

ЗАКОНОМЕРНОСТИ ВЛИЯНИЯ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ

О.М. Гаркуша, Р.В. Мазуренко, С.Н. Махно, П.П. Горбик

*Институт химии поверхности им. А.А. Чуйко Национальной академии наук Украины,
ул. Генерала Наумова, 17, Киев, 03164, Украина
e-mail: stmax@ukr.net*

В статье обобщены экспериментальные результаты, полученные в последние годы в рамках физико-биологических исследований, рассмотрены вопросы влияния низкоинтенсивного электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на биологические объекты различного уровня организации. Показано, что отклик исследованных объектов (дрожжи, кровь и внеклеточные ферменты) на воздействие длительного облучения имеет частотно-селективный характер.

Введение

Развиваемое в Институте химии поверхности им. А.А. Чуйко НАН Украины научное направление, связанное с изучением влияния электромагнитного излучения на биологические системы, содержащие высокодисперсные оксиды, сформулировано академиком Национальной академии наук Украины А.А. Чуйко. Особое внимание Алексеем Алексеевичем обращалось на протекторные свойства наноразмерного кремнезема по отношению к живым клеткам в условиях воздействия радиации.

Многие аспекты взаимодействия электромагнитного излучения крайневысоких частот (ЭМИ КВЧ) с биологическими объектами различного уровня организации в научной литературе представлены в виде предположений, а режимы резонансной терапии разрабатываются на основе клинического опыта авторов [1–5]. В настоящее время выдвинуты многочисленные гипотезы относительно первичных механизмов воздействия КВЧ-излучения на биообъекты. Доминирующей концепцией является идея о резонансном взаимодействии низкоинтенсивного ЭМИ с живыми системами [1, 2, 6], в основу которой положено заключение об информационном характере действия КВЧ-радиоволн (внешнее облучение имитирует вырабатываемые организмом сигналы управления жизнедеятельностью). Однако это не вносит ясности в понимание физических механизмов взаимодействия ЭМИ с биообъектами. Согласно резонансному (синхронизирующему) механизму влияние ЭМИ происходит благодаря образованию на клеточных мембранах так называемых белковых "подструктур" [1], которые позволяют восстановить нарушенное функционирование организмов.

Общепринятым является утверждение определяющей роли мембран при формировании биологического отклика на внешнее физическое воздействие [7]. Мембрана способна регулировать внутриклеточную и интерстициальную воду, а также энергетические и биохимические процессы в клетке путем изменения диффузии ионов и других субстратов. Внешнее воздействие на клетку может изменять ее функции, в частности ионный транспорт через мембрану. Существуют публикации о том, что после КВЧ-облучения увеличивается проницаемость мембран эритроцитов для ионов калия, для диффузного транспорта [8].

По мнению других авторов [3], именно облучение водной суспензии клеток низкоинтенсивными электромагнитными микроволнами является основной причиной,

вследствие которой создаются дополнительные условия для реализации и проявления биологического отклика на внешнее воздействие. На начальной стадии происходит превращение энергии электромагнитной волны в тепло. Под действием облучения возникает температурный градиент, в поле которого происходит изменение режима функционирования мембран клеток, что обуславливает дегазацию водной суспензии по пузырьковому механизму [3]. Таким образом реализуется раздражение клеток, за счет чего возникают изменения физиологического состояния биологических объектов. Этот механизм, согласно литературным данным, исключает резонансный.

Биологический отклик системы на влияние КВЧ-излучения зависит от предыстории биологических объектов и методов подготовки их к эксперименту. При использовании электромагнитных ультразвуковых смесителей [9], осветительных приборов, имеющих полосатые спектры излучения, для приготовления биосуспензий необходимо учитывать все факторы, влияющие на состояние исследуемых образцов.

Теоретические и экспериментальные исследования показали, что влияние излучения КВЧ проявляется, прежде всего, на клеточном уровне [10, 11]. Клетка является автономно функционирующей структурной единицей, активность которой может быть усилена при мобилизации ее резервных возможностей под воздействием внешних факторов. Изучение первичных этапов реакции живых организмов на ЭМИ целесообразно проводить на одноклеточных организмах, изолированных клетках и биомолекулах, поскольку в многоклеточных живых системах отклик на внешнее воздействие наблюдать намного сложнее.

Объекты и методы их исследования

Исследование влияния низкоинтенсивного ЭМИ на биологические объекты проведено на примере клеток дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, клетках крови человека и внеклеточных ферментах. Каждому объекту соответствовали определенные, характерные методы регистрации активности.

Объектом исследования нам было удобно выбрать хорошо изученный одноклеточный организм, активность жизнедеятельности которого легко фиксировать, например дрожжи. Их отличительной особенностью является присутствие углекислого газа в конечных продуктах реакции. Поэтому изучение характеристик, определяющих наличие и количество углекислого газа, образующегося в суспензиях, а также интенсивности газовыделения, дает информацию о жизнедеятельности дрожжей и будет описывать процессы, происходящие в исследуемых системах.

Для приготовления суспензий использовали промышленные регидратированные хлебопекарские дрожжи (*Saccharomyces cerevisiae*) фирмы „Ozmaya Sanayi A.S.”(Саф-момент). Суспензии готовились следующим образом: на 10 мл 2,5 % раствора сахарозы добавляли 0,2 г регидратированных дрожжей (в стеклянной посуде) и перемешивали вручную до получения равномерной консистенции. Облучение дрожжевых клеток проводилось с помощью установки на основе генераторов Г4-141 и Р2-69. Длительность облучения составляла 1 ч в диапазоне 37–78 ГГц, при плотности потока мощности 0,1 Вт/см².

Для характеристики активности дрожжей нами предложена методика, определяющая скорость газовыделения суспензиями дрожжей. Принцип действия установки состоит в том, что выделяющийся из суспензии газ (СО₂) по стеклянной трубке поступает в «барбатьер» и выходит наружу через жидкость (электролит). При прохождении вблизи электрода газ разрывает электрическую цепь, замыкающуюся через жидкость, в результате чего в блоке согласования вырабатываются импульсы, которые подаются через интерфейс на персональный компьютер. Дальнейшая обработка результатов производится с помощью программного обеспечения. Одновременно

работает 6 идентичных каналов: три контрольных и три с облученными дрожжами на одной частоте [12].

Для изучения тепловых эффектов, связанных со смачиванием клеток, использовались регидратированные промышленные хлебопекарные дрожжи „Саф-момент” (*Saccharomyces cerevisiae*). Исследование осуществлено с помощью дифференциального микрокалориметра (ДМК), температурная чувствительность которого – $5 \cdot 10^{-4}$ град (погрешность метода составляет ± 2 % [13]) на образцах массой 50 мг, определялась интегральная теплота смачивания. Опыты проводились при комнатной температуре (20–22) °С, для одной частоты – не менее трех раз, результат усреднялся, погрешность исследований составляла ~8 %. Зависимость относительного изменения теплоты смачивания облученных дрожжей от частоты построена на основе расчетов площадей под кривыми экзотермического эффекта смачивания дрожжей для образцов, облученных на определенной частоте к контрольным.

