИ на процесс гетерохроматинизации заключается в изменении электростатических взаимодействий между ДНК и гистоновыми и негистоновыми хромосомными

белками. Среди известных гипотез о молекулярном механизме влияния микроволнового ЭМИ на биологические системы, в частности на ДНК, следует выделить поляризацию связанных зарядов, ориентацию постоянных диполей и движение свободных ионов [56], а также ускорение электронов, движущихся по основаниям ДНК [39, 91] (см. подраздел 1.2), которые могут внести вклад в наблюдаемые в клетках буккального эпителия эффекты. Для получения дополнительной информации о механизме воздействия ЭМИ на клетки буккального эпителия человека было решено рассмотреть вклад каждой из компонент ЭМИ – электрической и магнитной по-отдельности - на наблюдаемые эффекты на уровне хроматина и клеточной мембраны.

3.4. Влияние электрической и магнитной составляющей электромагнитного излучения на состояние хроматина и проницаемость мембран клеток буккального эпителия человека

В предыдущих подразделах было исследовано влияние ЭМИ на частотах мобильной связи и сети WiMAX, также активно применяющейся в сфере мобильных телекоммуникаций на клетки буккального эпителия человека. Таким образом, были рассмотрены частоты, равные 900 МГц и 3.7 ГГц. Известно, что на беспроводную сеть WiMAX отведены диапазоны частот 1.5-11 ГГц, однако диапазон 8-12 ГГц (X-диапазон) активно используется для наземной и спутниковой радиосвязи в военных целях. В данном исследовании использовалось ЭМИ на частоте 8 ГГц, которая является граничной между частотами, которые используются в беспроводных мобильных устройствах и X-диапазоном.

Целью данного исследования, как уже было упомянуто выше, является получение дополнительной информации о воздействии различных компонент ЭМИ на клетки буккального эпителия человека, а также тестирование частоты 8 ГГц, как одного из влияющих факторов.

3.4.1. Изменение состояния хроматина под действием электрической и магнитной составляющей электромагнитного излучения

Отбор клеток для данного исследования производился у трех доноров мужского пола : донор А – 21 год, В – 21 год, С – 24 года, и двух женского пола: донор D – 23 года, E – 21 год. Процедура облучения проводилась в волноводном тракте, в котором была сформирована стоячая волна с частотой 8 ГГц и плотностью потока мощности ~ 60 мВт/см². Образец располагался в рассчитанных в соответствии с частотой и характеристиками волновода максимумах электрической и магнитной составляющей излучения (см. рис. 3.5), а также в положении, равноудаленном от данных максимумов.

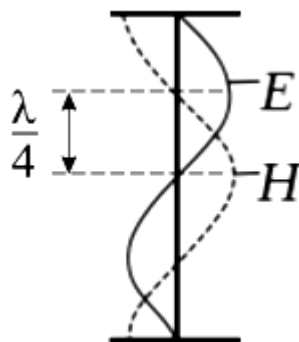


Рисунок 3.5. Расположение максимумов электрической (E) и магнитной (H) волны вдоль волновода (λ – длина излучаемой волны)

Продолжительность облучения составляла 5 мин. Данное время экспозиции было выбрано на основании результатов подразделов 3.2 и 3.3, так как при 5 мин облучения ЭМИ наблюдалось значительное увеличение исследуемых показателей относительно контроля.

Результаты по влиянию электрической и магнитной составляющих ЭМИ на показатель КГГ для всех доноров представлены на рис. 3.6 (исходные данные приведены в таблице А.5 Приложения А). На гистограммах указаны средние значения КГГ \pm значения стандартной ошибки среднего.

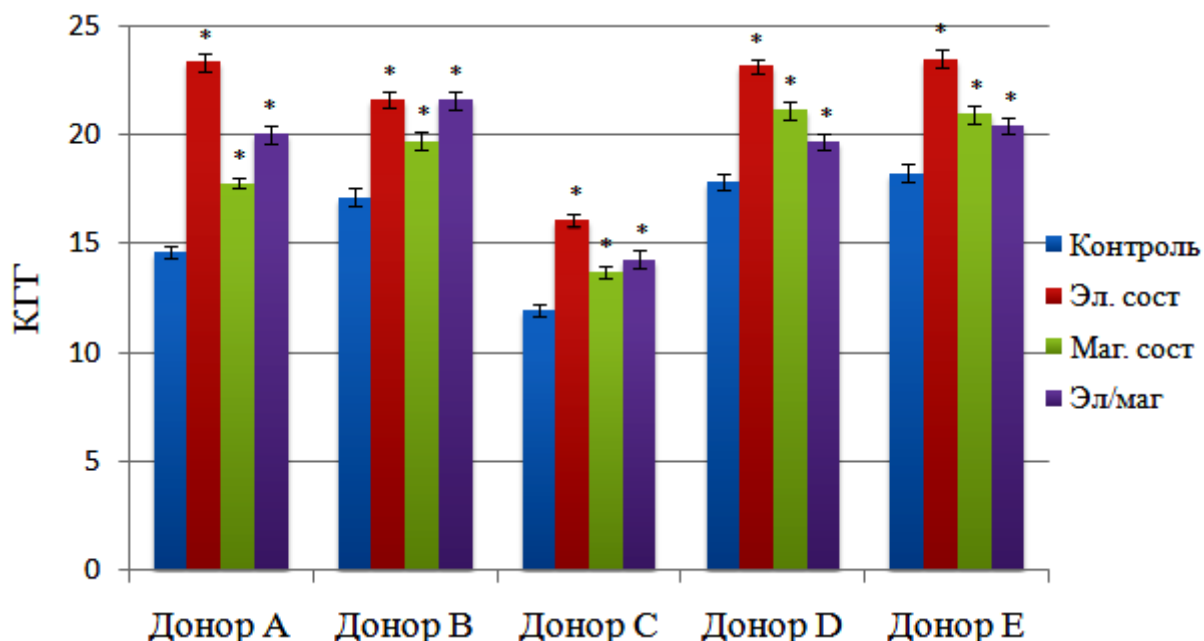


Рисунок 3.6. Влияние электрической и магнитной составляющей излучения на показатель КГГ для пяти доноров, * - статистически значимое отклонение от контрольного значения.

Ключевым результатом данного эксперимента является то, что при данной частоте и длительности экспозиции для всех доноров во всех рассмотренных случаях наблюдается статистически значимое увеличение показателя КГГ относительно контрольного значения. Это согласуется с данными, полученными ранее [245] и ещё раз доказывает, что конденсация хроматина (изменение показателя КГГ) может быть рассмотрена как маркер отклика клетки на ЭМИ.

Однако наиболее важным результатом в контексте настоящей работы является то, что для каждого донора электрическая составляющая ЭМИ оказывает большее влияние на увеличение показателя КГГ, чем магнитная и электромагнитное поле, согласно t-тесту Стьюдента. Результаты t-теста представлены в таблице 3.3. Разница между показателями КГГ для пар «электрическая – магнитная» и «электрическая – электромагнитная» для всех доноров является статистически значимой. Статистических различий между

воздействием магнитной компоненты и воздействием электромагнитного поля согласно t-тесту не наблюдалось.

Таблица 3.3

Результаты t-теста по сравнению показателей КГГ для электрической и магнитной составляющих электромагнитного излучения

| Донор | Количество повторов | <КГГ> | t-критерий | Уровень значимости |
|-------|---------------------|--------------|------------|--------------------|
| А | 30 | 23.37 ± 0.39 | 12.454 | (+) P=0.001 |
| | 30 | 17.79 ± 0.22 | | |
| В | 30 | 21.63 ± 0.39 | 3.221 | (+) P=0.002 |
| | 30 | 19.75 ± 0.43 | | |
| С | 30 | 16.10 ± 0.28 | 5.799 | (+) P=0.001 |
| | 30 | 13.70 ± 0.31 | | |
| D | 30 | 23.20 ± 0.32 | 3.913 | (+) P=0.001 |
| | 30 | 21.17 ± 0.41 | | |
| Е | 30 | 23.53 ± 0.42 | 4.382 | (+) P=0.001 |
| | 30 | 20.97 ± 0.41 | | |

Примечание:

<КГГ> - среднее значение показателя КГГ (количество ядер n=30),

± - стандартная ошибка среднего

3.4.2. Изменение проницаемости клеточной мембраны под действием электрической и магнитной составляющей электромагнитного излучения

Исследования производились на клетках трех доноров мужского пола : донор А – 21 год, В – 21 год, С – 24 года, и двух женского пола: донор D – 23 года, Е – 21 год. Образец облучался ЭМИ на частоте 8 ГГц с плотностью потока мощности ~60 мВт/см² в максимумах электрической и магнитной

составляющей излучения, а также в положении, равноудаленном от данных максимумов. Продолжительность облучения составляла 5 минут.

Данные исследования по влиянию электрической и магнитной составляющих ЭМИ на показатель ОКИ для всех доноров представлены на рис. 3.7 (исходные данные представлены в таблице А.6 Приложения А). На гистограммах указаны средние значения ОКИ \pm значения стандартной ошибки среднего.

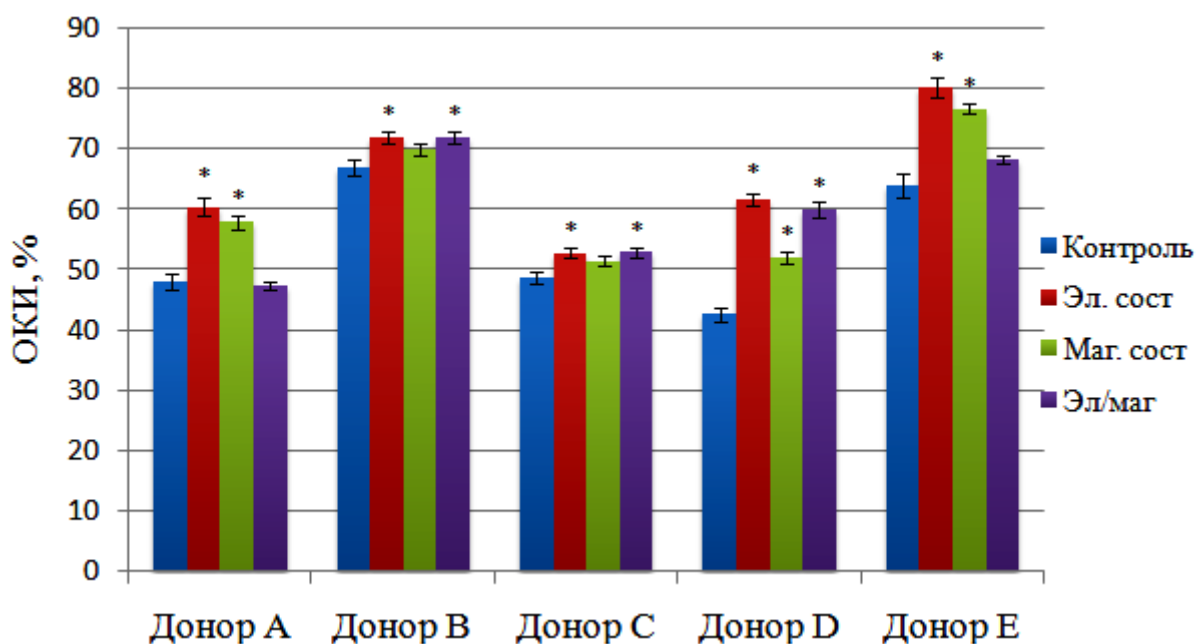


Рисунок 3.7. Влияние электрической и магнитной составляющей излучения на показатель ОКИ для пяти доноров, * - статистически значимое отклонение от контрольного значения

Как видно из приведенных выше гистограмм, для всех доноров наблюдается статистически значимое увеличение проницаемости мембран при действии электрического компонента излучения. Реакция мембран клеток для магнитного и смешанного компонента носят индивидуальный характер для каждого донора. В целом, зависимость показателя ОКИ от различных составляющих излучения не демонстрирует четкой тенденции, достоверное превышение эффекта электрической составляющей ЭМП над магнитной

отмечено только для клеток одного донора (донор Д), согласно результатам t-теста, представленным в таблице 3.4.

Таблица 3.4

Результаты t-теста по сравнению показателей ОКИ для электрической и магнитной составляющих электромагнитного излучения

| Донор | Количество повторов | <ОКИ> | t-критерий | Уровень значимости |
|-------|---------------------|--------------|------------|--------------------|
| А | 3 | 60.54 ± 1.52 | 1.313 | (-) P=0.259 |
| | 3 | 57.96 ± 1.25 | | |
| В | 3 | 72.15 ± 1.00 | 1.623 | (-) P=0.180 |
| | 3 | 69.98 ± 0.89 | | |
| С | 3 | 52.89 ± 0.75 | 1.237 | (-) P=0.284 |
| | 3 | 51.57 ± 0.75 | | |
| D | 3 | 61.77 ± 1.07 | 6.804 | (+) P=0.002 |
| | 3 | 52.14 ± 0.93 | | |
| E | 3 | 80.19 ± 1.65 | 1.891 | (-) P=0.132 |
| | 3 | 76.69 ± 0.85 | | |

Примечание:

<ОКИ> - среднее значение показателя ОКИ (количество ядер n=3),

± - стандартная ошибка среднего

Таким образом, ЭМИ с частотой 8 ГГц и плотностью потока мощности порядка 60 мВт/см² оказывает большее влияние на ядро клетки (повышение гетерохроматинизации), чем на нарушение целостности мембран (рост показателя ОКИ). Таким образом, наиболее значимый эффект, наблюдаемый нами в эксперименте, заключается в конденсации хроматина.

Следует также отметить, что изменение КГГ под воздействием электромагнитной составляющей ЭМИ проявилось более слабо (рост

показателя КГГ составил 10-35%), в то время как при 5 мин облучении на частоте 3.7 ГГц и мобильного телефона при максимальных мощностях рост КГГ был равен 35-60% и 20-50% соответственно. Таким образом, в рамках исследуемых в данной работе условий, ЭМИ на частоте 3.7 ГГц оказывало наиболее интенсивное действие на состояние хроматина. Этот факт следует принять во внимание при подборе условий облучения в дальнейших главах работы.

В таблице 3.5 представлены результаты дисперсионного анализа ANOVA данного этапа исследования.

Таблица 3.5

Результаты двухфакторного дисперсионного анализа ANOVA

| Фактор | Критерий Фишера F | Уровень значимости P |
|--|-------------------|----------------------|
| Влияние ЭМИ на состояние хроматина | | |
| Донор | 4.4 | 0.04 |
| Компонент | 10.1 | 0.01 |
| Влияние ЭМИ на проницаемость клеточных мембран | | |
| Донор | 5.3 | 0.02 |
| Компонент | 1.8 | 0.23 |

Как и следовало ожидать, фактор «Компонент» ЭМИ внес наибольший вклад в наблюдаемую конденсацию хроматина. Фактор «Донор» являлся определяющим в реакции клеточной мембраны на ЭМИ. Следует отметить, что эти данные согласуются с результатами, описанными выше. Таким образом, независимо от параметров ЭМИ, изменение проницаемости мембраны под действием микроволнового излучения для каждого донора проявляется индивидуально.

3.5. Общие представления о механизме нетеплового действия электромагнитного излучения на клетки букального эпителия человека

Существуют свидетельства о наличии электростатического взаимодействия между отрицательно заряженной ДНК и положительно заряженными белками-гистонами в нуклеосоме [176], а также что данное взаимодействие во многом обуславливает состояние хроматина [136, 150, 151, 221]. В настоящее время предложены различные механизмы влияния ЭМИ на живые организмы, основными из которых являются поляризация связанных зарядов, ориентация постоянных диполей и перемещение свободных ионов [56]. Важную роль в этих механизмах играет электрическое поле. На уровне нуклеосомы влияние электрической компоненты ЭМИ предположительно должно проявляться следующим образом: под действием облучения происходит перераспределение заряда компонентов нуклеосомы, что в свою очередь приведет к ослаблению или усилению связи гистон-ДНК, то есть к деконденсации или конденсации хроматина, соответственно.

Полученные в данной главе результаты косвенно согласуются с этими представлениями, а именно, на уровне хроматина нами наблюдался больший эффект действия электрической составляющей ЭМИ, чем магнитной. Отметим, однако, что это не исключает роли магнитного поля в отклике клеток. Известно [56], что магнитные поля индуцируют электрические токи в организме, зависящие от условий облучения и расположения объекта в поле, которые в свою очередь действуют по описанной выше схеме. Данная модель соответствует полученным в работе результатам: и при действии как электрической, так и магнитной составляющей ЭМИ наблюдается увеличение показателя КГГ, однако действие электрического поля на хроматин выражено сильнее, чем действие магнитного.

Что касается биологической интерпретации полученных результатов, можно предположить, что изменения в проницаемости клеточных мембран и структуры хроматина связаны с первичными механизмами действия ЭМИ на

клетки человека. Изменения структуры хроматина – процесс гетерохроматинизации может быть связан с молекулярными изменениями, в первую очередь изменениями в электростатических взаимодействиях между ДНК и белками в ядре, индуцированными ЭМИ. Важность данного механизма действия ЭМИ на клеточном уровне была изложена в работе [173]. Более того, хорошо известна роль переходов эухроматин-гетерохроматин в регуляции активности генов [169]. Полученные в данной работе результаты не позволяют заключить, связаны ли изменения структуры хроматина непосредственно с ЭМИ или же с вторичными клеточными реакциями, к примеру, происходящими посредством изменения внутриклеточной концентрации ионов. Подобные изменения, индуцированные ЭМИ, в частности, изменения во внутриклеточном содержании ионов Ca^{2+} , уже представлены в работе [195], так же как и важность сигнальной функции ионов Ca^{2+} в клеточной регуляции [138]. Тем не менее в данной работе было продемонстрировано возрастание проницаемости клеточных мембран для витального красителя индигокармина (молекулярная масса 466.36 г/моль). Вполне естественно предположить, что проницаемость клеточной мембраны для ионов, в том числе и для ионов Ca^{2+} также увеличивается под действием ЭМИ рассмотренных характеристик. В любом случае, результаты данной главы демонстрируют способность микроволнового излучения влиять на важнейшие аспекты внутриклеточной регуляции.

3.6. Влияние побочных факторов эксперимента на состояние хроматина и проницаемость мембран клеток буккального эпителия человека

3.6.1. Роль воды в рецепции электромагнитного излучения

Некоторые исследователи предполагают, что ЭМИ может не влиять непосредственно на клетки биологического объекта, а действовать косвенно через воду, как основного компонента любой биологической жидкости, например, путем изменения некоторых физических свойств воды [2, 118] или путем её дегазации [25]. Более того, поскольку в качестве маркера реакции

клетки выступали сторонние соединения (орсеин и индигокармин), вводимые в среду, можно предположить, что наблюдаемые эффекты действия ЭМИ могут быть отчасти связаны с изменением некоторых свойств красителей в облученной водной среде.

С целью выяснения роли воды в рецепции ЭМИ в рамках использованных методик регистрации изменения проницаемости мембран и грануляции хроматина, были проведены два дополнительных исследования, описанных ниже.

Изменение спектров поглощения красителей под действием ЭМИ. Буферный раствор помещался в пробирки типа эппендорф и подвергался облучению мобильного телефона со значением SAR 0.531 Вт/кг в течение часа. В каждый образец добавлялся краситель индигокармин в концентрации 1 ммоль/л или орсеин в соотношении орсеин : буферный раствор = 1 : 60. Затем снимались спектры красителей в облученном растворе в ультрафиолетовой и видимой области и сравнивались со спектром контрольного необлученного образца. На рис. 3.8 в качестве примера представлено изменение оптической плотности индигокармина в максимумах его поглощения ($\lambda=608$ нм) [222].

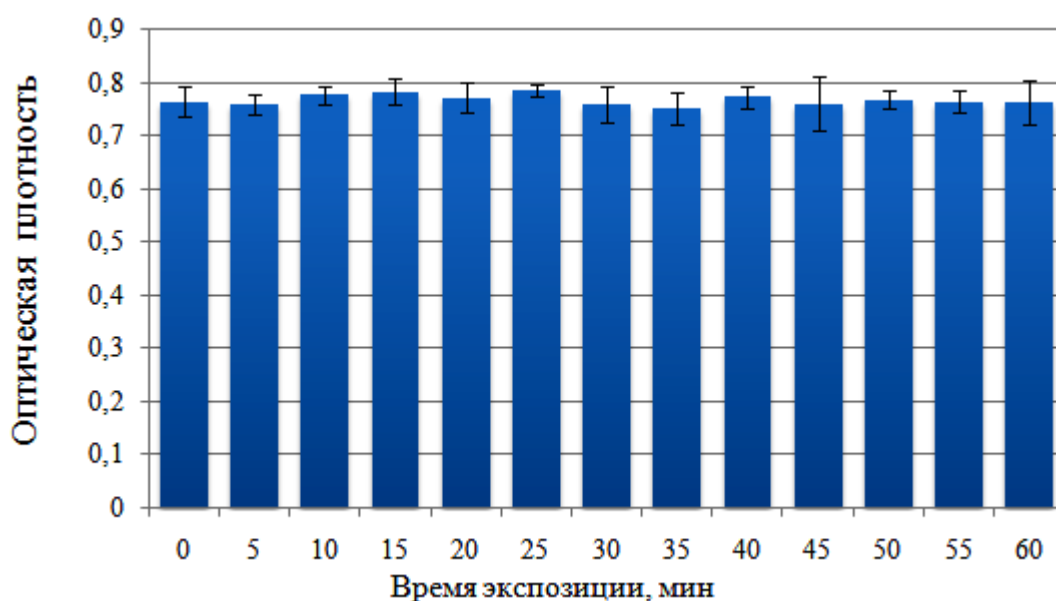


Рисунок 3.8. Изменение оптической плотности раствора индигокармина при облучении электромагнитным излучением мобильного телефона

Статистически значимых изменений спектров орсеина и индигокармина при облучении ЭМИ мобильного телефона обнаружено не было. Таким образом, можно сделать вывод, что в рамках использованной методики эффект действия ЭМИ на систему «краситель-вода» отсутствует.

Изменение состояния хроматина и клеточной мембраны при помещении клеток в предварительно облученный буферный раствор. Фосфатный буфер подвергался облучению мобильного телефона в течение 15, 30 и 45 мин. Далее клетки буккального эпителия помещались в облученный буфер, после чего следовала оценка показателей КГГ и ОКИ по описанным выше методикам. На рисунке 3.9 приведены результаты данного исследования (средние значения ОКИ и КГГ \pm стандартные ошибки среднего, исходные данные представлены в таблице А.7 приложения А).

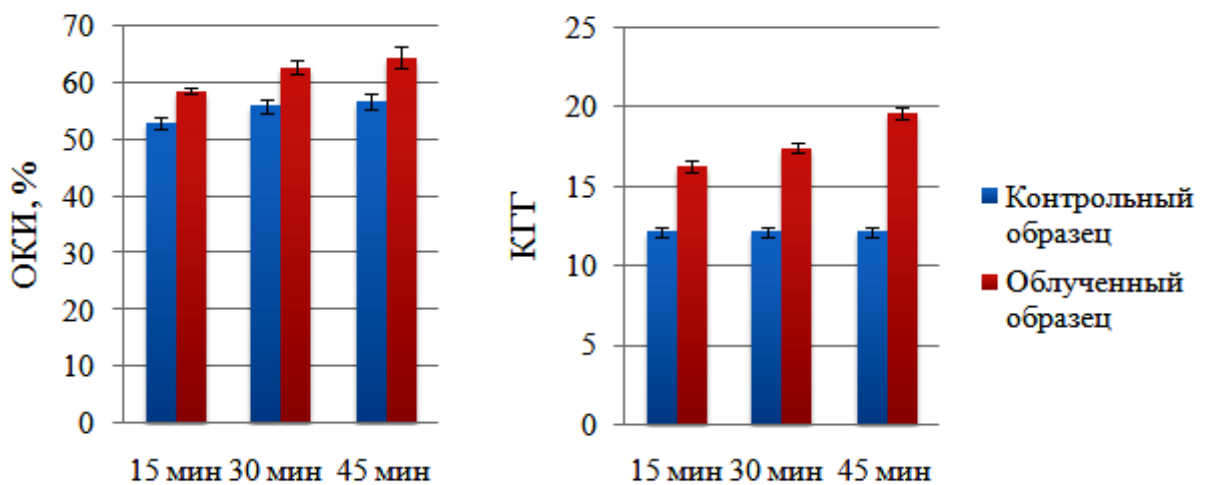


Рисунок 3.9. Изменение показателей ОКИ и КГГ при помещении клеток в предварительно облученный буферный раствор

Статистически значимые изменения были обнаружены для каждого показателя. Для времен экспозиции 15, 30 и 45 мин относительное изменение показателя КГГ было равным 34%, 44% и 62% соответственно, в то время как изменение показателя ОКИ было менее интенсивным и составило 10%, 12% и

13% соответственно. Это позволяет предположить, что облученный буферный раствор может в некоторой степени вносить вклад в изменения структуры хроматина и проницаемости клеточных мембран, наблюдаемые в данной работе. Схожее явление было выявлено в работе [117], где было показано, что буферный раствор, предварительно облученный ЭМИ частотой 42.2 ГГц с плотностью потока мощности 2 мВт/см^2 , оказывал влияние на активность Ca^{2+} -активированных K^+ -каналов с низкой активностью и снижал активность каналов с высоким уровнем активности. Эффект ЭМИ на ДНК в предварительно облученном растворе также наблюдался в работе [1]. Следовательно, роль водной среды как первичного рецептора ЭМИ необходимо учитывать при поиске механизма действия микроволнового излучения на клеточном уровне.

3.6.2. Влияние времени пребывания в буферном растворе на состояние хроматина и проницаемость мембран буккального эпителия человека

Для того чтобы доказать, что наблюдаемые в подразделах 3.2 – 3.4 изменения в структурах хроматина и клеточной мембраны происходили за счет воздействия внешних факторов, а не деградации клеточной линии, был проведен следующий методический эксперимент.

Клетки буккального эпителия человека помещались в фосфатный буфер. Каждые 15 мин в течение двух часов (среднее время проведения эксперимента) производился анализ состояния гетерохроматина и клеточной мембраны согласно методикам, описанным в подразделах 2.2 и 2.4 соответственно. В ходе проведения данного эксперимента не было обнаружено статистически значимых отклонений показателей КГГ и ОКИ от контрольных образцов. Эти данные полностью соответствуют работам [27, 246], в которых не было обнаружено видимых изменений структуры ядра и клеточной мембраны при нахождении клеток в буферном растворе в течение суток.

Таким образом, можно утверждать, что в ходе проведения экспериментов в отсутствие воздействия внешних факторов клетки буккального эпителия

человека сохраняли постоянное число гранул гетерохроматина и процент окрашенных индигокармином клеток.

3.7. Заключение

В настоящей главе была рассмотрена реакция клеток буккального эпителия на ЭМИ различных характеристик: излучение рабочей частоты WiMAX (3.7 ГГц) с варьируемыми мощностью и временем экспозиции, излучение мобильных телефонов (900 МГц) с двумя различными уровнями SAR, а также отклик клеток на электрическую и магнитную составляющую ЭМИ на частоте 8 ГГц по отдельности.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о наличии существенного влияния микроволнового излучения рабочей частоты WiMAX при плотности потока мощности до 40 мкВт/см^2 на клетки буккального эпителия человека. Установлен характер изменения состояния хроматина и проницаемости мембраны в зависимости от времени экспозиции и мощности излучения. Показано, что реакция клетки в виде изменения степени проницаемости мембраны на величину плотности потока мощности ЭМИ частотой 3.7 ГГц характеризуется четким максимумом в диапазоне плотностей потока $2.5 \dots 10 \text{ мкВт/см}^2$, при этом мощность 1.25 мкВт/см^2 является пороговой, начиная с которой эффект действия ЭМИ на проницаемость мембран приобретает статистическую значимость. Также наблюдается увеличение числа гранул гетерохроматина при возрастании мощности излучения, при этом нижнее пороговое значение мощности, при котором ещё не наблюдалось гранулирование хроматина, не превышает плотности потока мощности 2.5 мкВт/см^2 .

Полученные результаты также указывают на статистически значимый отклик клеток буккального эпителия человека на излучение мобильного телефона, проявившийся в изменении числа гранул гетерохроматина в ядрах и

проницаемости мембран. Наблюдаемые изменения являются качественно подобными и характеризуются пороговым значением времени, не превышающим 1 мин, и насыщением при времени экспозиции большем, чем 30 мин. Продолжительность ЭМИ оказывала большое влияние на отклик клеток, в то время как уровень SAR мобильного телефона практически не вносил вклад в наблюдаемый эффект.

При облучении клеток ЭМИ с частотой 8 ГГц также было зафиксировано изменение количества гранул гетерохроматина и проницаемости мембран относительно контрольного значения. Электрическая составляющая ЭМП оказывает незначительно преобладающее влияние на увеличение гетерохроматинизации в сравнении с магнитной для всех доноров. Для показателя окрашенности клеток индигокармином при тех же условиях облучения подобной закономерности выявлено не было.

Результаты исследований и дисперсионный анализ ANOVA показали, что параметр КГГ проявил большую чувствительность к изменениям характеристик ЭМП (таких как мощность, время экспозиции и компонента ЭМИ). Изменение проницаемости клеточных мембран было менее выражено и носило индивидуальный характер для каждого донора. Также следует отметить, что ЭМИ на частоте 3.7 ГГц приводило к наиболее интенсивному росту КГГ, достигающему своего максимума при 10 мин облучении при плотности потока мощности 40 мкВт/см^2 , что следует учесть при подборе условий облучения в дальнейших главах работы.

При помещении клеток в предварительно облученный буферный раствор наблюдались значительные изменения в структуре хроматина и проницаемости клеточных мембран, подобные полученным при непосредственном облучении самих клеток, помещенных в буферный раствор. Таким образом, можно предположить, что вода может рассматриваться как первичный рецептор микроволнового ЭМИ, который в определенной степени вносит вклад в наблюдаемый отклик клетки на ЭМИ.

В целом, имеющиеся экспериментальные данные позволили установить факт действия ЭМИ на клетки буккального эпителия человека. В данной главе определены оптимальные параметры ЭМИ по времени экспозиции и мощности излучения, при которых наблюдается значительный отклик исследуемой системы, а также обсуждены возможные механизмы рецепции ЭМИ.

Представленные в данной главе результаты опубликованы в работах [16-20, 250].

Глава 4. КОМБИНИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА СОСТОЯНИЕ ЯДРА И ХРОМАТИНА КЛЕТОК БУККАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ ЧЕЛОВЕКА

4.1. Введение

В предыдущей главе было рассмотрено действие ЭМИ различных характеристик на клетки буккального эпителия человека. Одним из важных результатов исследования, проведенного в главе 3, явилась гипотеза о том, что первичной мишенью действия слабого ЭМИ микроволнового диапазона на клеточном уровне является ядерный хроматин [52, 56]. Учитывая это, особое внимание следует уделить изучению соединений, механизм действия которых обусловлен комплексообразованием с ядерной ДНК. Наиболее распространенной группой БАС, механизм биологического действия которых обусловлен связыванием с ядерной ДНК, являются ароматические ДНК-интеркаляторы [133, 211]. В настоящей работе в качестве исследуемых препаратов использовали типичные и сравнительно хорошо изученные ДНК-связывающиеся ароматические БАС: противоопухолевый антибиотик доксорубицин (DOX) и ароматические мутагены профлавин (PF) и бромистый этидий (EB). В качестве тест-системы также будут рассмотрены соединения, не вызывающие биологический эффект путем воздействия на хроматин – кофеин (CAF) и C₆₀ фуллерен.

Анализ основных работ, посвященных комбинированному действию ЭМИ и перечисленных БАС [84, 180, 269, 287] (см. подраздел 1.4) показал, что существующие немногочисленные данные о комбинированном взаимодействии ароматических БАС и ЭМИ достаточно противоречивы и наблюдаемый эффект может зависеть как от выбора биологического объекта исследования, так и от параметров облучения ЭМИ.

В настоящей работе с целью выявления возможной роли ЭМИ в регуляции биологической активности ароматических БАС исследовано комбинированное действие слабого ЭМИ миллиметрового диапазона и ДНК-связывающихся препаратов DOX, EB и PF на клетки буккального эпителия человека. Исследования проводились на клетках буккального эпителия трех доноров, двух доноров женского пола: донор А – 24 года, В – 20 лет, и одного донора мужского пола: донор С – 21 год. Как уже упоминалось ранее, в задачи данной работе не входит детальное исследование механизмов взаимодействия клеток буккального эпителия с внешними факторами, требующие рассмотрения большого количества доноров. Согласно литературным данным [233, 234, 243], а также результатам главы 3, для выявления общих закономерностей клеточного отклика на внешние воздействия выбранное в данном исследовании количество доноров является оптимальным.

4.2. Индивидуальное действие биологически активных соединений на клетки буккального эпителия человека

Прежде чем исследовать комбинированное действие БАС и слабого ЭМИ микроволнового диапазона, необходимо рассмотреть действие препаратов в отсутствии излучения. Это позволит определить оптимальное время экспозиции и концентрацию веществ, а также является важной ступенью для более глубокого понимания возможных механизмов действия БАС и ЭМИ на клеточном уровне.

4.2.1 Действие ДНК-связывающихся биологически активных соединений на состояние ядра и хроматина и проницаемость мембран клеток буккального эпителия человека

Данное исследование было проведено с целью выявления зависимости клеточного отклика от концентрации каждого из исследуемых препаратов

(DOX, EB, PF) и времени экспозиции, а также определения оптимальных условий для последующего исследования этих соединений в комбинации с молекулами-интерцепторами. Производилось комплексное исследование электрокинетических свойств ядер и состояния хроматина, а также проницаемости клеточной мембраны, на основании измерения соответствующих параметров: показатели ЭОЯ, КГГ и барьерной функции мембран (показатель ОКИ) относительно контрольного образца при воздействии исследуемого вещества на клетки буккального эпителия. В работе рассматривался диапазон времен экспозиции клеточной культуры в присутствии препаратов от 10 мин до 3 час при концентрациях препаратов от 10^{-8} до 10^{-5} моль/л. Полученные результаты (таблицы с данными измерений, а также результаты t-теста Стьюдента) представлены в таблице Б.1 в Приложении, а также на рис. 4.1 (средние значения показателей \pm стандартная ошибка среднего).

Анализ влияния действующих веществ DOX, EB, PF на проницаемость мембран клеток буккального эпителия показал, что процент ОКИ для каждого образца остается неизменным в пределах диапазона статистической незначимости различия при всех исследованных концентрациях, временах экспозиции и для всех доноров. Следовательно, ни один из препаратов не вызывает изменения барьерной функции клеточных мембран и этот параметр может быть исключен из дальнейшего рассмотрения. Вместе с тем изменения в структуре гетерохроматина и электроотрицательности ядер являются очевидными.

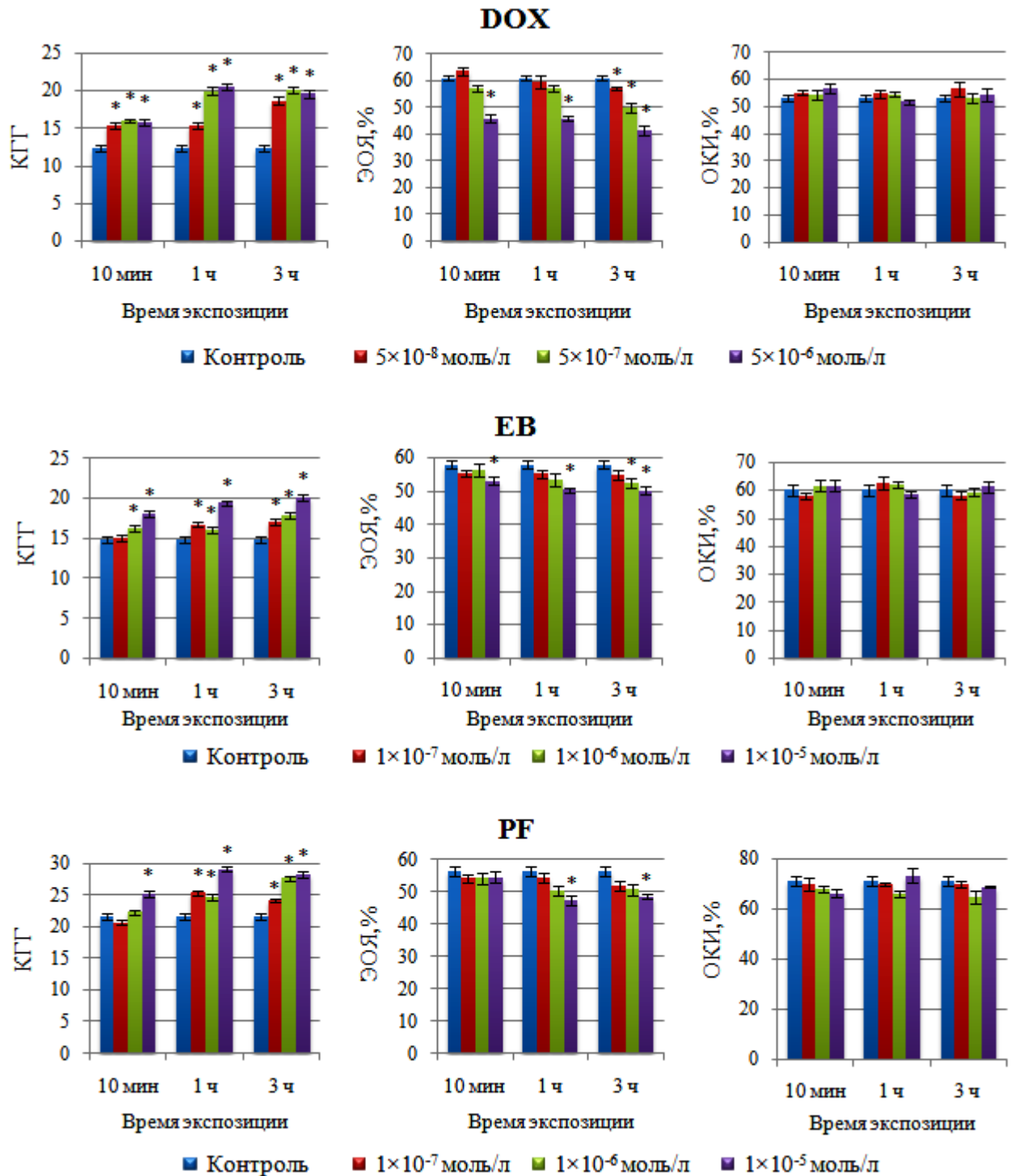


Рисунок 4.1. Влияние ДНК-связывающихся препаратов на состояние ядра (ЭОЯ) и хроматина (КГГ) и проницаемость мембран (ОКИ) клеток буккального эпителия человека;

* - статистически значимое отклонение от контрольного значения

Из приведенных гистограмм следует увеличение параметра КГГ в зависимости от концентрации и времени экспозиции. Было выявлено, что уже после 10 мин экспозиции DOX при концентрациях $5 \cdot 10^{-8}$ - $5 \cdot 10^{-6}$ моль/л в клетках буккального эпителия наблюдается статистически значимое увеличение КГГ, в то время как для EB и PF подобный отклик имеет место при концентрациях от $1 \cdot 10^{-6}$ моль/л и $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л соответственно. При дальнейшем увеличении времени экспозиции до 1 часа увеличение числа гранул гетерохроматина наблюдается при всех исследуемых концентрациях.

Изменение показателя ЭОЯ проявляет отрицательную корреляцию с показателем КГГ для всех исследуемых веществ. Подобная корреляция между электроотрицательностью клеточного ядра и состоянием хроматина была установлена ранее [31] и указывает на единообразный характер проявления механизма действия препаратов на состояние ядра. В подразделах 2.2 и 2.3 было упомянуто, что и грануляция гетерохроматина, и уменьшение показателя ЭОЯ указывают на уменьшение функциональной активности ядер. Наиболее интенсивные изменения ЭОЯ в клетках буккального эпителия наблюдаются в присутствии DOX при максимальной концентрации $5 \cdot 10^{-5}$ моль/л начиная с 10 мин экспозиции. Подобная картина, но в меньшей степени, наблюдается и в присутствии EB. PF оказывает более слабое влияние на электрокинетические свойства ядер, так как статистически значимый отклик клеток наблюдается после часа экспозиции только для максимальной концентрации вещества.

Результаты проведенного исследования в целом соответствуют имеющимся на данный момент сведениям о генотоксическом действии исследуемых ДНК-интеркаляторов. В частности, есть свидетельства о том, что DOX вызывает хромосомные aberrации в лейкоцитах человека [270], в соматических и герминальных клетках мышей [41], а также приводит к апоптозу посредством оксидативного стресса [183]. Под действием EB наблюдалась конденсация хроматина в лимфоцитах человека [50] и положительная суперспирализация ДНК в клетках *E.coli* [269]. PF вызывает

мутации по типу сдвига рамки в вирусах, бактериофагах и бактериях, и также приводит к нарушению активности ДНК в клетках млекопитающих [153].

