

## РАЗРАБОТКА ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ВЛИЯНИЯ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОБЪЕКТЫ

**Т. Ю. Щеголева**, \*Е. М. Громозова, \*С. И. Войчук, Н. В. Брюзгинова,  
Б. Р. Масюк, П. С. Красов

*Институт радиофизики и электроники им. А. Я. Усикова НАН Украины*  
12, ул. Ак. Проскуры, Харьков, 61085, Украина  
E-mail: [tsch@ire.kharkov.com](mailto:tsch@ire.kharkov.com)

*\*Институт микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного НАН Украины*  
154, ул. Заболотного, Киев, 03143, Украина

Методом КВЧ диэлектromетрии получены данные об изменениях в гидратном окружении клеток дрожжей под действием электромагнитного излучения (ЭМИ). Показана возможность использования клеточных культур в качестве сенсоров при изучении влияния ЭМИ различной интенсивности и природы на биологические объекты. Ил. 2. Табл. 2. Библиогр.: 16 назв.

**Ключевые слова:** КВЧ диэлектromетрия, клетки дрожжей, электромагнитное излучение.

В настоящее время большой интерес представляют исследования влияния излучения от различных электронных устройств на биологические объекты. В многочисленных работах отечественных и зарубежных исследователей [1, 2] обсуждается не только способность ЭМИ влиять на биологические процессы, но и нестабильность такого действия. В одних случаях оно стимулирует или угнетает функции биологических объектов, а в других не имеет заметного влияния [3].

Безопасный уровень ЭМИ регламентируется нормативными документами организаций здравоохранения [4], основу которых составляют современные международные научные рекомендации [5]. Основным принципом ограничения ионизирующего излучения является достижение его минимально возможного уровня с учетом экономических и социальных факторов. Определение максимально допустимой мощности неионизирующего излучения базируется на термическом эффекте, связанном с нагреванием тканей и органов человека. При общепринятых нормах эта величина считается допустимой, если не вызывает патологических изменений в функционировании органов. Однако исследования показывают, что существуют и другие виды эффектов, влияние которых на здоровье человека недостаточно изучено, и вследствие этого нормативные акты не разработаны [6, 7].

При изучении влияния ЭМИ от бытовых приборов ряд особенностей затрудняет разработку универсальных средств контроля допустимых уровней этих излучений. Например, компьютерные мониторы делятся на устройства с дисплеями на основе электронно-лучевой трубки (CRT) и дисплеями на основе жидких кристаллов (LCD), и их неблагоприятные факторы воздействия на пользователя существенно отличаются. Так, для CRT

мониторов доминирующим является ионизирующее излучение, а для LCD – электромагнитное излучение функциональных блоков. Для сотового телефона мощность излучения является величиной переменной, зависящей от состояния канала связи, следовательно, чем выше уровень сигнала базовой станции в месте приема, тем она меньше.

Целью настоящей работы являются исследования возможности использования клеточных культур в качестве датчиков сенсорной системы для изучения влияния разных типов ЭМИ.

Сенсорная система основана на методе КВЧ диэлектromетрии, который дает возможность наблюдать изменения водного режима клеток под воздействием биологически активных регуляторов.

**1. Материалы и методы.** Разработанный в Институте радиофизики и электроники им. А. Я. Усикова НАН Украины метод КВЧ диэлектromетрии позволяет исследовать диэлектрические свойства широкого класса биологических объектов. В диэлектromетре А-17 (разработки проблемной научно-исследовательской лабораторией молекулярных механизмов) применен метод нахождения диэлектрической проницаемости исследуемого образца по измерению параметров стоячей волны в волноводе прямоугольного сечения с использованием измерительной линии с подвижным зондом. Измерения проводятся в области дисперсии свободной воды на частоте 39,49 ГГц. Уровень мощности не превышает нескольких милливатт, что исключает нагревание образцов в процессе эксперимента. Объем образца составляет 0,01 мл. Точность измерений действительной и мнимой компонент, диэлектрической проницаемости не хуже 3 %, а их изменений – 1 % [8].

Реакции клеток определялись по изменениям смещения минимума стоячей волны ( $\Delta L$ ) и

ширины удвоенного минимума ( $\Delta X$ ), пропорциональных комплексной диэлектрической проницаемости  $\varepsilon^*$ , относительно контроля.

