

На правах рукописи

БОЛЬШАКОВ МИХАИЛ АЛЕКСЕЕВИЧ

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ РАДИОЧАСТОТНЫХ
ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ИЗЛУЧЕНИЙ НА БИООБЪЕКТЫ РАЗНЫХ
УРОВНЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

03.00.13. - физиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Томск - 2002

Работа выполнена в Томском государственном университете

Научный консультант: доктор биологических наук,
профессор Гриднева В.И.

Официальные оппоненты: доктор биологических наук,
профессор Васильев В.Н.

доктор биологических наук,
профессор Карташев А.Г.

академик РАН,
доктор биологических наук,
профессор Ноздрачёв А.Д.

Ведущая организация: Российский университет Дружбы народов (г. Москва)

Защита диссертации состоится «___»_____ 2002 г. в «___» час.
на заседании диссертационного совета Д 208.096.01. в Сибирском
государственном медицинском университете (634050, г. Томск, Московский
тракт, 2)

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке
Сибирского государственного медицинского университета (634050, г. Томск,
пр. Ленина, 107)

Автореферат разослан «___»_____ 2002 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор

Бражникова Н.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. В последнее время сформировался новый, биологически значимый фактор окружающей среды, который невозможно устранить или заменить на другой – электромагнитные поля и излучения, в том числе и радиочастотные электромагнитные излучения (ЭМИ). Учитывая это, Всемирная организация здравоохранения ввела понятие «электромагнитное загрязнение среды», фиксируя тем самым факт установления на Земле новых экологических условий (M.H.Repacholi,1999). Эта ситуация обостряется активным распространением систем сотовой радиосвязи (Ю.Г. Григорьев с соавт., 1999, 2000; 1999; С.С. Худницкий с соавт., 1999; M. Nietanen et al, 1999; P. Bernardi et al, 1999;R. Goodman et al, 2000; J. Cooper et al, 2000), а так же появлением новых источников радиочастотного излучения, релятивистских СВЧ-генераторов мощных импульсных электромагнитных излучений (Г.А. Месяц, 1974; С.П. Бугаев, 1996; С.Д. Коровин с соавт., 1996).

Радиочастотные ЭМИ способны оказывать неблагоприятное влияние на человека и другие биологические объекты (М.Г. Шандала с соавт., 1986; Ю.Д. Думанский с соавт, 1999), поэтому является актуальным изучение физиологических механизмов адаптации к данному фактору. Одной из наиболее чувствительных к действию ЭМИ считается ЦНС (Ю.А. Холодов, 1975,1995; Б.И. Давыдов с соавт., 1984; М.Г. Шандала с соавт., 1985,1999; Н.А. Агаджанян с соавт.2001; S.M. Michaelson, 1980; W.R. Adey, 1981,1993; А.Н. Frey, 1985), причём это может быть обусловлено физико-химическими изменениями, инициируемыми ЭМИ на мембранно-клеточном уровне. Данный аспект исследован не достаточно, и поэтому изучение механизмов нейрофизиологического действия ЭМИ, их значимость при формировании реакций организма на воздействие является насущным. Относительно недавно выяснилось, что повреждающему действию ЭМИ подвержен так же и развивающийся организм (F. Dietzel, 1975; М.Е. О'Connor, 1980; Y. Tomotuki et. al., 1988; Ю.Г. Григорьев, 1998, 1999), и это сопровождается неблагоприятными для организма последствиями в виде тератогенеза. Данный аспект не исследован в должной мере, поэтому проблема электромагнитного тератогенеза важна. Есть так же перечень применения электромагнитных воздействий с полезными для человека результатами. Это использование ЭМИ при изучении фундаментальных свойств живых систем (Х.П. Шван, 1972), применение для биотехнологических целей (В.И. Панасенко, 1987), в практике ДМВ- и КВЧ-терапии (О.А. Крылов, 1987; Н.Д. Девятков с соавт., 1989; А.Н. Ремизов, 1996; О.В. Бецкий с соавт., 2000). Здесь так же необходимы знания физиологических механизмов действия ЭМИ.

Биологическое действие ЭМИ базируется на механизмах, подразделяемых на тепловые и нетепловые (Х.П. Шван, 1971). Тепловые эффекты обусловлены либо интегральным нагревом всего облучаемого объекта, либо локальным нагревом («микротепловые эффекты» - В.В. Тяжелов с соавт, 1983). Нетепловые эффекты реализуются без повышения температуры в объекте, зависят от частоты модуляции ЭМИ (W.R. Adey, 1981;1993). Характер такого влияния остаётся дискуссионным, а изучение механизма - актуальным.

Живые системы - иерархически организованные структуры со сложным набором прямых и обратных связей. Воздействие ЭМИ на мембранном уровне проявляет себя на уровне клетки, и это сложным, нелинейным образом сказывается на более высоких уровнях функционирования вплоть до всего организма (Н.А. Агаджанян с соавт.,2001). По этим причинам исследование механизмов влияния ЭМИ на биосистемы разных уровней организации, их соотношения в формировании адаптивных реакций организма является актуальной физиологической проблемой.

Из анализа состояния проблемы **целью данной работы** являлось экспериментальное исследование эффектов действия радиочастотных электромагнитных излучений на функционирование биологических объектов разных уровней организации для выявления закономерностей реализации физиологических механизмов влияния тепловой и нетепловой природы.

Для достижения этой цели решались следующие **задачи**:

1. Исследовать влияние ЭМИ в диапазоне частот 275 - 820 МГц на ионную проводимость модифицированных бислойных липидных мембран и оценить частотную зависимость эффекта изменения проводимости.
2. Исследовать влияние импульсно модулированного ЭМИ 915 МГц на мембрану сомы диализированных нейронов прудовика, оценив изменения медиатор-индуцированных токов и быстрого калиевого тока.
3. Изучить эффекты влияния немодулированного и импульсно модулированного низкими частотами ЭМИ 915 МГц на электрическую активность идентифицированных нейронов прудовика, сопоставить эффекты с реакциями указанных клеток на тепловые воздействия для идентификации механизмов влияния по типу теплового или нетеплового.
4. Исследовать действие мощного электромагнитного излучения 10 ГГц с субмикросекундными и наносекундными импульсами на процессы клеточного деления в разных культурах, идентифицировать характер воздействия и возможные клеточные мишени влияния.

5. Изучить влияние низкоинтенсивного ЭМИ 460 МГц на развивающийся организм дрозофил и определить наличие периода в эмбриогенезе, чувствительного к такому воздействию для использования эмбрионов этого возраста в качестве тест - объекта в дальнейших исследованиях.
6. Изучить действие повышенной температуры на эмбрионы дрозофилы тест-возраста и сопоставить эффекты ЭМИ с эффектами повышенной температуры для идентификации механизма влияния по типу теплового или нетеплового.
7. Исследовать влияние низкоинтенсивного ЭМИ, импульсно модулированного низкими частотами (2,5 - 40 Гц), на тест-эмбрионы дрозофилы. Оценить зависимость эффекта от частоты модуляции при обычной и повышенной температуре и сформулировать возможный механизм частотной зависимости.
8. Исследовать влияние мощного импульсного излучения 10 ГГц с импульсами субмикросекундной и наносекундной длительности на развивающийся организм дрозофилы. Установить зависимость эффекта воздействия от стадии развития организма на момент облучения, частоты повторения импульсов и их длительности, от длительности и повторности воздействия, от наличия или отсутствия импульсов рентгеновского излучения.

Научная новизна:

Впервые проанализированы закономерности реализации физиологических механизмов влияния радиочастотных электромагнитных излучений, реализуемых на мембранном, клеточном и организменном уровнях.

Оценены вклады тепловых и нетепловых механизмов влияния на объекты в зависимости от режимов облучения (частоты модуляции, интенсивности и повторности). Предложен критерий идентификации механизмов влияния на основе сопоставления эффектов исходя из критерия равенства скоростей нагрева.

Впервые исследовано влияние мощного импульсного СВЧ-излучения с импульсами наносекундной длительности на некоторые клеточные культуры и развивающийся организм дрозофилы, определены основные закономерности влияния и предложены возможные физиологические механизмы.

Практическая ценность

Полученные данные существенно расширили и углубили знания об общих закономерностях и физиологических механизмах влияния как низкоинтенсивного радиочастотного электромагнитного излучения, так и мощного СВЧ-излучения с импульсами наносекундной длительности. Результаты работы позволяют яснее понимать опасность вредного влияния вышеуказанных излучений и позволяют прогнозировать возможные неблагоприятные последствия. Они дополнили представления относительно биологического действия

импульсно-модулированных радиочастотных излучений, их сочетанного действия с повышенной температурой, что может быть учтено при совершенствовании существующих санитарно-гигиенических норм безопасного воздействия радиочастотных излучений и при разработке соответствующих гигиенических нормативов. Данные относительно влияния мощных электромагнитных импульсов наносекундной длительности могут стать основой для гигиенического и экологического нормирования этого фактора, а также для использования в сельскохозяйственных и медицинских целях, в частности, для создания новых систем физической дезинсекции и разработки новых медицинских технологий.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. На уровне биологических мембран и их моделей влияние радиочастотного электромагнитного излучения на пассивный перенос ионов обусловлено тепловыми механизмами.
2. На клеточном уровне влияние радиочастотных электромагнитных излучений реализуется посредством тепловых и нетепловых механизмов. Эффекты тепловой природы определяются скоростью роста температуры во время облучения и поэтому зависят от интенсивности воздействия, в то время как эффекты нетепловой природы зависят от параметров модуляции (частоты повторения импульсов).
3. Реакции развивающегося организма на воздействие радиочастотных излучений зависят от интенсивности, длительности облучения, временных характеристик воздействующего излучения, сочетанности с другими факторами, а также стадией развития (возрастом) организма.
4. Эффекты радиочастотных электромагнитных излучений, индуцируемые на нижних уровнях организации биообъектов, выступают в роли физиологических причин влияния на высших уровнях. Совокупные мембранно-клеточные реакции сопровождаются физиологическими сдвигами в организме, могущими приводить к напряжению в его функционировании и выводить организм за рамки адаптивных возможностей. Последствия такого влияния оказываются неблагоприятны для организма, вплоть до его гибели.

Апробация работы

Основные материалы диссертации докладывались и обсуждались на: Всесоюзной конференции "Действие физических факторов на живой организм" (Одесса, апрель, 1978); International

Symposium on Bioeffects of EM Radiation (Helsinki, June 1978), рабочем совещании "Механизмы биологического действия высокочастотных электромагнитных полей" (Пушино, октябрь, 1978); Всесоюзном симпозиуме "Закономерности биологического действия неионизирующих электромагнитных излучений" (Пушино, декабрь 1982); Всесоюзном рабочем совещании "Биологическое действие неионизирующих электромагнитных излучений" (Пушино, май 1986); Всесоюзном симпозиуме с международным участием «Механизмы биологического действия электромагнитных излучений» (Пушино, октябрь 1987); Международном симпозиуме "Миллиметровые волны нетепловой интенсивности в медицине" (Москва, октябрь, 1991); региональной конференции "Здоровье населения России" (Новокузнецк, июнь, 1973); региональной конференции "Экология и общественное здоровье населения" (Новокузнецк, июнь 1994); международной конференции "Фундаментальные и прикладные проблемы охраны окружающей среды" (Томск, октябрь 1995); международном симпозиуме "Мониторинг окружающей среды и проблемы Солнечно-Земной физики" (Томск, июнь 1996); 1-й Российской конференции с международным участием "Проблемы электромагнитной безопасности человека" (Москва, ноябрь 1996); региональной конференции "Механизмы адаптации организмов" (Томск, декабрь 1996); международном симпозиуме "Фундаментальные науки и альтернативная медицина" (Пушино, сентябрь 1997); региональной конференции, посвящённой памяти Ю.А. Львова (Томск, февраль 1998); 1-й региональной конференции "Проблемы региональной экологии" (Томск, ноябрь 1998); 2-й Международной конференции "Проблемы электромагнитной безопасности человека" (Москва, сентябрь 1999); научной конференции Сибири и Дальнего Востока, посвящённой 150-летию академика И.П. Павлова (Томск, ноябрь 1999); международной конференции "Экология и рациональное природопользование на рубеже веков" (Томск, март 2000); International Conference "Euro Electromagnetics 2000" (Edinburg, May-June 2000); 2-м международном конгрессе "Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине" (Санкт-Петербург, июль 2000); 1-st International Congress on Radiation Physics, High Current Electronics and Modification of Materials (Tomsk, September, 2000); 5-th Korea – Russia International Symposium on Science and Technology «KORUS 2001» (Tomsk, June, 2001); Всероссийской конференции "Физиология организмов в нормальном и экстремальном состояниях" (Томск, декабрь, 2001).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 40 работ, из которых 22 в центральных и реферируемых изданиях.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 319 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, четырёх

глав собственных результатов экспериментальных исследований с их обсуждением, заключения, выводов и списка литературы, включающего 406 источников, в том числе 131 иностранных. Работа иллюстрирована 46 рисунками и 14 таблицами.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Методы и объекты исследования. Условия проведения экспериментов (Гл.2). При исследовании влияния ЭМИ на мембраны в работе использовались бислоиные фосфолипидные мембраны (БЛМ), которые формировались по общепринятой методике (R. Mueller et al., 1963). БЛМ модифицировались аламетицином, нистатином, амфотерицином Б и валиномицином в концентрациях 0,1 - 2 мкг/мл. Проводимость мембраны измерялась в режиме фиксации потенциала по общепринятой методике, модифицированной Алексеевым с соавт. (1978). Облучение БЛМ осуществлялось в полосковой линии, рассчитанной на диапазон частот 0 - 1500 МГц. Источником ЭМИ служил лабораторный генератор, выполненный на базе ГСС-12, работающий в диапазоне 200 - 900 МГц. Интенсивность излучения оценивалась по удельной поглощённой мощности (УПМ), рассчитывавшейся общепринятым способом (С.И.Алексеев с соавт., 1978; К.М. Уилл и Дж.Б. Кинн, 1983; Р.Э. Тигранян, 1985) на основе измеряемого повышения температуры. Было проведено около 1000 воздействий ЭМИ длительностью 5-10 секунд и оценено изменение проводимости около 300 БЛМ.

