

КОМБИНИРОВАННОЕ ВЛИЯНИЕ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК И КВЧ-ИЗЛУЧЕНИЯ НА СПЕРМАТОЗОИДЫ МУЖЧИН В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ

Л.В. Иванов¹, Н.Т. Картель¹, М.Й. Крамар², Н.Д. Колбун²

¹Институт химии поверхности им. А.А. Чуйко Национальной академии наук Украины
ул. Генерала Наумова, 17, Киев, 03164, Украина

²Институт криобиологии и криомедицины Национальной академии наук Украины
ул. Переяславская, 23, Харьков, 61015, Украина

Проведено сравнительное изучение действия слабого крайне высокочастотного излучения в присутствии углеродных нанотрубок на подвижность сперматозоидов здоровых мужчин и больных астеноспермией и олигоастеноспермией.

Действие излучения в присутствии нанотрубок во взвеси сперматозоидов здоровых мужчин заметно увеличивает их подвижность во времени. Уровень подвижной фракции спермы остается в пределах нормы (более 50%) в течение 8 ч, в то время, как в контроле уровень подвижной фракции падает ниже 50% уже в пределах 4 ч. Для больных астеноспермией и олигоастеноспермией комбинированное действие КВЧ-излучения и углеродных нанотрубок поддерживает достаточный уровень активности подвижной фракции в течение 6 ч.

Изучение протекторного действия нанотрубок и КВЧ-излучения на сперматозоиды, подвергшиеся криоконсервированию, показал, что значительный позитивный эффект (практически полное восстановление исходной подвижности) наблюдается только в случае использования комбинированного воздействия.

Высказано предположение, что одним из основных факторов резкого увеличения подвижных сперматозоидов больных астеноспермией и олигоастеноспермией под действием КВЧ-излучения является увеличение в клетках синтеза АТФ, который определяет их подвижность и жизнеспособность. Роль углеродных нанотрубок как электропроводящих систем сводится, по-видимому, к аккумулярованию и поддержанию высоких уровней электромагнитного излучения этого типа и акустоэлектрических волн на поверхности мембран, а также транслированию энергию излучения внутрь клеток на митохондрии и другие внутриклеточные органеллы.

Введение

Ранее мы показали [1], что суспензии как обычных, так и окисленных многостенных углеродных нанотрубок (УНТ) в широком диапазоне концентраций от 10 до 200 мкг/мл не оказывают цитотоксического воздействия на мужские сперматозоиды. Более того, было обнаружено, что при небольших концентрациях (10–20 мкг/мл) нанотрубки в ряде случаев более чем на 20% увеличивают долю активных (подвижных) клеток в мужской сперме. Исходя из физико-химических свойств УНТ, нами было сделано предположение, что их активизирующее и протекторное действие заключается в ингибировании пероксидного окисления липидов мембраны и поглощении токсических продуктов метаболизма сперматозоидов в среде их обитания.

Следует принимать во внимание, что УНТ обладают высокой проводимостью, способностью взаимодействовать с электромагнитными волнами (ЭМВ) различной частоты, а также проявляют мембранотропность при взаимодействии с клетками различных органов и тканей [2, 3]. Поэтому нами высказана гипотеза о медиаторной способности нанотрубок, т.е. их способности ретранслировать, ингибировать или сенсibilизировать действие различных видов ЭМИ на мембраны клеток. Другими

словами, нанотрубки могут в определенном смысле выполнять протекторную или корригирующую роль в организме при воздействии на него различных излучений.

В качестве ЭМВ, воздействующего на мужские сперматозоиды совместно с УНТ, нами было выбрано слабое крайне высокочастотное (КВЧ) излучение (ЭМВ миллиметрового диапазона), действие которого на различные биообъекты активно исследуется, а также используется в практической медицине в форме, известной как КВЧ – терапия [4–10]. Характер воздействия КВЧ-излучения на биологические объекты специфичен и не сводится к обычному тепловому воздействию электромагнитных волн. Так, КВЧ-излучение вызывает ускорение роста и увеличение биомассы, интенсификацию процессов фотосинтеза, сопровождающегося повышением выделения кислорода и содержания в клетках фотосинтезирующих пигментов, увеличение экскреции органических соединений в среду, изменение реакционной способности экзометаболитов, изменение транспорта ионов и др. [9]. Использование КВЧ – терапии в лечении и профилактике ряда заболеваний является одним из активно развивающихся направлений современной клинической медицины. ЭМВ миллиметрового диапазона успешно применяются при лечении заболеваний органов кровообращения, дыхания, пищеварения, мочеполовой и нервной систем. Имеются также результаты о том, что предварительное воздействие миллиметровых волн приводит к ослаблению последствий рентгеновского облучения на костный мозг, параметры эритроцитов крови, пероксидное окисление липидов и др. При этом используется КВЧ-излучение низкой интенсивности (малой мощности), не вызывающее нагрева тканей [10]. Энергия кванта КВЧ-излучения значительно меньше энергии, необходимой для электронных переходов, активации, колебательной энергии молекул и даже энергии водородных связей, поэтому это излучение не может привести к разрыву даже самых слабых химических связей, а лишь влиять только на вращательные степени свободы молекул [8]. Принято считать, что в основе эффекта воздействия КВЧ-излучения на биологические структуры лежат структурно-функциональные изменения фрагментов клеточных мембран и внутриклеточных органелл. Эти фрагменты являются мишенями, находящимися в состоянии резонанса с колебаниями ЭМВ этого типа. В результате такого взаимодействия создаются условия для изменения процессов метаболизма, связанного с переносом протонов и электронов в клеточных мембранах, а уже на этой основе возникают последовательные неспецифические реакции клетки и организма в целом [9].