При исследовании влияния низкоинтенсивного ЭМИ на относительную скорость газовыделения суспензиями дрожжей, содержащими высокодисперсный кремнезем (ВДК), последовательность приготовления суспензии была следующей: к 2,5 % раствору сахарозы примешивались регидратированные дрожжи, после чего вводился ВДК.

Для проведения исследований использовали донорскую кровь, отобранную в условиях поликлиники. Забор крови у доноров (условно здоровых) производили утром натощак из локтевой вены в количестве 30 мл и переливали в стеклянную пробирку, в которую предварительно был внесен стабилизатор – гепарин (10 % в растворе NaCl). Затем кровь разделяли на контрольные и опытные образцы, которые находились в одинаковых термобарических условиях. Облучение образцов крови *in vitro* осуществляли в диапазоне частот 47–66 ГГц (плотность потока мощности $0,2 \text{ мВт/см}^2$, длительность облучения 70 мин). После облучения кровь разделяли центрифугированием. Затем для контрольных и опытных образцов определяли: уровень малонового диальдегида (МДА) [14], активность каталазы [15], перекисную резистентность эритроцитов [16] и общую антиоксидантную активность плазмы крови [17]. Для проведения биохимических исследований использовали колориметр фотоэлектрический КФК-2МП. Для каждого показателя исследовали не менее 10 проб в каждой точке.

Для проведения исследований по влиянию низкоинтенсивного ЭМИ на внеклеточные ферменты использовали набор жидких реагентов для ферментативного определения концентрации глюкозы фирмы PLIVA-Lachema Diagnostika. Метод состоит в определении глюкозы, которая в присутствии глюкозооксидазы окисляется до глюконовой кислоты и пероксида водорода, который во время катализа пероксидазой реагирует с фенолом и 4-аминоантипирином, образуя окрашенный хинонимин. Интенсивность розово-красного окрашивания пропорциональна концентрации глюкозы. Реагент (раствор фосфатного буфера, фенола, 4-аминоантипирин, глюкозооксидазы и пероксидазы) облучали в течении 1 ч 10 мин (плотность потока мощности $0,1 \text{ мВт/см}^2$) при температуре 8 °С. После этого в контрольные и опытные образцы вносили 10 % раствор глюкозы, перемешивали и инкубировали при 23 °С в течение 20 мин. На спектрофотометре Perkin Elmer Lambda 35 определяли диапазон длин волн поглощения света хинонимин в растворе для облученных и контрольных образцов относительно калибратора (реагент с добавлением 10 % дистиллированной воды).

Результаты и их обсуждение

Влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на жизнедеятельность клеток *Saccharomyces cerevisiae*. Известно, что кривая скорости газовыделения от времени брожения имеет дугообразную форму,

которая отражает процессы жизнедеятельности дрожжей в питательной среде. На начальной стадии брожения, в условиях достаточного количества питательных веществ, происходил активный процесс деления клеток. На рис. 1 представлены зависимости скорости газовыделения суспензий от времени предварительно облученного и необлученного образцов сухих дрожжей. Видно, что регидратированные облученные дрожжи более активны, чем необлученные. Это особенно заметно в первые минуты эксперимента: сохраняется разница скоростей газовыделения между облученными и контрольными образцами.

С целью исследования резонансного механизма воздействия ЭМИ и отделения указанного механизма от пузырькового, проводилось облучения дрожжевых клеток, а не водной суспензии, поскольку тепловой (пузырьковый) механизм не реализуется для сухих компонентов [18]. Для выявления пузырькового механизма производили имитацию теплового действия ЭМИ. Дрожжевые суспензии находились в термостате, в котором резко (при импульсном нагревании) или постепенно (при медленном нагревании) изменялась температура.

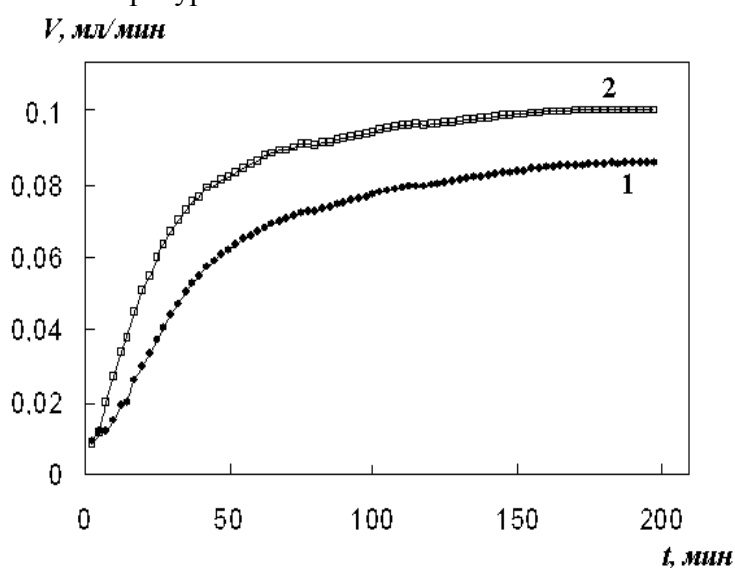


Рис. 1. Зависимость скорости газовыделения дрожжевой суспензией: 1 – контрольный образец, 2 – образец, облученный на частоте 61,5 ГГц в течение 60 мин.

Проведенные исследования скорости газовыделения дрожжевых суспензий в условиях резкого нагревания на $1\text{ }^{\circ}\text{C}$ за 30 с в области $t=32\text{ }^{\circ}\text{C}$ (рис. 2а) показали, что при создании градиента температур ($1\text{ }^{\circ}\text{C}$) скорость газовыделения резко возрастала (в 2 раза), после чего происходило резкое уменьшение потока CO_2 , хотя температура в термостате снижалась достаточно медленно. Такое скачкообразное изменение скорости выделения суспензией углекислого газа не может быть обусловлено только изменением температуры и растворимости в воде CO_2 . На рис. 2 б изображена скорость газовыделения дрожжевой суспензией при медленном нагревании окружающей среды от 25 до $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ (0–220 мин); резких изменений характеристики при этом не наблюдается.

Результаты измерения скоростей газовыделения при резком и медленном нагревании суспензии на $1\text{ }^{\circ}\text{C}$ (рис. 2) показывают, что при медленном нагревании наблюдается аддитивное увеличение скорости газовыделения с повышением температуры. При быстром нагревании происходит резкое изменение скорости газовыделения суспензии, что не может быть обусловлено исключительно увеличением температуры на $1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Очевидно, при импульсном нагревании возникает температурный градиент, в поле которого воздушные пузырьки перемещаются к более теплой области, а также всплывают и покидают жидкость. Таким образом, интенсивное движение

пузырьков в жидкости приводит к дополнительному перемешиванию суспензии, что в свою очередь способствует уменьшению толщины примембранного диффузионного слоя и увеличению интенсивности переноса веществ через мембрану, вследствие чего изменяется физиологическое функционирование клеток [18].

