

УДК 57.043, 576.32/36

Л.П. Жаркова^{1,2}, В.В. Иванов³, И.Р. Князева^{1,3}, А.В. Керяя¹,
О.П. Кутенков², В.В. Ростов^{1,2}, М.А. Большаков^{1,2}

¹Биологический институт Томского государственного университета (г. Томск)

²Институт сильноточной электроники СО РАН (г. Томск)

³Сибирский государственный медицинский университет (г. Томск)

ИЗМЕНЕНИЕ ОБЪЕМА МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ НАНОСЕКУНДНЫХ ИМПУЛЬСНО-ПЕРИОДИЧЕСКИХ МИКРОВОЛНОВОГО И РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЙ

Работа выполнена в рамках Аналитической ведомственной целевой программы
«Развитие научного потенциала высшей школы (2011)»; проект № 2.1.1/13778

Исследовано влияние импульсно-периодических микроволнового и рентгеновского излучений на митохондрии печени мышей. В качестве индикаторов влияния использовалась оптическая плотность суспензии митохондрий, отображающая объемные характеристики этих органелл. Выявлено, что после облучения суспензии объем митохондрий может изменяться: эффект зависит от частоты повторяющегося фактора, а также от отсутствия или наличия ионов кальция в среде инкубации митохондрий. После воздействия наблюдалось как сокращение объема митохондрий (в большинстве случаев), так и их набухание, что может быть обусловлено модулирующим влиянием импульсно-периодических микроволнового и рентгеновского излучений на чувствительность неспецифической проницаемости митохондрий к ионам кальция.

Ключевые слова: импульсно-периодические электромагнитные излучения; митохондрии; ионы кальция.

Введение

Одной из внутриклеточных мишеней наносекундных импульсно-периодических микроволнового (ИПМИ) и рентгеновского (ИПРИ) излучений могут быть митохондрии. Подтверждением этому являются экспериментальные данные о влиянии ИПМИ и ИПРИ на импеданс суспензии митохондрий [1] и дыхание органелл, изолированных из печени мышей [2]. В работах предполагалось, что воздействие ИПМИ и ИПРИ способно запускать процессы окислительной модификации липидов и белков, что должно изменять физико-химические свойства биологических мембран и влиять на ионные потоки через них. Согласно современным представлениям окислительное повреждение органелл является мощным индуктором неспецифической проницаемости мембран митохондрий [3]. При этом считается, что в регуляции индукции неспецифической проницаемости внутренней мембраны органелл важную роль играет окисление специфических тиоловых групп в белках митохондрий. Она, наряду с оксидантами, ин-

дуцируется так же снижением уровня адениновых нуклеотидов и высокими концентрациями ионов кальция в митохондриях [4].

Изменение ионных потоков в митохондриях под воздействием ИПМИ и ИПРИ должно приводить к изменению их объема, поскольку накопление или обеднение матрикса органелл теми или иными ионами сопровождаются переносом молекул воды в него или из него соответственно. Изменение объема митохондрий приводит к изменению светопропускания суспензии органелл, что можно регистрировать с помощью спектрофотометра [5–8]. Регистрация изменения объема митохондрий в среде, содержащей ионы Ca^{2+} , позволяет оценить изменение чувствительности неспецифической проницаемости митохондрий в ответ на действие различных факторов [6].

Такой метод с успехом был использован для решения многих задач, связанных с оценкой функционального состояния митохондрий, в частности при изучении их дыхания, при исследовании механизмов переноса веществ через внутреннюю мембрану, а также при оценке влияния различных веществ [6] или при определении функционального состояния организма в условиях развития окислительного стресса [9]. Поэтому цель настоящего исследования – изучить влияние ИПМИ и ИПРИ на митохондрии по изменению их объема с помощью регистрации оптической плотности суспензии органелл.

