

На правах рукописи

МОЛОДЦОВА
Ирина Дмитриевна

**ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ
МИЛЛИМЕТРОВОГО ДИАПАЗОНА НА ЭКСПРЕССИЮ
СИГНАЛЬНЫХ МОЛЕКУЛ В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК
СОСУДИСТОГО ЭНДОТЕЛИЯ ПРИ СТАРЕНИИ**

14.01.30 – геронтология и гериатрия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Санкт-Петербург – 2017

Работа выполнена в лаборатории восстановительного лечения и реабилитации АНО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии» и в лаборатории клеточной биологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта»

Научные руководители:

доктор медицинских наук, доцент
Медведев Дмитрий Станиславович;

профессор РАН,
доктор биологических наук, профессор
Полякова Виктория Олеговна

Официальные оппоненты:

Ильницкий Андрей Николаевич, доктор медицинских наук, доцент, ФГБОУДПО «Институт повышения квалификации Федерального медико-биологического агентства России», заведующий кафедрой терапии, гериатрии и антивозрастной медицины

Пальцева Екатерина Михайловна, профессор РАН, доктор медицинских наук, доцент, ФГБУ «Российский научный центр хирургии им. академика Б.В. Петровского», заведующая патологоанатомическим отделением II (отделением иммуногистохимическим)

Ведущая научная организация: ФГБУН Институт физиологии им. И.П. акад. Павлова РАН, г. Санкт-Петербург, Россия

Защита диссертации состоится «___» _____ 2017 г. в ___ часов на заседании диссертационного совета Д.521.103.01 при Санкт-Петербургском институте биорегуляции и геронтологии по адресу: 197110, Россия, Санкт-Петербург, пр. Динамо, д. 3.

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке и на сайте Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии <http://www.gerontology.ru>.

Автореферат разослан «___» _____ 2017 г.

Ученый секретарь
диссертационного Совета,
доктор биологических наук, профессор



Козина Людмила Семеновна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Одна из важнейших современных демографических особенностей заключается в прогрессировании старения населения многих стран мира, прежде всего европейского континента, т.е. роста относительного и общего числа людей в старших возрастных группах. Ожидается, что к 2025 году население Земли достигнет 8 миллиардов, при этом число людей старше 60 лет будет не менее 1,1 миллиарда человек.

При этом одной из основных причин нетрудоспособности и смертности у лиц старших возрастных групп является сердечно-сосудистая патология. В РФ смертность населения от болезней сердечно-сосудистой системы почти в 200 раз выше в возрастных группах 60 лет и старше, по сравнению с более молодыми [Гафаров В.В., Благинина М.Ю., 2005].

Развитие ряда заболеваний (ИБС, артериальной гипертензии, инфаркта миокарда, атеросклероза) во многом обусловлено патологическими возрастными изменениями в эндотелиальных клетках сосудов. В результате оксидативного стресса, длительной гемодинамической перегрузки артерий, гиперактивации ренин-ангиотензин-альдостероновой системы постепенно нарушается нейроэндокринная роль эндотелия, связанная с обеспечением вазодилатации сосудов, что необходимо для обеспечения функций внутренних органов и периферической мускулатуры в кровоснабжении, адекватном нагрузкам [Charbit M., 1997].

Основными проявлениями патологии эндотелия при старении являются увеличение частоты встречаемости полиплоидных эндотелиальных клеток, а также возрастание их полиморфизма. Происходит истончение эндотелиальной выстилки, увеличение перинуклеарного пространства, у клеточной мембраны формируются базальные выросты, а у ядер наблюдается фестончатое строение [Olivieri F. et al., 2013]. В цитоплазме клеток эндотелия растет число лизосом и миелоноподобных структур, при этом снижается степень клеточной адгезии, возрастает частота апоптоза, что в свою очередь часто приводит к очаговым изменениям в эндотелиальной выстилке сосудов.

Для эффективного восстановления функциональной активности эндотелия необходимо глубокое понимание молекулярно-клеточных каскадов и физиологических механизмов, лежащих в основе эндотелиальной дисфункции [Козлов, К.Л., 2015]. При этом существующие хирургические и медикаментозные методы лечения патологии сердечно-сосудистой системы у лиц старших возрастных групп имеют большое число противопоказаний и не всегда могут способствовать устранению этиологии эндотелиальной дисфункции на молекулярно-клеточном уровне.

В последние годы в числе методов, основанных на применении лечебных физических факторов, получило развитие направление, основанное на использовании электромагнитного излучения миллиметрового диапазона

(ЭМИ ММД) или, по другой классификации, электромагнитного излучения крайне высокочастотной частоты (ЭМИ КВЧ).

ЭМИ КВЧ в клинической практике получило название КВЧ-терапия. КВЧ-терапия показала значительную эффективность в лечении ряда болезней путем нормализации измененных болезнью физиологических процессов. Установлено, что в основе лечебного действия электромагнитного излучения крайне высокой частоты лежит его способность восстанавливать микроциркуляцию, гемостатические и реологические свойства крови [Бецкий О.В. Лебедева Н.Н., 2011].

Опубликованы клинические работы, описывающие благоприятный терапевтический эффект КВЧ-терапии при стенокардии, отмечена нормализация в системе микроциркуляции, центральной гемодинамике, свертывающей и противосвертывающей системах крови [Головачева Т.В., 1997; Киричук В.Ф. и др., 2004].

При сердечно-сосудистой патологии крайне высокочастотная терапия у пожилых пациентов в сочетании с медикаментозным лечением стимулирует синтез SH-содержащих соединений, обеспечивающих антиоксидантную защиту, что способствует усилению экспрессии рецепторов к кортизолу и росту его продукции. Совокупность данных факторов увеличивает адаптационные резервы организма и проявляет общие адаптивные саногенные эффекты при применении лечебных физических факторов [Медведев Д.С., 2011; 2011a].

Результаты серии исследований, проведенных в Научном центре сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева, показали, что под влиянием низкоинтенсивных электромагнитных полей у больных с хронической сердечной недостаточностью отмечается вазодилататорный эффект из-за снижения амплитуды миогенных колебаний и улучшения микроциркуляции [Бокерия О.Л. и др., 2013; 2013a].

Несмотря на значительное число исследований, выявивших эффективность использования КВЧ-терапии при лечении сердечно-сосудистой патологии в различных возрастных группах, остается недостаточно изученной роль молекулярных механизмов воздействия низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты на сосудистый эндотелий, в частности возрастные аспекты подобного воздействия, что и определяет актуальность настоящего исследования.

Цель и задачи исследования

Целью диссертационного исследования явилось изучение влияния электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на экспрессию сигнальных молекул в культуре клеток эндотелия сосудов при старении.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

1. Оценить динамику экспрессии сигнальных молекул – маркеров функциональной активности эндотелия (eNOS, ICAM-1, VEGF,

эндотелина-1, CD141, вазопрессина, ангиотензина) при старении культур эндотелиальных клеток сосудов.

2. Оценить воздействие электромагнитного излучения крайне высокой частоты различной длительности (5, 10, 15 минут) на экспрессию сигнальных молекул (eNOS, ICAM-1, VEGF, эндотелина-1, CD141, вазопрессина, ангиотензина) при старении культур эндотелиальных клеток сосудов.

3. Сравнить влияние электромагнитного излучения миллиметрового диапазона различной длительности (5, 10 и 15 минут) на экспрессию сигнальных молекул в «молодых» и «старых» культурах эндотелия сосудов по сравнению с «молодыми» и «старыми» культурами, не подвергавшимся электромагнитному воздействию.

4. Выявить основные молекулярные мишени при воздействии электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на сосудистый эндотелий при его старении.

Научная новизна

Впервые проведено исследование, направленное на изучение молекулярно-клеточных механизмов вазо- и геропротекторного действия электромагнитного излучения миллиметрового диапазона, что позволило патогенетически обосновать клинические эффекты применения электромагнитного излучения миллиметрового диапазона при лечении пациентов с сосудистой патологией и дать рекомендации для дальнейшего изучения данного физиотерапевтического метода в различных экспериментальных моделях.

