

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ЧАСТОТЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО СПЕКТРА ПОГЛОЩЕНИЯ И ИЗЛУЧЕНИЯ ОКСИД АЗОТА НА ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ БАКТЕРИЙ

Е.А. Пронина — ГОУ ВПО Саратовский ГМУ Росздрава, доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, кандидат медицинских наук; **Г.М. Шуб** — ГОУ ВПО Саратовский ГМУ Росздрава, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии, профессор, доктор медицинских наук; **И.Г. Швиденко** — ГОУ ВПО Саратовский ГМУ Росздрава, профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, профессор, доктор медицинских наук. E-mail: meduniv@sgmu.ru

ELECTROMAGNETIC RADIATION INFLUENCE WITH MOLECULAR SPECTRUM ABSORPTION AND NITRIC OXIDE RADIATION FREQUENCY ON SUPEROXIDE DISMUTASE BACTERIA ACTIVITY

E.A. Pronina — Saratov State Medical University, Department of Microbiology, Virology and Immunology, Assistant Professor, Candidate of Medical Science; **G.M. Shub** — Saratov State Medical University, Department of Microbiology, Virology and Immunology, Professor, Doctor of Medical Science; **I.G. Shvidenko** — Saratov State Medical University, Department of Microbiology, Virology and Immunology, Professor, Doctor of Medical Science. E-mail: meduniv@sgmu.ru

Дата поступления — 31.03.09 г

Дата принятия в печать — 22.04.09 г.

Е.А. Пронина, Г.М. Шуб, И.Г. Швиденко. Влияние электромагнитного излучения на частоте молекулярного спектра поглощения и излучения оксид азота на изменение активности супероксиддисмутазы бактерий. Саратовский научно-медицинский журнал, 2009, том 5, № 2, с. 164–166.

Описана динамика изменения уровня активности супероксиддисмутазы золотистых стафилококков, кишечной и синегнойной палочек при действии электромагнитного излучения на частоте молекулярного спектра поглощения и излучения оксида азота. Объектом исследования были эталонные штаммы *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 и по 5 клинических штаммов каждого вида. В работе использовался панорамно-спектрометрический измерительный комплекс, разработанный ОАО ЦНИИИА г. Саратова, в котором возбуждались электромагнитные КВЧ колебания, имитирующие структуру молекулярного спектра поглощения и излучения оксида азота. Активность супероксиддисмутазы определяли спектрофотометрическим методом. Выявлено повышение активности супероксиддисмутазы изучаемых штаммов бактерий, наиболее выраженное при 45 и 60 — минутной экспозиции.

Ключевые слова: супероксиддисмутаза, электромагнитное излучение, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

E.A. Pronina, G.M. Shub, I.G. Shvidenko. Electromagnetic Radiation Influence With Molecular Spectrum Absorption and Nitric Oxide Radiation Frequency on Superoxide Dismutase Bacteria Activity. Saratov Journal of Medical Scientific Research, 2009, vol. 5, № 2, p. 164–166.

The dynamics of superoxide dismutase activity level under the influence of electromagnetic radiation with spectrum absorption and nitric oxide radiation frequency in *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* has been described.

The panoramic spectrometric measuring complex, developed in Saratov Central Scientific Research Institute of Measuring Equipment Public Corporation has been used while carrying out the research. Electromagnetic vibrations of extremely high frequencies stimulated in this complex imitate the structure of molecular spectrum absorption and nitric oxide radiation. The activity of superoxide dismutase has been detected. The most significant changes have been observed under 45 and 60-minute exposition.

Key-words: superoxide dismutase, electromagnetic radiation, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Интерес к роли свободных радикалов в качестве биологических сигнальных молекул все более возрастает. Это в значительной степени обусловлено доказательством ряда адаптивных реакций бактерий на оксидативный стресс и предполагает существование клеточных сенсорных механизмов. Последние включают продукты аэробного метаболизма супероксид O_2 и H_2O_2 , как предшественников ряда свободных радикалов. Установлено, что молекула NO также генерируется биологическими системами и является сигнальной молекулой со множеством важнейших функций [8,9].