Материалы и методики исследования

Эксперименты выполнены на митохондриях, изолированных из печени мышей. Все процедуры, связанные с забором печени из организма животных, осуществлялись в соответствии с нормами гуманного обращения с животными [10]. Опыты проводились в одно и то же время суток (в утренние часы). Изолированные митохондрии из печени мышей были получены общепринятым методом дифференциального центрифугирования [11]. Все манипуляции проводились при температуре от +1 до +4°C. 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 в течение 5 мин на рефрижераторной центрифуге ЦРЛ-1 (Россия) при 5000 g (0...+2°C). После этого надосадочная жидкость в течение 5 мин центрифугировалась при 10000 g (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. Количество белка определялось по Бредфорду [12].

Для облучения суспензии митохондрий ИПМИ использовался лабораторный импульсный генератор на основе магнетрона МИ-505 (несущая частота 10 ГГц, длительность импульсов на половинном уровне мощности 100 нс, частота повторения 10–22 имп./с, пиковая плотность потока мощности (пППМ) варьировала от 70 до 1500 Вт/см²). Измерение пППМ проводилось в соответствии с работами [13, 14]. В качестве источника ИПРИ применялся ускоритель Sinus 150, разработанный в Институте сильноточной электроники

СО РАН (г. Томск) [15], который генерировал фотоны рентгеновского излучения с энергией 90–120 кЭв, длительностью импульса 4 нс, частотой повторения 10–22 имп./с, дозой в импульсе 0,3–2 мР/имп. и суммарной поглощенной дозой до 80 мГр.

В работе тестировались суспензии митохондрий, облученные 4 000 импульсов ИПМИ или ИПРИ и ложнооблученные суспензии, которые подвергались аналогичным манипуляциям, что и облученные, но без включения источников излучения. Длительность воздействия варьировала от 3 до 7 мин в зависимости от частоты повторения импульсов.

Изменение объема митохондрий в суспензии после облучения ИПМИ или ИПРИ регистрировалось с помощью спектрофотометра СФ 103 (Россия) по изменению оптической плотности при длине волны 540 нм. Облученные или ложнооблученные суспензии митохондрий (1 мг митохондриального белка) помещались в среду, состоящую из 250 мМ сахарозы, 5 мМ $\text{K}_2\text{H}_2\text{PO}_4$, 2,5 мМ MgCl_2 (рН 7,4, 25°C). Митохондрии энергезировались добавлением 5 мМ сукцината. Для измерения скорости набухания митохондрий в присутствии ионов Ca^{2+} в инкубационную среду сразу после воздействия ИПМИ или ИПРИ добавлялся раствор CaCl_2 в конечной концентрации 200 нмоль/ мг белка.

Все эксперименты были проведены в 6 повторностях для каждого из использованных режимов воздействия. Величина эффекта рассчитывалась по изменению оптической плотности облученных образцов относительно этого показателя у ложнооблученных (рис. 1). Полученные результаты подвергались статистической обработке, при которой рассчитывались средняя арифметическая величина показателя и её стандартная ошибка. Значимость различий между показателями облученных и ложнооблученных выборок определялась с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни [16]. Все расчёты были выполнены с использованием лицензионного пакета компьютерных программ StatSoft Statistica 6.0.

Результаты исследования и обсуждение

На рис. 1 представлены типичные кривые регистрации набухания митохондрий по изменению оптической плотности суспензии органелл после воздействия ИПМИ или ИПРИ. Для унификации оценивания эффекта воздействия показателя изменения объема митохондрий регистрировались через 5 мин после прекращения облучения и, соответственно, через 5 мин после добавления ионов Ca^{2+} , которое осуществлялось сразу же после прекращения облучения.

