

ВОЗДЕЙСТВИЕ НЕКОГЕРЕНТНОГО ИМПУЛЬСНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

УДК 577.1.001.6:576.8
Поступила 26.04.2012 г.



Е.В. Архипова, младший научный сотрудник отдела биохимии ЦНИЛ НИИ ПФМ;
И.П. Иванова, д.б.н., зав. лабораторией физико-химических исследований НИИ ПФМ

Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород, 603005, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Цель исследования — изучить влияние некогерентного импульсного излучения на функциональное состояние мононуклеарных клеток в эксперименте.

Материалы и методы. Эксперименты проведены *in vivo* на самцах белых беспородных крыс. В качестве действующего фактора использовали некогерентное импульсное излучение, генерируемое устройством с заданными параметрами: длительность импульса — 10 мкс, сила тока — 1 кА, напряжение на электродах — 10 кВ, энергия в 1 импульсе — 5 Дж, частота — 1 Гц. Выбрано два режима воздействия на животных: троекратно в течение 1 мин и троекратно в течение 2 мин.

Изучали состояние кислородзависимого метаболизма нейтрофилов с помощью спонтанного и индуцированного варианта НСТ-теста (НСТ — нитросиний тетразолий), оценивали активность фагоцитоза по поглощению частиц латекса, спектрофотометрически определяли концентрацию нуклеиновых кислот в лимфоцитах периферической крови.

Результаты. Воздействие в течение 1 мин не вызывает значительных изменений функционального состояния мононуклеарных клеток. При воздействии в течение 2 мин наблюдается активация NADPH-оксидазы в плазматической мембране нейтрофилов. Установлено возрастание фагоцитарной активности клеток после воздействия на животных некогерентным импульсным излучением. Показатели фагоцитарного индекса и фагоцитарного числа увеличиваются на 21,84 и 45,28% соответственно. Выявлено повышение концентрации ДНК в лимфоцитах периферической крови крыс.

Ключевые слова: мононуклеарные клетки; фагоцитоз; NADPH-оксидаза нейтрофилов; ДНК; РНК; некогерентное излучение плазмы.

English

The Effect of Non-Coherent Impulse Radiation on Functional Status of Mononuclear Cells in Experiment

E.V. Arkhipova, Junior Research Worker, Biochemistry Department, Central Scientific Research Laboratory of Scientific Research Institute of Applied and Fundamental Medicine;

I.P. Ivanova, D.Bio.Sc., Head of the Laboratory of Physico-Chemical Researches, Scientific Research Institute of Applied and Fundamental Medicine

Nizhny Novgorod State Medical Academy, Minin and Pozharsky Square, 10/1, Nizhny Novgorod, Russian Federation, 603005

The aim of the investigation was to study the effect of non-coherent impulse radiation on functional status of mononuclear cells in experiment.

Materials and Methods. *In vivo* experiments were carried out on white outbred male rats exposed to non-coherent impulse radiation with the following set-up parameters: impulse time — 10 μ s, amperage — 1 kA, electrode voltage — 10 kV, pulse energy — 5 J, frequency — 1 Hz. We used two exposure modes on animals: three times within a minute, and three times within 2 min.

We studied the state of oxygen-dependent neutrophil metabolism using spontaneous and induced NBT-test (NBT — nitro blue tetrazolium), assessed the activity of phagocytosis by latex particles phagocytosis, and determined spectrophotometrically the concentration of nucleic acids in lymphocytes of peripheral blood.

Results. One-minute exposure caused no significant changes of functional status of mononuclear cells. Two-minute exposure resulted in NADPH-oxidase activation in neutrophil plasma membrane. Cell phagocytic rate was found to increase when the animals were exposed to non-coherent impulse radiation. Phagocytic index and phagocytic number increased of 21.84 and 45.28% respectively. There was revealed the increase of DNA concentration in lymphocytes of peripheral blood in rats.

Key words: mononuclear cells; phagocytosis; neutrophil NADPH-oxidase; DNA; RNA; non-coherent plasma radiation.

Для контактов: Архипова Евгения Владимировна, тел. раб. 8(831)465-42-81, тел. моб. +7 905-662-87-69; e-mail: arhipova@nnovgorod.ru

Клетки иммунной системы рассматриваются не только как факторы адаптивного и неспецифического иммунитета, но и как универсальные индикаторы гомеостаза [1]. Именно поэтому оценка функциональной активности мононуклеарных клеток при различных физико-химических воздействиях на организм представляет большой интерес.

