

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

УДК 57.043, 537.868, 53.043, 59.085,

И.Р. Князева^{1,3}, В.В. Иванов¹, Л.П. Жаркова^{2,3},
О.П. Кутенков³, В.В. Ростов³, М.А. Большаков^{2,3}

¹Сибирский государственный медицинский университет (г. Томск)

²Биологический институт Томского государственного университета (г. Томск)

³Институт сильноточной электроники СО РАН (г. Томск)

ВЛИЯНИЕ ИМПУЛЬСНО-ПЕРИОДИЧЕСКОГО МИКРОВОЛНОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ИЗОЛИРОВАННЫХ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ

Работа выполнена в рамках АВЦП «Развитие научного потенциала
высшей школы (2011 г.)» (проект № 2.1.1/13778).

Исследовано влияние импульсно-периодического микроволнового излучения с частотой повторения импульсов в диапазоне 8–22 имп./с и интенсивностью воздействия от 70 до 1500 Вт/см² в импульсе на функциональную активность изолированных митохондрий печени мышей по скорости потребления кислорода в различных метаболических состояниях по Чансу. Показано, что однократное воздействие 4 000 импульсов сопровождалось изменением скорости потребления кислорода в фосфорилирующем и нефосфорилирующем состояниях и снижением степени сопряжения процессов окисления и фосфорилирования. Результат зависел от частоты повторения импульсов и интенсивности воздействия. Рассмотрены возможные механизмы влияния микроволновых импульсов на функциональное состояние митохондрий.

Ключевые слова: импульсно-периодическое микроволновое излучение; дыхание митохондрий печени.

Введение

Изучение вопроса о биологическом действии мощных микроволновых импульсов наносекундной длительности обусловлено необходимостью оценки воздействия излучений с высокой пиковой плотностью потока мощности (пППМ) при относительно низком среднем уровне, не превышающем гигиенические нормативы безопасного воздействия. При этом самое пристальное внимание уделяется установлению первичных механизмов и общих закономерностей влияния данного фактора на живые объекты.

К настоящему времени известно, что импульсно-периодическое микроволновое излучение (ИПМИ) оказывает выраженное биологическое действие. Оно способно инициировать изменение морфологических и био-

химических показателей крови и печени крыс и мышей [1–3], изменять пролиферативную активность опухолевых и нормальных клеток [4, 5], электропроводности в суспензиях клеток, в частности эритроцитов, митохондрий [6], а также цельной крови [7]. Одним из предполагаемых механизмов влияния микроволновых импульсов наносекундной длительности может быть изменение уровня активных форм кислорода (АФК) с последующей окислительной модификацией липидов и белков клеток [8]. Поскольку одним из основных источников АФК в клетке является дыхательная цепь митохондрий [9], именно эти субклеточные структуры можно рассматривать как первичные мишени биологического действия ИПМИ.

Целью настоящей работы являлось изучение влияния импульсно-перiodического микроволнового излучения на изменение функционального состояния митохондрий, оцененное по скорости потребления кислорода митохондриями в различных метаболических состояниях.

Материалы и методики исследования

Эксперименты проведены на изолированных методом дифференциального центрифугирования митохондриях из печени беспородных белых мышей-самцов массой 25–30 г. Мыши содержались в стандартных условиях при постоянной температуре и влажности в условиях светового режима 12:12, корм и питье были доступны в любое время суток. Содержание животных в виварии и все манипуляции, связанные с забором материала и выделением субклеточных фракций, проводились в соответствии с санитарными правилами по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник, а также основывались на положениях Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации от 1964 г., дополненной в 1975, 1983 и 1989 гг. [10].

