

## ДІЯ ФІЗИЧНИХ ФАКТОРІВ НА БІОЛОГІЧНІ ОБ'ЄКТИ

УДК 577.3'3

## ВЛИЯНИЕ ЦИРКУЛЯРНО-ПОЛЯРИЗОВАННОГО НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ МИЛЛИМЕТРОВОГО ДИАПАЗОНА НА ПРОНИЦАЕМОСТЬ ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ В КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА

Пасюга В.Н.<sup>1</sup>, Шкорбатов Ю.Г.<sup>1</sup>, Грабина В.А.<sup>2</sup>, Колчигин Н.Н.<sup>3</sup>, Быков В.Н.<sup>3</sup>,  
Иванченко Д.Д.<sup>3</sup><sup>1</sup> Харьковский национальный университет, институт биологии  
г. Харьков, пл. Свободы 4, 61077, Украина  
yury.g.shkorbatov@univer.kharkov.ua<sup>2</sup> Харьковский национальный университет, институт лазерной биологии и медицины  
г. Харьков, пл. Свободы 4, 61077, Украина  
lblm@univer.kharkov.ua<sup>3</sup> Харьковский национальный университет, кафедра теоретической радиофизики  
г. Харьков, пл. Свободы 4, 61077, Украина  
Nicolay.N.Kolchigin@univer.kharkov.ua

Поступило в редакцию 18 сентября 2008 г.

Исследовано влияние циркулярно- и линейно-поляризованного микроволнового излучения (частота 35 ГГц,  $E = 30$  мкВт/см<sup>2</sup>, время облучения 10 с) на клетки буккального эпителия человека. Изучено окрашиваемость клеток витальными красителями – индигокармином (5 мМ) и трипановым синим (0,5 %), клетки окрашивали в течение 5 минут. Наблюдали снижение % неокрашенных клеток в результате микроволнового облучения. При этом, в ряде случаев, левосторонне-поляризованное излучение вызывало больший эффект, чем правосторонне-поляризованное, а линейно поляризованное излучение вызывало максимальный эффект.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** мембрана клетки, буккальный эпителий, микроволновое излучение, круговая поляризация.

Электромагнитные поля низкой интенсивности, помимо других биологических эффектов, оказывают значительное действие на клеточные мембраны. Было показано, что облучение эритроцитов человека микроволнами вызывает выход из клеток ионов калия и вход ионов натрия по градиенту концентрации [1-4]. Эффекты микроволн на транспорт этих ионов наблюдали также в других типах клеток, например, в культивируемых клетках мышцы [5], в бактериальных клетках [6].

Микроволновое облучение (0,9 ГГц) искусственных лецитиновых мембран с 10 % содержанием холестерина также вызывало значительное увеличение проводимости мембран [7]. Эффекты электромагнитных полей ЭМП на токи через мембраны и транспорт тетрафенилбората через искусственные мембраны не зависят от частоты излучения в пределах 53 - 78 ГГц, при этом авторы связывают наблюдаемые эффекты с тепловым действием микроволнового излучения [8].

Часто изменение ионной проницаемости связано с изменением состояния ионных каналов. В работе [9] показано, что ЭМП (42,5 МГц, 0,1 мВт/см<sup>2</sup>) оказывало стимулирующее влияние на активность  $Ca^{2+}$ -активируемых  $K^{+}$ -каналов с низкой активностью и подавляло активность каналов с высоким исходным уровнем активности. Эффект микроволнового облучения на хлоридный ток через мембраны клеток водоросли *Nitellopsis obtusa* зависел от частоты ЭМП. Частоты 49, 70, 76 ГГц вызывали повышение хлоридного тока на 200 - 400%, при частотах 41, 50 и 71 ГГц наблюдалось снижение проводимости. Авторы полагают, что микроволны воздействуют на определенные звенья в цепи управления хлорными каналами, а не непосредственно на сами каналы [10]. В работе [11] 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.