Ответственный автор — **Пронина Елена Александровна** 410012 г. Саратов, ул. Б. Казачья 112, ГОУ ВПО Саратовский ГМУ Росздрава, кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии, тел. (8452) 669-820, E-mail: meduniv@sgmu.ru

В последнее время в различных отраслях биологических наук и медицине широкое распространение получили радиофизические методы воздействия на биологические объекты и системы [2,4,5,10,12,13]. Интенсивно развиваются исследования биологических эффектов, связанных с воздействием электромагнитного излучения крайне высоких частот (КВЧ)-диапазона.

Как в клинической практике, так и в биологических исследованиях электромагнитные излучения крайне высоких частот получили широкое применение, особенно в последнее десятилетие. Это связано, в частности, с высокой вариабельностью использования данного физического агента благодаря размаху спектра частотного интервала.

В КВЧ-диапазоне находятся частоты молекулярных спектров излучения и поглощения (МСИП) раз-

личных клеточных метаболитов (NO, CO, активные формы кислорода и др.) [1,6]. Изучение биологических эффектов электромагнитного излучения представляет значительный интерес как для теоретической, так и для практической медицины. Особый интерес вызывает электромагнитное излучение на частотах МСПИ оксида азота, который является универсальным регулятором физиологических и метаболических процессов в отдельной клетке и в организме в целом, функционируя как сигнальная молекула практически во всех органах и тканях человека и животных [8,9].

Создание генераторов, работающих на частоте спектров поглощения и излучения биологически активных молекул NO, CO, O₂, CO₂, открывает новые направления в практическом использовании электромагнитных волн [7].

В связи с тем, что фундаментальной основой работы сложных биологических систем являются молекулы-метаболиты, стабильные и строго воспроизводимые структуры биосреды, детерминированное управление их реакционной способностью излучением, совпадающим со спектрами их собственного излучения и поглощения, может направленно регулировать процесс метаболизма в биосреде. Анализ биомедицинских эффектов электромагнитного излучения (ЭМИ) на частотах молекулярных спектров атмосферных газов-метаболитов (NO, CO, O₂, CO₂) показывает прямую связь спектров заданного метаболита и его активности в биосреде [5].

При облучении молекул энергия КВЧ (крайне высокой частоты)-излучения расходуется на переходы молекул из одного энергетического состояния в другое. При используемых в медикобиологической практике уровнях мощности КВЧ-излучения экзогенное воздействие ЭМИ КВЧ приводит к изменению вращательной составляющей полной энергии молекул. При совпадении частоты проводимого облучения с частотой вращения полярных молекул возможна перекачка энергии излучения молекуле, сопровождающаяся увеличением ее вращательной кинетической энергии, что влияет на ее реакционную способность [6].

Супероксиддисмутаза (СОД) — широко распространенный фермент, она находится почти во всех аэробных и факультативно-анаэробных бактериях. Это один из ферментов антиоксидантной защиты клеток.

Цель работы. Вышеизложенное послужило основанием для проведения исследований по изучению влияния ЭМИ на частоте молекулярного спектра поглощения и излучения (МСПИ) оксида азота (150 ГГц) на супероксиддисмутазную активность бактерий.

Исследования по влиянию электромагнитного излучения на МСПИ оксида азота на активность супероксиддисмутазы бактерий ранее не проводились.

Материалы и методы. В работе использовали генератор NO разработанный в ОАО ЦНИИИА и панорамно-спектрометрический измерительный комплекс, в котором возбуждались электромагнитные КВЧ колебания, имитирующие структуру молекулярного спектра поглощения и излучения оксид азота (МСПИ) [6].

Точное значение заданной частоты определяли в соответствии с международной базой данных молекулярных спектров высокого разрешения HITRAN (созданной с участием космического агентства и с учетом поправок на атмосферное давление и температуру окружающей среды [3].

Объектом исследования были эталонные штаммы *Escherichia coli* ATCC 25922 (K -12), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 и по 5 клинических штаммов каждого вида.

Суточные культуры исследуемых микроорганизмов, выращенные на мясо-пептонном агаре, смывали 0,14M NaCl. Концентрацию клеток по оптическому стандарту мутности доводили до 10⁹ микробных тел в 1 мл. По 1,5 мл этой взвеси вносили в пробирки типа «Эппендорф» и подвергали воздействию ЭМИ на частоте МСПИ оксида азота (150 ГГц) в течение 10, 30, 45 и 60 минут. Контролем служили необлученные культуры.