Забор ткани печени и выделение субклеточных фракций проводились при температуре от 0 до +4°C. Необходимые реактивы готовились на бидистиллированной воде. Для получения изолированных митохондрий из печени мышей использовалась методика Джонсона и Лэрди [11] с небольшими модификациями. Печень освобождалась от крови путем перфузии *in situ*, охлажденной до 0°C средой выделения, содержащей 0,3 М раствор сахарозы, 1 мМ раствор ЭДТА, 10 мМ Трис-буфер (рН 7,4). Навеска печени 1,5 г измельчалась в гомогенизаторе Поттера. Для удаления не полностью разрушенных клеток и ядер гомогенат центрифугировался 5 мин при 5000 g (0...+2°C) на рефрижераторной центрифуге ЦРЛ-1 (Россия). Надосадок центрифугировался при 10000 g 5 мин (0...+2°C), осадок митохондрий тщательно ресуспендировался в среде, содержащей 0,3 М сахарозы и 20 мМ трис-буфер (рН 7,4). Полученная суспензия митохондрий хранилась на тающем льду на протяжении всего эксперимента.

Функциональное состояние митохондрий определялось по скорости потребления кислорода. Для этого использовался совместимый с персональ-

ным компьютером измеритель кислорода АКПИМ-02Л (Россия), снабженный амперометрическим сенсором АСрО₂-01 (Россия), и полярографическая ячейка объемом 1,3 мл. Ячейка заполнялась средой инкубации, насыщенной кислородом и содержащей 250 мМ сахарозы, 2,5 мМ MgCl₂ и 5 мМ КН₂РO₄ (рН 7,4). После установки электрода в ячейку вносились суспензии митохондрий (50 мкл), содержащая 0,7–1,0 мг белка. Скорость дыхания выражалась в нмоль О₂/мин на мг белка. Содержание белка в пробах суспензии митохондрий определялось по Бредфорду [12].

Измерение скорости потребления кислорода изолированными митохондриями проводилось в различных состояниях по Чансу [13]:

V0 – эндогенное дыхание в состоянии 1 по Чансу (скорость потребления кислорода клетками на эндогенных субстратах);

V2(V4S) – скорость дыхания в состоянии 2 и 4 по Чансу (при содержании в среде инкубации 5 мМ сукцината (субстрат комплекса II) при отсутствии АДФ);

V3 – скорость дыхания в состоянии 3 по Чансу (условия те же, что и при определении V4, но в присутствии 200 мкМ АДФ; при этом фактором, лимитирующим скорость реакции, является сама дыхательная цепь).

Для оценки эффективности работы дыхательной цепи рассчитывалось отношение скорости фосфорилирующего дыхания к скорости нефосфорилирующего дыхания, по величине которого можно судить о степени сопряженности окисления и фосфорилирования, а также о степени интактности митохондриальных препаратов [13].

Суспензия митохондрий подвергалась однократному воздействию 4 000 микроволновых импульсов с частотами повторения в диапазоне 8–22 имп./с. Опыты проводились в одно и то же время (в утренние часы). Источником ИПМИ служил лабораторный импульсный генератор на основе магнетрона МИ-505 (Россия, несущая частота 10 ГГц, выходная пиковая мощность 180 кВт, длительность импульсов 100 нс). Облучение проводилось из открытого конца волновода сечением 10 × 33 мм. Интенсивность воздействия оценивалась по величине пиковой плотности потока мощности, которая в данном исследовании составляла от 70 до 1 500 Вт/см². Измерение характеристик микроволновых импульсов проводилось согласно методике, описанной в ранее опубликованных работах [14]. Выбор параметров воздействия основывался на результатах ранее проведенных экспериментов по изучению эффектов действия импульсно-периодического микроволнового излучения на окислительные процессы в крови и печени мышей и крыс [1–3].

В работе использовались облученные и ложнооблученные суспензии митохондрий, которые подвергались аналогичным манипуляциям, что и облученные, но без включения источников излучения. Для каждого из режимов воздействия было выполнено одинаковое количество экспериментов (по 5–6 повторностей). Измеренные скорости дыхания и вычисленный коэффициент дыхательного контроля подвергались статистической обработке, при которой рассчитыва-

лись средняя арифметическая величина показателя и ее стандартная ошибка. Статистическая обработка результатов производилась с использованием пакета программ StatSoft STATISTICA 6.0. Статистическая значимость различий между показателями облученных и ложнооблученных выборок определялась с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни [15].