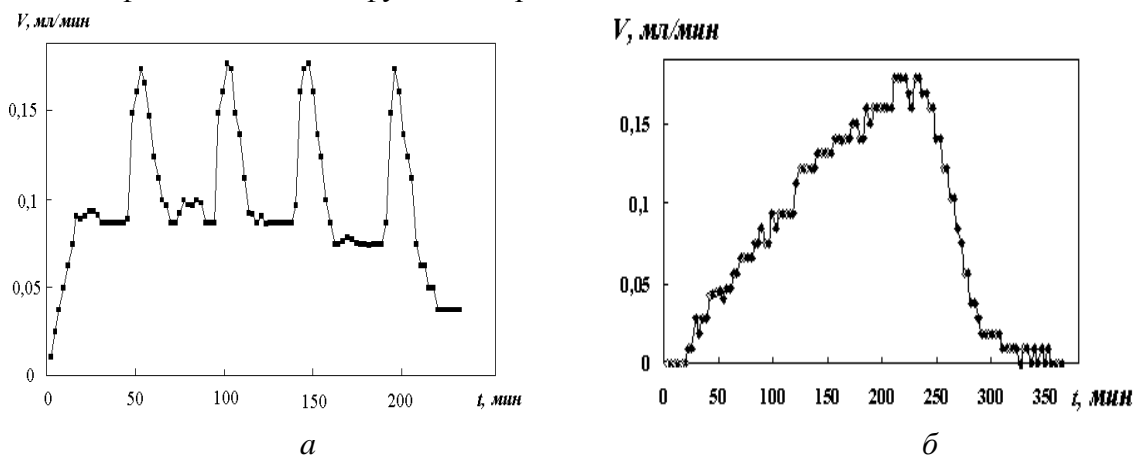


Рис. 2. Зависимость скорости газовыделения дрожжевой суспензией при импульсном изменении температуры окружающей среды на $1\text{ }^{\circ}\text{C}$ (а) в области температуры $32\text{ }^{\circ}\text{C}$ и медленном нагревании (б) от 25 до $37\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Мы полагаем, что такие процессы свидетельствуют о реализации теплового (пузырькового) механизма, согласно которому температурный градиент является причиной ускорения дегазации суспензии [3]. При медленном нагревании температурный градиент незначителен, поэтому тепловой механизм не реализуется (рис. 2б).

Частотная зависимость скорости газовыделения суспензий дрожжей (рис. 3) в диапазоне $37\text{--}72\text{ ГГц}$ при комнатной температуре ($20\text{--}22\text{ }^{\circ}\text{C}$) имеет полосы максимумов в области частот $40; 47,5; 55; 62,5; 70\text{ ГГц}$, разделенные широкими частотными промежутками, в которых наблюдается инактивация процессов газовыделения дрожжевыми суспензиями. Это подтверждает резонансный характер влияния излучения КВЧ диапазона на биологические объекты.

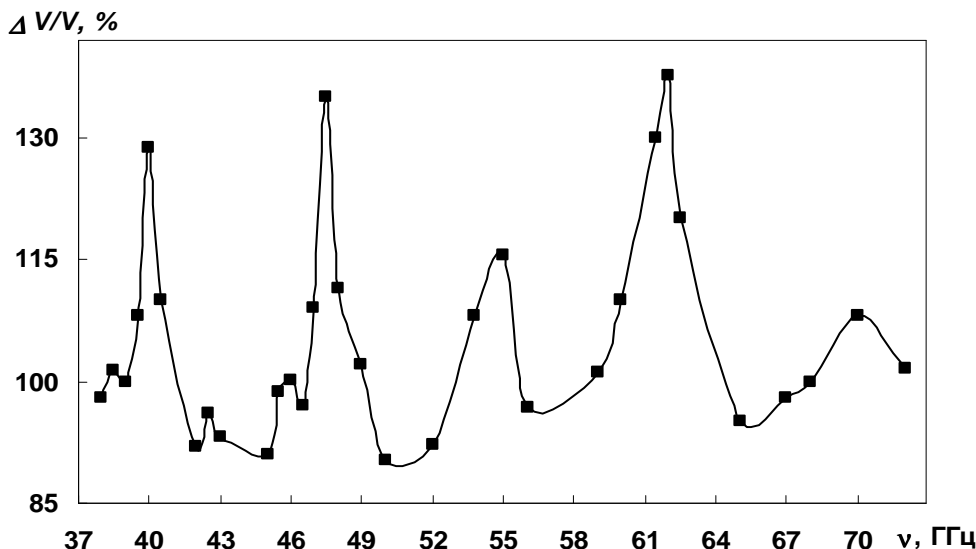


Рис. 3. Частотная зависимость изменения активности дрожжевых клеток (культура *Saccharomyces cerevisiae*).

В литературе существуют предположения о возможном неравномерном нагревании поверхности биологических объектов при облучении ЭМИ КВЧ-диапазона

[18]. Как отмечалось, для объектов, размеры которых не превышают 100 мкм, локальный нагрев составляет меньше 0,001 °С, что справедливо для исследуемых объектов (диаметр зрелой дрожжевой клетки ~6 мкм).

На основании полученных экспериментальных данных можно сделать вывод о существовании одновременно двух механизмов влияния низкоинтенсивного ЭМИ на живые организмы – резонансный и пузырьковый, которые не исключают друг друга при облучении клеток в жидкой среде (воде). Так, быстрый нагрев суспензии дрожжевых клеток на 1°С приводит к стремительной активизации процессов жизнедеятельности за счет увеличения интенсивности перемешивания, что описывается в рамках пузырькового механизма.

Наличие 5 пиков на частотной зависимости увеличения активности системы дрожжевых клеток при КВЧ-облучение в диапазоне 37–72 ГГц указывает на резонансный (синхронизирующий) механизм взаимодействия организмов с ЭМИ.

Влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на процесс иммерсионного смачивания дрожжевых клеток. Как известно, смачивание поверхности твердого тела жидкостью сопровождается эндотермическим эффектом вследствие отличия поверхностных энергий. Этот процесс может быть обусловлен не только межмолекулярным взаимодействием, но и образованием химических связей, растворов в поверхностном слое контактирующих веществ, а также диффузными процессами. Указанные процессы происходят с перераспределением энергии, т.е. термодинамические параметры являются мерой событий, которые происходят на молекулярном уровне. Явление гидратации протяжно во времени, поскольку доступ смачиваемой жидкости к поверхности твердого тела происходит неодномоментно. Причиной задержки смачивания также могут быть неоднородность поверхности, особенности структуры поверхностного слоя, релаксационные процессы в жидкой фазе. Измерение изменений термодинамических свойств во времени позволяет разделить отдельные стадии гидратации и исследовать общую картину процесса. В поверхностном слое как минеральных, так и живых объектов вода образует структуры, обусловленные межмолекулярным взаимодействием и химическими связями [19, 20].

Отличие гидратированной дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) от любого гидратированного силиката (цеолита, аэросила, силикагеля) заключается лишь в том, что радикально изменяется конформация двойной или одинарной спирали, тогда как превращение в цеолитной воде и даже ее полное удаление мало или совсем не сказывается на состоянии силикатного полимерного каркаса и некоторых белков [21, 22]. Исследование эффектов, сопровождающих процессы гидратации органических соединений, проведенное в работе [23], подтверждает идентичность механизмов диффузии молекул воды, которая входит в состав гидратированных поверхностей твердых тел, биологических макромолекул и их агрегатов.