Активность СОД определяли по методике, описанной С. Чевари [11].

Принцип метода основан на способности конкурировать с нитросиним тетразолием (НСТ) за супероксидные анионы, образующиеся в результате взаимодействия восстановленной формы никотинамидадениндинуклеотида (НАД*Н) с феназинметасульфата (ФМС). В результате этой реакции НСТ восстанавливается с образованием гидразинтетразолия. В присутствии СОД процент восстановления НСТ уменьшается.

Количественные параметры протекающей реакции определяют на спектрофотометре СФ-46 путем измерения оптической плотности реакционной смеси при длине волны 540 нм.

После перемешивания компонентов пробы в кювете устанавливают начальную экстинкцию. Через 10 минут измеряли нарастание оптической плотности раствора.

Расчет вели по формуле

$$\frac{E_0 - E_{np}}{E_0} \times 100\% = \% \text{блокирования,}$$

где E₀ — экстинкция реакционной смеси в отсутствие СОД (нулевая проба),

E_{np} — экстинкция исследуемой пробы (опытная проба).

За единицу активности принимали количество фермента, необходимое для снижения оптической плотности в процессе восстановления НСТ в опытной пробе на 50%. Активность СОД выражали в усл. ед. на 1 мл взвеси.

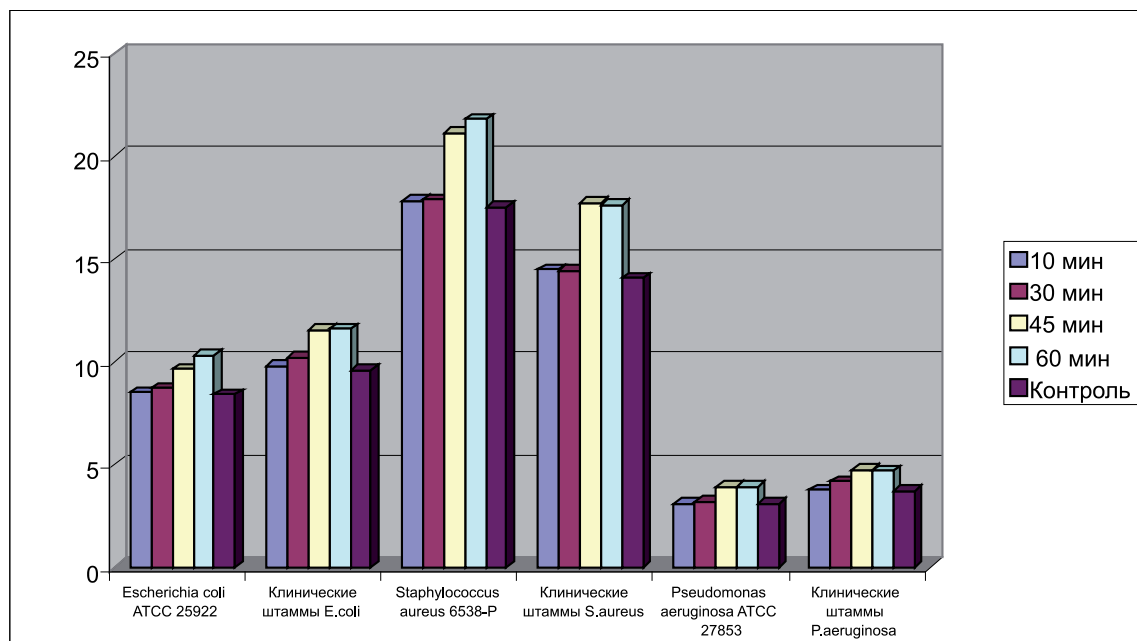
Статистическую обработку результатов проводили с применением стандартных методов вариационной статистики.

Результаты. При разном времени (10, 30, 45, 60 мин.) экспозиции отмечалось возрастание активности изученного фермента у бактерий разных видов и разного происхождения. Эти изменения были различны.

При облучении в течение 10 минут и 30 минут уровень активности СОД практически не отличался от контрольных значений. Достоверное увеличение данного фермента было только у клинических штаммов *P. aeruginosa*.

