

ВЛИЯНИЕ МИКРОВОЛНОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ С РАЗЛИЧНОЙ ДЛИНОЙ ВОЛНЫ НА СОСТОЯНИЕ ХРОМАТИНА В ИЗОЛИРОВАННЫХ КЛЕТКАХ БУККАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ ЧЕЛОВЕКА

Романова К.В., Пасюга В.Н., Дядченко А.В., Катрич В.А., Шкорбатов Ю.Г.

Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина,
м. Свободы, 4, г. Харьков, 61022, Украина,
e-mail: Yury.G.Shckorbatov@univer.kharkov.ua

Исследовано влияние электромагнитного излучения с частотами 37,5-53,57 ГГц на содержание гранул гетерохроматина (СГГ) в интерфазных ядрах выделенных из организма клеток буккального эпителия четырех доноров. Клетки окрашивали орсеином (2% раствор в 45% уксусной кислоте) и воздействовали на них в течение 10 или 60 секунд микроволновым излучением с плотностью мощности 25 мкВт/см². Шаг по частоте 1 ГГц, а в интервале частот 41,85-42,65 ГГц – 0,1 ГГц. После 10-секундного облучения изменение СГГ в клетках разных доноров имело разнонаправленный характер. Облучение в течение 60 секунд приводило к повышению СГГ у всех доноров и при всех частотах. Микроволновое излучение с частотами 42,25 и 53,57 ГГц не проявляло каких-либо резонансных эффектов.

Ключевые слова: клеточное ядро, гетерохроматин, микроволновое излучение, буккальный эпителий, орсеин.

Введение

Развитие средств мобильной связи, телевидения, использование радаров для определения скорости автотранспорта и т. д. привело к повышению уровня облучения человека электромагнитными полями и привлекло общественное внимание к проблеме их биологического действия. Актуальность изучения действия электромагнитных полей на уровне клетки и клеточного ядра обусловлена тем, что именно на этом уровне осуществляются процессы регуляции наиболее важных процессов жизнедеятельности, итогом которых может стать временное нарушение функционального состояния организма либо заболевание.

Теоретически и практически важным представляется вопрос о существовании так называемых резонансных частот в микроволновом диапазоне электромагнитного излучения для биологических объектов. В литературе имеется немало сообщений о резонансных действиях микроволнового излучения, состоящих в том, что биологический эффект внешнего облучения наблюдается при определенных частотах, тогда как при других, близких частотах - не наблюдается или наблюдается в меньшей степени [5, 6].

Так, резонансные эффекты наблюдали при облучении культур грибов рода *Candida*: стимуляция пролиферации клеток имела место при воздействии микроволнового излучения с длиной волны 7,18 мм и отсутствовала при других, близких длинах волн (7,17 мм и 7,19 мм). Облучение в течение 15 часов культуры дрожжей *Rhodotorula rubra* при длинах волн 7,16 мм; 7,17 мм; 7,18 мм и 7,19 мм вызывало различный эффект: при длине волны излучения 7,18 мм наблюдалась стимуляция процесса деления клеток, при других длинах волн деление клеток несколько подавлялось [5]. После облучения микроволнами бактерий (стафилококки, стрептококки, кишечная и брюшнотифозная палочка) отмечено снижение их выживаемости; при облучении животных (крысы, мыши) - повышение скорости свертывания крови; снижение содержания гемоглобина, белка в плазме крови на 30% и более; в кроветворных органах (печень и селезенка) снижалось количество нуклеиновых кислот и белка. В диапазоне длин волн 5,0-8,0 мм наиболее выраженным эффектом обладало микроволновое излучение с длиной волны 6,5 мм [8]. Резонансные эффекты наблюдались при облучении культур грибов *Rhodotorula rubra*: пролиферация клеток стимулировалась

микроволновым излучением с длиной волны 7,18 мм и отсутствовала при 7,17 и 7,19 мм [7].

Микроволновое излучение влияет на восстановительные процессы в костном мозге после рентгеновского облучения. При облучении мышей рентгеновским излучением в комбинации с миллиметровыми волнами в интервале 7,07-7,27 мм с шагом 0,01 мм наблюдали волнообразную зависимость изменения количества кариоцитов (клеток костного мозга) от длины микроволнового излучения с 8 минимумами и 9 максимумами [10].