Целью работы явилось сравнительное изучение действия КВЧ-излучения низкой интенсивности в присутствии УНТ на активность (подвижность) сперматозоидов здоровых мужчин, а также мужчин с заболеваниями *астеноспермией* и *олигоастеноспермией*. Представлялось интересным оценить способность мембранотропных нанотрубок к ретрансляции КВЧ-излучения на мембраны клеток сперматозоидов.

Материалы и методы

В работе использовали суммарную фракцию высокочистых многостенных УНТ, полученных на пилотной установке, разработанной Институтом химии поверхности им. А.А. Чуйко НАН Украины и предприятием «ТМСпецмаш» (г. Киев), путем каталитического пиролиза непредельных углеводородов. Внутренний диаметр нанотрубок составляет 1–2 нм, внешний 10–40 нм, зольность – менее 0,4%, содержание нанотрубок – более 95%. Использовали также окисленную модификацию УНТ, получаемую в результате обработки нанотрубок азотной кислотой. Получение водных суспензий УНТ с различной концентрацией проводили согласно методике [11].

Для исследования подвижности сперматозоидов в присутствии УНТ использовали эякуляты, полученные у здоровых мужчин (*нормоспермия*), а также у больных с *астеноспермией* (недостаточное количество подвижных сперматозоидов – сумма подвижных фракций \underline{a} и \underline{b} меньше 50%) и *олигоастеноспермией* (недостаточное количество подвижных сперматозоидов, а также недостаточное общее количество

сперматозоидов – менее $2 \cdot 10^7$ /мл). Образцы спермы помещали в стерильные чашки Петри и выдерживали 20–60 мин в термостате при 37 °С с целью разжижения. Концентрацию и подвижность сперматозоидов определяли с помощью камеры *Makler* (Израиль) согласно рекомендациям ВОЗ [12]. Для обеспечения в образцах спермы необходимой концентрации нанотрубок вначале готовили концентрированные суспензии УНТ в растворе Хенкса, а затем 0,05 или 0,1 мл суспензии добавляли к 1 мл эякулята. В экспериментах определяли общее содержание сперматозоидов в нативных образцах, а также фракцию сперматозоидов с быстрым (группа «а») и медленным (группа «б») поступательным прямолинейным движением. Средняя ошибка количественных определений групп *a* и *b* не превышала 10% [1].

В качестве источника КВЧ-излучения низкой интенсивности был использован аппарат «ИВТ – Порог», который любезно предоставил доктор технических наук Н.Д. Колбун, руководитель Международного научно-медицинского центра «Биополис» и разработчик новой медицинской технологии – информационно-волновой терапии. Метод КВЧ – терапии и аппарат «ИВТ – Порог» имеют разрешение к применению в медицинской практике на территории Украины и России. Условия эксперимента – мощность КВЧ-излучения – 10^{-10} Вт/см²; частота – 30 – 100 ГГц; расстояние от излучателя до поверхности эякулята – 1 см.

Результаты и обсуждение

В табл. 1 представлены данные о влиянии КВЧ-излучения на активность фракций подвижных сперматозоидов *a* и *b* здоровых мужчин, а также больных *астеноспермией* и *олигоастеноспермией* в зависимости от экспозиции воздействия ЭМВ. Для сравнения в последнем столбце таблицы указаны контрольные значения подвижных фракций для спермы, не подвергавшейся воздействию КВЧ-излучения.

Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что КВЧ-излучение оказывает умеренное активизирующее влияние на сперму здоровых мужчин (~12%) и резко повышает активность (подвижность) суммы фракций *a* и *b* подвижных сперматозоидов больных *астеноспермией* и *олигоастеноспермией* (соответственно на 87 и 81%). Эффект активизации зависит от экспозиции, причем максимальное повышение активности сперматозоидов наступает через 30 мин. Отмечено также, что на 45 мин активизация сперматозоидов начинает снижаться.

Несмотря на то, что во многих случаях КВЧ-излучение повышает показатель суммы подвижных фракций сперматозоидов (*a* + *b*) у больных почти в 2 раза, их 50% – значение (нижний предел нормы) достигается лишь тогда, когда исходное значение суммы этих фракций у пациента составляет не менее 35%. Возможно у больных существует «минимальный уровень» концентрации подвижных сперматозоидов (*a* + *b*), наличие которого позволяет надеяться на нормализацию качества спермы при использовании КВЧ-излучения низкой интенсивности.

Активизирующее влияние КВЧ-излучения на сперму животных известно давно, однако полученные нами данные на мужской сперме имеют одну важную особенность – обнаруживается существенное увеличение суммы подвижных фракций сперматозоидов «*a* + *b*» до нормы у мужчин, страдающих *астеноспермией* или *олигоастеноспермией*, чего не наблюдалось в работах с экспериментальными животными. Этот результат имеет принципиальное значение при создании банков семейного генофонда, а также лечении мужского бесплодия.

Известно, что после отбора сперматозоиды в течение нескольких часов постепенно теряют подвижность, а временная способность клеток сохранять подвижность называется параметром переживаемости сперматозоидов.

