

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

Е.А. Пронина — ГОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Росздрава, доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, кандидат медицинских наук; **Г.М. Шуб** — ГОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Росздрава, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии, профессор, доктор медицинских наук; **И.Г. Швиденко** — ГОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Росздрава, профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, доктор медицинских наук.

ELECTROMAGNETIC RADIATION INFLUENCE AT FREQUENCY OF MOLECULAR SPECTRUM ABSORPTION AND NITRIC OXIDE RADIATION INFLUENCE ON BACTERIA CATALASE 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.

Дата поступления — 31.03.09 г.

Дата принятия в печать — 26.06.09 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 каталазы бактерий. Саратовский научно-медицинский журнал, 2009, том 5, № 3, с. 321–323.

Описана динамика изменения уровня активности каталазы 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, на частоте молекулярного спектра поглощения и излучения оксида азота. Активность каталазы определяли колориметрическим методом. Выявлено повышение активности одного из антиоксидантных ферментов — каталазы изучаемых штаммов бактерий, наиболее выраженное при 60-минутной экспозиции.

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

E.A. Pronina, G.M. Shub, I.G. Shvidenko. Changing of Bacteria Catalase Activity Under the Influence of Electro-Magnetic Radiation on a Frequency of Nitric Oxide Absorption and Radiation Molecular Spectrum. *Saratov Journal of Medical Scientific Research*, 2009, vol. 5, № 3, p. 321–323.

The dynamics of catalase activity degree changing in *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* is described under the influence of electro-magnetic radiation on a frequency of nitric oxide absorption and radiation molecular spectrum.

The panoramic spectrometric measuring complex, developed in Central Scientific Research Institute of measuring equipment Public corporation, Saratov, was used while carrying out the research. Electromagnetic vibrations of extremely high frequencies were stimulated in this complex imitating the structure of nitric oxide absorption and radiation molecular spectrum. The growth of activity of the mentioned enzyme of the strains under research was detected. The most significant changes were observed under 60-minutes exposure.

Key-words: catalase, electro-magnetic radiation, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Введение. 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, которые реализуются включением продуктов аэробного метаболизма — супероксид O_2^- и H_2O_2 , как предшественников ряда свободных радикалов. Установлено, что и молекула оксид азота (NO) также генерируется биологическими системами и является сигнальной молекулой со множеством важнейших функций [1,2].

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

Как в клинической практике, так и в биологических исследованиях электромагнитные излучения крайне высоких частот получили широкое применение.

В КВЧ — диапазоне находятся частоты молекулярных спектров излучения и поглощения (МСИП) различных клеточных метаболитов (NO, CO, активные формы кислорода и др.) [6]. Особый интерес вызывает электромагнитное излучение на частотах МСИП оксида азота, который является универсальным регулятором физиологических и метаболических

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

процессов в отдельной клетке и в организме в целом, функционируя как сигнальная молекула практически во всех органах и тканях человека и животных [1, 2].

Создание генераторов работающих на частоте спектров поглощения и излучения биологически активных молекул NO, CO, O₂, CO₂ открывает новые возможности в практическом использовании электромагнитных волн [8].

В связи с тем 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 [3].

При облучении энергия КВЧ — излучения (крайне высокой частоты) расходуется на переходы молекул из одного энергетического состояния в другое. При используемых в медико-биологической 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 [7].

Каталаза — 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 каталазную активность грамположительных и грамотрицательных бактерий. Исследования по влиянию электромагнитного излучения на МСПИ оксида азота на активность каталазы бактерий ранее не проводились.

Материалы и методы. Для решения поставленной задачи использовали генератор NO и панорамно-спектрометрический измерительный комплекс, в котором возбуждались электромагнитные КВЧ колебания, на частоте молекулярного спектра поглощения и излучения оксид азота (МСПИ), разработанный в ОАО ЦНИИИА [7].

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 [8].

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.

Суточные культуры испытуемых 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 O₂ (129 ГГц) в течение 10, 30, 45 и 60 минут. Контролем служили необлученные культуры.