В работе [3] высказано предположение, что микроволновое излучение оказывает резонансное воздействие на мембраны клеток. Биологический эффект связан сложной нелинейной зависимостью с воздействующими на мембрану полями и возможно его усиление за счет действия метаболической системы клетки. Влияние микроволнового облучения на хлоридный ток через мембраны клеток водоросли *Nitellopsis obtusa* зависело от частоты микроволнового излучения [9]: при частотах 49, 70, 76 ГГц отмечено повышение хлоридного тока на 200-400%, а при частотах 41,5 и 71 ГГц наблюдалось снижение проводимости. Авторы этой работы полагают, что микроволновое излучение влияет на определенные звенья в цепи управления хлорных каналов, а не непосредственно на каналы [3].

Интересны представления некоторых авторов о возможности резонансного действия микроволнового излучения на биологические объекты за счет взаимодействия с собственными колебаниями молекулярных осцилляторов воды [11]. По их мнению, благодаря такому взаимодействию электромагнитная волна с резонансной частотой распространяется в среде с малыми потерями, а при отклонении от резонансной частоты излучение поглощается на поверхности объекта. Волны микроволнового излучения, распространяющиеся в биологическом объекте на резонансных частотах, начинают поглощаться в местах локальных нарушений структуры, имеющих собственные, «аномальные» частоты. Это, в принципе, может привести к восстановлению «нормальных» резонансных частот и повышению фазовой синхронизации под действием вынуждающей «нормальной» резонансной частоты [11].

В работе [14] было показано наличие резонансной частоты при исследовании вязкости ДНК методом ATVVD (anomalous viscosity time dependencies): при облучении клеток *E. coli* микроволнами в диапазоне частот 51,64-51,85 ГГц резонанс наблюдался при частоте 51,755 ГГц.

С помощью метода ATVVD в серии работ, перечисленных в обзоре [13], при воздействии микроволнового излучения на клетки *E. coli* было показано наличие резонансного эффекта при 41,32 и 51,76 ГГц.

Вопрос о существовании определенных, «резонансных» частот микроволнового излучения, при которых наблюдается максимум биологического действия, до настоящего времени является предметом исследований, поскольку не все авторы обнаруживают существование таких частот. Например, согласно данным [12], влияние микроволнового излучения на токи через мембраны и транспорт тетрафенилбората через искусственные мембраны не зависит от частоты излучения в пределах 53-78 ГГц. Имеются свидетельства того, что биологический эффект микроволнового излучения зависит от расстояния объекта до излучателя, причем авторы [1] связывают квазирезонансную зависимость эффекта с характером и структурой электромагнитного поля в ближней зоне.

Целью настоящего исследования было изучение влияния микроволнового излучения с частотами 42,25 и 53,57 ГГц (длина волны 7,1 и 5,6 мм) на состояние хроматина в клетках человека и сравнение его с действием излучения, близкого по частоте (в интервале 37,5-53,57 ГГц). Микроволновое излучение с длиной волны 7,1 и 5,6 мм было выбрано потому, что именно оно, по мнению ряда авторов, обладает повышенной способностью вызывать различные биологические эффекты и разрешено Минздравом РФ к клиническому использованию [4].

Материалы и методы

Объектом исследования являлись клетки буккального эпителия человека (БЭЧ), которые непосредственно перед экспериментом соскабливали с внутренней поверхности щеки донора с помощью тупого стерильного шпателя и помещали в раствор следующего состава: 3,03 мМ фосфатный буфер, рН=7,0 с добавлением 2,89 мМ хлорида кальция.

Морфологическое состояние ядра клетки зависит от уровня его функциональной активности. Одним из важных механизмов регуляции функциональной активности ядра является изменение степени конденсированности хроматина [2]. Мы использовали метод определения степени конденсации хроматина в интерфазных ядрах клеток БЭЧ по содержанию гранул гетерохроматина (СГГ) после окрашивания орсеином (2% раствор в 45% уксусной кислоте). Определяли среднее количество гранул гетерохроматина на одно ядро,

затем подсчитывали среднюю величину СГГ для 30 ядер [15]. Каждый эксперимент повторя-

ли 3 раза, на рисунках (см. ниже) представлены усредненные данные трех экспериментов. Повы-

шение показателя СГГ свидетельствует о возрастании степени конденсации хроматина.