Таблица 1. Влияние КВЧ-излучения на подвижность сперматозоидов

Количество сперматозоидов в 1мл спермы	Исходные фракции, % <i>a / b</i>	Экспозиция, мин						Контроль, через 30 мин
		5	10	15	20	25	30	
<i>Нормоспермия</i>								
$7,6 \cdot 10^7$	30/20	-	-	-	-	-	30/30	30/20
$6,6 \cdot 10^7$	25/25	25/27	-	-	-	-	28/29	25/25
$5,3 \cdot 10^7$	25/25	-	-	27/30	-	-	30/30	25/26
$3,0 \cdot 10^7$	25/28	-	-	-	-	-	30/30	25/28
$4,5 \cdot 10^7$	29/29	-	-	-	-	-	30/30	28/28
$6,0 \cdot 10^7$	25/30	-	-	-	-	-	30/30	25/30
Среднее увеличение подвижности по отношению к контролю: 12±6%								
<i>Астеноспермия</i>								
$2,0 \cdot 10^7$	8/16	-	-	12/20	-	-	16/23	5/13
$3,2 \cdot 10^7$	15/17	-	-	17/20	-	-	22/25	12/15
$5,4 \cdot 10^7$	10/21	-	-	12/22	-	-	15/25	10/17
$7,2 \cdot 10^7$	5/15	-	-	7/15	-	-	12/20	0/15
$2,1 \cdot 10^7$	0/12	-	-	-	-	-	5/15	0/7
$3,6 \cdot 10^7$	5/17	-	-	-	-	10/15	10/20	3/12
$4,2 \cdot 10^7$	5/17	-	-	-	7/20	7/20	10/25	3/15
$3,2 \cdot 10^7$	17/23	-	-	-	-	20/29	23/28	15/20
$4,2 \cdot 10^7$	16/19	-	-	-	18/23	20/20	25/25	15/18
$2,5 \cdot 10^7$	18/21	-	-	-	-	22/25	25/25	16/20
Среднее увеличение подвижности по отношению к контролю: 87±45%								
<i>Олигоастеноспермия</i>								
$1,8 \cdot 10^7$	5/13	-	8/15	8/15	-	-	15/20	2/10
$0,7 \cdot 10^7$	3/15	-	-	-	-	-	3/15	0/12
$1,6 \cdot 10^7$	11/19	-	-	-	12/20	-	15/25	8/15
$1,9 \cdot 10^7$	15/20	-	-	-	-	20/25	22/27	12/18
$0,8 \cdot 10^7$	9/18	-	-	-	-	12/20	13/22	7/15
$0,7 \cdot 10^7$	8/17	-	-	-	-	12/20	15/20	6/15
$1,1 \cdot 10^7$	0/12	-	-	-	-	-	5/10	0/5
$1,8 \cdot 10^7$	13/22	-	-	-	-	16/25	18/25	11/18
$1,5 \cdot 10^7$	12/18	-	-	-	15/20	17/22	20/23	10/15
Среднее увеличение подвижности по отношению к контролю: 81±53%								

В табл. 2 представлены данные о комбинированном воздействии КВЧ-излучения и суспензии УНТ (10 мкг/мл) в сперме мужчин (в норме и патологии) на переживаемость сперматозоидов – кинетику их подвижности. Данные табл. показывают, что это приводит к заметному повышению переживаемости – сохранению уровня суммы подвижных фракций спермы ($a + b$) в пределах нормы (выше 50%) в течение 8 ч, в то время как в контрольных опытах (без нанотрубок и КВЧ – излучения) уровень суммы подвижных фракций падает ниже 50% уже через 4 ч, а иногда и раньше.

Для больных *астеноспермией* и *олигоастеноспермией* переживаемость сперматозоидов еще ниже – наблюдается резкое падение подвижности сперматозоидов к 6–8 ч практически до нуля. Воздействие КВЧ-излучения в присутствии взвеси УНТ (10 мкг/мл) приводит к заметному повышению переживаемости сперматозоидов и поддерживает достаточный уровень их активности в течение 6 ч. Однако активирование сперматозоидов комбинированным воздействием КВЧ-излучения и суспензии УНТ заметно ниже, чем при воздействии только КВЧ-излучением. По-видимому, нанотрубки, присутствующие во взвеси сперматозоидов, способны частично поглощать

высокочастотное излучение и тем самым экранировать его воздействие на мембраны клеток.

В настоящее время для сохранения генетического материала и хранения спермы в банках семейного генофонда, а также для лечения мужского бесплодия мужскую сперму вместе с криопротекторами замораживают по специальной многостадийной программе до температуры жидкого азота [13]. После размораживания спермы около 30% клеток сперматозоидов теряет подвижность (активность).

Нами была предпринята попытка повысить процент выживших после криоконсервирования клеток сперматозоидов путем комбинированного воздействия КВЧ-излучения и УНТ. При этом комбинированное воздействие нанотрубок и КВЧ-излучения (аппарат «ИВТ – Порог») на сперму применено в первом случае до программированного замораживания спермы, а во втором – сразу после ее размораживания. Эксперименты показали, что значительное протекторное действие на сперматозоиды наблюдается только во втором случае. Полученные данные представлены в табл. 3.

Таблица 2. Влияние комбинированного воздействия КВЧ-излучения и УНТ на переживаемость сперматозоидов