В последнее время в практической и экспериментальной биологии и медицине активно используются плазменные технологии [2, 3]. Известны бактерицидные и цитотоксические эффекты газоразрядной плазмы [4]. Установлено, что основным действующим фактором плазмы искрового разряда является некогерентное импульсное излучение УФ-диапазона [2].

Известно, что в процессе генерации импульсных разрядов образуются радикальные продукты [5, 6], способные влиять на окислительно-восстановительные процессы и модификацию макромолекул и различных клеточных структур [7–9]. С другой стороны, свободные радикалы — это продукты нормального клеточного метаболизма [7]. Физиологическими эффектами радикалов являются цитотоксическое действие в составе фагоцитов, регуляция клеточной пролиферации, дифференцировка В-лимфоцитов, активация Т-лимфоцитов, индукция транскрипции отдельных генов [10, 11].

До настоящего времени оценка функционального состояния мононуклеарных клеток после воздействия на организм некогерентным излучением плазмы не проводилась.

Цель исследования — изучение влияния некогерентного импульсного излучения плазмы искрового разряда на функциональную активность мононуклеарных клеток в эксперименте.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на лабораторных животных — самцах белых беспородных крыс массой 200–250 г. Животные содержались в стандартных условиях вивария. При проведении исследования неукоснительно соблюдались этические принципы, установленные Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (принятой в Страсбурге 18.03.1986 г. и подтвержденной в Страсбурге 15.06.2006 г.).

В качестве действующего фактора использовали некогерентное импульсное излучение плазмы искрового разряда, генерируемое устройством (разработано в Институте экспериментальной физики ядерного центра (РФЯЦ ВНИИЭФ, Саров, Нижегородская обл., Россия) [12]) с определенными параметрами: длительность импульса — 10 мкс, сила тока — 1 кА, напряжение на электродах — 10 кВ, энергия в 1 импульсе — 5 Дж, частота — 1 Гц. Воздействию подвергали переднюю брюшную стенку животных. Объектом исследования являлись лимфоциты, выделенные из периферической крови крыс, нейтрофилы и моноциты крови. Контролем служили клетки периферической крови интактных животных, не подвергавшихся воздействию.

Для оценки влияния некогерентного импульсного излучения на функциональную активность мононукле-

арных клеток крови животных разделяли на группы: не подвергавшиеся воздействию (контроль), подвергавшиеся троекратной обработке длительностью 1 мин, подвергавшиеся троекратной обработке длительностью 2 мин. Воздействие проводили один раз в сутки, в течение трех суток. Режимы обработки и кратность воздействия были определены в предыдущих экспериментах [13].

Животным вводили 0,1 мл гепарина внутривенно, через 10 мин их наркотизировали эфиром и декапитировали. Для предотвращения свертывания кровь помещали в гепаринизированные пробирки.

Лимфоциты выделяли в градиенте плотности фиколла-урографина ($\rho=1,076$ г/см). Жизнеспособность клеток определяли в тесте с трипановым синим, в течение всего хода эксперимента она составляла не менее 95%.

Оценку состояния метаболической активности нейтрофилов проводили по результатам постановки спонтанного и активированного зимозаном тестов с нитросиним тетразолием (НСТ-тест). В ходе реакции бесцветный НСТ поглощается нейтрофилами и под влиянием их дегидрогеназной системы восстанавливается в темно-фиолетовые гранулы диформаза, которые визуально определяются под микроскопом.

О фагоцитарной активности судили по поглощению частиц латекса размером 0,8 мкм. При микроскопическом исследовании препаратов подсчитывали число активных клеток в процентах (фагоцитарный индекс) и среднее число частиц латекса, поглощенных одним фагоцитом (фагоцитарное число).

Концентрацию нуклеиновых кислот определяли методом щелочного и кислотного гидролизом с помощью удаления кислоторастворимой фракции липидов с последующей спектрофотометрией [14].

Статистическую обработку данных выполняли с помощью пакета прикладных программ Excel и Statistica 6.0 согласно рекомендациям по проведению медико-биологической статистики [15].