Результаты исследований

В результате проведенных экспериментов было показано, что скорость потребления кислорода митохондриями в присутствии эндогенного субстрата (в метаболическом состоянии 1 по Чансу) не изменялась после воздействия импульсно-периодического микроволнового излучения всех используемых интенсивностей и частот повторения импульсов (рис. 1, а).

Добавление к суспензии облученных митохондрий субстрата дыхания (5 ммоль сукцината) переводило митохондрии в состояние 2 и характеризовалось повышением скорости потребления кислорода в два раза по отношению к группе ложного облучения. Воздействие с пППМ 70 Вт/см² при частотах 8 и 13 имп./с, с пППМ 700 Вт/см² при частотах 8 и 22 имп./с и с пППМ 1500 Вт/см² при частоте 22 имп./с. Облучение митохондрий ИПМИ с остальными параметрами оказалось неэффективным в отношении изменения скорости потребления кислорода в состоянии 2 в присутствии экзогенного субстрата сукцината и в отсутствии синтеза АТФ (рис. 1, б).

Добавление АДФ к суспензии облученных митохондрий в присутствии экзогенного субстрата переводило митохондрии в состояние 3 и приводило к резкому повышению скорости потребления кислорода, которая снижалась после исчерпания АДФ (рис. 2). Воздействие ИПМИ на митохондрии в метаболическом состоянии 3 по Чансу в большинстве случаев увеличивало скорость потребления кислорода, и эффект зависел от пиковой ППМ и частоты повторения импульсов. После воздействия ИПМИ с пППМ 70 Вт/см² уровень дыхания митохондрий увеличивался при всех частотах повторения импульсов за исключением частоты 10 имп./с. Воздействие ИПМИ с пППМ 700 Вт/см² увеличило интенсивность дыхания в состоянии 3 при частотах повторения 8, 10 и 22 имп./с, в то время как воздействие с пППМ 1 500 Вт/см² увеличивало скорость потребления кислорода только после облучения с частотой 22 имп./с. Остальные частоты повторения импульсов оказались неэффективными. Эти результаты свидетельствуют о наличии стимулирующего влияния ИПМИ на изолированные энергизованные митохондрии (состояние 3 по Чансу).

Влияние ИПМИ на эффективность работы дыхательной цепи было оценено по изменению рассчитанного коэффициента дыхательного контроля (отношение скорости фосфорилирующего к скорости нефосфорилирующего дыхания). Проведенные эксперименты показали (рис. 3), что коэффициент дыхательного контроля, отображающего степень сопряжения процессов окисления и фосфорилирования после воздействия микроволновых

импульсов, увеличивается только после воздействия с пППМ 1 500 Вт/см² с частотой повторения 10 имп./с. Во всех остальных случаях дыхательный коэффициент либо не изменялся (в большинстве из облученных групп), либо значительно снижался, как после воздействия с пППМ 70 Вт/см² при частотах 8, 10 и 13 имп./с, а также после воздействия с пППМ 700 Вт/см² при частоте 8 имп./с (рис. 4). Это не противоречит возможности стимуляции дыхания и в то же время указывает на то, что не весь утилизированный кислород был использован для синтеза АТФ.

