

УДК 535.21:615.847: 577.3

## ОСОБЕННОСТИ ВОЗДЕЙСТВИЯ НИЗКОИНТЕНСИВНЫХ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ИЗЛУЧЕНИЙ РАЗЛИЧНЫХ ДИАПАЗОНОВ НА МИКРООРГАНИЗМЫ

© 2010 г. **В.А. Монич, С.Л. Малиновская, Т.В. Махрова, Д.С. Малиновский**

Нижегородская государственная медицинская академия

vam@gma.nnov.ru

Поступила в редакцию 01.03.2010

Проведено сравнительное исследование влияния низкоинтенсивных электромагнитных излучений различных диапазонов на рост *Esherichia coli* М-17. Выявлены определенные сходства и различия в эффектах воздействия названных излучений на исследуемый параметр.

**Ключевые слова:** низкоинтенсивные электромагнитные излучения, широкополосный свет, лазер, микроорганизмы.

### Введение

Низкоинтенсивные электромагнитные излучения (ЭМИ) в настоящее время находят широкое применение практически во всех областях медицины. Известно, что ЭМИ низкой интенсивности различных диапазонов, например светового и сверхвысокочастотного (СВЧ), способны существенно влиять на функциональное состояние живых клеток, тканей и на организм в целом [1–12]. Вместе с тем, до сих пор мало исследованы эффекты воздействия низкоинтенсивного света, когерентного и некогерентного, а также радиоволн на биологические объекты в ходе совместного эксперимента, при одинаковых условиях и близких по величине интенсивностях излучения.

Цель работы – сравнительное исследование влияния электромагнитных полей СВЧ-диапазона, лазерного излучения (НИЛИ) и широкополосного видимого света (ШС) различных диапазонов на штамм *Esherichia coli* М-17 (*E. coli* М-17).

### Материалы и методы

Объектом воздействия служили клетки *E. coli* М-17. Облучение суспензии клеток, полученной смывом 18-часового косяка (исходная концентрация  $10^4$  кл/мл), ЭМИ СВЧ-диапазона проводили при 37°C в кюветках из фторопласта, помещенных в волноводную ячейку сечением 35×15 мм, при следующих условиях: несущая частота 9.372 ГГц, плотность потока мощности от 3.4 до 27.2 мВ/см<sup>2</sup>, время экспозиции 60 минут. Контрольные опыты

проводили в режиме ложного облучения. Воздействие осуществляли непрерывными (НМ) и амплитудно-импульсно-модулированными (АИМ) полями с длительностью сигнала 5 мкс, частотой модуляции 9 кГц и пилообразной формой модуляции. Схема экспериментальной установки приведена на рисунке.

В качестве контроля эффекта прямого воздействия ЭМИ СВЧ-диапазона использовалось повышение температуры образцов (действие тепла). Для этого проводили исследования при температуре в диапазоне от 37 до 40°C. Эффект воздействия лазерным излучением и видимым светом определялся в тех же условиях, при температуре 37°C.

Источником НИЛИ служил He–Ne лазер ЛГ-15 (длина волны 625 нм). Источником ШС служил источник люминесцентного света, позволяющий получить зеленый и красный свет (длины волн 580±30 и 630±32 нм соответственно). Интенсивность света на поверхности образца составляла 5 мВт/см<sup>2</sup>.

В экспериментах регистрировали следующие величины:

- общее количество бактерий в суспензии, по калибровочной кривой, на основе измерения оптической плотности культуры на ФЭК-56М (светофильтр  $\lambda_{\max} = 540$  нм);
- количество жизнеспособных бактерий, способных формировать колонии на стандартной среде.

Для повышения точности в оценке высевок использовалась методика, рекомендованная в работе [13]: каждая проба делилась на две части, после чего производились необходимые разведения и высевы.