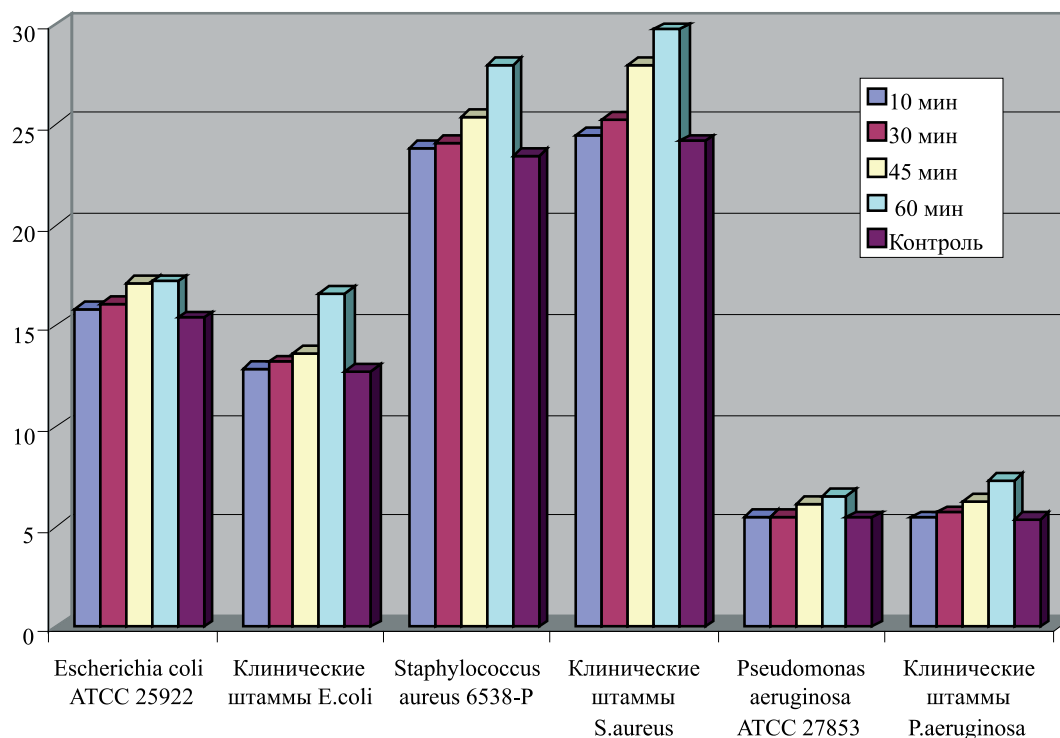


Рис. 1. Динамика изменения активности каталазы (мкат/мл) при разном времени воздействия ЭМИ МСПИ оксида азота на различные виды бактерий ($M \pm m$)

Активность каталазы определяли колориметрическим методом [9]. Принцип метода основан на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс. В опыте использовались холостая, контрольная и опытная пробы. В каждую пробу вносили 1 мл 0,05М трис-НСI буфера рН7,8, в холостую и опытную — по 2 мл перекиси водорода, а в контрольную — 2 мл дистиллированной воды; затем в контрольную и опытные пробы прибавляли по 0,1 мл бактериальной взвеси. Реакцию останавливали через 10 мин, добавлением 1 мл 4%-ного раствора молибдата аммония во все пробирки, после этого в холостую пробу приливали 0,1 мл микробной взвеси бактерий. Интенсивность окраски в каждой пробе измеряли на спектрофотометр СФ-46 (ЛОМО, Россия) при длине волны 410 нм против контрольной пробы.

Активность каталазы рассчитывали по формуле:

$$E = (A_{хол} - A_{оп}) V t K,$$

где E — активность каталазы (мкат/мл); $A_{хол}$ и $A_{оп}$ — экстинкция холостой и опытной проб; V — (0,1 мл) объем вносимой пробы; t — время инкубации (600 сек); K — коэффициент миллимолярной экстинкции H_2O_2 ($22,2 \cdot 10^3 \text{ мМ}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$).

За единицу активности каталазы принимали то количество фермента, которое участвует в превращении 1 мкат перекиси водорода за 1 секунду при заданных условиях.

Статистическую обработку результатов проводили с применением стандартных методов вариационной статистики [10].

Результаты. Из представленных данных (см. рисунок) видно, что при облучении ЭМИ на частоте излучения и поглощения оксида азота в течение 10 и 30 мин изменения активности каталазы были незначительными и статистически недостоверны.