4.2.2 Действие фуллерена C₆₀ и САФ на состояние ядра и хроматина и проницаемость мембран клеток буккального эпителия человека

Для определения возможного влияния фуллерена C₆₀ и САФ на клетки буккального эпителия был проведен эксперимент, подобный изложенному выше с ДНК-связывающимися препаратами. Рассматривался диапазон времен экспозиции в присутствии препаратов от 10 мин до 3 час при концентрациях фуллерена C₆₀ от $5 \cdot 10^{-7}$ до $5 \cdot 10^{-5}$ моль/л и САФ от $2 \cdot 10^{-5}$ до $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л. Полученные результаты (таблицы с данными измерений, а также результаты t-теста Стьюдента) представлены в таблице Б.2 в Приложении, а также на рис. 4.2 (средние значения показателей \pm стандартная ошибка среднего).

Исследование действия C₆₀ фуллерена и САФ на клетки буккального эпителия показало, что для всех рассмотренных концентраций и доноров не наблюдается статистически значимых изменений ни в одном показателе. Отсюда следует, что C₆₀ фуллерен и САФ сами по себе не проявляют выраженного повреждающего действия на клеточные мембраны и ядро в условиях эксперимента. Этот результат находится в согласии с распространенным мнением о нетоксичности немодифицированного C₆₀ фуллерена и САФ к клеточным органеллам [206, 248].

Как уже упоминалось ранее в подразделе 1.3.2, фуллерен C₆₀ и САФ не действуют на ДНК и проявляют биологический синергизм *in vitro* косвенно путем комплексообразования с другими БАС [70, 111, 115, 179], что соответствует полученным выше результатам на клетках буккального эпителия. Принимая во внимание изменения в структуре хроматина и электроотрицательности ядер под действием DOX/EB/PF, представленные на рис. 4.1, можно сделать вывод, что исследуемые препараты при введении в клеточную суспензию действуют непосредственно на уровне хроматина, при этом фуллерен C₆₀ и САФ не оказывают на ДНК видимого прямого воздействия.

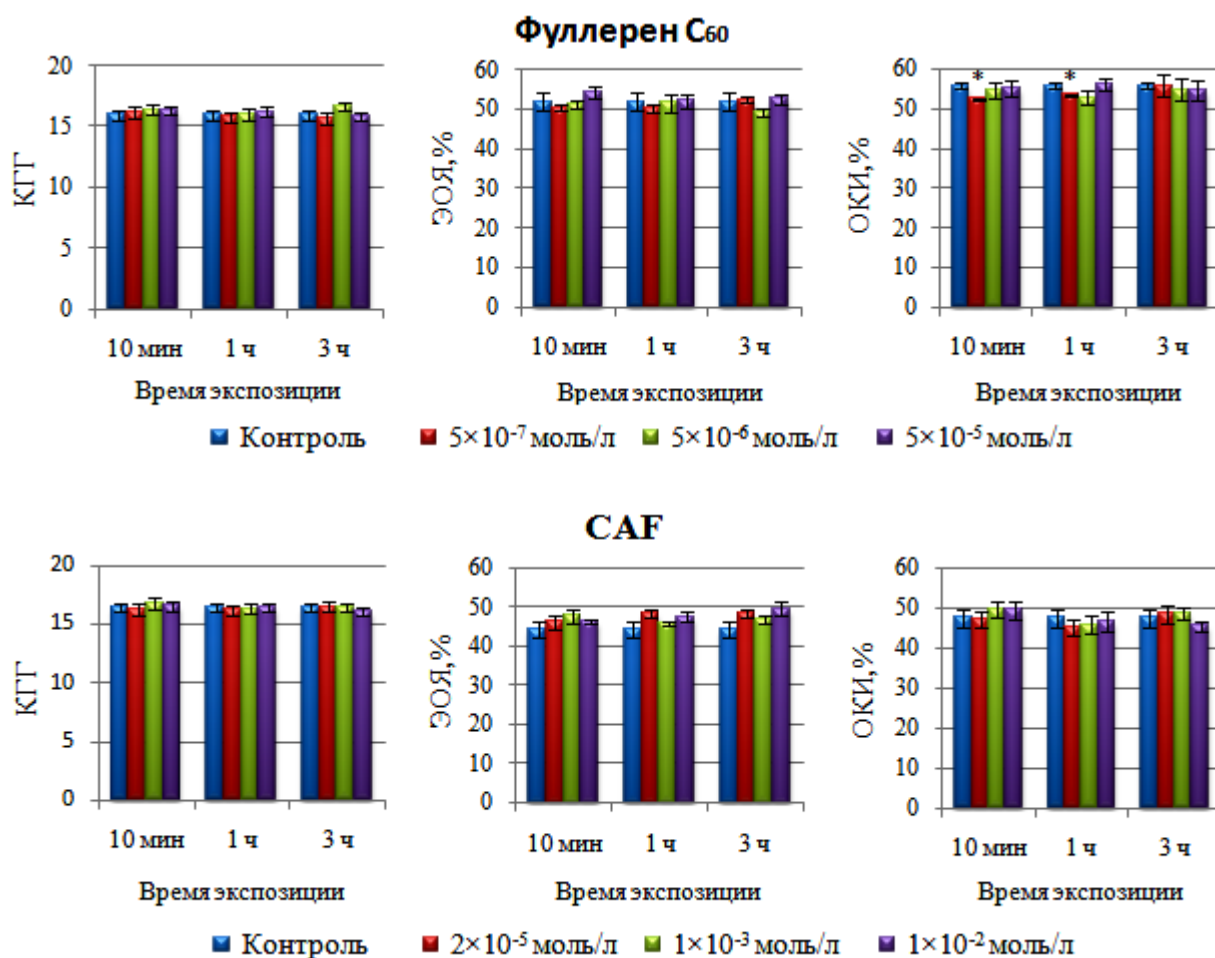


Рисунок 4.2. Влияние фуллера C₆₀ и САФ на состояние ядра (ЭОЯ) и хроматина (КГГ) и проницаемость мембран (ОКИ) клеток буккального эпителия человека; * - статистически значимое отклонение от контрольного значения

В целом, по результатам исследования индивидуального действия БАС на клетки буккального эпителия человека можно сделать следующие выводы:

1) действие исследуемых веществ DOX, EB и PF проявляется только на уровне гетерохроматина клеточного ядра и не проявляется на уровне мембраны. Косвенно это указывает на ДНК-зависимый механизм действия данных препаратов на функциональное состояние клетки. В главе 3 было показано, что показатель ОКИ характеризовался слабой чувствительностью, и характер его изменения был индивидуален для каждого донора. Таким образом, полученные результаты позволяют в дальнейшем исключить тест на

проницаемость мембраны как показатель биологического воздействия исследуемых препаратов;

2) действие фуллерена C_{60} и САФ не проявляется ни на уровне ядра, ни на уровне мембраны. Во-первых, это позволяет исключить влияние данных веществ на состояние клетки, оцениваемое по изменению параметров КГГ, ОКИ и ЭОЯ, при последующем исследовании совместного действия препаратов и ЭМИ. Во-вторых, косвенно это указывает на отсутствие выраженных биологических последствий возможного действия C_{60} фуллерена и САФ непосредственно с ДНК или другими клеточными компонентами.

4.3. Индивидуальное влияние слабого электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на состояние хроматина и ядер клеток буккального эпителия человека

В главе 3 был проведен подробный анализ действия ЭМИ различных характеристик на грануляцию хроматина и проницаемость клеточных мембран, что позволило определить оптимальные условия излучения для исследования комбинированного действия ЭМИ и БАС. На основании полученных результатов в качестве источника излучения был выбран генератор ЭМИ с частотой 3.7 ГГц, работающий при значении плотности потока мощности до 40 мкВт/см². Наиболее оптимальное время облучения образцов составляет 10 мин. Как было показано в главе 3, при подобных условиях наблюдался наиболее интенсивный рост грануляции хроматина.

Следует отметить, что в главе 3 не было рассмотрено влияние ЭМИ с указанными характеристиками на электрокинетические свойства клеточных ядер. Тем не менее, данная информация важна в контексте дальнейшего изучения комбинированного действия ЭМИ и БАС. Более того, для настоящего исследования использовался иной набор доноров клеток. Таким образом, в данном подразделе имеет смысл в качестве предварительного этапа изучения комбинированного действия ЭМИ и БАС, протестировать действие ЭМИ на

частоте 3.7 ГГц при 10 мин экспозиции на грануляцию хроматина и изменение ЭОЯ клеток буккального эпителия человека.

Полученные результаты представлены на рис. 4.3 (средние значения показателей \pm стандартная ошибка среднего), а также в таблице Б.3 в Приложении Б. Как видно, для всех доноров при воздействии ЭМИ наблюдается значительное увеличение КГГ относительно контрольного значения, что полностью согласуется с результатами предыдущей главы. При этом у донора А обнаружена наибольшая чувствительность к действию ЭМИ. В то же время для всех доноров при данных условиях облучения наблюдался спад величины ЭОЯ. Подобная корреляция между электроотрицательностью клеточного ядра и состоянием хроматина была установлена выше и для действия препаратов. Следует отметить, что показатель ЭОЯ, согласно результатам данной работы, оказался менее чувствительным к воздействию ЭМИ, чем КГГ.

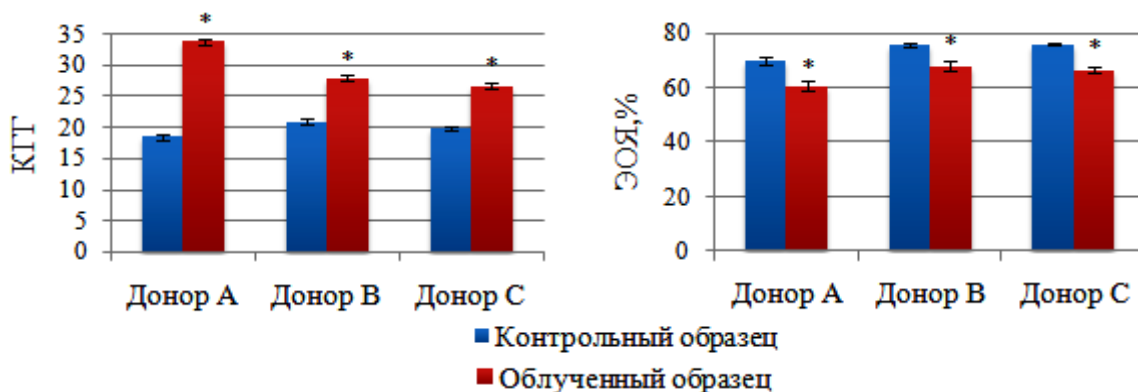


Рисунок 4.3. Изменение количества гранул гетерохроматина и электроотрицательности ядер в клетках буккального эпителия человека под воздействием электромагнитного излучения; * - значения, достоверно отличающиеся от контроля

Таким образом, на клетках буккального эпителия человека наблюдается выраженный эффект воздействия низкоинтенсивного ЭМИ на состояние хроматина и электрокинетические свойства клеточных ядер, хорошо

согласующийся с результатами, полученными в главе 3. Следовательно, данные главы 3 можно использовать далее в интерпретации комбинированного действия ЭМИ в присутствии лекарственных препаратов.

В целом, действие ЭМИ миллиметрового диапазона и исследуемых ароматических БАС по отдельности, согласно полученным результатам, имеет однонаправленный характер, проявляющийся в увеличении числа гранул гетерохроматина и уменьшении электроотрицательности клеточных ядер, из чего можно предположить, что первичным рецептором данных внешних воздействий может являться ДНК в составе хроматина, что находится в согласии с работами [48, 52, 133, 161, 211, 261, 269]. При этом, в отличие от действия ЭМИ, механизм взаимодействия препаратов DOX, EB и PF с ДНК на данное время изучен достаточно хорошо (см. обзор [114]).

4.4. Комбинированное воздействие слабого электромагнитного излучения миллиметрового диапазона и биологически активных соединений на состояние хроматина и ядер клеток буккального эпителия человека

Основываясь на результатах подраздела 4.2, для исследования комбинированного действия ЭМИ и БАС были выбраны концентрации исследуемых препаратов, представленные в табл. 4.1.

Клетки буккального эпителия подвергались воздействию данных веществ в течение 10 мин. Согласно данным, представленным в подразделе 4.2, при действии ДНК-интеркаляторов DOX, EB и PF в указанных концентрациях в течение 10 мин наблюдалось статистически значимое изменение параметра КГГ относительно контроля. Для каждого вещества было приготовлено два одинаковых образца, один из которых подвергался облучению в процессе воздействия БАС.

Экспериментальные концентрации растворов исследуемых биологически активных соединений

| Препарат | Концентрация, моль/л |
|--------------------------|----------------------|
| Доксорубицин (DOX) | $5 \cdot 10^{-6}$ |
| Бромистый этидий (EB) | $1 \cdot 10^{-5}$ |
| Профлавин (PF) | $1 \cdot 10^{-5}$ |
| C ₆₀ фуллерен | $6.65 \cdot 10^{-5}$ |
| Кофеин (CAF) | $4.75 \cdot 10^{-3}$ |

4.4.1. Комбинированное действие электромагнитного излучения и ДНК-связывающихся биологически активных соединений на состояние хроматина и ядер клеток буккального эпителия человека

На рис. 4.4 представлены результаты по комбинированному влиянию низкоинтенсивного ЭМИ с частотой 3.7 ГГц на и ароматических БАС, из которых следует снижение КГГ при облучении в случае добавления препарата, схожее для всех доноров. На рисунке указаны средние значения показателей \pm стандартная ошибка среднего, числовые значения показателей и результаты t-теста Стьюдента представлены в таблице Б.3 в Приложении Б. В большинстве случаев, за исключением реакции клеток донора А в растворе с DOX, значения КГГ при совместном воздействии ЭМИ и БАС также значительно ниже показателей КГГ при отдельном воздействии препаратов. В то же время изменение показателя ЭОЯ при добавлении DOX, EB или PF статистически значимо лишь для донора С, а также для донора А при добавлении EB.

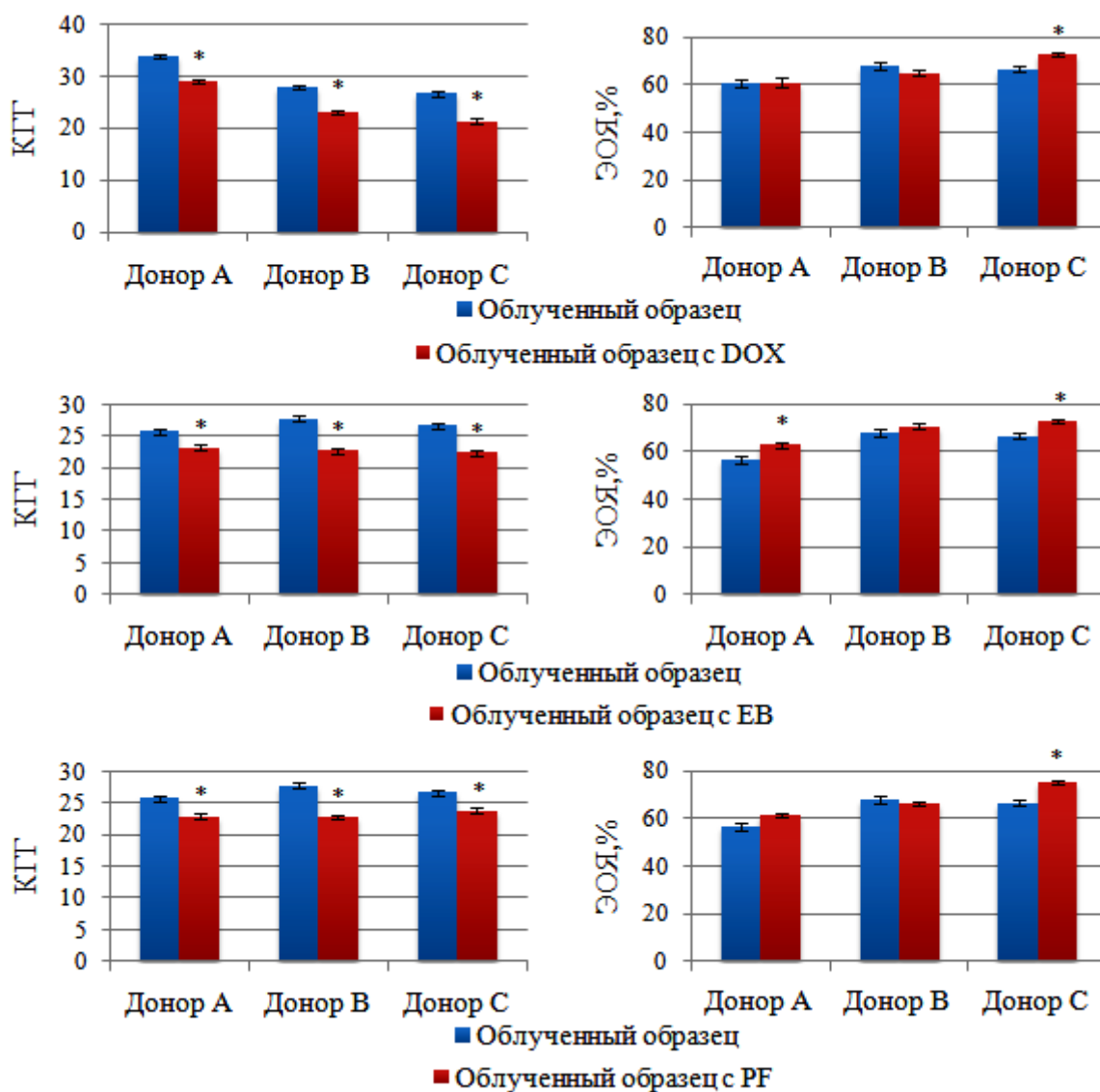


Рисунок 4.4. Изменение количества гранул гетерохроматина и электроотрицательности ядер в клетках буккального эпителия человека при комбинированном воздействии биологически активных соединений и электромагнитного излучения; * - значения, достоверно отличающиеся от показателей для облученного образца

Как уже отмечалось выше, действие ЭМИ и БАС по отдельности на клетки буккального эпителия характеризуется снижением функциональной активности хроматина и клеточных ядер в целом. Однако при совместном действии миллиметрового излучения и ароматических препаратов наблюдается синергетический протекторный эффект, т.е. снижение гранулирования хроматина и увеличение процента ЭОЯ. Следовательно, подобно исследуемым

препаратам, ЭМИ, по-видимому, действует непосредственно на ДНК в клетке, что согласуется с обсуждением результатов, представленных выше. При этом важно отметить, что БАС и ЭМИ проявляют схожий эффект по отдельности на состояние хроматина и ядра, следовательно, механизмы их действия могут работать по принципу взаимоподавления, т.е. либо ЭМИ защищает клетки от генотоксического действия рассмотренных в данной работе БАС, либо ароматические ДНК-интеркаляторы экранируют действие ЭМИ.

Качественно подобное явление наблюдалось группой ученых из Института микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины. Изучение биологических эффектов излучения при действии стрессового фактора в виде фунгицидных антибиотиков на клетки различных культур дрожжей позволило авторам выявить протекторный характер влияния слабого ЭМИ, который проявляется в повышении устойчивости микроорганизмов к действию антибиотиков при предварительном облучении [87, 217, 284]. Более того, подобная защитная роль слабого ЭМИ разных диапазонов частот уже упоминалась ранее в ряде работ, к примеру [54, 215].

Таким образом, в настоящей работе впервые на непролиферирующих клетках буккального эпителия человека обнаружен протекторный эффект при взаимодействии низкоинтенсивного ЭМИ миллиметрового диапазона и ароматических БАС. К сожалению, основываясь только лишь на полученных результатах, выявить молекулярный механизм наблюдаемого эффекта пока не представляется возможным.

4.4.2. Комбинированное действие электромагнитного излучения с C_{60} фуллереном и САФ на состояние хроматина и ядер клеток буккального эпителия человека

В контексте обнаруженного взаимоподавления эффектов действия ЭМИ и ДНК-связывающихся препаратов, важным является вопрос о возможном взаимодействии ЭМИ с C_{60} фуллереном и САФ, которые, как было

продемонстрировано выше, не оказывают видимого эффекта на хроматин в отсутствие излучения.

Как следует из приведенных на рис. 4.5 гистограмм (указаны средние значения показателей \pm стандартная ошибка среднего), C_{60} фуллерен и САФ оказывают протекторное действие, схожее с тем, что наблюдалось для DOX, EB и PF, то есть наблюдается восстановление КГГ при облучении клеток в присутствии данных веществ. Числовые значения показателей и результаты t-теста Стьюдента представлены в таблице Б.3 в Приложении Б.

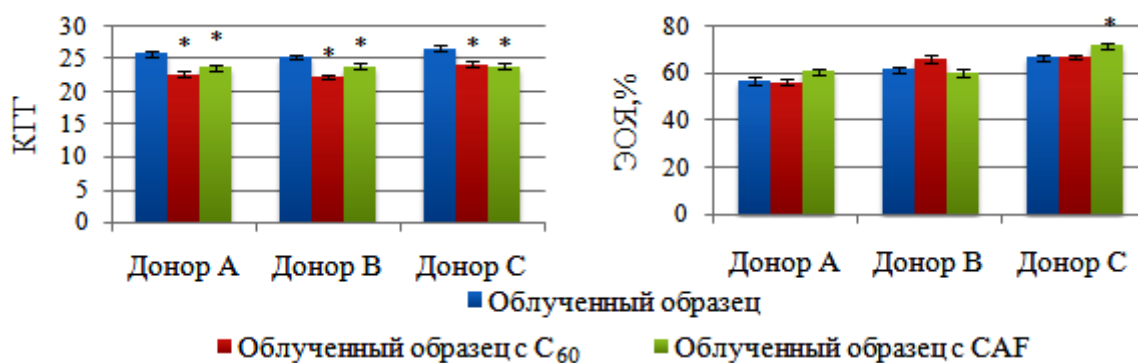


Рисунок 4.5. Изменение количества гранул гетерохроматина и электроотрицательности ядер в клетках буккального эпителия человека при комбинированном воздействии C_{60} фуллерена/САФ и электромагнитного излучения; * - значения, достоверно отличающиеся от показателей для облученного образца

Наличие протекторного действия как у САФ, так и у ДНК-несвязывающегося C_{60} фуллерена, указывает на то, что механизм протекторного эффекта ДНК-связывающихся препаратов DOX, EB и PF, обнаруженный выше, может быть не связан (или лишь частично связан) с их непосредственным комплексообразованием с ДНК. В этом контексте следует напомнить результат подраздела 3.6.1, в котором было показано, что облученный ЭМИ буферный раствор в отсутствие препаратов может индуцировать изменение в структуре хроматина. Можно предположить, что

механизм наблюдаемого протекторного эффекта исследуемых препаратов в присутствии ЭМИ связан с их взаимодействием с водной средой.

Дополнительное подтверждение данному предположению может следовать из ответа на вопрос – влияет ли ЭМИ на параметры связывания препаратов с ДНК? Для ответа на данный вопрос были исследованы изменения оптических плотностей растворов DOX/EB/PF с ДНК тимуса теленка. Концентрации препаратов, используемые в данном эксперименте, представлены в табл. 4.2. В кювету помещалось 3 мл раствора Препарат-ДНК в фосфатном буфере, и снимался спектр в диапазоне 350-600 нм. В кювету сравнения помещался буферный раствор. Затем исследуемый раствор помещался в пробирку типа Eppendorf и облучался в течение 10 мин на частоте 3.7 ГГц и плотности потока мощности 40 мкВт/см^2 . Облученный раствор возвращался в кювету и снимался второй спектр. Полученные результаты представлены на рис. 4.6.

Таблица 4.2

Экспериментальные концентрации исследуемых растворов

| Препарат | Концентрация, моль/л |
|-----------------------|----------------------|
| Доксорубицин (DOX) | $2 \cdot 10^{-4}$ |
| Бромистый этидий (EB) | $7 \cdot 10^{-5}$ |
| Профлавин (PF) | $1.3 \cdot 10^{-5}$ |
| ДНК | $2 \cdot 10^{-5}$ |

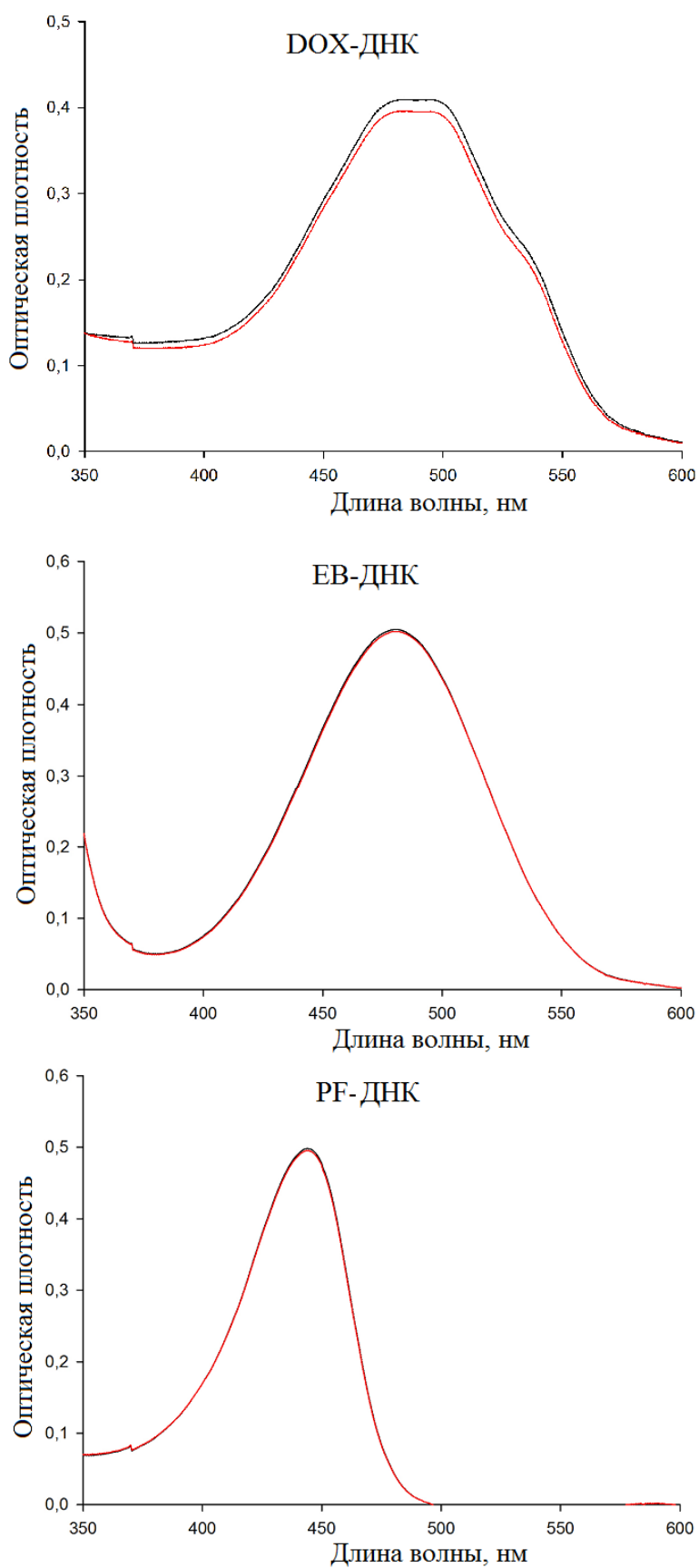


Рисунок 4.6. Изменение оптической плотности в системе Препарат-ДНК при действии электромагнитного излучения на частоте 3.7 ГГц; черная линия – необлученный раствор, красная линия – облученный раствор

Как следует из приведенных спектров, за исключением системы DOX-ДНК, где наблюдается незначительное уменьшение оптической плотности после облучения ЭМИ, для EB и PF не обнаружено видимого изменения оптической плотности после воздействия ЭМИ. Таким образом, это подтверждает выдвинутое выше предположение, что наблюдаемый в данном подразделе протекторный эффект может осуществляться не на уровне комплекса Препарат-ДНК, а посредством иных механизмов, одним из которых может быть взаимодействие препаратов с облученной водной средой.

В целом, в данном подразделе на клетках буккального эпителия человека с использованием методик визуальной оценки грануляции хроматина и электроотрицательности ядер был продемонстрирован синергетический протекторный эффект частичного восстановления функциональной активности клеток при комбинированном действии низкоинтенсивного ЭМИ миллиметрового диапазона и ароматических ДНК-интеркаляторов (DOX, EB и PF), а также протекторный эффект C₆₀ фуллерена и САФ по отношению к действию ЭМИ на клеточную систему. Полученные результаты указывают на перспективу использования C₆₀ фуллерена и САФ для уменьшения потенциально генотоксического воздействия ЭМИ.

4.5. Заключение

В настоящей главе было рассмотрено индивидуальное действие ДНК-интеркаляторов (DOX, EB и PF), а также фуллерена C₆₀ и САФ, и комбинированное действие данных препаратов со слабым ЭМИ миллиметрового диапазона на клетки буккального эпителия человека.

Результаты исследования индивидуального влияния ДНК-интеркаляторов показали, что действие исследуемых веществ DOX, EB и PF проявляется только на уровне гетерохроматина клеточного ядра и не проявляется на уровне

мембраны. Максимальные изменения состояния хроматина и электроотрицательности ядер наблюдались при следующих концентрациях: $5 \cdot 10^{-6}$ моль/л для DOX и $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л для EB и PF и времени экспозиции 1 час и значительно не менялись при дальнейшем увеличении времени экспозиции.

Действие фуллерена C_{60} и САФ без ДНК-интеркаляторов не проявилось ни на уровне ядра, ни на уровне мембраны, что косвенно указывает на отсутствие выраженных биологических последствий связывания фуллерена C_{60} и САФ непосредственно с ДНК или другими клеточными компонентами.

Анализ индивидуального действия ЭМИ миллиметрового диапазона и исследуемых ароматических БАС показал однонаправленный характер отклика клеток на данные воздействия, проявляющийся в увеличении числа гранул гетерохроматина и уменьшении электроотрицательности клеточных ядер.

При исследовании действия ЭМИ с исследуемыми ДНК-связывающимися веществами обнаружен синергетический протекторный эффект, заключающийся в уменьшении клеточного отклика, вызываемого ЭМИ и препаратами по-отдельности.

При облучении клеток в присутствии C_{60} фуллерена или кофеина наблюдался протекторный эффект веществ по отношению к действию ЭМИ.

Полученные результаты могут открыть новые перспективы в технологии использования C_{60} фуллерена и кофеина для уменьшения потенциально генотоксического воздействия ЭМИ.

Представленные в данной главе результаты опубликованы в работах [22, 251].

Глава 5. КОМБИНИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА СОСТОЯНИЕ ЯДРА И ХРОМАТИНА КЛЕТОК БУККАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ ЧЕЛОВЕКА

5.1. Введение

В главе 4 был обнаружен синергизм (протекторное действие) при комбинированном действии слабого ЭМИ миллиметрового диапазона и некоторых БАС, действие которых на ДНК сравнительно хорошо изучено: противоопухолевый антибиотик DOX, ароматические мутагены PF и EB, а также не воздействующие непосредственно на ДНК соединения - CAF и C₆₀ фуллерен. Подобный протекторный эффект был обнаружен ранее при комбинированном действии перечисленных БАС *in vitro* в различных пролиферирующих клеточных линиях, о чем подробнее будет изложено в следующем подразделе. Также в предыдущих главах было показано, что непролиферирующие клетки буккального эпителия человека, как объект исследования, являются достаточно чувствительным к изменениям внешних воздействий, таких как ЭМИ миллиметрового диапазона и ароматические ДНК-интеркаляторы. Следовательно, возможный синергизм при комбинированном действии БАС на клетки буккального эпителия человека представляет большой интерес в рамках данной работы.

Исследования комбинированного воздействия БАС проводились на клетках буккального эпителия трех доноров, двух доноров женского пола: донор А – 24 года, В – 20 лет, и одного донора мужского пола: донор С – 21 год.

5.2. Общие представления о механизмах комбинированного действия ДНК-интеркаляторов

Как уже упоминалось в подразделе 1.3, в настоящее время большой интерес вызывает т.н. «протекторный» (защитный) эффект, обнаруженный при введении некоторых ароматических БАС (т.н. молекул-интерцепторов) совместно с ароматическими ДНК-интеркаляторами [198, 200, 201, 214, 223, 266], в основе которого лежит нековалентное комплексообразование (гетероассоциация) Препарат-Интерцептор. Регулирующее действие гетероассоциации по отношению к совместному введению в биосистему *in vitro* различных комбинаций ароматических соединений, одно из которых является основным действующим соединением, а другое – молекулой-интерцептором, известно достаточно давно (см. [114-116]) как интерцепторный механизм. Однако изучение механизма такого регулирующего действия усложняется возможным влиянием других молекулярных процессов, из которых наиболее часто рассматривается так называемый протекторный механизм, т.е. конкуренция препаратов за места посадки на ДНК [71, 110, 114, 115] – все это составляет предмет исследования теории интерцепторно-протекторного действия при комбинированном использовании ДНК-связывающихся препаратов [114, 116]. Наиболее хорошо изученным в рамках теории интерцепторно-протекторного действия соединением в настоящее время является кофеин (CAF). Существуют свидетельства протекторного действия CAF по отношению к вышеперечисленным ДНК-интеркаляторам, обнаруженных *in vitro* в различных пролиферирующих клеточных линиях, к примеру [43, 200, 202, 203, 266]. При этом до сих пор на непролиферирующих клеточных линиях исследования интерцепторного и протекторного действия не проводились.

Недавно было впервые обнаружено, что введение немодифицированных C_{60} фуллеренов совместно с различными ДНК-связывающимися ароматическими противоопухолевыми препаратами приводит к усилению их

медико-биологического эффекта [208]. Учитывая, что C_{60} фуллерен обладает насыщенной π -электронной системой, и в связи с этим может образовывать комплексы с ароматическими ДНК-интеркаляторами, включая противоопухолевые антибиотики и мутагены [111, 179], было сделано предположение, что в основе наблюдаемого биологического синергизма, как и в случае с ароматическими БАС, лежит интерцепторный механизм, а именно гетероассоциация Фуллерен-Препарат в биологической системе [111]. К сожалению, роль протекторного механизма в отношении C_{60} фуллерена едва ли возможно оценить на основании имеющихся литературных данных, поскольку характеристики связывания C_{60} фуллерена с ДНК в условиях, приближенных к физиологическим, неизвестны за исключением данных теоретической работы [285], до сих пор не подтвержденной экспериментом. Однако в целом есть основания полагать, что C_{60} не действует на ядерный хроматин.

Обобщая все вышесказанное, можно сделать вывод о том, что интерес к изучению комбинаций ДНК-интеркаляторов с молекулами-интерцепторами САФ и фуллереном C_{60} в рамках настоящей работы на клетках буккального эпителия человека обусловлен следующими причинами:

1) Молекулы-интерцепторы САФ и C_{60} фуллерен модулируют биологическую активность ДНК-интеркаляторов, по всей видимости, посредством интерцепторного механизма (гетероассоциации) в пролиферирующих клеточных линиях. Если интерцепторный механизм действительно является общезначимым, то возможно ожидать биологический синергизм комбинаций Препарат- C_{60} /САФ на клетках буккального эпителия, которые являются непролиферирующими.

2) Если будет обнаружено, что комбинации Препарат- C_{60} /САФ демонстрируют биологический синергизм в клетках буккального эпителия, то следует ожидать количественного соответствия данных биологического эксперимента параметрам межмолекулярного комплексообразования (концентрациям и равновесным константам). Эта ситуация может быть описана

в рамках теории интерцепторно-протекторного действия [114, 116]. Ниже эти гипотезы будут подвергнуты исследованию.

5.3. Комбинированное действие биологически активных соединений на состояние ядра и хроматина клеток буккального эпителия человека

5.3.1. Действие ДНК-связывающихся препаратов в присутствии C_{60} фуллерена

Согласно полученным в подразделе 4.2 данным, в качестве оптимальных условий для проведения экспериментов в присутствии фуллерена C_{60} и САФ можно выбрать следующие концентрации: $5 \cdot 10^{-6}$ моль/л для DOX и $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л для EB и PF и время экспозиции 1 час. При указанных концентрациях действующих веществ наблюдаются максимальные изменения параметров КГГ и ЭОЯ, практически мало меняющиеся при временах экспозиции более 1 часа. Исследовалось изменение показателей КГГ и ЭОЯ в клетках буккального эпителия человека в системе Препарат- C_{60} фуллерен в зависимости от концентрации фуллерена. В качестве позитивного контроля рассматривались клетки, которые инкубировались только в растворе препарата; в качестве негативного контроля - клетки, содержащиеся без препарата и C_{60} фуллерена.

Результаты измерений для каждой комбинации препаратов DOX- C_{60} , EB- C_{60} и PF- C_{60} представлены на рис. 5.1-5.3 (средние значения показателей \pm стандартная ошибка среднего), а также в таблицах В.1-В.3 в Приложении В.