При микроволновом облучении изменяется проницаемость мембран для молекул витальных красителей. Ранее в наших экспериментах было показано, что при микроволновом облучении повышается проницаемость мембран для красителя индигокармина [12, 13].

Вопрос о различном биологическом действии различно поляризованного электромагнитного излучения имеет большое теоретическое значение и также может иметь прикладное значение. Ранее, в работе [14] было показано что левосторонне-поляризованное и линейно-поляризованное излучение оказывает на клетки человека большее действие по показателю прироста количества гранул гетерохроматина, чем правосторонне-поляризованное излучение.

Целью настоящей работы было исследование различий в действии на мембрану клеток человека микроволнового излучения различной поляризации. Исследована проницаемость мембран для витальных красителей индигокармина и трипанового синего.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проводили на клетках буккального эпителия человека. Перед экспериментом клетки извлекали из организма и сохраняли в 3,03 мМ фосфатном буфере, рН-7,0, с добавлением 2,89 мМ хлорида кальция. В качестве доноров клеток служили мужчины разного возраста. Донор А - 23 г, В -19 лет, С - 19 лет, D - 53 г, E - 37 лет F - 55 лет.

Для получения электромагнитного поля применяли разработанную авторами установку. Характеристики микроволнового излучения: частота  $35,0 \pm 0,05$  ГГц, плотность мощности на уровне объекта 30 мкВт/см<sup>2</sup>. Время микроволнового облучения составляло 10 с.

Через 1 мин после облучения клетки окрашивали индигокармином (5 мМ) или трипановым синим (0,5 %), приготовленных на буферном растворе, описанном выше. Краситель быстро проникает в клетки с поврежденной мембраной, клетки с менее поврежденной мембраной дольше остаются неокрашенными, поэтому мы исследовали процентное содержание неокрашенных клеток через определенный интервал времени. На рисунке 1 представлена фотография клеток, окрашенных индигокармином. Можно видеть, что цитоплазма клетки, находящейся в центре, осталась неокрашенной.

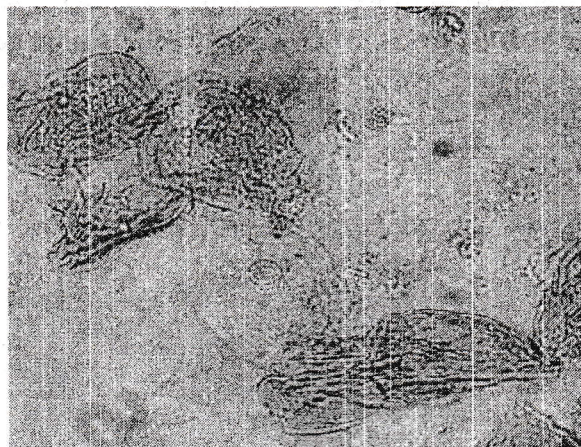


Рис. 1. Клетки буккального эпителия человека, окрашенные 5 м М раствором индигокармина в течение 5 минут (увеличение x 600)

## Влияние циркулярно-поляризованного низкоинтенсивного излучения ...

Процент неокрашенных клеток определяли через 5 минут после начала окрашивания, просматривая 100 клеток в препарате. Каждое измерение повторяли три раза, затем определяли среднее из трех измерений и величину стандартной ошибки среднего. Результаты обработаны статистически по Стьюденту, в работе принят уровень достоверности  $P < 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рисунках 2-3 представлены результаты эксперимента по влиянию микроволнового облучения на окрашиваемость клеток индигокармином, на рисунках 4-5 – на окрашиваемость трипановым синим.