Впервые установлено, что влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на эндотелий сосудов зависит от возраста клеток в культуре и длительности воздействия.

Впервые показано, что 5-минутное воздействие электромагнитного излучения миллиметрового диапазона (частота излучения 3–40 ГГц, длина волны 6,98–7,5 мм, частота модуляции несущей частоты $10 \pm 0,5$ Гц, средняя мощность излучения 0,1 мкВт) способно оказывать дилатационный эффект на сосуды, способствуя выработке эндотелиальной NO-синтазы. Выявлено увеличение показателей площади и оптической плотности экспрессии эндотелиальной NO-синтазы в т. н. «молодых» культурах клеток соответственно на 32,0% и 24,0% и в т. н. «старых» культурах эндотелиоцитов – на 57,0% и 34,0%.

Впервые установлено, что электромагнитное излучение миллиметрового диапазона способствует снижению уровня экспрессии молекулы сосудистой адгезии ICAM-1, гиперэкспрессия которой наблюдается на начальных этапах образования атеросклеротических бляшек.

Следует отметить, что наибольшее снижение уровня экспрессии ICAM-1 наблюдается при экспозиции 15 минут, тогда как время воздействия

5 и 10 минут оказывает на данный показатель менее выраженный эффект как в «молодых», так и в «старых» культурах эндотелия.

Впервые выявлено, что электромагнитное излучение миллиметрового диапазона способствует восстановлению мышечного тонуса сосудистой стенки. В основе этого процесса лежит способность электромагнитного излучения миллиметрового диапазона стимулировать экспрессию ангиотензина-2 и вазопрессина в «молодых» и «старых» культурах клеток. При этом важным является тот факт, что более выражен этот эффект в «молодых» культурах клеток в сравнении со «старыми».

Впервые установлено, что в «молодых» и «старых» культурах эндотелиоцитов уровень экспрессии тромбомодулина под влиянием электромагнитного излучения миллиметрового диапазона снижается, при этом наиболее выраженная динамика обнаружена при длительности воздействия 15 минут. Показано, что низкоинтенсивное электромагнитное излучение миллиметрового диапазона при длительности действия 15 минут в «молодых» и «старых» культурах клеток стимулирует экспрессию ключевого фактора ангиогенеза – VEGF.

Практическая значимость

В работе показана актуальность и практическая значимость изучения молекулярно-клеточных механизмов взаимодействия электромагнитного излучения миллиметрового диапазона с биологическими объектами на примере сосудистого эндотелия в процессе его старения в культуре клеток.

Полученные результаты по влиянию низкоинтенсивного электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на уровень синтеза eNOS позволяют обосновать его применение в комплексной терапии широкого круга сосудистой патологии у лиц старшего возраста, так как известно, что нарушение синтеза оксида азота в сосудистой системе является патогенетическим фактором атеросклероза, ангиопатии, инфаркта миокарда и другой возраст-ассоциированной патологии сосудов.

С позиций изучения молекулярных механизмов обоснована целесообразность применения электромагнитного излучения миллиметрового диапазона для профилактики развития атеросклеротических нарушений и в комплексной терапии пациентов с данной патологией.

Таким образом, в работе показано, что эффективность терапии пациентов старших возрастных групп с сердечно-сосудистой патологией с помощью электромагнитного излучения миллиметрового диапазона обусловлена его способностью регулировать экспрессию ряда молекул в эндотелии сосудов, синтез которых изменяется в ходе старения.

Положения, выносимые на защиту

1. Старение эндотелия сосудов *in vitro* характеризуется изменением профиля синтезируемых в нем сигнальных молекул. В «старых» культурах эндотелиальных клеток сосудов по сравнению с «молодыми» снижается уровень экспрессии маркеров функциональной активности эндотелия (eNOS, ICAM-1, VEGF, эндотелина-1).
2. Уровень экспрессии сигнальных молекул (VEGF, ICAM-1, CD141, eNOS, эндотелина-1, ангиотензина-2, вазопрессина) в культуре эндотелиальных клеток сосудов при старении зависит от длительности воздействия электромагнитного излучения миллиметрового диапазона.
3. Выраженность вазопротекторного эффекта электромагнитного излучения миллиметрового диапазона в «старых» культурах эндотелиоцитов зависит от времени воздействия: при длительности воздействия в течение 5 минут проявляется в увеличении продукции eNOS, при длительности воздействия в течение 15 минут проявляется в дополнительной экспрессии VEGF, CD141, ангиотензина-2, и ICAM-1 (при мощности излучения 0,1 мкВт, частоте излучения 3 - 40 ГГц, частоте модуляции несущей частоты $10 \pm 0,5$ Гц, длиной волны 6,98- 7,5 мм).
4. Регуляция времени воздействия электромагнитного излучения миллиметрового диапазона позволяет достигать различных вазо- и геропротекторных эффектов в культуре эндотелиальных клеток сосудов при старении.

Связь с научно-исследовательской работой Института

Диссертационное исследование проводится в соответствии с научной темой, выполняемой по научному плану деятельности НИР АНО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии».

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературных источников по теме диссертации, главы результатов собственных исследований, выводов и практических рекомендаций, списка использованной литературы. Объем диссертации включает 112 страниц, проиллюстрированных 29 рисунками. В списке использованной литературы имеется 179 источника, при этом на русском языке - 103, на иностранных языках - 76.

Публикации

По материалам диссертационного исследования опубликовано 26 научных работ, среди которых 6 статей в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, а также 16 тезисов докладов, 1 методические рекомендации и 3 учебных пособия для последипломного образования врачей.

Апробация и реализация диссертации

Материалы диссертации доложены на Всероссийской научной конференции молодых учёных «Медико-биологические аспекты химической безопасности» (Санкт-Петербург, 2013), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы диагностики, профилактики и лечения профессионально обусловленных заболеваний» (Сочи, 2013), ряде международных конференций и форумов: «Старшее поколение» (Санкт-Петербург, 2014) «Фундаментальные проблемы геронтологии и гериатрии» (Санкт-Петербург, 2014), «100 лет Оттовской морфологии: от рутинной гистологии к молекулярной микроскопии» (Санкт-Петербург, 2014).

Материалы диссертационного исследования внедрены в качестве учебных пособий и методических рекомендаций для последипломной подготовки врачей-гериатров и врачей-физиотерапевтов.

Личный вклад автора

Личный вклад автора состоит в самостоятельном планировании диссертационного исследования, проведении необходимых экспериментов, последующей статистической обработке и анализе полученных данных по изучению молекулярных механизмов воздействия электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на культуру клеток эндотелиоцитов при старении. В ходе выполнения исследования отработана и стандартизирована методика создания первичной культуры эндотелия сосудов человека и воздействия на нее электромагнитным излучением миллиметрового диапазона с последующим применением метода иммунофлуоресцентной конфокальной микроскопии.

Автор принимала участие во всех экспериментах, включавших культивирование клеток, работу с аппаратом КВЧ-терапии, иммунофлуоресцентное окрашивание, микроскопию, морфометрию, статистический анализ данных.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Характеристика исследуемого материала

Исследования были проведены на культуре клеток аорты человека. Фрагмент аорты без патологии был получен при аутопсии в ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им Д.О. Отта» (г. Санкт-Петербург) от человеческого эмбриона 21 недели гестации. Взятие материала проводилось в стерильных условиях. Сразу после взятия образца ткани, его

помещали в стерильную емкость с транспортной средой (питательная среда DMEM+антибиотик) и доставляли в лабораторию.

Из материала аорты была получена первичная эндотелиальная культура с помощью метода ферментативной диссоциации. Культуры клеток 3 пассажа определяли, как «молодые», а 20 пассажа – как «старые» в соответствии с рекомендациями Международной ассоциации исследований клеточных культур (США, Сан-Франциско, 2007). При исследовании были применены метод выделения и культивирования клеток, иммуноцитохимический метод с применением конфокальной микроскопии, компьютерный анализ микроскопических изображений.