Эффект воздействия ИПМИ. После облучения митохондрий ИПМИ с пППМ 70, 700 и 1500 Вт/см² при всех использованных частотах повторения импульсов изменений оптической плотности митохондрий в среде без ионов Ca^{2+} не наблюдалось (рис. 2, А), что указывало на отсутствие существенного изменения объема митохондрий. Это означает, что изменения ионных потоков не происходило либо потоки изменялись, но суммарный баланс переноса зарядов сохранялся. Результаты экспериментов согласуются с полученными нами ранее данными о том, что воздействие ИПМИ с пППМ 700 и 1500 Вт/см² при аналогичных частотах не изменяло импеданса суспензии ми-

тоохондрий [17]. Однако воздействие с пППМ 70 Вт/см² снижало этот параметр [17]. Можно предположить, что при низкоинтенсивном воздействии (пППМ 70 Вт/см²) мембрана митохондрий становится более проницаема для ионов, о чем свидетельствует снижение импеданса суспензии. Однако при этом перенос ионов сбалансирован и ионная сила матрикса митохондрий не изменяется, а следовательно, потоки воды через внутреннюю мембрану отсутствуют и потому объем остается неизменным.

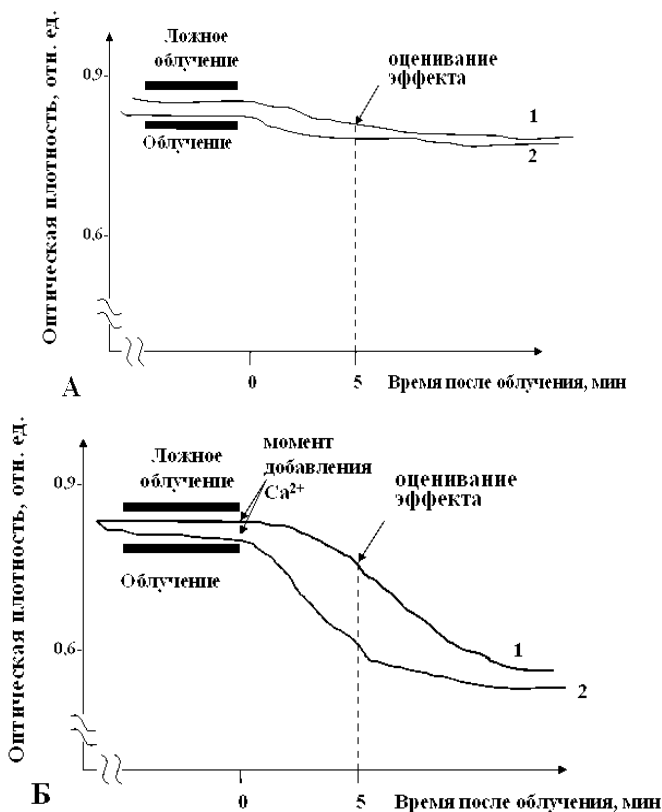


Рис. 1. Типичные кривые регистрации изменения оптической плотности суспензии изолированных митохондрий печени мышей после воздействия: А – в среде без ионов Ca^{2+} ; Б – с добавлением ионов Ca^{2+} (200 нмоль/мг белка) (описание в тексте)

При измерении индуцированного ионами Ca^{2+} набухания митохондрий, облученных ИПМИ, наблюдался иной эффект. После воздействия ИПМИ с пППМ 70 Вт/см² при всех использованных частотах оптическая плотность суспензии митохондрий повышалась относительно ложнооблученных образцов (рис. 2, Б). Это означало, что такое воздействие приводит к снижению чувствительности неспецифической проницаемости митохондрий, индуцированной ионами Ca^{2+} . Более интенсивное воздействие ИПМИ (700 Вт/см²) с частотами повторения 10 и 16 имп./с, наоборот, сопровождалось уменьшением оптиче-

ской плотности облученной суспензии. Это может быть результатом того, что после воздействия с таким режимом повышается чувствительность неспецифической проницаемости митохондрий к ионам Ca^{2+} и происходит более раннее открытие пор неспецифической проницаемости, в органеллы поступает вода и митохондрии быстрее набухают. Воздействие ИПМИ с интенсивностью 1500 Вт/см^2 при всех использованных частотах повторения импульсов значимо не меняло оптическую плотность суспензии митохондрий в ответ на ионы Ca^{2+} в сравнении с ложнооблученными образцами. Это означает, что потоки ионов через внутреннюю мембрану не меняются либо изменяются с полной компенсацией переносимых зарядов, поэтому и объем не изменяется.