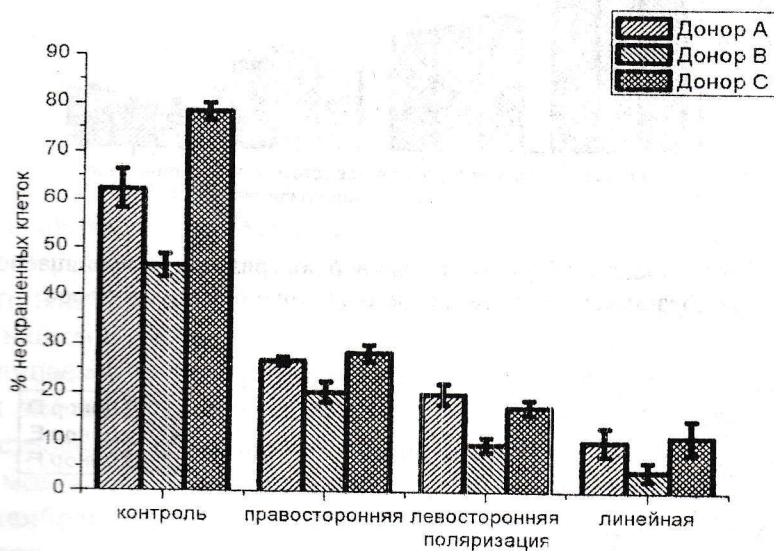


Рис. 2. Влияние микроволнового облучения различной поляризации на проницаемость клеточных мембран для индигокармина в группе молодых доноров

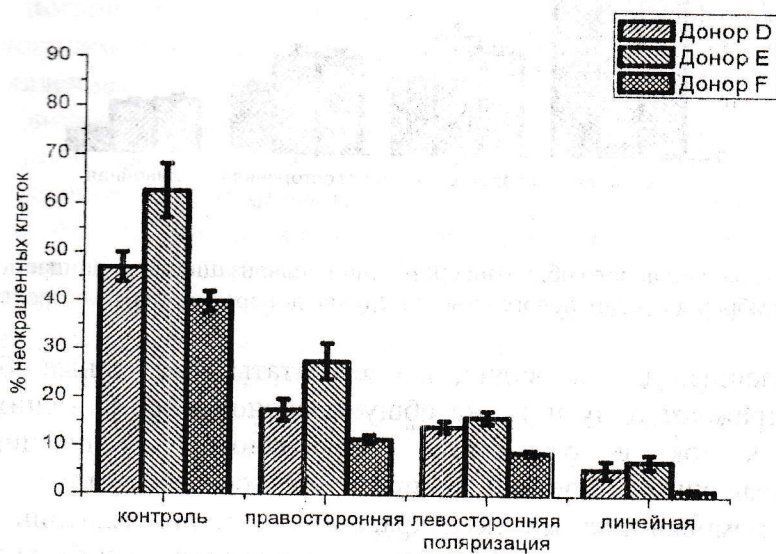


Рис. 3. Влияние микроволнового облучения различной поляризации на проницаемость клеточных мембран для индигокармина в группе доноров старшего возраста

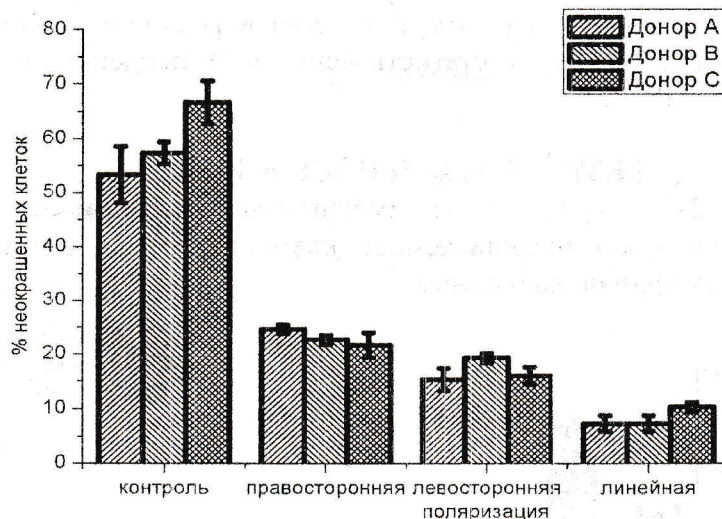


Рис. 4. Влияние микроволнового облучения различной поляризации на проницаемость клеточных мембран для трипанового синего в группе молодых доноров