Результаты представлялись в виде $M \pm G$, где M — среднее арифметическое, G — среднеквадратичное отклонение. Достоверность различий определяли по критерию Крускала–Уоллиса. Две выборки считались принадлежащими к разным генеральным совокупностям при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Фагоцитоз является центральным звеном неспецифической защиты организма. Повышение фагоцитарной способности клеток является основным фактором, свидетельствующим об их активации [16]. Анализ данных изучения влияния некогерентного импульсного излучения на фагоцитарную активность клеток крови исследуемых животных (табл. 1) показал, что при троекратном воздействии в течение 1 мин статистически значимых изменений фагоцитарной активности не происходит. Воздействие в течение 2 мин способствует активации фагоцитоза, что выражается в возрастании фагоцитарного индекса на 21,84% ($p=0,019$) и фагоцитарного числа на 45,28% ($p=0,017$) по сравнению с контрольной группой. Таким образом, воздействие некогерент-

Таблица 1

Влияние некогерентного импульсного излучения на фагоцитарную активность крови животных

Время воздействия	Фагоцитарный индекс, %	Фагоцитарное число
Контроль	81,5±6,8	5,30±0,75
1 мин	78,0±10,2	4,70±0,58
2 мин	99,3±1,2* (p=0,019)	7,7±0,6* (p=0,017)

* — статистически значимая разница значений с контрольной группой.

ного импульсного излучения вызывает индуцированное активности фагоцитоза.

Активация фагоцитов характеризуется образованием активных форм кислорода и сопровождается респираторным взрывом [1]. НСТ-тест отражает кислородзависимый метаболизм нейтрофилов и наработку свободных радикалов [17]. При изучении показателей метаболической активности нейтрофилов после воздействия некогерентным импульсным излучением в течение 1 мин значительных изменений не выявлено (табл. 2). При воздействии в течение 2 мин установлена активация кислородзависимого метаболизма нейтрофилов. Наблюдается возрастание позитивно реагирующих клеток спонтанного варианта НСТ-теста на 15,33% (p=0,032). Увеличение спонтанного индекса активации, отражающего активность ферментных систем нейтрофилов, составило 28,40% (p=0,032). Выявлено статистически значимое возрастание коэффициента метаболической активности, свидетельствующего о степени стимуляции нейтрофилов, на 8,79% (p=0,034). Снижение показателя резерва нейтрофилов, характеризующего потенциальную способность к активации, составило 16,39% (p=0,034).

Известно, что интенсивность генерации нейтрофилами АФК определяется в основном активностью NADPH-оксидазы, которая зависит от вида, концентрации и времени стимуляции [18]. При этом существует концепция двухступенчатой активации нейтрофилов, называемая праймингом клеток. В качестве праймиру-

ющих агентов выступают цитокины, хемотоксические факторы, метаболические регуляторы, продукты перекисного окисления липидов [19–21]. Переход нейтрофилов в активированное состояние может быть обусловлен взаимодействием клеток с образовавшимися в результате некогерентного импульсного излучения АФК [6]. Известно, что H₂O₂ в небольших концентрациях индуцирует хемотаксис нейтрофилов, кратковременное повышение концентрации внутриклеточного кальция и усиливает респираторный взрыв [22].

Таким образом, наблюдаемое повышение генерации активных форм кислорода и снижение резервного потенциала клеток показывает, что некогерентное импульсное излучение индуцирует фагоцитоз и способствует активации кислородзависимого метаболизма нейтрофилов.

Интерес к биологическому действию некогерентного импульсного излучения появился сравнительно недавно [23]. Известно, что фотобиологические эффекты реализуются через каскад окислительных реакций [24]. Активация свободно-радикальных процессов в организме оказывает влияние на состояние генетического аппарата клетки. Считается, что окислительный стресс средней интенсивности, вызванный АФК, выполняет регуляторную функцию и стимулирует пролиферацию [7, 11, 25, 26], в то время как высокие концентрации АФК могут оказывать повреждающее действие на нуклеиновые кислоты и индуцировать гибель клеток [7, 8, 25, 27]. Неоднозначное действие АФК на клетки и, в частности, на нуклеиновые кислоты явилось предпосылкой для оценки количества ДНК и РНК в лимфоцитах периферической крови животных.

Исследование влияния некогерентного импульсного воздействия на концентрацию нуклеиновых кислот в лимфоцитах экспериментальных животных при трехкратной обработке в течение 1 мин не показало статистически значимых изменений уровней ДНК и РНК (табл. 3). При трехкратном воздействии в течение 2 мин установлено статистически значимое увеличение концентрации ДНК (p=0,027) по сравнению с контрольной группой, а также прослеживается тенденция к снижению количества РНК.