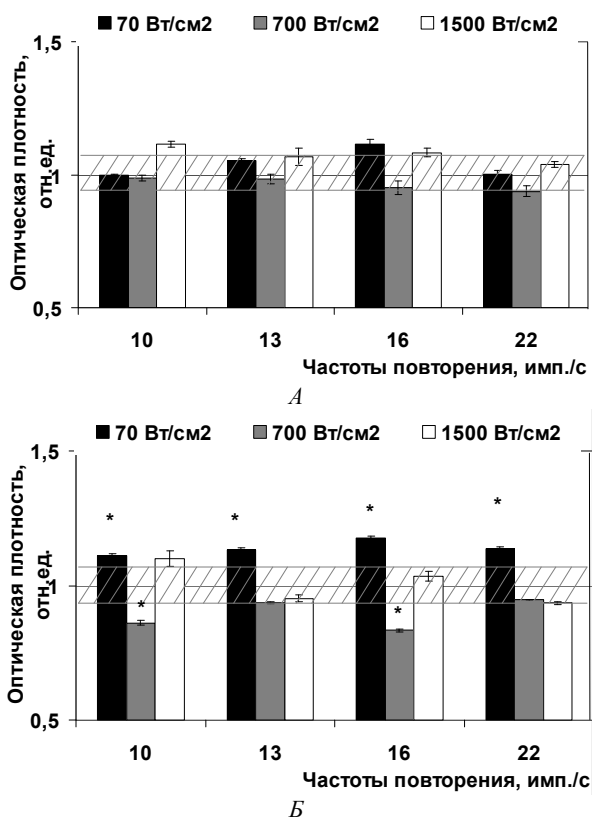


Рис. 2. Изменение оптической плотности суспензии митохондрий на 5-й минуте после воздействия ИПМИ с пППМ 70 , 700 и 1500 Вт/см^2 и частотами повторения импульсов 10 , 13 , 16 и 22 имп./с в среде инкубации: *A* – в среде без ионов Ca^{2+} ; *B* – с добавлением ионов Ca^{2+} (200 нмоль/мг белка). Заштрихованное пространство – 95%-ный доверительный интервал среднего значения показателя в ложнооблученных образцах. * – различия между показателями облученной и ЛО выборок статистически значимы ($p \leq 0,05$)

Эффект воздействия ИПРИ. Воздействие ИПРИ на митохондрии в среде без ионов кальция и при индукции набухания ионами Ca^{2+} сопровождалось реагированием разного характера (рис. 3).