Количество сперматозоидов в 1мл спермы	Исходные фракции, % <i>а / б</i>	Условия эксперимента	Время, ч			
			2	4	6	8
<i>Нормоспермия</i>						
5,3*10 ⁷	25/25	Контроль	28/23	23/19	15/12	6/3
		КВЧ+УНТ	33/29	33/29	30/26	27/24
3,0*10 ⁷	25/28	Контроль	23/26	19/21	12/14	3/6
		КВЧ+УНТ	30/32	30/32	27/29	24/26
4,5*10 ⁷	29/29	Контроль	28/27	20/20	14/14	5/6
		КВЧ+УНТ	33/33	33/33	30/29	28/27
6,0*10 ⁷	25/30	Контроль	24/28	20/25	12/15	3/4
		КВЧ+УНТ	29/34	28/34	27/31	24/27
3,0*10 ⁷	28/30	Контроль	22/25	17/18	10/12	2/3
		КВЧ+УНТ	31/33	31/33	29/30	26/28
4,2*10 ⁷	25/26	Контроль	20/21	14/15	9/11	3/3
		КВЧ+УНТ	29/30	29/30	27/28	25/25
5,9*10 ⁷	31/26	Контроль	30/25	27/21	16/13	6/5
		КВЧ+УНТ	33/30	33/30	30/28	28/26
<i>Астеноспермия</i>						
3,0*10 ⁷	20/20	Контроль	15/16	8/10	3/5	0/0
		КВЧ+УНТ	21/22	16/17	12/14	9/9
3,5*10 ⁷	22/18	Контроль	15/13	8/8	3/2	0/0
		КВЧ+УНТ	19/15	15/12	9/7	6/5
4,2*10 ⁷	21/26	Контроль	16/18	9/9	2/3	0/0
		КВЧ+УНТ	19/21	16/18	9/11	7/9
3,1*10 ⁷	26/20	Контроль	17/12	9/5	3/1	0/0
		КВЧ+УНТ	23/17	18/14	16/12	13/10
<i>Олигоастеноспермия</i>						
1,9*10 ⁷	15/20	Контроль	8/12	4/6	0/1	0/0
		КВЧ+УНТ	15/19	13/16	10/11	7/9
1,2*10 ⁷	15/18	Контроль	8/12	5/8	0/1	0/0
		КВЧ+УНТ	12/14	9/11	6/9	4/5

Из табл. 3 следует, что в случае нормальной спермы процент выживших активных сперматозоидов ($\underline{a} + \underline{b}$) после их размораживания составляет от 70 до 75%. Комбинированное воздействие нанотрубок и КВЧ-излучения сразу же после размораживания спермы обеспечивает количество активных сперматозоидов от 91 до 100%. Представляется очень важным, что в случае больных *астеноспермией* процент повышения активной фракции ($\underline{a} + \underline{b}$) возрастает в среднем на 25%. Предварительные исследования показали, что после воздействия только КВЧ-излучения после размораживания спермы достигается повышение уровня подвижной фракции ($\underline{a} + \underline{b}$) не более 15%.

Таблица 3. Протекторный эффект комбинированного воздействия нанотрубок и КВЧ-излучения на сперматозоиды после их криоконсервирования (КК)

Количество сперматозоидов в 1 мл спермы	Исходные фракции (ИФ) $\underline{a} / \underline{b}$, %	КК $\underline{a} / \underline{b}$, %	УНТ+КВЧ $\underline{a} / \underline{b}$, %	КК ($\underline{a}+\underline{b}$)/ИФ($\underline{a}+\underline{b}$), %	УНТ+КВЧ ($\underline{a}+\underline{b}$)/ИФ ($\underline{a}+\underline{b}$), %
<i>Нормоспермия</i>					
$5,0 \cdot 10^7$	25/25	18/20	22/25	72	94
$4,3 \cdot 10^7$	23/28	16/20	23/27	70,5	99
$2,8 \cdot 10^7$	25/25	16/19	24/26	70	100
$3,9 \cdot 10^7$	29/30	20/23	25/29	72,8	91,5
$3,3 \cdot 10^7$	27/28	18/21	25/25	70,9	90,9
$5,2 \cdot 10^7$	27/29	21/21	25/26	75	91
<i>Астеноспермия</i>					
$3,7 \cdot 10^7$	22/27	15/21	21/26	73,5	96
$3,2 \cdot 10^7$	22/26	14/22	21/27	75	100
$2,3 \cdot 10^7$	21/27	14/20	20/30	70,8	>100

Чтобы понять механизм активирующего влияния нанотрубок при воздействии КВЧ-излучения на клетки сперматозоидов, необходимо рассмотреть современные представления о взаимодействии ЭМВ миллиметрового диапазона с биообъектами. Так, в ранних работах была выполнена серия экспериментальных исследований с различными микроорганизмами и лабораторными животными [14, 15] и сформулированы следующие особенности биологических эффектов от ЭМВ: наличие резонансных частот на графике зависимости «биологический эффект – частота излучения», пороговый характер воздействия и наличие протяженного «плато» на графике зависимости «биологический эффект – мощность облучения».

Поскольку вода практически полностью поглощает миллиметровые ЭМВ, при облучении человека поглощение реализуется в тонком слое кожи толщиной примерно 0,1 – 0,2 мм (т.е. в эпидермисе). Из этого следует, что основными мишенями воздействия ММВ на биологические объекты (в том числе на организм человека) являются плазматические мембраны клеток, внутри- и межклеточная жидкость, капилляры кровеносной системы, рецепторные структуры кожи, связанные с основными регуляторными системами организма [16].

В последние годы появились публикации, в которых приводятся новые данные о роли воды и водных растворов в реализации биологических механизмов воздействия ЭМВ. Впервые гипотеза о важной роли воды была высказана более 30 лет назад в работе [17]. Новые результаты о свойствах воды, облучённой ЭМВ, приводятся в работах [18–21]. В кластерах и клатратных образованиях $\{(H_2O)_n\}$ при $n = 50 \dots 60$ частоты переходов лежат в миллиметровом и субмиллиметровом диапазонах, что обуславливает резонансный характер поглощения ЭМВ этими системами. Экспериментальные

результаты, приведенные в [19], свидетельствуют о том, что вода (водный раствор) после предварительного облучения миллиметровыми ЭМВ способна сохранять информацию («память») о факте облучения в течение достаточно длительного времени (до десятков минут). Эта информация проявляется в сохранении биологической (биохимической) активности воды после прекращения облучения.

ЭМВ, воздействуя на плазматические мембраны клеток, могут возбудить в них как в диэлектрических резонаторах акустоэлектрические колебания, которые являются общим случаем колебаний Фрелиха [22]. Эту мысль можно пояснить с помощью рисунка, на котором показано сечение глобулярной клетки.