На рис. 4. представлена зависимость теплового экзотермического эффекта от времени смачивания регидратированных дрожжей. Результаты расчета площади под кривой показывают, что энергия выделенная в процессе смачивания составляет около $0,3 \cdot 10^{-3}$ Дж/г. Такие незначительные значения теплот смачивания сухих дрожжей, кроме указанных факторов [19–23]., можно объяснить также тем, что взаимодействие молекул воды с активными центрами клеточной оболочки (ОН-группами) происходит лишь с внешним манниановым промежуточным слоем с повышенным содержанием белка (манниан – сложный полимер маннозы – находится главным образом во внешних слоях клеточной стенки дрожжей [24]). Следует отметить, что часть активных центров внешнего слоя клеточной оболочки уже задействована, поскольку исходные сухие дрожжи содержат в своем составе необходимое для сохранности жизнедеятельности определенное количество воды (около 5–10 % по массе).

Также было проведено сравнение теплового эффекта смачивания облученных и необлученных регидратированных дрожжей. Известно, что растворимость в воде углекислого газа, активность дрожжевых клеток и др. существенным образом зависят от внешних факторов: температуры окружающей среды, влажности воздуха, атмосферного давления и т.п. Поэтому, с целью повышения точности исследования каждый раз проводилось измерение теплоты смачивания для шести образцов: трех облученных на определенной частоте и трех контрольных. Зависимость относительного изменения теплоты смачивания облученных дрожжей от частоты низкоинтенсивного электромагнитного излучения представлена на рис. 5. Эта зависимость свидетельствует о том, что удельная теплота смачивания для дрожжей, облученных на частоте 47,5 ГГц превышает соответствующие значения для необлученных дрожжей в 1,5 раза, а для частоты 47 ГГц наоборот меньше, чем в контрольных, в 1,4 раза. Из рис. 5 видно, что низкоинтенсивное ЭМИ с частотой 40 ГГц повышает активность дрожжевых суспензий по отношению к необлученным на ~30 %, а на частоте 44 ГГц активность дрожжевых суспензий снижается относительно контрольных на 20 %. Полученная частотная зависимость относительных теплот смачивания коррелирует с экспериментальной частотной зависимостью относительной скорости газовыделения (рис. 3) [13].

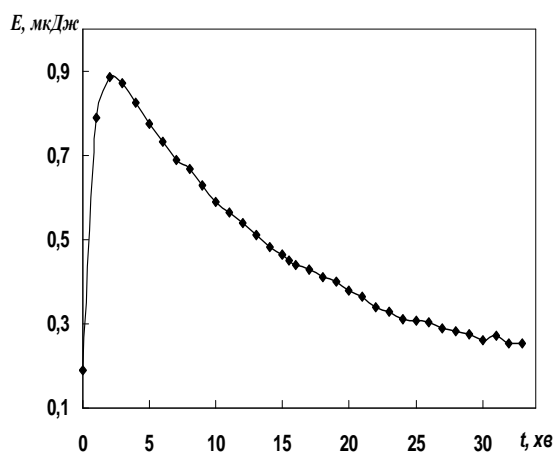


Рис. 4. Зависимость теплового экзотермического эффекта от времени смачивания регидратированных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*.

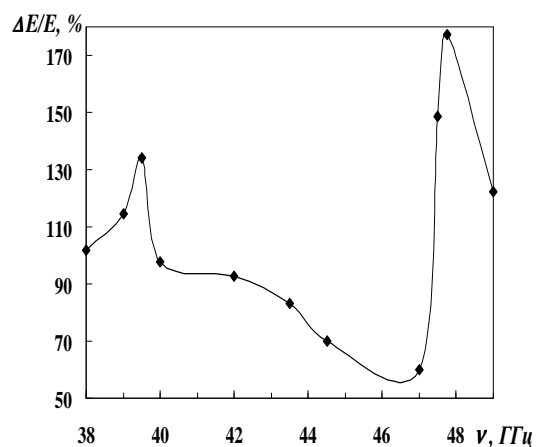


Рис. 5. Зависимость относительной теплоты смачивания ($\Delta E/E$) регидратированных дрожжей (*Saccharomyces cerevisiae*) от частоты облучения.

Таким образом, обнаружен эффект частотно-селективного изменения теплоты смачивания дрожжевых клеток при облучении низкоинтенсивным ЭМИ КВЧ в диапазоне 37–48 ГГц. Относительные теплоты смачивания возрастают для дрожжей облученных на частотах 39,5 и 47,5 ГГц, а в промежуточном диапазоне наблюдается их снижение. Полученная частотная зависимость относительной энергии смачивания коррелирует с частотной зависимостью относительной скорости газовыделения суспензией дрожжевых клеток.

Учитывая, что указанные процессы зависят от соотношения гидрофильных и гидрофобных участков поверхности клетки, можно предположить, что эти процессы регулируются антиоксидантной активностью и подвержены влиянию низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ-диапазона. Поэтому в дальнейшем представляет интерес изучение биофизических процессов и механизмов влияния низкоинтенсивного ЭМИ, что даст возможность разработать средства управления процессами жизнедеятельности биологических систем и предусмотреть системы защиты от экзогенного ЭМИ.

Предполагаемое отсутствие вредного воздействия на организмы КВЧ-излучения, в совокупности со значительной информационной емкостью этого диапазона, может быть использовано для стимуляции активности процессов жизнедеятельности живых организмов.

Исследование влияния высокодисперсного кремнезема и низкоинтенсивного ЭМИ на активность дрожжевых клеток в суспензиях методом контроля скорости газовыделения. Экспериментально установлено, что на начальном этапе процессов брожения (до 75 мин) в суспензиях, которые содержат высокодисперсный кремнезем, максимальные значения объема выделенного CO_2 достигаются быстрее и они выше контрольных. То есть, в исследуемом диапазоне концентраций ВДК до 10 % (масс.) происходит стимуляция процессов жизнедеятельности дрожжевых клеток [25, 26].

Полученная частотная зависимость относительной скорости газовыделения ($\Delta V/V$) суспензиями, содержащими 2 % ВДК, представлена на рис. 6 (кривая 1). При выборе концентрации высокодисперсного кремнезема руководствовались тем, что зависимость относительной скорости газовыделения дрожжевыми суспензиями от концентрации ВДК при данной последовательности смешивания компонентов близка к линейной [25]. Значение $\Delta V/V$ рассчитывали путем отношения значений скоростей газовыделения суспензий содержащих облученные дрожжи и ВДК к облученным.