Влияние ЭМИ на трансмембранные токи сомы диализированных нейронов прудовика изучался в режиме фиксации напряжения на мембране по методике, модифицированной к условиям электромагнитного воздействия (С.И. Алексеев с соавт., 1986). Измерение токов осуществлялось с помощью прибора «Dagan-8500». Облучение мембран диализированных клеток проводилось в прямоугольном волноводе сечением 30×240 мм. Источником ЭМИ служил лабораторный генератор на базе LMS-551В с частотой 915 МГц, который обеспечивал воздействие на нейроны с УПМ до 20 Вт/кг.

Влияние ЭМИ на ЭА нейронов исследовалось на нейронах мозга пресноводного моллюска Большого прудовика *Lymnaea stagnalis*. Препараты ЦНС готовились общепринятым способом (О.М. Жерелова, 1971; А.Н. Кислов, 1981). Клетки идентифицировались в соответствии с О.М. Жереловой (1971) и Л.С. Бочаровой (1975). Облучение ЦНС прудовика осуществлялось аналогично облучению диализированных клеток. В экспериментах с чисто тепловым действием ЭМИ КВЧ на частоте 75 ГГц и УПМ 600-4200, источником ЭМИ служил генератор Г4-142 (СССР), генерирующий излучение в диапазоне 53-75 ГГц с выходной мощностью более 10 мВт. Облучение

осуществлялось из торца волновода поперечным сечением 1,8×3,6 мм, который был помещён в ячейку с нервным кольцом в физиологическом растворе. ЭА нейронов регистрировалась с помощью предусилителя «Dagan-8500». В экспериментах с нейронами использовались стандартные физиологические растворы для прудовика (О.М. Жерелова, 1971; С.И. Алексеев с соавт., 1986). В работе использовано свыше 350 нервных клеток в составе ганглия или в изолированном виде, на которых проведено около 1100 различных воздействий.

При исследовании влияния импульсного ЭМИ 10 ГГц на клеточное деление использовались культуры кишечной палочки (*E. coli*, музейный штамм В-2956), плесневого грибка (*Fusarium sp.* из коллекции НИИ ББ при ТГУ) и опухолевых клеток мастоцитомы Р 815. Использовались стандартные методики культивирования и тестирования (Методы общей бактериологии, Т.1, 1983; Методы экспериментальной микологии, 1982). Клетки мастоцитомы Р-815 поддерживались в асцитной форме на мышах линии DBA/2j. Уровень синтеза РНК и ДНК в облучённых опухолевых клетках определялся по включению H^3 -уридина и H^3 -тимидина (по 1мкКи, "Изотоп", Москва).

При исследовании влияния ЭМИ на развивающийся организм использовались мухи *Drosophila melanogaster* линии Canton S из коллекции ИЦиГ СО РАН. Время развития (возраст) отсчитывалось от начала кладки и определялось с точностью до 1 часа или до 10 минут. Нарушение развития дрозофил оценивалось по величине процента прерванного развития (ППР), а так же по наличию морфозов и других нарушений развития. ППР рассчитывался как процент не вылетевших имаго. В работе использовались 3 группы объектов: 1) облучённые, 2) "ложно облучённые", т.е. подвергавшихся воздействию всех процедур кроме самого облучения и 3) контрольные, которые постоянно содержались в термостатируемых условиях при 24,5°C. Влияние на ППР оценивалось по t-критерию с использованием ф-преобразования Фишера (J.H. Pollard, 1977; Е.В. Гублер, 1978).

В опытах с низкоинтенсивным ЭМИ 460 МГц эмбрионы, личинки и куколки дрозофил подвергались немодулированному или модулированному (частоты модуляции 2,5-40 Гц) воздействию (1 – 180 минут) с помощью терапевтического аппарата "Ромашка" при УПМ от 0,12 до 6 Вт/кг. В экспериментах с повышенной температурой эмбрионы, личинки и куколки подвергались одно- или многократному 5-минутному воздействию при температурах от 30° до 60°C с шагом в 5°C. Эффекты одно- или многократного 5-минутного воздействия мощного СВЧ-излучения с импульсами субмикросекундной и наносекундной длительности на развивающийся организм дрозофил изучались с помощью сильноточного импульсно-периодического ускорителя «Sinus-500» (Институте сильноточной электроники СО РАН, г.Томск) и импульсного магнетронного генератора «МИ-505»

(СССР). «Sinus-500» обеспечивал режим генерации мощных микроволновых (10 ГГц) импульсов длительностью 10 нс с частотой повторения от 3 до 28 Гц и УПМ от 1 до 15,7 Вт/кг. Импульсная мощность составляла до 500 МВт, напряжённость электрического поля $1,5 \times 10^4$ В/см, уровень рентгеновского излучения от 2,7 до $25,2 \times 10^{-3}$ Рад за 5 минут воздействия. Не импульсное рентгеновское воздействие на дрозофил при тех же самых значениях поглощённых доз осуществлялось с помощью установки «РУМ-17» (СССР). «МИ – 505» с импульсной мощностью 40 кВт (напряжённость электрического поля $1,5 \times 10^3$ В/см) обеспечивал воздействие микроволновыми (10 ГГц) импульсами длительностью 730 нс с частотой повторения от 3 до 28 Гц и УПМ в пределах от 24 до 122 Вт/кг.

В диссертации использованы результаты 14 серий экспериментов с более чем 120 вариантами их проведения. Общее количество проанализированных организмов дрозофилы от кладки до вылета имаго составило более 280 тысяч.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Действие ЭМИ дециметрового диапазона на биологические мембраны и их модели: изменение проводимости БЛМ и ионные токи диализированных нейронов моллюска (гл.3) При действии ЭМИ во всём диапазоне использованных частот 275-820 МГц, на всех типах БЛМ, модифицированных разными агентами и для всех типов ионов характерен эффект обратимого изменения проводимости мембран. Снижение проводимости БЛМ, модифицированных аламетицином, под воздействием ЭМИ низких частот, составляло в среднем $0,9 \times 10^{-8}$ Ом⁻¹, что соответствовало ~ 10% от уровня исходной проводимости. Воздействие ЭМИ высоких частот (из использованных) снижало проводимость мембран в среднем на $0,7 \times 10^{-7}$ Ом⁻¹, что составляло порядка 80% от исходного уровня. Кривые зависимости "нормированный эффект - частота" были качественно единообразны, нормированный эффект увеличивался по мере уменьшения частоты, независимо от типа иона-переносчика тока (рис.1, слева, вверху). Для БЛМ, модифицированных амфотерицином Б, величина эффекта воздействия составляла $0,01 \times 10^{-7}$ Ом⁻¹ (~ 3% от исходного уровня) на низких частотах и достигала $0,09 \times 10^{-7}$ Ом⁻¹ (~25% от проводимости без поля) в области высоких частот. Изменение проводимости БЛМ, модифицированных нистатином, так же зависело от частоты ЭМИ. Величина изменения при действии ЭМИ низких частот составляла ~ $0,09 \times 10^{-7}$ Ом⁻¹ (~20%) и около $0,45 \times 10^{-7}$ Ом⁻¹ (50-70% от исходного уровня) на высоких частотах. При облучении ЭМИ БЛМ, модифицированных валиномицином, наблюдалось увеличение проводимости мембран так же во всём диапазоне частот.

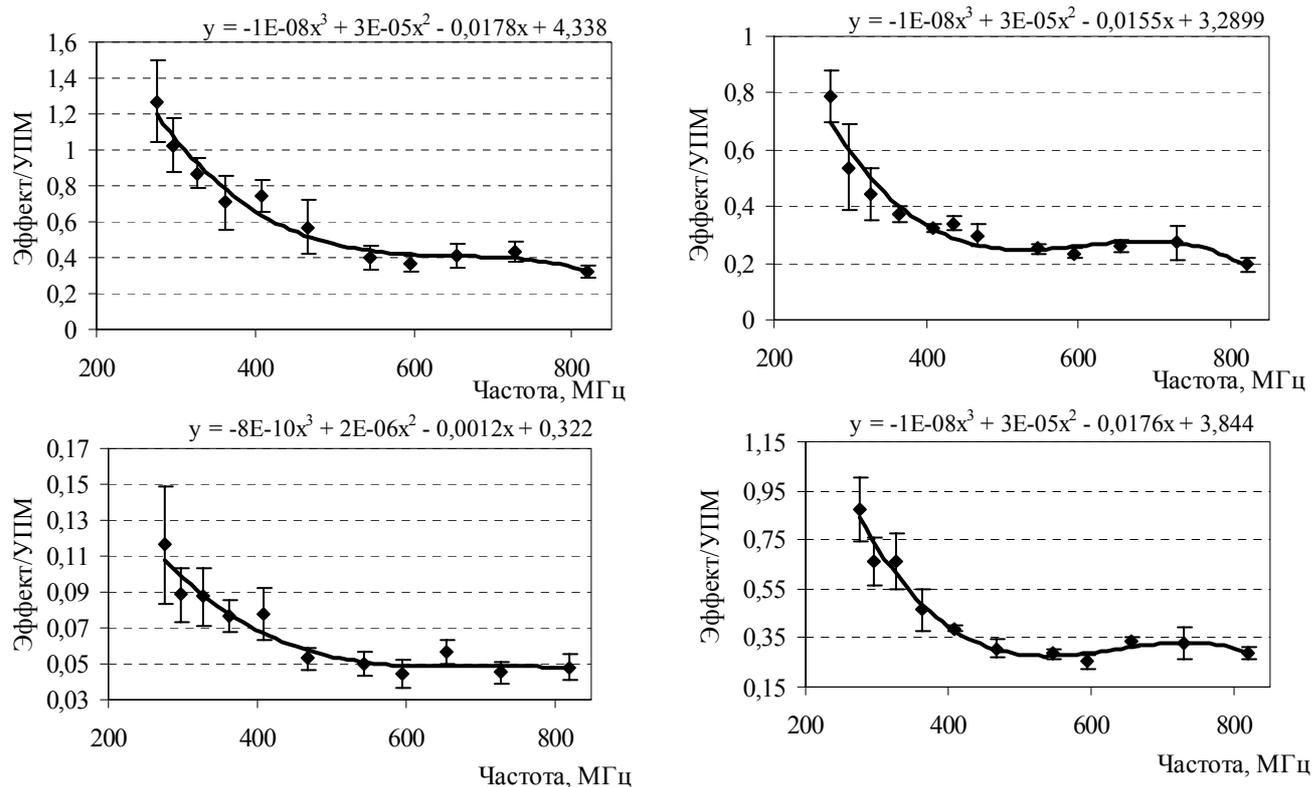


Рис.1. Зависимость изменения проводимости БЛМ, модифицированных аламетицином и амфотерицином Б (вверху), а так же нистатином и валиномицином (внизу) от частоты действующего ЭМИ.

Величина изменения составляла $0,03 \times 10^{-7} \text{ Ом}^{-1}$ ($\sim 2-3\%$) в области низких частот $0,9 \times 10^{-7} \text{ Ом}^{-1}$ (до 100%) при действии высокими частотами. Графики частотной зависимости "нормированный эффект - частота" для БЛМ, модифицированных аламетицином, амфотерицином-Б, нистатином и валиномицином (рис.1,) имеют одинаковый вид. Поскольку монотонная зависимость нормированного эффекта от частоты аналогична для всех случаев, то, следовательно, воздействие реализуется по общей схеме, при которой величина нормированного эффекта возрастает с уменьшением частоты ЭМИ. Ранее для ЭМИ 900 МГц (С.И. Алексеев с соавт., 1978, 1979, 1982) и для ЭМИ 820 МГц (О.В. Коломыткин с соавт., 1978) было показано, что эффект облучения модифицированных БЛМ обусловлен локальными перегревами мембраны и примембранных областей электролита. То есть природа эффекта имеет сугубо тепловой характер, но локальный по реализации. Полученная в работе частотная зависимость может быть объяснена с учётом данных моделирования, проведенных В.В Тяжеловым с соавт.(1983). Взаимодействие ЭМИ с гетерогенными по электрическим характеристикам структурами типа диэлектрических перегородок с отверстиями в растворе электролита приводит к тому,

что в таких структурах распределение полей неравномерное. Поэтому на БЛМ, во время облучения происходит концентрация поля и, соответственно, локальная УПМ существенно (на 3-4 порядка) может превосходить величину УПМ во всём объёме. Величина же локальной УПМ, определяющей величину эффекта, зависит от частоты облучающего поля. В диапазоне от нескольких ГГц до ~ 100 МГц она увеличивается от высоких частот к низким, поэтому эффект должен быть приблизительно обратно пропорционален частоте, что и получено в настоящей работе. Следовательно, можно утверждать, что изменения проводимости БЛМ, модифицированных разными агентами, индуцированные ЭМИ 275-820 МГц, обусловлены именно локальными перегревами БЛМ вследствие концентрации поля в отверстии тефлонового стаканчика, на котором формируется БЛМ. То есть, механизм влияния ЭМИ на БЛМ имеет тепловую природу, а значимое нетепловое влияние отсутствует.