Культивирование клеток

Культивирование клеток проводили на среде, содержащей M199(87,5%), FBS (10,0%), HEPES (1,5%), PES (1,0%) и L-глутамин. На чашках Петри (Sarstedt) после обработки раствором фибриногена (Gibco) проводилось выделение первичной культуры клеток. В дальнейшем культивирование осуществлялось в 50 мл флаконах с обработанной поверхностью (Sarstedt 25 см²). Клетки культивировали во флаконах с 5 мл среды выращиваемой культуры, в 3,5 см чашках Петри с 3 мл культуральной среды, в 1 мл на одну лунку 24-луночного планшета. Достижение первичной культурой монослоя происходило через 5-7 дней после чего осуществлялась процедура ее пересева. Методика пересева включала в себя элиминацию культуральной среды из чашки Петри или флакона с помощью стерильной пипетки) и удаление остатков среды и мертвых клеток путем промывки DPBS без Mg⁺² и Ca²⁺ в двух сменах по 3 и 5 мл на чашку Петри и флакон соответственно. Для съема клеток с подложки использовался раствор версена (Биолот). Для этого его добавляли на чашку Петри (500 мкл) и на флакон (1 мл), время при температуре 37°C на 3-5 минут. Контроль открепления клеток осуществлялся под микроскопом. Для предотвращения ферментативной реакции на чашку Петри (3 мл) и флакон (5 мл) добавлялась культуральная среда. В последующем проводили центрифугирование суспензии клеток в течении 5 мин при 1G с формированием нулевого пассажа. Концентрация посева составляла примерно 3x10⁵ клеток на флакон 50 мл.

Разделение «молодых» и «старых» культур клеток определялось культивированием до 3 и 20 пассажа соответственно. На указанных пассажах после облучения клеточные культуры были рассеяны на чашки Петри, затем было произведено иммуноцитохимическое окрашивание.

Методика воздействия на культуры клеток электромагнитным излучением миллиметрового диапазона

Воздействие на клетки проводили на 3 и 20 пассаже с помощью аппарата КВЧ-ИК терапии «Триомед», модель «Универсал» (ООО «Триомед», г. Санкт-Петербург), который представляет собой источник низкоинтенсивного излучения (8-10 мкВт/см²) электромагнитных волн крайне высокочастотного и инфракрасного диапазонов для неинвазивного воздействия на участки кожного покрова человека (Рег. уд. ФСР № 2009/06554 от 17 августа 2012 г.).

Воздействие оказывали путем поднесения излучателя к горлышку флакона с культурой клеток на 5/10/15 минут. В работе использовали одну из программ (режимов) модуляции - №12, определенную производителем оборудования. При этом использовалась частота излучения 43-40 ГГц, частота модуляции несущей частоты $10 \pm 0,5$ Гц, длина волны 6,98 -7,5 мм, средняя мощность излучения 0,1 мкВт.

Все культуры были разделены на 4 группы:

- 1 – контроль (без воздействия);
- 2 – культуры с воздействием, осуществлявшимся в течение 5 минут;
- 3 - культуры с воздействием, осуществлявшимся в течение 10 минут;
- 4 - культуры с воздействием, осуществлявшимся в течение 15 минут.

Иммуноцитохимический метод

С целью изучения функциональной активности клеток эндотелия аорты человека для иммуноцитохимического исследования использовались первичные мышинные моноклональные антитела к маркерам ICAM-1 (Abcam, 1:100), VEGF (Dako, 1:100), eNOS (1:50, Novocastra), эндотелину-1 (1:100, Abcam), ангиотензину-2 (1:50, Dako), тромбомодулину (CD141) (1:100, Abcam) и вазопрессину (1:50, Dako).

Окрашивание препаратов проводилось по стандартной методике. Перед иммуноцитохимией (ИЦХ) клетки должны 1-2 дня прикрепляться к покровным стеклам (5мм, Menzel) на дне лунок или чашки Петри.

Проводили фиксацию клеток по следующей методике:

1. Слив питательной среды.
2. Промывка в 2 сменах PBS по 5 минут.
3. Фиксация 4% раствором ПФА на dH₂O в течение 15 минут.
4. Промывка в 2 сменах PBS по 5 минут.
5. Пермеабелизация клеток 0,1% Тритоном, разведенным в PBS.
6. Промывка в 2 сменах PBS по 5 минут.
7. Для блокировки неспецифического связывания использовали Protein Block (Abcam), 10 мин во влажной камере.
8. Промывка в 2 сменах PBS по 5 минут.
9. Инкубация с первичными антителами. Инкубировали 30 минут или 1 час при 37°C в термостате или при комнатной температуре 21°C.

10. Промывка в 2 сменах PBS по 5 минут.
11. Инкубация с вторичными антителами, конъюгированными с флуорохромом Alexa Fluor 647 (1:1000, Abcam) 30 минут при комнатной температуре, в темноте.
12. Промывка в 2 сменах PBS по 5 минут.
13. Ядра клеток докрашивали Hoechst 33258 (Sigma, США) в течение 1 минуты.
14. Промывка в 2 сменах PBS по 5 минут.
15. Готовые препараты заключали под покровные стекла в монтирующую среду Fluorescent Mounting Medium (Dako, США).

Морфометрические исследования и компьютерный анализ микроскопических изображений

Оценку флуоресцентной микроскопии проводили на конфокальном микроскопе Olympus FluoView1000 с помощью программы «Morphology 5.0.» (Видеотест, Россия). В каждом случае анализировали 5 полей зрения при увеличении 200x и 400x.

Относительную площадь экспрессии рассчитывали путем определения (в процентах) площади нахождения иммунопозитивных клеток, к площади всех клеток, находящихся в поле зрения. Оптическая плотность экспрессии выражалась в условных единицах. Данные показатели отражали интенсивность синтеза или накопления сигнальных молекул.

Статистическая обработка результатов

При проведении статистического анализа полученных в ходе эксперимента результатов использовался пакет прикладных программ Statistica 6.0. Производился расчет среднего арифметического значения, стандартного отклонения и доверительного интервала.

С использованием критерия Шапиро-Уилка (Shapiro-Wilk, W-test) оценивался вид распределения. Проверка статистической однородности в нескольких выборках осуществлялась с применением критерия Крускала-Уоллиса). При выявлении статистически значимой неоднородности выборок, для выявления неоднородных групп применялся критерий Манна-Уитни. Уровень достоверности гипотезы об отсутствии различий принимали равным 0,01.

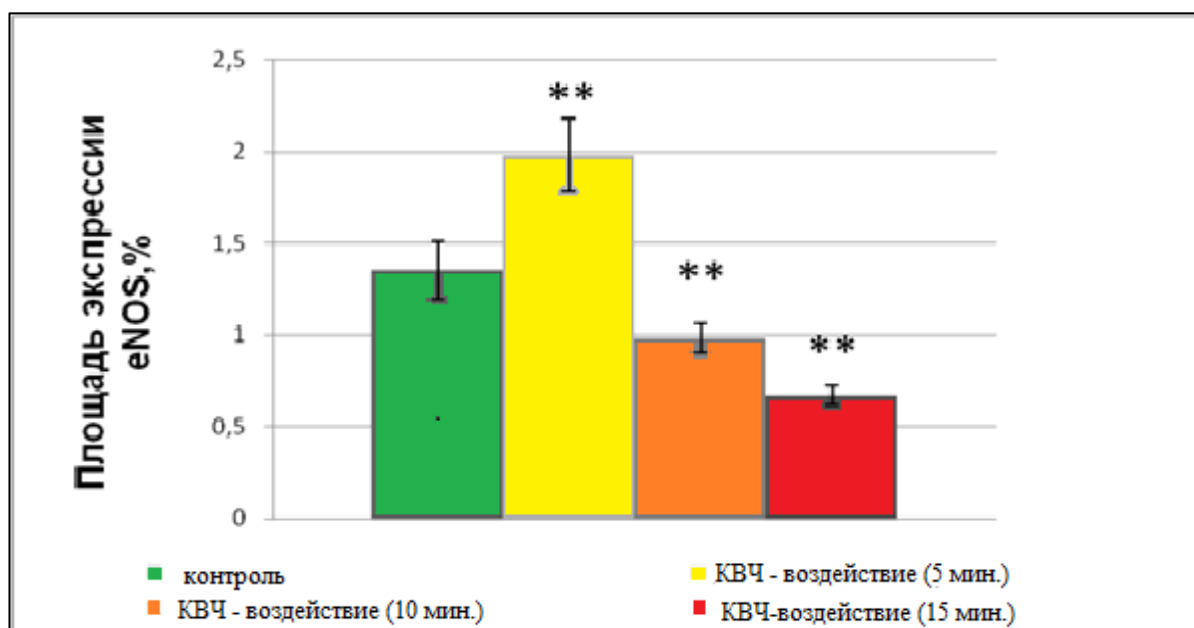
РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на экспрессию эндотелиальной NO-синтазы в клетках эндотелия сосудов при старении

В «молодых» и «старых» контрольных культурах клеток показатель площади экспрессии eNOS составил соответственно $1,35 \pm 0,16\%$ и $0,64 \pm 0,09\%$.