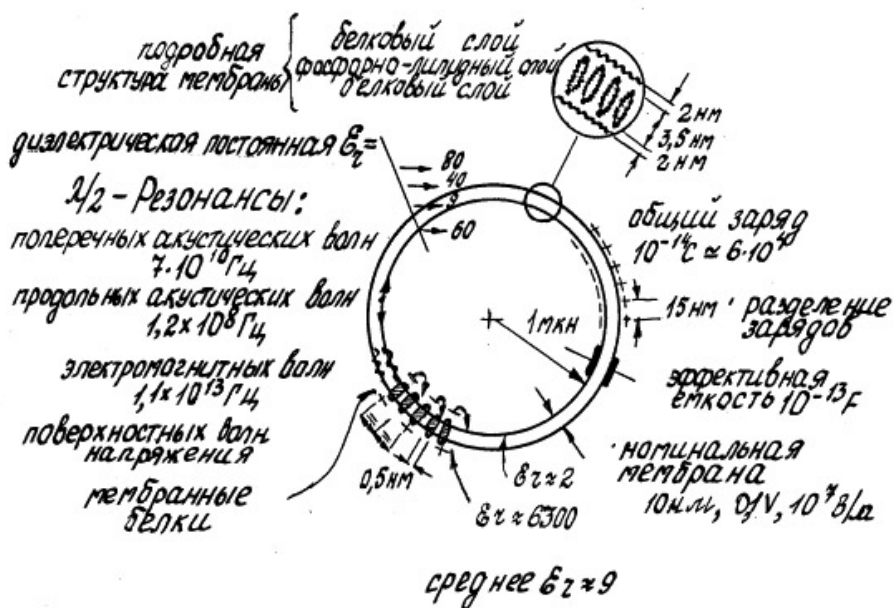


Рисунок. Сечение глобулярной клетки.

Ключевая идея, высказанная авторами работ [23, 24], состоит в следующем: здоровой клетке сопутствуют нормальные акустоэлектрические колебания в плазматической мембране. Роль этих колебаний сводится, вероятно, к «массажу» мембраны, что устраняет застойные явления в транспортных каналах, связывающих внутренний объём клетки с внеклеточной жидкостью. При каких-либо нарушениях в процессах жизнедеятельности клетки акустоэлектрические колебания затухают (в предельном случае, когда клетка погибает, колебания отсутствуют). Роль внешнего миллиметрового излучения (от терапевтического аппарата) сводится к синхронизации либо регенеративному усилению угасающих колебаний. Следствием этого является изменение (коррекция) метаболизма клетки – синтез биологически активных веществ. Роль кровеносных капилляров в реализации биологических эффектов сводится к резонансному поглощению в них ЭМВ и изменению динамики протекания жидкости. Под действием ЭМВ во внутриклеточной и межклеточной жидкости может возникнуть сложное конвективное движение, что снимает ограничения диффузного движения жидкости вблизи клеток, что, в свою очередь, приводит к более активному переносу веществ и электрических зарядов через мембраны. Некоторые результаты влияния конвекции на транспорт различных веществ через мембраны можно найти в работе [25], в которой изучалось влияние ЭМВ на искусственные (бислойные липидные) мембраны.

В работе [26] показано, что миллиметровые ЭМВ могут инициировать в клетках синтез АТФ – универсальный аккумулятор и распределитель энергии в живых системах. Эти результаты напрямую связаны с полученными нами результатами по активизации подвижности сперматозоидов с помощью аппарата «ИВТ – Порог».

При воздействии миллиметрового излучения на рецепторы происходит увеличение гидратации белковых молекул, вследствие чего повышается активность рецепторных структур. Основанием для такого утверждения явились результаты экспериментов Ю.И. Хургина и сотр. [16]. Исследования проводились с химотрипсином, который использовался в качестве катализатора биохимической реакции. Каталитические возможности химотрипсина можно было регулировать, изменяя число гидратации. При уменьшении числа гидратации выход продуктов реакции, естественно, уменьшался. При облучении реакционного объёма ЭМВ выход продуктов реакции увеличивался, что могло произойти только за счёт увеличения гидратации химотрипсина, обуславливающей повышенную ферментативную активность белка. На основании многократно воспроизводимых тестов был сделан вывод о том, что ЭМВ могут увеличивать гидратацию белковых молекул.

Таким образом, механизм воздействия ЭМВ низкой интенсивности в миллиметровом диапазоне длин волн на биологические объекты носит многофакторный (комплексный) характер [27]. Основным (универсальным) является механизм поддержания в мембране клеток акустоэлектрических колебаний (колебаний Фрёлиха). Эти колебания возникли в процессе эволюции живой клетки и являются одним из главных механизмов поддержания процессов жизнедеятельности. Нарушению процессов жизнедеятельности сопутствует уменьшение амплитуды колебаний. Воздействие на клетку полями в этом диапазоне частот приводит к коррекции, восстановлению собственных колебаний (по механизму синхронизации или регенеративного усиления) [27].

Исходя из вышеизложенного, полученные нами экспериментальные данные можно объяснить следующим образом: одним из основных факторов резкого увеличения подвижных сперматозоидов ($\underline{a} + \underline{b}$) больных *астеноспермией* и *олигоастеноспермией* под действием прибора «ИВТ – Порог» может являться увеличение синтеза АТФ в клетках сперматозоидов [26]. Именно высокий уровень АТФ в клетках в первую очередь определяет большую подвижность и жизнеспособность сперматозоидов. Возможно, что значительное снижение уровня подвижной фракции ($\underline{a} + \underline{b}$) сперматозоидов у больных *астеноспермией* и *олигоастеноспермией* связано именно с падением в клетках уровня АТФ.