Возможность нетеплового влияния радиочастотного ЭМИ на клеточные мембраны исследовалась в следующей серии опытов, в которой изучалось действие импульсно модулированного ЭМИ (ИМ ЭМИ) с частотой модуляции 16 Гц (скважность 5 и 25) при значениях средней УПМ 0,5 – 18 Вт/кг. Облучались диализированные нейроны прудовика, у которых в режиме фиксации потенциала регистрировались ионные токи: быстрый калиевый ток и токи, индуцированные нейротрансммиттерами: АХ, ДА, 5-НТ и ГАМК. Эксперименты проводились в двух вариантах: 1) при выключенном протоке физиологического раствора; 2) при включённом протоке, обеспечивавшем эффективный теплоотвод и, соответственно, эффективную термостабилизацию.

В экспериментах с протоком физраствора 10-минутное облучение ИМ ЭМИ вне зависимости от УПМ не приводило (с точностью $\pm 5\%$, что в пределах фоновых колебаний), к изменению величины пиковых значений быстрого калиевого тока. При отключенном протоке во время облучения ток увеличивался. Его прирост был пропорционален УПМ и составлял $13 \pm 4\%$ для 10 Вт/кг и $25 \pm 2\%$ для 18 Вт/кг. Включение протока во время облучения всегда сопровождалось уменьшением тока до исходной величины. Это указывало на электромагнитный нагрев как на причину увеличения быстрого калиевого тока. Следовательно, данный тип тока в формировании нетепловых эффектов изменения ЭА нейронов участия не принимает.

Исследование нетеплового действие ИМ ЭМИ на токи, индуцированные нейротрансммиттерами, проведено при включенном протоке физиологического раствора. Токи записывались 1 – 3 раза перед облучением, 1- 3 раза во время 10-20-минутного воздействия и 1 – 3 раза после прекращения облучения. В проведенных экспериментах воздействие ИМ ЭМИ вызывало лишь слабое, не

значимое изменение величины токов, что в среднем не превышало фоновых колебаний (табл.1).

Таблица 1

Влияние ЭМИ, импульсно модулированного частотой 16 Гц (скважность 5 или 25) на токи, индуцированные нейротрансмиттерами в соме диализированных нейронов прудовика. Представлены усредненные изменения токов в % к контролю и ошибки средних значений, n - количество опытов

Средняя УПМ		Изменение токов при облучении, %			Изменение токов в контроле, %
		0,5 Вт/кг	2 Вт/кг	4 Вт/кг	
Тип медиатора	ДА	8 ± 2 n = 7	7 ± 4 n = 6	3 ± 2 n = 4	± 7 n=17
	АХ	0 ± 1 n = 6	-2 ± 2 n = 6	Не исследовалось	± 5 n = 12
	ГАМК	Не исследовалось	0 n = 5	0 n = 5	± 2 n = 10
	5 - НТ	Не исследовалось	0 ± 7 n = 5	0 ± 4 n = 5	± 5 n=10

Данные указывают на отсутствие нетеплового влияния ИМ ЭМИ на токи, индуцируемые в соме нейронов нейротрансмиттерами. Следовательно, ИМ ЭМИ прямо не влияет на проводимость ионных каналов, опосредуемых рецепторами. Это согласуется с данными об отсутствии прямого влияния ИМ ЭМИ на кальциевые каналы (С.И. Алексеев с соавт.,1986) и данными об отсутствии нетеплового влияния на каналы быстрого калиевого тока. Кроме того, это соответствует результатам, полученным в опытах на БЛМ, в которых было показано только тепловое действие радиочастотного ЭМИ. Это даёт основание полагать, что в формировании эффектов нетепловой природы, в том числе в ответ на импульсно модулированное воздействие, прямое участие каналов проводимости мембран можно исключить. По-видимому, эффекты воздействия низкоинтенсивных модулированных ЭМИ (W.R. Adey, 1981,1993; Ю.Г. Григорьев, 1999,2000) формируются по другой схеме влияния. В случае воздействия на нервные клетки более вероятно, что ЭМИ влияет на неравновесные мембранно-клеточные процессы, в результате чего меняется возбудимость нейронов и, соответственно, меняется режим их функционирования, в том числе и характер электрической активности, что и регистрируется как биологический эффект

облучения. Данный вопрос исследовался в следующем разделе работы.

Реализация эффектов ЭМИ на клеточном уровне. Динамические реакции нейронов моллюска на воздействие радиочастотного ЭМИ. Влияние мощных микроволновых импульсов на деление клеток (Гл.4). Идентифицированные нейроны БП-4 из ЦНС прудовика, у которых регистрировалась ЭА, облучались в течение 5 минут немодулированным ЭМИ 915 МГц с УПМ 2 Вт/кг и 10 Вт/кг. Во время облучения с УПМ 10 Вт/кг в записях ЭА в 71% случаев (n=22) наблюдалось появление более продолжительных межимпульсных интервалов и уменьшение текущей частоты - количества потенциалов действия за 30 секунд - N_{30} (рис.2). Средняя величина уменьшения N_{30} незначительно превышала естественный разброс и составляла на 1 – 3 минутах воздействия 15% от исходного уровня. Изменение ЭА значимо отличалось по критерию Стьюдента после 30, 180 и 240 минут облучения, а по ранговому критерию Уилкоксона отличие было достоверно ($p \leq 0,05$) в течение

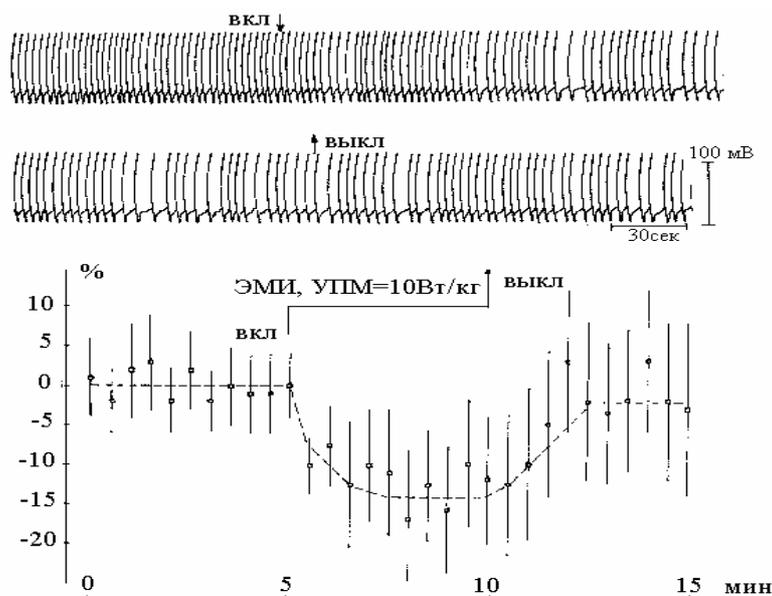


Рис. 2. Влияние немодулированного ЭМИ 915 МГц на ЭА нейрона БП-4

всего периода воздействия. Это свидетельствует о статистически значимом влиянии, оказываемом ЭМИ с УПМ 10 Вт/кг на функционирование нейрона. При облучении нейронов ЭМИ с УПМ 2 Вт/кг (n=9) ни в одном из проведенных экспериментов не было отмечено изменений ЭА, значимо превышавших фоновые колебания, что указывало на отсутствие влияния

ЭМИ данной интенсивности на функционирование нейронов БП-4.

Для идентификации эффекта ЭМИ по типу теплового или нетеплового механизма влияния необходимо его сопоставление с реакциями объекта на нагрев. С этой целью на 63 нейронах БП-4 изучалось изменение ЭА при различных температурных воздействиях. Выяснилось, что данные нейроны обладают «динамической» и «стационарной» реакциями, по терминологии Карпентера (D.O. Carpenter, 1968; 1974). При стационарном повышении температуры с 18°C до 22°-24°C в 91% случаев число ПД за 1 минуту увеличивалось в 1,5-3 раза относительно исходной температуры и с дальнейшим

нагревом ЭА тормозилась до полного прекращения генерации ПД. Напротив, в условиях быстрого нагрева (1° за 5-10 секунд) в 24 проведенных опытах на 15 нейронах всегда наблюдалось торможение ЭА. Эффект быстрого нагрева – динамическая реакция - был обратим, но уровень ЭА после снижения температуры до исходного уровня оказывался выше фоновых значений. Добавление уабаина (50 мкМ/л) в физиологический раствор практически полностью снимало эффект быстрого нагрева полностью исчезал. Реакции на стационарный

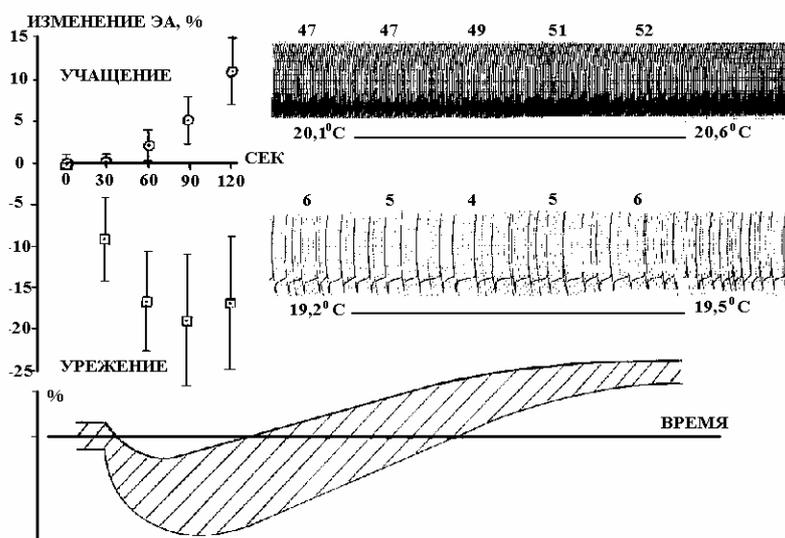


Рис. 3. Моделирование эффектов ЭМИ с помощью обычного нагрева. Верхний график – усреднённая по 6 записям реакция клеток на нагрев со скоростью 0,004 – 0,007 град/сек на фоне уабаина. График по середине – усредненная реакция клеток на нагрев со скоростью 0,002 – 0,003 град/сек в нормальном физрастворе.

нагрев на фоне уабаина были аналогичны таковым без ингибитора, но абсолютные значения частот генерации ПД были больше. Таким образом, полная реакция нейронов на повышение температуры представляет фазное (торможение – усиление) изменение ЭА (рис.3). Торможение ЭА обусловлено быстрой активацией Na,K, зависимой АТФазы мембраны, а усиление – более медленным изменением

пассивных проницаемостей мембраны для Na^+ и K^+ , после чего мембрана деполяризуется (A.L.F. Gorman et al., 1970; J.A. Willis et al., 1984; D.O. Carpenter, 1981).

Знакопеременный характер реагирования нейронов делал необходимым установления зависимости изменения ЭА от скорости нагрева – прямого аналога УПМ применительно к условиям воздействия ЭМИ. Для этого были и проанализированы динамические реакции у 32 клеток на нагрев с различными скоростями. Оказалось, что ЭА изменяется пропорционально скорости роста температуры. Сопоставление «динамических» температурных реакций с эффектами ЭМИ показывает, что усреднённая реакция нейронов на нагрев со скоростями 0,002 – 0,003 град./сек. аналогична усреднённому эффекту ЭМИ интенсивностью 10 Вт/кг, при котором рост температуры в облучаемом объекте происходит со скоростью 0,002 град./сек. Это явно в пользу теплового механизма формирования

эффекта изменения ЭА под воздействием ЭМИ. Подтверждением является отсутствие изменения ЭА при облучении ЭМИ на фоне убаина, когда заингибирована система активного переноса ионов – Na,K- зависимая АТФаза, играющая главную роль в формировании «динамической» реакции на нагрев (A.L.F. Gorman, M.E. Marmor, 1970; D.O. Carpenter, 1981).

Тепловое действие ЭМИ на ЭА нейронов было подтверждено с опытом действием ЭМИ КВЧ 75 ГГц при высоких уровнях УПМ (600 – 4200 Вт/кг). После 20 секунд облучения температура физиологического раствора возле исследуемой клетки повышалась на 0,3° – 2,0°С и это обеспечивало запуск теплового механизма влияния. В ответ наблюдалось торможение ЭА нейронов (n=15), которое затем сменялось активацией с повышением частоты генерации ПД. Усреднённые эффекты воздействия ЭМИ КВЧ (и первая фаза – торможение ЭА, и вторая – активация) по величине были пропорциональны УПМ. То есть, общая картина реагирования полностью соответствовала тому, что наблюдалось в опытах с повышенной температурой и с действием немодулированного ЭМИ 915 МГц.