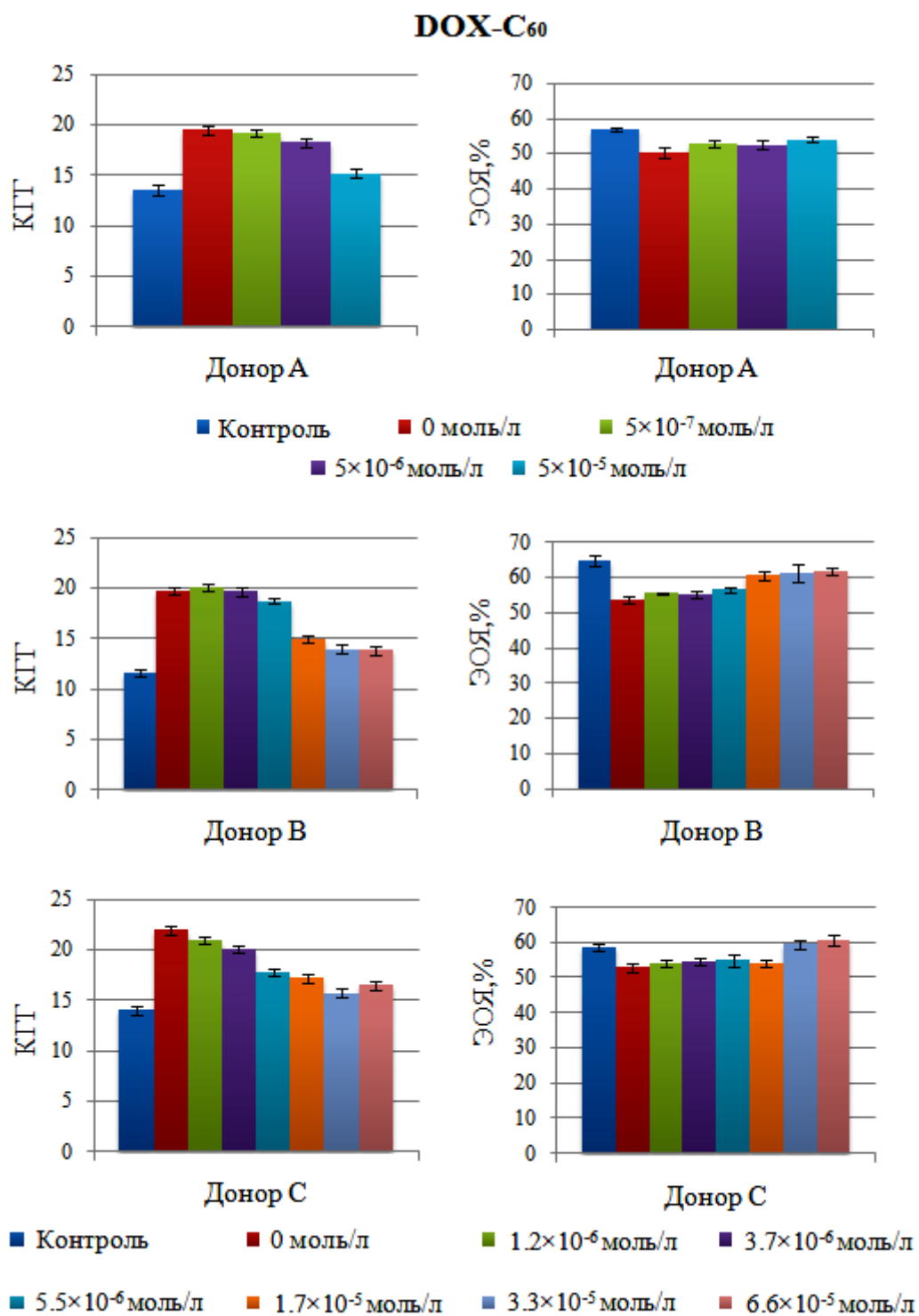


Рисунок 5.1. Влияние DOX на состояние ядра (ЭОЯ) и хроматина (КГГ) клеток буккального эпителия человека в присутствии C₆₀ фуллерена

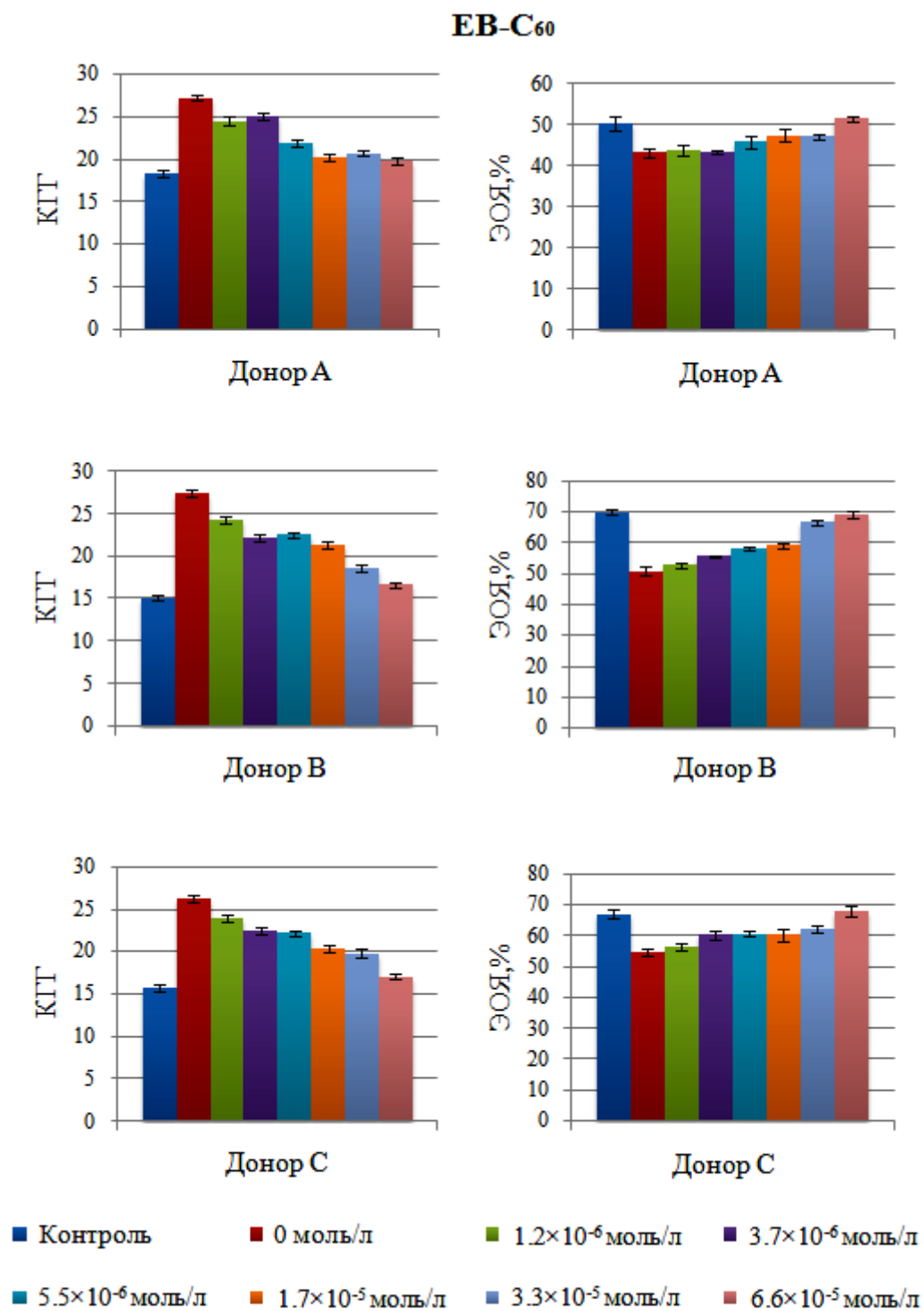


Рисунок 5.2. Влияние ЕВ на состояние ядра (ЭОЯ) и хроматина (КГГ) клеток буккального эпителия человека в присутствии С₆₀ фуллерена

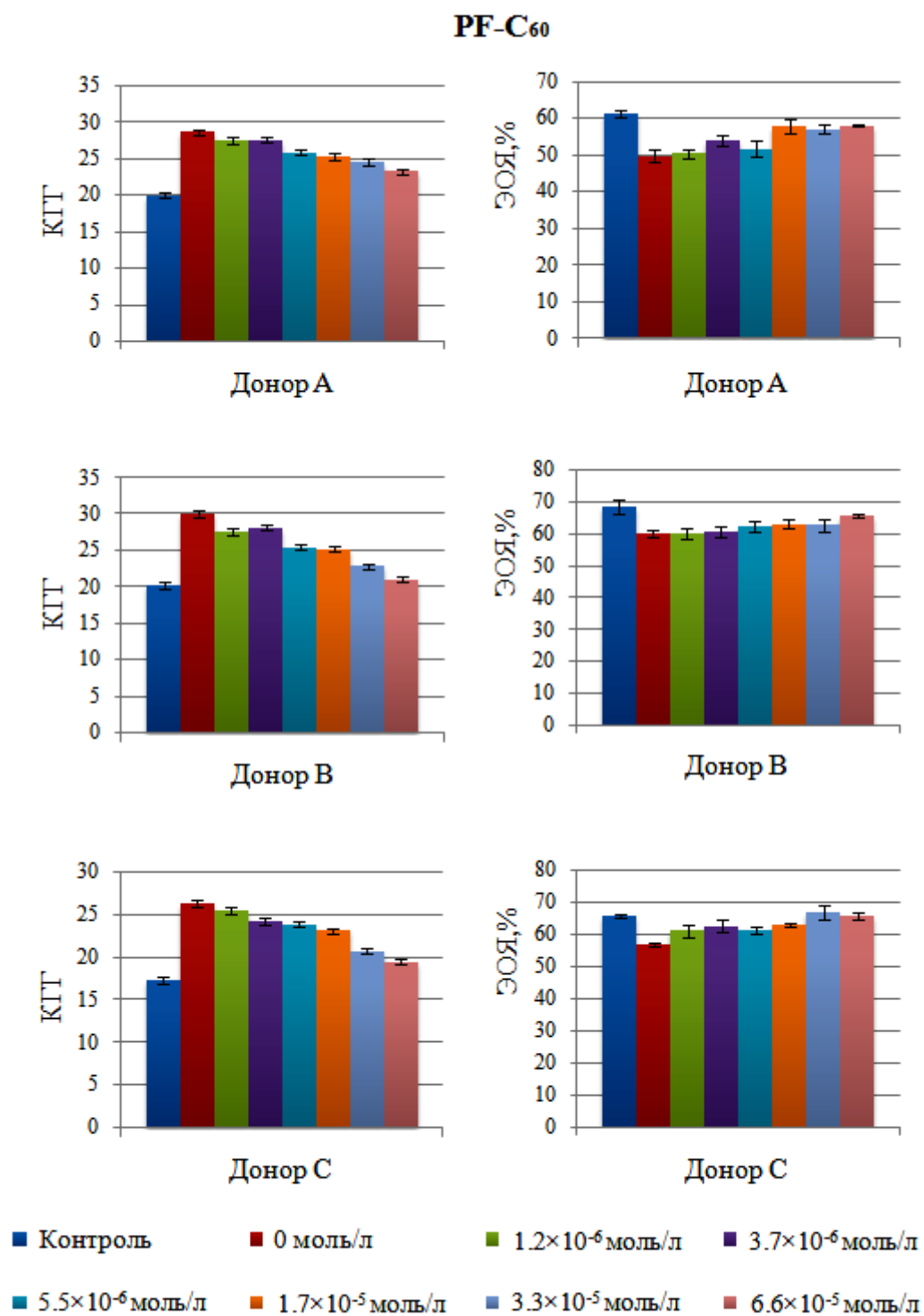


Рисунок 5.3. Влияние PF на состояние ядра (ЭОЯ) и хроматина (КГГ) клеток буккального эпителия человека в присутствии C₆₀ фуллерена

В целом, наиболее важным результатом, вытекающим из анализа полученных данных, является ярко выраженная зависимость реакции клеточного ядра на присутствие C_{60} фуллерена в системе. Как и ранее для случая индивидуального действия веществ (см. подраздел 4.2), изменения измеряемых показателей оказываются качественно подобными для различных препаратов и доноров. Установлено, что для каждого препарата наблюдается снижение КГГ от позитивного контроля к негативному с увеличением концентрации C_{60} фуллерена, что свидетельствует о восстановлении функциональной активности ядра в его присутствии. При этом диапазон изменения значений показателя КГГ в среднем в два раза выше, чем показателя ЭОЯ, что указывает на большую чувствительность фактора изменения структуры гетерохроматина, чем электроотрицательности ядра, к действию комбинаций веществ.

Установлено, что показатель ЭОЯ проявляет отрицательную корреляцию (в диапазоне $-0.8..0.9$) с показателем КГГ для всех доноров и веществ. Подобная связь между состоянием хроматина и ЭОЯ была выявлена ранее в главе 4. Следует также отметить, что характер наблюдаемых эффектов не зависит от индивидуальных особенностей клеток доноров, принимавших участие в эксперименте, и отражает общую для них тенденцию действия комбинаций веществ.

5.3.2. Действие ДНК-связывающихся препаратов в присутствии САФ

В предыдущем подразделе было обнаружено концентрационно-зависимое восстановление состояния хроматина и клеточного ядра, подвергнутого воздействию различных ДНК-связывающихся препаратов, при введении в систему C_{60} фуллерена. Учитывая имеющиеся литературные данные (см. подраздел 5.2), это свидетельствует о возможном наличии нековалентного комплексообразования (гетероассоциации) препаратов с фуллереном, т.е. интерцепторном механизме, обсужденном в подразделах 1.3 и 5.2. Если интерцепторный механизм действительно имеет место в рассмотренных выше

системах Препарат-Фуллерен, и, учитывая тот факт что гетероассоциация является молекулярным процессом, не зависящим от типа клеточной системы, следовательно, аналогичное обнаруженному в данном исследовании влиянию C_{60} фуллерена на параметры КГГ и ЭОЯ в клетках буккального эпителия можно ожидать и при замене C_{60} фуллерена на САФ, хорошо изученного в рамках теории интерцепторно-протекторного действия [114, 116], для того же набора препаратов DOX/EB/PF и при прочих равных условиях.

Для выявления действия препаратов в присутствии САФ исследовалось изменение показателей КГГ и ЭОЯ в клетках буккального эпителия человека в системе Препарат-САФ в зависимости от концентрации САФ. В качестве позитивного контроля рассматривались клетки, которые инкубировались только в растворе препарата; в качестве негативного контроля - клетки, содержащиеся без препарата и САФ.

Результаты измерений для каждой комбинации препаратов DOX-САФ, EB-САФ и PF-САФ представлены на рис. 5.4-5.6 (средние значения показателей \pm стандартная ошибка среднего), а также в таблицах В.4-В.6 в Приложении В.

В целом, для всех веществ наблюдается уменьшение показателя КГГ, стремящееся к контрольному значению при возрастании концентрации САФ. Корреляция между показателями КГГ и ЭОЯ варьируется в пределах $-(0.7-0.9)$. Характер изменений рассмотренных параметров указывает на восстановление состояния хроматина и клеточного ядра в системе Препарат-САФ при увеличении концентрации САФ.

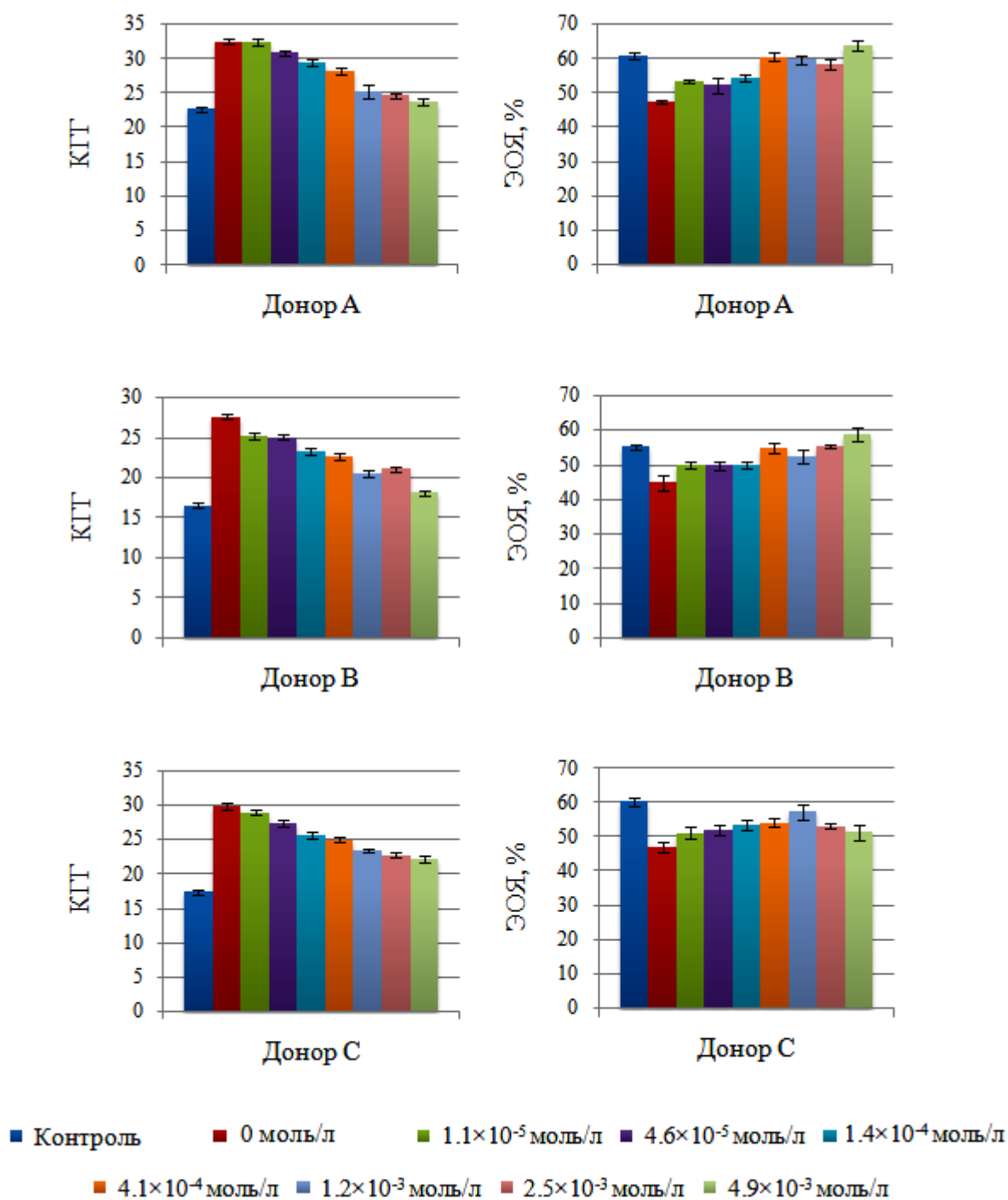
DOX-CAF

Рисунок 5.4. Влияние DOX на состояние ядра (ЭОЯ) и хроматина (КГГ) клеток буккального эпителия человека в присутствии CAF

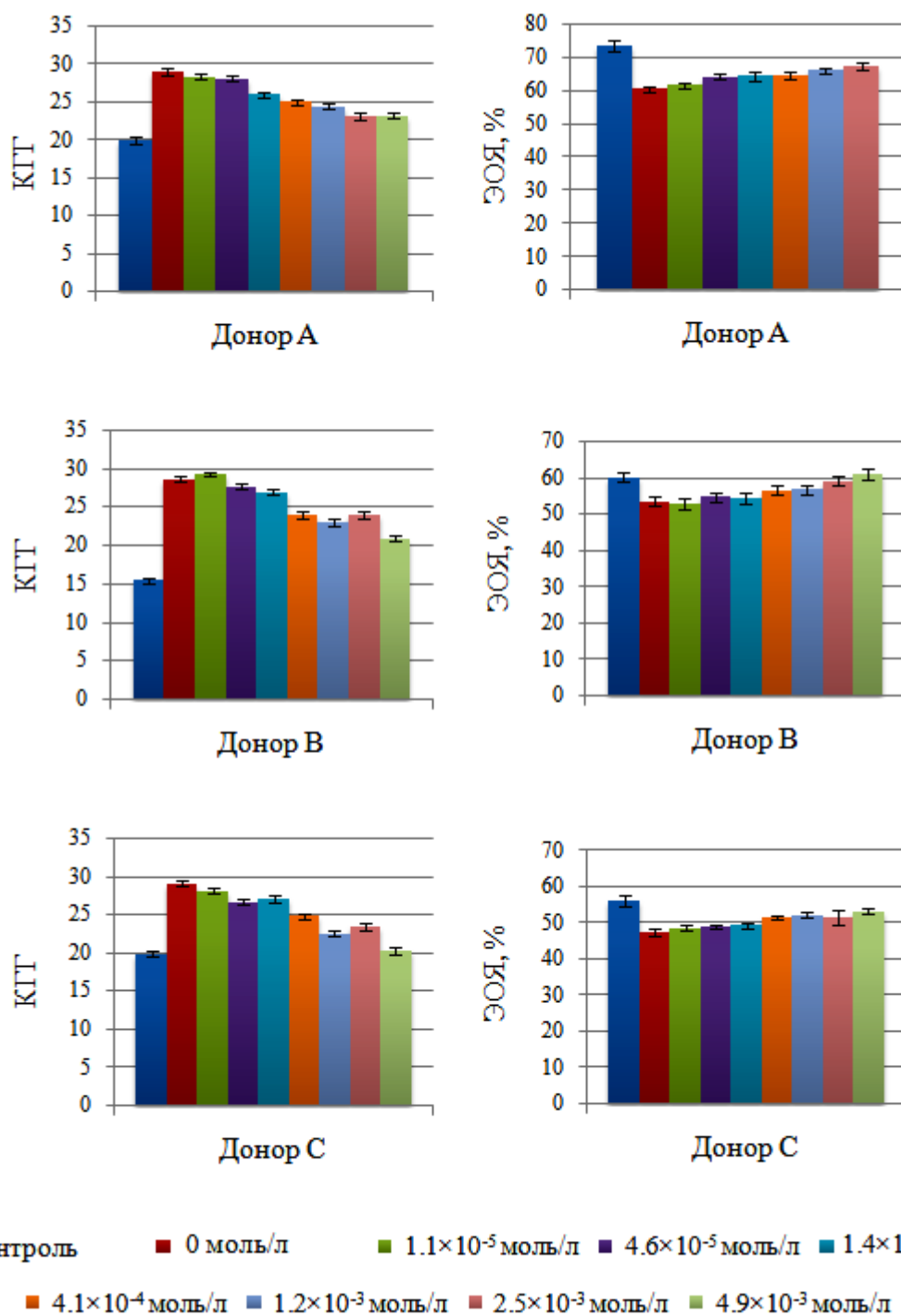
EB-CAF

Рисунок 5.5. Влияние EB на состояние ядра (ЭОЯ) и хроматина (КГТ) клеток буккального эпителия человека в присутствии CAF

PF-CAF

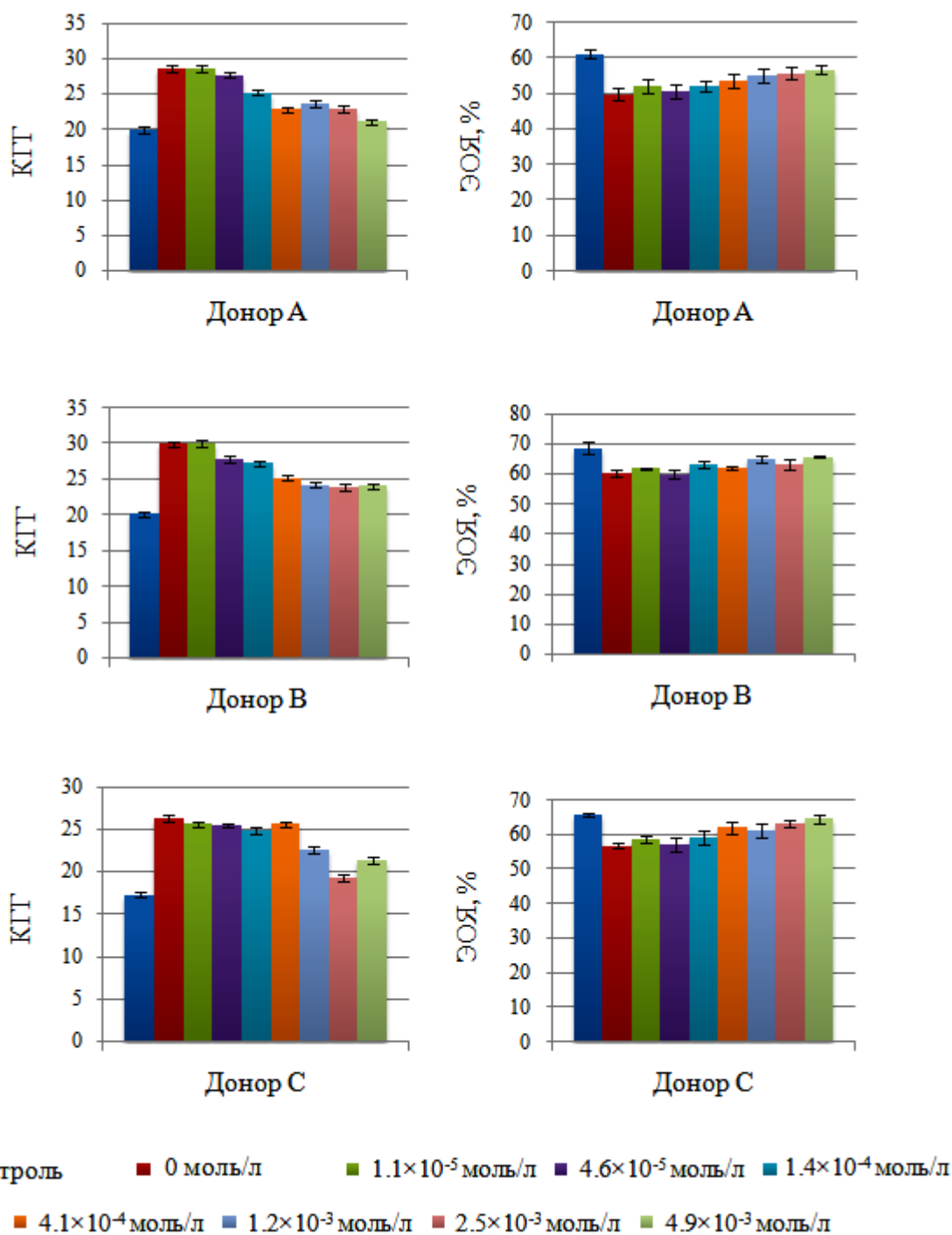


Рисунок 5.6. Влияние PF на состояние ядра (ЭОЯ) и хроматина (КГТ) клеток буккального эпителия человека в присутствии CAF

Как следует из рис. 5.4-5.6, подобно действию комбинаций Препарат-С₆₀, изменения показателей КГГ и ЭОЯ в системе Препарат-САФ демонстрируют схожий характер зависимости клеточного отклика от действия веществ, и косвенно свидетельствует о наличии интерцепторного механизма в системах Препарат-С₆₀ и Препарат-САФ. Более того, наблюдаемый на рис 5.1-5.6 эффект не зависит от индивидуальных особенностей доноров, следовательно, в целом, характер проявления интерцепторного механизма в непролиферирующих клетках буккального эпителия оказывается подобным тому, что наблюдается в пролиферирующих клеточных линиях (см. подраздел 1.3 и 5.2).

Рассмотрим далее возможность количественного описания полученных данных в рамках теории интерцепторно-протекторного действия [114, 116].

5.4. Анализ результатов комбинированного действия биологически активных соединений с точки зрения теории интерцепторного и протекторного действия

В основе теории интерцепторно-протекторного действия, кратко описанной в подразделе 5.2, лежит представление о доминировании интерцепторного и/или протекторного механизмов в наблюдаемых эффектах действия комбинации Препарат-Интерцептор. Следствием этого допущения является пропорциональность между концентрациями комплексов и наблюдаемым изменением биологического эффекта, а также существование корреляции данных биологического эксперимента и физико-химических параметров комплексообразования (концентраций и равновесных констант комплексообразования). Выясним, в какой мере такого рода корреляцию можно обнаружить на основании данных предыдущих подразделов по воздействию комбинаций препаратов на клетки буккального эпителия человека (КГГ и ЭОЯ).

5.4.1. Соответствие данных эксперимента по комбинированному взаимодействию в системе Препарат-Фуллерен теории интерцепторно-протекторного действия

В табл.5.1 приведены литературные данные по значениям равновесных констант гетероассоциации K_h , измеренных в идентичных условиях растворителя, для систем Препарат-Фуллерен C_{60} и Препарат-CAF. Значение K_h для системы EB- C_{60} в литературе отсутствует, в связи с чем в расчетах было принято значение константы гетероассоциации промежуточное между K_h для DOX и PF. Основанием для этого является выявленная в работе [111] значительная роль аминсахара в структуре молекулы DOX, обволакивающего поверхность C_{60} фуллерена и повышающего K_h вследствие выгодного гидрофобного и Ван-дер-Ваальсового контакта с ним. По-видимому, аналогичный эффект следует ожидать и в отношении фенольного кольца у молекулы EB, имеющей несколько меньшие размеры чем DOX.

Таблица 5.1

Значения равновесных констант гетероассоциации (K_h , моль⁻¹)

| | DOX | EB | PF |
|---|------------|-----------|-----------|
| C_{60} фуллерен [111] | 61900 | 44000* | 26100 |
| CAF [116] | 208 | 62 | 160 |

* - см. пояснение в тексте.

Из табл.5.1 следует различие значений K_h практически на два порядка по величине в пользу систем Препарат-Фуллерен C_{60} , что дает основание ожидать «более весомого» вклада интерцепторного механизма именно в этих системах по сравнению с системой Препарат-CAF. К сожалению, выявление роли интерцепторного механизма непосредственно на клеточном уровне не представляется возможным, и в аналогичных работах других авторов выводы о

его значимости делаются либо на основании факта эффективной гетероассоциации Препарат-Интерцептор [201, 203, 266], либо на основании возможности описания данных *in vitro* эксперимента в рамках теории интерцепторно-протекторного действия [114, 116], упомянутой в подразделах 1.3 и 5.2.

Допустим в качестве рабочей гипотезы возможную роль интерцепторного механизма в наблюдаемых на рис. 5.1-5.3 эффектах действия комбинаций Препарат-Фуллерен на состояние хроматина в клетках буккального эпителия. Учтем также тот факт, что гетероассоциация Препарат-Фуллерен носит характер «индуцированной» препаратом агрегации фуллерена C_{60} [111], т.е. присутствие ароматического соединения стимулирует агрегацию C_{60} молекул. Это дает основание принять в первом приближении концентрацию мономерных и низкоразмерных форм фуллерена C_{60} в растворе достаточно низкой и, следовательно, исключить протекторный механизм из рассмотрения. Следовательно, в частном случае действия только интерцепторного механизма в системах Препарат-Фуллерен в клетках буккального эпителия, теория интерцепторно-протекторного действия должна предсказывать концентрационные зависимости измеряемых параметров КГГ и ЭОЯ близко к экспериментально полученным данным в предыдущем подразделе (рис. 5.1-5.3).

В основе теории интерцепторно-протекторного действия лежит система уравнений баланса масс и вычисляемый из нее некий фактор A_D , пропорциональный доле вытесненного из ДНК препарата X при введении интерцептора Y , $f_{C(0)}^X - f_C^X$, относительно доли комплексов X -ДНК в отсутствии Y , $f_{C(0)}^X$ [114, 116]

$$A_D = \frac{f_{C(0)}^X - f_C^X}{f_{C(0)}^X}, \quad (5.1)$$

причем мольные доли f^X в (5.1) определяются как $f^X = \frac{K_{XN}x_1N_1}{x_0}$, где K_{XN} – равновесная константа комплексообразования X с ДНК; x_1 , x_0 – концентрации свободного препарата X и полная концентрация X в системе; N_1 – концентрация свободных для связывания X участков ядерной ДНК (N_0 – общая концентрация). Считается, что в такой формулировке фактор A_D пропорционален изменению некоторого измеряемого *in vitro* биологического параметра (в данном случае, КГГ или ЭОЯ) по отношению к контролю [71, 107, 110, 114, 116].

Для составления системы уравнений баланса масс в отсутствие протекторного механизма (т.е. связывания Y с ДНК) и нахождения концентраций x_1 , N_1 , воспользуемся упрощенной моделью действия комбинации веществ Препарат-Фуллерен на ДНК в предположении малых концентраций препарата x_0 и 1:1 стехиометрии гетероассоциации X - Y . Такой подход ранее подтвердил свое соответствие данным *in vitro* эксперимента в системах Препарат-Ксантин [116]. Система уравнений баланса масс имеет вид:

$$\begin{cases} x_0 = x_1 + K_h x_1 y_1 + K_{XN} x_1 N_1 \\ y_0 = y_1 + K_h x_1 y_1 \\ N_0 = N_1 + K_{XN} x_1 N_1 \end{cases} \quad (5.2)$$

где y_1 и y_0 – концентрация C_{60} фуллерена, не связанного с препаратом, и его общая концентрация.

Учтем, что общая концентрация доступных для связывания участков ядерной ДНК N_0 мала и имеет порядок 10^{-6} - 10^{-5} моль/л, а порядок использованных в эксперименте концентраций C_{60} фуллерена y_0 больший и составляет 10^{-5} - 10^{-4} моль/л. При этом сродство рассматриваемых препаратов к ДНК и к C_{60} фуллерену соизмеримо и имеет порядок $K_h \sim K_{XN} \sim 10^4$ - 10^5 моль $^{-1}$. Из этого следует, что значительно большая часть препарата X находится в комплексах с фуллереном C_{60} , по сравнению с комплексами с ДНК, в связи с чем слагаемым $K_{XN}x_1N_1$ в уравнениях (5.2) можно в первом приближении

пренебречь. Кроме этого, учтем малость использованных в эксперименте концентраций препаратов $x_0 \sim 10^{-6} - 10^{-5}$ моль/л, следовательно, $K_h x_1 \ll 1$. Совокупность указанных допущений позволяет редуцировать систему уравнений (5.2) к виду: $N_0 \approx N_1$, $x_1 \approx \frac{x_0}{1 + K_h y_1}$, $y_0 \approx y_1$, откуда, с учетом (5.1), вытекает приближенное выражение для фактора A_D :

$$A_D \approx \frac{K_h y_0}{1 + K_h y_0} \quad (5.3)$$

Оценка экспериментальных значений фактора A_D при всех исследованных концентрациях фуллерена C_{60} производилась согласно [110, 116] путем расчета изменения измеряемого в эксперименте биологического параметра в присутствии фуллерена C_{60} по отношению к значению этого параметра в отсутствии фуллерена C_{60} , но при одних и тех же концентрациях препарата. В качестве биологического параметра использовали ряд значений КГГ (см. Таблицы В.1-В.3 в Приложении В), как наиболее чувствительного к изменению состояния клеток (см. обсуждение в подразделах 4.2, 4.3 и 5.2), пересчитываемый в единицы A_D следующим образом:

$$A_D = \frac{\frac{N_c - N_0}{N_0} - \frac{N_i - N_0}{N_0}}{\frac{N_c - N_0}{N_0}} = \frac{N_c - N_i}{N_c - N_0}, \quad (5.4)$$

где N_c и N_0 – показатель КГГ в позитивном и негативном контроле, соответственно, N_i - КГГ при постоянной концентрации препарата и варьируемой концентрации C_{60} фуллерена.

На рис. 5.7-5.9 представлены экспериментальные (пересчитанные по формуле (5.4)) и теоретически рассчитанные (по формуле (5.3)) значения фактора A_D .

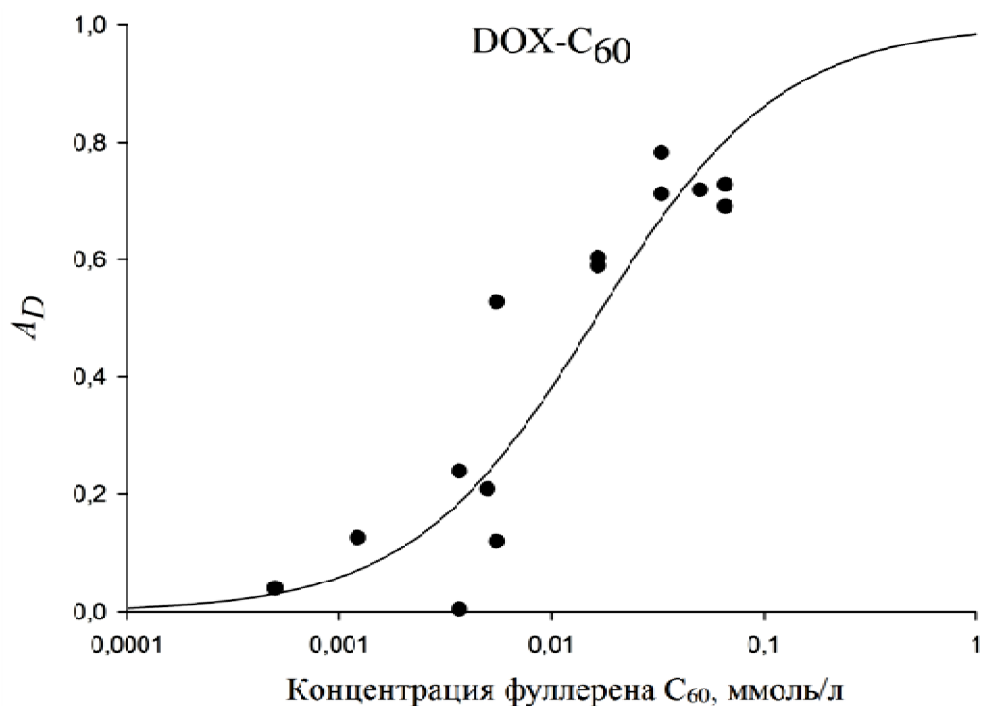


Рисунок. 5.7. Зависимость фактора A_D в системе «DOX - C₆₀» от концентрации фуллерена C₆₀ (экспериментально измеренный A_D для трех доноров (точки); расчетный A_D (сплошная кривая, $K_h=61.9 \cdot 10^3$ моль⁻¹)

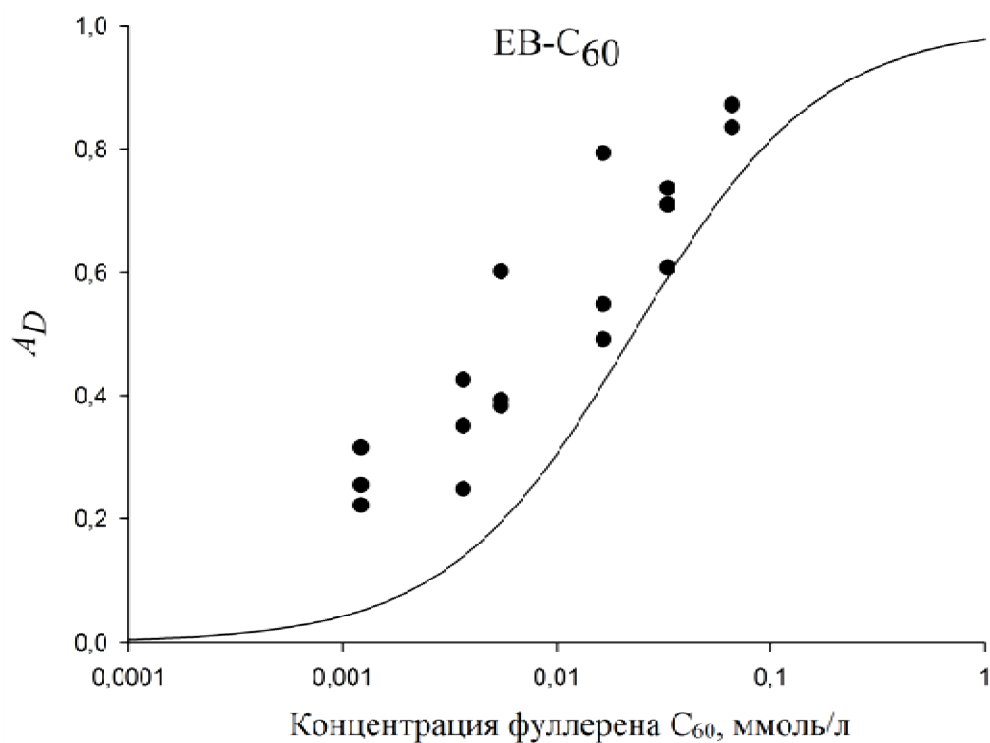


Рисунок. 5.8. Зависимость фактора A_D в системе «EB - C₆₀» от концентрации фуллерена C₆₀ (экспериментально измеренный A_D для трех доноров (точки); расчетный A_D (сплошная кривая, $K_h=44 \cdot 10^3$ моль⁻¹)

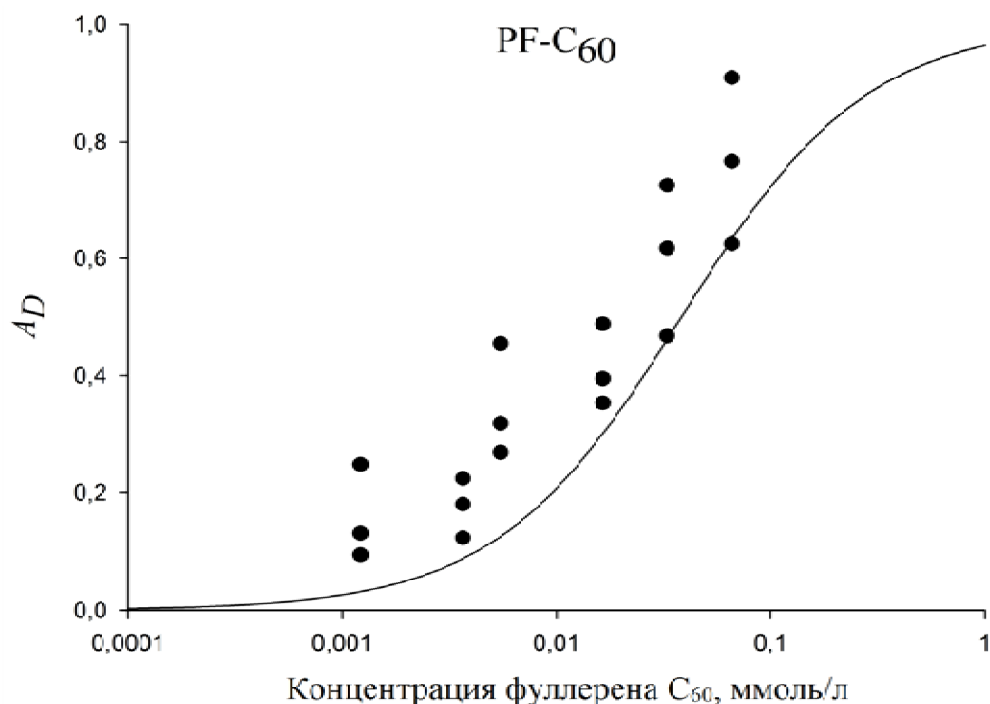


Рисунок. 5.9. Зависимость фактора A_D в системе «PF - C_{60} » от концентрации фуллерена C_{60} (экспериментально измеренный A_D для трех доноров (точки); расчетный A_D (сплошная кривая, $K_h=26.1 \cdot 10^3$ моль $^{-1}$)

Полученные результаты свидетельствуют о достаточно хорошем качестве аппроксимации данных клеточного эксперимента с помощью соотношения (5.3) теории интерцепторно-протекторного действия, особенно для системы DOX- C_{60} . Систематическая недооценка фактора A_D на 10-20% в системах EB/PF- C_{60} может считаться приемлемой, учитывая отсутствие варьируемых параметров в проведенном анализе (т.е. отсутствия искусственной подгонки параметров модели под эксперимент) и сложность оценки реальных значений концентраций и констант комплексообразования во внутриклеточной среде. Более важным здесь, однако, является не столько само качество совпадения теоретической и экспериментальной кривых, сколько то что в рамках только лишь представления о гетероассоциации и оперировании только лишь значениями констант гетероассоциации и концентраций, удается получить такой же по порядку величины эффект восстановления функциональной активности ядра, как и наблюдаемый в эксперименте. Следовательно, можно утверждать, что исходная рабочая гипотеза о доминировании интерцепторного

механизма (гетероассоциации «препарат- C_{60} фуллерен») в наблюдаемых эффектах действия ароматических БАС на клетки буккального эпителия человека в присутствии C_{60} фуллерена является справедливой. Это не исключает вклад других возможных механизмов, не обсуждаемых в настоящей работе, однако их роль, по-видимому, является малозначимой.

Сформулированный вывод о доминировании интерцепторного механизма при комбинированном действии препаратов в присутствии фуллерена является одним из важных результатов настоящего исследования, поскольку полученные данные указывают на то, что в наблюдаемой регуляции биологической активности ароматических БАС ключевую роль играют физико-химические параметры нековалентного взаимодействия Препарат- C_{60} Фуллерен. В сущности, зная величины констант гетероассоциации с C_{60} фуллереном различных БАС, измеренные в физико-химическом эксперименте, можно предсказать эффект влияния C_{60} фуллерена на биологическую активность препаратов *in vitro*, например, по оценке величины фактора A_D .

На следующем этапе анализа данных необходимо выяснить, в какой мере эти выводы могут быть независимо подтверждены по отношению к комбинациям Препарат-САФ, хорошо изученным в литературе.

5.4.2. Соответствие данных эксперимента по комбинированному взаимодействию в системе Препарат-САФ теории интерцепторно-протекторного действия.

Как уже отмечалось в подразделе 1.3, представления об интерцепторном механизме действия были успешно применены в отношении комбинаций Препарат-Ксантин в различных пролифелирующих клеточных системах, причем наибольшее число опубликованных данных относится к типичному ксантину – САФ (см. обзор [115]). В подразделе 5.3 было показано, что реакция клеток на изменение концентраций интерцепторов в системах Препарат-Фуллерен и Препарат-Кофеин была качественно подобной, следовательно можно ожидать, что результаты, приведенные на рис. 5.4-5.6 также можно

объяснить в рамках теории интерцепторно-протекторного действия. При этом, однако, необходимо учитывать, что в системах Препарат-САФ могут действовать два процесса одновременно – интерцепторный и протекторный [71, 107, 110, 115, 116]. Для подтверждения данной гипотезы необходимо проанализировать результаты, полученные при исследовании комбинированного действия системы Препарат-САФ на клетки буккального эпителия.