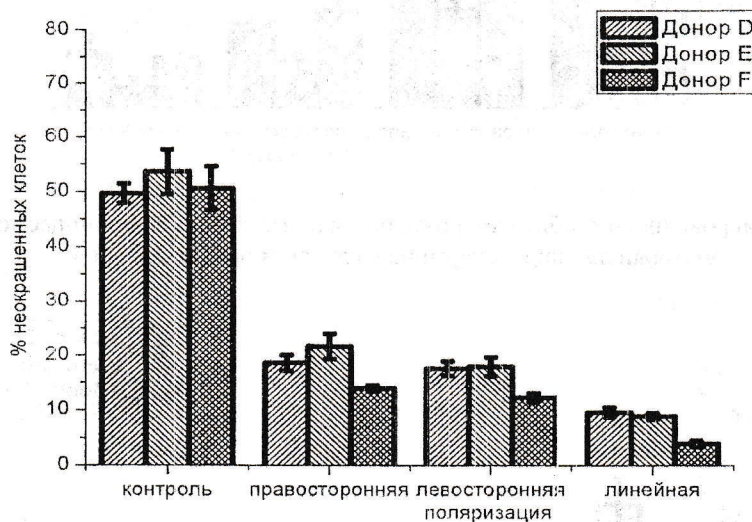


Рис. 5. Влияние микроволнового облучения различной поляризации на проницаемость клеточных мембран для трипанового синего в группе доноров старшего возраста

Из представленных данных видно, что результаты, полученные обоими методами окрашивания, отражают одну и ту же общую закономерность – снижение процента неокрашенных клеток в результате микроволнового облучения. Повышение содержания окрашенных клеток в препарате свидетельствует о повышении проницаемости мембран для молекул красителя и о повреждении клетки [15,16]. Исходя из этого, линейно-поляризованное излучение вызывает больший эффект, при прочих равных условиях эксперимента. В клетках доноров более молодого возраста (доноры А, В, С) левосторонне-поляризованное излучение вызывает больший эффект, чем правосторонне-поляризованное. Левосторонне- и правосторонне-поляризованное излучение вызывает в клетках доноров старшей возрастной группы (доноры D, E, F) одинаковый по силе эффект. Мы связываем наблюдаемые отличия в реакции на

облучение с индивидуальными и, возможно, связанными с возрастом, особенностями этих доноров.

Различия в реакции биологических объектов на левосторонне- и правосторонне-поляризованное облучение исследовалось и ранее. В работе [17] сообщается о более эффективном действии правосторонне-поляризованного излучения при микроволновой терапии по тесту подавления  $\alpha$ -ритма электроэнцефалограммы и в экспериментах по воздействию излучения КВЧ диапазона на клетки *E. coli* по тесту измерения аномальных временных зависимостей вязкости клеточных лизатов. Показано, что при частоте 51,78 ГГц блокируется процесс радиационно-индуцированной репарации конформационных изменений ДНК в клетках *E. coli*, определяемый методом аномальных временных зависимостей вязкости [18]. При исследовании действия правосторонне-поляризованного и левосторонне-поляризованного миллиметрового излучения на проращивание семян пшеницы было показано более эффективное действие правосторонне-поляризованного излучения, причем большую эффективность излучения связывалась авторами с молекулярной асимметрией молекулы ДНК [19].

Микроволновое излучение может влиять на процессы переноса электронов в биологических макромолекулах и макромолекулярных комплексах, в первую очередь в ДНК и белках-ферментах, влияя на активность биологических процессов [20]. В результате такого влияния возможно изменение конформации и свойств макромолекул в клетке. По нашему мнению, различия в степени активности по показателю повышения проницаемости мембран для витальных красителей при действии различно поляризованных электромагнитных волн связаны с действием на ориентированные в пространстве, встроенные в мембраны молекулы. У нас нет оснований утверждать, являются эти молекулы белками, связанными с мембранами, или липидными компонентами мембран, однако тот факт, что линейно-поляризованное микроволновое излучение влияет на проницаемость больше, чем циркулярно-поляризованное, указывает на то, что эти молекулы закреплены в мембране достаточно прочно и их ориентация не изменяется в процессе воздействия поля.