Из литературы (W.R. Adey, 1980,1981,1993) известно, что амплитудно модулированное ЭМИ может оказывать действие на нервную ткань при меньших интенсивностях, нежели немодулированное. Представлялось полезным исследовать влияние радиочастотного ЭМИ с другим режимом модуляции, а именно, импульсно модулированного (ИМ ЭМИ). Поэтому изучалось влияние ЭМИ 915 МГц, импульсно модулированного частотами 0,5; 2,5; 6; 16; 40 и 100 Гц (скважность 25) при значениях средней УПМ 0,5; 2 и 4 Вт/кг на ЭА нейронов моллюска.

В ответ на 5-10-минутное воздействие ИМ ЭМИ нейроны реагируют изменением частоты ЭА. Облучение ЭМИ, модулированным частотами в полосе 0,5 – 16 Гц при средней УПМ 0,5 Вт/кг инициировало преходящее уменьшение частоты ПД до 40% от исходного значения. При частотах модуляции 40 и 100 Гц воздействие было не эффективным. Более интенсивное воздействие (средняя УПМ 2 и 4 Вт/кг) при использованных частотах модуляции способствовало временному усилению ЭА, которое по величине не превышало 40% от исходного уровня. Изменения ЭА носили фазный характер (при облучении с УПМ 0,5 Вт/кг торможение ЭА могло сопровождаться её усилением, а в случаях более интенсивного воздействия временное усиление ЭА могло сменяться торможением).

В отдельной серии экспериментов в режиме биологической обратной связи изучалось фазированное воздействие импульсного ЭМИ на нейроны, когда импульсы ЭМИ подавались синхронно с ПД в различные фазы его протекания: синхронно с ПД на уровне порога генерации или синхронно с ПД в момент максимальной

гиперполяризации мембраны либо не синхронно с ПД, но с частотой, равной средней частоте ПД в фоновых записях. Использовались импульсы длительностью 2,5 и 10 мсек с импульсной УПМ от 6 до 400 Вт/кг (средняя УПМ варьировала в широких пределах в зависимости от частоты генерации ПД). Были проведены опыты с более чем 250-ю 5-минутными воздействиями, в которых было установлено, что воздействие влияет на функционирование нейрона. В 18% случаев наблюдалось преходящее усиление спонтанной активности, в 51% случаев – преходящее торможение и в 31% случаев воздействие оказалось не эффективным.

Помимо рассмотренных выше эффектов изменения ЭА наблюдался ещё один тип реагирования – «вспышечный», который заключался во внезапном, кратковременном (5 – 10 секунд) усилении регулярной ЭА при облучении (рис.4). В клетках, в которых такой тип активности исходно присутствовал, воздействие ЭМИ в 2 –3 раза увеличивало вероятность появления «вспышек». Данный эффект инициировался только ИМ ЭМИ независимо от режима модуляции при значениях импульсной УПМ 6 Вт/кг и выше.

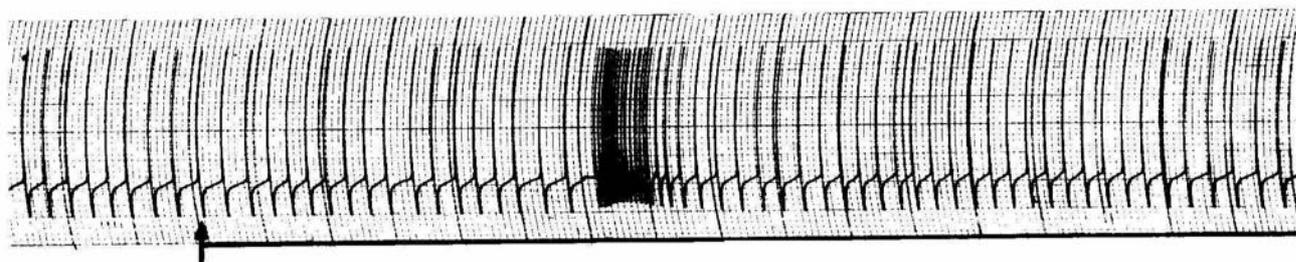


Рис. 4. Реакция типа «вспышка» на ИМ ЭМИ.
Стрелка – момент начала воздействия.

Анализируя изменения ЭА, индуцированные ИМ ЭМИ, можно отметить, что они зависят от частоты модуляции и УПМ, что позволяет проводить аналогию с эффектами Эйди (W.R. Adey, 1981,1993) и допустить наличие аналогичного нетеплового Ca^{2+} -зависимого механизма влияния, особенно для объяснения эффектов влияния ЭМИ малой интенсивности 0,5 Вт/кг. Тем не менее, нельзя априори исключить наличие и теплового механизма влияния, хотя против тривиального теплового влияния 30% - 40%-ые по величине эффекты торможения ЭА в ответ на ИМ ЭМИ с УПМ, в 20 раз меньше, нежели у немодулированного. Возможно, что в формировании эффектов ИМ ЭМИ определяющую роль играет импульсная мощность излучения. В таком случае энергия электромагнитного импульса преобразуется в энергию теплового импульса и влияние оказывается с помощью тепловых толчков. Скорость нагрева во время поглощения энергии импульса ЭМИ должно быть большой скоростью и, при регулярном следовании импульсов, воздействие должно способствовать

реализации такого своеобразного теплового механизма. Нельзя исключить, что ИМ ЭМИ оказывает влияние по обеим рассмотренным схемам одновременно, но при малых интенсивностях работает нетепловой механизм влияния, а при больших – определяющим становится тепловой.

Эффект типа «вспышка» с большой долей вероятности имеет нетепловую природу, поскольку он не характерен при воздействиях повышенной температурой. Одной из возможных причин появления «вспышек» может быть влияние на нейротрансмиттерную систему. Допустимо и другое истолкование эффекта «вспышек». По мнению А.М. Гутмана (1984), нейроны, имеющие дендриты с N-образной вольтамперной характеристикой, могут пребывать в состоянии, именуемом «устойчивая деполяризация» (УД). «Вспышка» может быть индикатором нахождения нейрона в состоянии УД, переход в которое инициирован воздействием ИМ ЭМИ.

Может ли ЭМИ оказывать влияние на более медленные, по сравнению с ЭА, клеточные процессы, в частности, на клеточное деление? Данный аспект исследовался на культурах клеток: *E. coli*, плесневого грибка *Fusarium* и опухолевых клеток мастоцитомы Р 815. В качестве воздействующего фактора использовалось мощное импульсное излучение с частотой 10 ГГц..

Культура *E. coli* подвергалась 5 и 15 минутным воздействиям мощных СВЧ-импульсов наносекундной длительности, генерируемых "Синус-500" с частотами следования импульсов 6 Гц, 22 Гц и 100 Гц. В опытах не было обнаружено статистически значимых изменений скорости роста облучённых культур в сравнении с "ложно облучёнными" при всех указанных частотах повторения импульсов. Усреднённые значения скорости "ложно облучённых" клеток составили $\mu(\text{ло}) = 0,78 \text{ час}^{-1} \pm 0,04 \text{ час}^{-1}$, у облучённых $\mu(\text{экс}) = 0,80 \text{ час}^{-1} \pm 0,035 \text{ час}^{-1}$. Грибки фузариум подвергались 5-минутному воздействию излучения установки "Синус-500" с частотой следования импульсов 6 Гц, 16 Гц и 22 Гц. При всех использованных режимах воздействия происходило торможение роста гифов. В "ложно облучённых" культурах средняя измеренная скорость составила $0,338 \pm 0,55 \text{ мм/ч}$, после воздействия с разными частотами следования импульсов, усреднённая скорость составила $0,242 \pm 0,33 \text{ мм/ч}$. Т.е., микроволновое воздействие приблизительно на 28% тормозило скорость роста плесени. В последствии была замечена тенденция к ускорению роста тех колоний, которые подвергались облучению. По прошествии 6-12 часов после воздействия размеры колоний облучённых и не облучённых становились идентичными. Обнаруженный эффект торможения скорости роста гифов под действием излучения воспроизводился нагревом, но для этого колонии необходимо было перегреть на 20 - 25°C относительно

исходной температуры, хотя за счёт поглощения энергии СВЧ-излучения нагрев среды не превышал 0,1 - 0,3°C. Полученные результаты позволяют предположить, что торможение роста гифов фузариум, по-видимому, может быть обусловлено не нагревом, а прямым влиянием сильного электрического поля на свободные заряды участков ДНК. Это затрудняет протекание процессов клеточного деления и, соответственно, снижает скорость. В период после воздействия эффект влияния постепенно устраняется и скорость деления нормализуется.

Поскольку результаты предыдущих опытов свидетельствовали, что к формированию эффекта могут иметь отношение нуклеиновые кислоты, было исследовано влияние данного фактора на синтез РНК и ДНК в опухолевых клетках мастоцитомы Р-815. Процессы оценивались по скорости включения изотопных меток H^3 -уридина и H^3 -тимидина клетками. Оказалось, что 5-минутное воздействие мощными СВЧ-импульсами, генерируемыми МИ-505, оказывает влияние на оба процесса. При этом эффект зависит от частоты повторения импульсов. В клетках, облучённых с частотами повторения импульсов 10, 13 и 16 Гц общий уровень синтеза РНК значительно снижается ($p \leq 0,05$) по сравнению с данным показателем в ложно облучённой культуре.

На этих же частотах у облучённых клеток опухоли наблюдалось значительное снижение общего уровня синтеза ДНК

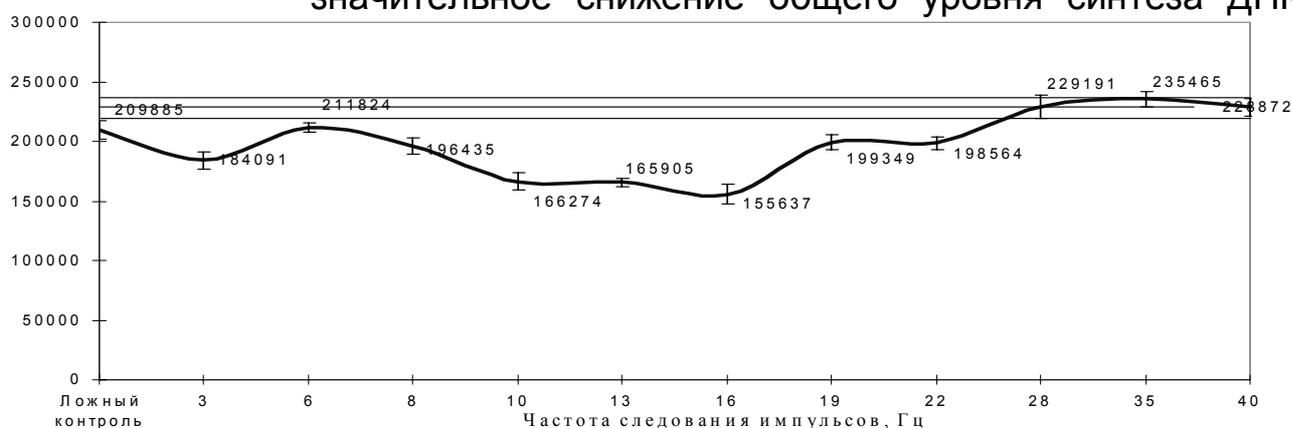


Рис. 5. Влияние мощного СВЧ – излучения на общий уровень синтеза ДНК в культуре опухолевых клетках мастоцитомы Р-815. Прямые линии - показатель ложного облучения

(рис.5), что, по-видимому, может быть обусловлено торможением клеток в S фазе клеточного цикла и/или замедлением вступления клеток в синтетическую фазу. Частотно зависимые изменения синтеза ДНК после облучения носят условно наследуемый характер. Это выяснилось после оценки уровня синтеза ДНК у первых и вторых потомков облучённых клеток. Как оказалось, общий уровень синтеза ДНК в них также зависит от частоты повторения импульсов, хотя сами они воздействию не подвергались.

То есть, изменения синтеза ДНК, обусловленное импульсным электромагнитным воздействием, сохраняются в ряду поколений. Значит, в системе синтеза ДНК облученных предшественников произошли какие-то изменения, которые унаследовались потомками. Характер частотной зависимости уровня синтеза ДНК в последующих после облучения генерациях клеток мастоцитомы Р-815 значительно отличается от исходного. У облученных клеток на частоте 10-16 Гц наблюдалось снижение уровня синтеза ДНК (рис.5.), а у их потомков (1-ой и 2-ой генерации) наоборот, на 10-22 Гц наблюдается значительная стимуляция синтеза ДНК, что указывает на увеличение скорости пролиферации этих клеток. полученные результаты подтверждают возможность влияния мощных СВЧ-импульсов на ДНК и РНК.