Объектом исследования служили дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* штамм УКМ У-517. Дрожжи выращивали на твердой питательной среде сусло-агар в термостате при температуре 28-30 °С. Смыв биомассы с поверхности твердой питательной среды проводили стерильной дистиллированной водой в стационарной фазе роста (через 22-24 ч). В эксперименте использовали две суспензии клеток с концентрациями  $C1 - 10^6$  кл/мл и  $C2$ , плотность которой на 15 % меньше  $C1$ .

В качестве стрессовых факторов применяли фунгицидный антибиотик нистатин в концентрации 20 мкг на  $10^6$  кл/мл и гормон адреналин в концентрации 0,43 мкг/мл. Диметилсульфоксид (ДМСО) в концентрации 0,2 мкг/мл, служил растворителем для нистатина [9].

Процедуру облучения проводили мониторами CRT (1997 и 2003 гг. выпуска) и LCD (2005 г. выпуска). Суспензию клеток по 1 мл в стеклянных пробирках располагали перед экраном монитора на расстоянии 0,1 м. Излучение 900 МГц (0,5 Вт), характерное для мобильных телефонов, имитировали с помощью высокочастотного генератора сигналов Г4-76А (с диапазоном частот 400-1230 МГц). Объект располагали на расстоянии 0,05 м от излучателя. Во всех случаях нистатин, адреналин и ДМСО вносили сразу же после облучения.

СВЧ генератор мощностью 2 мВт на частоте 39,49 ГГц, используемый в измерительном комплексе А-17, служил источником излучения в контрольном эксперименте.

Температура помещения, в котором проводилось облучение суспензий клеток исследуемого образца и измерение его показателей, составляла 28-30 °С. Сравнение проводили с контрольными образцами, которые находились в экранированной камере.

**2. Полученные результаты и их обсуждение.** Ранее было показано [10, 11], что при поддержании оптимальных для дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* условий внешней среды эффекты воздействия неионизирующего ЭМИ, исследуемые на физиологическом уровне по стандартным показателям ростовых процессов, не выявляются и поведение облученных клеток не отличается от контрольных популяций. В последние годы для визуализации возможных скрытых эффектов неионизирующих ЭМИ на биологические объекты было предложено совместное или последовательное воздействие на модельный организм ЭМИ и стрессового фактора химической или физической природы с хорошо известным механизмом действия [12, 13]. Такой подход при постановке эксперимента позволил выявить целый ряд изменений,

происходящих на молекулярно-генетическом, физиолого-биохимическом и клеточном уровнях, и соответственно, более обоснованно говорить о биологическом действии различных слабых и сверхслабых неионизирующих полей и излучений. Направленный подбор стрессовых факторов позволяет выявлять воздействие на конкретную единичную функцию или группу функций в клетке.

В проведенной нами серии экспериментов эффекты различных неионизирующих ЭМИ оценивали по параметрам гидратного окружения клеток дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, определяемым методом КВЧ диэлектротметрии. В связи с тем, что в диэлектротметре А-17 используется КВЧ излучение малой мощности, мы провели предварительные эксперименты с целью выяснить время экспозиции при измерении диэлектрической проницаемости, при котором само излучение может влиять на объект измерения. Эксперименты показали, что для получения минимально достоверного ответа необходимо проводить облучение не менее 1 ч. Эффект воздействия КВЧ в режиме облучения при измерениях параметров при двух поляризациях был незначительный. Поскольку измерения одного образца проводили в течение 3-5 мин, то излучение генератора используемого прибора не влияло на полученные результаты.

Облучение клеточных суспензий перед экраном CRT-монитора в течение 3 ч, без последующего внесения факторов стресса, не приводило к заметным изменениям в гидратном окружении клеток дрожжей. В тех же случаях, когда сразу после экспонирования к клеткам добавляли стимулятор аденилатциклазной системы (АЦС) – адреналин [14], было отмечено увеличение  $\Delta L$  на 0,01, а  $\Delta X$  на 0,06 по сравнению с необлученным контролем. Это может говорить о наличии существенных изменений, произошедших внутри клеток в результате действия излучений от данного типа монитора, но которые сами по себе не проявляются, а лишь в присутствии дополнительного стрессового фактора.