Источником МВИ с плотностью мощности 25 мкВт/см² в диапазоне частот 37,5-53,57 ГГц (с интервалом в 1 ГГц) и в диапазоне 41,85-42,65 Гц (с интервалом в 0,1 ГГц) являлся высокочастотный генератор сигналов Г4-141. Облучение клеток проводили на расстоянии 15 см от края облучающей рупорной антенны. В качестве добровольных доноров клеток служили: доноры А (21 год, женского пола), Б (55 лет, мужского пола), В (25 лет, мужского пола) и Г (75 лет, мужского пола). Время облучения клеток БЭЧ в экспериментах составляло 10 либо 60 секунд. Рассчитывали среднюю арифметическую величину СГГ и величину стандартной ошибки по методу Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Результаты исследования влияния МВИ в диапазоне частот 37,5-53,57 ГГц на состояние хроматина в клетках БЭЧ представлены на рис. 1 и 2.

Как видно на рис. 1, при времени облучения 10 секунд изменения показателя СГГ в клетках имеют различный характер: для доноров А и Б характерно преимущественно снижение СГГ относительно контроля, для доноров В и Г – напротив, повышение. МВИ с частотами 42,25 и 53,57 ГГц не проявило каких-либо резонансных эффектов.

При времени облучения 60 сек. (рис. 2) МВИ во всем диапазоне частот вызывало в клетках всех доноров повышение СГГ относительно уровня