Действие ЭМИ на измененном уровне. Сравнительное исследование воздействий радиочастотного ЭМИ и повышенной температуры на индивидуальное развитие дрозофилы (Гл.5). В стартовых экспериментах облучению ЭМИ 460 МГц подвергались эмбрионы возрастов 4-5 часов и 13-14 часов в течение 1, 3, 5 минут и 3 часов при УПМ 1, 3 и 5 Вт/кг. Воздействие ЭМИ значимо, в 2-3 раза изменяет процент морфозов у имаго по сравнению с контрольными и "ложно облученными" группами. Наиболее характерными морфозами были различные дефекты ног и крыльев у имаго независимо от пола мух и изменения в половом аппарате у самцов. Эффект зависел от возраста эмбрионов на момент воздействия, длительности облучения и УПМ. 5-минутное и 3-часовое облучение эмбрионов возраста 13-14 часов значимо ($p < 0,01$) увеличивало процент имаго с измененной формой конечностей с $0,26 \pm 0,05$ в контроле ($0,3 \pm 0,05$ у "ложно облученных") до $0,60 \pm 0,14$ и $0,80 \pm 0,16$ в опыте. Воздействие ЭМИ в течение 1 минуты было не

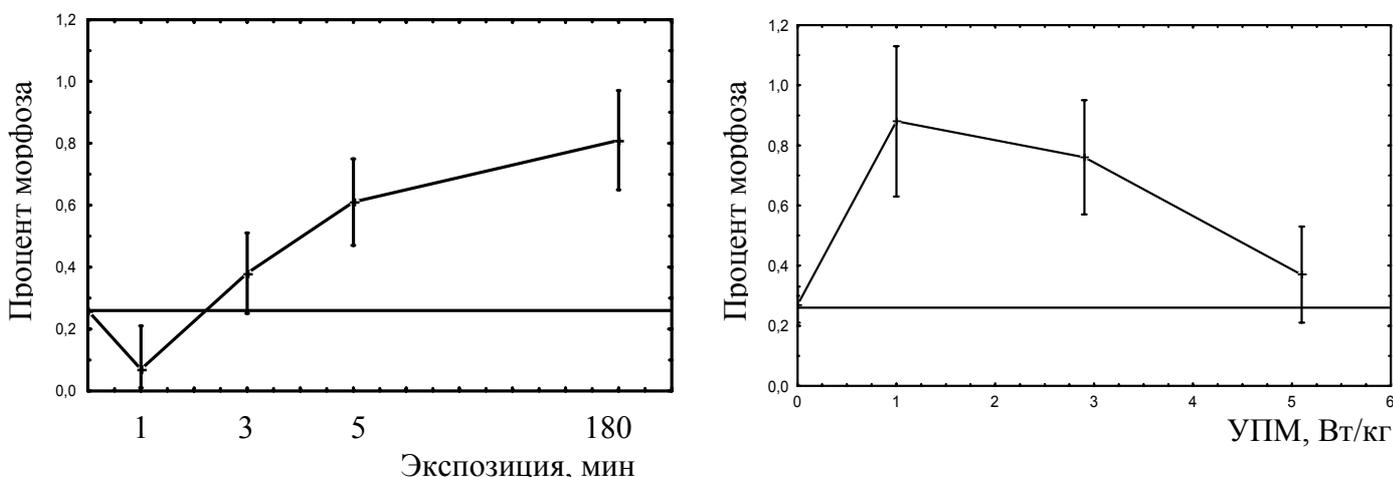


Рис. 6 Влияние ЭМИ 460 МГц на морфогенез дрозофил. Показана зависимость эффектов воздействия с УПМ 5 Вт/кг на эмбрионов 13-14 часов (морфозы ног) и зависимость эффекта от УПМ.

эффективным. Увеличение дефектов ног оказалось больше после облучения с УПМ 1 и 3 Вт/кг и существенно меньше после воздействия с УПМ 5 Вт/кг (рис.6). Количество крыловых морфозов в результате действия ЭМИ на 13-14 часовые эмбрионы достоверно не увеличивалось.

После облучения эмбрионов в возрасте 3-4 часов было отмечено неоднозначное изменение числа морфозов ног и крыльев. 1-, 3- и 5-минутные

экспозиции уменьшали число наблюдаемых морфозов крыльев (максимальный эффект после 5 минут воздействия - $0,26 \pm 0,08\%$ против $2,66 \pm 0,07\%$ в контроле и $0,7 \pm 0,09\%$ в «ложно облучённых» группах). После 3-часового воздействия процент обнаруженных морфозов увеличился до $0,83 \pm 0,07\%$. Изменения в количестве морфозов ног имели аналогичный характер, но были выражены в меньшей степени. Наибольшее количество изменений полового аппарата наблюдалось у эмбрионов, облученных в возрасте 4-5 часов: $0,195 \pm 0,05\%$ (в контроле $0,057 \pm 0,021\%$, у "ложно облучённых" $0,072 \pm 0,018\%$, $p < 0,001$). Эта же закономерность, но в меньшей степени, проявилась после облучения эмбрионов 13-14 часового возраста ($0,164 \pm 0,07\%$ по сравнению с контролем $0,05 \pm 0,15\%$ и "ложным облучением" $0,061 \pm 0,2\%$, $p < 0,05$).

Для проверки тепловой модели действия ЭМИ на эмбрионы были проведены проверочные эксперименты. Эмбрионы дрозофил использованных возрастов на 5 минут помещались в термостат и подвергались воздействию повышенной температуры 27 и 34°C. Нагрев 4-5 часовых эмбрионов до 27°C достоверно ($p < 0,05$) уменьшал процент крыловых морфозов на 0,33% по сравнению с контролем, а нагрев до 34°C не значимо (0,05%) увеличивал их количество. Морфозы ног отсутствовали. При нагревании эмбрионов 13-14 часового возраста обнаруживались в основном морфозы ног, а именно, нагрев до 34° значимо ($p < 0,05$) на 0,2% увеличивал долю подобных морфозов. Вполне очевидно, что эффекты действия ЭМИ и тепла качественно аналогичны, но количественно они разнятся из-за большей выраженности эффектов ЭМИ. Это позволяет предполагать в качестве предпочтительного варианта механизма влияния ЭМИ возможность локальных перегревов эмбрионов, сопровождающихся нарушением развития. Множественность вариантов морфозов затрудняла оценивание эффектов влияния, поэтому в дальнейших исследованиях в качестве индикатора влияния использовалась величина процента прерванного развития (ППР).

Эксперименты с 5-минутным воздействием ЭМИ 460 МГц при УПМ 0,6 и 6 Вт/кг на эмбрионы возраста 1, 5 и 15 часов показали, что значимое ($p < 0,01$) увеличение ППР наблюдалось после воздействия на эмбрионов возраста 15 часов с УПМ 6 Вт/кг (рис.7). Кроме того,

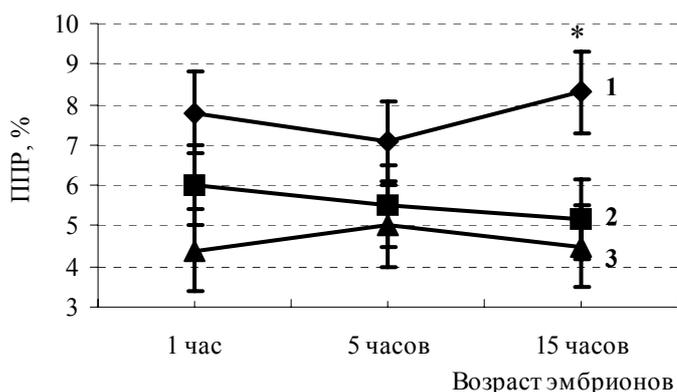


Рис. 7. Влияние ЭМИ интенсивностью 6 Вт/кг на процент прерванного развития дрозофил в зависимости от возраста эмбрионов на момент облучения. 1- облученная группа, 2- группа «ложного облучения», 3- контрольная группа эмбрионов.

были отмечены значительные вариации ППР при анализе вылета имаго из индивидуальных инкубационных флаконов. Анализ функций распределения числа флаконов

по ППР в них для эмбрионов, облучённых в возрасте 15 часов показал отличие облученной группы от «ложно облученной» и контрольной групп по всем параметрам распределения.

Различия параметров распределения позволило предположить внутреннюю неоднородность популяции эмбрионов дрозофил по возрасту на момент облучения, которую выявляет электромагнитное воздействие. Для более точного определения возраста, наиболее чувствительного к электромагнитному воздействию была проведена следующая серия опытов с эмбрионами в интервале возрастов от 14 часов 10 минут до 15 часов 20 минут. В этих экспериментах возраст определялся с точностью до 10 минут, в отличие от предыдущих, когда точность в определении возраста составляла 1 час.

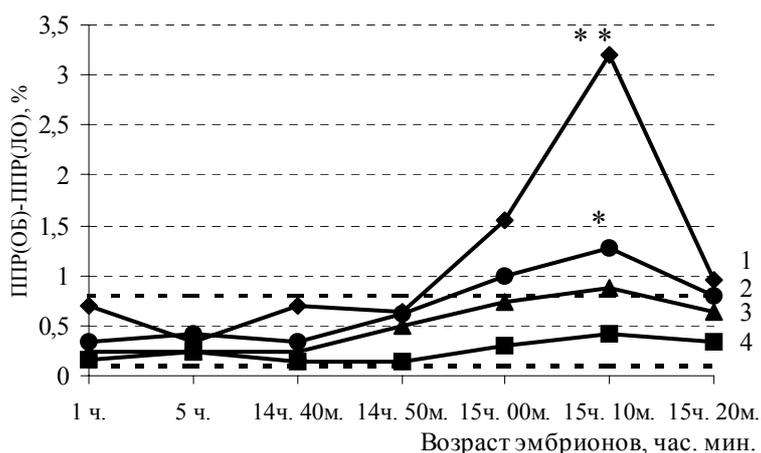


Рис. 8. Сопоставление эффектов облучения ЭМИ 460 МГц с УПМ 6 Вт/кг и теплового воздействия на эмбрионы дрозофил разного возраста. Пунктиром обозначен доверительный интервал для средних значений ППР в контроле. Примечание: 1- электромагнитное воздействие, 2- действие температуры 40°C, 3- действие температуры 35°C, 4- действие температуры 30°C.

Анализ полученных данных (рис.8) показал, что облучение эмбрионов только в возрасте 15 часов 10 минут статистически значимо снижает процент вылета взрослых мух по сравнению с контролем и облучёнными группами других возрастов. Прирост ППР при этом составил величину 3,2 % ± 0,7%. В соответствии с

таблицами развития дрозофилы (Е.В. Полуэктова с соавт., 1975), в этом возрасте происходит уплотнение брюшной нервной системы. По-видимому, ЭМИ, действуя на данной стадии развития, приводит к нарушению нормального хода этого процесса. В результате отдельная часть особей из выборки становится неспособной к дальнейшему развитию и погибает, не достигнув состояния имаго.

Как уже отмечалось, рост температуры объекта, обусловленный электромагнитным воздействием, вполне может определять характер изменения его функционирования. Поэтому в следующей серии экспериментов эмбрионы всех указанных ранее возрастов (1, 5, 15 часов и от 14 часов 40 минут до 15 часов 20 минут с интервалов в 10 минут) подвергались воздействию повышенной температурой. После 5 - минутной инкубации при повышенной температуре (30° - 60° С с шагом 5°) наблюдалось увеличение ППР, что зависело от возраста эмбрионов на момент нагрева и величины перегрева относительно исходной температуры $24,5^{\circ}$ С. Полученные результаты (рис. 8) свидетельствуют о том, что изменения ППР по знаку и зависимости от возраста качественно сопоставимы с эффектом действия ЭМИ. Наличие максимального эффекта после воздействия на эмбрионов только определённого возраста, 15 часов 10 минут, указывает на наличие критического периода в развитии дрозофил, чувствительного не только к ЭМИ, но и к действию повышенной температуры. Это позволило эмбрионов данного возраста использовать как тест-объект для дальнейших исследований.

Как было показано в экспериментах с нейронами, эффект ЭМИ тепловой природы должен быть пропорционален УПМ. По аналогии, эффект воздействия ЭМИ на эмбрионах дрозофил тепловой природы так же должен быть пропорционален УПМ, то есть скорости нагрева. Чтобы прогнозировать тепловые эффекты ЭМИ организма дрозофил, необходимо знать зависимость величины эффекта нагрева от скорости нагрева. Для этого интенсивность воздействия повышенной температурой была оценена в единицах УПМ. Расчёт такой эквивалентной УПМ проводился по скорости нагрева питательной среды в соответствии с алгоритмом, предложенным S.I. Alekseev et. al., (1996). Были получены усреднённые кинетики нагрева среды, рассчитаны соответствующие аппроксимирующие функции, с помощью которых определены средние скорости роста температуры для каждого режима температурного воздействия.