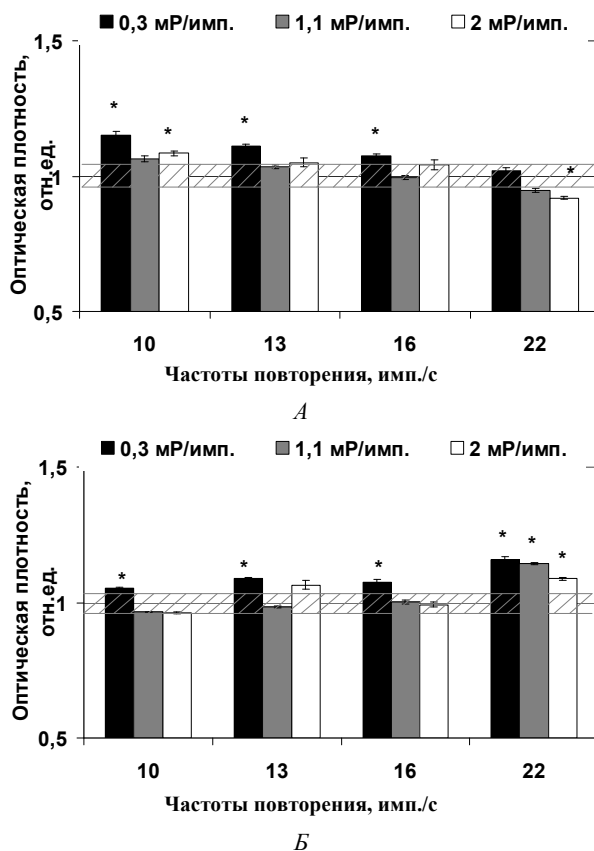


Рис. 3. Изменение оптической плотности суспензии митохондрий на 5-й минуте после воздействия ИПРИ с дозами 0,3–2 мР/имп. и частотами повторения импульсов 10–22 имп./с в среде инкубации: *А* – в среде без ионов Ca^{2+} ; *Б* – с добавлением ионов Ca^{2+} (200 нмоль/мг белка). Обозначения аналогичны использованным на рис. 2

После облучения митохондрий в среде без ионов кальция ИПРИ с дозой 0,3 мР/имп. наблюдалось увеличение оптической плотности суспензий (рис. 3, *А*) и этот эффект зависел как от частоты повторения импульсов, так и от дозы. При этом воздействие с частотами повторения 10, 13 и 16 имп./с повышало оптическую плотность суспензии и эффект был обратно пропорционален частоте. Облучение суспензии с максимальной из использованных доз (2 мР/имп.) сопровождалось изменением оптической плотности, причем эффект был также обратно пропорционален частоте повторения импульсов (воздействие с частотой 10 имп./с сопровождалось значимым повышением оптической плотности, а воздействие с частотой 22 имп./с – значимым понижением оптической плотности) (рис. 3, *А*). ИПРИ с дозой 1,1 мР/имп. при всех частотах повторения импульсов не влияло на оптическую плотность облученной суспензии (рис. 3, *А*).

При измерении индуцированного кальцием изменения объема митохондрий после их облучения ИПРИ наблюдался иной эффект. Воздействие со всеми дозами

и с частотами повторения 13 и 22 имп./с увеличивало оптическую плотность суспензии митохондрий (рис. 3, Б). При этом величина эффекта возрастала пропорционально увеличению частоты повторения импульсов. Наибольшее снижение оптической плотности наблюдалось после воздействия с частотой повторения 22 имп./с и дозой 0,3 мР/имп. Полученные результаты могут свидетельствовать о повышении чувствительности неспецифической проницаемости мембран митохондрий, индуцированной ионами кальция, обусловленном более ранним открытием пор неспецифической проницаемости в ответ на добавление Ca^{2+} .

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о влиянии наносекундных ИПМИ и ИПРИ на функциональное состояние митохондрий, оцененное по их объему. Эффект зависел от частоты повторения импульсов, от интенсивности или дозы воздействия, природы воздействующего фактора (ИПМИ или ИПРИ), а также от отсутствия или наличия ионов кальция в среде инкубации митохондрий. После воздействия можно было наблюдать как сокращение объема митохондрий (в большинстве случаев), так и их набухание. Причинами сокращения объема митохондрий могли быть: а) образование дополнительных структур проводимости, например разрывы во внутренней мембране митохондрий, которые обеспечивали нескомпенсированный выход ионов из матрикса, что инициировало вывод воды из митохондрий; б) изменение эффективности работы мембранных структур в сторону усиления вывода ионов.