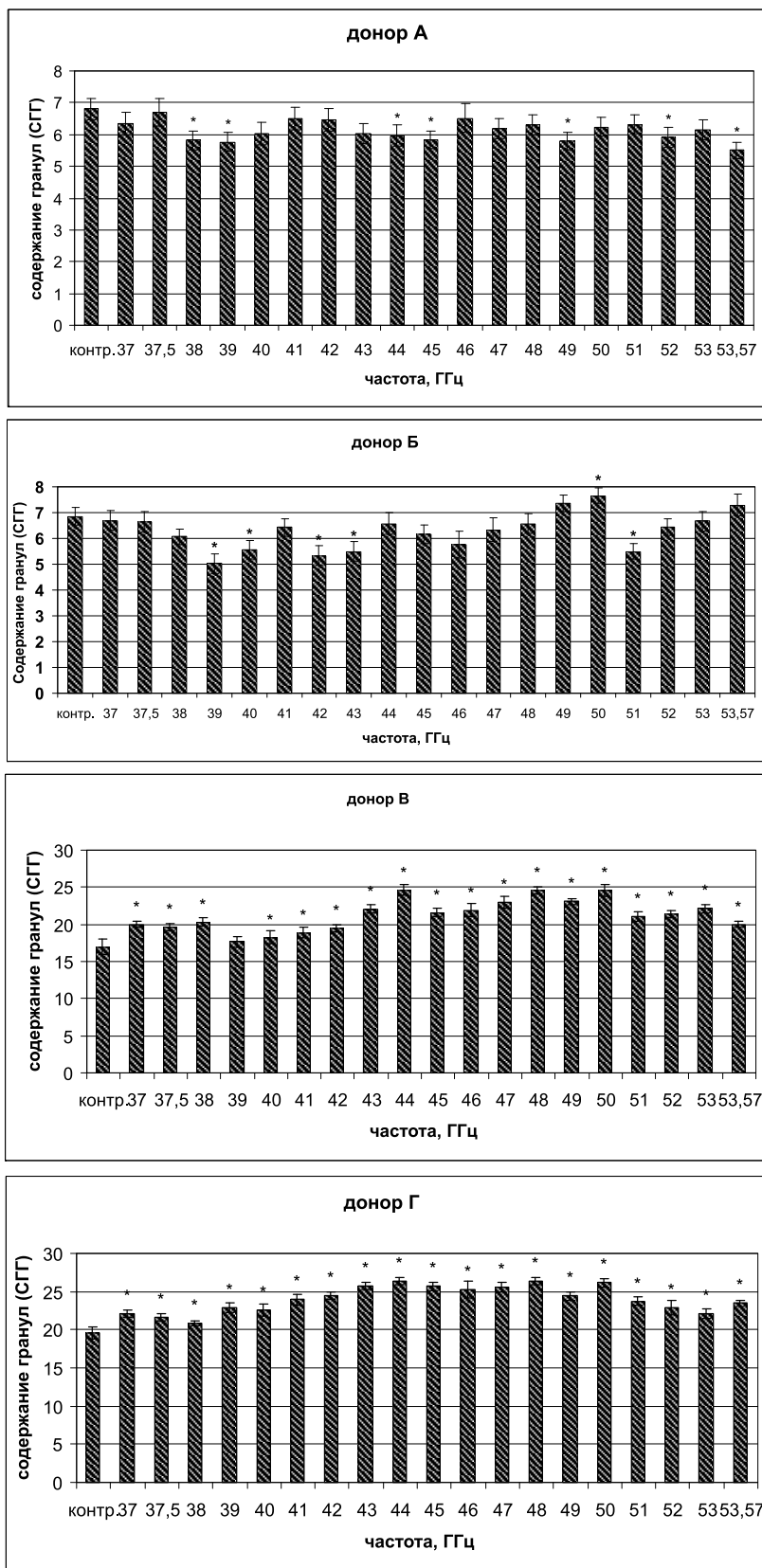


Рис. 1. Изменение показателя СГГ в ядрах клеток БЭЧ доноров А, Б, В и Г после воздействия МВИ в течение 10 секунд в диапазоне частот 37-53,57 ГГц с интервалом 1 ГГц. Варианты, достоверно отличающиеся от контроля, здесь и ниже отмечены звездочкой (*)

