

УДК 57.022:57.033:57.036

ВПЛИВ НИЗЬКОІНТЕНСИВНОГО ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ МІЛІМЕТРОВОГО ДІАПАЗОНУ НА ПРОЦЕСИ ЖИТТЄДІЯЛЬНОСТІ ДРІЖДЖІВ *Saccharomyces cerevisiae* В АГРЕСИВНОМУ СЕРЕДОВИЩІ

О.М. Гаркуша*, Г.М. Багацька, С.М. Махно, П.П. Горбик

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

*Представлено експериментальні результати впливу опромінення низькоінтенсивним електромагнітним випромінюванням міліметрового діапазону на процеси життєдіяльності дріжджових клітин *Saccharomyces cerevisiae* у воді та водному розчині ацетону в умовах екзогенного та ендогенного метаболізму, одержані за допомогою методів диференціальної мікрокалориметрії (при ендогенній ферментації) та визначення швидкості газовиділення (при екзогенній ферментації). Встановлено наявність адитивного впливу випромінювання різної частоти та модельної агресивної домішки (ацетону) на життєдіяльність клітин дріжджів. В широкому частотному діапазоні спостерігається інгібування метаболічного процесу дріжджів та пригнічення захисних функцій мікроорганізму внаслідок токсичної дії ацетону. Виявлена активізація метаболізму клітин на частотах 40 і 47,5 ГГц, яка здатна компенсувати негативний вплив ацетону (при концентраціях до 3 мас. %).*

ВСТУП

Електромагнітне випромінювання (ЕМВ) присутнє скрізь, оскільки будь-який електричний пристрій випромінює частину споживаної енергії у вигляді електромагнітних полів різних частотних діапазонів в широкому інтервалі інтенсивностей. Людство змушене жити в умовах постійно зростаючого "електромагнітного смогу", рівень якого за останні 10 років збільшився в 1000 разів і на сьогоднішній день перевищує природний фон Землі в 200 тис. разів [1]. Зовнішні електромагнітні поля можуть взаємодіяти з електромагнітним полем людини, частково пригнічують його, що призводить до різноманітних порушень в організмі та спричиняє виникнення багатьох захворювань [2–3]. Особливої уваги заслуговує ЕМВ міліметрового діапазону нетеплових інтенсивностей (з рівнем густини потоку потужності до 10^{-2} Вт/см²), оскільки встановлена здатність організмів до його накопичення [4].

На основі експериментальних та теоретичних досліджень висунуто багато гіпотез [5–12] та побудована значна кількість моделей відносно первинних механізмів впливу низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання (НІЕМВ) міліметрового діапазону на процеси життєдіяльності біологічних об'єктів.

Автори робіт [5–9] стверджують, що ЕМВ впливає на клітини тваринного та рослинного походження опосередковано, за участю води, що знаходиться всередині та зовні клітини. Деякі з них [7, 8] підтримують гіпотезу перетворення електромагнітної енергії у теплову переважно у поверхневому відносно клітин шарі води, що є причиною збільшення активності клітин за рахунок локального підвищення температури. Інші [6] вважають, що дія ЕМВ на біологічні об'єкти відбувається безпосередньо, але лише на певних частотах, які не є характерними для даного виду клітин, а спільні для всіх організмів, оскільки відповідають частотам радіопрозорості води.

Домінуючою є гіпотеза [10–12], згідно якої зміни в біологічному об'єкті виникають за умови резонансної дії НІЕМВ. В незбуреному рівноважному стані клітина певної форми та, відповідно, симетрії випромінює ЕМВ на певних частотах. При порушенні гомеостазу клітини відбувається зміна її симетрії, що спонукає до виникнення інших мембранних резонансних коливань. Ці коливання синхронізують коливання як мембранних білків так і білків цитоплазми (їхні резонансні частоти близькі до частот синхронізуючих коливань), що нав'язуються сусіднім клітинам. Вказані коливання підтримуються за рахунок процесів метаболізму, і в навколишнє середовище

* контактний автор oksana.garkusha@gmail.com

випромінюється електромагнітна енергія відповідних частот. За умови зовнішнього опромінення клітини резонансним НІЕМВ відбувається синхронізація коливань мембрани і білків на цій частоті у випадку, що спричиняє утворення необхідних структур, які можуть спрямувати енергію процесів метаболізму на відновлення нормальної життєздатності клітини. Тому, резонансний біологічний відгук системи на вплив НІЕМВ в першу чергу спостерігається при певних порушеннях життєдіяльності в біологічних системах та за об'язкового збігу (в певних межах) зовнішньої частоти НІЕМВ та частоти коливань мембрани. Така гіпотеза поширена, але потребує ґрунтовного підтвердження. Тому експериментальні, як біофізичні, біохімічні, так і суто фізичні дослідження, в цьому напрямі залишаються актуальними.