В табл. 5.2 приведены значения фактора A_D , рассчитанные при максимальной концентрации САФ, использованной в настоящей работе ($y_0 \approx 5$ ммоль/л, при которой наблюдается выраженный протекторный эффект, согласно литературным данным [203, 266]), по значениям параметра КГГ по формуле (5.4) и полным уравнениям теории интерцепторно-протекторного действия из работы [116] с учетом и без учета протекторного механизма.

Таблица 5.2

Значения фактора A_D в системах «Препарат-САФ» с учетом и без учета протекторного механизма

| | Экспериментальное значение A_D | | | Расчетное значение A_D для интерцепторно-протекторного механизма | Расчетное значение A_D для интерцепторного механизма |
|----------------|----------------------------------|-----------|-----------|--|--|
| | Донор А | Донор В | Донор С | | |
| DOX-CAF | 0.89±0.17 | 0.85±0.11 | 0.62±0.11 | 0.35 | 0.18 |
| EB-CAF | 0.63±0.15 | 0.58±0.09 | — | 0.50 | 0.20 |
| PF-CAF | 0.86±0.17 | 0.59±0.14 | 0.55±0.13 | 0.71 | 0.44 |

Из табл. 5.2 следует хорошее качественное совпадение результатов теоретического предсказания и эксперимента (кроме DOX), причем исключение протекторного механизма, как и следовало ожидать, несколько ухудшает качество совпадения теории и эксперимента. Это указывает на

справедливость гипотезы о доминировании интерцепторного и протекторного механизмов в непролиферирующих клетках буккального эпителия человека при действии на них комбинаций Препарат-САФ и предоставляет дополнительное обоснование выдвинутой выше гипотезе об интерцепторном механизме действия C_{60} фуллерена на биологическую активность ароматических препаратов.

Подводя итоги исследованию комбинированного действия БАС на клетки буккального эпителия человека, можно сделать следующие выводы:

1) С использованием методик визуальной оценки структуры гетерохроматина в ядре и клеточного электрофореза, обнаружено концентрационно-зависимое восстановление функциональной активности клеточного ядра, подвергнутого воздействию различных ароматических препаратов, при введении чистого C_{60} фуллерена или кофеина.

2) Экспериментальные зависимости количества гранул гетерохроматина от концентрации C_{60} фуллерена для всех доноров удалось достаточно хорошо описать в рамках теории интерцепторно-протекторного действия [114, 116] в предположении доминирования в наблюдаемых биологических эффектах так называемого интерцепторного механизма, т.е. нековалентного комплексообразования (гетероассоциации) препарата с C_{60} фуллереном.

3) Независимая проверка возможности применения теории интерцепторно-протекторного действия к результатам, полученным на клетках буккального эпителия человека, была проведена на примере наиболее хорошо изученной в рамках теории интерцепторно-протекторного действия системы Препарат-САФ.

В целом полученные результаты указывают на существование единого молекулярного процесса (в данном случае - гетероассоциации), который осуществляет регуляцию наблюдаемого *in vitro* изменения биологического эффекта ароматических препаратов при введении в биосистему молекул-интерцепторов на примере непролиферирующей клеточной линии буккального

эпителия человека. Так как наблюдаемый в данной работе эффект наиболее вероятно происходит на уровне клеточного ядра и хроматина и практически не зависит от индивидуальных особенностей доноров, как уже было отмечено выше, можно ожидать, что он также не зависит от типа исследуемой клеточной системы. Для подтверждения данного предположения в следующем подразделе будет рассмотрено комбинированное действие БАС на биолюминесцентные бактерии.

5.5. Индивидуальное и комбинированное действие биологически активных соединений на биолюминесценцию культуры светящихся бактерий *P. leiognathi* Sh1

С целью выявления закономерностей проявления совместного влияния комбинации ароматических соединений на *in vitro* уровне на пролиферирующие клетки, был использован биолюминесцентный тест на основе морских светящихся бактерий, подробно изложенный в подразделе 2.5. Подобные тест-объекты реагируют изменением интенсивности свечения на любые колебания метаболизма, поэтому многие вещества с различными механизмами действия могут быть оценены с использованием такого метода. По данным [10], как ингибирование биолюминесценции, так и ее активирование более чем на 50%, связано с проявлением токсичности. Этот принцип широко описан в литературе и используется для оценки экотоксичности водных сред. С другой стороны биолюминесцентный метод основан на точном измерении физического сигнала - интенсивности излучаемого света, что приближает его к более точным физико-химическим методам. В качестве действующих веществ в работе использовались комбинации САФ с ДНК-связывающимися ароматическими мутагенами: РF и ЕВ.

5.5.1. Индивидуальное действие биологически активных соединений на биолюминесценцию культуры светящихся бактерий *P. leiognathi* Sh1

Раздельное исследование действия мутагенных веществ на биолюминесценцию светящихся бактерий показало, что при концентрации до 0.1 мг/мл (PF – 0.4 ммоль/л; EB – 0.25 ммоль/л), а для кофеина – до 1 мг/мл (5.2 ммоль/л) и времени контакта с бактериями до 60 мин, все вещества действуют аналогичным образом, ингибируя бактериальную биолюминесценцию. Для EB отмечалось некоторое возрастание свечения при концентрациях до 0.05 ммоль/л (см. рис. 5.10-5.12).

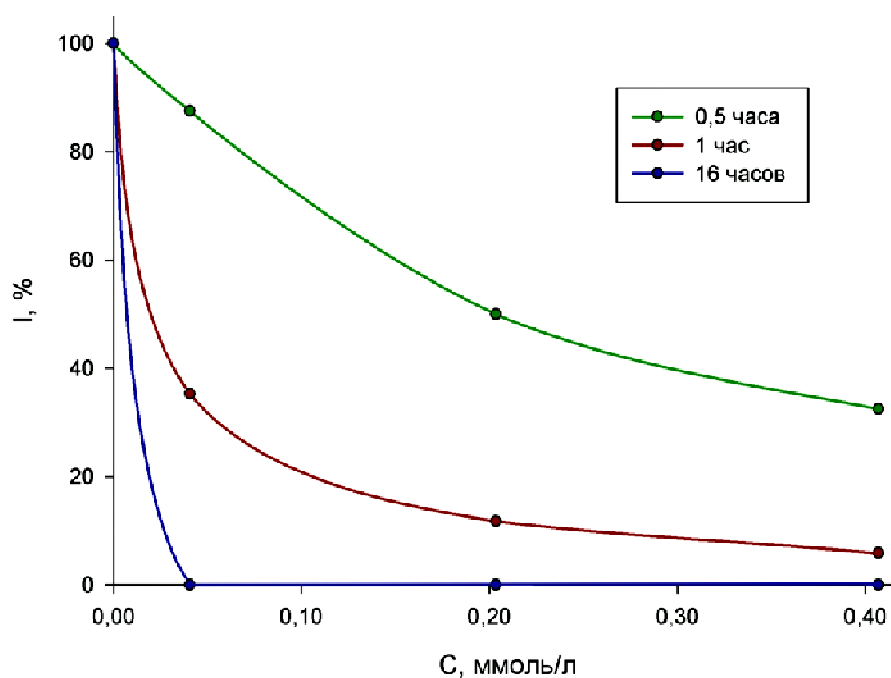


Рисунок 5.10. Острое и хроническое действие PF на биолюминесценцию *P. leiognathi* Sh1

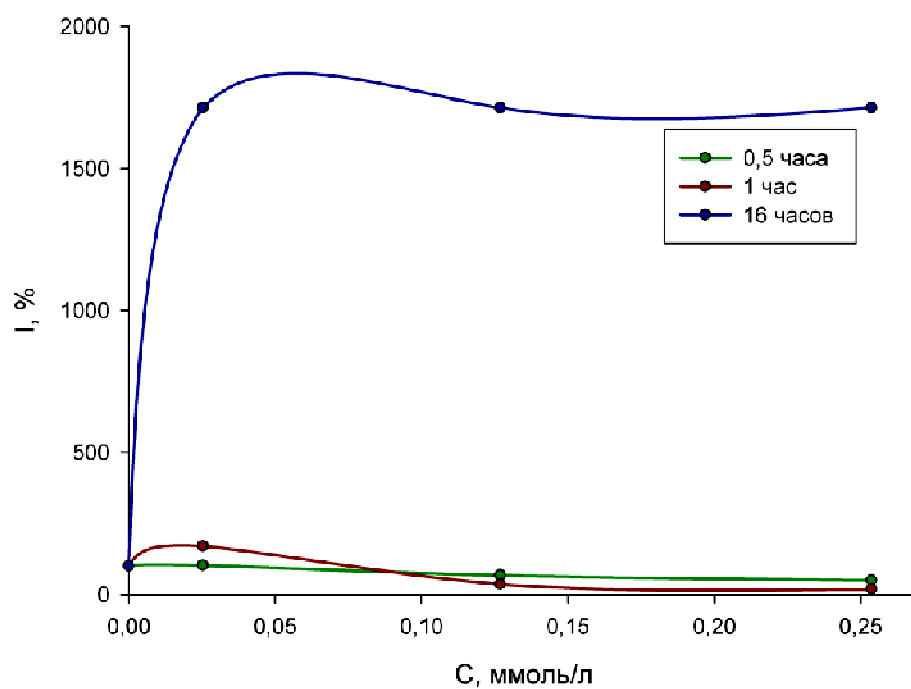


Рисунок 5.11. Острое и хроническое действие EB на биOLUMиНесценцию *P. leiognathi* Sh1

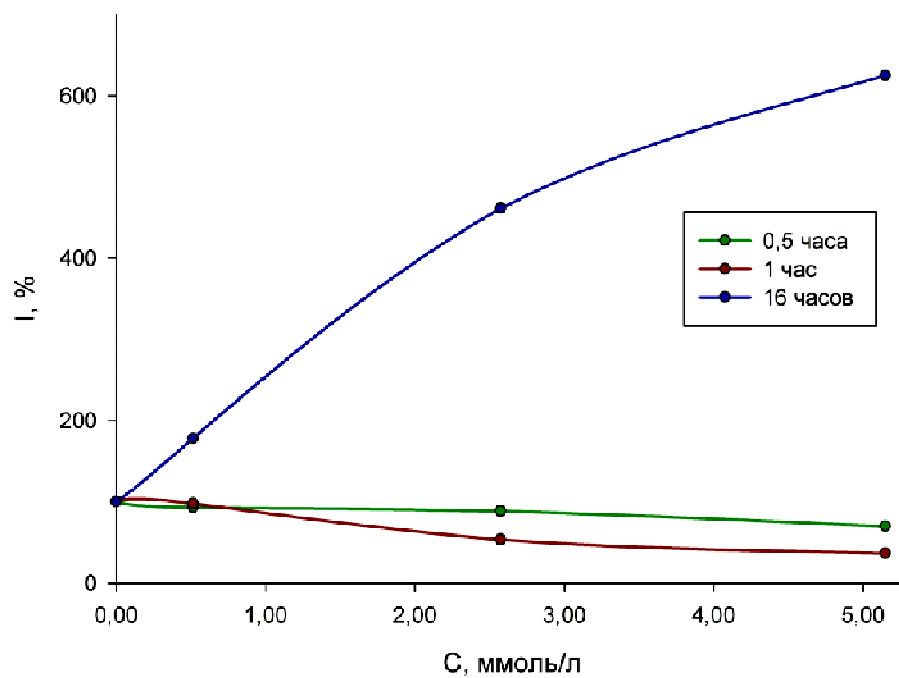


Рисунок 5.12. Острое и хроническое действие CAF на биOLUMиНесценцию *P. leiognathi* Sh1

Оценка хронического действия веществ выявила их разнонаправленный характер: САФ и ЕВ приводили к значительному возрастанию интенсивности бактериального свечения, РF – к полному её тушению (рис. 5.10-5.12). При этом биологический эффект проявлялся при более низких концентрациях, чем острое действие. Дальнейшее снижение концентрации веществ и определение их эффективных значений, при которых происходило увеличение или снижение биолюминесцентного сигнала в 2 раза ($ЭK_{50}$), показало, что для ЕВ и РF они равны 0.002 и 0.008 ммоль/л соответственно.

Как показано в работе [37], разнонаправленный характер влияния мутагенных веществ на светящиеся бактерии связан с двумя процессами. Повышение люминесценции является результатом взаимодействия с нуклеиновыми кислотами и мутагенного действия, в то время как, ингибирование свечения определяется токсичностью. Для одного и того же штамма светящихся бактерий при низких концентрациях веществ-мутагенов РF и ЕВ наблюдалась стимуляция биолюминесценции, а при более высоких – ее снижение. При этом кофеин, даже при концентрациях на порядок выше остальных веществ, проявлял только мутагенные свойства, но не токсические. Полученные результаты указывают на то, что наблюдаемая в данной работе реакция бактериальной культуры на ароматические мутагены в виде изменения биолюминесценции является результатом совместного действия токсического и мутагенного эффектов, причем при близких значениях молярных концентраций РF проявляет токсические свойства в тесте на хроническое действие, а ЕВ – мутагенные. Это совпадает с данными [170], а также с тем, что РF используется в качестве бактериостатического лекарственного средства. Отметим, что по данным разных авторов (см. [44, 45] и ссылки в них) равновесная константа комплексообразования ЕВ с нативной ДНК в несколько раз превышает константу для РF, что в целом косвенно подтверждает роль ДНК в интерпретации механизма обнаруженной разнонаправленности в клеточной линии светящихся бактерий.

5.5.2. Комбинированное действие ДНК-связывающихся препаратов в присутствии САФ на биолюминесценцию культуры светящихся бактерий *P. leiognathi* Sh1

При изучении совместного действия кофеина и ДНК-интеркаляторов с использованием методики оценки острого действия (1 ч) было установлено, что при соотношениях кофеин/препарат приблизительно 100:1 (моль/моль) происходит восстановление биолюминесценции до уровня 100% (рис. 5.13). При использовании методики оценки хронической токсичности, наблюдалась концентрационно-зависимая отмена разнонаправленного действия интеркаляторов на светящиеся бактерии под действием САФ, которая выражалась в снижении биолюминесценции, активированной ЕВ, и восстановлении свечения, ингибированного РФ (рис. 5.14). Отмеченные эффекты наблюдались при соотношениях САФ/препарат 100-200, что совпадает с результатами, полученными при использовании методики оценки острого действия.

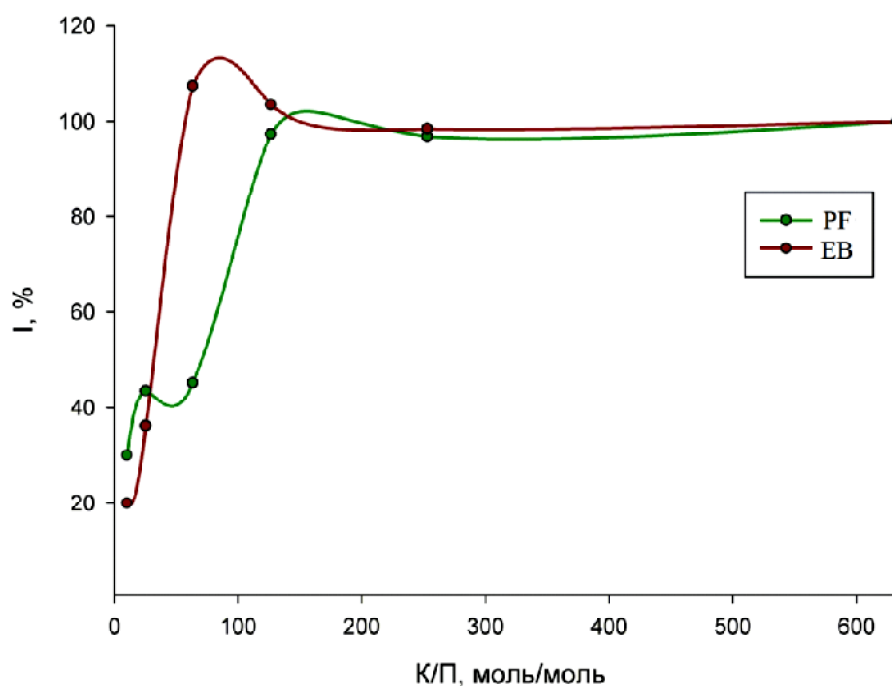


Рисунок 5.13. Острое действие РФ и ЕВ в присутствии САФ (по оси X: К/П – соотношение кофеин/препарат, моль/моль).

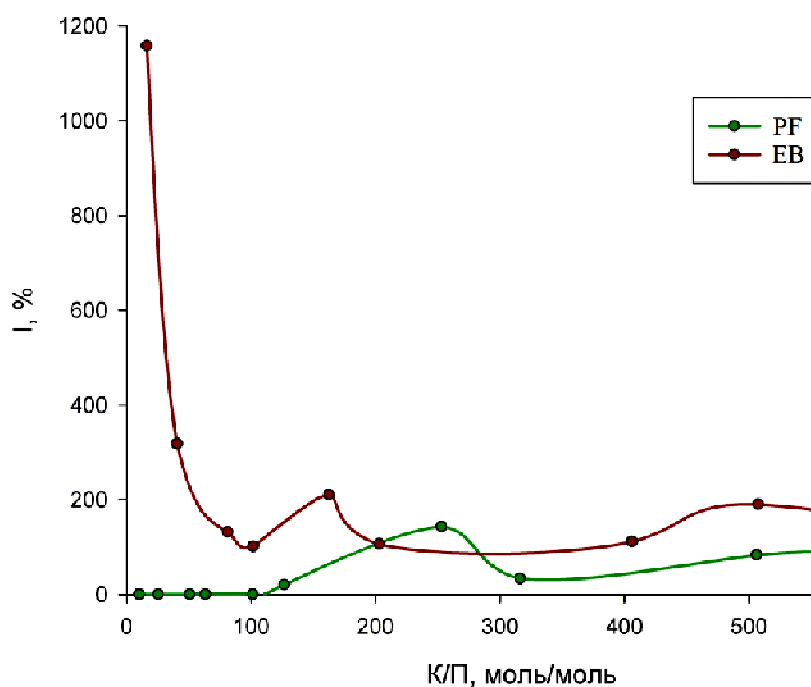


Рисунок 5.14. Хроническое действие PF и EB в присутствии САФ (по оси X: К/П – соотношение кофеин/препарат, моль/моль).

Таким образом, несмотря на разнонаправленность действия исследуемых веществ, полученные результаты указывают на «протекторный эффект» кофеина по отношению, как к мутагенному, так и токсическому действиям ДНК-интеркаляторов. Как уже упоминалось ранее, концентрационно-зависимый протекторный эффект кофеина в различных клеточных [266] и бактериальных [200, 280] системах в присутствии токсичных ароматических соединений известен в литературе достаточно давно. Важно подчеркнуть, что в системах Препарат-САФ типичный протекторный эффект проявляется при концентрациях САФ на 2-3 порядка больших, чем концентрации действующего вещества, что хорошо согласуется с соотношением концентраций САФ/Препарат, представленным на рис. 5.13. Полученные результаты также показывают, что одни и те же концентрации кофеина защищают как от мутагенного эффекта EB, так и от токсического эффекта PF. Согласно теории интерцепторно-протекторного действия [114, 116] протекторный эффект САФ в

отношении PF должен проявляться в большей степени, чем в системе EB-CAF вследствие более высокой константы гетероассоциации PF-CAF ($K_h=160$ моль⁻¹) по сравнению с EB-CAF ($K_h=62$ моль⁻¹) [116]. Полноценная проверка этой гипотезы в рамках настоящей работы не представляется возможной, так же как и определение численного значения фактора A_D , как было сделано в предыдущем подразделе 5.4. Вместе с тем предварительные данные указывают на то, что в исследуемых системах при коротковременной экспозиции препаратов, кофеина и бактерий происходит однонаправленное ингибирование биолюминесценции под действием интеркаляторов, оказывающее наибольшее влияние именно на систему с PF, в то время как в системе EB-CAF эффект ингибирования выражен намного слабее, что косвенно согласуется с предсказанием теории интерцепторно-протекторного действия.

В целом, обнаруженный в данном исследовании концентрационно-зависимый протекторный эффект действия CAF на биолюминесценцию культуры светящихся бактерий *P. leiognathi* Sh1, содержащую типичные мутагенные препараты PF и EB, заключающийся в восстановлении биолюминесцентного сигнала при введении CAF, соответствует результатам, полученным выше на непролиферирующих клетках буккального эпителия человека. Следовательно, наблюдаемый на двух клеточных линиях с помощью различных методик эффект комбинированного воздействия БАС подтверждает выдвинутое ранее предположение, что в основе наблюдаемого эффекта лежит нековалентное комплексообразование (гетероассоциация) препарата с молекулами-интерцепторами.

5.6. Заключение

В настоящей главе было рассмотрено комбинированное действие ДНК-интеркаляторов (DOX, EB и PF) с молекулами-интерцепторами: фуллереном C₆₀ и CAF.

При исследовании комбинированного действия БАС на клетки буккального эпителия человека было обнаружено концентрационно-зависимое восстановление функциональной активности клеточного ядра, подвергнутого воздействию исследуемых ароматических препаратов, при введении чистого C_{60} фуллерена или САФ. Более того, наблюдаемый эффект характеризовался хорошей корреляцией между двумя исследуемыми параметрами: числом гранул гетерохроматина и электроотрицательностью ядер, и был качественно подобным для всех доноров

Экспериментальные зависимости количества гранул гетерохроматина от концентрации C_{60} фуллерена в присутствии ДНК-интеркалятора для всех доноров удалось достаточно хорошо описать в рамках теории интерцепторно-протекторного действия [114, 116] в предположении доминирования в наблюдаемых биологических эффектах так называемого интерцепторного механизма, т.е. нековалентного комплексообразования (гетероассоциации) препарата с C_{60} фуллереном. Независимая проверка возможности применения теории интерцепторно-протекторного действия к результатам, полученным на клетках буккального эпителия человека, была также проведена на примере наиболее хорошо изученной в рамках теории интерцепторно-протекторного действия системы Препарат-САФ.

При воздействии исследуемыми ДНК-интеркаляторами (PF и EB) на культуру светящихся бактерий *P. leiognathi* Sh1 был обнаружен концентрационно-зависимый протекторный эффект действия САФ на биолюминесценцию, заключающийся в восстановлении биолюминесцентного сигнала при введении САФ и соответствующий результатам, полученным на непролиферирующих клетках буккального эпителия человека.

В целом, полученные результаты указывают на существование единого молекулярного процесса – гетероассоциации, посредством которой осуществляется регуляция наблюдаемого *in vitro* изменения биологического эффекта ароматических препаратов при введении в биосистему молекул-интерцепторов на примере непролиферирующей клеточной линии буккального

эпителия человека и биолюминесцентной культуры светящихся бактерий. Данные приведенных исследований также дают основание утверждать, что биолюминесценция нативных светящихся бактерий, а также изучение электрокинетических свойств ядер и состояния хроматина, представленное на клетках буккального эпителия человека, являются достаточно хорошими показателями биологического эффекта ароматических БАС и их комбинаций.

Представленные в данной главе результаты опубликованы в работах [14, 21, 251].

ВЫВОДЫ

В настоящей работе выполнено комплексное исследование изменения электрокинетических свойств ядер и состояния хроматина, а также проницаемости мембран клеток буккального эпителия человека, подверженных комбинированному действию слабого микроволнового излучения (900 МГц, 3.7 ГГц, 8 ГГц) и биологически активных соединений: ароматических ДНК-интеркаляторов, кофеина и C_{60} фуллерена.

На основании полученных результатов можно сделать следующие выводы:

1. Установлен характер реакции клеток буккального эпителия на электромагнитное излучение различных характеристик: излучение рабочей частоты WiMAX (3.7 ГГц) с варьируемыми мощностью и временем экспозиции, излучение мобильных телефонов (900 МГц) с различными уровнями SAR, а также отклик клеток на электрическую и магнитную составляющую ЭМИ на частоте 8 ГГц по-отдельности. Наблюдалась выраженная конденсация хроматина и увеличение проницаемости клеточной мембраны как функции времени экспозиции с характерным порогом и областью насыщения. При этом электрическая составляющая электромагнитного поля оказывает большее влияние на увеличение гетерохроматинизации в сравнении с магнитной.

2. Введение в клетки ароматических ДНК-интеркаляторов приводит к конденсации хроматина и снижению электроотрицательности клеточных ядер, при этом действие кофеина и ДНК-несвязывающегося C_{60} фуллерена видимых изменений состояния хроматина и электрокинетических свойств ядер не вызывало. Влияния всех исследуемых препаратов на проницаемость клеточной мембраны обнаружено не было.

3. При исследовании комбинированного действия электромагнитного излучения с ДНК-связывающимися веществами обнаружен синергетический протекторный эффект, заключающийся в уменьшении клеточного отклика,

вызываемого электромагнитным излучением и препаратами по отдельности. При действии C_{60} фуллерена и кофеина также наблюдался протекторный эффект по отношению к действию электромагнитного излучения на хроматин клеток буккального эпителия человека. На основании полученных результатов был сделан вывод о том, что возможный механизм наблюдаемых эффектов не связан непосредственно с комплексообразованием Препарат-ДНК, а может осуществляться посредством взаимодействия препаратов с облученной водной средой.

4. При комбинированном воздействии ДНК-интеркаляторов на непролиферирующие клетки буккального эпителия выявлено концентрационно-зависимое восстановление функциональной активности клеточного ядра при введении немодифицированного C_{60} фуллерена или кофеина. Полученные экспериментальные зависимости количества гранул гетерохроматина от концентрации C_{60} фуллерена или кофеина хорошо описываются в рамках теории интерцепторно-протекторного действия, в основе которой лежит представление о двух молекулярных процессах: интерцепторном (гетероассоциации) и протекторном.

5. Обнаружено концентрационно-зависимое восстановление клеточного отклика при действии комбинаций Интеркалятор-Кофеин на пролиферирующую культуру светящихся бактерий *P. leiognathi* Sh1. Показано, что наблюдаемый эффект подобен тому, что обнаружен в системах Интеркалятор-Кофеин на непролиферирующих клетках буккального эпителия, что указывает на существование единого механизма комбинированного действия ароматических соединений, в основе которого лежит нековалентное комплексообразование препаратов друг с другом и с ДНК.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Бабаян, Ю. Некоторые физико-химические свойства ДНК, облученной низкоэнергетическими миллиметровыми когерентными электромагнитными волнами / Ю. Бабаян, С. Акопян, Р. Казарян, В. Калантарян, Г. Симонян, А. Хачатрян, А. Антонян, П. Вардеванян // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. – 2006. – № 11. – С. 64-68.
2. Бессонова, А. Влияние высокочастотного электромагнитного поля на физико-химические свойства воды и ее спектральные характеристики / А. Бессонова, И. Стась // Ползуновский вестник. – 2008. – Т. 3. – С. 305-309.
3. Бойко, О.В. Влияние микроволнового излучения на частотах мобильной связи и сети WiMAX на состояние хроматина клеток буккального эпителия человека / О.В. Бойко, А.О. Лантушенко, Г.А. Лукьянчук, В.В. Саламатин, Ю.Г. Шкорбатов // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2010. – Т. 23. – № 62. – С. 56-64.
4. Бородай, Н.В. Содержание ДНК в эпителиоцитах слизистой полости рта у больных парадонтитом / Н.В. Бородай, К.П. Ганина, Т.Д. Центило // Цитология и генетика. – 1991. – Т. 25. – № 4. – С. 13-17.
5. Быков, В. Функциональная морфология эпителиального барьера слизистой оболочки полости рта / В. Быков // Стоматология. – 1997. – Т. 76. – № 3. – С. 12-17.
6. Быкова, И.А. Результаты цитологического исследования отпечатков со слизистой полости рта у лиц пожилого возраста / И.А. Быкова, А.А. Агаджанян, Л.Д. Серова // Клинич. лаб. диагностика. – 1999. – Т. 2. – С. 33-35.
7. Ганина, К.П. Количественная оценка опухоль-ассоциированных изменений ДНК ядер буккального эпителия при фиброаденоме,

- фиброаденоматозе и раке молочной железы / К.П. Ганина, Н.В. Бородай, Ю.И. Петунин, Д.А. Ключин // Экспериментальная онкология. – 1998. – Т. 20. – № 2. – С. 130-134.
8. Гусев, Н. Защита от ионизирующих излучений / Н. Гусев, В. Машкович, А. Суворов - М.: Атомиздат, 1980. – 259 с.
 9. Девятков, Н.Д. Роль синхронизации в воздействии слабых сигналов миллиметрового диапазона на живые организмы. Эффекты нетеплового воздействия миллиметрового излучения на биологические объекты / Н.Д. Девятков, М.Б. Голант, А.С. Тагер – М.: ИРЭ. – 1983. – С. 7-17.
 10. Дерябин, Д.Г. Бактериальная биоломинесценция : фундаментальные и прикладные аспекты / Д.Г. Дерябин - М. : Наука, 2009. - 248 с.
 11. Журавлева, Л.А. Изменение степени компактизации хроматина в ядрах клеток буккального эпителия человека под действием высокой и низкой положительной температуры инкубации / Л.А. Журавлева, Ю.Г. Шкорбатов, В.Г. Шахбазов // Труды по фундаментальной и прикладной генетике. – 2003. – Т. 2. – С. 289-296.
 12. Залюбовская, Н.П. Влияние электромагнитных волн миллиметрового диапазона на клетки культуры ткани / Н.П. Залюбовская, Р.И. Киселев, Е.Ф. Тесленко-Пономаренко // Экспериментальная и клиническая радиология. – 1973. – Т. 9. – С. 177-179.
 13. Захаров, А. Частота хроматинположительных ядер в буккальном эпителии / А. Захаров // Генетика. – 1972. – V. 8. – № 32. – Р. 192-195.
 14. Кацев, А.М. Изучение биологического действия комбинаций ДНК-интеркаляторов с кофеином на люминесцентные бактерии / А.М. Кацев, Г.Б. Скамрова, М.П. Евстигнеев // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2014. – Т. 27(66). – № 2. – С. 186-195.
 15. Міністерство охорони здоров'я України. Центральна санітарно-епідеміологічна станція. Інформаційний бюлетень «Мобільний зв'язок та

здоров'я людини», жовтень 2008 р.

16. Рубакина, В.А. Влияние электрической и магнитной составляющей электромагнитного поля на проницаемость мембран и состояние хроматина в ядрах клеток буккального эпителия человека / В.А. Рубакина, Г.Б. Скамрова, А.Н. Трушкин // IX Междунар. науч.-технич. конфер. «Актуальные вопросы биологической физики и химии "БФФХ–2013"», Севастополь, 22-26 апреля 2013 г. - Севастополь, 2013. - С. 46-47.
17. Скамрова, Г.Б. Влияние излучения мобильного телефона на состояние мембран и хроматина клеток буккального эпителия человека / Г.Б. Скамрова, М.П. Евстигнеев, А.О. Лантушенко, Ю.Г. Шкорбатов // VIII Междунар. науч.-технич. конфер. «Актуальные вопросы биологической физики и химии "БФФХ–2012"», Севастополь, 23-27 апреля 2012 г. - Севастополь, 2012. - С. 38-40.
18. Скамрова, Г.Б. Влияние микроволнового излучения на частотах мобильной связи и сети WIMAX на проницаемость мембран клеток буккального эпителия человека / Г.Б. Скамрова, А.О. Лантушенко // VII Междунар. науч.-технич. конфер. «Актуальные вопросы биологической физики и химии "БФФХ–2011"», Севастополь, 26-30 апреля 2011 г. - Севастополь, 2011. - С. 69-70.
19. Скамрова, Г.Б. Влияние микроволнового излучения на частотах мобильной связи и сети wimax на проницаемость мембран клеток буккального эпителия человека / Скамрова Г.Б., Евстигнеев М.П., Лантушенко А.О., Лукьянчук Г.А., Саламатин В.В., Шкорбатов Ю.Г. // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2011. – Т. 24(63). – № 4. – С. 282-291.
20. Скамрова, Г.Б. Влияние электрической и магнитной составляющей электромагнитного поля на проницаемость мембран и состояние хроматина в ядрах клеток буккального эпителия человека / Скамрова Г.Б.,

- Евстигнеев М.П., Трушкин А.Н., Шкорбатов Ю.Г. // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2012. – Т. 25(64). – № 3. – С. 187-195.
21. Скамрова, Г.Б. Интерцепторное действие фуллерена C₆₀ на клетки буккального эпителия человека в присутствии доксорубина / Г.Б. Скамрова, М.П. Евстигнеев, Ю.И. Прилуцкий // Материалы Междунар. науч.-мет. конф. «Современные проблемы биофизики сложных систем. Информационно-образовательные процессы». Воронеж (Россия). - Воронеж, 2013. - С. 155-158.
22. Скамрова, Г.Б. Комбинированное воздействие электромагнитного излучения, ДНК-интеркаляторов и C₆₀ фуллерена на клетки буккального эпителия человека / Г.Б. Скамрова, Ю.И. Прилуцкий, М.П. Евстигнеев // Биотехнология. – 2014. – Т. 7. - № 2. – С. 54-62.
23. Тамбиев, А. Миллиметровые волны и фотосинтезирующие организмы / А. Тамбиев, Н. Кирикова, О. Бецкий, Ю. Гуляев – М: Радиотехника, 2003. – 175 с.
24. Тартаковский, А.Д. Питательные среды для культивирования клеток млекопитающих. Методы культивирования клеток / А.Д. Тартаковский - Л.: Наука, 1988. – С. 44-63.
25. Шаталов, В. Дегазация биожидкостей как механизм биологического действия слабых электромагнитных полей / В. Шаталов // Біофізичний вісник. – 2009. – Т. 23. – № 2. – С. 92-99.
26. Шахбазов, В.Г. Новый метод определения биологического возраста человека / В.Г. Шахбазов, Т.В. Колупаева, А.Л. Набоков // Лабораторное дело. – 1986. – № 7. – С. 404-406.
27. Шахбазов, В.Г. Новый цитобиофизический показатель биологического возраста и физиологического состояния организма человека / В.Г. Шахбазов, Н.Н. Григорьева, Т.В. Колупаева // Физиология человека. – 1996. – Т. 22. – № 6. – С. 71-75.

28. Шкорбатов, Ю.Г. Биоэлектрические свойства клеточных ядер / Ю.Г. Шкорбатов, В.Г. Шахбазов // Успехи современной биологии. – 1992. – Т. 112. – № 4. – С. 449-511.
29. Шкорбатов, Ю.Г. Влияние постоянного и вращающегося магнитных полей вихревого типа на проницаемость мембран клеток человека / Ю.Г. Шкорбатов, В.А. Грабина, В.Н. Пасюга // Фотобіологія та фотомедицина. – 2009. – Т. 4. – С. 67-72.
30. Шкорбатов, Ю.Г. Изменение свойств клеточных мембран, хроматина и электрокинетических свойств ядер клеток человека при действии низкоэнергетического микроволнового облучения / Ю.Г. Шкорбатов, В.Г. Шахбазов, В.В. Навроцкая, Л.А. Журавлева, Н.Н. Горобец, В.И. Кийко, С.П. Сиренко // Материалы XI Междунар микроволновой крымской конф. “КрыМиКо-2001”. – Севастополь, 2001.– С. 92-94.
31. Шкорбатов, Ю.Г. Изменение состояния ядра и хроматина клеток человека при действии гормональных факторов *in vitro* / Ю.Г. Шкорбатов, В.Г. Шахбазов, О.В. Горенская, Т.В. Дмитрук, П.Ю. Монтвид // Цитология и генетика. – 1999. – Т. 33. – № 5. – С. 64-71.
32. Шкорбатов, Ю.Г. Структурні та електрокінетичні властивості ядер клітин букального епітелію людини у зв'язку з дією фізико-хімічних факторів та зміною функціонального стану організму: дис. д-ра биол. наук: 03. 00. 11/ Шкорбатов Юрій Георгійович. - Київ: Нац. унт ім. Т. Шевченка, 2005. - 349 с.
33. Штемлер, В.М. Изменение транспорта K^+ и Na^+ в эритроцитах человека под влиянием микроволн / В.М. Штемлер // Гигиена труда и биологическое действие электромагнитных волн радиочастот. М.: Медицина. – 1972. – С. 62-68.
34. Adey, W. Effects of weak amplitude-modulated microwave fields on calcium efflux from awake cat cerebral cortex / W. Adey, S. Bawin, A. Lawrence // Bioelectromagnetics. – 1982. – V. 3. – № 3. – P. 295-307.

35. Adey, W.R. Biological effects of electromagnetic fields / W.R. Adey // *Journal of cellular biochemistry*. – 1993. – V. 51. – P. 410-410.
36. Advisory Group on Non-ionising Radiation. Possible Health Effects from Terrestrial Trunked Radio (TETRA) // *Report of an advisory group on nonionising radiation documents of the NRPB*. – 2001. – V. 12. – P. 1-40.
37. Agata, C. Induction of light emission by luminescent bacteria treated with UV light and chemical mutagens / C. Agata, K. Plata, G. Wêgrzyn // *J. Appl. Genet.* – 2002. – V. 43. – № 3. – P. 377-389.
38. Albert, E.N. Effect of amplitude-modulated 147 MHz radiofrequency radiation on calcium ion efflux from avian brain tissue / E.N. Albert, F. Slaby, J. Roche, J. Loftus // *Radiation research*. – 1987. – V. 109. – № 1. – P. 19-27.
39. Arkin, M. Rates of DNA-mediated electron transfer between metallointercalators / M. Arkin, E. Stemp, R. Holmlin, J. Barton, A. Hörmann, E. Olson, P. Barbara // *Science*. – 1996. – V. 273. – № 5274. – P. 475-480.
40. Ashani, Y. Combined effects of anticholinesterase drugs and low-level microwave radiation / Y. Ashani, F. Henry, G.N. Catravas // *Radiation research*. – 1980. – V. 84. – № 3. – P. 496-503.
41. Au, W.W. The genotoxic effects of adriamycin in somatic and germinal cells of the mouse / W.W. Au, T. Hsu // *Mutation Research/Genetic Toxicology*. – 1980. – V. 79. – № 4. – P. 351-361.
42. Autrup, H. Metabolism of benzo [a] pyrene by cultured rat and human buccal mucosa cells / H. Autrup, T. Seremet, D. Arenholt, L. Dragsted, A. Jepsen // *Carcinogenesis*. – 1985. – V. 6. – № 12. – P. 1761-1765.
43. Banerjee, S. Ultrafast Spectroscopic Study on Caffeine Mediated Dissociation of Mutagenic Ethidium from Synthetic DNA and Various Cell Nuclei / S. Banerjee, D. Bhowmik, P.K. Verma, R.K. Mitra, A. Sidhanta, G. Basu, S.K. Pal // *The Journal of Physical Chemistry B*. – 2011. – V. 115. – № 49. – P. 14776-14783.
44. Baranovskii, S. Complexation of heterocyclic ligands with DNA in aqueous

- solution / S. Baranovskii, P. Bolotin, M. Evstigneev, D. Chernyshev // Journal of Applied Spectroscopy. – 2008.– V. 75. – № 2. – P. 251-260.
45. Baranovsky, S. Interaction of ethidium bromide and caffeine with DNA in aqueous solution / S. Baranovsky, P. Bolotin, M. Evstigneev, D. Chernyshev // Journal of Applied Spectroscopy. – 2009.– V. 76. – № 1. – P. 132-139.
46. Baxter, K. Stockley's drug interactions / K. Baxter, I.H. Stockely - Pharmaceutical Press London: 2010. – 1792 p.
47. Belloni, F. A suitable plane transmission line at 900 MHz RF fields for *E. coli* DNA studies / F. Belloni, V. Nassisi, P. Alifano, C. Monaco, A. Tala, M. Tredici, A. Raino // Review of scientific instruments. – 2005. – V. 76. – P. 054302.
48. Belyaev, I.Y. 915 MHz microwaves and 50 Hz magnetic field affect chromatin conformation and 53BP1 foci in human lymphocytes from hypersensitive and healthy persons / I.Y. Belyaev, L. Hillert, M. Protopopova, C. Tamm, L.O. Malmgren, B.R. Persson, G. Selivanova, M. Harms-Ringdahl // Bioelectromagnetics. – 2005. – V. 26. – № 3. – P. 173-184.
49. Belyaev, I.Y. Changes in chromatin conformation during radiation-induced apoptosis in human lymphocytes / I.Y. Belyaev, S. Czene, M. Harms-Ringdahl // Radiation Research. – 2001.– V. 156. – № 4. – P. 355-364.
50. Belyaev, I.Y. Effects of ethidium bromide on DNA loop organisation in human lymphocytes measured by anomalous viscosity time dependence and single cell gel electrophoresis / I.Y. Belyaev, S. Eriksson, J. Nygren, J. Torudd, M. Harms-Ringdahl // Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects. – 1999. – V. 1428. – № 2. – P. 348-356.
51. Belyaev, I.Y. Effects of weak ELF on *E. coli* cells and human lymphocytes: Role of genetic, physiological, and physical parameters. / I.Y. Belyaev, Y.D. Alipov, M. Harms-Ringdahl - Springer: 1999. - P. 481-484.
52. Belyaev, I.Y. Nonthermal effects of extremely high-frequency microwaves on chromatin conformation in cells in vivo-dependence on physical, physiological,

- and genetic factors / I.Y. Belyaev, V.S. Shcheglov, E.D. Alipov, V.D. Ushakov // *Microwave Theory and Techniques, IEEE Transactions on.* – 2000. – V. 48. – № 11. – P. 2172-2179.
53. Belyaev, I.Y. Resonance effect of millimeter waves in the power range from 10^{19} to 3×10^{-3} W/cm² on *Escherichia coli* cells at different concentrations / I.Y. Belyaev, V.S. Shcheglov, Y.D. Alipov, V.A. Polunin // *Bioelectromagnetics.* – 1996. – V. 17. – № 4. – P. 312-321.
54. Beneduci, A. Microwave induced shift of the main phase transition in phosphatidylcholine membranes / A. Beneduci, L. Filippelli, K. Cosentino, M.L. Calabrese, R. Massa, G. Chidichimo // *Bioelectrochemistry.* – 2012. – V. 84. – P. 18-24.
55. Berman, H.M. The interaction of intercalating drugs with nucleic acids / H.M. Berman, P.R. Young // *Annual review of biophysics and bioengineering.* – 1981. – V. 10. – № 1. – P. 87-114.
56. Bernhardt, J. Non-ionizing radiation safety: radiofrequency radiation, electric and magnetic fields / J. Bernhardt // *Physics in Medicine and Biology.* – 1992. – V. 37. – № 4. – P. 807.
57. Berridge, M.J. The versatility and universality of calcium signalling / M.J. Berridge, P. Lipp, M.D. Bootman // *Nature Reviews Molecular Cell Biology.* – 2000. – V. 1. – № 1. – P. 11-21.
58. Blackman, C. Effects of ELF (1–120 Hz) and modulated (50 Hz) RF fields on the efflux of calcium ions from brain tissue *in vitro* / C. Blackman, S. Benane, D. House, W. Joines // *Bioelectromagnetics.* – 1985. – V. 6. – № 1. – P. 1-11.
59. Blackman, C. Induction of calcium-ion efflux from brain tissue by radiofrequency radiation: Effect of sample number and modulation frequency on the power-density window / C. Blackman, S. Benane, J. Elder, D. House, J. Lampe, J. Faulk // *Bioelectromagnetics.* – 1980. – V. 1. – № 1. – P. 35-43.
60. Blackman, C. Induction of calcium-ion efflux from brain tissue by radiofrequency radiation: Effects of modulation frequency and field strength / C.