При действии другого стрессового фактора нистатина применяется ДМСО для растворения порошкообразного антибиотика. Необходимо было оценить индивидуальное влияние ДМСО на гидратное окружение клеток. Результаты этих исследований представлены на рис. 1. Следует отметить, что ДМСО вызывает заметно большие изменения в водной фазе клеток, фиксируемые по изменениям  $\Delta L$  и  $\Delta X$ , по сравнению с совместным действием ДМСО и фунгицидного антибиотика нистатина, который угнетает рост и размножение дрожжей. Возможно, данный факт объясняется проводящими трансмембранными свойствами димексида.

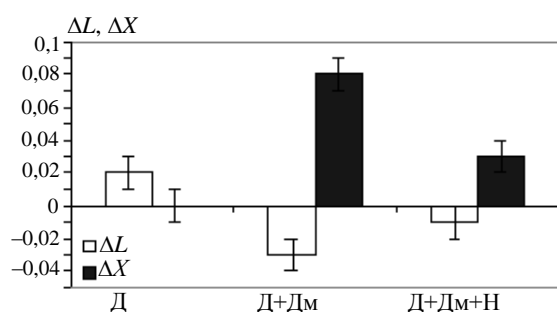


Рис. 1. Дрожжи *S. cerevisiae* УКМ Y-517, облученные перед экраном CRT-монитора в течение 3 ч: Д – концентрация дрожжей С2; Д+Дм – контроль на димексид; Д+Дм+Н – дрожжи с нистатином, разведенные димексидом

При воздействии на клетки излучением LCD-монитора было обнаружено, что суспензии дрожжей в концентрации С1 и С2 по-разному реагируют на облучение. В то время как суспензия дрожжей с концентрацией С1 практически не реагировала на облучение, клетки с концентрацией С2 давали значительные ответы (рис. 2). Эти суспензии незначительно (на 15 %) отличаются между собой по концентрации клеток в миллилитре среды, а потому разность эффектов, вызванных излучением, генерированным LCD-монитором указывает на важную роль в данном процессе такого фактора, как плотность популяции. В этих условиях наблюдалась реакция облученных дрожжей без внесения стрессового фактора в суспензию клеток.

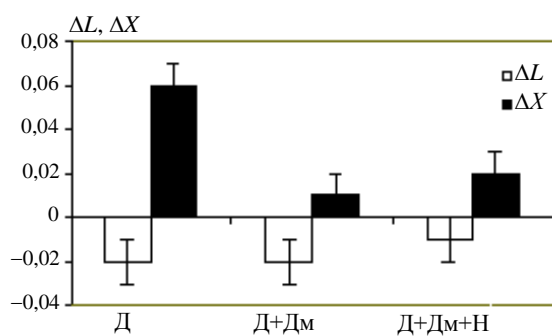


Рис. 2. Дрожжи *S. cerevisiae* УКМ Y-517, облученные перед экраном LCD-монитора в течение 3 ч: Д – концентрация дрожжей С2; Д+Дм – контроль на димексид; Д+Дм+Н – дрожжи с нистатином, разведенные димексидом

При внесении адреналина к клеточным суспензиям сразу после облучения перед LCD-монитором полученные результаты находились в пределах погрешности прибора, а следовательно, данный фактор не влиял на показатели  $\Delta L$  и  $\Delta X$ .

Подобные результаты были получены при определении классическими микробиологическими методами уровня жизнеспособности клеток дрожжей под действием исследованных неионизирующих ЭМИ. Данные по определению

жизнеспособности клеток *S. cerevisiae* в присутствии нистатина после воздействия ЭМИ генерированного CRT-монитором приведены в табл. 1. Видно, что жизнеспособность клеток находится в прямой зависимости от расстояния до дисплея. Через 3 ч в контроле нистатин угнетал рост 70 % клеток, а в облученных образцах – 96 и 85 % соответственно на расстоянии 4 и 40 см от центра экрана. Через 6 ч эти показатели снижались до 12 и 42 % соответственно, что говорит об увеличении устойчивости клеток к действию внешних стрессовых факторов физико-химической природы, а следовательно, и об адапционных процессах, происходящих внутри клеток и вызванных, по-видимому, действием электромагнитного поля (ЭМП).