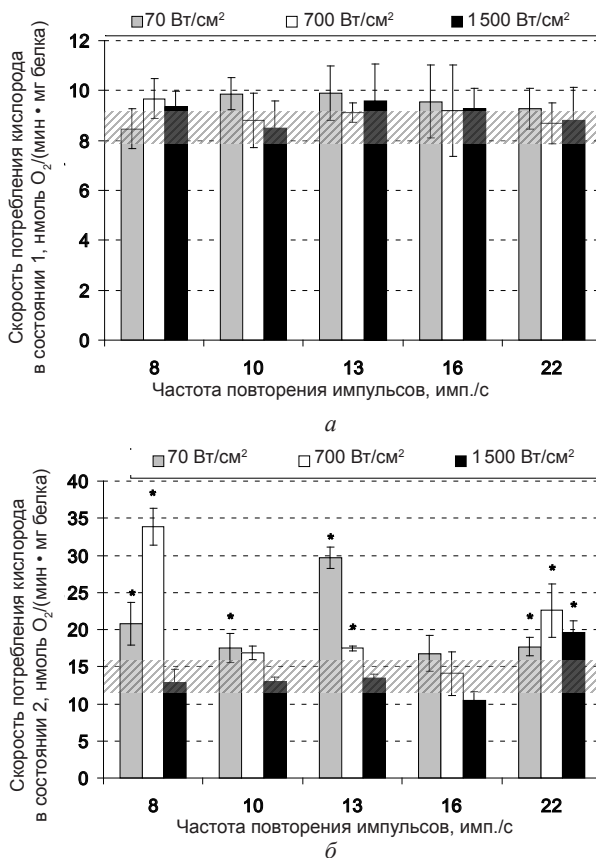


Рис. 1. Влияние импульсно-периодического микроволнового излучения с пиковой плотностью потока мощности 70, 700 и 1 500 Вт/см² и частотами повторения 8–22 имп./с на скорость потребления кислорода митохондриями в присутствии эндогенного субстрата (в метаболическом состоянии 1 по Чансу) (а) и после добавления экзогенного субстрата дыхания сукцината (в метаболическом состоянии 2 по Чансу) (б). Здесь и далее на рисунках штриховой полосой обозначен 95%-ный доверительный интервал значений для группы ложного облучения; звездочкой обозначены статистически значимые различия между показателями облученной и ложнооблученной выборок ($p \leq 0,05$)

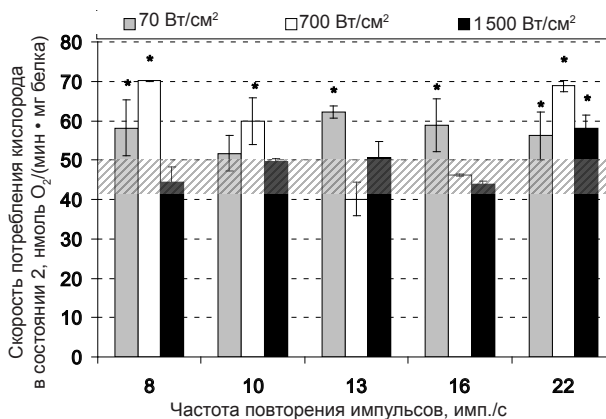


Рис. 2. Изменение скорости потребления кислорода митохондриями в присутствии экзогенного субстрата дыхания сукцината и АДФ (состояние 3 по Чансу) после воздействия импульсно-периодического микроволнового излучения с пиковой плотностью потока мощности 70, 700 и 1500 Вт/см² и частотой повторения 8–22 имп./с

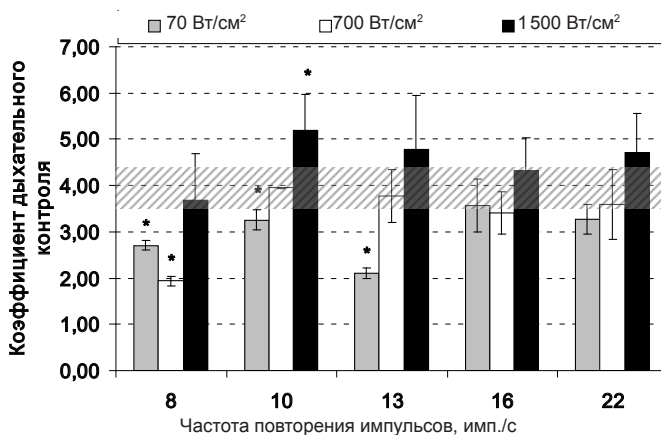


Рис. 3. Изменение величины коэффициента дыхательного контроля после воздействия импульсно-периодического микроволнового излучения с пиковой плотностью потока мощности 70, 700 и 1500 Вт/см² и частотой повторения 8–22 имп./с