Сопоставление величины эффектов нагрева с величинами эквивалентных УПМ показало (рис.9), что эффект нагрева эмбрионов линейно увеличивается с ростом эквивалентной УПМ во всём диапазоне тепловых воздействий, за исключением нагрева при 60° С, дающего больший прирост ППР. Отсюда вытекает, что при тепловых воздействиях в пределах

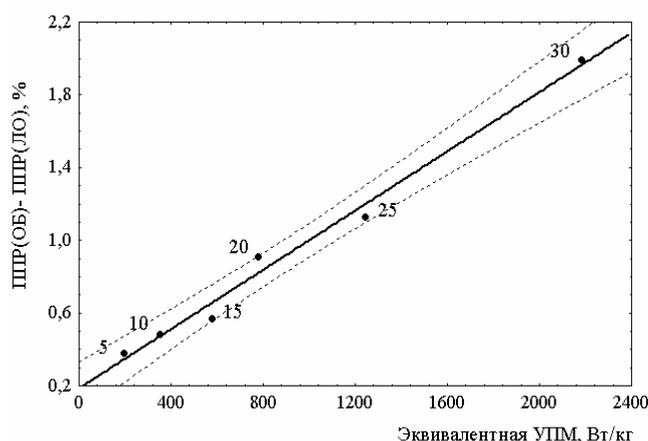


Рис. 9. Зависимость эффекта нагрева от величины эквивалентной УПМ. Напротив каждой точки указана величина перегрева относительно исходной температуры.

от 30° до 55°С, пока сохраняется пропорциональность между эффектом и УПМ, влияние на эмбрионы обеспечивается не температурой как таковой, а скоростью её роста. При 60° на формировании эффекта сказывается кроме скорости нагрева и, по-видимому, сама достаточно высокая температура. Из

сопоставления эффектов ЭМИ и нагрева следует, что для достижения величины эффекта облучения тест-эмбрионов с УПМ 6 Вт/кг их необходимо инкубировать в условиях перегрева на 35,5°С относительно исходной температуры, то есть при 60°С. Это очень большая величина перегрева, поскольку при электромагнитном воздействии с УПМ 6 Вт/кг рост температуры за 5 минут не превышает 0,4 – 0,5°С. Для того, чтобы обеспечить подъём температуры на 35,5 градусов за счёт ЭМИ потребовалось бы облучение с УПМ более 2500 Вт/кг, то есть на три порядка выше реального. Из этого следует, что эффект увеличения ППР под действием ЭМИ 6 Вт/кг обусловлен не интегральным повышением температуры питательной среды с эмбрионами на 0,4 – 0,5°С, а микролокальным нагревом, либо же механизм влияния имеет нетепловую природу.

В опытах на нейронах было показано, что импульсно модулированное электромагнитное излучение оказывает более сильное биологическое влияние по сравнению с немодулированным воздействием. Поэтому было предположено, что эффект влияния ИМ ЭМИ на тест-эмбрионов по величине так же может оказаться большим по сравнению с немодулированным воздействием. Были проведены опыты, в которых эмбрионы дрозофил возраста 15 часов 10 минут облучались ИМ ЭМИ с частотами модуляции в интервале 2,5 - 40 Гц, при скважности 25 и импульсной УПМ 3 Вт/кг.

Результаты экспериментов показали, что при всех частотах модуляции ППР в группах с облученными эмбрионами была значимо больше по сравнению с ППР в «ложно облучённых» и контрольных группах (рис.10). При воздействии ЭМИ, модулированного частотами 2,5, 6, 22 и 40 Гц ППР в

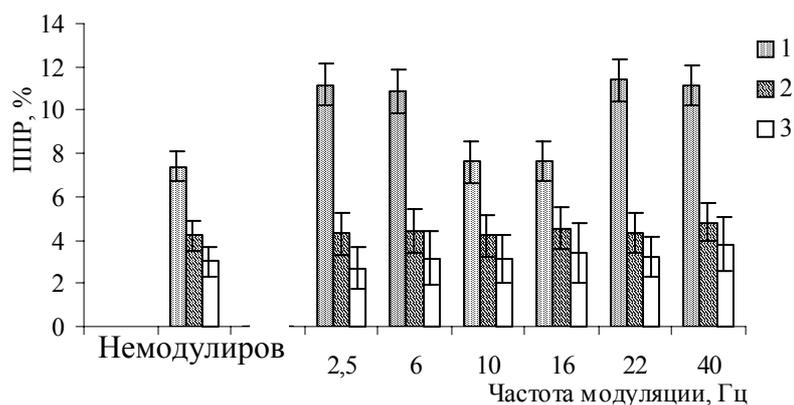


Рис. 10. Влияние импульсно - модулированного ЭМИ 460 МГц на ППР дрозофил. Для сравнения приведены результаты 5-минутного немодулированного воздействия с УПМ 6 Вт/кг. Примечание: 1- ППР после облучения; 2- ППР "ложно облученных" групп; 3- ППР в контроле.

облученных группах превышал этот показатель в группе «ложного облучения» в 2-3 раза, но оказался меньше ($p < 0,05$) при частотах модуляции 10 Гц и 16 Гц. Анализ проведенных экспериментов показал, что эффект ИМ ЭМИ равен величине эффекта немодулированного ЭМИ с УПМ 6 Вт/кг

после облучения эмбрионов дрозофил тест-возраста. Таким образом, импульсно-модулированное ЭМИ со средней УПМ, в 50 раз меньшей УПМ немодулированного облучения, инициирует эффект одинаковый по величине. Следовательно, биологическая эффективность воздействия ИМ ЭМИ на индивидуальное развитие дрозофил значительно больше по сравнению с немодулированным ЭМИ. Подобное обстоятельство соответствует литературным данным, полученным при изучении других процессов на других объектах (W.R. Adey W.R. et al, 1981; Ю.Г. Григорьев Ю,1996, 1999). Обнаружилось так же, что величина эффекта, рассчитанного как разность между ППР экспериментальной группой и группой «ложного облучения», имеет явную частотную зависимость (рис.11). Чем это обусловлено? Не исключено, что эффект влияния ЭМИ на эмбрионы дрозофил при частотах модуляции 2.5, 6, 22 и 40 Гц имеет исключительно тепловую природу, обусловленную способностью эмбрионов реагировать на скорость нагрева и ИМ режим создает для этого наилучшие условия. При частотах же модуляции 10 и 16 Гц ППР меняется под влиянием двух причин, имеющих как тепловую так и нетепловую природу. В последнем случае механизм может быть аналогичен механизму, предположенному Adey W.R. et al (1981), который обусловлен изменением связывания Ca^{2+} с поверхностью мембран под влиянием ЭМИ. Оба механизма при этом оказывают противоположное влияние на эмбрионы дрозофил, в результате чего эффект на этих частотах оказывается меньше, чем на других, когда реализуется только тепловой механизм влияния.

В природных условиях, а также в условиях населённых пунктов организмы могут быть подвержены действию электромагнитного излучения (модулированного или немодулированного) на фоне

повышенной температуры. Поэтому возникает вопрос о сочетанном влиянии этих факторов. Кроме того, одновременное участие двух возможных механизмов, теплового и нетеплового в формировании эффекта ставит вопрос о комбинации действия двух факторов (тепловом и нетепловом) и их вкладе в конечный результат влияния. Поэтому были проведены эксперименты, в которых изучалось влияние ЭМИ (немодулированного и ИМ) на эмбрионы дрозофил на фоне повышенной температуры 40°C. Как выяснилось, эффект сочетанного действия нагрева и немодулированного ЭМИ по величине значимо не отличается от эффекта при нормальной температуре. На фоне

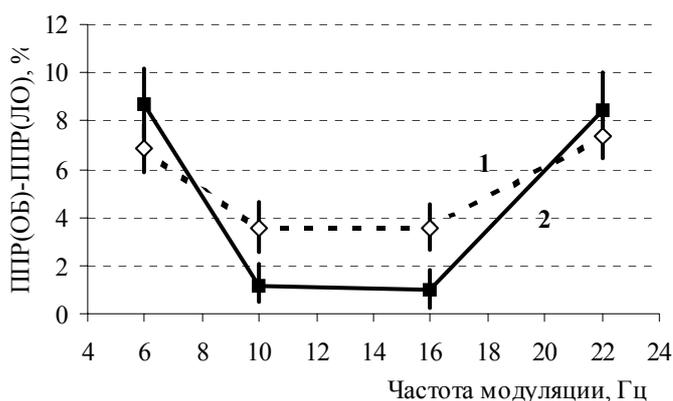


Рис. 11. Зависимость эффекта ИМ ЭМИ 460 МГц от частоты модуляции на фоне: 1 – нормальной температуры; 2– повышенной температуры 40°C.

повышенной температуры сохраняется частотная зависимость (рис. 11), но влияние ЭМИ с частотами модуляции 10 и 16 Гц на эмбрионы дрозофил устраняются.

Это позволяет предполагать, что при повышенной температуре создаются лучшие условия для реализации нетеплового механизма влияния ЭМИ на эмбрионы, противоположного по действию нагреву. Такое

сочетанное действие, вероятно, можно интерпретировать как реализуемое по схеме сенсibilизации. Может оказаться, что схема влияния сложнее, и механизмы сочетанного действия могут быть представлены большим набором вариантов.

Воздействие мощными микроволновыми импульсами наносекундной длительности на развивающийся организм дрозофил (Гл.6). По мере исследования влияния ЭМИ 460 МГц на онтогенез дрозофилы возникла необходимость в использовании более мощных излучений, способных инициировать больший по величине, биологический эффект. Применение более интенсивного воздействия позволило оперировать меньшими по объему выборками, уменьшить объемы экспериментов, в которых изучалось влияние ЭМИ на другие стадии развития дрозофилы.

С этой целью в работе было использовано мощное импульсное излучение с частотой 10 ГГц, генерируемое релятивистским СВЧ - генератором на основе сильноточного электронного ускорителя "Sinus-500" (УПМ 1-15,7 Вт/кг) и импульсным магнетронным генератором МИ-505 (УПМ 24-122 Вт/кг). Воздействие

осуществлялось в течение 5 минут на эмбрионы, личинки и куколок дрозофилы микроволновыми импульсами с частотами следования в пределах от 3 до 28 Гц. Проведенные исследования показали, что мощное микроволновое излучение оказывает влияние на эмбрионы и 1- и 15- часового возраста (рис.12). Эффект воздействия на эмбрионы

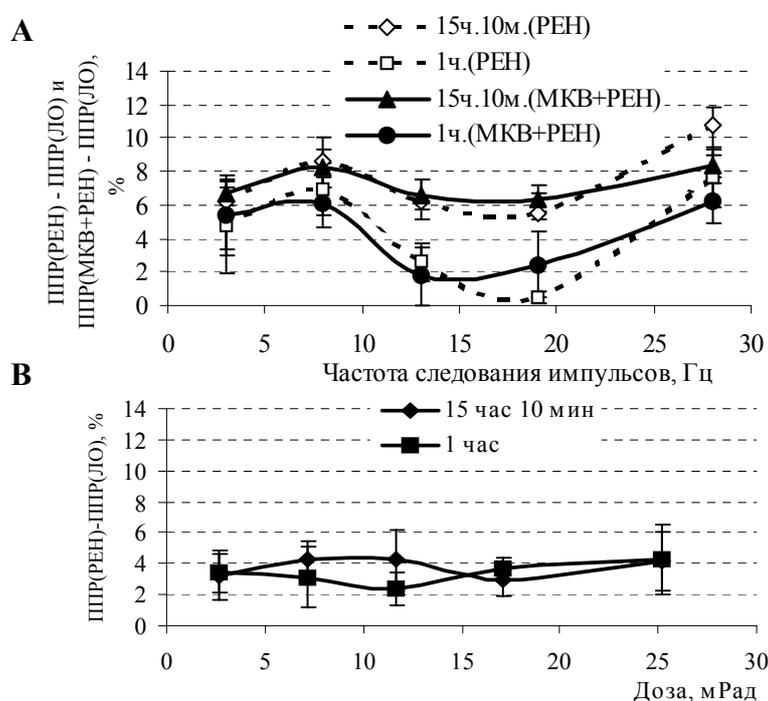


Рис. 12. Эффект влияния мощных микроволновых импульсов в комплексе с импульсным рентгеновским излучением (МКВ + РЕН, рис. А), отдельно импульсного рентгеновского излучения (РЕН, рис. А) при разных частотах следования импульсов и неимпульсного рентгеновского излучения (рис. В) на эмбрионы возраста 1 час и 15 часов 10 минут.

обоих использованных возрастов оказался не пропорционален величине УПМ, а зависел от частоты повторения импульсов. Это свидетельствует в пользу нетеплового механизма влияния, поскольку, если бы механизм влияния был исключительно тепловой, тогда бы на частоте 28 Гц эффект должен был бы составить величину почти на порядок большую, чем при частоте 3 Гц и эффекты воздействия с помощью МИ-505 был бы больше по сравнению с «Sinus-

500». Скорее можно предположить участие в формировании эффекта совокупности тепловых и нетепловых механизмов влияния, действующих противоположным образом и на разных частотах по-разному. Как представляется, в формировании эффекта существенную роль играет электрическое поле, поскольку большие по величине ППР формируются после облучения на «Sinus-500» в сравнение с результатами воздействия излучения МИ-505, электрическое поле которого меньше в 40 раз.