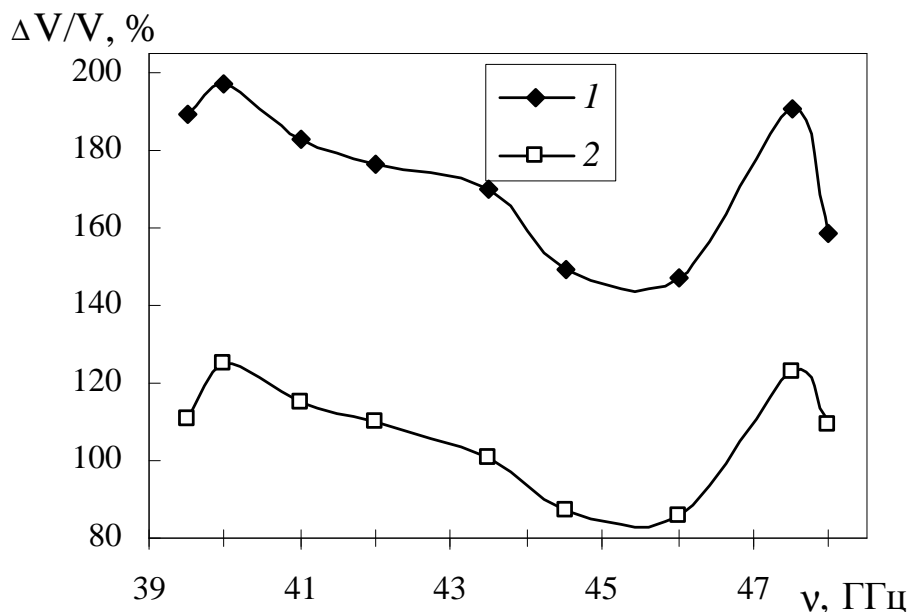


Рис. 6. Частотные зависимости относительной скорости газовыделения дрожжевых суспензий: 1 – содержащие 2% SiO_2 , 2 – не содержащие SiO_2 .

Эффект стимуляции процессов жизнедеятельности дрожжей путем облучения дрожжевых клеток происходит только в узких интервалах частот, которые разделены относительно широкими частотными диапазонами, где происходит угнетение активности клеток (2). Как видно из рис. 6 частотные зависимости подобны по характеру, однако зависимость относительной скорости газовыделения суспензий содержащих ВДК (кривая 1) возрастают в среднем в 1,5 раза. Причем даже минимальные значения $\Delta V/V$ лежат значительно выше уровня контроля. Следовательно, введением в суспензию ВДК можно стабилизировать процессы жизнедеятельности дрожжевых клеток.

Анализ экспериментальных результатов показал, что введение в суспензию ВДК концентрацией до 10 % активизирует процессы жизнедеятельности дрожжевых клеток, ускоряет брожение. При введении в суспензии с облученными дрожжами ВДК

эффект взаимодействия SiO_2 с поверхностью клеток проявляется как стимулирующий (протекторный) на фоне влияния облучения. Таким образом, угнетение процессов жизнедеятельности дрожжевых клеток, которое происходит под влиянием низкоинтенсивного ЭМИ в определенном диапазоне частот, можно компенсировать за счет введения в суспензию ВДК.

Влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения на активность процессов перекисного окисления и антиоксидантной активности крови *in vitro*. Целенаправленные исследования по определению так называемых "рецепторов" ЭМИ КВЧ [5, 7] по-прежнему актуальны. Для биологических объектов ими могут быть плазматические мембраны, биологические макромолекулы и их структурные группы, а также отдельные молекулы, ионы [5, 27]. Поскольку при действии различных факторов (излучение, токсические агенты и т.д.) изменяется уровень липидных перекисей, являющихся показателями целостности биомембран [28], а механизмы антиоксидантной защиты (АОЗ) контролируют интенсивность протекания свободнорадикальных реакций, тем самым обеспечивая защиту тканей, именно эти системы использованы нами для выявления изменений, вызванных КВЧ излучением. В работах [29, 30] показано, что излучение (как КВЧ так и лазерное) обладает антиоксидантным действием, причем изменение содержания продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и увеличение антиоксидантного потенциала крови коррелирует с клиническим эффектом проводимых процедур.

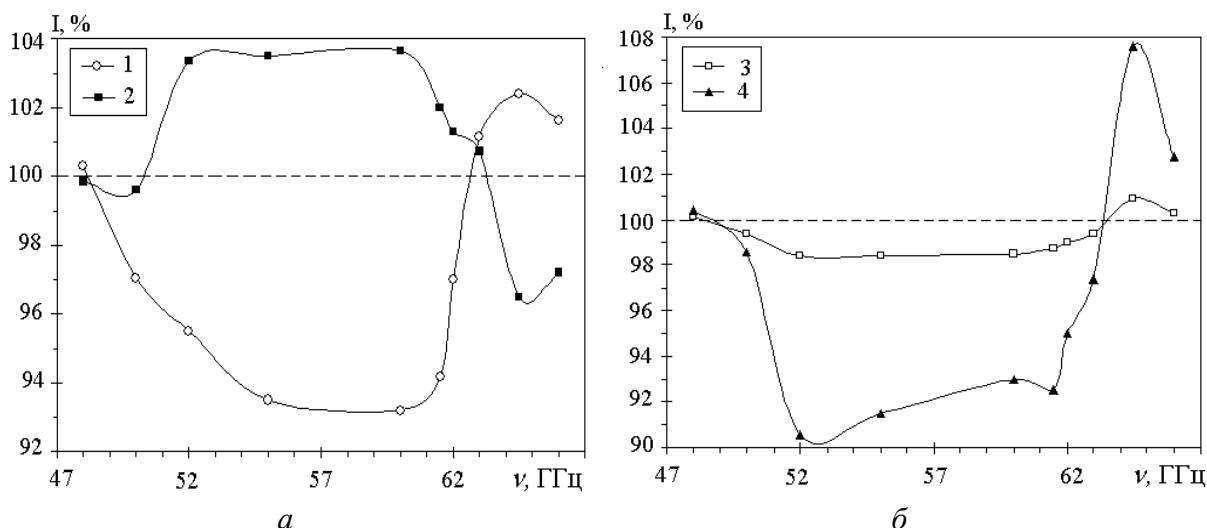


Рис. 7. Частотная зависимость относительного изменения величин: 1 – активность каталазы эритроцитов; 2 – уровень МДА; 3 – перекисная резистентность эритроцитов; 4 – общая антиоксидантная активность. (значения величин 100 % соответствует контрольным образцам).

Результаты проведенных биохимических исследований показали, что в области частот 47–67 ГГц наблюдался частотно-зависимый отклик клеточной системы крови (в частности эритроцитов) на действие низкоинтенсивного ЭМИ. Так, на рис. 7 *а* представлено частотную зависимость относительного изменения активности внутриклеточного фермента-гемопротеида – каталазы (кривая 1), который под действием КВЧ излучения изменяет активность, в частности минимальное значение наблюдается в области частоты 60 ГГц [31].