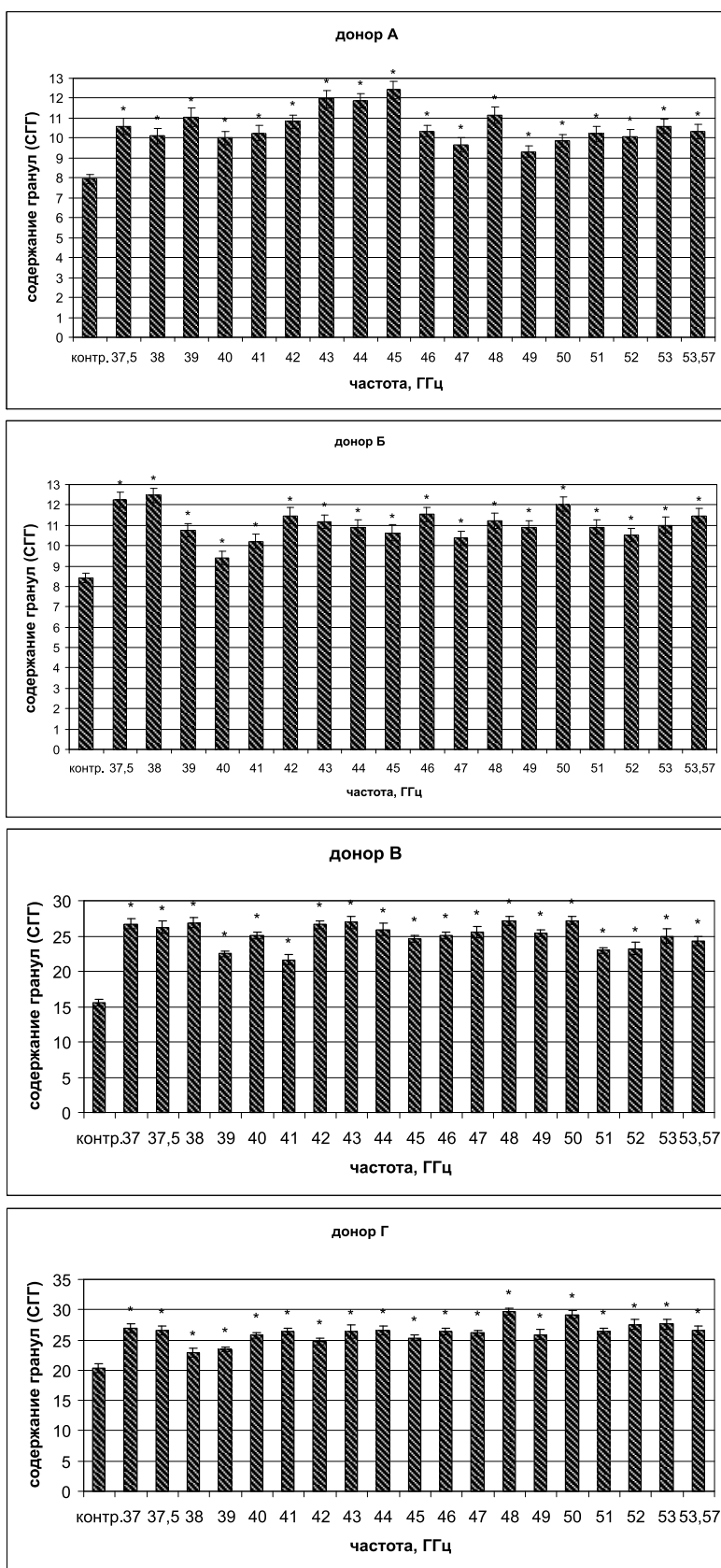


Рис. 2. Изменение показателя СГГ в ядрах клеток доноров А, Б, В и Г после воздействия МВИ в течение 60 секунд в диапазоне частот 37-53,57 ГГц с интервалом 1 ГГц.

контроля. При сравнении результатов определения СГГ в клетках отдельных доноров можно отметить

ответ на стрессовое воздействие.

частоты с относительно большей биологической активностью, однако эти частоты не совпадают у разных доноров. После воздействия МВИ с предполагаемыми РЧ 42,25 и 53,57 ГГц величина СГГ была на том же уровне, что после облучения с частотами, которые отличались на 1 ГГц.

Во второй серии экспериментов исследовали влияние на клетки БЭЧ микроволн в более узком диапазоне частот 41,85-42,65 ГГц с интервалом в 0,1 ГГц.

Облучение клеток доноров А и Б в течение 10 секунд (рис. 3) не приводило к значительному изменению уровня СГГ. У клеток БЭЧ донора А вариации показателя не наблюдалось вообще, у клеток донора Б уровень СГГ снизился в 4 случаях из 11. МВИ с частотой, близкой к «РЧ» 42,25 ГГц, не проявило особой биологической активности.

При увеличении времени воздействия микроволн до 60 секунд (рис. 4) уровень СГГ в клетках БЭЧ либо повышался, либо МВИ не влияло на этот показатель (5 случаев из 9 для клеток донора А и 3 случая из 9 для клеток донора Б).

В целом, судя по результатам, полученным на клетках двух доноров, предполагаемая РЧ 42,25 ГГц ничем не выделялась среди других частот.

Выводы

Таким образом, после облучения клеток микроволнами в диапазонах частот 37-53,5 ГГц и 41,85-42,65 ГГц нами не было обнаружено значительных различий в реакции ядер клеток на МВИ различной частоты. При облучении клеток в течение 1 минуты количество гетерохроматина в ядрах увеличилось по сравнению с контрольным образцом, что свидетельствует о повышении степени конденсированности хроматина в

Литература

1. Гапеев А.Б. Модификация активности перитонеальных нейтрофилов мыши при воздействии миллиметровых волн в ближней и дальней зонах излучателя / А.Б.Гапеев, В.Г.Сафронова, Н.К.Чемерис, Е.Е.Фесенко // *Биофизика.*– 1996.– Т.41, №1.– С.205-219.

2. Гвоздев В.А. Гетерохроматин и его функциональные характеристики / В.А.Гвоздев, Л.А.Усакин, Г.Л.Коган // *Медицинская генетика.*– 2003.– Т.2, №7.– С.290-296.

3. Голант М.Б. О проблеме резонансного действия когерентных электромагнитных излучений миллиметрового диапазона волн на живые организмы // *Биофизика.*– 1989.– Т.34, №5.– С.339-348.

4. Грачев В.И. Методы и аппаратура для КВЧ-пунктурной терапии / В.И.Грачев, В.В. Колесов // *Радиоэлектроника, наносистемы, информационные технологии.*– 2009.– Т.1, №1-2.– С.171-194.