- Blackman, J. Elder, C.Weil, S. Benane, D. Eichinger, D. House // *Radio Science*. – 1979. – V. 14. – № 6S. – P. 93-98.
61. Blank, M. Comment: a biological guide for electromagnetic safety: the stress response / M. Blank, R. Goodman // *Bioelectromagnetics*. – 2004. – V. 25. – № 8. – P. 642-646.
62. Blank, M. Electromagnetic acceleration of electron transfer reactions / M. Blank, L. Soo // *Journal of cellular biochemistry*. – 2001.– V. 81. – № 2. – P. 278-283.
63. Blank, M. Electromagnetic fields stress living cells / M. Blank, R. Goodman // *Pathophysiology*. – 2009. – V. 16. – № 2. – P. 71-78.
64. Blank, M. Initial interactions in electromagnetic field-induced biosynthesis / M. Blank, R. Goodman // *Journal of cellular physiology*. – 2004.– V. 199. – № 3. – P. 359-363.
65. Blommaert, F.A. Drug-induced DNA modification in buccal cells of cancer patients receiving carboplatin and cisplatin combination chemotherapy, as determined by an immunocytochemical method: interindividual variation and correlation with disease response / F.A. Blommaert, C. Michael, P.M. Terheggen, F.M. Muggia, V. Kortes, J.H. Schornagel, A.A. Hart, L. den Engelse // *Cancer research*. – 1993. – V. 53. – № 23. – P. 5669-5675.
66. Brizhik, L. Effects of Periodic Electromagnetic Field on Charge Transport in Macromolecules / L. Brizhik, A. Eremko, B. Piette, W. Zakrzewski // *Electromagnetic Biology and Medicine*. – 2009. – V. 28. – № 1. – P. 15-27.
67. Brizhik, L. Electromagnetic radiation influence on nonlinear charge and energy transport in biosystems / L. Brizhik, L. Cruzeiro-Hansson, A. Eremko // *Journal of biological physics*. – 1999. – V. 24. – № 2-4. – P. 223-232.
68. Brizhik, L. Influence of electromagnetic radiation on molecular solitons / L. Brizhik, L. Cruzeiro-Hansson, A. Eremko // *Journal of biological physics*. – 1998. – V. 24. – № 1. – P. 19-40.
69. Brizhik, L. Possible mechanism of electromagnetic radiation influence on

- charge transport in biosystems / L. Brizhik, A. Eremko // *Physics of the Alive*. – 1997. – V. 5. – P. 9-17.
70. Buchelnikov, A. Mechanism of complexation of the phenothiazine dye methylene blue with fullerene C₆₀ / A. Buchelnikov, V. Kostyukov, M. Yevstigneev, Y.I. Prylutsky // *Russian Journal of Physical Chemistry A*. – 2013. – V. 87. – № 4. – P. 662-667.
71. Buchelnikov, A.S. General analysis of competitive binding in drug–interceptor–DNA systems / A.S. Buchelnikov, A.H. Santiago, M.G. Flores, R.V. Ramirez, D. Davies, M. Evstigneev // *European Biophysics Journal*. – 2012. – V. 41. – № 3. – P. 273-283.
72. Bulavin, L. Structure of fullerene C₆₀ in aqueous solution / L. Bulavin, I. Adamenko, Y. Prylutsky, S. Durov, A. Graja, A. Bogucki, P. Scharff // *Physical Chemistry Chemical Physics*. – 2000. – V. 2. – № 8. – P. 1627-1629.
73. Burch, L. Microwave radiation and chlordiazepoxide: Synergistic effects on fixed-interval behavior / L. Burch, S. Yeandle // *Science*. – 1979. – V. 203. – № 4387. – P. 1357-1358.
74. Buttiglione, M. Radiofrequency radiation (900 MHz) induces Egr-1 gene expression and affects cell-cycle control in human neuroblastoma cells / M. Buttiglione, L. Roca, E. Montemurno, F. Vitiello, V. Capozzi, G. Cibelli // *Journal of cellular physiology*. – 2007. – V. 213. – № 3. – P. 759-767.
75. Cao, G. Cell cycle alterations induced by isothermal 27 MHz radio-frequency radiation exposure / G. Cao, L.-M. Liu, S.F. Cleary // *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*. – 1995. – V. 37. – № 2. – P. 131-140.
76. Capri, M. *In vitro* exposure of human lymphocytes to 900 MHz CW and GSM modulated radiofrequency: studies of proliferation, apoptosis and mitochondrial membrane potential / M. Capri, E. Scarcella, C. Fumelli, E. Bianchi, S. Salvioli, P. Mesirca, C. Agostini, A. Antolini, A. Schiavoni, G. Castellani // *Radiation research*. – 2004. – V. 162. – № 2. – P. 211-218.
77. Chang, S. Genotoxicity evaluation of electromagnetic fields generated by

- 835 MHz mobile phone frequency band / S. Chang, J. Choi, H. Gil, J. Yang, E. Lee, Y. Jeon, Z. Lee, M. Lee, M. Hong, T.-H. Son // *European journal of cancer prevention*. – 2005. – V. 14. – № 2. – P. 175-179.
78. Chauhan, V. Gene expression analysis of a human lymphoblastoma cell line exposed *in vitro* to an intermittent 1.9 GHz pulse-modulated radiofrequency field / V. Chauhan, A. Mariampillai, P.V. Bellier, S.S. Qutob, G.B. Gajda, E. Lemay, A. Thansandote, J.P. McNamee // *Radiation Research*. – 2006. – V. 165. – № 4. – P. 424-429.
79. Chen, Q. Effects of millimeter wave on gap junctional intercellular communication in human keratinocytes / Q. Chen, Q. Zeng, D. Lu, H. Jiang // *Chinese journal of preventive medicine*. – 2004. – V. 38. – № 1. – P. 8-10.
80. Chen, W.-S. Novel design of printed monopole antenna for WLAN/WiMAX applications / W.-S. Chen, Y.-C. Chang, H.-T. Chen, F.-S. Chang, H.-C. Su // *Antennas and Propagation Society International Symposium*. – 2007. – P. 3281-3284.
81. Christiansen, P.L. Shocking optical solitons / P.L. Christiansen // *Nature* –1989. – V. 339.– P. 17-18.
82. Chu, E. *Physician's Cancer Chemotherapy Drug Manual* / E. Chu, V.T. DeVita - Jones & Bartlett Learning: 2006. – 551 p.
83. Chung, K.L. A modified two-strip monopole antenna for WiFi and WiMAX applications / K.L. Chung, T. Mak, W. Tam // *Microwave and Optical Technology Letters*. – 2009. – V. 51. – № 12. – P. 2884-2886.
84. Ciaravino, V. Absence of a synergistic effect between moderate-power radio-frequency electromagnetic radiation and adriamycin on cell-cycle progression and sister-chromatid exchange / V. Ciaravino, M.L. Meltz, D.N. Erwin // *Bioelectromagnetics*. – 1991. – V. 12. – № 5. – P. 289-298.
85. Cleary, S.F. Effect of isothermal radiofrequency radiation on cytolytic T lymphocytes / S.F. Cleary, Z. Du, G. Cao, L. Liu, C. McCrady // *The FASEB journal*. – 1996.– V. 10. – № 8. – P. 913-919.

86. Coptý, A.B. Evidence for a specific microwave radiation effect on the green fluorescent protein / A.B. Coptý, Y. Neve-Oz, I. Barak, M. Golosovsky, D. Davidov // *Biophysical journal*. – 2006. – V. 91. – № 4. – P. 1413-1423.
87. Cosentino, K. The influence of millimeter waves on the physical properties of large and giant unilamellar vesicles / K. Cosentino, A. Beneduci, A. Ramundo-Orlando, G. Chidichimo // *Journal of biological physics*. – 2013. – P. 1-16.
88. Crosthwaite, N. p53 protein expression in malignant, pre-malignant and non-malignant lesions of the lip / N. Crosthwaite, D. Teale, C. Franklin, G. Foster, B. Stringer // *Journal of clinical pathology*. – 1996. – V. 49. – № 8. – P. 648-653.
89. Crumpton, M.J. Are environmental electromagnetic fields genotoxic? / M.J. Crumpton, A.R. Collins // *DNA repair*. – 2004. – V. 3. – № 10. – P. 1385-1387.
90. Czyz, J. High frequency electromagnetic fields (GSM signals) affect gene expression levels in tumor suppressor p53-deficient embryonic stem cells / J. Czyz, K. Guan, Q. Zeng, T. Nikolova, A. Meister, F. Schoenborn, J. Schuderer, N. Kuster, A.M. Wobus // *Bioelectromagnetics*. – 2004. – V. 25. – № 4. – P. 296-307.
91. Dandliker, P.J. Oxidative thymine dimer repair in the DNA helix / P.J. Dandliker, R.E. Holmlin, J.K. Barton // *Science*. – 1997. – V. 275. – № 5305. – P. 1465-1468.
92. D'Andrea, J.A. Microwave effects on the nervous system / J.A. D'Andrea, C. Chou, S.A. Johnston, E.R. Adair // *Bioelectromagnetics*. – 2003. – V. 24. – № S6. – P. 8107-8147.
93. Dasdag, S. Effect of Nonionizing Radiation on Plasmid DNA of *E coli* Puc9 / S. Dasdag, M. Celik, F. Uyar, M. Akdag, C. Sert, Y. Ensari // *Biochemical Archives*. – 1999. – V. 15. – № 4. – P. 317-322.
94. Davies, D.B. ¹H NMR investigation of the hetero-association of aromatic molecules in aqueous solution: factors involved in the stabilization of complexes of daunomycin and acridine drugs / D.B. Davies, D.A. Veselkov,

- V.V. Kodintsev, M.P. Evstigneev, A.N. Veselkov // *Molecular Physics*. – 2000. – V. 98. – № 23. – P. 1961-1971.
95. Davies, D.B. Hetero-association of caffeine and aromatic drugs and their competitive binding with a DNA oligomer / D.B. Davies, D.A. Veselkov, L.N. Djimant, A.N. Veselkov // *European Biophysics Journal*. – 2001. – V. 30. – № 5. – P. 354-366.
96. Dawe, A.S. A small temperature rise may contribute towards the apparent induction by microwaves of heat-shock gene expression in the nematode *Caenorhabditis Elegans* / A.S. Dawe, B. Smith, D.W. Thomas, S. Greedy, N. Vasic, A. Gregory, B. Loader, D.I. de Pomerai // *Bioelectromagnetics*. – 2006. – V. 27. – № 2. – P. 88-97.
97. Dawe, A.S. Continuous wave and simulated GSM exposure at 1.8 W/kg and 1.8 GHz do not induce hsp16-1 heat-shock gene expression in *Caenorhabditis elegans* / A.S. Dawe, R. Nylund, D. Leszczynski, N. Kuster, T. Reader, D.I. De Pomerai // *Bioelectromagnetics*. – 2008. – V. 29. – № 2. – P. 92-99.
98. de Ment, J. The First Law of Fluorescence / J. de Ment // *Science*. – 1942. – V. 96. – № 2485. – P. 157-158.
99. de Pomerai, D. Cell biology: Non-thermal heat-shock response to microwaves / D. de Pomerai, C. Daniells, H. David, J. Allan, I. Duce, M. Mutwakil, D. Thomas, P. Sewell, J. Tattersall, D. Jones // *Nature*. – 2000. – V. 405. – P. 417-418.
100. Diem, E. Non-thermal DNA breakage by mobile-phone radiation (1800MHz) in human fibroblasts and in transformed GFSH-R17 rat granulosa cells *in vitro* / E. Diem, C. Schwarz, F. Adlkofer, O. Jahn, H. Rüdiger // *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. – 2005. – V. 583. – № 2. – P. 178-183.
101. Dutta, S. Microwave radiation-induced calcium ion efflux from human neuroblastoma cells in culture / S. Dutta, A. Subramoniam, B. Ghosh, R. Parshad // *Bioelectromagnetics*. – 1984. – V. 5. – № 1. – P. 71-78.

102. Dutta, S. Radiofrequency radiation-induced calcium ion efflux enhancement from human and other neuroblastoma cells in culture / S. Dutta, B. Ghosh, C. Blackman // *Bioelectromagnetics*. – 1989. – V. 10. – № 2. – P. 197-202.
103. Edwards, G. Microwave-field-driven acoustic modes in DNA / G. Edwards, C. Davis, J. Saffer, M. Swicord // *Biophysical journal*. – 1985. – V. 47. – № 6. – P. 799-807.
104. Edwards, G. Resonant microwave absorption of selected DNA molecules / G. Edwards, C. Davis, J. Saffer, M. Swicord // *Physical review letters*. – 1984. – V. 53. – № 21. – P. 2060-2060.
105. Ekwall, B. EDIT: a new international multicentre programme to develop and evaluate batteries of *in vitro* tests for acute and chronic systemic toxicity / B. Ekwall, C. Clemedson, B Ekwall, P. Ring, L. Romert // *ATLA. Alternatives to laboratory animals*. – 1999. – V. 27. – № 3. – P. 339-349.
106. Evstigneev, M. A method for analysis of multicomponent systems of interacting aromatic molecules in solution / M. Evstigneev, V. Evstigneev, D. Davies // *The Journal of chemical physics*. – 2007. – V. 127. – P. 154511.
107. Evstigneev, M. Complexation of anthracycline drugs with DNA in the presence of caffeine / M. Evstigneev, V. Khomich, D. Davies // *European Biophysics Journal*. – 2006. – V. 36. – № 1. – P. 1-11.
108. Evstigneev, M. Effect of a mixture of caffeine and nicotinamide on the solubility of vitamin (B2) in aqueous solution / M. Evstigneev, V. Evstigneev, A. Santiago, D. Davies // *European journal of pharmaceutical sciences*. – 2006. – V. 28. – № 1. – P. 59-66.
109. Evstigneev, M. NMR investigation of the effect of caffeine on the hetero-association of an anticancer drug with a vitamin / M. Evstigneev, V. Evstigneev, D. Davies // *Chemical physics letters*. – 2006. – V. 432. – № 1. – P. 248-251.
110. Evstigneev, M. Quantification of the interceptor action of caffeine on the *in vitro* biological effect of the anti-tumour agent topotecan / M. Evstigneev, A. Mosunov, V. Evstigneev, H. Parkes, D. Davies // *European Biophysics Journal*.

– 2011.– V. 40. – № 8. – P. 969-980.

111. Evstigneev, M.P. Complexation of C60 Fullerene with Aromatic Drugs / M.P. Evstigneev, A.S. Buchelnikov, D.P. Voronin, Y.V. Rubin, L.F. Belous, Y.I. Prylutskyy, U. Ritter // *ChemPhysChem*. – 2013. – V. 14. – № 3. – P. 568-578.
112. Evstigneev, M.P. Complexation of daunomycin with a DNA oligomer in the presence of an aromatic vitamin (B2) determined by NMR spectroscopy / M.P. Evstigneev, Y.V. Mykhina, D.B. Davies // *Biophysical chemistry*. – 2005. – V. 118. – № 2. – P. 118-127.
113. Evstigneev, M.P. Complexation of norfloxacin with DNA in the presence of caffeine / M.P. Evstigneev, K.A. Rybakova, D.B. Davies // *Biophysical chemistry*. – 2006. – V. 121. – № 2. – P. 84-95.
114. Evstigneev, M.P. DNA-binding aromatic drug molecules: physico-chemical interactions and their biological roles / M.P. Evstigneev - LAP Lambert Academic Publishing: 2010. – 96 p.
115. Evstigneev, M.P. Physicochemical Mechanisms of Synergistic Biological Action of Combinations of Aromatic Heterocyclic Compounds / M.P. Evstigneev - Organic Chemistry International, 2013. – 10 p.
116. Evstigneev, M.P. Quantitation of the molecular mechanisms of biological synergism in a mixture of DNA-acting aromatic drugs / M.P. Evstigneev, A.O. Lantushenko, V.P. Evstigneev, Y.V. Mykhina, D.B. Davies // *Biophysical chemistry*. – 2008. – V. 132. – № 2. – P. 148-158.
117. Fesenko, E. Preliminary microwave irradiation of water solutions changes their channel-modifying activity / E. Fesenko, V. Geletyuk, V. Kazachenko, N. Chemeris // *FEBS letters*. – 1995. – V. 366. – № 1. – P. 49-52.
118. Fesenko, E.E. Changes in the state of water, induced by radiofrequency electromagnetic fields / E.E. Fesenko, A.Y. Gluvstein // *FEBS letters*. – 1995. – V. 367. – № 1. – P. 53-55.
119. Foster, K. "Resonances" in the dielectric absorption of DNA? / K. Foster, B. Epstein, M. Gealt // *Biophysical journal*. – 1987. – V. 52. – № 3. – P. 421-425.

120. Frey, A.H. Interaction of psychoactive drugs with exposure to electromagnetic fields / A.H. Frey, L.S. Wesler // *Electromagnetic Biology and Medicine*. – 1990. – V. 9. – № 2. – P. 187-196.
121. Friedman, J. Mechanism of short-term ERK activation by electromagnetic fields at mobile phone frequencies / J. Friedman, S. Kraus, Y. Hauptman, Y. Schiff, R. Seger // *Biochem. J.* – 2007. – V. 405. – P. 559-568.
122. Fröhlich, H. Long-range coherence and energy storage in biological systems / H. Fröhlich // *International Journal of Quantum Chemistry*. – 1968. – V. 2. – № 5. – P. 641-649.
123. Fuqua, W.C. Quorum sensing in bacteria: the LuxR-LuxI family of cell density-responsive transcriptional regulators / W.C. Fuqua, S.C. Winans, E.P. Greenberg // *Journal of bacteriology*. – 1994. – V. 176. – № 2. – P. 269.
124. Gabriel, C. Microwave absorption in aqueous solutions of DNA / C. Gabriel, E. Grant, R. Tata, P. Brown, B. Gestblom, E. Noreland // *Nature*. – 1987. – V. 328. – P. 145-146.
125. Gapeyev, A. Changes in the chromatin structure of lymphoid cells under the influence of low-intensity extremely high-frequency electromagnetic radiation against the background of inflammatory process / A. Gapeyev, N. Romanova, N. Chemeris // *Biophysics*. – 2011. – V. 56. – № 4. – P. 672-678.
126. Garaj-Vrhovac, V. The correlation between the frequency of micronuclei and specific chromosome aberrations in human lymphocytes exposed to microwave radiation *in vitro* / V. Garaj-Vrhovac, A. Fučić, D. Horvat // *Mutation Research Letters*. – 1992. – V. 281. – № 3. – P. 181-186.
127. Gavrilov, P.E. Investigation of the nuclei electronegativity in human cells by the method of microelectrophoresis / P.E. Gavrilov, G.B. Skamrova, I.V. Laponogov // IX Междунар. науч.-технич. конфер. «Актуальные вопросы биологической физики и химии "БФФХ–2013"», Севастополь, 22-26 апреля 2013 г. - Севастополь, 2013. - С. 58-59.
128. Goldstein, L. A quantitative electro-encephalographic study of the acute effect

of X-band microwaves in rabbits / L. Goldstein, Z. Sisko – Polish Medical Publishers: Warsaw, 1974. – P. 128-133.

129. Goodman, R. Electromagnetic fields and cells / R. Goodman, Y. Chizmadzhev, A. Shirley-Henderson // *Journal of cellular biochemistry*. – 1993. – V. 51. – P. 436-436.
130. Goodman, R. Magnetic field stress induces expression of hsp70 / R. Goodman, M. Blank // *Cell stress & chaperones*. – 1998. – V. 3. – № 2. – P. 79.
131. Gos, P. No Mutagenic or Recombinogenic Effects of Mobile Phone Fields at 900MHz Detected In the Yeast *Saccharomyces cerevisiae* / P. Gos, B. Eicher, J. Kohli, A.W.-D. Heyer // *Bioelectromagnetics*. – 2000. – V. 21. – P. 515-523.
132. Goswami, P.C. Proto-oncogene mRNA levels and activities of multiple transcription factors in C3H 10T 1/2 murine embryonic fibroblasts exposed to 835.62 and 847.74 MHz cellular phone communication frequency radiation / P.C. Goswami, L.D. Albee, A.J. Parsian, J.D. Baty, E.G. Moros, W.F. Pickard, J.L.R. Roti, C.R. Hunt // *Radiation research*. – 1999. – V. 151. – № 3. – P. 300-309.
133. Graves, D.E. Intercalative binding of small molecules to nucleic acids / D.E. Graves, L.M. Velea // *Current Organic Chemistry*. – 2000. – V. 4. – № 9. – P. 915-929.
134. Haddock, S.H. Bioluminescence in the sea / S.H. Haddock, M.A. Moline, J.F. Case // *Marine Science*. – 2010. – V. 2. – P. 51.
135. Hastings, J. Bioluminescence / J. Hastings // *Annual review of biochemistry*. – 1968. – V. 37. – № 1. – P. 597-630.
136. Hilder, V. Studies on the Template Activity of 'Isolated' *Xenopus* Erythrocyte Nuclei I. The Effects of Ions / V. Hilder, N. Maclean // *Journal of Cell Science*. – 1974. – V. 16. – № 1. – P. 133-142.
137. Hill, G.M. Attenuation of cytotoxic natural product DNA intercalating agents by caffeine / G.M. Hill, D.M. Moriarity, W.N. Setzer // *Scientia pharmaceutica*. – 2011. – V. 79. – № 4. – P. 729.

138. Hogan, P.G. Molecular basis of calcium signaling in lymphocytes: STIM and ORAI / P.G. Hogan, R.S. Lewis, A. Rao // Annual review of immunology. – 2010. – V. 28. – P. 491.
139. Hook, G.J. Measurement of DNA damage and apoptosis in Molt-4 cells after *in vitro* exposure to radiofrequency radiation / G.J. Hook, P. Zhang, I. Lagroye, L. Li, R. Higashikubo, E.G. Moros, W.L. Straube, W.F. Pickard, J.D. Baty, J.L. Roti Roti // Radiation research. – 2004. – V. 161. – № 2. – P. 193-200.
140. Hurley, L.H. DNA and its associated processes as targets for cancer therapy / L.H. Hurley // Nature Reviews Cancer. – 2002. – V. 2. – № 3. – P. 188-200.
141. Jauchem, J.R. Effects of psychotropic drugs on thermal responses to radiofrequency radiation / J.R. Jauchem, M.R. Frei, F. Heinmets // Aviation, space, and environmental medicine. – 1985. – V. 56(12). – P. 1183-1188.
142. Joubert, V. Apoptosis is induced by radiofrequency fields through the caspase-independent mitochondrial pathway in cortical neurons / V. Joubert, S. Bourthoumieu, P. Leveque, C. Yardin // Radiation Research. – 2008. – V. 169. – № 1. – P. 38-45.
143. Joubert, V. No apoptosis is induced in rat cortical neurons exposed to GSM phone fields / V. Joubert, P. Leveque, M. Cueille, S. Bourthoumieu, C. Yardin // Bioelectromagnetics. – 2007. – V. 28. – № 2. – P. 115-121.
144. Karahalil, B. The micronucleus assay in exfoliated buccal cells: application to occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons / B. Karahalil, A.E. Karakaya, S. Burgaz // Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. – 1999. – V. 442. – № 1. – P. 29-35.
145. Katsev, A.M. Effects of hydrogen peroxide on light emission by various strains of marine luminescent bacteria / A.M. Katsev, G. Węgrzyn, H. Szpilewska // Journal of basic microbiology. – 2004. – V. 44. – № 3. – P. 178-184.
146. Kazbekov, E. Effects of microwave irradiation on some membrane-related processes in bacteria / E. Kazbekov, L. Vyacheslavov // Gen. Physiol. Biophys. – 1987. – V. 6. – № 1. – P. 57-64.

147. Khalil, S. Interaction of caffeine with phenothiazine derivatives / S. Khalil, L. El-Khordagui, A. Saleh // *International journal of pharmaceutics*. – 1983. – V. 16. – № 3. – P. 271-283.
148. Kimura, H. Decrease in sensitivity to ethidium bromide by caffeine, dimethylsulfoxide or 3-aminobenzamide due to reduced permeability / H. Kimura, T. Aoyama // *Journal of pharmacobio-dynamics*. – 1989. – V. 12. – № 10. – P. 589-595.
149. Komatsubara, Y. Effect of high-frequency electromagnetic fields with a wide range of SARs on chromosomal aberrations in murine m5S cells / Y. Komatsubara, H. Hirose, T. Sakurai, S. Koyama, Y. Suzuki, M. Taki, J. Miyakoshi // *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. – 2005. – V. 587. – № 1. – P. 114-119.
150. Korolev, N. Modelling chromatin structure and dynamics: status and prospects / N. Korolev, Y. Fan, A.P. Lyubartsev, L. Nordenskiöld // *Current opinion in structural biology*. – 2012. – V. 22. – № 2. – P. 151-159.
151. Korolev, N. Physicochemical analysis of electrostatic foundation for DNA–protein interactions in chromatin transformations / N. Korolev, O.V. Vorontsova, L. Nordenskiöld // *Progress in biophysics and molecular biology*. – 2007. – V. 95. – № 1. – P. 23-49.
152. Kovacic, P. Electromagnetic fields: mechanism, cell signaling, other bioprocesses, toxicity, radicals, antioxidants and beneficial effects / P. Kovacic, R. Somanathan // *Journal of Receptors and Signal Transduction*. – 2010. – V. 30. – № 4. – P. 214-226.
153. Kozurková, M. Cytotoxic activity of proflavine diureas: synthesis, antitumor, evaluation and DNA binding properties of 10, 100-(acridin-3, 6-diyl)-30, 300-dialkyldiureas / M. Kozurková, D. Sabolová, L. Janovec, J. Mikes, J. Koval, J. Ungvarský, M. Stefanisinová, P. Fedorocko, P. Kristian, J. Imrich // *Bioorg Med Chem*. – 2008. – V. 16. – P. 3976-3984.
154. Kwee, S. Changes in cellular proteins due to environmental non-ionizing

- radiation. I. Heat-shock proteins / S. Kwee, P. Raskmark, S. Velizarov // *Electromagnetic Biology and Medicine*. – 2001. – V. 20. – № 2. – P. 141-152.
155. Lai, H. Acute low-intensity microwave exposure increases DNA single-strand breaks in rat brain cells / H. Lai, N. Singh // *Bioelectromagnetics*. – 1995. – V. 16. – № 3. – P. 207-210.
156. Lai, H. Effects of low-level microwave irradiation on amphetamine hyperthermia are blockable by naloxone and classically conditionable / H. Lai, A. Horita, C. Chou, A. Guy // *Psychopharmacology*. – 1986. – V. 88. – № 3. – P. 354-361.
157. Lai, H. Interaction of microwaves and a temporally incoherent magnetic field on single and double DNA strand breaks in rat brain cells / H. Lai, N. Singh // *Electromagnetic Biology and Medicine*. – 2005. – V. 24. – № 1. – P. 23-29.
158. Lai, H. Low-level microwave irradiation attenuates naloxone-induced withdrawal syndrome in morphine-dependent rats / H. Lai, A. Horita, C. Chou, A. Guy // *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. – 1986. – V. 24. – № 1. – P. 151-153.
159. Lai, H. Magnetic-field-induced DNA strand breaks in brain cells of the rat / H. Lai, N. Singh // *Environmental health perspectives*. – 2004. – V. 112. – № 6. – P. 687.
160. Lai, H. Melatonin and a spin-trap compound block radiofrequency electromagnetic radiation-induced DNA strand breaks in rat brain cells / H. Lai, N.P. Singh // *Bioelectromagnetics*. – 1997. – V. 18. – № 6. – P. 446-454.
161. Lai, H. Single-and double-strand DNA breaks in rat brain cells after acute exposure to radiofrequency electromagnetic radiation / H. Lai // *International journal of radiation biology*. – 1996. – V. 69. – № 4. – P. 513-521.
162. Larsen, R.W. Spectroscopic and molecular modeling studies of caffeine complexes with DNA intercalators / R.W. Larsen, R. Jasuja, R.K. Hetzler, P.T. Muraoka, V.G. Andrada, D.M. Jameson // *Biophysical journal*. – 1996. – V. 70. – № 1. – P. 443-452.

163. Lee, C.Y. The lux gene of the luminous bacterial symbiont, *Photobacterium leiognathi*, of the ponyfish / C.Y. Lee, R.B. Szittner, E.A. Meighen // European Journal of Biochemistry. – 1991. – V. 201. – № 1. – P. 161-167.
164. Lench, N. Simple non-invasive method to obtain DNA for gene analysis / N. Lench, P. Stanier, R. Williamson // The Lancet. – 1988. – V. 331. – № 8599. – P. 1356-1358.
165. Lerman, L. Structural considerations in the interaction of DNA and acridines / L. Lerman // Journal of molecular biology. – 1961. – V. 3. – № 1. – P. 18-30.
166. Leszczynski, D. Applicability of discovery science approach to determine biological effects of mobile phone radiation / D. Leszczynski, R. Nylund, S. Joenväärä, J. Reivinen // Proteomics. – 2004. – V. 4. – № 2. – P. 426-431.
167. Leszczynski, D. Non-thermal activation of the hsp27/p38MAPK stress pathway by mobile phone radiation in human endothelial cells: Molecular mechanism for cancer and blood-brain barrier-related effects / D. Leszczynski, S. Joenväärä, J. Reivinen, R. Kuokka // Differentiation. – 2002. – V. 70. – № 2-3. – P. 120-129.
168. Leszczynski, D. Questions and answers concerning applicability of proteomics and transcriptomics in EMF research / D. Leszczynski, M.L. Meltz // Proteomics. – 2006. – V. 6. – № 17. – P. 4674-4677.
169. Lewin, B. Genes VIII / B. Lewin - Pearson Prentice Hall Upper Saddle River: 2004.
170. Lewis, R.J. Sax's Dangerous Properties of Industrial Materials / R.J. Lewis– 9th ed. - NY: Van Nostrand Reinhold, 1996.– V. 1. – № 3. – P. 1027-1031.
171. Lezhava, T. Heterochromatinization as a key factor in aging / T. Lezhava // Mechanisms of ageing and development. – 1984. – V. 28. – № 2. – P. 279-287.
172. Lim, H.B. Effect of 900 MHz electromagnetic fields on nonthermal induction of heat-shock proteins in human leukocytes / H.B. Lim, G.G. Cook, A.T. Barker, L.A. Coulton // Radiation research. – 2005. – V. 163. – № 1. – P. 45-52.
173. Lin, H. Magnetic field activation of protein–DNA binding / H. Lin, L. Han, M. Blank, M. Head, R. Goodman // Journal of cellular biochemistry. – 1998. –

V. 70. – № 3. – P. 297-303.

174. Lin, H. Regulating genes with electromagnetic response elements / H. Lin, M. Blank, K. Rossol-Haseroth, R. Goodman // *Journal of cellular biochemistry*. – 2001. – V. 81. – № 1. – P. 143-148.
175. Lucero, L. Cytogenetic biomonitoring of Spanish greenhouse workers exposed to pesticides: micronuclei analysis in peripheral blood lymphocytes and buccal epithelial cells / L. Lucero, S. Pastor, S. Suarez, R. Durban, C. Gomez, T. Parron, A. Creus, R. Marcos // *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. – 2000. – V. 464. – № 2. – P. 255-262.
176. Luger, K. Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution / K. Luger, A.W. Mäder, R.K. Richmond, D.F. Sargent, T.J. Richmond // *Nature*. – 1997. – V. 389. – № 6648. – P. 251-260.
177. Markkanen, A. Apoptosis induced by ultraviolet radiation is enhanced by amplitude modulated radiofrequency radiation in mutant yeast cells / A. Markkanen, P. Penttinen, J. Naarala, J. Pelkonen, A.P. Sihvonen, J. Juutilainen // *Bioelectromagnetics*. – 2004. – V. 25. – № 2. – P. 127-133.
178. McConnell, H. Coupling between lateral and perpendicular motion in biological membranes / H. McConnell // *Functional Linkage in Biomolecular Systems*. – 1975. – P. 123-131.
179. Mchedlov-Petrosyan, N. Interaction between colloidal particles of C60 hydrosol and cationic dyes / N. Mchedlov-Petrosyan, V. Klochkov, G. Andrievsky, A. Ishchenko // *Chemical physics letters*. – 2001. – V. 341. – № 3. – P. 237-244.
180. Meltz, M.L. Proflavin and microwave radiation: absence of a mutagenic interaction / M.L. Meltz, P. Eagan, D.N. Erwin // *Bioelectromagnetics*. – 1990. – V. 11. – № 2. – P. 149-157.
181. Michaelson, S.M. Biological effects and health implications of radiofrequency radiation / Michaelson S.M., Lin J. C. - Springer: 1987. – 679 p.
182. Miyakoshi, J. Effects of exposure to a 1950 MHz radio frequency field on

- expression of Hsp70 and Hsp27 in human glioma cells / J. Miyakoshi, K. Takemasa, Y. Takashima, G.R. Ding, H. Hirose, S. Koyama // *Bioelectromagnetics*. – 2005. – V. 26. – № 4. – P. 251-257.
183. Müller, I. Effect of concentration on the cytotoxic mechanism of doxorubicin—apoptosis and oxidative DNA damage / I. Müller, A. Jenner, G. Bruchelt, D. Niethammer, B. Halliwell // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 1997. – V. 230. – № 2. – P. 254-257.
184. Nakamura, H. Redox regulation of cellular activation / H. Nakamura, K. Nakamura, J. Yodoi // *Annual review of immunology*. – 1997. – V. 15. – № 1. – P. 351-369.
185. Natarajan, M. Nuclear translocation and DNA-binding activity of NFκB (NF-κB) after exposure of human monocytes to pulsed ultra-wideband electromagnetic fields (1 kV/cm) fails to transactivate κB-dependent gene expression / M. Natarajan, B. Nayak, C. Galindo, S. Mathur, F. Roldan, M. Meltz // *Radiation research*. – 2006. – V. 165. – № 6. – P. 645-654.
186. Nijvipakul, S. LuxG is a functioning flavin reductase for bacterial luminescence / S. Nijvipakul, J. Wongratana, C. Suadee, B. Entsch, D.P. Ballou, P. Chaiyen // *Journal of bacteriology*. – 2008. – V. 190. – № 5. – P. 1531-1538.
187. Nikolova, T. Electromagnetic fields affect transcript levels of apoptosis-related genes in embryonic stem cell-derived neural progenitor cells / T. Nikolova, J. Czyz, A. Rolletschek, P. Blyszczuk, J. Fuchs, G. Jovtchev, J. Schuderer, N. Kuster, A.M. Wobus // *The FASEB journal*. – 2005. – V. 19. – № 12. – P. 1686-1688.
188. Nylund, R. Mobile phone radiation causes changes in gene and protein expression in human endothelial cell lines and the response seems to be genome- and proteome-dependent / R. Nylund, D. Leszczynski // *Proteomics*. – 2006. – V. 6. – № 17. – P. 4769-4780.
189. Nylund, R. Proteomics analysis of human endothelial cell line EA. hy926 after exposure to GSM 900 radiation / R. Nylund, D. Leszczynski // *Proteomics*. –

2004. – V. 4. – № 5. – P. 1359-1365.

190. Olsson, G. ELF magnetic field affects proliferation of SPD8/V79 Chinese hamster cells but does not interact with intrachromosomal recombination / G. Olsson, I.Y. Belyaev, T. Helleday, M. Harms-Ringdahl // Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. – 2001. – V. 493. – № 1. – P. 55-66.
191. Oral, B. Endometrial apoptosis induced by a 900-MHz mobile phone: preventive effects of vitamins E and C / B. Oral, M. Guney, F. Ozguner, N. Karahan, T. Mungan // Advances in therapy. – 2006. – V. 23. – № 6. – P. 957-973.
192. Pasiuga, V.N. The process of recovery of cell membrane damage produced by the low-level microwave radiation / V.N. Pasiuga, Y.G. Shckorbatov, N.N. Kolchigin, D.D. Ivanchenko, V.I. Bykov // 7th Int. Conf. Ant. Theor. Tech. – 2009. – V. 6. – P. 360-362.
193. Pastor, S. Micronuclei in peripheral blood lymphocytes and buccal epithelial cells of Polish farmers exposed to pesticides / S. Pastor, S. Gutiérrez, A. Creus, A. Cebulka-Wasilewska, R. Marcos // Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. – 2001. – V. 495. – № 1. – P. 147-156.
194. Pasyuga, V. Study of the combined effects of X-rays and low-energy microwave electromagnetic field on the state of chromatin in the nuclei of human buccal epithelium cells / V. Pasyuga, S. Mavrodi, K. Kuznetsov, E. Badian, R. Shurinov, D. Ivanchenko, Y. Shckorbatov // Microwave and Telecommunication Technology (CriMiCo), 21th International Crimean Conference. – 2011. – P. 1021-1022.
195. Pazur, A. Transient effect of weak electromagnetic fields on calcium ion concentration in *Arabidopsis thaliana* / A. Pazur, V. Rassadina // BMC plant biology. – 2009. – V. 9. – № 1. – P. 47.
196. Phillips, J. Electromagnetic fields and DNA damage / J. Phillips, N. Singh, H. Lai // Pathophysiology. – 2009. – V. 16. – № 2. – P. 79-88.

197. Phillips, J.L. DNA damage in Molt-4 T-lymphoblastoid cells exposed to cellular telephone radiofrequency fields *in vitro* / J.L. Phillips, O. Ivaschuk, T. Ishida-Jones, R.A. Jones, M. Campbell-Beachler, W. Haggren // *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*. – 1998. – V. 45. – № 1. – P. 103-110.
198. Pietrzak, M. Attenuation of acridine mutagen ICR-191—DNA interactions and DNA damage by the mutagen interceptor chlorophyllin / M. Pietrzak, H.D. Halicka, Z. Wieczorek, J. Wieczorek, Z. Darzynkiewicz // *Biophysical chemistry*. – 2008. – V. 135. – № 1. – P. 69-75.
199. Pietrzak, M. The “interceptor” properties of chlorophyllin measured within the three-component system: Intercalator–DNA–chlorophyllin / M. Pietrzak, Z. Wieczorek, J. Wieczorek, Z. Darzynkiewicz // *Biophysical chemistry*. – 2006. – V. 123. – № 1. – P. 11-19.
200. Piosik, J. Alleviation of mutagenic effects of polycyclic aromatic agents (quinacrine mustard, ICR-191 and ICR-170) by caffeine and pentoxifylline / J. Piosik, K. Ulanowska, A. Gwizdek-Wisniewska, A. Czyż, J. Kapuściński, G. Wegrzyn // *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. – 2003. – V. 530. – № 1. – P. 47-57.
201. Piosik, J. De-intercalation of ethidium bromide and propidium iodine from DNA in the presence of caffeine / J. Piosik, K. Wasielewski, A. Woziwodzka, W. Śledź, A. Gwizdek-Wisniewska // *Central European Journal of Biology*. – 2010. – V. 5. – № 1. – P. 59-66.
202. Piosik, J. Methylxanthines (caffeine, pentoxifylline and theophylline) decrease the mutagenic effect of daunomycin, doxorubicin and mitoxantrone / J. Piosik, A. Gwizdek-Wisniewska, K. Ulanowska, J. Ochocinski, A. Czyz, G. Wegrzyn // *Acta biochimica polonica*. – 2005. – V. 52. – № 4. – P. 923.
203. Piosik, J. The modulation by xanthines of the DNA-damaging effect of polycyclic aromatic agents: part II. The stacking complexes of caffeine with doxorubicin and mitoxantrone / J. Piosik, M. Zdunek, J. Kapuscinski // *Biochemical pharmacology*. – 2002. – V. 63. – № 4. – P. 635-646.