Теоретичні та експериментальні дослідження на різних біологічних об'єктах показали, що вплив НІЕМВ проявляється, насамперед, на клітинному рівні [13]. Клітина є організмом, що автономно функціонує, активність якого може бути підсилена мобілізацією резервних можливостей під впливом зовнішніх факторів. Вивчення первинних реакцій живих організмів на НІЕМВ доцільно проводити на одноклітинних організмах, оскільки реакція на зовнішній вплив не опосередкована нервовою системою. Біологічним об'єктом дослідження зручно обрати клітини дріжджів, як найбільш вивчені з точки зору будови, хімічної організації обміну речовин і перетворення енергії, розмноження та розвитку організму.

У процесі метаболізму організми та клітинні системи виробляють речовини, що пригнічують активність життєдіяльності. Зокрема накопичення у дріжджовому субстраті вуглекислоти, етилового спирту, кетонів інгібує активність клітин і створює стресові умови. В умовах стресу у клітині підсилюються процеси перекисного окиснення ліпідів мембран, що спричиняється активацією ліполітичних ферментів [14].

Чисельність шкідливих впливів різної природи створює загрозу пошкодження клітин при одночасній дії на організм декількох факторів, оскільки взаємний вплив двох чи більше агентів може в значній мірі підсилювати очікувані наслідки у порівнянні з дією кожного фактора окремо. У зв'язку з цим виникає необхідність всебічного аналізу реакцій живого організму на сумарний вплив шкідливих реагентів різної природи [15].

Метою роботи є встановлення закономірностей впливу НІЕМВ на фізіологічний стан

клітин дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* у присутності ацетону.

МЕТОДИ ТА ОБ'ЄКТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Інтенсивність процесів життєдіяльності клітин дріжджів визначали в умовах екзогенного та ендогенного метаболізму. В умовах екзогенного метаболізму його інтенсивність контролювали за швидкістю газовиділення [16], оскільки цей показник дає можливість чисельно виразити активність клітин безпосередньо у процесі бродиння. Дослідження швидкості газовиділення дріжджових суспензій проводили в розчині ацетону в діапазоні концентрацій 0–6 %, а також визначали відносну швидкість газовиділення дріжджів у розчині ацетону після тривалого (протягом 1 год) опромінення на певній частоті НІЕМВ у частотному діапазоні 39–49 ГГц за допомогою генератора Г4-141.

Для вивчення залежності активності клітин від концентрації ацетону та частоти НІЕМВ використовували сухі дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* промислового штаму. Суспензії для досліджень одержували шляхом додавання 0,2 г сухих дріжджів до 10 мл 10 % розчину сахарози, і механічного перемішування в скляних пробірках до отримання однорідної консистенції.

Дослідження ендогенного метаболізму у водогінній воді та в розчині ацетону проводили з використанням диференціального мікрокалориметра в ізотермічному режимі при змочуванні клітин сухих дріжджів, неопромінених та опромінених НІЕМВ на певній частоті. Вимірювання проводили за кімнатної температури $22 \pm 0,5$ °C з використанням адсорбенту ~50 мг, що переносився з ексикатора в тонкостінну еластичну піпетку з каучуку (адсорбент заповнював приблизно половину її ємності); за допомогою спеціального затискувача матеріал герметично ізолювали від навколишнього середовища. Вільний кінець піпетки герметично закріплювали на металевому стаканчику, що містив адсорбат (близько 0,8 мл) і розміщували безпосередньо у калориметричній комірці. Досягнення теплової рівноваги в калориметричному блоці контролювали візуально на моніторі комп'ютера, після чого знімали затиск піпетки і вміст її випадав у стаканчик з адсорбтивом, утворюючи суспензію з концентрацією близько 6 мас. % [17].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

В [18] з усіх біологічних дій ацетону відзначається його токсичність, а також здатність роз-

чиняти ліпідні структури клітин. Вплив ацетону у вказаному діапазоні концентрацій на швидкість газовиділення в суспензіях дріжджів проявляється у тому, що при підвищенні концентрації ацетону відносна швидкість газовиділення нелінійно зменшується і досягає рівня 0,4 (по відношенню до значень, отриманих для суспензії у відсутності ацетону) при вмісті ацетону 6 % (рис. 1).

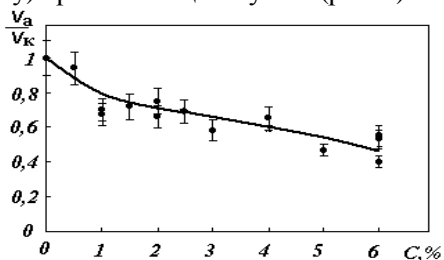


Рис. 1. Залежність відносної швидкості газовиділення дріжджовими суспензіями від вмісту ацетону у воді

Залежність відносної швидкості газовиділення від частоти НІЕМВ попередньо опромінених дріжджів у присутності ацетону представлена на рис. 2. Крива 1, що відображає залежність відносної швидкості газовиділення від частоти НІЕМВ у поживному середовищі, має в наведеному частотному інтервалі два відносно вузьких максимуми в області частот 40 та 47,5 ГГц, розділених широким мінімумом, що характеризує пригнічення активності життєдіяльності клітин [16]. Крива 2, що відповідає залежності метаболічних процесів у присутності ацетону, має нижчі значення в усьому частотному діапазоні.