Таблица 1

Влияние электромагнитного излучения экрана CRT-монитора на жизнеспособность (в %) клеток *Saccharomyces cerevisiae* УКМ Y-517 под действием нистатина (20 мкг/мл)

| Длительность экспозиции, ч | Расстояние до монитора, см |        | Контроль |
|----------------------------|----------------------------|--------|----------|
|                            | 4                          | 40     |          |
| 3                          | 4 ± 3                      | 15 ± 6 | 28 ± 10  |
| 6                          | 12 ± 1                     | 42 ± 5 | 55 ± 7   |

\*Приведено среднее значение ± стандартного отклонения ( $n > 10$ )

Исследование влияния излучений, генерируемых CRT-мониторами различных годов выпуска и разных производителей, во всех случаях приводило к подобным эффектам угнетения жизнеспособности клеток дрожжей, что говорит о существовании общей биотропной составляющей, присущей данному типу мониторов.

Данные, полученные методом КВЧ диэлектротметрии, хорошо согласуются с результатами биологических экспериментов [15].

Результаты опытов по определению влияния ЭМИ от высокочастотного генератора сигналов Г4-76А, частично имитирующего работу мобильного телефона, представлены в табл. 2.

Чувствительность дрожжей, как тест-системы характеризуется результатами, представленными в табл. 2. Приведенные данные демонстрируют не только отличие в реакции клеток с добавками и без них, но и зависимость от времени облучения данным генератором.

Литературные данные свидетельствуют о нестабильности и противоречивости биологических эффектов ЭМИ. В результате большого количества проведенных экспериментов установлено, что эффективность воздействия ЭМИ на отдельную клетку или популяцию микроорганизмов зависит от множества физико-химических и биологических факторов, таких как свойства среды, в которой находятся организмы,

видовая и штаммовая принадлежность, стадия роста и фаза клеточного цикла. Используемые нами в качестве биологического детектора ЭМИ дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* являются общепризнанной моделью исследования эукариотических клеток [16]. Применение метода КВЧ диэлектротметрии в оценке биологического действия ЭМП позволяет дать характеристику внутриклеточных эффектов.

Таблица 2  
Реакция клеток дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, облученных генератором сигналов Г4-76А в течение 1 и 3 ч

| Образец                         | Концентрация клеток, мл | Время облучения, ч | Диэлектрические параметры |                     |
|---------------------------------|-------------------------|--------------------|---------------------------|---------------------|
|                                 |                         |                    | $\Delta L \pm 0,01$       | $\Delta X \pm 0,01$ |
| <i>S.cerevisiae</i>             | C1                      | 1                  | -0,05                     | 0,05                |
|                                 |                         | 3                  | -0,03                     | 0,02                |
| <i>S.cerevisiae</i> и адреналин | C1                      | 1                  | -0,02                     | 0,01                |
|                                 |                         | 3                  | -0,03                     | 0,06                |
| <i>S.cerevisiae</i>             | C2                      | 1                  | 0,02                      | 0,01                |
|                                 |                         | 3                  | 0,01                      | 0,05                |
| <i>S.cerevisiae</i> и ДМСО      | C2                      | 1                  | 0,09                      | -0,1                |
|                                 |                         | 3                  | 0,01                      | -0,01               |
| <i>S.cerevisiae</i> и нистатин  | C2                      | 1                  | 0,13                      | -0,08               |
|                                 |                         | 3                  | 0,05                      | 0,01                |

**Выводы.** Результаты, полученные с помощью метода КВЧ диэлектротметрии, показали, что культуры дрожжей представляют собой чувствительные датчики действия ЭМИ слабой интенсивности и разной природы. Клетки дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* могут быть предложены в качестве сенсорной системы для анализа влияния излучения от мониторов и мобильных телефонов.