В биофизике изучаются явления линейного и кругового дихроизма – избирательного поглощения поляризованного света, обусловленного оптической активностью биополимеров [21]. Вероятно, в данном случае мы имеем дело с аналогичным явлением – избирательным поглощением, а, следовательно, избирательным биологическим действием поляризованного излучения в области миллиметровых длин волн. Для более детального исследования данного явления необходимо проведение соответствующих экспериментов с простыми модельными системами – искусственными липидными мембранами и встроенными в мембраны молекулами белков. Вместе с тем, выполненные нами работы по исследованию биологического действия вращающегося вихревого магнитного поля также показывают асимметрию биологического действия вращающегося поля в зависимости от направления вращения [22]. Таким образом, данные, полученные нами, являются проявлением фундаментального явления – асимметрии живого (Л.Пастер, П.Кюри, В.Вернадский).

### ВЫВОДЫ

По нашему мнению, полученные данные свидетельствуют о повреждающем действии микроволнового излучения низкой интенсивности на клеточные мембраны, причем линейно-поляризованное излучение оказывает большее повреждающее действие, чем циркулярно-поляризованное. У некоторых доноров (относительно более молодых) левосторонне-поляризованное излучение оказывает большее повреждающее действие, чем правосторонне-поляризованное.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Штемлер В.М. Изменение транспорта  $K^+$  и  $Na^+$  в эритроцитах человека под влиянием микроволн // Гигиена труда и биологическое действие электромагнитных волн радиочастот. М.: Медицина, 1972. С.62-68.
2. Исмаилов Э.Ш. К механизму влияния микроволн на проницаемость эритроцитов человека // Гигиена труда и биологическое действие электромагнитных волн радиочастот.- М.: Медицина, 1972.- С.68- 97.
3. Исмаилов Э.Ш., Зубкова С.М. Физико-химические механизмы биологической активности микроволн // Биологические науки.- 1977.- №7.- С. 5-10.
4. Ким Ю.А., Ким Ю.В., Касимбеков И.К., Фоменко Б.С. Исследование потоков  $K^+$ ,  $H^+$  и  $Cl^-$  через мембрану эритроцитов, облученных электромагнитным излучением радиочастотного диапазона. Биофизика, 1988, 33, с. 837-840.
5. Залюбовская Н.П., Киселев Р.И., Товстяк В.В. Воздействие микроволн на мембраны клеток культуры ткани. Тр. ин-та цитологии, 1977, № 17, с.38-39.
6. Kazbekov E.N., Vyacheslavov L.D. Effects of microwave irradiation on some membrane-related processes in bacteria // Gen. Physiol. and Biophys. ChSSR.- 1987.- V.6, N1.- P.57-64.
7. Алексеев С.И., Тяжелов В.В., Фаизова Л.Х., Чертищев В.В. Влияние высокочастотного электромагнитного поля на транспорт тетрафенилбората через бислоиные липидные мембраны // Биофизика.- 1982.- 27, N1.- С.162-163.
8. Alekseev S.I., Ziskin M.C. Millimeter microwave effect on ion transport across lipid bilayer membranes // Bioelectromagnetics. 1995. V.16. P. 124-131.
9. 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 Lett.- 1995.- V.359.- P.85-88.
10. Катаев А.А., Александров А.А., Тихонова Л.Л., Берестовский Г.Н. Частотозависимое влияние миллиметровых электромагнитных волн на ионные токи водоросли *Nitellopsis*. Нетепловые эффекты // Биофизика.- 1993.- Т. 38, вып. 3.- С. 446-462.