Анализ полученных результатов

Как показали эксперименты, воздействие импульсно-периодического микроволнового излучения с пППИМ от 70 до 1500 Вт/см² может изменять скорость дыхания митохондрий на экзогенном субстрате (5 ммоль сукцината) и в фосфорилирующем состоянии. Изменение функционального состояния митохондрий после воздействия ИПМИ зависело от частоты повторения

импульсов и интенсивности излучения. Наиболее эффективными оказались воздействия с интенсивностями 70 и 700 Вт/см² и частотами 8, 10 и 22 имп./с. В то же время коэффициент дыхательного контроля, отражающий степень сопряжения процессов окисления и фосфорилирования, увеличивался только при максимальной из использованных интенсивностей (1 500 Вт/см²) и частоте 10 имп./с. После воздействия с более низкой интенсивностью излучения величина коэффициента дыхательного контроля уменьшалась. Это указывает на ухудшение функционального состояния митохондрий с точки зрения уменьшения степени сопряжения окисления и фосфорилирования и снижения возможности продукции АТФ.

Из полученных результатов следует, что митохондрии после воздействия ИПМИ с различными параметрами могут реагировать несколькими вариантами изменения интенсивности процессов дыхания и фосфорилирования:

1. Стимуляция дыхания при уменьшении степени сопряжения окисления и фосфорилирования. Это должно сопровождаться уменьшением продукции АТФ вследствие снижения активности Н⁺-АТФ-синтетазы [15]. Стимуляция дыхания при уменьшении степени сопряжения окисления и фосфорилирования может быть обусловлена открытием пор неспецифической проводимости [16]. В этом случае происходит снижение протонного градиента, для восстановления которого будет расходоваться АТФ. Такого рода процессы реализуются после воздействия ИПМИ с пППМ 70 Вт/см² при частотах повторения 8, 13 и 22 имп./с и с пППМ 700 Вт/см² при частоте 8 имп./с.

2. Отсутствие стимуляции или торможения дыхания при повышении степени сопряжения окисления и фосфорилирования. Это может происходить за счет активации АТФ-синтетазы с соответствующим увеличением продукции АТФ [17]. Такого рода процессы реализуются только после воздействия ИПМИ с пППМ 1 500 Вт/см² при частоте повторения 10 имп./с.

3. Стимуляция дыхания при неизменной степени сопряжения окисления и фосфорилирования. Это может происходить при увеличении скорости потребления кислорода в фосфорилирующем и нефосфорилирующем состояниях. Такого рода процессы реализуются после воздействия ИПМИ с пППМ 70 Вт/см² при частоте повторения 16 имп./с, с пППМ 700 Вт/см² при частотах 10 и 22 имп./с и с пППМ 1 500 Вт/см² при частоте повторения 22 имп./с.

4. Отсутствие стимуляции или торможения дыхания при неизменной степени сопряжения окисления и фосфорилирования свидетельствует об отсутствии влияния на функциональное состояние митохондрий. Такого рода процессы реализуются после воздействия ИПМИ с пППМ 700 Вт/см² при частотах 13 и 16 имп./с и с пППМ 1 500 Вт/см² при частотах повторения 8, 13 и 16 имп./с.

Каковы могут быть причины изложенных вариантов реагирования митохондрий на воздействие ИПМИ? Можно предположить, что одной из причин повышения потребления кислорода митохондриями печени мышей после воздействия ИПМИ является увеличение продукции АФК, поскольку извест-

но, что не весь кислород, потребляемый митохондриями, расходуется в процессе окислительного фосфорилирования [18, 19]. В норме 1–2% кислорода уходит на выработку дыхательной цепью $O_2^{\cdot -}$ [18, 20]. Предполагают, что два или более таких сайта находятся в комплексе I [21–24] и при окислении и восстановлении убихинона также происходит образование $O_2^{\cdot -}$ [25, 26].