5. Девятков Н.Д. Влияние электромагнитного излучения миллиметрового диапазона длин волн на биологические объекты // *Успехи физических наук.*– 1973.– Т.110, №3.– С.453-454.

6. Девятков Н.Д. Миллиметровые волны в процессах жизнедеятельности / Н.Д.Девятков, М.Б.Голант, О.В.Бецкий.– М.: Радио и связь, 1991.– 168 с.

7. Девятков Н.Д. Роль синхронизации в воздействии слабых сигналов миллиметрового диапазона на живые организмы / Н.Д.Девятков, М.Б.Голант, А.С.Тагер // *Эффекты нетеплового воздействия миллиметрового излучения на биологические объекты* / Под. ред. акад. Девяткова Н.Д.– М.: ИРЭ АН СССР, 1983.– С.7-17.

8. Залюбовская Н.П. Реакция живых организмов на воздействие электромагнитных волн миллиметрового диапазона // *Успехи физических наук.*– 1973.– Т.110, №3.– С.462-464.

9. Катаев А.А. Частотозависимое влияние миллиметровых электромагнитных волн на ионные токи водоросли *Nitellopsis*. Нетепловые эффекты / А.А.Катаев, А.А.Александров, Л.Л.Тихонова,

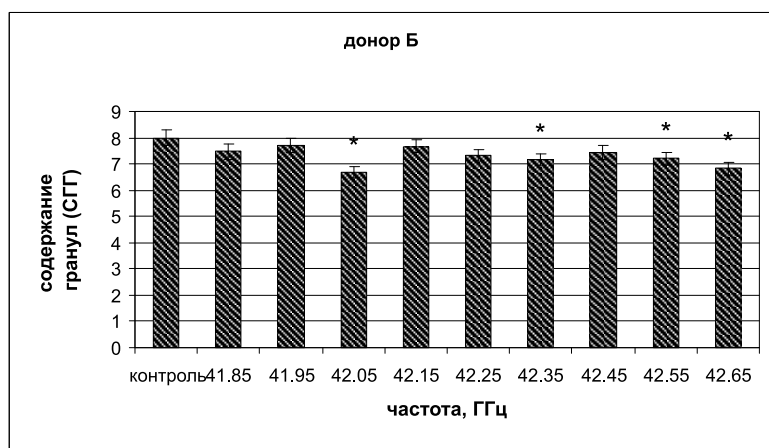
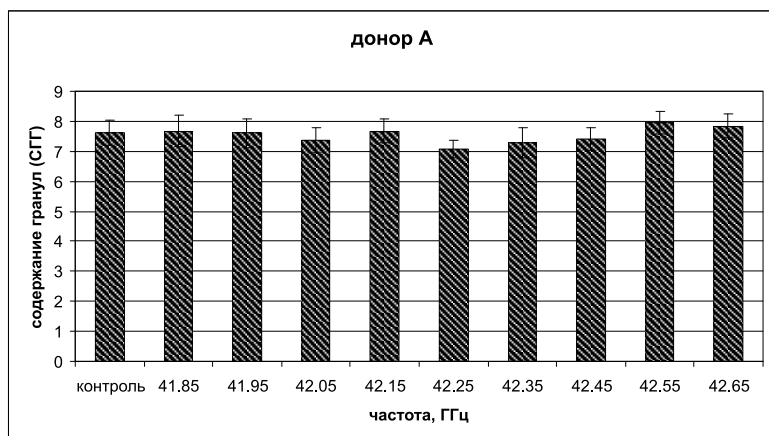


Рис. 3. Изменение показателя СГГ в ядрах клеток доноров А и Б после воздействия МВИ в течение 10 секунд в диапазоне частот 41,85-42,65 ГГц с интервалом в 0,1 ГГц