Известно, что биологическая роль каталазы заключается в деградации пероксида водорода и обеспечении эффективной защиты клеточных структур от разрушения [32]. Уменьшение активности указанного фермента приводит к накоплению

свободнорадикальных форм кислорода (супероксидный анион O_2° и гидроксидный радикал $O^{\circ}H$), что активирует процессы перекисного окисления липидов, конечным продуктом которых является малоновый диальдегид. Поэтому ингибирование каталазы в частотном диапазоне 49–62 ГГц соответствует накоплению ТБК-активных продуктов (рис. 7 а, кривая 2). Этот факт может свидетельствовать о накоплении свободных радикалов, что способствует мембранодеструктивным процессам [33]. Это подтверждается экспериментальными результатами частотной зависимости показателя перекисной резистентности эритроцитов (рис. 7 б, кривая 3), а именно, наблюдалось уменьшение этой величины в том же диапазоне частот (49–62 ГГц) где происходила активация перекисного окисления липидов (ПОЛ). Поскольку метод определения перекисной резистентности эритроцитов основан на определении процента эритроцитов, которые гемолизуются в стандартных условиях под воздействием пероксида водорода, а степень гемолиза зависит от стойкости эритроцитов к пероксидам, отображая не только активность свободнорадикальных процессов, которые протекают на мембранах эритроцитов, а и антиокислительную стойкость биосистемы к эндогенной инициации перекисно-окислительных реакций. Поэтому уменьшение перекисной резистентности эритроцитов сопровождается снижением антиоксидантной активности крови, что и наблюдали экспериментально (рис. 7 б, кривая 4).

На частотах 48 ГГц и 64–66 ГГц наблюдалось увеличение активности каталазы с одновременным уменьшением содержания ТБК-активных продуктов, что свидетельствует о существенном торможении процессов ПОЛ. Эти изменения сопровождались увеличением показателей, как перекисной резистентности эритроцитов, так и общей антиоксидантной активности плазмы крови (рис. 7). Такое резкое изменение направленности процессов в области частоты 64,5 ГГц, может быть обусловлено изменением структуры клеточной поверхности (конформационные изменения компонентов мембран) [34] при облучении. Авторами [35] были обнаружены резонансы тканей человека, животных и воды вблизи 50, 65 и 100 ГГц. В частности, исследования гепарированной цельной крови, а также ее компонентов – плазмы, сыворотки, гемолиза эритроцитов показали, что для указанных объектов частоты резонансов соответствуют частотам прозрачности воды. По мнению авторов [36], на резонансных частотах волны распространяются в среде с малыми потерями, а при отклонении от резонанса излучение поглощается на поверхности объекта.

Приведенные результаты показывают, что одним из возможных "рецепторов" КВЧ-излучения являются мембраны клеток. В случае накопления в липидных слоях в первую очередь мембран, перекисных и свободнорадикальных состояний, делает стадию воздействия КВЧ более чувствительной по сравнению с конвективным переносом веществ в исследуемых биообъектах [37–39]. Как известно, ПОЛ – многостадийный процесс окисления, в том числе ненасыщенных жирных кислот, которые входят в состав молекул фосфолипидов. В результате окисления фосфодипидов увеличивается проницаемость нативных мембран для ионов и молекул [28].

Вместе с тем саморегуляция позволяет живым клеткам поддерживать определенное состояние при значительных изменениях внешней среды и несколько видоизменять их ферментный аппарат [40] в ответ на изменения окружающей среды. Наблюдаемые нами изменения активности фермента (каталазы) имели неоднозначный характер. Известно также, что регуляция ферментативных реакций может происходить под воздействием различных факторов (рН, температура, концентрация субстратов, активаторов и ингибиторов), в том числе и конформационных изменений ферментсубстратного комплекса [40, 41]. Не подлежит сомнению наличие связи между функциональными свойствами биологической макромолекулы, в частности белка, и ее внутренней динамикой, обусловленной наличием конформационных состояний [7, 10, 33]. Было

также показано, что воздействие ЭМИ на белковую молекулу приводит к изменению ее структуры [42]. В результате имела место избирательная синхронизация колебаний в белке и, как следствие, изменение функциональных свойств молекулы.

Представленные результаты указывают на существование частотно-селективного отклика клеточной системы крови (в частности эритроцитов) на КВЧ-излучение низкой интенсивности в диапазоне 47–67 ГГц. Вероятно, что увеличение антиоксидантного статуса крови, а также возникновение радикальных и перекисных состояний происходит вследствие механизмов, реализующихся через первичные реакции каталитического типа, протекающих в липидных слоях клеток. Причинами ускорения или торможения таких реакций могут быть конформационные изменения макромолекул ферментов (в частности каталазы) под действием электромагнитного излучения.

Влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения на активность ферментов. В исследованиях было показано существование частотно-селективного отклика клеточной системы крови и дрожжей на низкоинтенсивное ЭМИ в диапазоне 47–67 ГГц. Вероятной причиной ускорения или же угнетения реакций каталитического типа, которые протекают в липидной фазе клеток, может быть изменение конформационных состояний ферментов, например каталазы, что приводит к стимулирующим и ингибирующим эффектам клинических параметров.

Возникает вопрос: можно ли влиять ЭМИ миллиметрового диапазона на активность ферментов, которые находятся в растворе, но во внеклеточной системе? Для выяснения этого вопроса была исследована активность ферментов, таких как глюкозооксидаза и пероксидаза (класс оксидоредуктаз), после облучения в диапазоне частот 60–66 ГГц.

На спектрофотометре Perkin Elmer Lambda 35 определяли диапазон длин волн поглощения света хинонином в растворе для облученных и контрольных образцов относительно калибратора (реагент с добавлением 10 % дистиллированной воды) (рис. 8). Максимальный коэффициент поглощения соответствует длине волны 506 нм. На указанной длине волны определяли относительное поглощение света облученных образцов по отношению к контрольным. Поскольку интенсивность окрашивания растворов прямо пропорциональна концентрации глюкозы, то можно утверждать, что указанная интенсивность будет зависеть также и от активности ферментов.

На рис. 9 представлено зависимость относительного изменения активности ферментов глюкозооксидазы и пероксидазы от частоты ЭМИ (100 % соответствует контрольным образцам). Видно, что облучение реагента приводит к инактивации ферментов в диапазоне частот 63–66 ГГц. Максимально отрицательное влияние низкоинтенсивного ЭМИ проявляется в области 64,5 ГГц. Также удалось обнаружить два узких пика на частотах 63,5 и 66,5 ГГц. Полуширина этих пиков значительно меньше, чем на частотных зависимостях для клеток крови и дрожжей. Это свидетельствует об исключительной сложности механизма синхронизации активности клеточных и внеклеточных процессов. Кроме того, авторами [28] было выявлено уменьшение активности лиофильно высушенных препаратов каталазы (полученные из эритроцитов) в широком диапазоне волн 3–6,7 мм. Облучение венозной крови человека (*in vitro*) в области этой частоты, как было нами установлено, приводит к стимулированию активности внутриклеточного фермента – каталазы. Облучение ферментов – как внутриклеточных, так и внеклеточных приводит к противоположным изменениям их активности. Возможно такой эффект является следствием изменения процессов, в которых участвуют и метаболизм, и белковые молекулы, и мембранная система.