Снижение дыхания митохондрий может быть обусловлено тем, что высокие концентрации АФК открывают во внутренней мембране митохондрий поры неспецифической проницаемости, что приводит к удалению адениновых нуклеотидов, снижению продукции АТФ и поглощения кислорода [27]. Кроме того, активность сукцинатдегидрогеназы и F_0F_1 -АТФазы ингибируется высокими концентрациями $O_2^{\cdot -}$ и гидроперекисями [31]. Известно, что активность систем удаления АФК (Mn-содержащая СОД и глутатионпероксидаза) в норме высока, однако при окислительном стрессе скорость выработки АФК митохондриями может превышать скорость их утилизации [28] и продукты окислительной модификации могут подавлять компоненты антиоксидантной системы и привести к изменению работы дыхательной цепи [29–31]. В пользу этого предположения может свидетельствовать ранее обнаруженное увеличение уровня продуктов липидной перекисидации и окислительной модификации белков в печени мышей после воздействия ИПМИ [3, 8].

В ранее проведенных экспериментах с использованием флуоресцентного зонда было показано, что ИПМИ влияет на содержание наиболее стабильной АФК – гидропероксида водорода в изолированных митохондриях печени [14]. При этом уровень гидропероксида водорода в митохондриях после воздействия повышался и понижался в зависимости от параметров воздействия. Эффект воздействия ИПМИ на дыхание митохондрий также имеет сложную зависимость от интенсивности и частоты повторения импульсов, что может быть результатом разнонаправленного действия АФК на функционирование дыхательной цепи. С одной стороны, $O_2^{\cdot -}$ образуется в процессе переноса электронов в дыхательной цепи и синтезе АТФ, с другой стороны, его высокий уровень в митохондриях нарушает через различные механизмы перенос электронов и окислительное фосфорилирование.

Заключение

Таким образом, наносекундное импульсно-периодическое микроволновое излучение оказывает влияние на функциональное состояние митохондрий. Это позволяет рассматривать митохондрии как первичную мишень воздействия микроволновых импульсов, влияние на которые может быть причиной изменения окислительно-восстановительного статуса клеток, тканей и органов. Помимо этого, возможно изменение продукции АТФ с соответствующим изменением метаболизма клеток. Поскольку реакции митохондрий на воздействие ИПМИ зависят от пППМ и частоты повторения

импульсов, реакции систем более высоких уровней организации, зависящие от функционального состояния митохондрий, должны аналогично зависеть от параметров облучения.

Литература

1. *Большаков М.А., Коровин М.С., Гриднева В.И. и др.* Оценка некоторых показателей метаболической функции печени крыс после воздействия импульсно-периодического рентгеновского или микроволнового излучений // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2005. № 3. С. 70–74.
2. *Коровин М.С.* Изменение некоторых биохимических показателей крови белых крыс после кратковременного воздействия импульсно-периодического микроволнового и рентгеновского излучений // Ежегодник Российского национального комитета по защите от неионизирующих излучений / под ред. Е.П. Бичелдей. М. : АЛЛАНА, 2004. С. 242–248.
3. *Bolshakov M.A., Knyazeva I.R., Rostov V.V. et al.* Initiation of free-radical oxidation in albino mice by exposure to pulse periodic microwaves and x-rays // Biophysics. 2005. Vol. 50. Suppl. 1. P. 104–109.
4. *Литвяков Н.В., Ростов В.В., Булдаков М.А. и др.* Ингибирование пролиферации опухолевых клеток импульсно-периодическим рентгеновским излучением // Сибирский онкологический журнал. 2006. № 1 (17). С. 24–31.
5. *Булдаков М.А., Литвяков Н.В., Чердынцева Н.В. и др.* Импульсно-периодические СВЧ и рентгеновское излучения: влияние на клетки костного мозга и селезенки // Вестник Томского государственного университета. Приложение: Материалы конференции «Механизмы индивидуальной адаптации». 2006. № 21. С. 23–24.
6. *Жаркова Л.П., Афанасьев К.В., Большаков М.А. и др.* Оценка влияния импульсно-периодического рентгеновского и микроволнового излучений на биологические структуры с помощью измерения импедансных характеристик // Вестник Томского государственного университета. 2008. № 312. С. 180–183.
7. *Князева И.Р., Медведев М.А. Жаркова Л.П. и др.* Воздействие импульсно-периодическим микроволновым и рентгеновским излучениями на эритроциты человека // Бюллетень сибирской медицины. 2009. № 1. С. 24–29.
8. *Князева И.Р., Большаков М.А., Жаркова Л.П., Ростов В.В.* Анализ показателей окислительной модификации липидов и белков после воздействия наносекундного импульсно-периодического микроволнового излучения // Труды 8-го Международного симпозиума по электромагнитной совместимости и электромагнитной экологии. СПб., 2009. С. 395–398.
9. *Изюмов Д.С., Домнина Л.В., Непряхина О.К. и др.* Митохондрии как источники активных форм кислорода при окислительном стрессе. Исследование с помощью новых митохондриально-направленных антиоксидантов на основе «ионов Скулачева» // Биохимия. 2010. Т. 75. С. 149–157.
10. *Euroguide on the accommodation and care of animals used for experimental and other scientific purposes.* (Based on the revised Appendix A of the European Convention ETS 123.) FELASA: Federation of European Laboratory Animal Science Associations. London, 2007. 17 c.
11. *Jonson D., Lardy H.* Isolation of liver or kidney mitochondria // Methods in Enzymology. N. Y. : Acad. Press, 1969. P. 94–96.
12. *Bradford M.M.* A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Analytical Biochemistry. 1976. Vol. 7, № 1. P. 248–254.