В «молодых» культурах воздействие электромагнитного излучения миллиметрового диапазона в течение 5 минут увеличило этот показатель на 32,0% до $1,98 \pm 0,2\%$, а воздействие в течение 10 и 15 минут наоборот - снижало на 28,0% до $0,98 \pm 0,08\%$, и на 51,0% до $0,67 \pm 0,05\%$ соответственно.

В отношении показателя оптической плотности воздействие длительностью 5 минут увеличивало уровень экспрессии до $0,25 \pm 0,03\%$ (на 24,0%) по сравнению с контрольной культурой клеток ($0,23 \pm 0,03\%$)(рис.1).

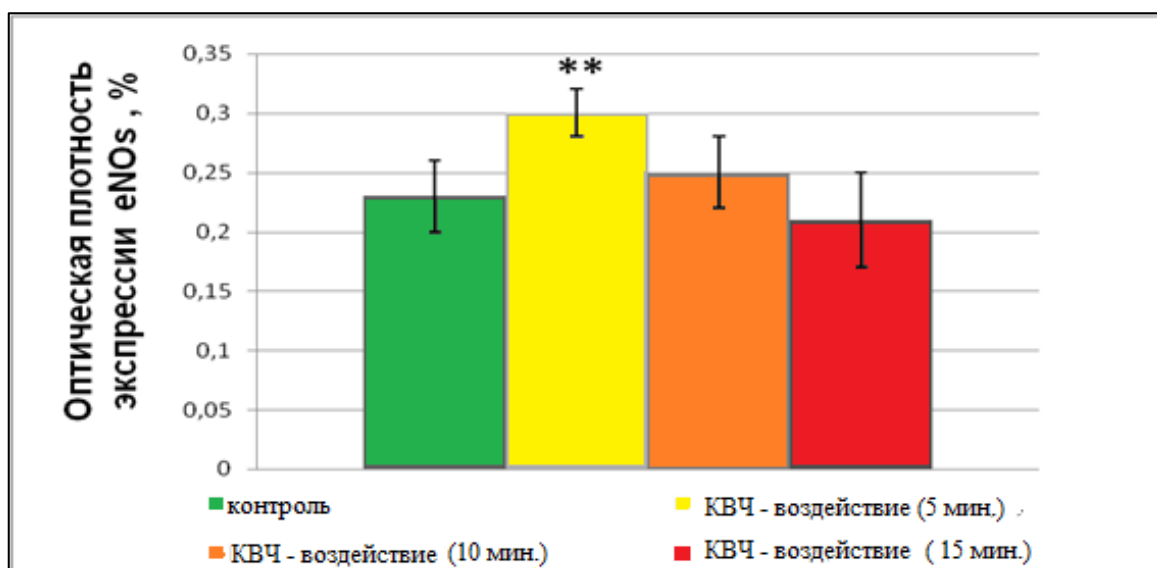


** - $p < 0,05$ – при сравнении показателя площади экспрессии eNOS по сравнению с соответствующим показателем в контрольной культуре клеток.

Рисунок 1. Воздействие электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на площадь экспрессии eNOS в «молодых» культурах эндотелиоцитов сосудов.

Воздействие в течение 5 минут увеличило уровень экспрессии eNOS в «старых» культурах эндотелиоцитов до $1,47 \pm 0,11\%$ (рост на 57,0%), а в течение 15 минут наоборот снижало его на 33,0%, до $0,43 \pm 0,06\%$.

Оптическая плотность экспрессии eNOS в «старых» культурах клеток, как и в «молодых» культурах, достоверно повысился на 34,0% после 5-минутного воздействия ЭМИ ММД и составил $0,29 \pm 0,03\%$ (рис.2).



** - $p < 0,05$ – при сравнении показателя оптической плотности экспрессии eNOS по сравнению с контрольной культурой эндотелиоцитов.

Рисунок 2. Воздействие электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на показатель оптической плотности экспрессии eNOS в «молодых» культурах клеток.

Увеличение времени воздействия не оказывало достоверного влияния на уровень экспрессии eNOS в «старой» культуре клеток.

Динамика экспрессии эндотелина-1 в эндотелиоцитах в ходе воздействия электромагнитного излучения миллиметрового диапазона при старении

В «молодых» контрольных клеточных культурах показатель площади экспрессии эндотелина-1 составил $2,05 \pm 0,19\%$. Воздействие в течение 5 минут повышает уровень экспрессии эндотелина-1 в «молодых» клеточных культурах на 51,0%, что составляет $4,17 \pm 0,23\%$. При этом увеличение времени воздействия до 10 минут так же увеличивает уровень экспрессии в меньшей степени – до $2,63 \pm 0,1\%$. (рост на 23,0%). На протяжении всего времени воздействия ЭМИ ММД не оказывало достоверного влияния на показатель оптической плотности экспрессии. В «старых» культурах клеток ЭМИ ММД оказывало сходное с «молодыми» культурами воздействие на клетки эндотелия. При 5-минутном воздействии уровень экспрессии эндотелина-1, как и в «молодых» культурах клеток, увеличился на 72,0% и составил $3,96 \pm 0,09\%$.

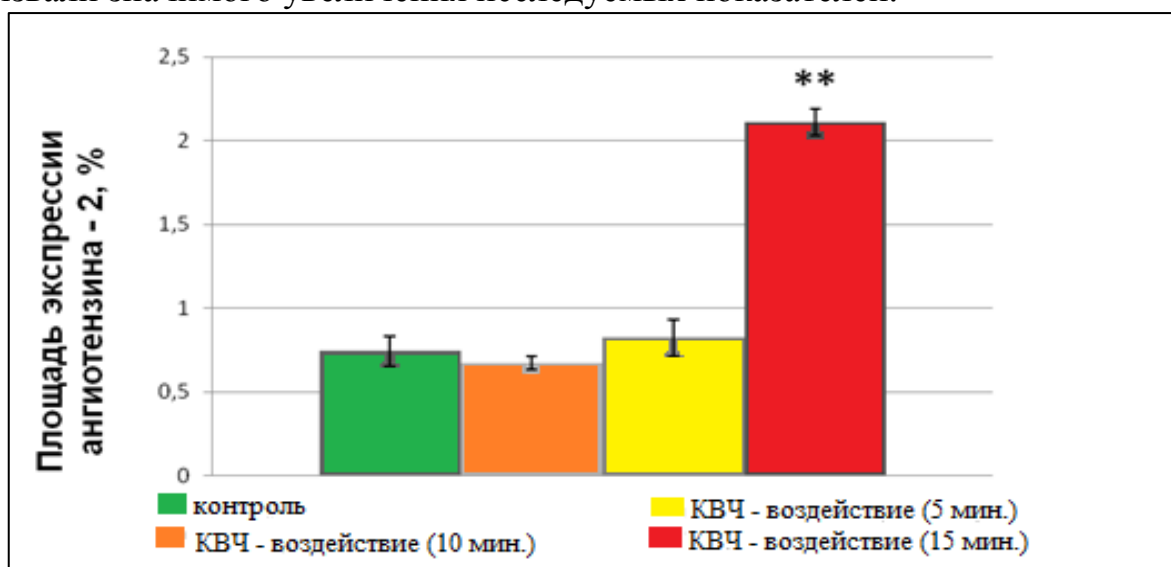
При этом увеличение времени воздействия до 10 минут увеличивало уровень экспрессии эндотелина-1 на 48,0%, значение данного показателя составило $2,12 \pm 0,16\%$. При этом показатель оптической плотности экспрессии увеличился под действием 5-минутного воздействия ЭМИ ММД на 35,0%, его значение составило $0,26 \pm 0,03\%$ и $0,17 \pm 0,03\%$ в контрольной культуре клеток. Увеличение длительности воздействия до 15 минут не

проводило к росту показателя оптической плотности экспрессии у эндотелина-1.