204. Podgorskiĭ, V. Protective action of electromagnetic radiation (40.68 MHz) on *Saccharomyces cerevisiae* UCM Y-517 / V. Podgorskiĭ, S. Voïchuk, E. Gromozova, A. Gordienko // Mikrobiolohichnyi zhurnal. – 2004. – V. 66. – № 5. – P. 48.
205. Prilutski, Y.I. Theoretical predictions and experimental studies of self-organized C60 nanoparticles in water solution and on the support / Y.I. Prilutski, S. Durov, V. Yashchuk, T.Y. Ogul'chansky, V. Pogorelov, Y.A. Astashkin, E. Buzaneva, Y.D. Kirghisov, G. Andrievsky, P. Scharff // The European Physical Journal D-Atomic, Molecular, Optical and Plasma Physics. – 1999. – V. 9. – № 1. – P. 341-343.
206. Prylutska, S.V. Antioxidant Properties of C60 Fullerenes *in vitro* / S.V. Prylutska, I.I. Grynyuk, O.P. Matyshevskaya, Y.I. Prylutskiy, U. Ritter, P. Scharff // Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures. – 2008. – V. 16. – № 5-6. – P. 698-705.
207. Prylutska, S.V. Biological effects of C60 fullerenes *in vitro* and in a model system / S.V. Prylutska, O.P. Matyshevskaya, I.I. Grynyuk, Y.I. Prylutskiy, U. Ritter, P. Scharff // Mol. Cryst. Liq. Cryst. – 2007. – V. 468. – P. 265-274.
208. Prylutska, S.V. Comparative study of antitumor effect of pristine C60 fullerenes and doxorubicin / S.V. Prylutska, A.P. Burlaka, Yu.I. Prylutskiy // Biotechnology. – 2011. – V. 4. – № 6. – P. 82-87.
209. Prylutskiy, Y.I. C60 fullerene aggregation in aqueous solution / Y.I. Prylutskiy, A.S. Buchelnikov, D.P. Voronin, V.V. Kostjukov, U. Ritter, J.A. Parkinson, M.P. Evstigneev // Phys. Chem. Chem. Phys. – 2013. – V. 15. – № 23. – P. 9351-9360.
210. Prylutskiy, Y.I. Structure and Thermophysical Properties of Fullerene C60 Aqueous Solutions / Y.I. Prylutskiy, S. Durov, L. Bulavin, I. Adamenko, K. Moroz, I. Geru, I. Dihor, P. Scharff, P. Eklund, L. Grigorian // International journal of thermophysics. – 2001. – V. 22. – № 3. – P. 943-956.
211. Pullman, B. Molecular mechanisms of specificity in DNA-antitumor drug

- interactions / B. Pullman – Springer, 1989. - P. 123-144.
212. Quock, R.M. Microwave facilitation of methylatropine antagonism of central cholinomimetic drug effects / R.M. Quock, J.M. Fujimoto, T.K. Ishii, D.G. Lange // *Radiation research*. – 1986. – V. 105. – № 3. – P. 328-340.
213. Ramirez, A. Micronucleus investigation of alcoholic patients with oral carcinomas / A. Ramirez, P.H. Saldanha // *Genet Mol Res*. – 2002. – V. 1. – № 3. – P. 246-260.
214. Ramu, A. The riboflavin-mediated photooxidation of doxorubicin / A. Ramu, M.M. Mehta, J. Liu, I. Turyan, A. Aleksic // *Cancer chemotherapy and pharmacology*. – 2000. – V. 46. – № 6. – P. 449-458.
215. Ramundo-Orlando, A. Effects of 2.45 GHz microwave fields on liposomes entrapping glycoenzyme ascorbate oxidase: evidence for oligosaccharide side chain involvement / A. Ramundo-Orlando, M. Liberti, G. Mossa, G. d'Inzeo // *Bioelectromagnetics*. – 2004. – V. 25. – № 5. – P. 338-345.
216. Ramundo-Orlando, A. Effects of millimeter waves radiation on cell membrane- A brief review / A. Ramundo-Orlando // *Journal of Infrared, Millimeter, and Terahertz Waves*. – 2010. – V. 31. – № 12. – P. 1400-1411.
217. Ramundo-Orlando, A. Permeability changes induced by 130 GHz pulsed radiation on cationic liposomes loaded with carbonic anhydrase / A. Ramundo-Orlando, G.P. Gallerano, P. Stano, A. Doria, E. Giovenale, G. Messina, M. Cappelli, M. D'Arienzo, I. Spassovsky // *Bioelectromagnetics*. – 2007. – V. 28. – № 8. – P. 587-598.
218. Ramundo-Orlando, A. The response of giant phospholipid vesicles to millimeter waves radiation / A. Ramundo-Orlando, G. Longo, M. Cappelli, M. Girasole, L. Tarricone, A. Beneduci, R. Massa // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*. – 2009. – V. 1788. – № 7. – P. 1497-1507.
219. Roberts, J. Mechanism of potentiation by caffeine of genotoxic damage induced by physical and chemical agents / J. Roberts // *Nucleic acids symposium series*. – 1984. – P. 193.

220. Rojas, E. DNA damage in exfoliated buccal cells of smokers assessed by the single cell gel electrophoresis assay / E. Rojas, M. Valverde, M. Sordo, P. Ostrosky-Wegman // *Mutation Research/Genetic Toxicology*. – 1996. – V. 370. – № 2. – P. 115-120.
221. Roth, S.Y. Chromatin condensation: does histone H1 dephosphorylation play a role? / S.Y. Roth, C.D. Allis // *Trends in biochemical sciences*. – 1992. – V. 17. – № 3. – P. 93-98.
222. Sabnis, R.W. Handbook of biological dyes and stains: synthesis and industrial applications / R.W. Sabnis– Wiley, 2010. – 544 p.
223. Sadzuka, Y. Mechanism of caffeine modulation of the antitumor activity of adriamycin / Y. Sadzuka, E. Mochizuki, Y. Takino // *Toxicology letters*. – 1995. – V. 75. – № 1. – P. 39-49.
224. Sagripanti, J. DNA structural changes caused by microwave radiation / J.-L. Sagripanti, M.L. Swicord // *International journal of radiation biology*. – 1986. – V. 50. – № 1. – P. 47-50.
225. Sagripanti, J.-L. Microwave effects on plasmid DNA / J.-L. Sagripanti, M.L. Swicord, C.C. Davis // *Radiation research*. – 1987. – V. 110. – № 2. – P. 219-231.
226. Sanchez, S. *In vitro* study of the stress response of human skin cells to GSM-1800 mobile phone signals compared to UVB radiation and heat shock / S. Sanchez, E. Haro, G. Ruffié, B. Veyret, I. Lagroye // *Radiation research*. – 2007. – V. 167. – № 5. – P. 572-580.
227. Scharff, P. Structure of C60 fullerene in water: spectroscopic data / P. Scharff, K. Risch, L. Carta-Abelmann, I.M. Dmytruk, M.M. Bilyi, O.A. Golub, A.V. Khavryuchenko, E.V. Buzaneva, V.L. Aksenov, M.V. Avdeev // *Carbon*. – 2004. – V. 42. – № 5. – P. 1203-1206.
228. Scharff, P. Structure of C60 fullerene in water: spectroscopic data / P. Scharff, K. Risch, L. Carta-Abelmann, I.M. Dmytruk, M.M. Bilyi, O.A. Golub, A.V. Khavryuchenko, E.V. Buzaneva, V.L. Aksenov, M.V. Avdeev // *Carbon*. –

2004. – V. 42. – № 5. – P. 1203-1206.
229. Schwarz, C. Radiofrequency electromagnetic fields (UMTS, 1,950 MHz) induce genotoxic effects *in vitro* in human fibroblasts but not in lymphocytes / C. Schwarz, E. Kratochvil, A. Pilger, N. Kuster, F. Adlkofer, H.W. Rüdiger // International archives of occupational and environmental health. – 2008. – V. 81. – № 6. – P. 755-767.
230. Servantie, B. Pharmacologic effects of a pulsed microwave field / B. Servantie, G. Batharion, R. Joly, A. Servantie, J. Etienne, P. Dreyfus, P. Escoubet – Polish Medical Publishers: Warsaw, 1974. – P. 36-45.
231. Sevčíková, H. The reversal and splitting of waves in an excitable medium caused by an electrical field / H. Sevčíková, M. Marek, S.C. Müller // Science. – 1992. – V. 257. – № 5072. – P. 951-954.
232. Shakhbazov, V.G. On connection between the electrokinetic properties of cell nuclei and human biological age / V.G.Shakhbazov, Y.G. Shkorbatov, T.V. Colupaeva // Mechanisms of ageing and development. – 1997. – V. 99. – № 3. – P. 193-197.
233. Shckorbatov, Y. Cell nucleus and membrane recovery after exposure to microwaves / Y. Shckorbatov, V. Pasiuga, N. Kolchigin, V. Grabina, D. Ivanchenko, V. Bykov, O. Dumin // Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B. Natural, Exact, and Applied Sciences. – 2011. – V. 65. – № 1-2. – P. 13–20.
234. Shckorbatov, Y. Changes in the human nuclear chromatin induced by ultra wideband pulse irradiation / Y. Shckorbatov, V. Pasiuga, N. Kolchigin, D. Batrakov, O. Kazansky, V. Kalashnikov // Central European Journal of Biology. – 2009. – V. 4. – № 1. – P. 97-106.
235. Shckorbatov, Y.G. Application of intracellular microelectrophoresis to analysis of the influence of the low-level microwave radiation on electrokinetic properties of nuclei in human epithelial cells / Y.G. Shckorbatov, V.G. Shakhbazov, V.V. Navrotskaya, V.A. Grabina, S.P. Sirenko, A.I Fisun., N.N.

- Gorobets, V.I. Kiyko // *Electrophoresis*. – 2002. – V. 23. – № 13. – P. 2074-2079.
236. Shckorbatov, Y.G. Chromatin structure and the state of human organism / Y.G. Shckorbatov, L.A. Zhuravlyova, V.V. Navrotskaya, E.V. Miroshnichenko, P.Y. Montvid, V.G. Shakhbazov, T.A. Sutushev // *Cell biology international*. – 2005. – V. 29. – № 1. – P. 77-81.
237. Shckorbatov, Y.G. Effects of differently polarized microwave radiation on the microscopic structure of the nuclei in human fibroblasts / Y.G. Shckorbatov, V.N. Pasiuga, E.I. Goncharuk, T.P. Petrenko, V.A. Grabina, N.N. Kolchigin, D.D. Ivanchenko, V.N. Bykov, O.M. Dumin // *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*. – 2010. – V. 11. – № 10. – P. 801-805.
238. Shckorbatov, Y.G. Electrokinetic properties of nuclei and membrane permeability in human buccal epithelium cells influenced by the low-level microwave radiation / Y.G. Shckorbatov, V.G. Shakhbazov, V.V. Navrotskaya, V.A. Grabina, S.P. Sirenko, A.I. Fisun, N.N. Gorobets, V.I. Kiyko // *Electrophoresis*. – 2002. – V. 23. – P. 2074-2079.
239. Shckorbatov, Y.G. He-Ne laser light induced changes in the state of chromatin in human cells / Y.G. Shckorbatov // *Naturwissenschaften*. – 1999. – V. 86. – № 9. – P. 452-453.
240. Shckorbatov, Y.G. L'effet des hormones sur les proprietes electrocinetiques des noyaux des cellules humaines / Y.G. Shckorbatov, V.G. Shakhbazov, O.V. Gorenskaya // *L'Eurobiologiste*. – 1998. – V. 32. – № 234. – P. 172.
241. Shckorbatov, Y.G. Modification of electrokinetic properties of nuclei in human buccal epithelial cells by electric fields / Y.G. Shckorbatov, V.G. Shakhbazov, A.O. Rudenko // *Bioelectromagnetics*. – 2001. – V. 22. – № 2. – P. 106-111.
242. Shckorbatov, Y.G. On age-related changes of cell membrane permeability in human buccal epithelium cells / Y.G. Shckorbatov, V.G. Shakhbazov, A.M. Bogoslavsky, A.O. Rudenko // *Mechanisms of ageing and development*. – 1995. – V. 83. – № 2. – P. 87-90.

243. Shckorbatov, Y.G. The influence of differently polarised microwave radiation on chromatin in human cells / Y.G. Shckorbatov, V.N. Pasiuga, N.N. Kolchigin, V.A. Grabina, D.O. Batrakov, V.V. Kalashnikov, D.D. Ivanchenko, V.N. Bykov // International journal of radiation biology. – 2009. – V. 85. – № 4. – P. 322-329.
244. Shckorbatov, Y.G. The influence of microwave irradiation on human epithelial cells. / Y.G. Shckorbatov, V.G. Shakhbazov, V.V. Navrotskaya, L.A. Zhuravleva, N.N. Gorobets, V.I. Kiyko, S.P. Sirenko // The Fourth International Kharkov Symposium "Physics and Engineering of Millimeter and Sub-Millimeter Waves". – Kharkov, 2001. – P. 937.
245. Shckorbatov, Yu.G. Changes in the state of chromatin in human cells under the influence of microwave radiation / Yu.G. Shckorbatov, V.G. Shakhbazov, V.V. Navrotska, L.A. Zhuravliova, N.N. Gorobets, V.I. Kiyko, A.I. Fisun, S.P. Sirenko // Sixteenth International Wroclaw Symposium and Exhibition on Electromagnetic Compatibility, (11–13 June 2002, Wroclaw, Poland). – 2002. – V. 1. – P. 87-88.
246. Shckorbatov, Yu.G. Microwave irradiation influences on the state of human cell nuclei / Yu.G. Shckorbatov, N.N. Grigoryeva, V.G. Shakhbazov, V.A. Grabina, A.M. Bogoslavsky // Bioelectromagnetics. – 1998. – V. 19. – № 7. – P. 414-419.
247. Shelton, W. *In vitro* study of microwave effects on calcium efflux in rat brain tissue / W. Shelton, J. Merritt // Bioelectromagnetics. – 1981. – V. 2. – № 2. – P. 161-167.
248. Shi, X. Antioxidant behaviour of caffeine: efficient scavenging of hydroxyl radicals / X. Shi, N. Dalal, A. Jain // Food and chemical toxicology. – 1991. – V. 29. – № 1. – P. 1-6.
249. Shkorbatov, Y.G. Changes in human cell membrane permeability after irradiation by microwaves with different elliptical polarization / Y.G. Shkorbatov, V.N. Pasiuga, V.A. Grabina, O.V. Artemenchuk, N.N. Kolchigin,

- V.N. Bykov, D.D. Ivanchenko // Microwave and Telecommunication Technology (CriMiCo), 2010 20th International Crimean Conference. – 2010. – P. 1138-1139.
250. Skamrova, G.B. Influence of Mobile Phone Radiation on Membrane Permeability and Chromatin State of Human Buccal Epithelium Cells / G.B. Skamrova, A.O. Lantushenko, Y.G. Shckorbatov, M.P. Evstigneev // Biochemistry and Biophysics. – 2013. – V. 1. – № 2. – P. 22-28.
251. Skamrova, G.B. Interceptor effect of C60 fullerene on the *in vitro* action of aromatic drug molecules / G.B. Skamrova, I.V. Laponogov, A.S. Buchelnikov, Y.G. Shckorbatov, S.V. Prylutska, U. Ritter, Y.I. Prylutskiy, M.P. Evstigneev // European Biophysics Journal. – 2014. – V. 43. - P. 265-276.
252. Sokolova, I. Analysis of the ratio of quantum yield and fatty acid formation of *Photobacterium leiognathi* bioluminescence / I. Sokolova, G. Kalacheva, N. Tyulkova // Vestnik Moskovskogo Universiteta. Khimiya. – 2000. – V. 41. – P. 118-120.
253. Speit, G. Genotoxic effects of exposure to radiofrequency electromagnetic fields (RF-EMF) in cultured mammalian cells are not independently reproducible / G. Speit, P. Schütz, H. Hoffmann // Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. – 2007. – V. 626. – № 1. – P. 42-47.
254. Spivack, S.D. Gene-environment interaction signatures by quantitative mRNA profiling in exfoliated buccal mucosal cells / S.D. Spivack, G.J. Hurteau, R. Jain, S.V. Kumar, K.M. Aldous, J.F. Gierthy, L.S. Kaminsky // Cancer research. – 2004. – V. 64. – № 18. – P. 6805-6813.
255. Stagg, R.B. DNA synthesis and cell proliferation in C6 glioma and primary glial cells exposed to a 836.55 MHz modulated radiofrequency field / R.B. Stagg, W.J. Thomas, R.A. Jones, W.R. Adey // Bioelectromagnetics. – 1997. – V. 18. – № 3. – P. 230-236.
256. Surralles, J. Links between chromatin structure, DNA repair and chromosome fragility / J. Surralles, S. Puerto, M. Ramirez, A. Creus, R. Marcos, L.

- Mullenders, A. Natarajan // Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis. – 1998. – V. 404. – № 1. – P. 39-44.
257. Swerdlow, A. Exposure to high frequency electromagnetic fields, biological effects and health consequences (100 kHz-300 GHz) / A. Swerdlow - International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection, 2009. – 378 p.
258. Swicord, M.L. Microwave absorption of DNA between 8 and 12 GHz / M.L. Swicord, C.C. Davis // Biopolymers. – 1982. – V. 21. – № 12. – P. 2453-2460.
259. Therman, E. Human chromosomes: structure, behavior, and effects / E. Therman, M. Susman – New York: Springer, 1992. – 376 p.
260. Tian, F. Exposure to 2.45 GHz electromagnetic fields induces hsp70 at a high SAR of more than 20 W/kg but not at 5W/kg in human glioma MO54 cells / F. Tian, T. Nakahara, K. Wake, M. Taki, J. Miyakoshi // International journal of radiation biology. – 2002. – V. 78. – № 5. – P. 433-440.
261. Tice, R.R. Genotoxicity of radiofrequency signals. I. Investigation of DNA damage and micronuclei induction in cultured human blood cells / R.R. Tice, G.G. Hook, M. Donner, D.I. McRee, A.W. Guy // Bioelectromagnetics. – 2002. – V. 23. – № 2. – P. 113-126.
262. Titenko-Holland, N. Micronuclei in lymphocytes and exfoliated buccal cells of postmenopausal women with dietary changes in folate / N. Titenko-Holland, R.A. Jacob, N. Shang, A. Balaraman, M.T. Smith // Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. – 1998.– V. 417. – № 2. – P. 101-114.
263. Tobias, J.M. Opacity and diameter changes in polarized nerve / J.M. Tobias, S. Solomon // Journal of Cellular and Comparative Physiology. – 1950. – V. 35. – № 1. – P. 25-37.
264. Torres-Bugarin, O. Evaluation of cisplatin+ 5-FU, carboplatin+ 5-FU, and ifosfamide+ epirubicine regimens using the micronuclei test and nuclear abnormalities in the buccal mucosa / O. Torres-Bugarin, A. Ventura-Aguilar, A. Zamora-Perez, B. Gomez-Meda, M. Ramos-Ibarra, G. Morgan-Villela, A.

- Gutierrez-Franco, G. Zuniga-Gonzalez // Mut. Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. – 2003. – V. 539. – № 1. – P. 177-186.
265. Torudd, J. Dose-response for radiation-induced apoptosis, residual 53BP1 foci and DNA-loop relaxation in human lymphocytes / J. Torudd, M. Protopopova, R. Sarimov, J. Nygren, S. Eriksson, E. Markova, M. Chovanec, G. Selivanova, I. Belyaev // International journal of radiation biology. – 2005. – V. 81. – № 2. – P. 125-138.
266. Traganos, F. Caffeine modulates the effects of DNA-intercalating drugs in vitro: a flow cytometric and spectrophotometric analysis of caffeine interaction with novantrone, doxorubicin, ellipticine, and the doxorubicin analogue AD198 / F. Traganos, J. Kapuscinski, Z. Darzynkiewicz // Cancer research. – 1991. – V. 51. – № 14. – P. 3682-3689.
267. Trevilatto, P. Use of buccal epithelial cells for PCR amplification of large DNA fragments / P. Trevilatto, S. Line // The Journal of forensic odonto-stomatology. – 2000. – V. 18. – № 1. – P. 6.
268. Ulitzur, S. A novel and sensitive test for rapid determination of water toxicity / S. Ulitzur, T. Lahav, N. Ulitzur // Environmental Toxicology. – 2002. – V. 17. – № 3. – P. 291-296.
269. Ushakov, V.L. Combined effects of circularly polarized microwaves and ethidium bromide on *E. coli* cells / V.L. Ushakov, V.S. Shcheglov, I.Y. Belyaev, M. Harms-ringdahl // Electromagnetic Biology and Medicine. – 1999. – V. 18. – № 3. – P. 233-242.
270. Vig, B. Chromosome aberrations induced in human leukocytes by the antileukemic antibiotic adriamycin / B. Vig // Cancer research. – 1971. – V. 31. – № 1. – P. 32-38.
271. Voïchuk, S. Effect of radiofrequency of electromagnetic radiation on yeast sensitivity to fungicide antibiotics / S. Voïchuk, E. Gromozova // Mikrobiolohichniy zhurnal. – 2003. – V. 66. – № 4. – P. 69-77.
272. Voychuk, S. Changes of Surface Properties of Yeast Cell Wall Under Exposure

- of Electromagnetic Field (40.68 MHz) and Action of Nystatin / S. Voychuk, E. Gromozova, P. Lytvyn, V. Podgorsky // *Environmentalist*. – 2005. – V. 25. – № 2-4. – P. 139-144.
273. Walker, G.T. Ethidium binding to left-handed (Z) DNAs results in regions of right-handed DNA at the intercalation site / G.T. Walker, M.P. Stone, T.R. Krugh // *Biochemistry*. – 1985. – V. 24. – № 25. – P. 7462-7471.
274. Wan, C. Femtosecond dynamics of DNA-mediated electron transfer / C. Wan, T. Fiebig, S.O. Kelley, C.R. Treadway, J.K. Barton, A.H. Zewail // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 1999. – V. 96. – № 11. – P. 6014-6019.
275. Wang, J. Effects of a 2450 MHz high-frequency electromagnetic field with a wide range of SARs on the induction of heat-shock proteins in A172 cells / J. Wang, S. Koyama, Y. Komatsubara, Y. Suzuki, M. Taki, J. Miyakoshi // *Bioelectromagnetics*. – 2006. – V. 27. – № 6. – P. 479-486.
276. Wangemann, R. The in vivo effects of 2.45 GHz microwave radiation on rabbit serum components and sleeping times / R. Wangemann, S. Cleary // *Radiation and environmental biophysics*. – 1976. – V. 13. – № 2. – P. 89-103.
277. Whitehead, T. Gene expression does not change significantly in C3H 10T1/2 cells after exposure to 847.74 CDMA or 835.62 FDMA radiofrequency radiation / T. Whitehead, E. Moros, B. Brownstein, J. Roti Roti // *Radiation research*. – 2006. – V. 165. – № 6. – P. 626-635.
278. Whitehead, T. The number of genes changing expression after chronic exposure to Code Division Multiple Access or Frequency DMA radiofrequency radiation does not exceed the false-positive rate / T. Whitehead, E. Moros, B. Brownstein, J. Roti Roti // *Proteomics*. – 2006. – V. 6. – № 17. – P. 4739-4744.
279. William, D. Dosimetry models used to determine the bioeffects of directed energy exposure / D. William, A. Mason // *Models for Aircrew Safety Assessment: Uses, Limitations and Requirements*. – 1999. – V. 29. – P. 2.
280. Woziwodzka, A. Caffeine, pentoxifylline and theophylline form stacking complexes with IQ-type heterocyclic aromatic amines / A. Woziwodzka, A.

- Gwizdek-Wiśniewska, J. Piosik // *Bioorganic Chemistry*. – 2011. – V. 39. – № 1. – P. 10-17.
281. Yao, K. Low power microwave radiation inhibits the proliferation of rabbit lens epithelial cells by upregulating P27Kip1 expression / K. Yao, K.J. Wang, Z.H. Sun, J. Tan, W. Xu, L.J. Zhu, D.Q. Lu // *Mol Vis*. – 2004. – V. 10. – № 25. – P. 138-143.
282. Ye, J. Changes in gap junctional intercellular communication in rabbits lens epithelial cells induced by low power density microwave radiation / J. Ye, K. Yao, Q. Zeng, D. Lu // *Chinese medical journal*. – 2002. – V. 115. – № 12. – P. 1873-1876.
283. Zeng, Q. Effects of Global System for Mobile Communications 1800 MHz radiofrequency electromagnetic fields on gene and protein expression in MCF-7 cells / Q. Zeng, G. Chen, Y. Weng, L. Wang, H. Chiang, D. Lu, Z. Xu // *Proteomics*. – 2006. – V. 6. – № 17. – P. 4732-4738.
284. Zhadobov, M. Interactions between 60-GHz millimeter waves and artificial biological membranes: dependence on radiation parameters / M. Zhadobov, R. Sauleau, V. Vié, M. Himdi, L. Le Coq, D. Thouroude // *Microwave Theory and Techniques, IEEE Transactions on*. – 2006. – V. 54. – № 6. – P. 2534-2542.
285. Zhao, X. C60 Binds to and Deforms Nucleotides / X. Zhao, A. Striolo, P.T. Cummings // *Biophysical journal*. – 2005. – V. 89. – № 6. – P. 3856-3862.
286. Zheng, S. Whole genome amplification increases the efficiency and validity of buccal cell genotyping in pediatric populations / S. Zheng, X. Ma, P.A. Buffler, M.T. Smith, J.K. Wiencke // *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*. – 2001. – V. 10. – № 6. – P. 697-700.
287. Zhijian, C. Impact of 1.8-GHz radiofrequency radiation (RFR) on DNA damage and repair induced by doxorubicin in human B-cell lymphoblastoid cells / C. Zhijian, L. Xiaoxue, L. Yezhen, C. Shijie, J. Lifen, L. Jianlin, L. Deqiang, H. Jiliang // *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. – 2010. – V. 695. – № 1. – P. 16-21.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

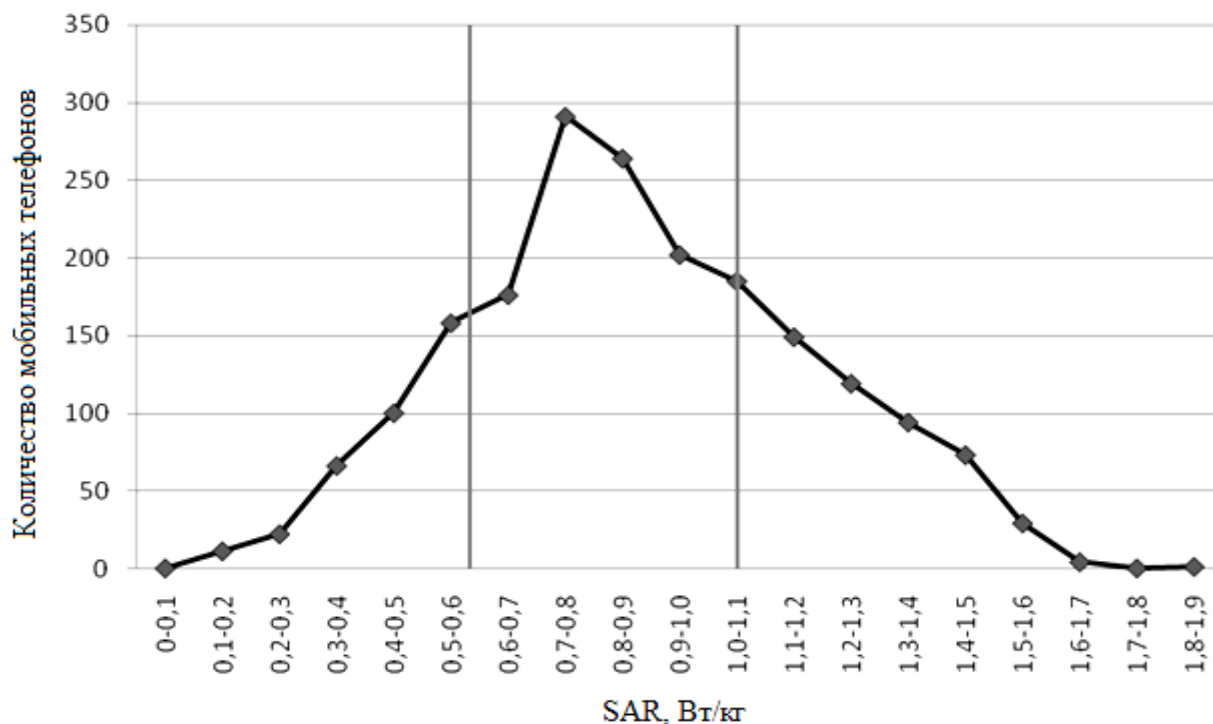


Рисунок А.1. Распределение уровней SAR наиболее популярных марок мобильных телефонов

Таблица А.1

Количество гранул гетерохроматина (КГГ) в ядрах клеток буккального эпителия после облучения ЭМИ мобильного телефона

| Донор А | | | | | | |
|------------------|--------------|---------------------|-------------|--------------|---------------------|-------------|
| SAR | 0.531 Вт/кг | | | 1.1 Вт/кг | | |
| Время эксп., Мин | <КГГ> | Рост показателя КГГ | t-тест | <КГГ> | Рост показателя КГГ | t-тест |
| 0 | 17.20 ± 0.26 | | | 17.20±0.26 | | |
| 1 | 18.90 ± 0.35 | 9.88 ± 3.70 | (+) P <0.05 | 18.73 ± 0.27 | 8.91 ± 3.22 | (+) P <0.05 |
| 2 | 20.50 ± 0.35 | 19.19 ± 3.83 | (+) P <0.05 | 21.00 ± 0.37 | 22.09 ± 3.97 | (+) P <0.05 |
| 5 | 23.47 ± 0.37 | 36.43 ± 4.20 | (+) P <0.05 | 25.07 ± 0.36 | 45.74 ± 4.32 | (+) P <0.05 |
| 10 | 25.00 ± 0.39 | 45.35 ± 4.44 | (+) P <0.05 | 26.50 ± 0.34 | 54.07 ± 4.29 | (+) P <0.05 |
| 15 | 28.50 ± 0.31 | 65.70 ± 4.28 | (+) P <0.05 | 28.50 ± 0.31 | 65.70 ± 4.28 | (+) P <0.05 |
| 30 | 29.00 ± 0.43 | 68.60 ± 5.04 | (+) P <0.05 | 29.00 ± 0.35 | 68.60 ± 4.60 | (+) P <0.05 |
| 60 | 29.37 ± 0.36 | 70.74 ± 4.66 | (+) P <0.05 | 31.00 ± 0.38 | 80.23 ± 4.95 | (+) P <0.05 |

Продолжение таблицы А.1

| Донор В | | | | | | |
|------------------|--------------|---------------------|-------------|--------------|---------------------|-------------|
| SAR | 0.531 Вт/кг | | | 1.1 Вт/кг | | |
| Время эксп., Мин | <КГГ> | Рост показателя КГГ | t-тест | <КГГ> | Рост показателя КГГ | t-тест |
| 0 | 17.63 ± 0.34 | | | 17.63 ± 0.34 | | |
| 1 | 22.33 ± 0.38 | 26.65 ± 4.58 | (+) P <0.05 | 19.40 ± 0.30 | 10.02 ± 3.81 | (+) P <0.05 |
| 2 | 22.90 ± 0.36 | 29.87 ± 4.57 | (+) P <0.05 | 22.10 ± 0.35 | 25.33 ± 4.39 | (+) P <0.05 |
| 5 | 23.47 ± 0.37 | 33.08 ± 4.65 | (+) P <0.05 | 24.53 ± 0.29 | 39.13 ± 4.36 | (+) P <0.05 |
| 10 | 23.80 ± 0.37 | 34.97 ± 4.70 | (+) P <0.05 | 24.56 ± 0.35 | 39.28 ± 4.66 | (+) P <0.05 |
| 15 | 24.03 ± 0.39 | 36.29 ± 4.85 | (+) P <0.05 | 24.60 ± 0.35 | 39.51 ± 4.67 | (+) P <0.05 |
| 30 | 25.00 ± 0.40 | 41.78 ± 5.02 | (+) P <0.05 | 25.00 ± 0.32 | 41.78 ± 4.56 | (+) P <0.05 |
| 60 | 26.00 ± 0.50 | 47.45 ± 5.67 | (+) P <0.05 | 25.43 ± 0.33 | 44.23 ± 4.66 | (+) P <0.05 |

| Донор С | | | | | | |
|------------------|--------------|---------------------|-------------|--------------|---------------------|-------------|
| SAR | 0.531 Вт/кг | | | 1.1 Вт/кг | | |
| Время эксп., Мин | <КГГ> | Рост показателя КГГ | t-тест | <КГГ> | Рост показателя КГГ | t-тест |
| 0 | 21.07 ± 0.32 | | | 15.33 ± 0.32 | | |
| 1 | 21.13 ± 0.33 | 0.32 ± 3.10 | (-) P=0.89 | 18.30 ± 0.32 | 19.35 ± 4.59 | (+) P <0.05 |
| 2 | 21.73 ± 0.32 | 3.16 ± 3.10 | (-) P=0.15 | 21.30 ± 0.33 | 38.91 ± 5.04 | (+) P <0.05 |
| 5 | 22.27 ± 0.31 | 5.70 ± 3.09 | (+) P <0.05 | 23.47 ± 0.32 | 53.04 ± 5.30 | (+) P <0.05 |
| 10 | 27.53 ± 0.33 | 30.70 ± 3.60 | (+) P <0.05 | 24.50 ± 0.32 | 59.78 ± 5.39 | (+) P <0.05 |
| 15 | 27.53 ± 0.32 | 30.70 ± 3.56 | (+) P <0.05 | 25.00 ± 0.37 | 63.04 ± 5.80 | (+) P <0.05 |
| 30 | 29.27 ± 0.31 | 38.92 ± 3.60 | (+) P <0.05 | 26.10 ± 0.36 | 70.22 ± 5.89 | (+) P <0.05 |
| 60 | 30.43 ± 0.31 | 44.46 ± 3.72 | (+) P <0.05 | 26.70 ± 0.29 | 74.13 ± 5.53 | (+) P <0.05 |

| Донор D | | | | | | |
|------------------|--------------|---------------------|-------------|--------------|---------------------|-------------|
| SAR | 0.531 Вт/кг | | | 1.1 Вт/кг | | |
| Время эксп., Мин | <КГГ> | Рост показателя КГГ | t-тест | <КГГ> | Рост показателя КГГ | t-тест |
| 0 | 25.53 ± 0.27 | | | 18.20 ± 0.38 | | |
| 1 | 26.80 ± 0.26 | 4.96 ± 2.09 | (+) P <0.05 | 20.30 ± 0.41 | 11.54 ± 4.59 | (+) P <0.05 |
| 2 | 26.90 ± 0.33 | 5.35 ± 2.39 | (+) P <0.05 | 20.80 ± 0.33 | 14.29 ± 4.19 | (+) P <0.05 |
| 5 | 28.27 ± 0.34 | 10.70 ± 2.49 | (+) P <0.05 | 21.33 ± 0.35 | 17.22 ± 4.36 | (+) P <0.05 |
| 10 | 32.47 ± 0.27 | 27.15 ± 2.38 | (+) P <0.05 | 21.70 ± 0.34 | 19.23 ± 4.33 | (+) P <0.05 |
| 15 | 34.03 ± 0.37 | 33.29 ± 2.84 | (+) P <0.05 | 22.17 ± 0.29 | 21.79 ± 4.12 | (+) P <0.05 |
| 30 | 34.20 ± 0.34 | 33.94 ± 2.73 | (+) P <0.05 | 24.00 ± 0.32 | 31.87 ± 4.51 | (+) P <0.05 |
| 60 | 34.73 ± 0.30 | 36.03 ± 2.59 | (+) P <0.05 | 25.97 ± 0.37 | 42.67 ± 4.98 | (+) P <0.05 |

Продолжение таблицы А.1

| Донор Е | | | | | | |
|------------------|--------------|---------------------|-------------|--------------|---------------------|-------------|
| SAR | 0.531 Вт/кг | | | 1.1 Вт/кг | | |
| Время эксп., Мин | <КГГ> | Рост показателя КГГ | t-тест | <КГГ> | Рост показателя КГГ | t-тест |
| 0 | 14.27 ± 0.34 | | | 14.27 ± 0.34 | | |
| 1 | 16.83 ± 0.42 | 17.99 ± 5.71 | (+) P <0.05 | 17.53 ± 0.23 | 22.90 ± 4.56 | (+) P <0.05 |
| 2 | 17.10 ± 0.35 | 19.86 ± 5.33 | (+) P <0.05 | 17.68 ± 0.35 | 23.91 ± 5.40 | (+) P <0.05 |
| 5 | 18.40 ± 0.33 | 28.97 ± 5.40 | (+) P <0.05 | 18.12 ± 0.33 | 27.04 ± 5.35 | (+) P <0.05 |
| 10 | 19.30 ± 0.33 | 35.28 ± 5.50 | (+) P <0.05 | 17.90 ± 0.33 | 25.47 ± 5.27 | (+) P <0.05 |
| 15 | 19.27 ± 0.36 | 35.07 ± 5.74 | (+) P <0.05 | 19.50 ± 0.36 | 36.68 ± 5.77 | (+) P <0.05 |
| 30 | 18.73 ± 0.33 | 31.31 ± 5.42 | (+) P <0.05 | 21.27 ± 0.30 | 49.07 ± 5.61 | (+) P <0.05 |
| 60 | 19.40 ± 0.43 | 35.98 ± 6.22 | (+) P <0.05 | 22.04 ± 0.34 | 54.49 ± 6.04 | (+) P <0.05 |

Примечание: <КГГ> - среднее значение количества гранул гетерохроматина (количество клеток n = 30),
 ± – стандартная ошибка среднего,
 P – уровень значимости.