1. Mileva K., Georgieva B., Radicheva N. About the biological effects of high and extremely high frequency electromagnetic fields // Acta. Physiol. Pharmacol. Bulg. – 2003. – 27, No. 2-3. – P. 89-100.
2. Foster K. R. Mechanisms of interaction of extremely low frequency electric fields and biological systems // Radiat. Prot. Dosimetry. – 2003. – 106, No. 4. – P. 301-310.
3. Геращенко С. И. Основы лечебного применения электромагнитных полей микроволнового диапазона. – Киев: Радуга, 1997. – 223 с.
4. СанПиН 2.2.4/2.1.8.055-96. Физические факторы производственной среды. – Введ. 1996-08-05. – М.: Госкомсанэпиднадзор.
5. IEEE Std C95.1 – 2005 IEEE Standard for Safety Levels with Respect to Human Exposure to Radio Frequency Electromagnetic Fields, 3 kHz to 300 GHz.
6. Григорьев Ю. Г. Электромагнитные поля и здоровье населения // Гигиена и Санитария. – 2003. – № 3. – С. 14-16.
7. Худницкий С. С., Мошкарев Е. А., Фоменко Т. В. Изучение функционального состояния центральной нервной системы и сердечно-сосудистой систем у пользователей сотовых телефонов // Электромагнитные поля. Биологическое действие и гигиеническое нормирование: Матер. Межд. сов. – М., 1998. – С. 537-541.
8. Щеголева Т. Ю. Исследование диэлектрических характеристик биообъектов в миллиметровом диапазоне радиоволн. – Киев: Наук. думка, 1996. – 187 с.

9. Машковский М. Д. Лекарственные средства: в 2-х т. – Харьков: Торсинг, 1997. – Т. 1. – 560 с.
10. Goodman E. M., Greenebaum B., Marron M. T. Effects of electromagnetic fields on molecules and cells // Int. Rev. Cytol. – 1995. – 158. – P. 279-338.
11. Havas M. Biological effects of non-ionizing electromagnetic energy. A critical review of the reports by the US National Research Council and the US National Institute of Environmental Health Sciences as they relate to the broad realm of EMF bioeffects // Environ. Rev. – 2000. – 8. – P. 173-253.
12. Ager D. D., Radu J. A. Effect of 60-Hz magnetic fields on ultraviolet light-induced mutation and mitotic recombination in *Saccharomyces cerevisiae* // Mutat. Res. – 1992. – 283, No. 4. – P. 279-286.
13. Miyakoshi J., Koji Y., Wakasa T., Takebe H. Long-term exposure to a magnetic field (5 mT at 60 Hz) increases X-ray-induced mutations // J. Radiat. Res. (Tokyo). – 1999. – 40, No. 1. – P. 13-21
14. Naarala J., Hoyto A., Markkanen A. Cellular effects of electromagnetic fields // Altern. Lab. Anim. – 2004. – 32, No. 4. – P. 355-360.
15. Розробка мікробіологічної системи для аналізу впливу на користувача фізичних факторів відеодісплейних терміналів / Звіт про НДР. Кер. В. С. Підгорський. – Киев: Ін-т мікробіології та вірус. ім. Д. К. Заболотного НАН України. – 2006. – 15 с.
16. Maureen M. Barr Super models // Physiological Genomics. – 2003. – 13. – P. 15-24.

#### DEVELOPMENT OF TEST-SYSTEMS FOR INVESTIGATION OF VARIOUS TYPES OF ELECTROMAGNETIC RADIATION ON BIOLOGICAL OBJECTS

T. Yu. Shchegoleva, E. M. Gromozova,  
S. L. Vojchuk, N. V. Bryuzginova,  
B. R. Masyuk, P. S. Krasov

The data on changes of hydrated encirclements of the yeast culture were taken by means of EHF dielectrometry method. The effects of electromagnetic radiation of different intensities and various nature on the yeast culture were studied. Possibilities of using cell cultures as sensors for investigation of such influences were shown.

**Key words:** EHF dielectrometry method, yeast, electromagnetic radiation.

#### РОЗРОБКА ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НА БІОЛОГІЧНІ ОБ'ЄКТИ

Т. Ю. Щеголева, О. М. Громозова,  
С. І. Войчук, Н. В. Брюзгінова,  
Б. Р. Масюк, П. С. Красов

Методом КВЧ діелектротметрії було отримано дані про зміни в гідратному оточенні клітин дріжджів під впливом електромагнітного випромінювання (ЕМВ). Показано можливість використання клітинних культур в якості сенсорів при вивченні впливу ЕМВ різної інтенсивності та природи на біологічні об'єкти.

**Ключові слова:** КВЧ діелектротметрія, клітини дріжджів, електромагнітне випромінювання.

Рукопись поступила 17 июля 2008 г.