Динамика экспрессии ангиотензина-2 в эндотелиоцитах в ходе воздействия электромагнитного излучения миллиметрового диапазона при старении

В «молодых» культурах эндотелиоцитов показатель площади экспрессии ангиотензина-2 составил $0,83 \pm 0,05\%$. Воздействие ЭМИ ММД длительностью 5 и 10 минут не повлияло на уровень экспрессии ангиотензина-2 в «молодых» культурах клеток. При повышении длительности воздействия до 15 минут показатель площади экспрессии ангиотензина-2 увеличился в 2,46 раза по сравнению с данным показателем в контрольной культуре клеток и составил $2,05 \pm 0,04\%$. Воздействие ЭМИ ММД в «молодых» культурах клеток не оказывало достоверного влияния на показатель оптической плотности экспрессии ангиотензина-2.

В «старых» культурах клеток воздействие электромагнитного излучения крайне высокой частоты 15-минутной длительности вызвало увеличение как показателя площади экспрессии, так и показателя оптической плотности экспрессии ангиотензина - 2 на 65,0% и 37,0% соответственно (рис. 3). При этом воздействие меньшей длительности (5 и 10 минут) не вызвали значимого увеличения исследуемых показателей.



** - $p < 0,05$ – при сравнении показателя площади экспрессии ангиотензина-2 по сравнению с контрольной культурой.

Рисунок 3. Воздействие электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на площадь экспрессии ангиотензина-2 в «старых» культурах эндотелиоцитов сосудов.

Динамика экспрессии вазопрессина в эндотелиоцитах в ходе воздействия электромагнитного излучения миллиметрового диапазона при старении

В «молодых» культурах эндотелиоцитов показатель площади экспрессии вазопрессина составил $0,53 \pm 0,06\%$. Воздействие ЭМИ ММД длительностью 5 и 10 минут не оказало значимого влияния на уровень экспрессии вазопрессина в «молодых» культурах клеток. При длительности воздействия 15 минут показатель площади экспрессии вазопрессина достоверно увеличился в 2,2 раза в «молодых» клеточных культурах. Такая же длительность воздействия привела к увеличению показателя оптической плотности экспрессии на 48,0%. В «старых» культурах клеток показатели площади экспрессии и оптической плотности экспрессии так же, как и в «молодых» клеточных культурах, достоверно увеличились только после воздействия ЭМИ ММД в течение 15 минут. При этом показатель площади экспрессии увеличился на 59,0% по сравнению с данным показателем в контрольной культуре клеток и составил $0,52 \pm 0,07\%$, показатель оптической плотности экспрессии увеличился на 41,0% по сравнению с аналогичным показателем в контрольной клеточной культуре и составил $0,22 \pm 0,03\%$.

Динамика экспрессии тромбомодулина (CD141) в эндотелиоцитах в ходе воздействия электромагнитного излучения миллиметрового диапазона при старении

В «молодых» культурах эндотелиоцитов воздействие ЭМИ ММД не влияло на уровень экспрессии тромбомодулина. В «старых» контрольных культурах клеток показатель площади экспрессии CD141 составил $0,98 \pm 0,05\%$. После воздействия ЭМИ ММД длительностью 5 и 10 минут уровень экспрессии CD141 снизился соответственно на 66,0% и 54,0% и составил $0,34 \pm 0,06\%$ / $0,46 \pm 0,08\%$. Наибольшее снижение уровня экспрессии наблюдалось при длительности воздействия в течение 15 минут – в 4,9 раза по сравнению с данным показателем в контрольной культуре клеток. Под воздействием ЭМИ ММД в «старых» культурах эндотелиоцитов снижалась оптическая плотность экспрессии CD141. В контрольной культуре клеток её значение составило $0,11 \pm 0,02\%$. После 5-ти и 10-ти минутного воздействия значение оптической плотности снижалось до $0,06 \pm 0,01\%$ и $0,06 \pm 0,02\%$ соответственно, т.е. почти в 2 раза.

Динамика экспрессии VEGF в эндотелиоцитах в ходе воздействия электромагнитного излучения миллиметрового диапазона при старении

Уровень экспрессии VEGF в «молодой» клеточной культуре показал следующую динамику:

- Площадь экспрессии VEGF составила $3,35 \pm 0,17\%$.
- После 5-минутного воздействия ЭМИ ММД площадь экспрессии возросла до $3,89 \pm 0,07\%$ (рост на 14,0%).

- После 10-минутного воздействия площадь экспрессии VEGF составила $3,95 \pm 0,11\%$ (рост на 16,0%).

- После 15-минутного воздействия площадь экспрессии VEGF составила $0,28 \pm 0,03\%$. (рост на 39,0%).

Уровень экспрессии VEGF в «старой» клеточной культуре повысился на 29,0% ($2,04 \pm 0,2\%$), на 48,0% ($2,78 \pm 0,12\%$) и на 54,0% ($3,14 \pm 0,09\%$) при длительности воздействия ЭМИ ММД 5, 10 и 15 минут соответственно. Оптическая плотность экспрессии VEGF по сравнению с соответствующим показателем контрольной культуре повысилась только под воздействием ЭМИ ММД длительностью 15 минут ($0,26 \pm 0,03\%$, больше на 39,0%). При этом 5 и 10 минутное воздействие эффекта не оказало.

Динамика экспрессии ICAM в эндотелиоцитах в ходе воздействия электромагнитного излучения миллиметрового диапазона при старении

Под действием ЭМИ ММД площадь экспрессии ICAM-1 в «молодых» и «старых» культурах клеток уменьшилась (рис.4). В «молодых» контрольных культурах клеток показатель площади экспрессии молекулы адгезии ICAM составил $0,64 \pm 0,09\%$. После воздействия ЭМИ ММД уровень экспрессии молекулы адгезии ICAM-1 достоверно снизился на 22,0% ($0,5 \pm 0,08\%$), на 22,5% ($0,56 \pm 0,13\%$) и на 54,0% ($0,43 \pm 0,07\%$) при длительности воздействия 5, 10 и 15 минут соответственно.