При изучении динамики изменения активности СОД (см. рисунок) установлено, что уровень активности данного фермента после облучения ЭМИ в течение 45 минут у эталонного штамма *S. aureus* возрастал на 20% и на 26 % у клинических штаммов этого вида; на 15 % у эталонного штамма *E. coli* и на 21% у клинических штаммов; на 25 % у эталонного и на 28 % у клинических штаммов *P. aeruginosa*.

Далее при облучении в течение 60 минут уровень активности СОД, как и в течение 45 минут экспози-



Динамика изменения активности супероксиддисмутазы при разном времени воздействия ЭМИ МСПИ оксид азота на различные виды бактерий

ции, возрастал на 24% у эталонного штамма *S. aureus* и на 25% у клинических штаммов этого вида; на 22% у эталонного штамма *E. coli* и на 21% у клинических штаммов; на 25% у эталонного и на 27% у клинических штаммов *P. aeruginosa*.

Выводы:

Облучение бактериальных взвесей стафилококка, кишечной и синегнойной палочек ЭМИ МСПИ оксида азота приводит к повышению супероксиддисмутазной активности. Данный процесс достигает максимума к 45 и 60 минутам.

Менее короткая экспозиция не влияет на активность супероксиддисмутазы — одного из основных ферментов антиоксидантной защиты бактерий.

Библиографический список

1. Башаринов, А.Е. Измерение радиотепловых и плазменных излучений в СВЧ-диапазоне / А.Е. Башаринов, Л.Г. Тучков, В.М. Поляков. — М.: Советское радио, 1968.
2. Бецкий, О.В. Миллиметровые волны низкой интенсивности в медицине и биологии / О.В. Бецкий, Н.Д. Девятков, В.В. Кислов // Биомедицинская радиоэлектроника. — 1998. — № 4. — С. 13–29.
3. Бецкий, О.В. Молекулярные NITRAN-спектры газов-метаболитов в терагерцевом и ИК-диапазонах частот и их применение в биомедицинских технологиях / О.В. Бецкий, А.П. Креницкий, А.В. Майбородин // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. — 2007. — № 8–9. — С. 27–43.
4. Брюхова, А.К. Некоторые особенности действия электромагнитных излучений миллиметрового диапазона на микроорганизмы / А.К. Брюхова // Медико-биологические аспекты миллиметрового излучения. — М.: ИРЭ АН СССР, 1987. — С. 98–103.
5. Девятков, Н.Д. Миллиметровые волны и их роль в процессах жизнедеятельности / Н.Д. Девятков, М.Б. Голант, О.В. Бецкий. — М.: Радио и связь, 1991.
6. Креницкий, А.П. Квазиоптический КВЧ генераторный комплекс моделирования детерминированных шумов для биофизических исследований / А.П. Креницкий, А.В. Майбородин, О.В. Бецкий // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. — 2003. — № 2. — С. 5–11.
7. Майбородин, А.В. Панорамно-спектрометрический комплекс для исследования тонких структур молекулярных спектров физических и биологических сред / А.В. Майбородин, А.П. Креницкий, В.Д. Тупикин // Биомедицинская радиоэлектроника. — 2001. — № 8. — С. 35–47.
8. Марков, Х.М. Оксид азота и оксид углерода — новый класс сигнальных молекул / Х.М. Марков // Успехи физиологических наук. — 1996. — № 4. — С. 30–43.
9. Снайдер, С.Х. Биологическая роль оксида азота / С.Х. Снайдер, Д.С. Бредт // В мире науки. — 1992. — № 7. — С. 16–26.
10. Тамбиев, А.Х. Миллиметровые волны и фотосинтезирующие организмы / А.Х. Тамбиева, Ю.В. Гуляева. — М.: Радиотехника, 2003.
11. Чевари, С. Спектрофотометрический метод определения супероксиддисмутазы / С. Чевари, И. Чаба, И. Секей // Лабораторное дело. — 1981. — № 11. — С. 678–680.
12. Grundler, W. Mechanisms of electromagnetic interaction with cellular systems / W. Grundler, F. Kaiser, F. Keilmann // Naturwissenschaften. — 1992. — V. 79. — P. 551–559.
13. Webb, S.J. Inhibition of bacterial cell growth by 136 gc microwaves / S.J. Webb, D.D. Dodds // Nature. — 1968. — V. 218. — P. 374–375.