Таблица А.2

Содержание окрашенных клеток индигокармином (ОКИ, %) после облучения
 ЭМИ мобильного телефона

| Донор А | | | | | | |
|------------------|--------------|---------------------|-------------|--------------|---------------------|-------------|
| SAR | 0.531 Вт/кг | | | 1.1 Вт/кг | | |
| Время эксп., Мин | <ОКИ> | Рост показателя ОКИ | t-тест | <ОКИ> | Рост показателя ОКИ | t-тест |
| 0 | 60.72 ± 0.88 | | | 52.31 ± 0.83 | | |
| 1 | 62.30 ± 0.37 | 2.59 ± 1.25 | (-) P=0.18 | 53.79 ± 0.74 | 2.82 ± 1.57 | (-) P=0.26 |
| 2 | 68.10 ± 1.61 | 12.14 ± 2.49 | (+) P <0.05 | 55.32 ± 0.52 | 5.75 ± 1.35 | (+) P <0.05 |
| 5 | 72.38 ± 1.08 | 19.20 ± 1.96 | (+) P <0.05 | 59.95 ± 1.58 | 14.60 ± 2.42 | (+) P <0.05 |
| 10 | 73.84 ± 0.77 | 21.61 ± 1.65 | (+) P <0.05 | 63.92 ± 0.81 | 22.19 ± 1.64 | (+) P <0.05 |
| 15 | 73.61 ± 1.36 | 21.22 ± 2.24 | (+) P <0.05 | 66.03 ± 0.21 | 26.21 ± 1.04 | (+) P <0.05 |
| 30 | 73.56 ± 1.23 | 21.14 ± 2.11 | (+) P <0.05 | 65.64 ± 0.47 | 25.47 ± 1.30 | (+) P <0.05 |
| 60 | 71.34 ± 0.44 | 17.49 ± 1.32 | (+) P <0.05 | 66.53 ± 0.98 | 27.17 ± 1.81 | (+) P <0.05 |

Продолжение таблицы А.2

| Донор В | | | | | | |
|------------------|--------------|---------------------|-------------|--------------|---------------------|-------------|
| SAR | 0.531 Вт/кг | | | 1.1 Вт/кг | | |
| Время эксп., Мин | <ОКИ> | Рост показателя ОКИ | t-тест | <ОКИ> | Рост показателя ОКИ | t-тест |
| 0 | 63.56 ± 1.10 | | | 51.66 ± 0.43 | | |
| 1 | 65.94 ± 1.19 | 3.74 ± 2.30 | (-) P=0.22 | 55.73 ± 0.73 | 7.88 ± 1.16 | (+) P <0.05 |
| 2 | 69.04 ± 0.95 | 8.62 ± 2.05 | (+) P <0.05 | 57.64 ± 0.46 | 11.57 ± 0.89 | (+) P <0.05 |
| 5 | 75.23 ± 1.31 | 18.35 ± 2.41 | (+) P <0.05 | 62.21 ± 0.95 | 20.43 ± 1.38 | (+) P <0.05 |
| 10 | 75.25 ± 1.08 | 18.39 ± 2.18 | (+) P <0.05 | 68.52 ± 0.42 | 32.64 ± 0.85 | (+) P <0.05 |
| 15 | 73.65 ± 0.90 | 15.87 ± 2.01 | (+) P <0.05 | 67.74 ± 1.22 | 31.12 ± 1.65 | (+) P <0.05 |
| 30 | 70.65 ± 1.26 | 11.16 ± 2.37 | (+) P <0.05 | 67.49 ± 0.65 | 30.64 ± 1.08 | (+) P <0.05 |
| 60 | 69.71 ± 0.72 | 9.67 ± 1.82 | (+) P <0.05 | 68.37 ± 0.22 | 32.34 ± 0.64 | (+) P <0.05 |

| Донор С | | | | | | |
|------------------|--------------|---------------------|-------------|--------------|---------------------|-------------|
| SAR | 0.531 Вт/кг | | | 1.1 Вт/кг | | |
| Время эксп., Мин | <ОКИ> | Рост показателя ОКИ | t-тест | <ОКИ> | Рост показателя ОКИ | t-тест |
| 0 | 64.90 ± 1.54 | | | 62.61 ± 1.39 | | |
| 1 | 67.75 ± 0.51 | 4.40 ± 2.05 | (-) P=0.15 | 66.01 ± 1.10 | 5.42 ± 2.50 | (-) P=0.13 |
| 2 | 71.93 ± 0.62 | 10.84 ± 2.17 | (+) P <0.05 | 72.06 ± 1.29 | 15.09 ± 2.69 | (+) P <0.05 |
| 5 | 76.23 ± 1.74 | 17.47 ± 3.29 | (+) P <0.05 | 75.24 ± 2.08 | 20.17 ± 3.48 | (+) P <0.05 |
| 10 | 77.21 ± 1.79 | 18.98 ± 3.33 | (+) P <0.05 | 80.34 ± 1.79 | 28.31 ± 3.18 | (+) P <0.05 |
| 15 | 77.22 ± 1.86 | 18.98 ± 3.41 | (+) P <0.05 | 78.06 ± 1.16 | 24.66 ± 2.56 | (+) P <0.05 |
| 30 | 73.51 ± 1.48 | 13.27 ± 3.03 | (+) P <0.05 | 75.58 ± 1.10 | 20.70 ± 2.49 | (+) P <0.05 |
| 60 | 72.63 ± 1.36 | 11.92 ± 2.91 | (+) P <0.05 | 74.58 ± 1.10 | 19.11 ± 2.50 | (+) P <0.05 |

| Донор D | | | | | | |
|------------------|--------------|---------------------|-------------|--------------|---------------------|-------------|
| SAR | 0.531 Вт/кг | | | 1.1 Вт/кг | | |
| Время эксп., Мин | <ОКИ> | Рост показателя ОКИ | t-тест | <ОКИ> | Рост показателя ОКИ | t-тест |
| 0 | 50.59 ± 1.37 | | | 49.96 ± 0.62 | | |
| 1 | 53.77 ± 1.48 | 6.29 ± 2.85 | (-) P=0.18 | 53.03 ± 0.87 | 6.15 ± 1.49 | (+) P <0.05 |
| 2 | 53.75 ± 0.50 | 6.23 ± 1.87 | (+) P <0.05 | 55.06 ± 0.67 | 10.21 ± 1.29 | (+) P <0.05 |
| 5 | 56.51 ± 2.11 | 11.70 ± 3.48 | (+) P <0.05 | 59.97 ± 1.10 | 20.04 ± 1.72 | (+) P <0.05 |
| 10 | 60.42 ± 2.39 | 19.43 ± 3.75 | (+) P <0.05 | 59.25 ± 2.14 | 18.60 ± 2.76 | (+) P <0.05 |
| 15 | 61.49 ± 1.23 | 21.53 ± 2.59 | (+) P <0.05 | 61.34 ± 1.13 | 22.79 ± 1.75 | (+) P <0.05 |
| 30 | 60.21 ± 1.20 | 19.00 ± 2.57 | (+) P <0.05 | 60.61 ± 2.62 | 21.33 ± 3.25 | (+) P <0.05 |
| 60 | 58.93 ± 0.59 | 16.48 ± 1.96 | (+) P <0.05 | 60.70 ± 0.66 | 21.50 ± 1.28 | (+) P <0.05 |

Продолжение таблицы А.2

| Донор Е | | | | | | |
|------------------|--------------|---------------------|-------------|--------------|---------------------|-------------|
| SAR | 0.531 Вт/кг | | | 1.1 Вт/кг | | |
| Время эксп., Мин | <ОКИ> | Рост показателя ОКИ | t-тест | <ОКИ> | Рост показателя ОКИ | t-тест |
| 0 | 50.96 ± 0.67 | | | 50.84 ± 1.82 | | |
| 1 | 51.45 ± 0.71 | 0.97 ± 1.37 | (-) P=0.64 | 51.56 ± 1.22 | 1.40 ± 3.04 | (-) P=0.76 |
| 2 | 55.37 ± 1.01 | 8.64 ± 1.68 | (+) P <0.05 | 53.22 ± 0.53 | 4.67 ± 2.34 | (-) P=0.28 |
| 5 | 56.43 ± 1.35 | 10.73 ± 2.02 | (+) P <0.05 | 56.87 ± 1.54 | 11.86 ± 3.36 | (-) P=0.07 |
| 10 | 55.90 ± 1.42 | 9.69 ± 2.09 | (+) P <0.05 | 57.19 ± 1.75 | 12.48 ± 3.57 | (-) P=0.07 |
| 15 | 60.20 ± 1.53 | 18.13 ± 2.20 | (+) P <0.05 | 59.99 ± 1.82 | 17.99 ± 3.64 | (+) P <0.05 |
| 30 | 59.60 ± 1.86 | 16.95 ± 2.53 | (+) P <0.05 | 61.26 ± 1.63 | 20.49 ± 3.44 | (+) P <0.05 |
| 60 | 61.37 ± 1.20 | 20.42 ± 1.86 | (+) P <0.05 | 62.35 ± 0.35 | 22.63 ± 2.17 | (+) P <0.05 |

Примечание: <ОКИ> - среднее значение показателя окрашенности клеток индигокармином (количество клеток n = 3),
 ± – стандартная ошибка среднего,
 P – уровень значимости.

Таблица А.3

Количество гранул гетерохроматина (КГГ) в ядрах клеток буккального эпителия после облучения ЭМИ на частоте 3.7 ГГц

| Донор А | | | | | | |
|---|--------------|---------------------|-------------|--------------|---------------------|-------------|
| Плотность потока мощности, мкВт/см ² | <КГГ> | Рост показателя КГГ | t-тест | <КГГ> | Рост показателя КГГ | t-тест |
| Время | 0.5 мин | | | 1 мин | | |
| Контроль | 16.77 ± 0.24 | | | 15.77 ± 0.19 | | |
| 2.5 | 17.20 ± 0.13 | 2.58 ± 2.24 | (-) P=0.12 | 17.37 ± 0.16 | 10.15 ± 2.36 | (+) P <0.05 |
| 10 | 18.77 ± 0.19 | 11.93 ± 2.73 | (+) P <0.05 | 19.00 ± 0.16 | 20.51 ± 2.46 | (+) P <0.05 |
| 40 | 23.87 ± 0.28 | 42.35 ± 3.70 | (+) P <0.05 | 21.50 ± 0.16 | 36.36 ± 2.68 | (+) P <0.05 |
| Время | 5 мин | | | 10 мин | | |
| Контроль | 16.37 ± 0.36 | | | 12.03 ± 0.31 | | |
| 2.5 | 17.53 ± 0.18 | 7.13 ± 3.44 | (+) P <0.05 | 13.83 ± 0.28 | 14.96 ± 5.21 | (+) P <0.05 |
| 10 | 19.07 ± 0.18 | 16.50 ± 3.66 | (+) P <0.05 | 15.33 ± 0.25 | 27.42 ± 5.28 | (+) P <0.05 |
| 40 | 24.47 ± 0.25 | 49.49 ± 4.83 | (+) P <0.05 | 17.13 ± 0.28 | 42.38 ± 5.96 | (+) P <0.05 |

Продолжение таблицы А.3

| Донор В | | | | | | |
|---|--------------|---------------------|-------------|--------------|---------------------|-------------|
| Плотность потока мощности, мкВт/см ² | <КГГ> | Рост показателя КГГ | t-тест | <КГГ> | Рост показателя КГГ | t-тест |
| Время | 0.5 мин | | | 1 мин | | |
| Контроль | 14.57 ± 0.13 | | | 15.17 ± 0.11 | | |
| 2.5 | 16.03 ± 0.18 | 10.07 ± 2.26 | (+) P <0.05 | 17.53 ± 0.16 | 15.60 ± 1.91 | (+) P <0.05 |
| 10 | 17.47 ± 0.29 | 19.91 ± 3.12 | (+) P <0.05 | 19.17 ± 0.21 | 26.37 ± 2.28 | (+) P <0.05 |
| 40 | 18.20 ± 0.14 | 24.94 ± 2.09 | (+) P <0.05 | 21.53 ± 0.24 | 41.98 ± 2.62 | (+) P <0.05 |
| Время | 5 мин | | | 10 мин | | |
| Контроль | 15.13 ± 0.23 | | | 11.90 ± 0.26 | | |
| 2.5 | 15.33 ± 0.20 | 1.32 ± 2.85 | (-) P=0.51 | 16.40 ± 0.29 | 37.82 ± 5.48 | (+) P <0.05 |
| 10 | 16.23 ± 0.18 | 7.27 ± 2.79 | (+) P <0.05 | 16.10 ± 0.25 | 35.29 ± 5.12 | (+) P <0.05 |
| 40 | 20.50 ± 0.21 | 35.46 ± 3.42 | (+) P <0.05 | 16.53 ± 0.30 | 38.94 ± 5.63 | (+) P <0.05 |

| Донор С | | | | | | |
|---|--------------|---------------------|-------------|--------------|---------------------|-------------|
| Плотность потока мощности, мкВт/см ² | <КГГ> | Рост показателя КГГ | t-тест | <КГГ> | Рост показателя КГГ | t-тест |
| Время | 0.5 мин | | | 1 мин | | |
| Контроль | 12.60 ± 0.28 | | | 11.73 ± 0.29 | | |
| 2.5 | 13.67 ± 0.25 | 8.47 ± 4.43 | (+) P <0.05 | 16.20 ± 0.18 | 38.07 ± 4.94 | (+) P <0.05 |
| 10 | 17.27 ± 0.25 | 37.04 ± 5.03 | (+) P <0.05 | 17.03 ± 0.14 | 45.17 ± 4.00 | (+) P <0.05 |
| 40 | 18.93 ± 0.24 | 50.26 ± 5.31 | (+) P <0.05 | 17.30 ± 0.21 | 47.44 ± 4.64 | (+) P <0.05 |
| Время | 5 мин | | | 10 мин | | |
| Контроль | 11.73 ± 0.29 | | | 12.60 ± 0.28 | | |
| 2.5 | 14.40 ± 0.34 | 22.73 ± 5.98 | (+) P <0.05 | 14.27 ± 0.28 | 13.23 ± 4.73 | (+) P <0.05 |
| 10 | 18.53 ± 0.36 | 57.95 ± 6.97 | (+) P <0.05 | 15.97 ± 0.31 | 26.72 ± 5.85 | (+) P <0.05 |
| 40 | 18.73 ± 0.23 | 59.66 ± 5.92 | (+) P <0.05 | 19.37 ± 0.29 | 53.70 ± 6.49 | (+) P <0.05 |

| Донор D | | | | | | |
|---|--------------|---------------------|-------------|--------------|---------------------|-------------|
| Плотность потока мощности, мкВт/см ² | <КГГ> | Рост показателя КГГ | t-тест | <КГГ> | Рост показателя КГГ | t-тест |
| Время | 0.5 мин | | | 1 мин | | |
| Контроль | 16.60 ± 0.18 | | | 14.77 ± 0.16 | | |
| 2.5 | 18.50 ± 0.18 | 11.45 ± 2.30 | (+) P <0.05 | 15.47 ± 0.15 | 4.74 ± 2.18 | (+) P <0.05 |
| 10 | 20.37 ± 0.18 | 22.69 ± 2.37 | (+) P <0.05 | 16.93 ± 0.33 | 14.67 ± 3.50 | (+) P <0.05 |
| 40 | 23.60 ± 0.18 | 42.17 ± 2.58 | (+) P <0.05 | 18.27 ± 0.20 | 23.70 ± 2.71 | (+) P <0.05 |
| Время | 5 мин | | | 10 мин | | |
| Контроль | 20.57 ± 0.18 | | | 13.27 ± 0.31 | | |
| 2.5 | 23.83 ± 0.20 | 15.88 ± 2.00 | (+) P <0.05 | 16.83 ± 0.23 | 26.88 ± 4.70 | (+) P <0.05 |
| 10 | 24.57 ± 0.39 | 19.45 ± 2.98 | (+) P <0.05 | 19.20 ± 0.29 | 44.72 ± 5.57 | (+) P <0.05 |
| 40 | 29.47 ± 0.21 | 43.27 ± 2.32 | (+) P <0.05 | 21.97 ± 0.30 | 65.58 ± 6.13 | (+) P <0.05 |

Продолжение таблицы А.3

| Донор Е | | | | | | |
|---|--------------|---------------------|-------------|--------------|---------------------|-------------|
| Плотность потока мощности, мкВт/см ² | <КГГ> | Рост показателя КГГ | t-тест | <КГГ> | Рост показателя КГГ | t-тест |
| Время | 0.5 мин | | | 1 мин | | |
| Контроль | 11.47 ± 0.26 | | | 12.03 ± 0.20 | | |
| 2.5 | 14.57 ± 0.22 | 27.03 ± 4.80 | (+) P <0.05 | 14.87 ± 0.22 | 23.61 ± 3.86 | (+) P <0.05 |
| 10 | 15.60 ± 0.28 | 36.05 ± 5.56 | (+) P <0.05 | 16.14 ± 0.21 | 34.16 ± 3.94 | (+) P <0.05 |
| 40 | 17.63 ± 0.27 | 53.78 ± 5.85 | (+) P <0.05 | 17.52 ± 0.18 | 45.64 ± 3.84 | (+) P <0.05 |
| Время | 5 мин | | | 10 мин | | |
| Контроль | 12.03 ± 0.20 | | | 11.47 ± 0.26 | | |
| 2.5 | 15.86 ± 0.21 | 31.84 ± 3.88 | (+) P <0.05 | 14.53 ± 0.36 | 26.74 ± 6.01 | (+) P <0.05 |
| 10 | 17.02 ± 0.16 | 41.48 ± 3.64 | (+) P <0.05 | 18.47 ± 0.38 | 61.05 ± 7.01 | (+) P <0.05 |
| 40 | 17.29 ± 0.24 | 43.72 ± 4.39 | (+) P <0.05 | 19.23 ± 0.36 | 67.73 ± 6.97 | (+) P <0.05 |

Примечание: <КГГ> - среднее значение количества гранул гетерохроматина (количество клеток n = 30),
± – стандартная ошибка среднего,
P – уровень значимости.

Таблица А.4

Содержание окрашенных клеток индигокармином (ОКИ, %) после облучения
ЭМИ на частоте 3.7 ГГц

| Донор А | | | | | | |
|---|--------------|---------------------|-------------|--------------|---------------------|-------------|
| Плотность потока мощности, мкВт/см ² | <ОКИ> | Рост показателя ОКИ | t-тест | <ОКИ> | Рост показателя ОКИ | t-тест |
| Время | 0.5 мин | | | 1 мин | | |
| Контроль | 57.62 ± 1.55 | | | 58.35 ± 1.63 | | |
| 1.25 | 65.81 ± 1.52 | 14.22 ± 5.70 | (+) P <0.05 | 62.42 ± 0.80 | 6.98 ± 4.35 | (-) P=0.09 |
| 2.5 | 70.67 ± 1.73 | 22.65 ± 6.30 | (+) P <0.05 | 68.52 ± 1.31 | 17.43 ± 5.51 | (+) P <0.05 |
| 10 | 79.99 ± 2.15 | 38.82 ± 7.46 | (+) P <0.05 | 79.46 ± 1.99 | 36.18 ± 7.20 | (+) P <0.05 |
| 20 | 72.10 ± 0.97 | 25.12 ± 5.05 | (+) P <0.05 | 69.89 ± 0.84 | 19.78 ± 4.78 | (+) P <0.05 |
| 40 | 72.71 ± 1.61 | 26.18 ± 6.19 | (+) P <0.05 | 64.40 ± 0.84 | 10.37 ± 4.52 | (+) P <0.05 |
| Время | 5 мин | | | 10 мин | | |
| Контроль | 56.28 ± 0.79 | | | 63.08 ± 0.37 | | |
| 1.25 | 74.96 ± 1.88 | 33.19 ± 5.20 | (+) P <0.05 | 69.49 ± 0.42 | 10.17 ± 1.31 | (+) P <0.05 |
| 2.5 | 90.45 ± 0.57 | 60.71 ± 3.26 | (+) P <0.05 | 75.93 ± 1.76 | 20.38 ± 3.51 | (+) P <0.05 |
| 10 | 86.23 ± 0.68 | 53.21 ± 3.36 | (+) P <0.05 | 89.82 ± 2.74 | 42.40 ± 5.19 | (+) P <0.05 |
| 20 | 78.09 ± 0.75 | 38.74 ± 3.27 | (+) P <0.05 | 73.27 ± 1.16 | 16.16 ± 2.52 | (+) P <0.05 |
| 40 | 74.86 ± 1.33 | 33.01 ± 4.22 | (+) P <0.05 | 71.66 ± 1.95 | 13.62 ± 3.77 | (+) P <0.05 |

Продолжение таблицы А.4

| Донор В | | | | | | |
|---|--------------|---------------------|-------------|--------------|---------------------|-------------|
| Время | 0.5 мин | | | 1 мин | | |
| Плотность потока мощности, мкВт/см ² | <ОКИ> | Рост показателя ОКИ | t-тест | <ОКИ> | Рост показателя ОКИ | t-тест |
| Контроль | 63.82 ± 0.67 | | | 65.67 ± 1.22 | | |
| 1.25 | 67.72 ± 0.26 | 6.11 ± 1.51 | (+) P <0.05 | 68.79 ± 2.29 | 4.75 ± 5.43 | (-) P=0.30 |
| 2.5 | 70.10 ± 0.13 | 9.84 ± 1.35 | (+) P <0.05 | 77.13 ± 2.55 | 17.45 ± 6.05 | (+) P <0.05 |
| 10 | 76.30 ± 2.22 | 19.55 ± 4.73 | (+) P <0.05 | 68.39 ± 3.23 | 4.13 ± 6.84 | (-) P=0.48 |
| 20 | 67.56 ± 0.96 | 5.86 ± 2.61 | (+) P <0.05 | 67.93 ± 1.76 | 3.45 ± 4.59 | (-) P=0.35 |
| 40 | 67.46 ± 1.98 | 5.71 ± 4.21 | (-) P=0.16 | 65.83 ± 1.29 | 0.25 ± 3.82 | (-) P=0.93 |
| Время | 5 мин | | | 10 мин | | |
| Контроль | 63.82 ± 0.67 | | | 65.67 ± 1.22 | | |
| 1.25 | 66.73 ± 1.04 | 4.57 ± 2.71 | (-) P=0.08 | 70.09 ± 0.79 | 6.73 ± 3.19 | (+) P <0.05 |
| 2.5 | 75.19 ± 2.62 | 17.82 ± 5.33 | (+) P <0.05 | 70.82 ± 1.01 | 7.85 ± 3.69 | (+) P <0.05 |
| 10 | 69.95 ± 0.85 | 9.62 ± 2.47 | (+) P <0.05 | 76.73 ± 1.01 | 16.84 ± 3.87 | (+) P <0.05 |
| 20 | 68.39 ± 1.58 | 7.17 ± 3.60 | (-) P=0.06 | 73.30 ± 0.72 | 11.62 ± 3.33 | (+) P <0.05 |
| 40 | 67.78 ± 1.05 | 6.21 ± 2.75 | (+) P <0.05 | 73.73 ± 1.25 | 12.28 ± 4.15 | (+) P <0.05 |
| Донор С | | | | | | |
| Время | 0.5 мин | | | 1 мин | | |
| Контроль | 66.57 ± 0.57 | | | 66.57 ± 0.57 | | |
| 1.25 | 70.31 ± 1.28 | 5.61 ± 2.82 | (-) P=0.06 | 70.20 ± 0.60 | 5.46 ± 1.80 | (+) P <0.05 |
| 2.5 | 71.00 ± 1.33 | 6.65 ± 2.92 | (+) P <0.05 | 71.77 ± 1.31 | 7.82 ± 2.89 | (+) P <0.05 |
| 10 | 78.66 ± 0.89 | 18.16 ± 2.35 | (+) P <0.05 | 78.69 ± 1.96 | 18.20 ± 3.96 | (+) P <0.05 |
| 20 | 71.01 ± 1.14 | 6.68 ± 2.63 | (+) P <0.05 | 69.62 ± 0.66 | 4.58 ± 1.89 | (+) P <0.05 |
| 40 | 68.59 ± 1.07 | 3.04 ± 2.48 | (-) P=0.17 | 71.14 ± 0.94 | 6.87 ± 2.32 | (+) P <0.05 |
| Время | 5 мин | | | 10 мин | | |
| Контроль | 56.00 ± 0.37 | | | 56.00 ± 0.37 | | |
| 1.25 | 67.34 ± 0.45 | 20.24 ± 1.60 | (+) P <0.05 | 72.91 ± 2.06 | 30.19 ± 4.55 | (+) P <0.05 |
| 2.5 | 91.05 ± 0.89 | 62.58 ± 2.67 | (+) P <0.05 | 88.87 ± 0.88 | 58.69 ± 2.64 | (+) P <0.05 |
| 10 | 83.18 ± 1.58 | 48.52 ± 3.82 | (+) P <0.05 | 83.39 ± 1.74 | 48.89 ± 4.11 | (+) P <0.05 |
| 20 | 78.03 ± 2.02 | 39.33 ± 4.54 | (+) P <0.05 | 76.21 ± 1.62 | 36.08 ± 3.81 | (+) P <0.05 |
| 40 | 77.51 ± 2.14 | 38.41 ± 4.74 | (+) P <0.05 | 77.56 ± 1.35 | 38.50 ± 3.35 | (+) P <0.05 |
| Донор D | | | | | | |
| Время | 0.5 мин | | | 1 мин | | |
| Контроль | 52.69 ± 0.13 | | | 52.69 ± 0.13 | | |
| 1.25 | 56.42 ± 1.71 | 7.08 ± 3.52 | (-) P=0.10 | 57.25 ± 1.17 | 8.66 ± 2.48 | (+) P <0.05 |
| 2.5 | 58.23 ± 2.12 | 10.51 ± 4.30 | (+) P <0.05 | 59.12 ± 1.68 | 12.20 ± 3.46 | (+) P <0.05 |
| 10 | 64.58 ± 0.54 | 22.57 ± 1.32 | (+) P <0.05 | 64.72 ± 2.07 | 22.83 ± 4.23 | (+) P <0.05 |
| 20 | 62.98 ± 0.87 | 19.53 ± 1.95 | (+) P <0.05 | 64.04 ± 0.64 | 21.53 ± 1.52 | (+) P <0.05 |
| 40 | 57.59 ± 1.60 | 9.31 ± 3.31 | (+) P <0.05 | 62.07 ± 1.50 | 17.79 ± 3.13 | (+) P <0.05 |
| Время | 5 мин | | | 10 мин | | |
| Контроль | 51.90 ± 1.58 | | | 51.90 ± 1.58 | | |
| 1.25 | 54.51 ± 1.66 | 5.02 ± 6.40 | (-) P=0.32 | 53.95 ± 0.09 | 3.95 ± 3.33 | (-) P=0.27 |
| 2.5 | 58.91 ± 2.30 | 13.50 ± 7.89 | (-) P=0.07 | 60.54 ± 1.30 | 16.65 ± 6.06 | (+) P <0.05 |
| 10 | 64.34 ± 0.67 | 23.98 ± 5.06 | (+) P <0.05 | 60.96 ± 0.75 | 17.45 ± 5.02 | (+) P <0.05 |
| 20 | 64.28 ± 1.59 | 23.85 ± 6.83 | (+) P <0.05 | 61.56 ± 1.65 | 18.62 ± 6.78 | (+) P <0.05 |
| 40 | 57.52 ± 0.91 | 10.82 ± 5.12 | (+) P <0.05 | 56.56 ± 0.53 | 8.98 ± 4.33 | (+) P <0.05 |

Продолжение таблицы А.4

| Донор Е | | | | | | |
|---|--------------|---------------------|-------------|--------------|---------------------|-------------|
| Плотность потока мощности, мкВт/см ² | <ОКИ> | Рост показателя ОКИ | t-тест | <ОКИ> | Рост показателя ОКИ | t-тест |
| Время | 0.5 мин | | | 1 мин | | |
| Контроль | 45.97 ± 0.51 | | | 45.97 ± 0.51 | | |
| 1.25 | 49.19 ± 0.54 | 7.02 ± 2.36 | (+) P <0.05 | 48.87 ± 1.08 | 6.32 ± 3.53 | (-) P=0.07 |
| 2.5 | 49.39 ± 0.49 | 7.45 ± 2.27 | (+) P <0.05 | 52.56 ± 2.06 | 14.36 ± 5.76 | (+) P <0.05 |
| 10 | 54.73 ± 0.48 | 19.06 ± 2.37 | (+) P <0.05 | 59.24 ± 2.51 | 28.88 ± 6.88 | (+) P <0.05 |
| 20 | 52.46 ± 0.25 | 14.14 ± 1.82 | (+) P <0.05 | 56.29 ± 1.47 | 22.47 ± 4.56 | (+) P <0.05 |
| 40 | 53.54 ± 1.64 | 16.47 ± 4.86 | (+) P <0.05 | 51.45 ± 0.79 | 11.93 ± 2.95 | (+) P <0.05 |
| Время | 5 мин | | | 10 мин | | |
| Контроль | 53.58 ± 0.49 | | | 53.58 ± 0.49 | | |
| 1.25 | 54.62 ± 0.47 | 1.95 ± 1.80 | (-) P=0.20 | 55.04 ± 0.77 | 2.73 ± 2.37 | (-) P=0.18 |
| 2.5 | 61.53 ± 0.82 | 14.84 ± 2.57 | (+) P <0.05 | 60.31 ± 3.24 | 12.57 ± 7.07 | (-) P=0.11 |
| 10 | 59.95 ± 2.32 | 11.91 ± 5.34 | (-) P=0.05 | 61.98 ± 0.57 | 15.69 ± 2.11 | (+) P <0.05 |
| 20 | 58.81 ± 2.19 | 9.76 ± 5.08 | (-) P=0.08 | 53.61 ± 1.26 | 0.07 ± 3.26 | (-) P=0.98 |
| 40 | 53.43 ± 0.66 | -0.28 ± 2.13 | (-) P=0.87 | 52.80 ± 1.36 | -1.44 ± 3.43 | (-) P=0.62 |

Примечание: <ОКИ> - среднее значение показателя окрашенности клеток индигокармином (количество клеток n = 3),
 ± – стандартная ошибка среднего,
 P – уровень значимости.

Таблица А.5

Количество гранул гетерохроматина (КГГ) в ядрах клеток буккального эпителия после облучения электрической и магнитной составляющей ЭМИ

| Донор А | | | |
|----------------------------|--------------|---------------------|-------------|
| Условие облучения | <КГГ> | Рост показателя КГГ | t-тест |
| Контроль | 14.63 ± 0.25 | | |
| Электрическая составляющая | 23.37 ± 0.39 | 59.68 ± 5.39 | (+) P=0.001 |
| Магнитная составляющая | 17.79 ± 0.22 | 21.54 ± 3.62 | (+) P=0.001 |
| Электромагнитное излучение | 20.03 ± 0.46 | 36.90 ± 5.47 | (+) P=0.001 |
| Донор В | | | |
| Контроль | 17.17 ± 0.40 | | |
| Электрическая составляющая | 21.63 ± 0.39 | 26.02 ± 5.22 | (+) P=0.001 |
| Магнитная составляющая | 19.75 ± 0.43 | 15.05 ± 5.19 | (+) P=0.001 |
| Электромагнитное излучение | 21.60 ± 0.39 | 25.83 ± 5.17 | (+) P=0.001 |

Продолжение таблицы А.5

| Донор С | | | |
|----------------------------|--------------|---------------------|-------------|
| Условие облучения | <КГГ> | Рост показателя КГГ | t-тест |
| Контроль | 11.97 ± 0.28 | | |
| Электрическая составляющая | 16.10 ± 0.28 | 34.54 ± 5.43 | (+) P=0.001 |
| Магнитная составляющая | 13.70 ± 0.31 | 14.48 ± 5.22 | (+) P=0.001 |
| Электромагнитное излучение | 14.30 ± 0.39 | 19.50 ± 6.00 | (+) P=0.001 |
| Донор D | | | |
| Контроль | 17.87 ± 0.35 | | |
| Электрическая составляющая | 23.20 ± 0.32 | 29.85 ± 4.35 | (+) P=0.001 |
| Магнитная составляющая | 21.17 ± 0.41 | 18.47 ± 4.66 | (+) P=0.001 |
| Электромагнитное излучение | 19.73 ± 0.37 | 10.45 ± 4.29 | (+) P=0.001 |
| Донор E | | | |
| Контроль | 18.27 ± 0.41 | | |
| Электрическая составляющая | 23.53 ± 0.42 | 28.83 ± 5.22 | (+) P=0.001 |
| Магнитная составляющая | 20.97 ± 0.41 | 14.78 ± 4.81 | (+) P=0.001 |
| Электромагнитное излучение | 20.47 ± 0.38 | 12.04 ± 4.62 | (+) P=0.001 |

Примечание: <КГГ> - среднее значение количества гранул гетерохроматина (количество клеток n = 30),
 ± – стандартная ошибка среднего,
 P – уровень значимости.

Таблица А.6

Окрашенность клеток индигокармином (ОКИ) после облучения электрической и магнитной составляющей ЭМИ

| Донор А | | | |
|----------------------------|--------------|---------------------|-------------|
| Условие облучения | <ОКИ> | Рост показателя ОКИ | t-тест |
| Контроль | 48.00 ± 1.37 | | |
| Электрическая составляющая | 60.54 ± 1.52 | 26.14 ± 6.75 | (+) P=0.004 |
| Магнитная составляющая | 57.96 ± 1.25 | 20.77 ± 6.04 | (+) P=0.006 |
| Электромагнитное излучение | 47.33 ± 0.72 | -1.39 ± 4.31 | (-) P=0.688 |

Продолжение таблицы А.6

| Донор В | | | |
|-------------------------------|--------------|------------------------|-------------|
| Условие облучения | <ОКИ> | Рост показателя ОКИ | t-тест |
| Контроль | 66.97 ± 1.26 | | |
| Электрическая составляющая | 72.15 ± 1.00 | 7.73 ± 3.52 | (+) P=0.032 |
| Магнитная составляющая | 69.98 ± 0.89 | 4.49 ± 3.29 | (-) P=0.123 |
| Электромагнитное излучение | 72.07 ± 0.92 | 7.61 ± 3.41 | (+) P=0.031 |
| Донор С | | | |
| Контроль | 48.71 ± 0.98 | | |
| Электрическая составляющая | 52.89 ± 0.75 | 8.57 ± 3.73 | (+) P=0.028 |
| Магнитная составляющая | 51.57 ± 0.75 | 5.88 ± 3.67 | (-) P=0.081 |
| Электромагнитное излучение | 52.93 ± 0.86 | 8.66 ± 3.96 | (+) P=0.032 |
| Донор D | | | |
| Контроль | 42.62 ± 1.01 | | |
| Электрическая составляющая | 61.77 ± 1.07 | 44.93 ± 5.93 | (+) P=0.001 |
| Магнитная составляющая | 52.14 ± 0.93 | 22.35 ± 5.08 | (+) P=0.002 |
| Электромагнитное излучение | 59.91 ± 1.30 | 40.57 ± 6.38 | (+) P=0.001 |
| Донор E | | | |
| Контроль | 64.03 ± 1.90 | | |
| Электрическая составляющая | 80.19 ± 1.65 | 25.23 ± 6.28 | (+) P=0.003 |
| Магнитная составляющая | 76.69 ± 0.85 | 19.76 ± 4.88 | (+) P=0.004 |
| Электромагнитное излучение | 68.33 ± 0.64 | 6.71 ± 4.16 | (-) P=0.099 |

Примечание: <ОКИ> - среднее значение показателя окрашенности клеток индигокармином (количество клеток n = 3),
± – стандартная ошибка среднего,
P – уровень значимости.

Изменение показателей ОКИ и КГГ при помещении клеток в предварительно облученный буферный раствор

| Изменение показателя ОКИ | | | |
|---------------------------------|--------------|---------------------|------------|
| Время облучения | <ОКИ> | Рост показателя ОКИ | t-тест |
| Контроль 1 | 53.00 ± 1.13 | | |
| 15 мин | 58.65 ± 0.46 | 10.69% | (+) P<0.05 |
| Контроль 2 | 55.92 ± 1.07 | | |
| 30 мин | 62.83 ± 1.24 | 12.35% | (+) P<0.05 |
| Контроль 3 | 56.76 ± 1.45 | | |
| 45 мин | 64.55 ± 1.93 | 13.73% | (+) P<0.05 |

| Изменение показателя КГГ | | | |
|---------------------------------|--------------|---------------------|------------|
| Время облучения | <КГГ> | Рост показателя КГГ | t-тест |
| Контроль | 12.13 ± 0.32 | | |
| 15 мин | 16.30 ± 0.36 | 34.34% | (+) P<0.05 |
| 30 мин | 17.43 ± 0.34 | 43.68% | (+) P<0.05 |
| 45 мин | 19.6 ± 0.36 | 61.54% | (+) P<0.05 |

Примечание: <ОКИ> - среднее значение показателя окрашенности клеток индигокармином (количество клеток n = 3),
 <КГГ> - среднее значение количества гранул гетерохроматина (количество клеток n = 30),
 ± – стандартная ошибка среднего,
 P – уровень значимости.

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Таблица Б.1

Влияние ДНК-связывающихся препаратов на состояние ядра и хроматина и проницаемость мембран клеток буккального эпителия человека

| DOX | | | | | | | |
|--------|--------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Время | С, моль/л | <КГГ> | t-тест | <ЭОЯ> | t-тест | <ОКИ> | t-тест |
| | Контроль | 12.37±0.44 | | 61.19±0.86 | | 53.18±1.18 | |
| 10 мин | 5·10 ⁻⁶ | 15.77±0.39 | (+) P<0.05 | 46.02±1.51 | (+) P<0.05 | 56.89±1.85 | (-) P=0.24 |
| | 5·10 ⁻⁷ | 16.03±0.29 | (+) P<0.05 | 57.19±1.29 | (-) P=0.06 | 54.38±1.84 | (-) P=0.67 |
| | 5·10 ⁻⁸ | 15.33±0.39 | (+) P<0.05 | 63.64±1.23 | (-) P=0.18 | 55.14±1.09 | (-) P=0.33 |
| 1 ч | 5·10 ⁻⁶ | 20.53±0.44 | (+) P<0.05 | 45.89±0.98 | (+) P<0.05 | 51.79±0.90 | (-) P=0.41 |
| | 5·10 ⁻⁷ | 19.97±0.46 | (+) P<0.05 | 57.42±1.24 | (-) P=0.07 | 54.45±0.76 | (-) P=0.41 |
| | 5·10 ⁻⁸ | 15.37±0.41 | (+) P<0.05 | 59.45±2.41 | (-) P=0.35 | 54.62±1.58 | (-) P=0.56 |
| 3 ч | 5·10 ⁻⁶ | 19.60±0.52 | (+) P<0.05 | 41.59±1.55 | (+) P<0.05 | 54.33±2.37 | (-) P=0.46 |
| | 5·10 ⁻⁷ | 20.03±0.48 | (+) P<0.05 | 50.00±1.63 | (+) P<0.05 | 53.21±1.69 | (-) P=0.51 |
| | 5·10 ⁻⁸ | 18.67±0.48 | (+) P<0.05 | 57.51±0.63 | (+) P<0.05 | 56.61±2.76 | (-) P=0.67 |

| ЕВ | | | | | | | |
|--------|--------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Время | С, моль/л | <КГГ> | t-тест | <ЭОЯ> | t-тест | <ОКИ> | t-тест |
| | Контроль | 14.83±0.42 | | 57.82±1.22 | | 59.98±2.04 | |
| 10 мин | 1·10 ⁻⁷ | 15.03±0.38 | (-) P=0.73 | 55.42±1.05 | (-) P=0.60 | 58.12±1.05 | (-) P=0.46 |
| | 1·10 ⁻⁶ | 16.23±0.38 | (+) P<0.05 | 56.46±2.05 | (-) P=0.21 | 61.64±1.96 | (-) P=0.59 |
| | 1·10 ⁻⁵ | 18.03±0.41 | (+) P<0.05 | 53.08±1.09 | (+) P<0.05 | 61.67±2.03 | (-) P=0.59 |
| 1 ч | 1·10 ⁻⁷ | 16.77±0.40 | (+) P<0.05 | 55.21±1.38 | (-) P=0.23 | 62.54±2.07 | (-) P=0.42 |
| | 1·10 ⁻⁶ | 16.07±0.38 | (+) P<0.05 | 53.43±2.15 | (-) P=0.15 | 62.09±1.05 | (-) P=0.41 |
| | 1·10 ⁻⁵ | 19.40±0.35 | (+) P<0.05 | 50.50±0.74 | (+) P<0.05 | 58.60±1.19 | (-) P=0.59 |
| 3 ч | 1·10 ⁻⁷ | 17.03±0.39 | (+) P<0.05 | 54.96±1.28 | (-) P=0.18 | 58.10±1.51 | (-) P=0.50 |
| | 1·10 ⁻⁶ | 17.93±0.44 | (+) P<0.05 | 52.40±1.30 | (+) P<0.05 | 59.38±1.25 | (-) P=0.81 |
| | 1·10 ⁻⁵ | 20.17±0.42 | (+) P<0.05 | 50.18±1.12 | (+) P<0.05 | 61.15±1.91 | (-) P=0.67 |

| PF | | | | | | | |
|--------|--------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Время | С, моль/л | <КГГ> | t-тест | <ЭОЯ> | t-тест | <ОКИ> | t-тест |
| | Контроль | 21.67±0.45 | | 56.48±1.71 | | 70.99±2.14 | |
| 10 мин | 1·10 ⁻⁷ | 20.73±0.44 | (-) P=0.14 | 54.25±1.34 | (-) P=0.36 | 69.75±2.51 | (-) P=0.73 |
| | 1·10 ⁻⁶ | 22.43±0.38 | (-) P=0.19 | 54.29±1.70 | (-) P=0.41 | 67.90±1.34 | (-) P=0.29 |
| | 1·10 ⁻⁵ | 25.23±0.46 | (+) P<0.05 | 54.66±1.59 | (-) P=0.48 | 66.07±1.53 | (-) P=0.14 |
| 1 ч | 1·10 ⁻⁷ | 25.40±0.45 | (+) P<0.05 | 54.39±1.52 | (-) P=0.41 | 70.00±0.58 | (-) P=0.68 |
| | 1·10 ⁻⁶ | 24.80±0.45 | (+) P<0.05 | 50.43±1.67 | (-) P=0.06 | 66.11±1.26 | (-) P=0.12 |
| | 1·10 ⁻⁵ | 29.20±0.44 | (+) P<0.05 | 47.42±1.59 | (+) P<0.05 | 73.15±2.80 | (-) P=0.57 |
| 3 ч | 1·10 ⁻⁷ | 24.27±0.32 | (+) P<0.05 | 51.98±0.71 | (-) P=0.07 | 69.62±1.34 | (-) P=0.62 |
| | 1·10 ⁻⁶ | 27.70±0.39 | (+) P<0.05 | 50.83±1.73 | (-) P=0.08 | 64.61±2.77 | (-) P=0.14 |
| | 1·10 ⁻⁵ | 28.40±0.47 | (+) P<0.05 | 48.63±0.88 | (+) P<0.05 | 68.67±0.18 | (-) P=0.34 |

Примечание:

<КГГ> - среднее значение количества гранул гетерохроматина (количество клеток n = 30),

<ЭОЯ> - среднее значение электроотрицательность ядер (количество клеток n = 3),

<ОКИ> - среднее значение показателя окрашенности клеток индигокармином (количество клеток n = 3),

С – концентрация вещества, ± – стандартная ошибка среднего, P – уровень значимости