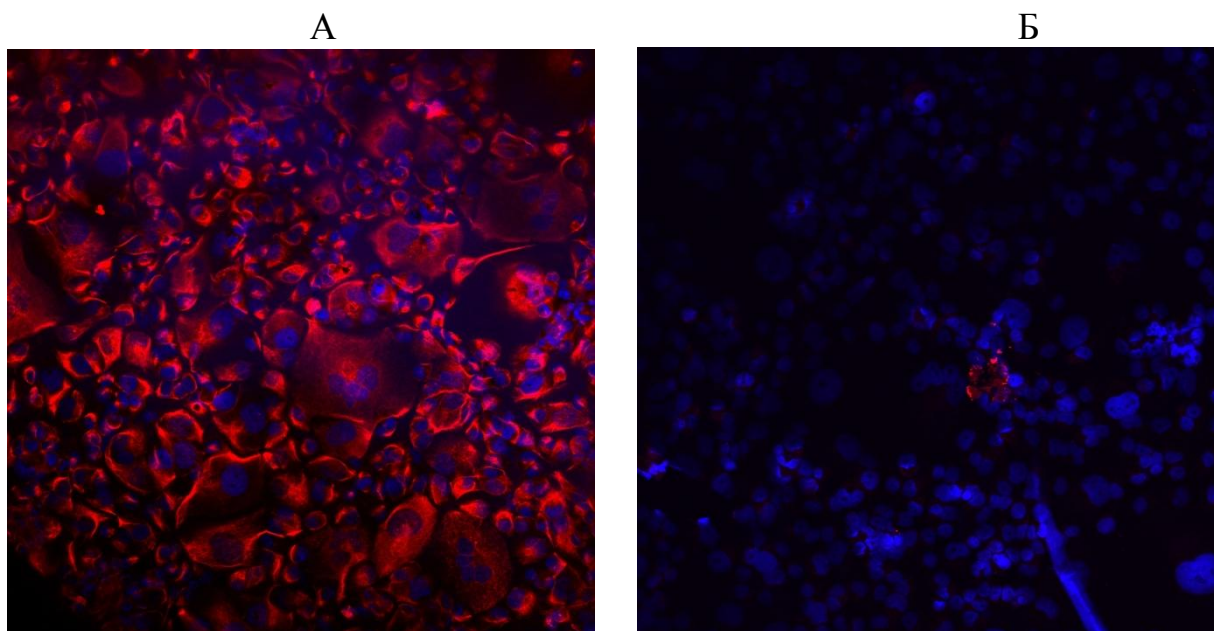


Рисунок 4. Экспрессия ICAM в «старых» культурах эндотелиоцитов сосудов, иммуноцитохимия, х200: А – контроль, Б – 15 минут воздействия электромагнитного излучения миллиметрового диапазона.

Электромагнитное излучение миллиметрового диапазона не оказало влияния на показатель оптической плотности экспрессии ICAM-1 в

«молодых» эндотелиоцитах вне зависимости от длительности воздействия, при этом у «старых» культур площадь экспрессии ICAM составил $2,33 \pm 0,1\%$.

Показатель степени экспрессии адгезии ICAM-1 достоверно снизился на 46,0% ($1,28 \pm 0,13\%$) – 5 минут, на 38,0% ($1,45 \pm 0,17\%$) – 10 минут, и на 59,0% ($0,97 \pm 0,07$) 15 минут воздействия ЭМИ ММД.

Оптическая плотность экспрессии по сравнению с контрольной клеточной культурой также достоверно уменьшилась на 34,0% до $0,08 \pm 0,02\%$ (5 минут), на 25,0% до $0,09 \pm 0,02\%$ (10 минут) и на 34,0% до $0,08 \pm 0,02\%$ (15 минут действия ЭМИ КВЧ).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Электромагнитное излучение миллиметрового диапазона как физиотерапевтический метод под названием КВЧ-терапия активно используется в комплексной терапии различных заболеваний, в том числе болезней сердечно-сосудистой системы. Имеются многочисленные данные о высокой эффективности данного метода в комплексном лечении лиц пожилого и старческого возраста, страдающих заболеваниями сердечно-сосудистой системы. В работах прежних лет установлено, что в основе лечебного действия КВЧ-терапии лежит его способность восстанавливать микроциркуляцию, гемостатические и реологические свойства крови [Петенкова, А.А., 2015].

По данным литературы, включение КВЧ-терапии в комплексное лечение пациентов с острым инфарктом миокарда позволяет достичь увеличения толерантности к физической нагрузке, снижения уровня госпитальной летальности, усиления антиангинального, гемодинамического, гипотензивного и антиаритмического эффектов [Головачева Т.В., 2009].

Современные клинические работы по изучению механизмов и эффектов КВЧ-терапии у пациентов старших возрастных групп показали, что включение данного метода в комплексное лечение патогенетически и клинически целесообразно [Медведев Д.С., 2011а].

При этом молекулярно-клеточные механизмы взаимодействия миллиметровых волн с биологическими объектами практически не исследовались. Таким образом, поиск молекулярных мишеней действия ЭМИ ММД на эндотелий сосудов открывает новые перспективы применения этого вида терапии при лечении сердечно-сосудистых заболеваний у людей разного возраста [Белоусов С.С., Новиков И.И., 2010].

В ходе работы было определено, что в культурах сосудистого эндотелия человека при старении воздействие электромагнитного излучения миллиметрового диапазона (5 минут) может вызывать дилатацию сосудов и производит стимулирующий эффект на продукцию NO-синтазы в эндотелиоцитах. На это обстоятельство указывает увеличение экспрессии NO-синтазы на 32,0% в «молодых» и 57,0% в «старых» культурах. При старении культур эндотелия наблюдалось снижение синтеза NO-синтазы, что указывает на возрастные особенности развития эндотелиальной дисфункции.

Поскольку нарушение синтеза NO в сосудистой системе является патогенетическим фактором таких ассоциированных с возрастом заболеваний, как атеросклероз и диабетическая ангиопатия, острый инфаркт миокарда, нестабильная стенокардия [Ильницкий, А.Н., 2007], полученные результаты позволяют обосновать применение ЭМИ ММД в комплексной терапии сосудистой патологии у лиц старшего возраста. В то же время с осторожностью следует применять ЭМИ ММД для лечения выраженного атеросклеротического поражения сосудов, так как 5-минутное воздействие вызывает повышение экспрессии эндотелина-1, синтезируемого при повреждении сосудистой стенки атеросклеротическими бляшками.

При этом было установлено, что электромагнитное излучение миллиметрового диапазона способствует снижению уровня экспрессии молекулы сосудистой адгезии ICAM-1, гиперэкспрессия которой наблюдается на начальных этапах развития атеросклероза (до образования бляшек). Следует отметить, что наибольшее снижение уровня экспрессии ICAM-1 – на 54,0%, наблюдалось при длительности воздействия в течение 15 минут в «старых» культурах клеток. При этом в культурах молодых эндотелиоцитов этот эффект был менее выражен, уровень экспрессии ICAM-1 под действием ЭМИ ММД снизился только на 39,0%.

Исследование влияния ЭМИ ММД на продукцию вазопрессина и ангиотензина-2 на старение эндотелиоцитов *in vitro* позволило установить, что воздействие в течение 15 минут приводит к повышению уровня экспрессии этих белков в 2-2,5 раза в «молодых» культурах клеток и на 60,0%-70,0% в «старых» культурах. Поскольку повышение экспрессии ангиотензина-2 и вазопрессина способствует сужению сосудов и повышению тонуса мышечного слоя сосудистой стенки, ЭМИ ММД может быть рекомендовано к применению у пациентов с гипотонией, в особенности у лиц молодого возраста.

Выявлено антиагрегантное действие ЭМИ ММД. Установлено, что в «молодых» и «старых» культурах эндотелиоцитов уровень экспрессии тромбомодулина (CD141) снизился при длительности воздействия в течение 15 минут соответственно на 66,0%, т.е. в 4,9 раза. Таким образом, ЭМИ ММД может применяться для снижения риска тромбообразования, при этом наибольший эффект будет проявляться у лиц старших возрастных групп. Известно, что с возрастом пролиферативная способность клеток снижается, в отношении сосудистой ткани этот эффект в первую очередь проявляется уменьшением экспрессии фактора ангиогенеза VEGF [Douvaras P. et al., 2009]. Установлено, что электромагнитное излучение миллиметрового диапазона при длительности воздействия в течение 15 минут в «молодых» и «старых» культурах увеличивает экспрессию VEGF соответственно на 39,0% и 54,0%. Из этого следует, что ЭМИ миллиметрового диапазона может применяться для профилактики нарушения целостности эндотелия у пациентов старших возрастных групп.

Установлено, что ЭМИ ММД различной длительности воздействия оказывает различное действие на экспрессию сигнальных молекул при старении эндотелия сосудов в культуре: 5-минутное воздействие оказывает наибольший эффект на экспрессию NO-синтазы и эндотелина-1, тогда как 15-минутное излучение регулирует экспрессию других молекул – VEGF, CD141, ICAM-1, ангиотензина-2, вазопрессина.