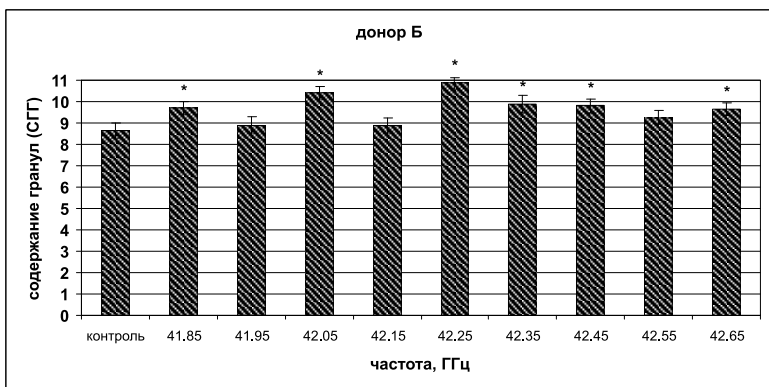
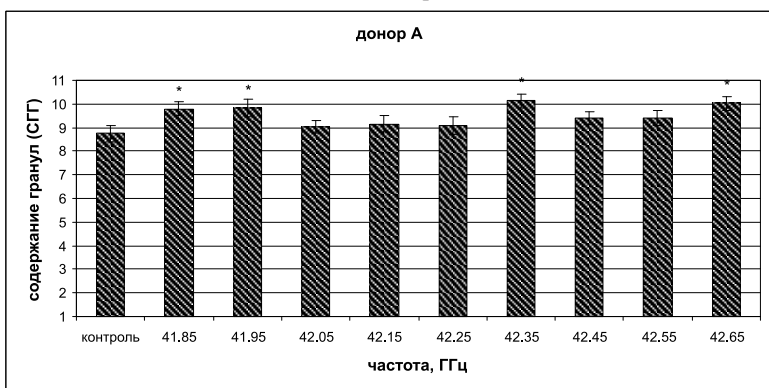


Рис. 4. Изменение показателя СГГ в ядрах клеток доноров А и Б после воздействия МВИ в течение 60 секунд в диапазоне частот 41,85-42,65 ГГц с интервалом в 0,1 ГГц

Г.Н.Берестовский // Биофизика.– 1993.– Т.38, №3.– С.446-462.

10. Севастьянова Л.А. Резонансный характер воздействия радиоволн миллиметрового диапазона на биологические системы / Л.А.Севастьянова, А.Г.Бородина, Э.С.Зубенкова и др. // Эффекты нетеплового воздействия миллиметрового излучения на биологические объекты / Под. ред. акад. Девяткова Н.Д.– М.: ИРЭ АН СССР, 1983.– С.34-47.

11. Петросян В.И. Взаимодействие физических и биологических объектов с электромагнитными излучениями КВЧ-диапазона / В.И.Петросян, Ю.В.Гуляев, Э.А.Житенева и др. // Радиотехника и электроника.– 1995.– Т.1.– С.127.

12. Alekseev S.I. Millimeter microwave effect on ion transport across lipid bilayer membranes / S.I.Alekseev,

M.C.Ziskin // Bioelectromagnetics.– 1995.– Vol.16.– P.124-131.

13. Belyaev I.Y. Non-thermal effects of extremely high-frequency microwaves on chromatin conformation in cells in vitro – Dependence on physical, physiological, and genetic factors / I.Y.Belyaev, V.S.Shcheglov, E.D.Alipov, V.D.Ushakov // IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques.– 2000.– Vol.48.– P.2172-2179.

14. Belyaev I.Y. Resonance effect of millimeter waves in the power range from 10-19 to 3 x 10⁻³ W/cm² on Escherichia coli cells at different concentrations / I.Y.Belyaev, V.S.Shcheglov, Y.D.Alipov, V.A.Polunin // Bioelectromagnetics.– 1996.– Vol.17, №4.– P.312-321.

15. Shckorbatov Y.G. He-Ne laser light induced changes in the state of chromatin in human cells // Naturwissenschaften.– 1999.– Vol.86.– P.452-453.

ВПЛИВ МІКРОХВИЛЬОВОГО ВИПРОМІНЕННЯ РІЗНИХ ДОВЖИН ХВИЛЬ НА СТАН ХРОМАТИНУ В ІЗОЛЬОВАНИХ КЛІТИНАХ БУКАЛЬНОГО ЕПІТЕЛІЮ ЛЮДИНИ

*Романова К.В., Пасюга В.М., Дядченко А.В., Катрич В.А., Шкорбатов Ю.Г.
Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна
e-mail: Yury.G.Shckorbatov @ univer.kharkov.ua*

Мета роботи: дослідження впливу електромагнітного випромінювання різних довжин хвиль на стан хроматину ядер клітин людини.