Влияние фуллерена C₆₀ и САФ на состояние ядра и хроматина и проницаемость мембран клеток буккального эпителия человека

| Фуллерен C ₆₀ | | | | | | | |
|--------------------------|--------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Время | C, моль/л | <КГГ> | t-тест | <ЭОЯ> | t-тест | <ОКИ> | t-тест |
| | Контроль | 15.97±0.41 | | 52.10±2.10 | | 56.00±0.76 | |
| 10 мин | 5·10 ⁻⁷ | 16.17±0.5 | (-) P=0.74 | 50.51±0.60 | (-) P=0.51 | 52.52±0.16 | (+) P<0.05 |
| | 5·10 ⁻⁶ | 16.40±0.40 | (-) P=0.45 | 51.35±0.82 | (-) P=0.76 | 54.83±2.12 | (-) P=0.63 |
| | 5·10 ⁻⁵ | 16.33±0.37 | (-) P=0.51 | 54.28±1.40 | (-) P=0.44 | 55.33±2.19 | (-) P=0.79 |
| 1 ч | 5·10 ⁻⁷ | 15.80±0.41 | (-) P=0.76 | 50.49±1.04 | (-) P=0.53 | 53.76±0.25 | (+) P<0.05 |
| | 5·10 ⁻⁶ | 16.07±0.47 | (-) P=0.87 | 51.65±2.23 | (-) P=0.07 | 52.95±1.87 | (-) P=0.21 |
| | 5·10 ⁻⁵ | 16.20±0.41 | (-) P=0.69 | 52.19±1.69 | (-) P=0.97 | 56.27±1.51 | (-) P=0.88 |
| 3 ч | 5·10 ⁻⁷ | 15.70±0.48 | (-) P=0.67 | 52.48±1.69 | (-) P=0.89 | 55.99±2.74 | (-) P=0.99 |
| | 5·10 ⁻⁶ | 16.67±0.41 | (-) P=0.23 | 49.32±0.79 | (-) P=0.28 | 55.02±2.58 | (-) P=0.73 |
| | 5·10 ⁻⁵ | 15.90±0.35 | (-) P=0.90 | 52.72±1.20 | (-) P=0.81 | 54.97±2.55 | (-) P=0.72 |

| САФ | | | | | | | |
|--------|--------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Время | C, моль/л | <КГГ> | t-тест | <ЭОЯ> | t-тест | <ОКИ> | t-тест |
| | Контроль | 16.43±0.39 | | 44.27±2.17 | | 47.50±2.02 | |
| 10 мин | 2·10 ⁻⁵ | 16.27±0.44 | (-) P=0.78 | 46.32±1.78 | (-) P=0.51 | 47.32±2.06 | (-) P=0.98 |
| | 1·10 ⁻³ | 16.77±0.49 | (-) P=0.60 | 47.85±1.84 | (-) P=0.27 | 49.80±2.14 | (-) P=0.38 |
| | 1·10 ⁻² | 16.57±0.41 | (-) P=0.81 | 46.41±0.76 | (-) P=0.40 | 49.58±2.29 | (-) P=0.44 |
| 1 ч | 2·10 ⁻⁵ | 16.20±0.48 | (-) P=0.71 | 48.29±1.02 | (-) P=0.17 | 45.29±2.03 | (-) P=0.49 |
| | 1·10 ⁻³ | 16.30±0.42 | (-) P=0.82 | 45.79±0.56 | (-) P=0.53 | 45.96±2.06 | (-) P=0.64 |
| | 1·10 ⁻² | 16.43±0.40 | (-) P=1.00 | 47.60±1.25 | (-) P=0.25 | 46.80±2.40 | (-) P=0.90 |
| 3 ч | 2·10 ⁻⁵ | 16.50±0.44 | (-) P=0.91 | 48.51±1.71 | (-) P=0.20 | 48.58±2.10 | (-) P=0.63 |
| | 1·10 ⁻³ | 16.40±0.39 | (-) P=0.95 | 46.96±0.85 | (-) P=0.31 | 48.62±1.36 | (-) P=0.51 |
| | 1·10 ⁻² | 16.17±0.36 | (-) P=0.62 | 49.61±1.82 | (-) P=0.13 | 45.49±1.33 | (-) P=0.46 |

Примечание:

<КГГ> - среднее значение количества гранул гетерохроматина (n = 30),

<ЭОЯ> - среднее значение электроотрицательность ядер (n = 3),

<ОКИ> - среднее значение показателя окрашенности клеток индигокармином (n = 3),

C – концентрация вещества, ± – стандартная ошибка среднего, P – уровень значимости

Комбинированное воздействие слабого ЭМИ миллиметрового диапазона и БАС на состояние хроматина и ядер клеток буккального эпителия человека

| DOX | | | | | | |
|--------------------------|------------|------|------------|------------|------|------------|
| Донор А | КГГ | | | ЭОЯ | | |
| | <КГГ> | SEM | t-тест | <ЭОЯ> | SEM | t-тест |
| Контрольный образец | 18.50 | 0.43 | | 70.17 | 1.73 | |
| Образец с DOX | 26.67 | 0.45 | (+) P<0.05 | 62.95 | 1.70 | (+) P<0.05 |
| Облученный образец | 33.80 | 0.39 | (+) P<0.05 | 60.85 | 1.85 | (+) P<0.05 |
| Облученный образец с DOX | 29.03 | 0.39 | (+) P<0.05 | 61.06 | 2.12 | (+) P<0.05 |
| Донор В | КГГ | | | ЭОЯ | | |
| | <КГГ> | SEM | t-тест | <ЭОЯ> | SEM | t-тест |
| Контрольный образец | 20.93 | 0.45 | | 75.97 | 0.97 | |
| Образец с DOX | 26.93 | 0.44 | (+) P<0.05 | 71.14 | 1.15 | (+) P<0.05 |
| Облученный образец | 27.90 | 0.47 | (+) P<0.05 | 68.21 | 1.63 | (+) P<0.05 |
| Облученный образец с DOX | 23.07 | 0.43 | (+) P<0.05 | 64.96 | 1.17 | (+) P<0.05 |
| Донор С | КГГ | | | ЭОЯ | | |
| | <КГГ> | SEM | t-тест | <ЭОЯ> | SEM | t-тест |
| Контрольный образец | 19.90 | 0.44 | | 76.26 | 0.67 | |
| Образец с DOX | 27.33 | 0.43 | (+) P<0.05 | 73.59 | 0.87 | (-) P=0.07 |
| Облученный образец | 26.70 | 0.42 | (+) P<0.05 | 66.78 | 1.27 | (+) P<0.05 |
| Облученный образец с DOX | 21.43 | 0.41 | (+) P<0.05 | 73.07 | 1.08 | (-) P=0.07 |

| ЕВ | | | | | | |
|-------------------------|------------|------|------------|------------|------|------------|
| Донор А | КГГ | | | ЭОЯ | | |
| | <КГГ> | SEM | t-тест | <ЭОЯ> | SEM | t-тест |
| Контрольный образец | 21.37 | 0.43 | | 65.33 | 0.83 | |
| Образец с ЕВ | 25.07 | 0.42 | (+) P<0.05 | 60.63 | 2.19 | (-) P=0.11 |
| Облученный образец | 25.87 | 0.42 | (+) P<0.05 | 56.98 | 1.68 | (+) P<0.05 |
| Облученный образец с ЕВ | 23.27 | 0.45 | (+) P<0.05 | 63.09 | 1.15 | (-) P=0.19 |
| Донор В | КГГ | | | ЭОЯ | | |
| | <КГГ> | SEM | t-тест | <ЭОЯ> | SEM | t-тест |
| Контрольный образец | 20.93 | 0.45 | | 75.97 | 0.97 | |
| Образец с ЕВ | 26.90 | 0.43 | (+) P<0.05 | 66.25 | 0.57 | (+) P<0.05 |
| Облученный образец | 27.90 | 0.47 | (+) P<0.05 | 68.21 | 1.63 | (+) P<0.05 |
| Облученный образец с ЕВ | 22.77 | 0.42 | (+) P<0.05 | 70.60 | 1.19 | (+) P<0.05 |
| Донор С | КГГ | | | ЭОЯ | | |
| | <КГГ> | SEM | t-тест | <ЭОЯ> | SEM | t-тест |
| Контрольный образец | 19.90 | 0.44 | | 76.26 | 0.67 | |
| Образец с ЕВ | 25.87 | 0.36 | (+) P<0.05 | 66.74 | 2.15 | (+) P<0.05 |
| Облученный образец | 26.70 | 0.42 | (+) P<0.05 | 66.78 | 1.27 | (+) P<0.05 |
| Облученный образец с ЕВ | 22.53 | 0.43 | (+) P<0.05 | 72.75 | 0.88 | (+) P<0.05 |

Продолжение таблицы Б.3

| PF | | | | | | |
|-------------------------|------------|------|------------|------------|------|------------|
| Донор А | КГГ | | | ЭОЯ | | |
| | <КГГ> | SEM | t-тест | <ЭОЯ> | SEM | t-тест |
| Контрольный образец | 21.37 | 0.43 | | 65.33 | 0.83 | |
| Образец с PF | 25.40 | 0.36 | (+) P<0.05 | 60.62 | 0.48 | (+) P<0.05 |
| Облученный образец | 25.87 | 0.42 | (+) P<0.05 | 56.98 | 1.68 | (+) P<0.05 |
| Облученный образец с PF | 23.00 | 0.44 | (+) P<0.05 | 61.57 | 0.61 | (+) P<0.05 |
| Донор В | КГГ | | | ЭОЯ | | |
| | <КГГ> | SEM | t-тест | <ЭОЯ> | SEM | t-тест |
| Контрольный образец | 20.93 | 0.45 | | 75.97 | 0.97 | |
| Образец с PF | 25.00 | 0.37 | (+) P<0.05 | 68.71 | 1.67 | (+) P<0.05 |
| Облученный образец | 27.90 | 0.47 | (+) P<0.05 | 68.21 | 1.63 | (+) P<0.05 |
| Облученный образец с PF | 22.87 | 0.41 | (+) P<0.05 | 66.42 | 1.01 | (+) P<0.05 |
| Донор С | КГГ | | | ЭОЯ | | |
| | <КГГ> | SEM | t-тест | <ЭОЯ> | SEM | t-тест |
| Контрольный образец | 19.90 | 0.44 | | 76.26 | 0.67 | |
| Образец с PF | 26.03 | 0.49 | (+) P<0.05 | 72.06 | 0.70 | (+) P<0.05 |
| Облученный образец | 26.70 | 0.42 | (+) P<0.05 | 66.78 | 1.27 | (+) P<0.05 |
| Облученный образец с PF | 23.90 | 0.42 | (+) P<0.05 | 75.60 | 0.57 | (-) P=0.50 |

| Фуллерен C₆₀ | | | | | | |
|--------------------------------------|------------|------|------------|------------|------|------------|
| Донор А | КГГ | | | ЭОЯ | | |
| | <КГГ> | SEM | t-тест | <ЭОЯ> | SEM | t-тест |
| Контрольный образец | 21.37 | 0.43 | | 65.33 | 0.83 | |
| Образец с C ₆₀ | 20.73 | 0.44 | (-) P=0.31 | 65.41 | 2.06 | (-) P=0.97 |
| Облученный образец | 25.87 | 0.42 | (+) P<0.05 | 56.98 | 1.68 | (+) P<0.05 |
| Облученный образец с C ₆₀ | 22.67 | 0.45 | (+) P<0.05 | 56.15 | 1.28 | (+) P<0.05 |
| Донор В | КГГ | | | ЭОЯ | | |
| | <КГГ> | SEM | t-тест | <ЭОЯ> | SEM | t-тест |
| Контрольный образец | 21.90 | 0.44 | | 67.40 | 0.66 | |
| Образец с C ₆₀ | 21.07 | 0.39 | (-) P=0.16 | 72.58 | 0.77 | (+) P<0.05 |
| Облученный образец | 25.40 | 0.40 | (+) P<0.05 | 61.80 | 1.23 | (+) P<0.05 |
| Облученный образец с C ₆₀ | 22.37 | 0.38 | (-) P=0.43 | 66.03 | 1.87 | (-) P=0.53 |
| Донор С | КГГ | | | ЭОЯ | | |
| | <КГГ> | SEM | t-тест | <ЭОЯ> | SEM | t-тест |
| Контрольный образец | 19.90 | 0.44 | | 76.26 | 0.67 | |
| Образец с C ₆₀ | 19.77 | 0.42 | (-) P=0.83 | 75.24 | 0.66 | (-) P=0.34 |
| Облученный образец | 26.70 | 0.42 | (+) P<0.05 | 66.78 | 1.27 | (+) P<0.05 |
| Облученный образец с C ₆₀ | 24.23 | 0.47 | (+) P<0.05 | 67.19 | 0.84 | (+) P<0.05 |

| CAF | | | | | | |
|--------------------------|------------|------|------------|------------|------|------------|
| Донор А | КГГ | | | ЭОЯ | | |
| | <КГГ> | SEM | t-тест | <ЭОЯ> | SEM | t-тест |
| Контрольный образец | 21.37 | 0.43 | | 65.33 | 0.83 | |
| Образец с CAF | 20.70 | 0.38 | (-) P=0.25 | 67.84 | 2.17 | (-) P=0.34 |
| Облученный образец | 25.87 | 0.42 | (+) P<0.05 | 56.98 | 1.68 | (+) P<0.05 |
| Облученный образец с CAF | 23.80 | 0.42 | (+) P<0.05 | 60.88 | 1.25 | (+) P<0.05 |

Продолжение таблицы Б.3

| САФ | | | | | | |
|--------------------------|-------|------|------------|-------|------|------------|
| Донор В | КГГ | | | ЭОЯ | | |
| | <КГГ> | SEM | t-тест | <ЭОЯ> | SEM | t-тест |
| Контрольный образец | 21.90 | 0.44 | | 67.40 | 0.66 | |
| Образец с САФ | 21.50 | 0.46 | (-) P=0.53 | 70.99 | 2.12 | (-) P=0.18 |
| Облученный образец | 25.40 | 0.40 | (+) P<0.05 | 61.80 | 1.23 | (+) P<0.05 |
| Облученный образец с САФ | 23.97 | 0.49 | (+) P<0.05 | 60.68 | 1.65 | (+) P<0.05 |
| Донор С | КГГ | | | ЭОЯ | | |
| | <КГГ> | SEM | t-тест | <ЭОЯ> | SEM | t-тест |
| Контрольный образец | 19.90 | 0.44 | | 76.26 | 0.67 | |
| Образец с САФ | 21.27 | 0.43 | (+) P<0.05 | 72.06 | 0.71 | (+) P<0.05 |
| Облученный образец | 26.70 | 0.42 | (+) P<0.05 | 66.78 | 1.27 | (+) P<0.05 |
| Облученный образец с САФ | 24.00 | 0.43 | (+) P<0.05 | 71.90 | 1.15 | (+) P<0.05 |

Примечание:

<КГГ> - среднее значение количества гранул гетерохроматина (n = 30),

<ЭОЯ> - среднее значение электроотрицательность ядер (n = 3),

SEM – стандартная ошибка среднего,

P – уровень значимости

ПРИЛОЖЕНИЕ В

Таблица В.1

Влияние DOX на состояние ядра и хроматина клеток буккального эпителия человека в присутствии фуллерена C₆₀

| C _{DOX} , моль/л | C _ф , моль/л | КГГ | | | ЭОЯ | | |
|------------------------------|-------------------------|-------|------|------------|-------|------|------------|
| | | <КГГ> | SEM | t-тест | <ЭОЯ> | SEM | t-тест |
| Донор А | | | | | | | |
| 0 | 0 | 13.57 | 0.44 | | 56.81 | 0.43 | |
| 5·10 ⁻⁶ | 0 | 19.50 | 0.45 | | 50.23 | 1.33 | |
| | 5·10 ⁻⁵ | 15.23 | 0.41 | (+) P<0.05 | 54.07 | 0.94 | (-) P=0.08 |
| | 5·10 ⁻⁶ | 18.27 | 0.39 | (+) P<0.05 | 52.50 | 1.29 | (-) P=0.29 |
| | 5·10 ⁻⁷ | 19.27 | 0.38 | (-) P=0.69 | 52.79 | 1.21 | (-) P=0.23 |
| Correl = -0.92 | | | | | | | |
| Донор В | | | | | | | |
| 0 | 0 | 11.63 | 0.32 | | 64.80 | 1.46 | |
| 5·10 ⁻⁶ | 0 | 19.73 | 0.37 | | 53.84 | 1.14 | |
| | 6.6·10 ⁻⁵ | 13.83 | 0.42 | (+) P<0.05 | 61.75 | 1.23 | (+) P<0.05 |
| | 3.3·10 ⁻⁵ | 13.97 | 0.42 | (+) P<0.05 | 61.46 | 2.40 | (+) P<0.05 |
| | 1.7·10 ⁻⁵ | 14.97 | 0.40 | (+) P<0.05 | 60.70 | 1.22 | (+) P<0.05 |
| | 5.5·10 ⁻⁶ | 18.77 | 0.26 | (+) P<0.05 | 56.65 | 0.70 | (-) P=0.11 |
| | 3.7·10 ⁻⁶ | 19.70 | 0.45 | (-) P=0.96 | 55.47 | 0.59 | (-) P=0.27 |
| | 1.2·10 ⁻⁶ | 20.10 | 0.33 | (-) P=0.46 | 55.62 | 0.23 | (-) P=0.20 |
| Correl = -0.99 | | | | | | | |
| Донор С | | | | | | | |
| 0 | 0 | 14.03 | 0.39 | | 58.61 | 0.96 | |
| 5·10 ⁻⁶ | 0 | 22.00 | 0.40 | | 52.91 | 1.46 | |
| | 6.6·10 ⁻⁵ | 16.50 | 0.38 | (+) P<0.05 | 60.88 | 1.62 | (+) P<0.05 |
| | 3.3·10 ⁻⁵ | 15.77 | 0.41 | (+) P<0.05 | 59.48 | 1.11 | (+) P<0.05 |
| | 1.7·10 ⁻⁵ | 17.20 | 0.39 | (+) P<0.05 | 54.12 | 1.01 | (-) P=0.53 |
| | 5.5·10 ⁻⁶ | 17.80 | 0.41 | (+) P<0.05 | 54.93 | 1.70 | (-) P=0.42 |
| | 3.7·10 ⁻⁶ | 20.10 | 0.36 | (+) P<0.05 | 54.75 | 1.10 | (-) P=0.37 |
| | 1.2·10 ⁻⁶ | 21.00 | 0.40 | (-) P=0.08 | 54.26 | 0.98 | (-) P=0.49 |
| Correl = -0.77 | | | | | | | |

Примечание:

<КГГ> - среднее значение количества гранул гетерохроматина (n = 30),

<ЭОЯ> - среднее значение электроотрицательность ядер (n = 3),

C – концентрация вещества,

SEM – стандартная ошибка среднего,

P – уровень значимости,

t-test – результаты t-теста относительно позитивного контроля,

Correl – коэффициент корреляции параметров КГГ и ЭОЯ.

Влияние ЕВ на состояние ядра и хроматина клеток буккального эпителия человека в присутствии фуллерена С₆₀

| | | КГГ | | | ЭОЯ | | |
|-----------------------------|-------------------------|-------|------|------------|-------|------|------------|
| С _{ЕВ} , МОЛЬ/Л | С _ф , МОЛЬ/Л | <КГГ> | SEM | t-тест | <ЭОЯ> | SEM | t-тест |
| Донор А | | | | | | | |
| 0 | 0 | 18.37 | 0.41 | | 50.58 | 1.74 | |
| 1·10 ⁻⁵ | 0 | 27.23 | 0.37 | | 43.28 | 1.26 | |
| | 6.6·10 ⁻⁵ | 19.83 | 0.40 | (+) P<0.05 | 51.62 | 0.69 | (+) P<0.05 |
| | 3.3·10 ⁻⁵ | 20.70 | 0.37 | (+) P<0.05 | 47.26 | 0.65 | (+) P<0.05 |
| | 1.7·10 ⁻⁵ | 20.20 | 0.35 | (+) P<0.05 | 47.56 | 1.67 | (-) P=0.11 |
| | 5.5·10 ⁻⁶ | 21.90 | 0.40 | (+) P<0.05 | 45.89 | 1.61 | (-) P=0.27 |
| | 3.7·10 ⁻⁶ | 25.03 | 0.43 | (+) P<0.05 | 43.50 | 0.57 | (-) P=0.87 |
| | 1.2·10 ⁻⁶ | 24.43 | 0.52 | (+) P<0.05 | 43.90 | 1.46 | (-) P=0.76 |
| Correl = -0.91 | | | | | | | |
| Донор В | | | | | | | |
| 0 | 0 | 15.10 | 0.36 | | 69.97 | 1.09 | |
| 1·10 ⁻⁵ | 0 | 27.40 | 0.39 | | 50.86 | 1.67 | |
| | 6.6·10 ⁻⁵ | 16.67 | 0.33 | (+) P<0.05 | 69.10 | 1.25 | (+) P<0.05 |
| | 3.3·10 ⁻⁵ | 18.67 | 0.42 | (+) P<0.05 | 66.62 | 0.83 | (+) P<0.05 |
| | 1.7·10 ⁻⁵ | 21.37 | 0.38 | (+) P<0.05 | 59.00 | 1.04 | (+) P<0.05 |
| | 5.5·10 ⁻⁶ | 22.57 | 0.38 | (+) P<0.05 | 58.24 | 0.71 | (+) P<0.05 |
| | 3.7·10 ⁻⁶ | 22.17 | 0.41 | (+) P<0.05 | 55.62 | 0.23 | (+) P<0.05 |
| | 1.2·10 ⁻⁶ | 24.27 | 0.37 | (+) P<0.05 | 52.76 | 0.90 | (-) P=0.37 |
| Correl = -0.97 | | | | | | | |
| Донор С | | | | | | | |
| 0 | 0 | 15.67 | 0.39 | | 67.07 | 1.46 | |
| 1·10 ⁻⁵ | 0 | 26.20 | 0.39 | | 54.88 | 1.24 | |
| | 6.6·10 ⁻⁵ | 17.03 | 0.35 | (+) P<0.05 | 67.97 | 1.82 | (+) P<0.05 |
| | 3.3·10 ⁻⁵ | 19.80 | 0.52 | (+) P<0.05 | 62.45 | 1.23 | (+) P<0.05 |
| | 1.7·10 ⁻⁵ | 20.43 | 0.43 | (+) P<0.05 | 60.36 | 1.89 | (-) P=0.07 |
| | 5.5·10 ⁻⁶ | 22.17 | 0.37 | (+) P<0.05 | 60.70 | 0.77 | (+) P<0.05 |
| | 3.7·10 ⁻⁶ | 22.50 | 0.41 | (+) P<0.05 | 60.29 | 1.55 | (-) P=0.05 |
| | 1.2·10 ⁻⁶ | 23.87 | 0.38 | (+) P<0.05 | 56.37 | 1.31 | (-) P=0.45 |
| Correl = -0.97 | | | | | | | |

Примечание:

<КГГ> - среднее значение количества гранул гетерохроматина (n = 30),

<ЭОЯ> - среднее значение электроотрицательность ядер (n = 3),

С – концентрация вещества,

SEM – стандартная ошибка среднего,

P – уровень значимости,

t-test – результаты t-теста относительно позитивного контроля,

Correl – коэффициент корреляции параметров КГГ и ЭОЯ.

Влияние РФ на состояние ядра и хроматина клеток буккального эпителия
человека в присутствии фуллерена C₆₀

| | | КГГ | | | ЭОЯ | | |
|-----------------------------|-------------------------|-------|------|------------|-------|------|------------|
| C _{РФ} , моль/л | C _ф , моль/л | <КГГ> | SEM | t-тест | <ЭОЯ> | SEM | t-тест |
| Донор А | | | | | | | |
| 0 | 0 | 19.93 | 0.39 | | 61.22 | 1.12 | |
| 1·10 ⁻⁵ | 0 | 28.63 | 0.42 | | 49.70 | 1.74 | |
| | 6.6·10 ⁻⁵ | 23.20 | 0.45 | (+) P<0.05 | 58.04 | 0.44 | (+) P<0.05 |
| | 3.3·10 ⁻⁵ | 24.57 | 0.42 | (+) P<0.05 | 56.93 | 1.16 | (+) P<0.05 |
| | 1.7·10 ⁻⁵ | 25.20 | 0.49 | (+) P<0.05 | 57.85 | 1.58 | (+) P<0.05 |
| | 5.5·10 ⁻⁶ | 25.87 | 0.42 | (+) P<0.05 | 51.67 | 2.13 | (-) P=0.51 |
| | 3.7·10 ⁻⁶ | 27.57 | 0.36 | (-) P=0.06 | 53.82 | 1.49 | (-) P=0.15 |
| | 1.2·10 ⁻⁶ | 27.50 | 0.44 | (-) P=0.07 | 50.30 | 1.20 | (-) P=0.79 |
| Correl = -0.90 | | | | | | | |
| Донор В | | | | | | | |
| 0 | 0 | 20.13 | 0.48 | | 68.68 | 2.17 | |
| 1·10 ⁻⁵ | 0 | 29.97 | 0.46 | | 60.23 | 1.10 | |
| | 6.6·10 ⁻⁵ | 21.03 | 0.41 | (+) P<0.05 | 66.01 | 0.53 | (+) P<0.05 |
| | 3.3·10 ⁻⁵ | 22.83 | 0.39 | (+) P<0.05 | 62.76 | 1.82 | (-) P=0.30 |
| | 1.7·10 ⁻⁵ | 25.17 | 0.38 | (+) P<0.05 | 63.16 | 1.21 | (-) P=0.31 |
| | 5.5·10 ⁻⁶ | 25.50 | 0.37 | (+) P<0.05 | 62.53 | 1.66 | (-) P=0.14 |
| | 3.7·10 ⁻⁶ | 28.20 | 0.43 | (+) P<0.05 | 60.78 | 1.75 | (-) P=0.80 |
| | 1.2·10 ⁻⁶ | 27.53 | 0.45 | (+) P<0.05 | 60.01 | 1.78 | (-) P=0.92 |
| Correl = -0.92 | | | | | | | |
| Донор С | | | | | | | |
| 0 | 0 | 17.33 | 0.38 | | 65.87 | 0.52 | |
| 1·10 ⁻⁵ | 0 | 26.30 | 0.38 | | 56.91 | 0.60 | |
| | 6.6·10 ⁻⁵ | 19.43 | 0.30 | (+) P<0.05 | 65.84 | 1.08 | (+) P<0.05 |
| | 3.3·10 ⁻⁵ | 20.77 | 0.33 | (+) P<0.05 | 66.80 | 2.04 | (+) P<0.05 |
| | 1.7·10 ⁻⁵ | 23.13 | 0.31 | (+) P<0.05 | 63.17 | 0.56 | (+) P<0.05 |
| | 5.5·10 ⁻⁶ | 23.90 | 0.32 | (+) P<0.05 | 61.19 | 1.23 | (+) P<0.05 |
| | 3.7·10 ⁻⁶ | 24.30 | 0.38 | (+) P<0.05 | 62.39 | 1.94 | (-) P=0.05 |
| | 1.2·10 ⁻⁶ | 25.47 | 0.37 | (-) P=0.13 | 61.05 | 1.88 | (-) P=0.10 |
| Correl = -0.87 | | | | | | | |

Примечание:

<КГГ> - среднее значение количества гранул гетерохроматина (n = 30),

<ЭОЯ> - среднее значение электроотрицательность ядер (n = 3),

C – концентрация вещества,

SEM – стандартная ошибка среднего,

P – уровень значимости,

t-test – результаты t-теста относительно позитивного контроля,

Correl – коэффициент корреляции параметров КГГ и ЭОЯ.

Влияние DOX на состояние ядра и хроматина клеток буккального эпителия
человека в присутствии CAF

| | | КГГ | | | ЭОЯ | | |
|------------------------------|---------------------------|-------|------|------------|-------|------|------------|
| C _{DOX} , моль/л | C _{CAF} , моль/л | <КГГ> | SEM | t-тест | <ЭОЯ> | SEM | t-тест |
| Донор А | | | | | | | |
| 0 | 0 | 22.63 | 0.42 | | 60.69 | 1.04 | |
| 5·10 ⁻⁶ | 0 | 32.53 | 0.42 | | 47.33 | 0.63 | |
| | 4.9·10 ⁻³ | 23.73 | 0.49 | (+) P<0.05 | 63.83 | 1.34 | (+) P<0.05 |
| | 2.5·10 ⁻³ | 24.63 | 0.41 | (+) P<0.05 | 58.45 | 1.57 | (+) P<0.05 |
| | 1.2·10 ⁻³ | 25.13 | 0.41 | (+) P<0.05 | 59.64 | 1.96 | (+) P<0.05 |
| | 4.1·10 ⁻⁴ | 28.17 | 0.42 | (+) P<0.05 | 60.45 | 1.29 | (+) P<0.05 |
| | 1.4·10 ⁻⁴ | 29.50 | 0.47 | (+) P<0.05 | 54.42 | 1.02 | (+) P<0.05 |
| | 4.6·10 ⁻⁵ | 30.87 | 0.42 | (+) P<0.05 | 52.19 | 2.06 | (-) P=0.09 |
| | 1.1·10 ⁻⁵ | 32.40 | 0.50 | (-) P=0.84 | 53.39 | 0.49 | (+) P<0.05 |
| Correl = -0.88 | | | | | | | |
| Донор В | | | | | | | |
| 0 | 0 | 16.50 | 0.35 | | 55.14 | 0.93 | |
| 5·10 ⁻⁶ | 0 | 27.52 | 0.30 | | 44.87 | 2.08 | |
| | 4.9·10 ⁻³ | 18.13 | 0.32 | (+) P<0.05 | 58.93 | 1.86 | (+) P<0.05 |
| | 2.5·10 ⁻³ | 21.03 | 0.37 | (+) P<0.05 | 55.31 | 0.66 | (+) P<0.05 |
| | 1.2·10 ⁻³ | 20.50 | 0.40 | (+) P<0.05 | 52.36 | 1.79 | (-) P=0.05 |
| | 4.1·10 ⁻⁴ | 22.57 | 0.38 | (+) P<0.05 | 54.90 | 1.57 | (+) P<0.05 |
| | 1.4·10 ⁻⁴ | 23.20 | 0.41 | (+) P<0.05 | 50.02 | 0.88 | (-) P=0.08 |
| | 4.6·10 ⁻⁵ | 24.97 | 0.31 | (+) P<0.05 | 49.80 | 1.32 | (-) P=0.12 |
| | 1.1·10 ⁻⁵ | 25.17 | 0.36 | (+) P<0.05 | 49.98 | 0.82 | (-) P=0.08 |
| Correl = -0.86 | | | | | | | |
| Донор С | | | | | | | |
| 0 | 0 | 17.33 | 0.42 | | 60.25 | 1.28 | |
| 5·10 ⁻⁶ | 0 | 29.93 | 0.45 | | 47.13 | 1.39 | |
| | 4.9·10 ⁻³ | 22.17 | 0.43 | (+) P<0.05 | 51.40 | 2.30 | (-) P=0.19 |
| | 2.5·10 ⁻³ | 22.70 | 0.37 | (+) P<0.05 | 53.20 | 0.88 | (+) P<0.05 |
| | 1.2·10 ⁻³ | 23.37 | 0.29 | (+) P<0.05 | 57.43 | 2.26 | (+) P<0.05 |
| | 4.1·10 ⁻⁴ | 25.00 | 0.34 | (+) P<0.05 | 54.24 | 1.37 | (+) P<0.05 |
| | 1.4·10 ⁻⁴ | 25.60 | 0.50 | (+) P<0.05 | 53.68 | 1.50 | (+) P<0.05 |
| | 4.6·10 ⁻⁵ | 27.43 | 0.48 | (+) P<0.05 | 51.90 | 1.50 | (-) P=0.08 |
| | 1.1·10 ⁻⁵ | 29.00 | 0.34 | (-) P=0.10 | 51.17 | 1.63 | (-) P=0.13 |
| Correl = -0.82 | | | | | | | |

Примечание:

<КГГ> - среднее значение количества гранул гетерохроматина (n = 30),

<ЭОЯ> - среднее значение электроотрицательность ядер (n = 3),

C – концентрация вещества, SEM – стандартная ошибка среднего, P – уровень значимости, t-test – результаты t-теста относительно позитивного контроля,

Correl – коэффициент корреляции параметров КГГ и ЭОЯ.

**Влияние EB на состояние ядра и хроматина клеток буккального эпителия
человека в присутствии САФ**

| | | КГГ | | | ЭОЯ | | |
|----------------------|----------------------|-------|------------|------------|-------|------------|------------|
| C_{EB} , МОЛЬ/Л | $C_{САФ}$, МОЛЬ/Л | <КГГ> | SEM | t-тест | <ЭОЯ> | SEM | t-тест |
| Донор А | | | | | | | |
| 0 | 0 | 19.93 | 0.41 | | 73.38 | 1.68 | |
| 1·10 ⁻⁵ | 0 | 29.00 | 0.41 | | 60.37 | 0.93 | |
| | 4.9·10 ⁻³ | 23.27 | 0.43 | (+) P<0.05 | 67.55 | 1.10 | (+) P<0.05 |
| | 2.5·10 ⁻³ | 23.17 | 0.46 | (+) P<0.05 | 65.92 | 0.99 | (-) P=0.07 |
| | 1.2·10 ⁻³ | 24.47 | 0.37 | (+) P<0.05 | 64.46 | 0.97 | (-) P=0.17 |
| | 4.1·10 ⁻⁴ | 25.00 | 0.33 | (+) P<0.05 | 64.27 | 1.20 | (+) P<0.05 |
| | 1.4·10 ⁻⁴ | 25.97 | 0.29 | (+) P<0.05 | 63.99 | 0.83 | (-) P=0.34 |
| | 4.6·10 ⁻⁵ | 28.13 | 0.40 | (+) P<0.05 | 61.47 | 0.66 | (-) P=0.25 |
| 1.1·10 ⁻⁵ | 28.40 | 0.33 | (+) P<0.05 | 59.35 | 0.96 | (-) P=0.63 | |
| Correl = -0.97 | | | | | | | |
| Донор В | | | | | | | |
| 0 | 0 | 15.43 | 0.38 | | 60.28 | 1.38 | |
| 1·10 ⁻⁵ | 0 | 28.60 | 0.37 | | 53.60 | 1.10 | |
| | 4.9·10 ⁻³ | 20.90 | 0.33 | (+) P<0.05 | 61.11 | 1.36 | (+) P<0.05 |
| | 2.5·10 ⁻³ | 23.87 | 0.46 | (+) P<0.05 | 59.15 | 1.29 | (+) P<0.05 |
| | 1.2·10 ⁻³ | 22.97 | 0.52 | (+) P<0.05 | 56.78 | 1.40 | (-) P=0.15 |
| | 4.1·10 ⁻⁴ | 23.93 | 0.40 | (+) P<0.05 | 56.72 | 1.42 | (-) P=0.16 |
| | 1.4·10 ⁻⁴ | 26.90 | 0.34 | (+) P<0.05 | 54.46 | 1.35 | (-) P=0.65 |
| | 4.6·10 ⁻⁵ | 27.67 | 0.41 | (-) P=0.10 | 54.88 | 1.26 | (-) P=0.49 |
| 1.1·10 ⁻⁵ | 29.23 | 0.32 | (-) P=0.20 | 53.03 | 1.62 | (-) P=0.79 | |
| Correl = -0.88 | | | | | | | |
| Донор С | | | | | | | |
| 0 | 0 | 19.83 | 0.42 | | 56.00 | 1.53 | |
| 1·10 ⁻⁵ | 0 | 29.10 | 0.38 | | 47.38 | 0.88 | |
| | 4.9·10 ⁻³ | 20.33 | 0.44 | (+) P<0.05 | 53.29 | 0.59 | (+) P<0.05 |
| | 2.5·10 ⁻³ | 23.40 | 0.41 | (+) P<0.05 | 51.46 | 1.92 | (-) P=0.13 |
| | 1.2·10 ⁻³ | 22.50 | 0.34 | (+) P<0.05 | 52.23 | 0.95 | (+) P<0.05 |
| | 4.1·10 ⁻⁴ | 24.77 | 0.42 | (+) P<0.05 | 51.75 | 0.54 | (+) P<0.05 |
| | 1.4·10 ⁻⁴ | 27.03 | 0.49 | (+) P<0.05 | 49.36 | 0.87 | (-) P=0.19 |
| | 4.6·10 ⁻⁵ | 26.67 | 0.44 | (+) P<0.05 | 48.85 | 0.60 | (-) P=0.24 |
| 1.1·10 ⁻⁵ | 28.13 | 0.43 | (-) P=0.10 | 48.67 | 0.88 | (-) P=0.36 | |
| Correl = -0.96 | | | | | | | |

Примечание:

<КГГ> - среднее значение количества гранул гетерохроматина (n = 30),

<ЭОЯ> - среднее значение электроотрицательность ядер (n = 3),

C – концентрация вещества, SEM – стандартная ошибка среднего, P – уровень значимости,

t-test – результаты t-теста относительно позитивного контроля,

Correl – коэффициент корреляции параметров КГГ и ЭОЯ.

Влияние PF на состояние ядра и хроматина клеток букального эпителия человека в присутствии САФ

| | | КГГ | | | ЭОЯ | | |
|----------------------|---------------------|-------|------|------------|-------|------|------------|
| C_{PF} , МОЛЬ/Л | C_{CAF} , МОЛЬ/Л | <КГГ> | SEM | t-тест | <ЭОЯ> | SEM | t-тест |
| Донор А | | | | | | | |
| 0 | 0 | 19.93 | 0.39 | | 61.22 | 1.12 | |
| $1 \cdot 10^{-5}$ | 0 | 28.63 | 0.42 | | 49.70 | 1.74 | |
| | $4.9 \cdot 10^{-3}$ | 21.13 | 0.35 | (+) P<0.05 | 56.74 | 1.14 | (+) P<0.05 |
| | $2.5 \cdot 10^{-3}$ | 22.90 | 0.41 | (+) P<0.05 | 55.73 | 1.60 | (-) P=0.06 |
| | $1.2 \cdot 10^{-3}$ | 23.67 | 0.40 | (+) P<0.05 | 55.02 | 1.68 | (-) P=0.09 |
| | $4.1 \cdot 10^{-4}$ | 22.80 | 0.38 | (+) P<0.05 | 53.48 | 2.01 | (-) P=0.23 |
| | $1.4 \cdot 10^{-4}$ | 25.23 | 0.44 | (+) P<0.05 | 52.27 | 1.42 | (-) P=0.32 |
| | $4.6 \cdot 10^{-5}$ | 27.67 | 0.32 | (-) P=0.07 | 50.78 | 1.92 | (-) P=0.70 |
| | $1.1 \cdot 10^{-5}$ | 28.60 | 0.46 | (-) P=0.96 | 52.14 | 2.16 | (-) P=0.43 |
| Correl = -0.90 | | | | | | | |
| Донор В | | | | | | | |
| 0 | 0 | 20.13 | 0.48 | | 68.68 | 2.17 | |
| $1 \cdot 10^{-5}$ | 0 | 29.97 | 0.46 | | 60.23 | 1.10 | |
| | $4.9 \cdot 10^{-3}$ | 24.17 | 0.37 | (+) P<0.05 | 65.87 | 0.40 | (+) P<0.05 |
| | $2.5 \cdot 10^{-3}$ | 23.93 | 0.47 | (+) P<0.05 | 63.07 | 1.80 | (-) P=0.25 |
| | $1.2 \cdot 10^{-3}$ | 24.23 | 0.33 | (+) P<0.05 | 64.81 | 1.20 | (+) P<0.05 |
| | $4.1 \cdot 10^{-4}$ | 25.27 | 0.37 | (+) P<0.05 | 62.12 | 0.54 | (-) P=0.20 |
| | $1.4 \cdot 10^{-4}$ | 27.27 | 0.42 | (+) P<0.05 | 63.18 | 1.25 | (-) P=0.15 |
| | $4.6 \cdot 10^{-5}$ | 27.80 | 0.46 | (+) P<0.05 | 60.03 | 1.39 | (-) P=0.91 |
| | $1.1 \cdot 10^{-5}$ | 30.00 | 0.44 | (-) P=0.96 | 61.83 | 0.53 | (-) P=0.26 |
| Correl = -0.87 | | | | | | | |
| Донор С | | | | | | | |
| 0 | 0 | 17.33 | 0.38 | | 65.87 | 0.52 | |
| $1 \cdot 10^{-5}$ | 0 | 26.30 | 0.38 | | 56.91 | 0.60 | |
| | $4.9 \cdot 10^{-3}$ | 21.33 | 0.39 | (+) P<0.05 | 64.56 | 1.37 | (+) P<0.05 |
| | $2.5 \cdot 10^{-3}$ | 19.33 | 0.41 | (+) P<0.05 | 63.41 | 1.03 | (+) P<0.05 |
| | $1.2 \cdot 10^{-3}$ | 22.60 | 0.38 | (+) P<0.05 | 61.43 | 1.97 | (-) P=0.09 |
| | $4.1 \cdot 10^{-4}$ | 25.60 | 0.33 | (-) P=0.17 | 62.08 | 1.60 | (+) P<0.05 |
| | $1.4 \cdot 10^{-4}$ | 24.93 | 0.43 | (+) P<0.05 | 59.14 | 2.08 | (-) P=0.36 |
| | $4.6 \cdot 10^{-5}$ | 25.50 | 0.29 | (+) P<0.05 | 57.06 | 1.98 | (-) P=0.94 |
| | $1.1 \cdot 10^{-5}$ | 25.63 | 0.36 | (-) P=0.21 | 58.85 | 1.05 | (-) P=0.18 |
| Correl = -0.87 | | | | | | | |

Примечание:

<КГГ> - среднее значение количества гранул гетерохроматина (n = 30),

<ЭОЯ> - среднее значение электроотрицательность ядер (n = 3),

C – концентрация вещества, SEM – стандартная ошибка среднего, P – уровень значимости,

t-test – результаты t-теста относительно позитивного контроля,

Correl – коэффициент корреляции параметров КГГ и ЭОЯ.