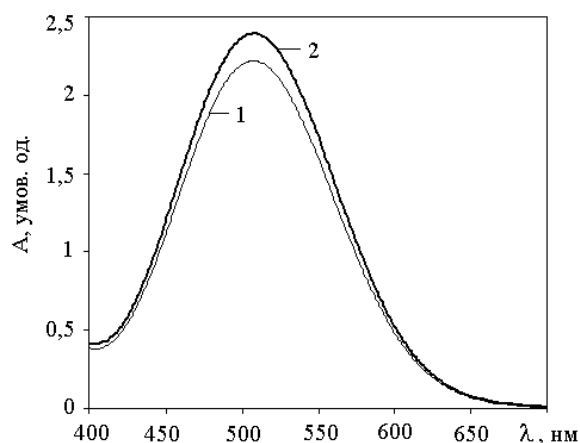


Рис. 8. Спектр поглощения света хинонином в растворах: 1 – облученные на частоте 65 ГГц; 2 – контроль.

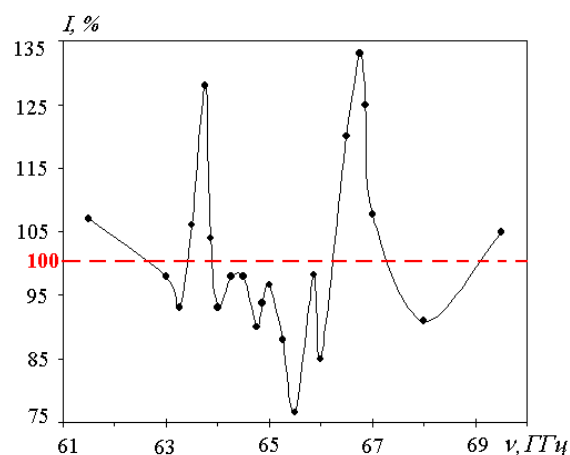


Рис. 9. Частотная зависимость относительного изменения активности фермента глюкозооксидазы.

Следует отметить, что чем сложнее живой организм, тем шире полоса частот, в которой возможен синхронизирующий (резонансный) эффект стимуляции жизнедеятельности. Чем проще система, тем уже полосы частот, в которых наблюдается синхронизация процессов активности, что значительно усложняет их обнаружение.

Исходя из сказанного, механизм синхронизирующего воздействия низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ на биологические объекты имеет частотно-селективный характер. Частоты после облучения на которых происходит активация процессов жизнедеятельности зависит не только от самого объекта, а и от его состояния и окружающей среды, поэтому они могут изменяться от объекта к объекту и от системы к системе. Необходимо отметить, что повышение активности жизнедеятельности биосистем с помощью облучения ЭМИ КВЧ не исключает снижения активности в последующих этапах жизнедеятельности, т.е. возможно, активизация происходит за счет резервных ресурсов биологического объекта.

Выводы

Экспериментальные результаты по изучению изменения активности биологических систем под воздействием низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ-диапазона позволяют выделить ряд характерных особенностей.

Наличие частотно-селективного отклика для всех рассмотренных объектов. Частотная зависимость скорости газовой выделении суспензии клеток дрожжей, облученных в диапазоне частот 37–72 ГГц, имеет 5 пиков увеличения активности, разделенных частотными промежутками инактивации процесса газовой выделении. Частотные зависимости относительной скорости газовой выделении углекислого газа дрожжевыми суспензиями и изменения теплоты смачивания имеют подобный частотно-зависимый характер.

Угнетение процессов жизнедеятельности дрожжевых клеток, которое происходит под влиянием низкоинтенсивного ЭМИ в определенном диапазоне частот, можно компенсировать за счет введения в суспензию ВДК, причем протекторный эффект взаимодействия SiO_2 с поверхностью клеток проявляется на фоне влияния излучения

Существование частотно-селективного отклика клеточной системы крови (в частности эритроцитов) на КВЧ-излучение низкой интенсивности в диапазоне 47–67 ГГц. Вероятно, увеличение антиоксидантного статуса крови, а также возникновение радикальных и перекисных состояний происходит вследствие механизмов, реализующихся через первичные реакции каталитического типа, протекающие в

липидных слоях клеток. Причинами ускорения или торможения таких реакций могут быть конформационные изменения макромолекул ферментов (в частности каталазы) под действием электромагнитного излучения.

Облучение внеклеточных ферментов приводит к противоположным изменениям их активности по отношению внутриклеточных. Возможно, такой эффект является следствием того, что в клетках в процессах изменения активности принимают участие как белковые молекулы, так мембранная система.

Литература

1. Девятков Н.Д., Голант М.В., Бецкий О.В. Миллиметровые волны и их роль в процессах жизнедеятельности. – Москва: Радио и связь, 1991.– 198 с.
2. Девятков Н.Д., Голант М.В., Бецкий О.В. Особенности медико-биологического применения миллиметровых волн. – Москва: ИРЭ РАН, 1994.– 164 с.
3. Емец Б.Г. Низкоинтенсивные электромагнитные микроволны и биообъекты: эффекты действия и биофизические механизмы. – Вісн. Харків. ун-ту. – № 442. Біофізичний вісник, 1998. – Вип. 2. – С. 118–130.
4. С.П. Ситько, Ю.А. Скрипник, А.Ф. Яненко. Аппаратурное обеспечение современных технологий квантовой медицины.– Киев – 1999. –199 с.
5. Григоров Ю.Б., Пустовойт М.А., Гниденко Ю.П., Бережнов Б.В., Сокур С.А. Медицинские аспекты проблемы биоэнергоинформационных влияний на организм человека. // Междунар. мед. журн. – 2005. – № 3.– С.115–119.
6. Biological Coherence and Response to External Stimuli / H. Fröhlich (Ed). – Heidelberg, Berlin: Springer.– 1988.– P. 268.
7. Гапеев А.Б., Чемерис Н.К. Механизмы биологического действия электромагнитного излучения крайне высоких частот на клеточном уровне // Биомед. технологии и радиоэлектроника.– 2007.– № 2–4.– С. 44–61.
8. Gründer W., Keilmann F. Sharp Resonances in Yeast Growth Prove Nonthermal Sensitivity in Microwaves // Phys. Rev. Lett. –1983. –V. 51, № 13. – P. 1214–1216.
9. Акопян С.Н., Айрапетян С.Н. Исследование удельной электропроводности воды при воздействии постоянного магнитного поля, электромагнитного поля и низкочастотных механических колебаний // Биофизика. –2005.– Т.50, № 2.– С. 265–270.
10. Голант М.Б, Брюхова А.К., Двадцатова Е.А. и др. Эффекты нетеплового воздействия миллиметрового излучения на биологические объекты / Под ред. Н.Д. Девяткова. – М.: ИРЭ АН СССР. 1983. С. 115–122.
11. Sitko S.P. Physics of Alive – the new trend of fundamental natural sciences // Phys. of Alive. – 2000. – V.8, № 2. – P.5–13.
12. Гаркуша О.М., Мазуренко Р.В., Махно С.Н., Горбик П.П. Влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на жизнедеятельность клеток *Saccharomyces cerevisiae* // Биофизика.– 2008.– Т. 53, № 5.– С. 817–821.
13. Гаркуша О.М., Багацька Г.М., Радченко О.С., Махно С.М. Особливості впливу низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання міліметрового діапазону на дріжджові клітини // Вісн. Київ. нац. ун-ту. Біологія.– 2008.– Вип.52–53.– С. 104–106.
14. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. // Современные методы в биохимии. – Москва: Медицина, 1977.– С. 66–68.
15. Королук М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лаборатор. дело.– 1988.– № 1. – С.16–19.