Уровень активности каталазы у культур, подвергнутых воздействию облучения в течение 45 мин, возрос на 8% у эталонного штамма *Staphylococcus aureus* и на 16% — у клинических штаммов этого вида; на 11% у эталонного штамма *Escherichia coli* и на 8% — у клинических штаммов; на 13% — у эталонного штамма *Pseudomonas aeruginosa* и на 17% — у клинических штаммов.

Особенно четкие изменения отмечались при 60 мин экспозиции. Так, уровень активности каталазы увеличивался по сравнению с контролем и достигал максимального значения у всех штаммов, и возрос на 19% у эталонного штамма *S.aureus* и на 23% — у клинических штаммов; на 12% — у эталонного штамма *E. coli* и на 31% — у клинических штаммов; на 20% — у эталонного штамма *P.aeruginosa*, и на 37% — у клинических штаммов. Полученные данные статистически достоверны.

Обсуждение. Облучение бактериальных взвесей стафилококка, кишечной и синегнойной палочек ЭМИ МСПИ оксид азота приводит к повышению одного из ферментов антиоксидантной защиты бактерий: каталазы. Данный процесс, при различном времени экспозиции от 10 до 60 мин, развивается постепенно и достигает максимума к 60 мин.

Полученная динамика характерна для всех 3-х изученных видов бактерий, хотя они и различаются между собой по уровню исходной активности каталазы (наибольшая отмечается у стафилококка, наименьшая у — псевдомонад).

Повышение активности фермента антиоксидантной защиты бактерий под воздействием электромагнитного излучения на частотах МСПИ NO можно объяснить генерацией новых молекул оксида азота в системе или активацией реакционной способности определенных молекул, что повлекло запуск определенных механизмов биохимических реакций под действием волн резонансных частот. Увеличение ферментативной активности свидетельствует об интенсификации процессов биологического окисления.

Выводы:

1. Облучение на частотах МСПИ NO вызывает повышение уровня активности каталазы золотистых стафилококков, кишечной и синегнойной палочек.
2. Эти изменения зависят от длительности облучения.
3. Изменения уровня активности каталазы не имеют видовой специфичности.

Библиографический список

1. Марков, Х.М. Оксид азота и оксид углерода — новый класс сигнальных молекул / Х.М. Марков // Успехи физиологических наук. — 1996. — № 4. — С. 30-43.
2. Снайдер, С.Х. Биологическая роль оксида азота / С.Х. Снайдер, Д.С. Бредт // В мире науки. — 1992. — № 7. — С. 16-26.
3. 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.
4. Лебедева, А.Ю. Итоги и перспективные применения миллиметровых волн в кардиологии / А.Ю. Лебедева // Миллиметровые волны в биологии и медицине. — 2002. — № 1 — С. 21-24.
5. Тамбиев, А.Х. Миллиметровые волны и фотосинтезирующие организмы / А.Х. Тамбиев, Ю.В. Гуляева. — М.: Радиотехника, 2003.
6. Башаринов, А.Е. Измерение радиотепловых и плазменных излучений в СВЧ-диапазоне / А.Е. Башаринов, Л.Г. Тучков, В.М. Поляков. — М.: Советское радио, 1968.
7. Креницкий, А.П. Квазиоптический КВЧ генераторный комплекс моделирования детерминированных шумов для биофизических исследований / А.П. Креницкий, А.В. Майборodin, О.В. Бецкий // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. — 2003. — № 2. — С. 5-11.
8. Бецкий, О.В. Молекулярные НИТРАН-спектры газов-метаболитов в терагерцевом и ИК-диапазонах частот и их применение в биомедицинских технологиях / О.В. Бецкий, А.П. Креницкий, А.В. Майборodin // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. — 2007. — № 8-9. — С. 27-43.
9. Метод определения активности каталазы / М.А. Королук, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова // Лабораторное дело. — 1988. — № 1. — С. 16-19.
10. Лакин, Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. — М.: Высшая школа, 1990.
11. Майборodin, А.В. Панорамно-спектрометрический комплекс для исследования тонких структур молекулярных спектров физических и биологических сред / А.В. Майборodin, А.П. Креницкий, В.Д. Тупикин // Биомедицинская радиоэлектроника. — 2001. — № 8. — С. 35-47.