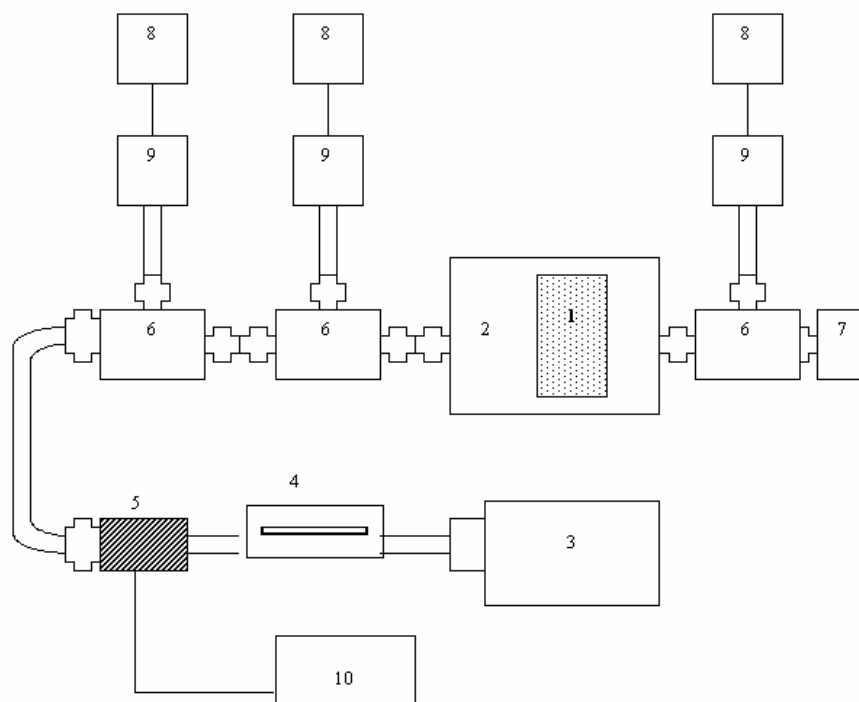


Рис. Схема радиотехнической установки СВЧ-излучения: 1 – кювета с облучаемым образцом, 2 – волноводная ячейка, 3 – генератор СВЧ-излучения, 4 – аттенюатор, 5 – пин-аттенюатор, 6 – направленный ответвитель, 7 – заглушка, 8 – измерители мощности излучения Г2-21, 9 – измерительная головка, 10 – генератор НЧ-сигналов

Выживаемость клеточных популяций в опытах по СВЧ-воздействию определялась по формуле  $\lg(N/N_0)$ , где  $N$  – количество жизнеспособных клеток, или инфекционных единиц в культуре, после повышения температуры среды в течение 10 минут,  $N_0$  – количество жизнеспособных клеток, или инфекционных единиц в культуре, при начальной температуре. Оценка влияния ШС и НИЛИ на рост клеток *E. coli* М-17 проводилась путем подсчета колоний.

После облучения клетки высевались в чашки Петри, на стандартную среду Эндо.

Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием программы «Stadial». Достоверность различий между значениями сравниваемых групп определяли с использованием  $t$ -критерия Стьюдента. При множественных сравнениях вводили поправку Бонферрони [14].

### Результаты и их обсуждение

Наибольшее влияние на выживаемость бактерий оказывает нагрев суспензии от 37 до 38°C, а титр инфекционных единиц в культуре существенно возрастает при изменении температуры от 36 до 37°C (табл. 1).

В связи с этим, дальнейшие исследования влияния ЭМИ СВЧ-диапазона, а также света на

клетки кишечной палочки осуществляли при температуре 37°C, когда отмечается достаточно высокая чувствительность системы к тепловому воздействию по обоим регистрируемым параметрам.

Изучение дозовой зависимости гибели клеток и изменения титра инфекционных единиц в культуре проводили в условиях действия немодулированных и амплитудно-импульсно-модулированных ЭМИ.

В табл. 2 представлены результаты, показывающие выживаемость культур клеток в зависимости от плотности потока мощности излучения (ППМ). Для сравнения приведены также данные о выживаемости клеток при нагреве.

Полученные результаты показывают, что СВЧ-воздействие влияет на выживаемость бактерий. Причем статистически обоснованная разница в эффективности теплового фактора по сравнению с СВЧ-воздействием отсутствует. Кроме того, наблюдается отсутствие влияния характера модуляции ЭМИ на выживаемость бактерий.