Присутствие мембранотропных нанотрубок во взвеси облучаемых сперматозоидов прежде всего может влиять на уровень, а также характер распределения и действия акустоэлектрических волн на мембраны клеток сперматозоидов, так как эти волны поддерживают жизнедеятельность любых клеток. С одной стороны, УНТ, инкорпорированные в липидный бислой мембран сперматозоидов, могут сглаживать сильный эффект повышения подвижности сперматозоидов под действием только одного КВЧ-излучения, что и наблюдается в наших экспериментах. С другой стороны, связанные с мембранами и диффундирующие через липидный бислой внутрь клеток [28] электропроводящие нанотрубки являются своеобразными антеннами на мембранах клеток сперматозоидов. Они могут не только аккумулировать и поддерживать необходимый уровень КВЧ-излучения и уровень акустоэлектрических волн на поверхности мембран, но и ретранслировать излучение прибора «ИВТ – Порог» внутрь клеток на митохондрии и другие внутриклеточные органеллы, поддерживая необходимый уровень энергетики в клетках сперматозоидов и уровень обменных процессов.

Именно этим можно объяснить значительные эффекты увеличения переживаемости сперматозоидов, а также сильный протекторный эффект комбинации нанотрубок и излучения от «ИВТ – Порог» – почти 100% сохранение активности криоконсервированных сперматозоидов после их размораживания. Вероятно, что определенную роль в ретрансляции КВЧ-излучения через воду на поверхность мембран клеток сперматозоидов играют нанотрубки, как антенны, находящиеся в воде.

Поддержание уровня КВЧ–излучения и уровня акустоэлектрических колебаний на мембранах клеток сперматозоидов с помощью нанотрубок особенно актуально для ослабленных сперматозоидов у больных *астеноспермией* и *олигоастеноспермией*, у которых, возможно, понижен уровень таких колебаний (и, следовательно, жизнедеятельности клеток).

Выводы

Проведено сравнительное изучение действия прибора «ИВТ – Порог» (КВЧ–излучение низкой интенсивности) на активность (подвижность) сперматозоидов здоровых мужчин и больных *астеноспермией* и *олигоастеноспермией*, а также комбинированного действия КВЧ–излучения и многостенных УНТ на активность этих клеток в норме и патологии. Показано, что КВЧ–излучение оказывает умеренное активизирующее влияние на сперму здоровых мужчин (на 12%) и резко повышает активность подвижных сперматозоидов у больных *астеноспермией* и *олигоастеноспермией* (соответственно на 87 и 81%). Активизация развивается во времени, и максимальное повышение активности сперматозоидов под влиянием КВЧ–излучения наступает через 30 мин.

Действие КВЧ–излучения в присутствии углеродных нанотрубок во взвеси сперматозоидов здоровых мужчин заметно увеличивает их переживаемость (сохранение подвижности сперматозоидов во времени). Уровень подвижной фракции спермы ($\underline{a} + \underline{b}$) остается в пределах нормы (50% и выше) в течение 8 ч, в то время, как в контроле уровень подвижной фракции падает ниже 50% уже к 4 ч. Для больных *астеноспермией* и *олигоастеноспермией* комбинированное действие КВЧ–излучения и УНТ поддерживает достаточный уровень активности подвижной фракции ($\underline{a} + \underline{b}$) в течение 6 ч, в то время, как эта фракция у больных без комбинированной терапии через 6 ч близка к нулю.

Изучение протекторного действия УНТ и КВЧ–излучения на сперматозоиды, подвергшиеся криоконсервированию, показало, что значительный протекторный эффект наблюдается только в случае использования комбинированного воздействия после размораживания сперматозоидов. Процент выживших активных сперматозоидов здоровых мужчин после размораживания криоконсервированной спермы составляет от 70 до 75%. После комбинированного воздействия после размораживания спермы активная фракция составляет в среднем 96%. В случае больных *астеноспермией* процент активной фракции возрастает в среднем на 25%. Использование в качестве протектора после размораживания спермы только КВЧ–излучения повышает уровень подвижной фракции лишь на 10–15%.

Мы полагаем, что одним из основных факторов резкого увеличения подвижных сперматозоидов больных *астеноспермией* и *олигоастеноспермией* под действием КВЧ–излучения является увеличение в клетках синтеза АТФ, который определяет их подвижность и жизнеспособность.

Присутствие УНТ во взвеси КВЧ–облучаемых сперматозоидов, прежде всего, влияет на уровень, характер распределения, а также действие акустоэлектрических волн на мембраны клеток, поддерживая жизнедеятельность последних. УНТ, инкорпорированные в липидный бислой мембран сперматозоидов, могут сглаживать сильный эффект повышения подвижности сперматозоидов под действием только одного КВЧ–излучения. В то же время, УНТ, являясь электропроводящими системами, могут аккумулировать и поддерживать высокие уровни КВЧ–излучения и акустоэлектрических волн на поверхности мембран, а также транслировать энергию ЭМВ внутрь клеток на митохондрии и другие внутриклеточные органеллы. Именно этим можно объяснить значительное увеличение переживаемости сперматозоидов и сильный протекторный эффект комбинированного воздействия нанотрубок и КВЧ–излучения (почти 100% сохранение активности криоконсервированных сперматозоидов после их размораживания).

Поддержание уровней КВЧ-излучения и акустоэлектрических колебаний на мембранах клеток сперматозоидов с помощью УНТ особенно актуально при таких патологиях, как *астеноспермия* и *олигоастеноспермия*, и может рассматриваться в качестве действенной терапии при лечении мужского бесплодия.