Таблица 2

Влияние некогерентного импульсного излучения на окислительный метаболизм нейтрофилов

	Время воздействия		
	Контроль	1 мин	2 мин
НСТ-тест спонтанный, %	68,50±2,38	68,50±2,69	79,00±2,65* (p=0,032)
НСТ-тест индуцированный, %	83,75±2,99	79,00±1,00* (p=0,037)	80,67±1,15
ИАНС	0,81±0,05	0,80±0,04	1,04±0,04* (p=0,032)
ИАНА	1,15±0,11	1,00±0,03	1,10±0,06
КМАН	1,82±0,05	1,87±0,03	1,98±0,04* (p=0,034)
ПРН	1,22±0,07	1,16±0,04	1,02±0,04* (p=0,034)

Здесь с: ИАНС и ИАНА — индексы активности нейтрофилов в спонтанном и активированном варианте; КМАН — коэффициент метаболической активности нейтрофилов; ПРН — показатель резерва нейтрофилов. * — статистически значимая разница значений с контрольной группой.

Таблица 3

Концентрация нуклеиновых кислот в лимфоцитах животных при воздействии некогерентного импульсного излучения

Время воздействия	ДНК, мкг/мл	РНК, мкг/мл
Контроль	13,45±4,05	6,52±4,21
1 мин	12,36±3,32	7,18±4,09
2 мин	28,88±16,42* (p=0,027)	3,50±1,39

* — статистически значимая разница значений с контрольной группой.

Наблюдаемое увеличение количества ДНК в лимфоцитах, с одной стороны, можно объяснить регуляторным влиянием радикалов кислорода (супероксидного анион-радикала и H₂O₂) на активацию пролиферативных процессов [11, 24]. С другой стороны, увеличение концентрации ДНК может быть связано с образованием ковалентных связей между ДНК и белками, а также между соседними пиримидиновыми и пуриновыми основаниями, что, вероятно, снижает устойчивость молекулы ДНК к деструкции [27, 28]. Однако из литературных данных [6, 27] следует, что используемый нами уровень интенсивности некогерентного импульсного излучения (энергия в 1 импульсе — 5 Дж) все-таки не достаточен как для прямого деструктивного влияния на молекулы ДНК, так и посредством образования АФК в ходе плазмохимических реакций.

Таким образом, исследование влияния некогерентного импульсного излучения на генетический аппарат клетки требует дальнейшего изучения высокотехнологичными методами молекулярной биологии.

Заключение. Исследование влияния некогерентного импульсного излучения низкотемпературной плазмы искрового разряда на функциональную активность мононуклеарных клеток в эксперименте показало, что трехкратное воздействие его в течение 2 мин способствует активации фагоцитарной реакции и кислородзависимого метаболизма нейтрофилов, увеличению концентрации ДНК в лимфоцитах периферической крови животных.

Литература

1. Меджитов Р., Джаневей Ч. Врожденный иммунитет. Казанский медицинский журнал 2004; 85(3): 161–167.
2. Иванова И.П., Трофимова С.В., Пискарев И.М. и др. Влияние активных форм кислорода низкотемпературной газоразрядной плазмы на резистентность мембран клеток. Вестник Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского 2011; 2(2): 190–195.
3. Василец В.Н., Gutsol A., Шехтер А.Б., Fridman A. Плазменная медицина. Химия высоких энергий 2009; 43(3): 276–280.
4. Иванова И.П., Заславская М.И. Биоцидный эффект некогерентного импульсного излучения искрового разряда в эксперименте *in vitro* и *in vivo*. *Соврем технол мед* 2009; 1: 28–31.
5. Kanazawa S., Kawano H., Watanabe S., Furuki T., Akamine S., Ichiki R., Ohkubo T., Kocik M., Mizeraczyk J. Observation of OH radicals produced by pulsed discharges on the surface of a liquid. *Plasma Sources Sci Technol* 2011; 20(3): 383–391.
6. Иванова И.П., Трофимова С.В., Карпель Вель Лейтнер Н.,

Аристова Н.А., Архипова Е.В., Бурхина О.Е., Сысоева В.А., Пискарев И.М. Анализ активных продуктов излучения плазмы искрового разряда, определяющих биологические эффекты в клетках. *Соврем технол мед* 2012; 2: 20–30.