Результаты проведенных исследований выявили наличие эффекта воздействия широкополосного красного света (ШКС) и НИЛИ. Оба вида излучения, при 10-минутной экспозиции, оказали стимулирующее воздействие на рост кишечной палочки. При более длительном воздействии (40

Таблица 1

**Чувствительность бактерий *Esherichia coli* M-17 к нагреву**

T, °C	Выживаемость бактерий*		Изменение титра, в инфекц. ед.*	
	в пробирках	в кюветах	в пробирках	в кюветах
33–34	0.25±0.34	-0.20±0.25	1.11±1.99	1.13±4.70
34–35	-0.02±0.39	0.25±0.43	2.17±1.91	14.00±24.46
35–36	-0.13±0.34	0.22±0.22	5.65±1.36	16.34±1.54
36–37	-0.34±0.81	-0.55±0.09	20.33±3.14	46.44±15.75
37–38	-0.97±0.06	-0.99±0.01	9.00±1.09	1.53±0.52
38–39	-0.82±0.30	-0.90±0.24	3.81±2.58	0.87±0.53
39–40	0.00±0.10	-0.36±0.83	0.86±1.60	0.28±0.45

Таблица 2

**Выживаемость (относительная доля) клеток *Esherichia coli* M-17 при воздействии электромагнитных полей СВЧ-диапазона и тепла**

ППМ, мВт/см <sup>2</sup>	ΔT, град	Виды воздействия		
		НМ*	АИМ*	Нагрев*
3.4	0.34	0.92±0.08	–	0.75±0.10
6.8	0.68	0.84±0.13	0.98±0.06	0.51±0.48
10.2	1.02	0.68±0.12	0.77±0.19	0.27±0.30
13.6	1.36	0.44±0.07	0.37±0.15	0.18±0.15
17.0	1.70	0.19±0.09	–	0.08±0.08
20.4	2.04	0.06±0.03	0.09±0.06	0.02±0.01
23.8	2.38	0.06±0.04	–	0.04±0.08
27.2	2.72	0.04±0.03	–	0.03±0.01

Таблица 3

**Влияние низкоинтенсивного ЭМИ различного диапазона на выживаемость *Esherichia coli* M-17**

Время воздействия	Контроль*	ШКС*	Зеленый свет*	НИЛИ*	СВЧ-излучение*
10 минут	335±49	447±58	317±43	487±55	231±35
20 минут	406±49	453±54	402±43	389±51	155±29
40 минут	335±45	467±52	384±53	251±56	128±32

\* В табл. 1–3  $p < 0.05$  по отношению к исходному уровню.

минут) зарегистрирован различный эффект этих воздействий, а именно: при облучении микроорганизмов ШКС выявлен стимулирующий эффект, а при действии НИЛИ – бактериостатический. Сравнительная оценка действия лазерного излучения и широкополосного красного света показывает наличие дозозависимого эффекта светового воздействия.

Зеленый свет не оказал воздействия на рост кишечной палочки. СВЧ-излучение, в отличие от светового, вызвало статистически значимое бактериостатическое воздействие на рост *E. coli* M-17 в процессе всего периода облучения. Результаты опытов по воздействию на образцы широкополосным красным и зелёным светом,

красным светом гелий-неонового лазера и СВЧ-излучением представлены в табл. 3.

Полученные результаты свидетельствуют в пользу предположения о фотохимическом нетепловом механизме воздействия низкоинтенсивного света на живые ткани, обусловленном поглощением фотонов молекулами, спектральные линии поглощения которых находятся в области красного света. В частности, при поглощении красного света молекулами супероксид-дисмутазы (СОД) может происходить изменение их активности. При облучении прокариотических клеток, а именно бактерий *Esherichia coli* M-17, фотоакцепторами могут служить терминальные ферменты дыхательных цепей [15, 16].