Литература

1. Иванов Л.В., Крамар М.Й., Черных В.П. и др. Активирующее действие нанотрубок на сперматозоиды // Поверхность. – Киев: Наукова думка. – 2009. – № 1(16). – С. 314-321.
2. Kartel M.T., Chernykh V.P., Ivanov L.V. et al. Mechanisms of the cytotoxicity of carbon nanotubes // Chemistry, Physics and Technology of Surface. – 2011. – V. 2, N2. – P. 182–189. (<http://cpts-com-ua.1gb.ua/images/stories/pdf/2/2.2/kartel.pdf>).
3. Kartel M.T., Ivanov L.V., Kovalenko S.N., Tereschenko V.P. Carbon nanotubes: Biorisks and biodefence // Biodefence. NATO Science for Peace and Security Series A: Chemistry and Biology / Eds. S. Mikhailovsky and A. Khajibaev. – Springer Science + Business Media B.V., 2011. – P. 11–22. (<http://twirpx.com/file/839393/>).
4. Иванов В.Б., Субботина Т.И., Хадарцев А.А. и др. Облучение экспериментальных животных низкоинтенсивным крайне высокочастотным электромагнитным полем как фактор канцерогенеза. // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2005. – Т. 139, №2. – С. 211-214. (<http://prometeus.nsc.ru/partner/zarubin/emfield3.ssi>).
5. Moulder J.E. Power-frequency Fields and Cancer // Crit. Rev. Biomed. Engineering. – 1998. – V. 26, N1-2. – P. 1-116. (<http://ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9762503>).
6. Friedman J., Kraus S., Hauptman Y. et al. Mechanism of short-term ERK activation by electromagnetic fields at mobile phone frequencies // Biochem. J. – 2007. – V. 405 (3). – P. 559-568. (<http://ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2267306/?tool=pubmed>).
7. Бецкий О.В., Лебедева Н.Н., Котровская Т.И. Применение низкоинтенсивных миллиметровых волн (ретроспективный обзор) // Миллиметровые волны в биологии и медицине. – 2005. – № 2(38). – С. 23-39. (<http://bitalex.ru/bibl/index.php?w=2>).
8. Рябов Б.А. Взаимодействие КВЧ – излучения с биосистемами. (<http://amsat-kovert.ru/publ/vzaimodeistvie-kvch-izlucheniya-s-biosistemami>).
9. Мосин О.В. Воздействие электромагнитных волн низкой интенсивности на воду и биологические объекты. (<http://crystalpool.com.ua/aboutwater?aid=33>).
10. СЕМ ТЕСН: Медицинские приборы КВЧ терапии. (<http://cem-tech.info/publ/1-1-0-35>).
11. Картель Н.Т., Грищенко В.И., Черных В.П. и др. Использование метода спиновых зондов для оценки цитотоксичности углеродных нанотрубок // Доповіді НАН України. – 2009. – № 8. – С. 127-133. (<http://nbuv.gov.ua/portal/all/reports/2009-08/09-08-21.pdf>).
12. WHO. Laboratory manual for examination of human semen and semen-cervical mucus interaction. Cambridge: The Press Syndicate of the Universities of Cambridge, 1997. – P. 22. (<http://coursehero.com/textbooks/172892-WHO-Laboratory-Manual-for-the-Examination-of-HumanSemen-and-Semen-Cervical-Mucus-Interaction/>).
13. Грищенко В.И., Чуб Н.Н., Крамар М.Й. и др. Криоконсервирование спермы донора // Проблемы репродукции. – 2001. – №2. – С. 71-72. (http://rusmedserv.com/problreprod/-2001/2/article_239.html).
14. Смолянская А.З., Виленская Р.Л. Действие электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на функциональную активность некоторых генетических элементов бактериальных клеток // УФН. – 1973. – Т. 110, № 3. – С. 458-460. (http://acutearchinternational.com/html/ac_sci_1973.html).
15. Севастьянова Л.А. Исследование влияния радиоволн сверхвысокой частоты миллиметрового диапазона на костный мозг мышей // УФН. – 1973. – Т. 110, № 3. – С. 456-458. (http://acutearchinternational.com/html/ac_sci_1973.html).

16. Khurgin Yu.I., Kudryashova V.A., Zavizion V.A., Betskii O.V. Millimeter Absorption Spectroscopy of Agues Systems // Relaxation Phenomena in Condensed Matter (Ed. - W. Coffey). – Toronto, 1994. –P. 483 -543.
17. Ильина С.А., Бакаушина Г.Ф., Гайдук В.И. и др. О возможной роли воды в передаче воздействия излучения ММ – диапазона на биообъекты // Биофизика. – 1979. – Т. 24, №3. – С. 513-518.
18. Гапочка Л.Д., Гапочка М.Г., Королёв А.Ф. и др. Воздействие электромагнитного излучения КВЧ и СВЧ диапазона на жидкую воду // Вестник МГУ, Сер. Физика, астрономия. – 1994. – Т. 35, N4. – С. 121-125.
19. Fesenko E.E., Geletyuk V.I., Kasachenko V.N., Chemeris N.K. Preliminary microwave irradiation of water solution changes their channel-modifying activity // FEBS Letters. – 1995. – V. 366, N1. – P. 49-52. (<http://ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7789515>).
20. Бецкий О.В. Вода и электромагнитные волны // Биомедицинская радиоэлектроника. – 1998. – №2. – С. 3-6.
21. Синицын Н.И., Петросян В.И., Ёлкин В.А. и др. Особая роль системы «миллиметровые волны – водная среда» в природе // Биомедицинская радиоэлектроника. – 1998. – №1. – С. 5-23. (<http://merak.ru/articles/journal10rus.htm>).
22. Frohlich H. Bose condensation of strongly excited longitudinal electric modes // Phys. Lett. A. – 1968. – V. 26. – P. 402-403.
23. Девятков Н.Д., Голант М.Б., Бецкий О.В. Миллиметровые волны и их роль в процессах жизнедеятельности. – М.: Радио и связь, 1991. – 168 с. (http://mirknig.com/knigi/estesstv_nauki/1181444174-millimetrovye-volny-i-ih-rol-v-processah-zhiznedeyatelnosti.html).
24. Девятков Н.Д., Голант М.Б., Бецкий О.В. Особенности медико-биологического применения миллиметровых волн. – М.: ИРЭ РАН, 1994. – 164 с.
25. Geletyuk V.I., Kazachenko V.N., Chemeris N.K., Fesenko E.E. Dual effects of microwaves on single Ca(2+)-activated K+ channels in cultured kidney cells Vero // FEBS Letters. – 1995. – V. 359, N1. – P. 85-88. (<http://ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7851537>).
26. Петров И.Ю., Бецкий О.В. Изменение потенциалов плазматических мембран клеток зелёного растения при электромагнитном облучении // ДАН СССР. – 1989. – Т. 305, №2. – С. 474-476.
27. Гассанов Л.Г., Пясецкий В.И., Писанко О.И. Экологические особенности взаимодействия низкоинтенсивных электромагнитных полей крайне высокочастотного диапазона и организма человека // Миллиметровые волны в медицине и биологии / Под ред. Н.Д. Девяткова. – М.: ИРЭ АН СССР, 1989. – С. 99-105.
28. Porter A.E., Gass M., Muller K. et al. Direct imaging of single-walled carbon nanotubes in cells // Nature Nanotechnology. – 2007. – V. 2, N11. – P. 713–717. (<http://nature.com/nnano/journal/v2/n11/full/nnano.2007.347.html>).