7. Донцов В.И., Крутько В.Н., Мрикаев Б.М., Уханов С.В. Активные формы кислорода как система: значение в физиологии, патологии и естественном старении. *Труды ИСА РАН* 2006; 19: 50–69.

8. Артюхов В.Г., Наквасина М.А., Попова Л.И. и др. Структурно-функциональные модификации лимфоцитарных клеток человека в условиях воздействия активных форм кислорода. *Вестник ВГУ. Сер. Химия, биология, фармакология* 2005; 2: 110–115.

9. Иванова И.П., Трофимова С.В., Пискарев И.М., Бурхина О.Е., Сысоева В.А., Карпель Вель Лейтнер Н. Исследование механизмов биоцидного действия излучения плазмы искрового разряда. *Соврем технол мед* 2012; 3: 12–18.

10. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews* 2002; 82: 47–95.

11. Gamaley I.A., Klyubin I.V. Roles of reactive oxygen species: signaling and regulation of cellular functions. *Int Rev Cytol* 1999; 188: 203–215.

12. Спириков Г.М., Лукьянов Н.Б., Шлепкин С.И., Волков А.А., Моисеенко А.Н., Маркевцев И.М., Иванова И.П., Заславская М.И. Устройство для воздействия на биообъект. Патент РФ №2358773. 2009.

13. Иванова И.П., Проданец Н.Н., Буренина Ю.В. Эффект влияния высокоэнергетического импульсного излучения на метаболизм животных в норме и с лимфосаркомой Плисса. *Бюллетень сибирской медицины* 2005; 2: 88–90.

14. Биохимия и молекулярная биология. Под ред. Титовой Н.М., Замай Т.Н., Боровковой Г.И. Красноярск: ИПК СФУ; 2008; 103 с.

15. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М: Практика; 1999; 459 с.

16. Пинегин Б.В., Краснова М.И. Макрофаги: свойства и функции. *Иммунология* 2009; 4: 241–249.

17. Герасимов И.Г., Игнатов Д.Ю. Особенности активации нейтрофилов *in vitro*. *Цитология* 2004; 46(2): 155–158.

18. Маянский А.Н. НАДФН-оксидаза нейтрофилов: активация и регуляция. *Цитокины и воспаление* 2007; 6(3): 3–13.

19. Sheppard F.R., Kelher M.R., Moore E.E., et al. Structural organization of the neutrophil NADPH oxidase: phosphorylation and translocation during priming and activation. *Journal of Leukocyte Biology* 2005; 78: 1025–1042.

20. Alvarez-Maqueda M.E., Bekay R., Monteseirin J., Alba G., Chacon P., Vega A., Santa M.C., Tejado J.R., Martin-Nieto J., Bedoya F.J., Pintado E., Sobrino F. Homocysteine enhances superoxide anion release and NADPH oxidase assembly by human neutrophils. Effects on MAPK activation and neutrophil migration. *Atherosclerosis* 2004; 172: 229–238.

21. M'Rabet L., Coffey P., Zwartkruis F., et al. Activation of the small GTPase rap1 in human neutrophils. *Blood* 1998; 92: 2133–2140.

22. Коваленко Е.И., Семенова Г.Н., Черенкевич С.Н. Влияние пероксида водорода на способность нейтрофилов генерировать активные формы кислорода и хлора и секретировать миелопероксидазу *in vitro*. *Цитология* 2007; 49(10): 839–847.

23. Beebe S.J. and Schoenbach K.H. Nanosecond pulsed electric fields: a new stimulus to activate intracellular signaling. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 2005; 4: 297–300.

24. Кару Т.И. Клеточные механизмы низкоинтенсивной лазерной терапии. *Успехи современной биологии* 2001; 121(1): 110–120.

25. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К., Бондарь И.А., Круговых Н.Ф., Труфакин В.А. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. М: Слово; 2006; 556 с.

26. Hattoria H., Subramaniana K. Small-molecule screen identifies reactive oxygen species as key regulators of neutrophil chemotaxis. *PNAS* 2010; 107(8): 546–551.

27. Артюхов В.Г., Трубицина М.С., Наквасина М.А., Соловьева Е.В. Фрагментация ДНК лимфоцитов человека в

динамике развития апоптоза, индуцированного воздействием УФ-излучения и активных форм кислорода. *Цитология* 2011; 53(1): 61–67.