Полученные данные свидетельствуют, что патогенетически целесообразность терапии сердечно-сосудистой патологии у лиц старшего возраста с помощью ЭМИ ММД обусловлена его способностью регулировать экспрессию ряда молекул – маркеров функциональной активности эндотелия, синтез которых нарушается при клеточном старении.

ВЫВОДЫ

1. При старении культур клеток эндотелия экспрессия сигнальных молекул – маркеров функциональной активности эндотелия (eNOS, ICAM-1, VEGF, эндотелин-1) снижается, а синтез CD141, вазопрессина, и ангиотензина не изменяется.

2. Воздействие электромагнитного излучения миллиметрового диапазона (частота излучения 3 - 40 ГГц, частота модуляции несущей частоты $10,0 \pm 0,5$ Гц, длина волны – от 6,98 до 7,50 мм, средняя мощность излучения 0,1 мкВт) в зависимости от времени воздействия, по-разному влияет на экспрессию сигнальных молекул (eNOS, ICAM-1, VEGF, CD141, эндотелин-1, ангиотензин-2, вазопрессин) в эндотелии сосудов при старении клеточных культур.

3. Воздействие электромагнитного излучения миллиметрового диапазона длительностью 5 минут оказывает вазопротекторный эффект благодаря стимуляции экспрессии эндотелиальной NO-синтазы (eNOS), при этом в «старых» культурах клеток данный эффект проявляется более выражено по сравнению с «молодыми» культурами клеток.

4. Воздействие электромагнитного излучения миллиметрового диапазона длительностью 15 минут оказывает вазопротекторный эффект, благодаря стимуляции экспрессии ангиотензина-2, вазопрессина, фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и снижению синтеза молекулы адгезии ICAM-1, тромбомодулина (CD141). В «старых» культурах клеток эффект воздействия электромагнитного излучения миллиметрового диапазона был в несколько раз выше, чем в «молодых» культурах клеток.

5. В зависимости от длительности воздействия электромагнитное излучение миллиметрового диапазона оказывает различные вазопротекторные и геропротекторные эффекты на эндотелий сосудов при его старении.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Воздействие электромагнитного излучения миллиметрового диапазона частотой излучения и модуляции несущей частоты 3 - 40 ГГц, и $10 \pm 0,5$ Гц соответственно, длиной волны 6- 7,5 мм и средней мощностью 0,1 мкВт в течение 5 минут может быть рекомендовано для изучения при разных моделях ангиопатии, острого инфаркта миокарда и нестабильной стенокардии.

2. Воздействие электромагнитного излучения миллиметрового диапазона с такими же характеристиками в течение 15 минут может быть рекомендовано для изучения на разных моделях с индуцированными начальными проявлениями атеросклероза.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, рекомендованных ВАК Минобразования и науки РФ

1. Влияние электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на синтез оксида азота при старении эндотелия сосудов *in vitro* / И.Д. Молодцова, Д.С. Медведев, В.О. Полякова, Н.С. Линькова, Г.И. Гурко // Успехи геронтологии. – 2015. – № 1. – С.68-71.
2. Динамика экспрессии сигнальных молекул у пациентов старших возрастных групп под влиянием низкоинтенсивного миллиметрового излучения / Д.С. Медведев, В.В. Бенберин, И.Д. Молодцова, О.А. Янова // Молекулярная медицина. – 2014. - № 5. – С. 46-50.
3. *Медведев, Д.С.* Нейроиммуноэндокринные аспекты влияния низкоинтенсивного электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на организм человека при различной возраст-ассоциированной патологии / Д.С. Медведев, И.Д. Молодцова, О.А. Янова // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 9. – С. 866-870.
4. *Медведев, Д.С.* Оксидантный статус при возрастной патологии и динамика его показателей под влиянием электромагнитного излучения миллиметрового диапазона / Д.С. Медведев, О.А. Янова, И.Д. Молодцова // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 9. – С. 861-865.
5. *Молодцова, И.Д.* Вазо- и геропротекторные эффекты электромагнитного излучения миллиметрового диапазона при его воздействии на эндотелий сосудов при старении / И.Д. Молодцова, В.О. Полякова, Д.С. Медведев // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 10. – С. 1166-1170.
6. *Молодцова, И.Д.* Влияние электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на экспрессию сигнальных молекул в культуре клеток сосудистого эндотелия при старении / И.Д. Молодцова, Д.С. Медведев, Н.С. Линькова // Клиническая геронтология. – 2015. – № 1-2. – С. 33-37.

Методические рекомендации и учебные пособия

7. Методические рекомендации по лечебно-профилактическому применению аппарата КВЧ-ИК терапии «Триомед»: методические рекомендации СПбМСИ / Медведев Д.С., Лапотников А.В., Бадыров Т.О., Янова О.А., Молодцова И.Д. – СПб. – 2013. – 36 с.
8. Применение КВЧ-терапии в клинической геронтологии: учебное пособие СПбМСИ / Медведев Д.С., Бенберин В.В., Лапотников А.В., Бадыров Т.О., Янова О.А., Молодцова И.Д. – СПб. – 2014. – 64 с.
9. Применение КВЧ-терапии в лечении пациентов старших возрастных групп с сердечно-сосудистыми заболеваниями: клеточно-молекулярные и биофизические аспекты: учебное пособие СПбМСИ /

Медведев Д.С., Молодцова И.Д., Мурсалов С.У., Н.С. Линькова, Мальцев Д.С., Лапотников А.В. – СПб. – 2015. – 56 с.

10. Профилактика преждевременного старения организма: учебное пособие СПбМСИ / Медведев Д.С., Мурсалов С.У., Мурсалов А.У., Молодцова И.Д., Лапотников А.В. – СПб. – 2015. – 60 с.

Тезисы докладов

11. Вазопротекторные эффекты миллиметрового инфракрасного излучения при старении клеток сосудов *in vitro* / И.Д. Молодцова, Д.С. Медведев, В.О. Полякова, Н.С. Линькова // Матер. науч. конф. «Фундаментальные проблемы геронтологии и гериатрии» в журн. «Успехи геронтологии» – 2014. – Т.27, № 2. – С. 50.

12. Влияние КВЧ-излучения на экспрессию молекул e-NOS и CD141 в эндотелии сосудов / И.Д. Молодцова, Д.С. Медведев, В.О. Полякова, Н.С. Линькова // Матер. междунар. юбилейной конф. «100 лет Оттовской морфологии: от рутинной гистологии к молекулярной микроскопии» – СПб., 2014. – С. 25-26.

13. Влияние КВЧ-излучения на функциональное состояние клеток эндотелия при старении / О.А. Янова, И.Д. Молодцова, Н.И. Трифонов, Н.А. Красковская, В.О. Полякова, Д.С. Медведев, А.В. Костылев // Пушкинские чтения. – СПб. – 2014. – С. 153-154.

14. Влияние электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на аэробную выносливость человека / Е.С. Касьяненко, И.Д. Молодцова, Е.В. Зябко, И.Б. Сиваченко // Сб. науч. тр. Всерос. науч. конф. молодых учёных «Медико-биологические аспекты химической безопасности». – СПб. – 2013. – С. 87-88.

15. Влияние электромагнитного излучения крайне высокой частоты на психофизиологические показатели человека / И.Д. Молодцова, М.П. Гаврилова, И.Б. Сиваченко, Е.С. Касьяненко, Е.В. Зябко // Сб. тр. Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием «Актуальные проблемы диагностики, профилактики и лечения профессионально обусловленных заболеваний». – Сочи. – 2013. – С. 91-92.

16. КВЧ-излучение снижает выраженность митохондриального апоптоза в буккальном эпителии у лиц старшего возраста с хроническим пародонтитом / Д.С. Медведев, И.Д. Молодцова, В.О. Полякова, Н.С. Линькова // Матер. науч. конф. «Фундаментальные проблемы геронтологии и гериатрии» «Успехи геронтологии» – 2014. – Т.27, № 2. Прил. – С. 49.

17. КВЧ-излучение регулирует экспрессию коннексинов в эндотелии сосудов при старении / Д.С. Медведев, И.Д. Молодцова, В.О. Полякова, Н.С. Линькова // Матер. науч. конф. «Фундаментальные проблемы геронтологии и гериатрии» в журн. «Успехи геронтологии» – 2014. – Т.27, № 2. – С. 48.