13. *Chance B., Williams G.R.* Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation. I. Kinetics of oxygen, utilization // *Journal of Biological Chemistry*. 1955. Vol. 217. P. 383–393.
14. *Жаркова Л.П., Мамонова Н.В., Князева И.Р. и др.* Регенерация нейрогенных изъязвленных слизистой желудка после облучения импульсно-периодическим микроволновым излучением // *Вестник Томского государственного университета. Биология*. 2010. № 2. С. 112–122.
15. *Лемешко В.В., Миронова Н.Г.* Обратимая криоактивация неспецифической белковой поры как один из возможных механизмов криоразобщения и репарации системы окислительного фосфорилирования митохондрий // *Проблемы криобиологии*. 1993. № 3. С. 14–20.
16. *Szewczyk A., Wojtczak L.* Mitochondria as a pharmacological target // *Pharmacology review*. 2002. Vol. 54. P. 101–127.
17. *Short K.R., Drew B., Leeuwenburgh C.* Mitochondrial ATP measurements // *American Journal of Physiology. Regulatory Integrative Comp Physiology*. 287. 2004. P. 243–246.
18. *Boveris A., Chance B.* The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen // *Biochemistry Journal*. 1973. Vol. 134. P. 707–716.
19. *Liu S.S.* Generating, Partitioning, Targeting and Functioning of Superoxide in Mitochondria // *Bioscience reports*. 1997. Vol. 17. P. 259–272.
20. *Turrens J.F.* Superoxide Production by the Mitochondrial Respiratory Chain // *Bioscience reports*. 1997. Vol. 17. P. 3–8.
21. *Гривенникова В.Г., Виноградов А.Д.* Митохондриальный Комплекс I // *Успехи биологической химии*. 2003. Т. 43. С. 19–58.
22. *Genova M.L., Ventura B., Guilano G. et al.* The site of production of superoxide radical in mitochondrial Complex I is not bound to ubiquinone but presumably iron-sulfur cluster // *FEBS Letters*. 2001. Vol. 505, № 2. P. 364–368.
23. *Kushnareva Y., Murphy A.N., Andreyev A.* Complex I-mediated reactive oxygen species generation: modulation by cytochrome c and NAD(P)⁺ oxidation-reduction state // *Biochemistry Journal*. 2002. Vol. 368. P. 545–553.
24. *Turrens J.F.* Mitochondrial formation of reactive oxygen species // *The Journal of Physiology*. 2003. Vol. 552. P. 335–344.
25. *Nicholls D.G., Budd S.L.* Mitochondria and neuronal survival // *Physiol. Rev.* 2000. Vol. 80(1). P. 15–60.
26. *Grivennikova K.G., Vinogradov A.D.* Generation of superoxide by the mitochondrial Complex I // *Biochimica et Biophysica Acta*. 2006. Vol. 1757. P. 553–561.
27. *Halestrap A.P., Brenner C.* The adenine nucleotide translocase: a central component of the mitochondrial permeability transition pore and key player in cell death // *Current Medicinal Chemistry*. 2003 Vol. 10(16). P. 1507–1525.
28. *Андреев А.Ю., Кушнарева Ю.Е., Старков А.А.* Метаболизм активных форм кислорода в митохондриях // *Биохимия*. 2005. Т. 70, вып. 2. С. 246–264.
29. *Bota D.A., Davies K.J.* Lon protease preferentially degrades oxidized mitochondrial aconitase by an ATP-stimulated mechanism // *Nature Cell Biology*. 2002. Vol. 4(9). P. 674–80.
30. *Gunter T.E., Yule D.I., Gunter K.K. et al.* Calcium and mitochondria // *FEBS Letters*. 2004. Vol. 567. P. 96–102.
31. *Zhang Y., Marcillat O., Giulivi C. et al.* The oxidative inactivation of mitochondrial electron transport components and ATPase // *Journal of Biological Chemistry*. 1990. Vol. 265. P. 16330–16336.