Набухание митохондрий после воздействия может быть связано с окислительным стрессом, последующей активацией ПОЛ, в результате чего происходят частичное нарушение фосфолипидов мембран митохондрий и увеличение проницаемости внутренней мембраны митохондрий как для протонов, так и для других ионов [9]. Другим механизмом, также приводящим к повреждению митохондрий, может быть индукция пор неспецифической проницаемости на внутренней мембране. АФК в определенных условиях могут потенцировать открытие пор, поэтому эти два механизма обычно взаимосвязаны [3]. Ранее было показано, что воздействие ИПМИ или ИПРИ на митохондрии приводит к изменению уровня пероксида водорода в этих органеллах [18]. Результаты настоящей работы указывают на реальную возможность изменения чувствительности поры неспецифической проницаемости после воздействия ИПМИ или ИПРИ (рис. 2, Б и 3, Б). В результате ИПМИ или ИПРИ могут приводить к более раннему или замедленному открытию пор в ответ на ионы кальция. Это сопровождается более ранним или более поздним набуханием органелл в ответ на Ca^{2+} . Такой эффект может быть обусловлен окислением специфических тиоловых остатков белка митохондрий активными формами кислорода, являющимися важным регулятором индукции пор неспецифической проницаемости органелл [3]. При этом через такие неспецифические поры по градиенту электрического поля вначале могут входить преимущественно только катионы (в первую очередь ионы K^+ , Ca^{2+}), которые начинают накапливаться в матриксе с одновременным накоплением аниона фосфата. Увеличение осмотического давления в результате этого приводит ко входу воды внутрь митохондрий и их

набуханию. Отсутствие изменения объема митохондрий после воздействия может быть обусловлено либо отсутствием влияния, либо, что более важно, увеличением встречных потоков ионов, компенсирующих изменения осмомолярности. В этом случае преимущественного потока воды не должно быть, а значит, не будет изменяться объем митохондрий.

Поскольку эффекты изменения объема митохондрий после облучения в отсутствие и при наличии ионов кальция в среде существенно различаются, это указывает на важную роль этого иона в реагировании митохондрий на воздействие. В дополнение к этому в работе В.Р. Адей [19] показана существенная роль ионов кальция в формировании эффектов модулированных радиочастотных излучений. Как известно, ионы Ca^{2+} оказывают двойственное действие на функционирование митохондрий [3]. С одной стороны, ионы Ca^{2+} стимулируют окислительное фосфорилирование на многих уровнях, включая активацию пируватдегидрогеназы, изоцитратдегидрогеназы и альфа-кетоглутаратдегидрогеназы [20], также стимулируют АТФ-синтазу [21] и транслоказу адениновых нуклеотидов [22]. С другой стороны, высокие концентрации ионов Ca^{2+} , а также другие стимулы, в первую очередь оксиданты, открывают в митохондриях поры неспецифической проницаемости, что приводит к удалению адениновых нуклеотидов из митохондрий [23] и их набуханию.

Таким образом, механизмы изменения объема митохондрий печени мышей после воздействия наносекундных импульсно-периодических микроволнового и рентгеновского излучений в настоящий момент трудно интерпретировать. Тем не менее полученные результаты подтвердили данные о влиянии наносекундных импульсно-периодических электромагнитных излучений на функциональное состояние митохондрий [2]. Поскольку митохондрии играют важную роль в поддержании кальциевого гомеостаза клетки [24], ИПМИ или ИПРИ, изменяя уровень АФК и тем самым оказывая влияние на чувствительность неспецифических пор проницаемости мембран митохондрий, могут модулировать сигнальные пути в клетках, связанные с ионами Ca^{2+} .