## Список литературы

1. Григорьев Ю.Г. Электромагнитное загрязнение окружающей среды как фактор воздействия на биологические объекты // Экол. системы и приборы. 1999. № 6. С. 29–32.
2. Григорьев Ю.Г., Григорьев О.А., Никонова К.В. и др. Регламентация ЭМП от систем мобильной радиосвязи. Состояние и обоснование // Материалы международного совещания «Электромагнитные поля. Биологическое действие и гигиеническое нормирование» / Под ред. М.Х. Репачоли, Н.Б. Рубцовой, А.М. Муц. Женева: ВОЗ, 1999. С. 509–510.
3. Григорьев О.А., Меркулов А.В. Проблема экологических нормативов в условиях электромагнитного загрязнения окружающей среды. М.: РУДН. 2002. 180 с.
4. Кару Т.И. Фотобиология низкоинтенсивной лазерной терапии // Итоги науки и техники. Сер. физ. основы лазер. и пучков. технол. ВИНТИ. 1989. Т. 4. С. 44–84.
5. Кару Т.И. Универсальный клеточный механизм лазерной биостимуляции: фотоактивация фермента дыхательной цепи цитохром-с-оксидазы // Современные лазерно-информационные и лазерные технологии. Сб. трудов ИПЛИТ РАН. 2005. С. 131–143.
6. Лобкаева Е.П., Абрамова Н.В., Ошевский Л.В., Крылов В.Н. // Матер. междуна. конф. «Человек и электромагнитные поля». Саров, 2005. С. 112–124.
7. Клебанов Г.И., Шураева Н.Ю., Чилук Т.В., Осипов А.Н., Владимиров Ю.А. Сравнение эффектов воздействия лазера и светоизлучающих диодов на активность супероксиддисмутазы и продукции окиси азота // Биофизика. 2006. Т. 51. № 1. С. 116–122.
8. Grundler W, Kaiser F, Keilmann F, Walleczek J. Mechanisms of electromagnetic interaction with cellular systems // Naturwissenschaften. 1992. Bd. 79. № 12. S. 551–559.
9. Vaishnavi C., Thakur. S, Singh. Survival of enteropathogenic Escherichia coli exposed to adverse condition // Indian J. Public Health. 1998. V. 42. № 4. P. 138–140.
10. Fiksdal L., Tryland I. Effect of u.v. light irradiation, starvation and heat on Escherichia beta-D-galactosidase activity and other potential viability parameters // Appl. Microbiol. 1999. V. 87. № 1. P. 62–71.
11. Karu T.J. Low power laser therapy. // In: Biomedical Photonics Handbook, Tuan Vo-Dinh / Ed. Boca Raton. CRC Press, 2003. Ch. 48. P. 1–48.
12. Vladimirov Y.A., Osipov A.N., Klebanov G.I. Photobiological Principles of Therapeutic Applications of Laser Radiation // Biochemistry. 2004. V. 69(1). P. 81–90.
13. Berteaud A.J., Dardalhon M., Rebeyrotte N., Averbek D. The effect of electromagnetic radiation of wavelength in the millimeter range on bacterial growth // C.R. Acad. Sci. Hebd. Seances Acad. Sci. D. 1975. V. 281(12). № 9. P. 843–846.
14. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1999. 459 с.
15. Tiphlova O.A., Karu T.J. Stimulation of Escherichia coli division by low-intensity monochromatic visible light // Photochem. Photobiol. 1988. V. 48. № 1. P. 467–471.
16. Tiphlova O.A., Karu T.J. Action of low-intensity laser radiation on Escherichia coli. Crit. Rev. Biomed. Eng. 1991. V. 18. P. 387–412.

**PECULIARITIES OF ACTION OF DIFFERENT WAVEBAND LOW-INTENSITY ELECTROMAGNETIC RADIATION ON MICROORGANISMS**

*V.A. Monich, S.L. Malinovskaya, T.V. Makhrova, D.S. Malinovsky*

A comparative study has been carried out of the action of different waveband low-intensity electromagnetic radiation on the growth of Escherichia coli (M-17). Some differences and similarities in the effects of exposure to such radiation have been revealed.

*Keywords:* low-intensity electromagnetic radiation, wideband light, laser, microorganisms.