16. Покровский А.А., Аббаров А.А. К вопросу о перекисной резистентности эритроцитов // Вопросы питания.– 1964. – № 6. – С. 44–49.
17. Клебанов Г.И., Бабенкова И.В., Теселкин Ю.О. и др. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов // Лаборатор. дело.– 1998. – №5. – С. 59–62.
18. Емец Б.Г. Влияние низкоинтенсивного СВЧ-излучения на эффективную толщину не перемешиваемого слоя воды, примыкающего к мембране эритроцита // Вісн. Харків. ун-ту. № 466. Біофізич. вісн.. 1999. Вип. 5(3). С. 112–115.
19. Туров В.В., Горбик С.П., Чуйко А.А. Применение метода ¹H ЯМР спектроскопии для определения энергии взаимодействия клеток с водной средой // Доп. НАН України.– 2002.– № 3.– 142–146.
20. Туранська С.П., Туров В.В., Гунько В.М., Богатирьов В.М. Асоціати води у частково зневоднених дріжджах і на поверхні гідрофобного кремнезему // Хімія, фізика і технологія поверхні.– 2004.–Вип. 10.– С. 207–211.
21. Дерягин Б.В., Чураев Н.В. Смачивающие пленки.– Москва: Наука, 1984.– 758 с.
22. Тарасевич Ю.И., Овчаренко Ф.Д. Адсорбция на глинистых минералах. – Киев: Наук. думка, 1975.– 352 с.
23. Вода в полимерах / Под ред. С. Роуланда.– Москва: Мир, 1984.– 555 с.
24. Берри Д. Биология дрожжей.– Москва: Мир.– 1985.– С.95.
25. Гаркуша О.М., Багацька Г.М., Махно С.М., Горбик П.П. Вплив високодисперсного кремнезему на процеси життєдіяльності клітин дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* // Нанорозмірні системи. Будова – властивості – технології.– 2007. – С. 419.
26. Курдиш И.К., Чуйко А.А. Особенности взаимодействия микроорганизмов с диоксида кремния. В кн. Медицинская химия и клиническое применение высокодисперсного кремнезема.– Киев: Наук. думка, 2003.– 153 с.
27. Девятков Н.Д., Кислов В.В., Чернов З.С. Нелинейные эффекты при воздействии низкоэнергетического миллиметрового излучения на биологические объекты. – Москва: Наука 1988.– 27 с.
28. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах.– Москва: Наука, 1972.– 252 с.
29. Лебедева А.Ю., Люсов В.А., Волов Н.А., Щелкунова И.Г. Динамика процессов перекисного окисления липидов у больных нестабильной стенокардией при проведении ММ-терапии. – Сб.: Миллиметровые волны в биологии и медицине, 1995, №5. – С. 50–65.
30. Волотовская А.В., Улащик В.С., Филипович В.Н. Антиоксидантное действие и терапевтическая эффективность лазерного облучения крови у больных ишемической болезнью сердца. // Вопросы курортологии физиотерапии и лечеб. физ. культуры.– 2003.– №3.– С. 22–25.
31. Мазуренко Р.В., Махно С.Н., Горбик П.П., Дмитренко А.Б., Макарова Т.А., Сутковой Д.А. Влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения на активность процессов перекисного окисления и антиоксидантной активности крови *in vitro* // Биомед. радиоэлектроника.– 2009.– № 2.– С. 11–15.
32. Горячковский А.М. Клиническая биохимия.– Одесса: ОКФА.– 1994.– 415 с.
33. Мальшев И.Ю., Манухина Е.Б. Стресс, адаптация и оксид азота // Биохимия.– 1998.– Т. 63, № 7.– С. 47–52.
34. Галаган Н.П. Клеточная поверхность и ее роль в контактных взаимодействиях с высокодисперсным кремнеземом. – В кн.: Кремнеземы в медицине и биологии.– Киев-Ставрополь, 1993.–С. 212–233.
35. Синицын Н.И., Петросян В.И., Елкин В.А., Девятков Н.Д., Гуляев Ю.В., Бецкий О.В. Особая роль системы "миллиметровые волны – водная среда" в природе // Биомед. радиоэлектроника.– 1998.– № 1.– С. 5–23.

36. Петросян В.И., Гуляев Ю.В., Житенева Э.А., Елкин В.А., Сеницын Н.И. Взаимодействие физических и биологических объектов с электромагнитным излучением КВЧ-диапазона // Радиотехника и электроника.– 1995.– Т. 40, № 1.– С. 127–134.
37. Тамбиев А.Х., Кирикова Н.Н. Некоторые новые представления о причинах формирования стимулирующих эффектов КВЧ-излучения // Биомед. радиоэлектроника.– 2001.– № 1.– С. 23–33.
38. Шаров В.С., Казаринов К.Д., Андреев В.Е. и др. Ускорение перекисного окисления липидов под действием электромагнитного излучения миллиметрового диапазона // Биофизика.– 1983.– Т. 28.– С. 25–30.
39. Казаринов К.Д. Биологические эффекты КВЧ-излучения низкой интенсивности // Итоги науки и техники. Сер. Биофизика.– 1990. – Т.27, № 3. – С. 18–30.
40. Кнорре Д. Г., Мызина С. Д. Биологическая химия. – Москва: Высш. школа, 1998.– 479 с.
41. Ленинджер А. Биохимия. Молекулярные основы структуры и функций клетки. – М.: Мир, 1974.– 956 с.
42. Диденко Н.П., Горбунов В.В., Зеленцов В.И. Влияние миллиметровых волн на времена релаксации отдельных конформационных подсостояний молекулы гемоглобина. – В кн.: Эффекты нетеплового воздействия миллиметрового излучения на биологические объекты. – Москва: ИРЭ АН СССР, 1983. – С. 214–216.

ЗАКОНОМІРНОСТІ ВПЛИВУ НИЗЬКОІНТЕНСИВНОГО ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НА БІОЛОГІЧНІ СИСТЕМИ

О.М. Гаркуша, Р.В. Мазуренко, С.М. Махно, П.П. Горбик

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

У статті узагальнені експериментальні результати, одержані в останні роки в рамках фізико-біологічних досліджень, розглянуто питання впливу низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання міліметрового діапазону на біологічні об'єкти різного рівня організації. Показано, що відгук досліджених об'єктів (дріжджі, кров і позаклітинні ферменти) на вплив тривалого опромінення має частотно-селективний характер.

THE FEATURES OF LOW INTENSITY ELECTROMAGNETIC RADIATION INFLUENCE ON BIOLOGICAL SYSTEMS

O.M. Garkusha, R.V. Mazurenko, S.M. Makhno, P.P. Gorbyk

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

The paper summarizes the experimental results obtained in recent years in the physical and biological research, the influence of low-intensity electromagnetic radiation of millimeter range on biological objects of various levels of the organization was examined. It is shown that the response of the objects studied (yeast, blood, and extracellular enzymes) to the effects of prolonged exposure is frequency-selective.