Излучение «Sinus-500» имеет помимо микроволновых импульсов сопутствующее импульсное рентгеновское излучение, величина которого с помощью свинцовой защиты минимизировалось, но которое полностью не устранялось. Поэтому излучение «Sinus-500» оказывало сочетанное влияние. Для оценки вклада рентгеновской компоненты в формировании эффекта облучения на «Sinus-500» была

введена дополнительная экспериментальная группа, которая подвергалась воздействию только импульсного рентгеновского излучения, уровень которого находился в пределах от 2,7 до 25,2 мР/5 минут. Проведенные эксперименты показали, что на всех частотах повторения эффект воздействия импульсного рентгеновского излучения аналогичен эффекту сочетанного действия микроволновых и рентгеновских импульсов (рис.12). Для оценки специфичности влияния импульсного рентгеновского излучения были проведены дополнительные опыты с воздействием не импульсным рентгеновским излучением. Облучение эмбрионов 1-часового возраста и 15 часов 10 минут с помощью установки «РУМ-17» в тех же пределах поглощенных доз (2,7 до 25,2 мР/5 минут) показало отсутствие значимого влияния на развитие эмбрионов. Это может означать, что и микроволновое воздействие, и импульсное рентгеновское облучение имеют общий механизм влияния на развитие дрозофилы, или действуют на общую клеточную мишень, которая запускает одну последовательность событий, приводящих к идентичным последствиям. Исходя из результатов, полученных на клетках, можно предположить в качестве мишеней влияния мембраны и системы синтеза нуклеиновых кислот.

Может ли мощное импульсное излучение оказывать влияние на развивающийся организм дрозофил на других стадиях развития помимо эмбриональной? Для выяснения этого вопроса были проведены эксперименты с воздействием на трёх личиночных стадиях и стадии куколки в возрасте 7 суток. Воздействие осуществлялось с использованием только одной частоты повторения импульсов 22 Гц, поскольку при этом режиме воздействия эффекты оказались больше, чем при других частотах.

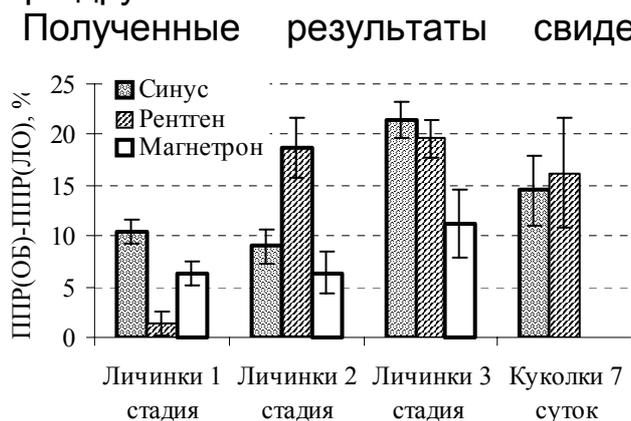


Рис. 13. Эффект влияния (прирост ППР в облученной группе относительно «ложно облученной») мощных микроволновых импульсов наносекундной длительности и импульсного рентгеновского излучения на личинки и куколки дрозофил.

оказывает влияние на развитие (рис.13), но эффект по величине варьирует в зависимости от стадии, и типа воздействия. Наибольший эффект облучения наблюдался после облучения личинок 3 стадии, когда и сочетанное влияние, и микроволновая компонента, и рентгеновская компонента существенно увеличивали ППР. Кроме того,

наблюдалось снижение жизнеспособности вылетевших имаго и их потомства или неспособность к воспроизводству у части вылетевших особей.

Поскольку повторяющиеся или многократные воздействия могут усиливать проявление эффекта, как это наблюдалось на нейронах прудовика (кумуляция эффекта), можно было надеяться, что многократные воздействия ЭМИ, в том числе и мощными микроволновыми импульсами, так же в состоянии усиливать влияние, останавливающее развитие. Это было проверено следующими сериями опытов. Вначале было показано, что повторяющиеся ежедневные 5-минутные воздействия повышенной температуры 55°C в течение 4 – 5 суток на эмбрионы, начиная с возраста 1 час и 15 часов 10 минут оказывают очень сильное влияние на процессы развития, приводящее к его остановке в 100% случаев на стадии куколки. Аналогичные воздействия ЭМИ 460 МГц с УПМ 6 Вт/кг на эмбрионы начиная с возраста 15 часов 10 минут не приводили к значимому увеличению ППР в сравнении с однократным воздействием.

Таблица 2

Влияние многократного ежедневного 5-минутного воздействия мощными микроволновыми импульсами на развивающийся организм дрозофил (ОБ – опытная группа; РЕН – группа рентгеновского облучения; ЛО – группа «ложного облучения»).

Возраст на Начало облучения	Тип генератора	Сравниваемые группы	ППР(ОБ) – ППР(ЛО) или (РЕН) – ППР(ЛО), %
1 час	«Sinus-500»	ОБ и ЛО	9,15 ± 1
1 час	«Sinus-500»	РЕН и ЛО	9,95 ± 1,3
15 час.10 мин.	«Sinus-500»	ОБ и ЛО	5,79 ± 2,8
15 час.10 мин.	«Sinus-500»	РЕН и ЛО	6,96 ± 2,9
1 час	Магнетрон	ОБ и ЛО	9,34 ± 2,5
15 час.10 мин.	Магнетрон	ОБ и ЛО	11,77 ± 2,3
Личинки 3 стадии	«Sinus-500»	ОБ и ЛО	6,60 ± 0,5
Личинки 3 стадии	«Sinus-500»	РЕН и ЛО	6,05 ± 0,7
Куколки	«Sinus-500»	ОБ и ЛО	5,94 ± 0,3
Куколки	«Sinus-500»	РЕН и ЛО	4,80 ± 0,2

Мощные микроволновые импульсы, генерируемые и «Синус-500» и МИ-505 при многократном воздействии, начиная с облучения эмбрионов обоих возрастов, незначительно увеличивают ППР в сравнение с однократным. Повторяющиеся воздействия, начинающиеся на стадиях личинки и куколки приводит к значимому увеличению ППР (табл.2). Таким образом, мощные микроволновые

импульсы при использованном режиме воздействия могут останавливать индивидуальное развитие у насекомых, но не столь эффективно, как при многократном воздействии повышенной температурой. Это позволяет полученные результаты трактовать в пользу нетеплового механизма влияния мощных микроволновых импульсов длительности на развивающийся организм дрозофилы.

Заключение. Общие закономерности действия ЭМИ дециметрового диапазона на функционирование биосистем разного уровня организации. (гл.7). Результаты проведенного исследования позволили выявить ряд интересных и важных закономерностей. В частности, при воздействии ЭМИ радиочастотного диапазона изменение проводимости мембран (БЛМ и мембран диализированных нейронов пропорционально удельной поглощаемой мощности., Это обусловлено тем, что возникающие при электромагнитном облучении микролокальные нагревы мембраны (В.В. Тяжелов с соавт.,1983) изменяют пассивный ионный перенос в соответствие с температурными коэффициентами функционирования ионных каналов и модификаторов проводимости БЛМ. Данный характер влияния не зависит от режимов модуляции.

На клеточном и организменном уровне эффекты радиочастотного ЭМИ определённым образом зависят от частоты модуляции (повторения импульсов применительно к мощному импульсному излучению 10 ГГц). Как было установлено в данной работе, частотно зависимые эффекты по величине не пропорциональны интенсивности воздействия, на разных частотах модуляции могут иметь разную направленность и величину. Воздействуя на развивающийся организм дрозофилы, можно получить качественно единообразную частотную зависимость эффекта для разных факторов: для импульсно модулированного ЭМИ 460 МГц, для мощного импульсного излучения 10 ГГц и для импульсного рентгеновского излучения. Подобные частотные зависимости наблюдались так же при воздействии низкочастотным полем (W.R. Adey, 1993), при облучении ЭМИ КВЧ-диапазона (Н.Д. Девятков, 1993), при воздействии ЭМИ дециметрового диапазона (Ю.Г. Григорьев, 1999). В совокупности с этими литературными данными можно предположить, что на субклеточном или клеточном уровнях организации у многих (или у всех) организмов есть мишень, чувствительная к внешним воздействиям, предъявляемым с определённой частотой. Объект реагирует на такое влияние частотно зависимым образом, что регистрируется как биологический эффект. Возможно, по этой причине модулированные воздействия биологически более эффективны по сравнению с немодулированными при одинаковых интенсивностях, поскольку гипотетический частотно

зависимый процесс скорее всего просто не чувствителен к немодулированному фактору.

Из полученных результатов следует, что объекты клеточного и организменного уровня имеют высокую чувствительность к радиочастотному ЭМИ. При этом эффект влияния на такие разные объекты как нейроны прудовика и эмбрионы дрозофилы зависит от их функционального состояния или возраста. В частности, в эмбриогенезе дрозофилы, период, чувствительный к воздействию ЭМИ, отделён от нечувствительного отрезком времени всего порядка 10 минут. Воздействие в такие периоды развития, критические, по терминологии П.Г. Светлова (1978), приводит к результатам, не сопоставимым с результатами воздействия в произвольный момент времени. Возникающее в развивающемся организме сдвиги в параметрах функционирования, индуцированные кратковременным воздействием радиочастотным ЭМИ могут быть настолько велики, что будут выходить за пределы адаптивных возможностей организма и это будет с большой вероятностью сопровождаться нарушением развития или его прерыванием. Эффекты на клеточном уровне не сопровождаются столь серьёзными последствиями, исходя из чего следует, что клетки менее чувствительны к повреждающему действию радиочастотного ЭМИ по сравнению с организмом.

Таким образом, сравнение эффектов радиочастотного электромагнитного облучения, наблюдавшихся у биообъектов разных уровней организации, позволяет заключить, что по мере усложнения объекта, повышается его чувствительность к воздействию, характер эффектов становится более сложным, зависимым от частоты модуляции, обнаруживается зависимость в реагировании от функционального состояния объекта и набора действующих факторов тепловой и нетепловой природы, что и определяет итоговый результат влияния. По-видимому, всё это необходимо учитывать при уточнении гигиенических нормативных документов и разработке экологических регламентов безопасного воздействия ЭМИ. Как представляется, общество не в полной мере осознаёт опасные для здоровья человека последствия, обусловленные радиочастотным электромагнитным облучением.

На основании полученных результатов просматриваются и новые, перспективные направления дальнейших исследований. В частности, использование мощного импульсного СВЧ-излучения с импульсами наносекундной длительности в режиме их периодического следования с эффективными по биологическому действию частотами, выявленными в проделанной работе, может оказаться полезным и эффективным инструментом для исследования физиологических систем. Не исключено, что полученные таким образом результаты будут востребованы для использования при разработке высоких технологий, в том числе и нанотехнологий.

ВЫВОДЫ

1. Воздействие радиочастотного ЭМИ в диапазоне частот 250 – 820 МГц обратимо изменяет проводимость модифицированных бислойных липидных мембран. Величина эффекта при условии постоянной амплитуды действующего поля возрастает с уменьшением частоты излучения независимо от природы модификатора и вида переносимого иона, что обусловлено микролокальными нагревами мембраны во время облучения.

2. На уровне биологических мембран воздействие радиочастотным импульсно модулированным ЭМИ оказывает только тепловое влияние на проводимость рецепторных каналов и каналов быстрого калиевого тока сомы диализированных нейронов прудовика.

3. На клеточном уровне наблюдаемая реакция на облучение ЭМИ зависит от типа клеток, характера воздействия и имеет как тепловую, так и нетепловую природу. Кратковременное воздействие немодулированным радиочастотным ЭМИ 915 МГц обратимо тормозит спонтанную электрическую активность нейронов моллюсков, что обусловлено активацией мембранной Na,K-АТФазы посредством микролокального нагрева мембраны. Низкоинтенсивное радиочастотное ЭМИ, импульсно модулированное частотами в полосе 0,5-100 Гц, влияет более сложным образом на электрическую активность нейронов в зависимости от частоты модуляции и интенсивности воздействия. Мощное импульсное излучение 10 ГГц ингибирует скорость роста плесневых грибов фузариум и уровень синтеза РНК и ДНК в опухолевых клетках мастоцитомы Р-815.

4. Низкоинтенсивное немодулированное ЭМИ 460 МГц нарушает эмбриональное развитие дрозофилы, в результате чего в 1,5–5 раз увеличивается вероятность появления дефектов строения тела и прерывания развития. Эффект имеет микротепловую природу, зависит от длительности, интенсивности воздействия и от возраста облучаемых эмбрионов.

5. Радиочастотное ЭМИ, импульсно-модулированное в полосе частот от 2.5 Гц до 40 Гц оказывает более сильное влияние на процессы развития дрозофил по сравнению с немодулированным. Эффект воздействия импульсно модулированного ЭМИ немонотонно зависит от частоты модуляции и температуры, поскольку итоговый физиологический механизм влияния представляет сложную комбинацию и тепловых, и нетепловых механизмов.

6. Мощное импульсное излучение 10 ГГц оказывает более сильное влияние на онтогенез дрозофилы по сравнению с низкоинтенсивным радиочастотным ЭМИ 460 МГц. Эффективность воздействия мощного импульсного излучения зависит от частоты повторения импульсов, стадии развития организма на момент

облучения и повторности воздействия. В процессе облучения реализуются и тепловые, и нетепловые механизмы влияния.

7. Импульсное рентгеновское излучение увеличивает вероятность прерывания развития дрозофилы в 2-4 раза. Эффект не зависит от величины поглощённой дозы в исследованном интервале от 2,7 до 25,2 мРад, но зависит от частоты повторения импульсов. Непрерывное рентгеновское излучение в аналогичных дозах не оказывает значимого влияния на развитие.