28. Finkel T., Holbrook N. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 2000; 408: 239–247.

References

1. Medzhitov R., Dzhanevey Ch. Vrozhdeny immunitet [Congenital immunity]. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal — Kazan Medical Journal* 2004; 85(3): 161–167.

2. Ivanova I.P., Trofimova S.V., Piskarev I.M., et al. Vliyaniye aktivnykh form kisloroda nizkotemperaturnoy gazorazryadnoy plazmy na rezistentnost' membran kletok [The effect of reactive oxygen species of low-temperature gas-discharge plasma on cell membrane resistance]. *Vestnik Nizhegorodskogo gosudarstvennogo universiteta im. N.I. Lobachevskogo — Herald of Nizhny Novgorod State University named after N.I. Lobachevsky* 2011; 2(2): 190–195.

3. Vasilets V.N., Gutsol A., Shekhter A.B., Fridman A. Plazmennaya meditsina [Plasma medicine]. *Khimiya vysokikh energii — High-Energy Chemistry* 2009; 43(3): 276–280.

4. Ivanova I.P., Zaslavskaya M.I. Biotsidnyy effekt nekogerentnogo impul'snogo izlucheniya iskrovogo razryada v eksperimente in vitro i in vivo [Biocyclic effect of the spark discharge non-coherent impulse radiation in experiments in vitro and in vivo]. *Sovrem Tehnol Med — Modern Technologies in Medicine* 2009; 1: 28–31.

5. Kanazawa S., Kawano H., Watanabe S., Furuki T., Akamine S., Ichiki R., Ohkubo T., Kocik M., Mizeraczyk J. Observation of OH radicals produced by pulsed discharges on the surface of a liquid. *Plasma Sources Sci Technol* 2011; 20(3): 383–391.

6. Ivanova I.P., Trofimova S.V., Karpel Vel Leitner N., Aristova N.A., Arkhipova E.V., Burkhina O.E., Sysoeva V.A., Piskaryov I.M. Analiz aktivnykh produktov izlucheniya plazmy iskrovogo razryada, opredelyayushchikh biologicheskie efekty v kletkakh [The analysis of active products of spark discharge plasma radiation determining biological effects in tissues]. *Sovrem Tehnol Med — Modern Technologies in Medicine* 2012; 2: 20–30.

7. Dontsov V.I., Krut'ko V.N., Mrikaev B.M., Ukhanov S.V. Aktivnye formy kisloroda kak sistema: znachenie v fiziologii, patologii i estestvennom starenii [Reactive oxygen species as a system: significance in physiology, pathology and natural ageing]. *Trudy ISA RAN — Proceedings of System Analysis Institute of Russian Academy of Sciences* 2006; 19: 50–69.

8. Artyukhov V.G., Nakvasina M.A., Popova L.I., et al. Strukturno-funktsional'nye modifikatsii limfotsitarnykh kletok cheloveka v usloviyakh vozdeystviya aktivnykh form kisloroda [Structural functional modifications of human lymphocytic cells when exposed to reactive oxygen species]. *Vestnik VGU Ser. Khimiya, biologiya, farmakologiya — VSU Review, Series Chemistry, Biology, Pharmacology* 2005; 2: 110–115.

9. Ivanova I.P., Trofimova S.V., Piskaryov I.M., Burkhina O.E., Sysoeva V.A., Karpel Vel Leitner N. Issledovanie mekhanizmov biotsidnogo deystviya izlucheniya plazmy iskrovogo razryada [The study of biocidal mechanisms of spark discharge plasma radiation]. *Sovrem Tehnol Med — Modern Technologies in Medicine* 2012; 3: 12–18.

10. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews* 2002; 82: 47–95.

11. Gamaley I.A., Klyubin I.V. Roles of reactive oxygen species: signaling and regulation of cellular functions. *Int Rev Cytol* 1999; 188: 203–215.

12. Spirov G.M., Luk'yanov N.B., Shlepkov S.I., Volkov A.A., Moiseenko A.N., Markevtsev I.M., Ivanova I.P., Zaslavskaya M.I.

Ustroystvo dlya vozdeystviya na bioob'ekt [Bio-object exposure device]. Patent RF №2358773. 2009.