18. КВЧ-излучение стимулирует процессы клеточного обновления в эндотелии сосудов при их старении / И.Д. Молодцова, Д.С. Медведев, В.О. Полякова, Н.С. Линькова // Матер. междунар. форума «Старшее поколение» – СПб. – 2014. – С. 96.
19. Комплексная оценка влияния электромагнитного излучения на функциональное состояние центральной нервной системы / Е.С. Касьяненко, М.П. Гаврилова, Е.В. Зябко, О.В. Шаршакова, И.Д. Молодцова // Сб. науч. тр. Всерос. науч. конф. молодых учёных «Медико-биологические аспекты химической безопасности». – СПб. – 2013. – С.89-90.
20. *Медведев, Д.С.* Качество жизни пациентов пожилого возраста и миллиметровая терапия / Д.С. Медведев, И.Д. Молодцова, О.А. Янова // Международный научно-исследовательский журнал. – 2014. – № 2-3 (21). – С. 75-76.
21. *Медведев, Д.С.* Патогенетические механизмы гериатрических лечебных эффектов электромагнитного излучения миллиметрового диапазона / Д.С. Медведев, И.Д. Молодцова, О.А. Янова // Матер. междунар. конф. «Новая наука: от идеи к результату». – Сургут. – 2016. – С. 28-31.
22. *Медведев, Д.С.* Применение лечебных физических факторов в обеспечение качества жизни / Д.С., Медведев И.Д. Молодцова, О.А. Янова // Матер. междунар. конф. «Новая наука: от идеи к результату». – Сургут. – 2016. – С. 31-34.
23. *Молодцова, И.Д.* КВЧ-излучение замедляет процессы тромбообразования в эндотелии сосудов *in vitro* / И.Д. Молодцова, В.О. Полякова, Д.С. Медведев // Матер. междунар. юб. конф. «100 лет Оттовской морфологии: от рутинной гистологии к молекулярной микроскопии» – СПб. – 2014. – С. 26-27.
24. *Молодцова, И.Д.* Экспрессии сигнальных и электромагнитное излучение миллиметрового диапазона / И.Д. Молодцова, Д.С. Медведев, О.А. Якова // Матер. междунар. конф. «Взаимодействие нервной и иммунной систем в норме и патологии». – СПб. – 2015. – С. 120-121.
25. *Молодцова, И.Д.* Оценка влияния КВЧ-пунктуры на показатели физической работоспособности / И.Д. Молодцова, Е.В. Зябко, И.Б. Сиваченко, Е.С. Касьяненко // Сб. науч. трудов Всерос. науч. конф. молодых учёных «Медико-биологические аспекты химической безопасности». – СПб. – 2013. – С. 246-247.
26. Оценка влияния КВЧ-пунктуры на динамику функционального состояния центральной нервной системы и психомоторных процессов / Зябко Е.В., Шаршакова О.В., Молодцова И.Д., Е.С. Касьяненко, Сиваченко И.Б., М.П. Гаврилова // Сб. тр. Всерос. науч.-практ. конф. с междунар.уч. «Актуальные проблемы диагностики, профилактики и лечения профессионально обусловленных заболеваний». – Сочи, 2013. – С.93-94.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ИБС	ишемическая болезнь сердца
КВЧ	крайне высокая частота
ММД	миллиметровый диапазон
ЭМИ	электромагнитное излучение
ХСН	хроническая сердечная недостаточность
CD	кластер дифференцировки
ICAM	внутриклеточная молекула адгезии
NOS	NO – синтаза
VEGF	фактор роста эндотелия сосудов

МОЛОДЦОВА Ирина Дмитриевна ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ МИЛЛИМЕТРОВОГО ДИАПАЗОНА НА ЭКСПРЕССИЮ СИГНАЛЬНЫХ МОЛЕКУЛ В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК СОСУДИСТОГО ЭНДОТЕЛИЯ ПРИ СТАРЕНИИ // Автореф. дис. канд. биол. наук: 14.01.30. – СПб. – 2017. – 24 с.

Подписано в печать «___» _____ 2017. Формат 60*84 1/16.

Бумага офсетная. Печать офсетная. Печ. л. 2,0.

Тираж 100 экз. Заказ _____.

Отпечатано с готового оригинал-макета.

ЗАО «Принт – Экспресс»

197376, С.-Петербург, ул. Большая Монетная, 5 лит. А

СПИСОК ЦИТИРУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Гафаров, В.В., Благинина, М.Ю. Смертность от инфаркта миокарда (эпид. исследование на основе программ ВОЗ «Регистр острого инфаркта миокарда», МОНИКА) // Кардиология. – 2005. – № 5. – С. 49-51; Charbit M. Nitric oxide and the renin-angiotensin system: contributions to blood pressure in the young rat // *Pediat. Nephrology*. – 1997. – Vol. 11. – P. 617-622; Белоусов С.С., Новиков И.И. Роль молекулярно-иммунологических нарушений в патогенезе инфаркта миокарда и их модуляции в клинической практике // *Медицинский альманах*. – 2010. – Т. 11. – № 2. – С. 66-69; *Бецкий, О.В. Лебедева, Н.Н.* Низкоинтенсивные миллиметровые волны в биологии и медицине: основные достижения // *Миллиметровые волны в биологии и медицине*. - 2011. - № 4 (64). - С. 40-74; *Бокерия, О.Л.* и др. Влияние низкоинтенсивного электромагнитного поля на реологические и коагуляционные свойства крови // *Биомедицинская радиоэлектроника*. – 2013. - № 5. С. 21-27; *Бокерия, О.Л.* и др. Влияние низкоинтенсивных электромагнитных полей эндогенного происхождения на вазомоторную функцию эндотелия у больных с хронической сердечной недостаточностью // *Биомедицинская радиоэлектроника*. – 2013а. - №12. С. 9-14; *Козлов, К.Л.* Роль сигнальных молекул эндотелия в патогенезе возраст-ассоциированных заболеваний / К.Л. Козлов, В.М. Солдатов, Е.М. Пальцева [и др.] // *Успехи геронтологии*. – 2015. – Т.28, №1. – С.29-36; *Медведев, Д.С.* Оксидативный статус у больных с артериальной гипертензией в гериатрической практике и миллиметровая терапия // *Фундаментальные исследования*. – 2011. – № 5. - С.118-121; *Медведев, Д.С.* Общепатологические и нейроиммуноэндокринологические аспекты применения крайне высокочастотной терапии в комплексном лечении пациентов пожилого и старческого возраста // *Дисс. докт. мед. наук*. – СПб, 2011а. - 206 с.; *Петенкова, А.А.*, Оксид азота регулирует хемоаттрактантную активность дефензина hnp-1 в крови / *Петенкова А.А., Коваленко Р.И., Юсупова Э.Р., Ноздрачев А.Д.* // *Доклады Академии наук*. - 2015. № 6, Т. 460. - С. 725.; *Ильницкий, Н.А.* Изменения эндотелия при сердечно-сосудистой патологии у пожилых. Часть 2. Сигнальные молекулы и патогенез атеросклероза / *К.И.Прощаев, А.Н. Ильницкий, И.М. Кветной, И.В. Князькин* // *Клиническая медицина*. - 2007. - № 12. - С. 4.; *Головачева, Т.В.* Хронобиологические аспекты КВЧ-терапии ишемической болезни сердца // *Миллиметровые волны в биологии и медицине: Сб. докладов 11-го Российского симпозиума с междунар. участием*. – М. – 1997. С. 19-20; *Титов, В.Н.* Атеросклероз — проблема общей биологии: нарушение биологических функций питания и экологии // *Успехи современной биологии*. – 2009. – Т. 129. – № 2. – С. 124–143; *Douvaras P. et al.* Association of VEGF gene polymorphisms with the development of heart failure in patients after myocardial infarction / // *Cardiology*. - 2009. - Vol. 114, № 1. - P. 11–18.