Матеріали і методи: досліджували вміст гранул гетерохроматину (ВГГ) в інтерфазних ядрах клітин букального епітелію після фарбування орсеїном (2% розчин в 45% оцтової кислоти). Визначали середню кількість гранул гетерохроматину на одне ядро, потім підраховували середню величину ВГГ для 30 ядер. Донори клітин: донор А (21 рік, жіночої статі), донор Б (55 років, чоловічої статі) і донор В (25 років, чоловічої статі), донор Г (66 років, чоловічої статі). Джерелом мікрохвильового випромінювання потужністю 25 мкВт/см² в діапазоні частот 37,5 - 53,57 ГГц з інтервалом в 1 ГГц і в діапазоні 41,85 - 42,65 ГГц з інтервалом в 0,1 ГГц був високочастотний генератор сигналів Г4-141. Опромінення проводили протягом 10 і 60 секунд у вільному просторі, на відстані 15 см від краю опромінюючої рупорної антени.

Об'єкт досліджень: клітини букального епітелію людини, що були виділені з організму.

Результати: в результаті 10-секундного опромінення мікрохвилями в діапазоні частот 37 - 53,5 ГГц зміни показника ВГГ в клітинах різних донорів мають різний характер. Для донорів А і Б характерно переважно зниження ВГГ, для донорів В і Г - характерно підвищення ВГГ. Опромінення клітин мікрохвилями протягом 60 секунд призводило до підвищення ВГГ в клітинах всіх донорів при всіх частотах. Мікрохвилі з частотами 42,25 і 53,57 ГГц, в порівнянні з мікрохвилями інших близьких частот не проявили будь-яких «резонансних» ефектів.

Висновки: При опроміненні клітин на «резонансних» частотах (42,25 і 53,57 ГГц) за станом конденсації хроматину не спостерігали значних відмінностей від варіантів, опромінених мікрохвилями з близькими частотами.

Ключові слова: клітинне ядро, гетерохроматин, НВЧ, букальний епітелій, орсеїн.

EFFECT OF MICROWAVE IRRADIATION AT DIFFERENT WAVELENGTHS ON THE CHROMATIN IN ISOLATED HUMAN BUCCAL EPITHELIUM CELLS

*Romanova K.V., Pasiuga V.N., Dyadchenko A.V., Katrich V.A., Shckorbatov Y.G.,
V.N.Karazin Kharkiv National University
e-mail: Yury.G.Shckorbatov@univer.kharkov.ua*

Purpose of Investigation: To study the effects of electromagnetic radiation of different wavelengths on the state of chromatin in human cell nuclei.

Materials and Methods: We investigated heterochromatin granules quantity (HGQ) in interphase nuclei of buccal epithelium cells after staining with orcein (2% solution in 45% acetic acid). We determined the average number of granules of heterochromatin in one nucleus, and then calculated the average value of the HGQ for 30 nuclei. Donors of cells: donor A (21 years old, female), donor B (55 years old, male) and donor C (25 years old, male), donor D (66 years old, male). As the source of microwave radiation (power 25 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$) in the frequency range 37.5 - 53.57 GHz with an interval of 1 GHz, and in the range of 41.85 - 42.65 GHz with an interval of 0.1 GHz a high frequency signal generator G4-141 was used. Cells were exposed to microwaves for 10 and 60 seconds in free space, at a distance of 15 cm from the edge of the horn antenna.

The object of research: human buccal cells, isolated from the body.

Results: after the 10-second exposure to microwaves in the frequency range 37 - 53.5 GHz changes in the changes of the HGQ in the cells of different donors have different character. For donors A and B it is characterized by predominantly reduced HGQ, for donors C and D - is characterized by increased HGQ. Irradiation of cells in the microwave for 60 seconds led to increased HGQ in cells of all donors at all frequencies. Microwaves with frequencies of 42.25 and 53.57 GHz, in comparison with other similar microwave frequencies did not show any «resonance» effects.

Conclusions: in cells exposed to the «resonant» frequencies (42.25 and 53.57 GHz) the state of chromatin condensation not differs significantly from the cells exposed to microwaves with close frequencies.

Keywords: cell nucleus, heterochromatin, EHF, buccal epithelium, orcein.