13. Ivanova I.P., Prodanets N.N., Burenina Yu.V. Effekt vliyaniya vysokoenergeticheskogo impul'snogo izlucheniya na metabolism zhivotnykh v norme i s limfosarkomoy Plissa [The effect of high-energy impulse radiation on metabolism in healthy animals and in animals with Pliss lymphosarcoma]. *Byulleten' Sibirskoy meditsiny — Bulletin of Siberian Medicine* 2005; 2: 88–90.

14. *Biokhimiya i molekulyarnaya biologiya* [Biochemistry and molecular biology]. Pod red. Titovoy N.M., Zamay T.N., Borovkovoy G.I. [Titova N.M., Zamay T.N., Borovkova G.I. (editors)]. Krasnoyarsk: IPK SFU; 2008; 103 p.

15. Glants S. *Mediko-biologicheskaya statistika* [Biomedical statistics]. Moscow: Praktika; 1999; 459 p.

16. Pinegin B.V., Krasnova M.I. Makrofagi: svoystva i funktsii [Macrophages: characteristics and functions]. *Immunologiya — Immunology* 2009; 4: 241–249.

17. Gerasimov I.G., Ignatov D.Yu. Osobennosti aktivatsii neytrofilov in vitro [The characteristics of neutrophil activation in vitro]. *Tsitologiya — Cytology* 2004; 46(2): 155–158.

18. Mayanskiy A.N. NADFN-oksizaza neytrofilov: aktivatsiya i regulyatsiya [Neutrophil NADPH-oxidase: activation and regulation]. *Tsitokiny i vospalenie — Cytokines and Inflammation* 2007; 6(3): 3–13.

19. Sheppard F.R., Kelher M.R., Moore E.E., et al. Structural organization of the neutrophil NADPH oxidase: phosphorylation and translocation during priming and activation. *Journal of Leukocyte Biology* 2005; 78: 1025–1042.

20. Alvarez-Maqueda M.E., Bekay R., Monteseirin J., Alba G., Chacon P., Vega A., Santa M.C., Tejado J.R., Martin-Nieto J., Bedoya F.J., Pintado E., Sobrino F. Homocysteine enhances superoxide anion release and NADPH oxidase assembly by human neutrophils. Effects on MAPK activation and neutrophil migration. *Atherosclerosis* 2004; 172: 229–238.

21. M'Rabet L., Coffey P., Zwartkruis F., et al. Activation of the small GTPase rap1 in human neutrophils. *Blood* 1998; 92: 2133–2140.

22. Kovalenko E.I., Semenkova G.N., Cherenkevich S.N. Vliyaniye peroksida vodoroda na sposobnost' neytrofilov generirovat' aktivnye formy kisloroda i khloro i sekretirovat' mieloperoksidazu in vitro [The effect of hydrogen peroxide on neutrophil ability to generate reactive oxygen and chloride species and secrete myeloperoxidase in vitro]. *Tsitologiya — Cytology* 2007; 49(10): 839–847.

23. Beebe S.J. and Schoenbach K. H. Nanosecond pulsed electric fields: a new stimulus to activate intracellular signaling. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 2005; 4: 297–300.

24. Karu T.Y. Kletochnye mekhanizmy nizkointensivnoy lazernoy terapii [Cell mechanisms of low-intensity laser therapy]. *Uspekhi sovremennoy biologii — Advance of Modern Biology* 2001; 121(1): 110–120.

25. Men'shchikova E.B., Lankin V.Z., Zenkov N.K., Bondar' I.A., Krugovykh N.F., Trufakin V.A. *Okislitel'nyy stress. Prooksidanty i antioksidanty* [Oxidative stress. Pro-oxidants and antioxidants]. Moscow: Slovo; 2006; 556 p.

26. Hattoria H., Subramaniana K. Small-molecule screen identifies reactive oxygen species as key regulators of neutrophil chemotaxis. *PNAS* 2010; 107(8): 546–551.

27. Artyukhov V.G., Trubitsina M.S., Nakvasina M.A., Solov'eva E.V. Fragmentatsiya DNK limfotsitov cheloveka v dinamike razvitiya apoptoza, indutsirovannogo vozdeystviem UF-izlucheniya i aktivnykh form kisloroda [Fragmentation of human lymphocyte DNA in dynamics of apoptosis induced by UV radiation and reactive oxygen species]. *Tsitologiya — Cytology* 2011; 53(1): 61–67.

28. Finkel T., Holbrook N. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 2000; 408: 239–247.