Литература

1. Жаркова Л.П., Афанасьев К.В., Большаков М.А., Князева И.Р., Ростов В.В. 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.
2. Князева И.Р., Жаркова Л.П., Кутенков О.П., Ростов В.В., Большаков М.А. Изучение функционирования митохондрий после воздействия импульсно-периодических микроволнового и рентгеновского излучений // Тезисы докладов 21-го Съезда Физиологического общества им. И.П. Павлова. Москва ; Калуга, 2010. С. 276–277.
3. Brookes P.S., Yoon Y., Robotham J.L., Anders M.W., Sheu S-S. Calcium, ATP, and ROS; a mitochondrial love-hate triangle // American Journal of Physiology. Cell Physiology. 2004. Vol. 287. P. 817–833.
4. Brinkkoetter P-T., Song H., Loser R. et al. Hypothermic injury: the mitochondrial calcium, ATP and ROS love-hate triangle out of balance // Cellular physiology and biochemistry. 2008. Vol. 22. P. 195–204.
5. Николс Д. Биоэнергетика. Введение в хемиосмотическую теорию : пер. с англ. М. : Мир, 1985. 190 с.

6. Оливьер П.Дж., Сантос М.С., Узлас К.В. Тиолзависимые изменения неспецифической проницаемости и дыхания митохондрий, вызываемые доксорубицином // Биохимия. 2006. Т. 71, № 2. С. 247–254.
7. Пазялова А.А. Влияние микотоксинов боверицина и энниатина на функциональные системы митохондрий // Известия ПГПУ. 2007. № 3. С. 300–3007.
8. Crichton P.G., Parker N., Vidal-Puig A.J., Brand M.D. Not all mitochondrial carrier proteins support permeability transition pore formation: no involvement of uncoupling protein1 // Bioscience reports. 2009. Vol. 30(3). P. 187–192.
9. Брайловская И.В., Старков А.А., Мохова Е.Н. Индукция Ca^{2+} -зависимой поры в митохондриях печени под действием аскорбата в присутствии низких концентраций ионов железа // Биохимия. 2001. Т. 66, № 8. С. 1117–1121.
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, UK. 2007. 17 c. URL: www.felasa.eu.
11. Pallotti F., Lenaz G. Isolation and subfractionation of mitochondria from animal cells and tissue culture lines. // Methods Cell Biology. 2001. Vol. 65. P. 1–35.
12. Grafe U. Biochemistry of antibiotics // Berlin spectrum akademischer Verlag. 1992. P. 124–282.
13. Klimov A.I., Kovalchuk O.V., Rostov V.V., Sinyakov A.N. Measurement of Parameters of X-Band High-Power Microwave Superradiative Pulses // IEEE Transactions on Plasma Science. 2008. Vol. 36, № 6. P. 1–4.
14. Жаркова Л.П., Мамонова Н.В., Князева И.Р., Кутенков О.П., Ростов В.В., Большаков М.А. Регенерация нейрогенных язв слизистой желудка после облучения импульсно-периодическим микроволновым излучением // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2010. № 2. С. 112–122.
15. Артемов К.П., Ельчанинов А.А., Кутенков О.П., Ростов В.В., Турчановский И.Ю. Импульсно-периодический источник рентгеновского излучения // Приборы и техника эксперимента. 2004. № 5. С. 67–68.
16. Ефимов В.М., Ковалева В.Ю. Многомерный анализ биологических данных. 2-е изд., испр. и доп. СПб., 2008. 86 с.
17. Жаркова Л.П. Реализация окислительных процессов в печени и крови после кратковременного воздействия наносекундных импульсно-периодических электромагнитных излучений: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Томск, 2010. 24 с.
18. Жаркова Л.П., Князева И.Р., Иванов В.В., Большаков М.А., Кутенков О.П., Ростов В.В. Влияние импульсно-периодического рентгеновского и микроволнового излучений на уровень перекисей в изолированных гепатоцитах // Вестник Томского государственного университета. 2010. № 333. С. 161–163.
19. Adey W.R. Tissue interaction with nonionising electromagnetic fields // Physiology Review. 1981. Vol. 61(2). P. 435–514.
20. McCormack J.G., Denton R.M. Mitochondrial Ca^{2+} transport and the role of intramitochondrial Ca^{2+} in the regulation of energy metabolism // Dev Neuroscience. 1993. Vol. 15. P. 165–173.
21. Das A.M., Harris D.A. Control of mitochondrial ATP synthase in heart cells: inactive to active transitions caused by beating or positive inotropic agents // Cardiovascular Research. 1990. Vol. 24. P. 411–417.
22. Mildaziene V., Baniene R., Nauciene Z. et al. Calcium indirectly increases the control exerted by the adenine nucleotide translocator over 2-oxoglutarate oxidation in rat heart mitochondria // Archives of Biochemistry and Biophysics. 1995. Vol. 324. P. 130–134.
23. Halestrap A.P., Brennerb 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. P. 1507–1525.
24. Gunter T.E., Yule D.I., Gunter K.K., Eliseev R.I., Salter J.D. Calcium and mitochondria // FEBS Letters. 2004. Vol. 567. P. 96–102.