8. На уровне биологических мембран и их моделей действие радиочастотного ЭМИ реализуется исключительно посредством тепловых механизмов. На клеточном и организменном уровнях появляются эффекты нетепловой природы, и по мере усложнения организации увеличивается значимость временных характеристик как воздействующего фактора, так и облучаемого объекта. Эффекты ЭМИ, инициируемые на нижних уровнях организации, выступают в роли физиологических механизмов влияния на высших уровнях. Совокупные изменения мембранно-клеточных процессов сопровождаются такими функциональными сдвигами в организме, которые могут выходить за границы его адаптивных возможностей и результироваться неблагоприятными последствиями, включая гибель..

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Tyazelov V.V., Khizhniak E.P., Bol'shakov M.A. Microwave inducement of postlethal bioelectrical activity./ Abstr. of Symp. "Bioeffects of EM radiation"- Helsinki (Finland), 1978, p.72.

2. Большаков М.А., Хижняк Е.П., Тяжелов В.В. Изменение проводимости модифицированных фосфолипидных мембран, вызываемое электромагнитными полями дециметрового диапазона./ Биологическое действие электромагнитных полей. Тез. докл. Всесоюзного симпозиума .Пушино: ОНТИ НЦБИ, 1982, с. 7-8.

3. Bol'shakov M.A., Khyzhniak E.P., Tyazhelov V.V. Alteration of Modified Phospholipid Bilayer Conductivity due to RF Electromagnetic Fields./ Biological Effects of Nonionising Electromagnetic Irradiation. Phyladelphia: Information Ventures, 1984, v.9, №1, p.15.

4. Большаков М.А. , Алексеев С.И., Тяжелов В.В. Методы исследования электрической активности нейронов моллюсков в высокочастотных электромагнитных полях.: Деп. ВИНТИ : № 1103-85, 1985, 10с.

5. Большаков М.А. О воздействии высокочастотного электромагнитного поля на изолированный мозг прудовика.// Биофизика, 1985, т.30, №2, с.354-356.

6. Большаков М.А., Алексеев С.И. Изменение электрической активности пейсмекерных нейронов прудовика в зависимости от скорости их нагрева.// Биофизика, 1986, т.31, №3, с. 521-523.
7. Большаков М.А., Алексеев С.И. Изучение температурных реакций нейронов прудовика в зависимости от скорости их нагрева.: Деп. ВИНТИ, №2116-В87, 1987, 12 с.
8. Большаков М.А., Алексеев С.И. Влияние импульсного микроволнового облучения на электрическую активность нейронов моллюсков.// Изв. АН СССР. Сер. биол., 1987, №2, с. 312-314.
9. Щукин И.А., Зайкин А.В., Большаков М.А., Алексеев С.И. Влияние электромагнитного излучения в дециметровом диапазоне длин волн на быстрый калиевый ток.: Деп. ВИНТИ, № 3764-В87, 1987, 9с.
10. Большаков М.А., Алексеев С.И. Влияние импульсного электромагнитного излучения дециметрового диапазона на медиатор-индуцированные токи диализированных нейронов прудовика.: Деп. ВИНТИ, № 5301- В87, 1987, 14 с.
11. Алексеев С.И., Большаков М.А., Филиппова Т.М. О механизмах действия ЭМИ дециметрового диапазона на нервную клетку./ Тезисы докладов Симпозиума "Механизмы биологического действия электромагнитных излучений". Пущино: ОНТИ НЦБИ, 1987, с. 35, - 36.
12. Большаков М.А., Алексеев С.И. Изменение электрической активности пейсмекерных нейронов прудовика при облучении ЭМИ дециметрового диапазона. / Тезисы докладов симпозиума "Механизмы биологического действия электромагнитных излучений". Пущино: ОНТИ НЦБИ, 1987, с. 44-45.
13. Алексеев С.И., Кочеткова Н.В., Большаков М.А., Кузнецов А.Н., Бецкий О.В. Влияние ЭМИ КВЧ на мембраны нейронов./ Сб.материалов (часть I) Международного симпозиума "Миллиметровые волны нетепловой интенсивности в медицине". М, 1991, с. 403-407.
14. Большаков М.А. Некоторые методические вопросы регистрации и изучения электрической активности нейронов в условиях воздействия электромагнитного излучения./ Методические и методологические вопросы биологии и медицины. Томск: Экоген, 1991, с. 80 - 88.
15. Bol'shakov M.A., Alekseev S.I. Bursting Responses of Lymnaea Neurons to Microwave Radiation.// Bioelectromagnetics, 1992, v.13, № 2, p.119-129.
16. Большаков М.А. К вопросу о гигиенической оценке импульсного электромагнитного излучения дециметрового диапазона./ Здоровье населения Сибири. Т.И. Сб. материалов конференции "Здоровье населения Сибири". Новокузнецк, 1993, с. 13-14.

17. Большаков М.А., Евдокимов Е.В., Миненко О.В., Плеханов Г.Ф. Влияние ЭМИ 460 МГц на морфогенез дрозофил./ Региональные проблемы экологии. Сб. материалов конференции "Экология и общественное здоровье населения Сибири" (8-11 июня 1994). Новокузнецк, 1994, с. 67.

18. Большаков М.А., Евдокимов Е.В., Миненко О.В., Плеханов Г.Ф. Тератогенное действие микроволн на дрозофил./ Биоэкология. Т.2. Тез. докладов Международной конференции "Фундаментальные и прикладные проблемы охраны окружающей среды" (12-16 октября 1995). Томск: ТГУ, 1995, с. 201-202.

19. Большаков М.А., Князева И.Р., Евдокимов Е.В. Электромагнитное 460 МГц облучение эмбрионов дрозофил нарушает нормальный ход индивидуального развития./ Тез. докладов Международного симпозиума " Мониторинг окружающей среды и проблемы солнечно-земной физики" (июнь, 1996). Томск: ТГУ, 1996, с.17.

20. Большаков М.А., Князева И.Р., Евдокимов Е.В. Влияние ЭМИ 460 МГц на эмбриональное развитие дрозофил. / Материалы 1-й Российской конференции "Проблемы электромагнитной безопасности человека" (19-20 ноября 1996). Москва, 1996, с.63.

21. Большаков М.А., Евдокимов Е.В., Миненко О.В., Плеханов Г.Ф. О влиянии ЭМИ дециметрового диапазона на морфогенез дрозофил.// Радиационная биология. Радиоэкология. 1996, № 5, с.676-680.

22. Большаков М.А., Князева И.Р., Евдокимов Е.В. Электромагнитное излучение как дезадаптирующий фактор в эмбриогенезе дрозофил./ Механизмы адаптации организма. Томск: ИПФ ТПУ, 1996, с.54 -55.

23. Большаков М.А., Мелешко М.В. Об оценке функционального состояния нейрона по информационным характеристикам его электрической активности. /Механизмы адаптации организма. Томск: ИПФ ТПУ, 1996, с.8 - 10.

24. Alekseev S.I., Ziskin M.C., Kochetkova N.V., Bol'shakov M.A. Millimeter Waves Thermally Alter the Firing Rate of the Lymnaea Pacemaker Neuron.// Bioelectromagnetics, 1997, v.18, p.p., №1, 89-98.

25. Большаков М.А., Князева И.Р., Евдокимов Е.В. Действие электромагнитного излучения 460 МГц на эмбриогенез дрозофил разного возраста./ Фундаментальные науки и альтернативная медицина. Тез. докл. Международного симпозиума (Пушино, 22-25 сентября 1997). Пушино: ОНТИ ПНЦ РАН, 1997, с. 52-53.

26. Князева И.Р., Евдокимов Е.В., Большаков М.А. Эмбриогенез дрозофил как возможный биоиндикатор электромагнитного загрязнения среды./ Чтения, посвящённые памяти Ю.А. Львова. Томск: изд. ТГУ, 1998, с.106-107.

27. Князева И.Р., Линдт Т.А., Большаков М.А., Евдокимов Е.В. К вопросу об эмбриотропном действии импульсно-модулированного электромагнитного излучения./ Материалы межрегиональной научной конференции Сибири и Дальнего Востока, посвящённой 150-летию академика И.П. Павлова. Томск: изд. ТГУ, 1999, с. 185-187.

28. Князева И.Р., Большаков М.А. Влияние ЭМИ дециметрового диапазона на популяцию дрозофил./ Проблемы региональной экологии. Вып.6. Новосибирск: изд. СО РАН, 2000, с. 120-121.

29. М.А. Большаков. Электромагнитное загрязнение окружающей среды: проблема, переходящая в XXI век. / Экология и рациональное природопользование на рубеже веков.Т.1. Томск, 2000, с.8 - 10.

30. Князева И.Р., Линдт Т.А., Гончарик А.О., Большаков М.А., Евдокимов Е.В. Влияние модулированного радиочастотного ЭМИ на эмбриогенез дрозофил. Экологический аспект./ Экология и рациональное природопользование на рубеже веков. Т.3. Томск, 2000, с. 47 - 49.

31. Bol'shakov M.A., Evdokimov E.V., Goncharic A.O., Dugaev S.P., Gunin A.V., Klimov A.I., Korovin S.D., Pegel I.V., Rostov V.V. Biological Effects of Repetitive Pulsed High-Power Microwave Radiation./ Book of Abstracts "Euroem 2000", Edinburg, 2000, p. 99.

32. Bol'shakov M.A., Bugaev S.P., Goncharik A.O., Gunin A.V., Evdokimov E.V., Klimov A.I., Knyazeva I.R., Korovin S.D., Pegel I.V., Rostov V.V. Biological Effects of Nanosecond Microwave Pulses./ Abstracts of the II-d International Congress "Weak and Hyperweak Fields and Radiations in Biology and Medicine". Sankt-Petersburg, 2000, p.p. 29-30.

33. Bol'shakov M.A., Bugaev S.P., Elchanjnov A.A., Evdokimov E.V., Goncharic A.O., Gunin A.V., Klimov A.I., Knyazeva I.R., Korovin S.D., Kutenkov O.P., Pegel I.V., Rostov V.V. Effect of Repetitive Nanosecond HPM Pulses on Some Biological Objects./ Proceedings 1-st International Congress on Radiation Physics, High Current Electronics, and Modification of Materials. Vol.2. Tomsk, 2000, p.p. 514-518.

34. Bol'shakov M.A., Bugaev S.P., Elchaninov A.A., Evdokimov E.V., Gunin A.V., Klimov A.I., Knyazeva I.R., Korovin S.D., Pegel I.V., Rostov V.V. On the Possibility to Use Nanosecond HPM Pulses for Desinsection./ Proceedings 1-st International Congress on Radiation Physics, High Current Electronics, and Modification of Materials. Vol.2. Tomsk, 2000, p.p. 536-537.

35. Большаков М.А., Бугаев С.П., Гончарик А.О., Гунин А.В., Евдокимов Е.В., Климов А.И., Коровин С.Д., Пегель И.В., Ростов В.В. Воздействие мощного микроволнового излучения наносекундной длительности на некоторые биологические объекты. Доклады РАН, 2000, т.371, №5, с.691-695.

36. Большаков М.А., Воскресенский В.В., Ельчанинов А.А., Климов А.И., Князева И.Р., Коровин С.Д., Пегель И.В., Ростов В.В.

Действие мощных СВЧ-импульсов наносекундной длительности на развивающийся организм дрозофилы.//Физиология организмов в нормальном и экстремальном состояниях. Сборник статей. Томск : «Иван Фёдоров», 2001, с.127-130.

37. Большаков М.А., Климов А.И., Литвяков Н.В., Кушакова Ю.А., Коровин С.Д., Ростов В.В., Чердынцева Н.В. Исследование влияния кратковременного воздействия мощных СВЧ-импульсов на опухолевые клетки мастоцитомы Р-815.//Физиология организмов в нормальном и экстремальном состояниях. Сборник статей. Томск : «Иван Фёдоров», 2001, с. 130-133.

38. Bol'shakov M.A., A.A. Eltchninov, A.I. Klimov, I.R. Knyazeva, S.D. Korovin, I.V. Pegel, V.V. Rostov, V.V. Voskresensky. Effect of nanosecond NPM pulses on individual development of drosophilas: estimation of comparative contribution by microwave and X-ray components./ Proseedings of 5-th Korea-Russia International Symposium on Science and Technology, v.2. Tomsk, 2001, p.p.74-76.

39. Большаков М.А., Князева И.Р., Линдт Т.А., Евдокимов Е.В. Воздействие импульсно-модулированного низкими частотами ЭМИ 460 МГц на эмбрионы дрозофил.// Радиационная биология. Радиозэкология, 2001, т.41, №4, с.399-402.

40. Большаков М.А., Князева И.Р., Евдокимов Е.В. Эффект воздействия ЭМИ 460 МГц на эмбрионы дрозофил на фоне повышенной температуры. // Радиационная биология. Радиозэкология, 2002, т.42, №2, с.206-209.

41. Bol'shakov M.A., Knyazeva I.R., Evdokimov E.V., Alekseev S.I. Short-term Microwave Exposure Effects on Drosophila Embryo.// Bioelectromagnetics , 2002,(in print).