11. Голант М.Б. О проблеме резонансного действия когерентных электромагнитных излучений миллиметрового диапазона волн на живые организмы // Биофизика.- 1989.- Т. 34, №5.- С. 339-348.
12. Шкорбатов Ю.Г., Шахбазов В.Г., Горобец Н.Н. и др. Влияние электромагнитного излучения миллиметрового и сантиметрового диапазона на состояние эпителиальных клеток человека // Матер. 10-й Международ. Крымской конф. "СВЧ-техника и телекоммуникационные технологии", Севастополь, 2000, с.557-558.
13. Shckorbatov Y.G., Shakhbazov V.G., Navrotskaya V.V., et al. Electrokinetic properties of nuclei and membrane permeability in human buccal epithelium cells influenced by the low-level microwave radiation. Electrophoresis, 2002, 23, p. 2074-2079.
14. Шкорбатов Ю.Г., Грабина В.А., Горобец Н.Н. и др. Структурно-функциональное состояние хроматина человека и жизнеустойчивость дрозодилы как индикаторы биологической неравноценности характера поляризации низкоэнергетического излучения круговой поляризации и вихревых магнитных полей с различным направлением вращения. 2-й Международный радиоэлектронный форум "Прикладная радиоэлектроника. Состояние и перспективы развития (МРФ-2005)". Сборник научных трудов. Харьков, 2005, 5, с.V224-V227.
15. Shckorbatov Y.G., Shakhbazov V.G., Bogoslavsky A.M., Rudenko A.O. On age-related changes of cell membrane permeability in human buccal epithelium cells. Mech. Ageing Develop. 1995, v.83:87-90.
16. Daniel Araki Ribeiro; Mariângela Esther Alencar Marques; Daisy Maria Fávero Salvador *In vitro* cytotoxic and non-genotoxic effects of gutta-percha solvents on mouse lymphoma cells by single cell gel (comet) assay Braz. Dent. J. 2006 vol.17 no.3 p228-232.
17. Дмитриевский И.М., Щеглов В.С., Алипов Е.Д., Беляев И.Я.Ч. Лысцов В.Н., Алисов А.П., Оськин А.О. Исследование роли поляризации КВЧ-излучения при его воздействии на биообъекты //Фундаментальные и прикладные аспекты применения миллиметрового электромагнитного излучения в медицине. Тезисы докладов I Всесоюзного симпозиума с международным участием. 1989.. Часть I.- С.18-19.
18. Алипов Е.Д., Беляев И.Я., Еднерал Д.И., Измайлов Д.М., Лысцов В.Н., Обухова Л.К., Окладнова О.В., Щеглов В.С. ЭМИ КВЧ как модификатор и регулятор процессов пострadiационного восстановления. Тезисы докладов I Всесоюзного симпозиума с международным участием. 1989.. Часть I.- С.156-157.
19. Shakhbazov V.G., Chepel L.M., Gorobetz N.N., Kiyko V.I., Snopik L.M., Kutchin L.F., Grabina V.A., Shckorbatov Y.G. Influence of the state of polarization of electromagnetic wave on the biological

- properties of seeds of agricultural plants // 13 International Wroclaw Symposium and Exhibition on Electromagnetic Compatibility.- Wroclaw.-1996.- P.133-135.
20. Blank M., Goodman R. Initial Interactions in Electromagnetic Field-Induced Biosynthesis // J. Cel. Phys. 2004.-V.199.-P.359-363.
21. Волькенштейн М.Е. Молекулярная биофизика. Москва, «Наука», 1975. 616 с.
22. Пасюга В.Н., Грабина В.А., Шкорбатов Ю.Г. Эффекты постоянного и вращающегося магнитного поля на жизнеспособность дрозодилы на стадии эмбриогенеза и состояние хроматина в клетках человека // Материалы 16-й международной Крымской конференции «КрыМиКо-2006». Севастополь.- Т.2.- С. 925-926.

на

К