Irecle R. Knyazeva^{1,3}, Vladimir V. Ivanov¹,
Lubov P. Zharkova^{2,3}, Oleg P. Kutenkov³, Vladislav V. Rostov³,
Michael A. Bolshakov^{2,3}

¹Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

²Biological Institute of Tomsk State University, Tomsk, Russia

³Institute of High-Current Electronics of Siberian Division
of Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

THE EFFECT OF THE REPETITIVE PULSED MICROWAVES ON FUNCTIONAL ACTIVITY OF ISOLATED MITOCHONDRIA OF MICE LIVER

The effects of pulse-periodic microwave radiation with a pulse repetition frequency in the range of 8–22 per second and intensity of exposure from 70 to 1500 W/cm² per pulse on the functional activity of isolated liver mitochondria of mice were investigated. The rate of oxygen consumption in different metabolic states of mitochondria by Chance was used as a criterion for evaluating. The degree of conjugation of oxidation and phosphorylation was determined by the ratio of oxygen consumption rate in the phosphorylated and unphosphorylated states. It is shown that after irradiation changed the intensity of respiration on exogenous substrate and with the addition of ADP in the direction of decreasing and increasing (in most cases). The degree of conjugation of oxidation and phosphorylation either remained unchanged or decreased after irradiation by microwave pulses of lower intensities and the pulse repetition frequency from the used. One reason for the increase in oxygen consumption by mitochondria in constant or reduced conjugation of respiration and phosphorylation states could be the utilization of absorbed oxygen for the production of reactive oxygen species by the complexes of the respiratory chain. Reduction of mitochondrial respiration could be caused by the opening in the inner mitochondrial membrane pores nonspecific permeability by the high concentrations of oxidants. That event leads to metabolism of adenine nucleotides and decreasing of the ATP production and oxygen consumption. In the case when the generation rate ROS exceed their recycling, the products of oxidative modification can inhibit components of the antioxidant system and lead to changes in the respiratory chain. It can be assumed the existence of the dual action of reactive oxygen species on the functioning of the respiratory chain because the effect of pulse-periodic microwave radiation on the functional state of mitochondria is a complex dependence on the intensity and frequency of repetition. On the one hand, O₂^{•-} is produced in the process of electron transfer in the respiratory chain and ATP synthesis, on the other hand, its highest level in mitochondria breaks electron transport and oxidative phosphorylation.

Key words: repetitive pulsed microwaves; mitochondria of mice liver.

Received March 15, 2011