КОМБІНОВАНИЙ ВПЛИВ ВУГЛЕЦЕВИХ НАНОТРУБОК І ВВЧ-ВИПРОМІНЮВАННЯ НА СПЕРМАТОЗОЇДИ ЧОЛОВІКІВ У НОРМІ І ПАТОЛОГІЇ

Л.В. Іванов¹, М.Т. Картель¹, М.Й. Крамар², Н.Д. Колбун²

¹*Інститут хімії поверхні ім. О.О. Чуйка Національної академії наук України
вул. Генерала Наумова, 17, Київ, 03164, Україна*

²*Інститут кріобіології та кріомедицини Національної академії наук України
вул. Переяславська, 23, Харків, 61015, Україна*

Проведено порівняльне вивчення дії слабого вкрай високочастотного випромінювання в присутності вуглецевих нанотрубок на рухливість сперматозоїдів здорових чоловіків та хворих на астеноспермію і олігоастеноспермію.

Дія випромінювання в присутності нанотрубок у суспензії сперматозоїдів здорових чоловіків помітно збільшує їх рухливість у часі. Рівень рухомої фракції сперми залишається в межах норми (понад 50%) протягом 8 год., в той час, як в контролі рівень рухомий фракції падає нижче 50% вже протягом 4 год. Для хворих на астеноспермію і олігоастеноспермію комбінована дія вкрай високочастотного випромінювання та вуглецевих нанотрубок підтримує достатній рівень активності рухомий фракції протягом 6 год.

Вивчення протекторної дії нанотрубок і випромінювання на сперматозоїди, які зазнали кріоконсервування, показав, що значний позитивний ефект (практично повне відновлення вихідної рухливості) спостерігається тільки у випадку використання комбінованого впливу.

Висловлено припущення, що одним з основних факторів різкого збільшення рухливих сперматозоїдів хворих на астеноспермію і олігоастеноспермію під дією вкрай високочастотного випромінювання є збільшення в клітинах синтезу АТФ, який визначає їх рухливість і життєздатність. Роль вуглецевих нанотрубок як електропровідних систем зводиться, вочевидь, до акумулювання і підтримки високих рівнів електромагнітного випромінювання цього типу і акустоелектричних хвиль на поверхні мембран, а також транслювати енергію випромінювання всередину клітин на мітохондрії та інші внутрішньоклітинні органи.

COMBINED EFFECT OF CARBON NANOTUBES AND EXTREMELY HF-RADIATION ON MEN SPERMATOZOIDS IN NORM AND PATHOLOGY

L.V. Ivanov¹, M.T. Kartel¹, M.I. Kramar², N.D. Kolbun²

¹*Chuiko Institute of Surface Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine
17 General Naumov Str., Kyiv, 03164, Ukraine*

²*Institute of Cryobiology and Cryomedicine of National Academy of Sciences of Ukraine
23 Pereyaslavskaya Str., Kharkiv, 61015, Ukraine*

A comparative study of the weak extremely high-frequency radiation in the presence of carbon nanotubes on the mobility of sperm of healthy men and patients with asthenospermia and oligoasthenospermia is carried out.

The effect of radiation in the presence of nanotubes in suspension of sperm from healthy men significantly increases their motile time). The level of the mobile fraction of semen remains within the norms are (over 50%) for 8 h, while in the control level of the mobile fraction pas gives less than 50% already for 4 h. For patients with asthenospermia and oligoasthenospermia combined effect of extremely high-frequency radiation and carbon nanotubes maintains sufficient activity of the mobile fraction for 6 h.

The study of the protective action of radiation and nanotubes on the sperm subjected to cryopreservation showed that a significant positive effect (almost complete recovery of the initial mobility) is observed only in the case of a combined effect.

It is suggested that a major factor in the sharp increase of motile sperm of patients with asthenospermia and oligoasthenospermia under the influence of extremely radiation is to increase the synthesis of ATP in the cells, which determines their motility and viability. The role of carbon nanotubes as conductive systems is reduced, apparently, for the accumulation and maintaining of high levels of electromagnetic radiation of this type and acoustoelectric waves on the surface of the membrane, as well as to translate radiation energy inside cells to mitochondria and other intracellular organelles.