Lubov P. Zharkova^{1,2}, Vladimir V. Ivanov³, Ireclle R. Knyazeva^{1,3}, Anna V. Kereya¹,
Oleg P. Kutenkov², Vladislav V. Rostov^{1,2}, Michael A. Bolshakov^{1,2}

¹Biological Institute of Tomsk State University, Tomsk, Russia

²Institute of High-Current Electronics of Siberian Division of Russian Academy
of Sciences, Tomsk, Russia

³Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

CHANGES IN VOLUME OF MOUSE LIVER MITOCHONDRIA AFTER EXPOSURE TO NANOSECOND PULSED-PERIODIC MICROWAVE AND X-RAYS

The effect of nanosecond pulse-periodic microwave (RPMs) and pulse-periodic X-rays on the liver mitochondria of mice was investigated. Isolated mitochondria from mouse liver were extracted by standard method of differential centrifugation. The mitochondrial suspension irradiated 4000 microwave pulses (carrier frequency of 10 GHz, the pulse duration at half-power level of 100 ns, repetition rate of 10–22 pulses per second, the peak power density ranged from 70 to 1500 W/cm²) or pulse-periodic X-rays (the photon energy of 90120 keV, pulse duration of 4 ns, repetition rate of 10–22 pulses per second, dose per pulse ranged from 0,3 to 2 mR per pulse, and the total absorbed dose of 80 mGy) were tested. The source RPMs used laboratory pulse generator based on MI-505 magnetron, as a source of pulse-periodic X-rays served accelerator Sinus 150 (Tomsk). As impact indicators used an optical density of the suspension of mitochondria, showing the volumetric characteristics of these organelles. It was revealed that after irradiation a volume of mitochondria in suspension may vary. Effect depended on the pulse repetition frequency, the intensity or dose of exposure, the nature of the factor, as well as the absence or presence of calcium ions in the incubation medium. The effect of RPMs and X-rays irradiation of mitochondria in a calcium medium was significantly higher as compared with calcium free incubation medium. It could be seen as reducing the volume of mitochondria (in most cases) so their swelling after the exposure. The reasons for the decline of volume of mitochondria could be breaks in the inner membrane of mitochondria. That breaks provided not compensated exit of ions from the matrix, which initiated the water outflow from the mitochondria. Swelling may be due to input cations (K⁺, Ca²⁺) through nonspecific pores in conformity with the electric field gradient. Cations accumulate in the matrix with the simultaneous accumulation of phosphate anion. It is known that Ca²⁺ ions have a dual effect on the mitochondria function: a) stimulate oxidative processes and b) open the pores in the mitochondrial nonspecific permeability. As a result of this ions accumulation the osmotic pressure within mitochondria increases and it leads to the entrance of water into the mitochondria and swelling. This may be caused by the modulating influence of pulse-periodic microwave and X-rays on the sensitivity of nonspecific permeability of mitochondria inner membrane to calcium ions.

Key words: repetitive pulsed electromagnetic radiation; mitochondria; calcium ions.

Received March 15, 2011