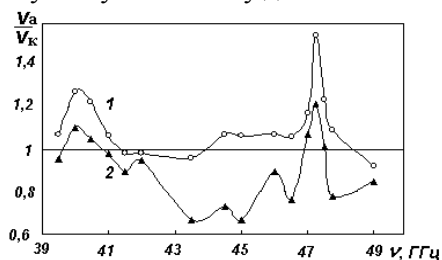


Рис. 2. Залежність відносної швидкості газовиділення дріжджовими суспензіями від частоти НІЕМВ: 1 – поживне середовище; 2 – поживне середовище з ацетоном (3 мас. %)

З рис. 2 видно, що вплив електромагнітного випромінювання проявляється на фоні дії ацетону, тобто максимуми активності ферментації, що виникли за рахунок стимуляційної дії електромагнітного випромінювання, залишаються на тих самих частотних діапазонах. При цьому спостерігається адитивність накладання двох ефектів. В частотній області, де проявляються

мінімуми активності клітин, відбувається підсилення негативної дії впливу як за рахунок дії НІЕМВ, так і за рахунок присутності ацетону в дріжджовій суспензії. Звідси можна зробити висновок, що зниження активності метаболічного процесу дріжджів відбувається не тільки під впливом НІЕМВ, але й внаслідок пригнічення захисних функцій організму, спричиненого токсичною дією ацетону. Експериментально встановлено, що активізація метаболізму на частотах 40 та 47,5 ГГц здатна компенсувати негативний вплив ацетону з концентрацією до 3 %.

Життєдіяльність одноклітинних організмів в складних середовищах при зміні зовнішніх умов методом мікрокалориметрії вивчалася раніше [19]. У випадку дослідження ендogenous метаболізму, з використанням калориметричних досліджень по визначенню теплоти змочування клітин дріжджів, нами [17] було встановлено наявність двох стадій, що проявляються на кінетичній кривій екзопроцесу при утворенні водної суспензії дріжджів. Тривалість першої стадії, що відповідає змочуванню та набуханню клітини, складає 20–25 хв. Друга стадія відповідає ферментації за рахунок резервних полісахаридів і може тривати більше 2,5 год. Як впливає з рис. 3, крива 1, тепловий ефект змочування дріжджових клітин протікає інтенсивніше, але більш короткочасно, тоді як процес ферментації триває суттєво довше і пов'язаний з життєдіяльністю дріжджових клітин за рахунок запасних вуглеводів глікогену та трегалози, характерних для даного виду.

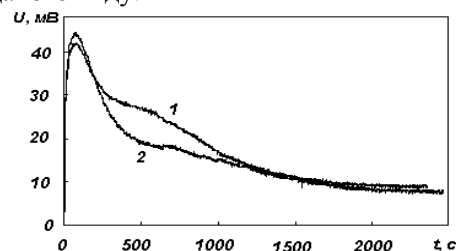


Рис. 3. Залежність теплового екзотермічного ефекту змочування регідратованих дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* від часу: 1 – у воді; 2 – у розчині ацетону концентрацією 3 %

У присутності ацетону (рис. 3, крива 2) зафіксовано незначне збільшення амплітуди теплоти змочування, а також запізнення початку процесу ферментації у порівнянні з клітинами дріжджів, що змочені у воді. Другий максимум, який ми пов'язуємо з процесами метаболізму клітин [16], не тільки реалізується із запізненням, але й на залежності теплового екзотермічного процесу від

часу є значно менш інтенсивним. Процес ферментації клітин дріжджів в умовах ендogenous метаболізму за рахунок резервних поживних речовин у клітині є чітко вираженим за відсутності ацетону (рис. 3, крива 1), а в суспензіях з ацетоном – більш розмитим. Кількісну оцінку впливу ацетону досить складно провести коректно, оскільки відокремлення енергетичних внесків двох процесів власне змочування та ферментації в суспензії, що містить ацетон, у загальному тепловиділенні потребує подальших методичних вдосконалень.

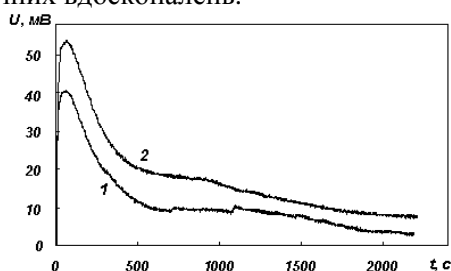


Рис. 4. Залежність теплового екзотермічного ефекту при змочуванні у воді з вмістом ацетону 3 % клітин дріжджів від часу: 1 – неопромінена; 2 – опромінена на частоті 47,5 ГГц

Як видно з рис. 4, опромінення сухих клітин дріжджів НІЕМВ частотою 47,5 ГГц призводить до збільшення екзотермічного ефекту змочування, у порівнянні з неопроміненими, в 1,7 раза [20]. Крива 2, що відображає залежність від часу теплового ефекту для опромінених клітин, пролягає вище кривої 1, зберігаючи при цьому, в певних межах, нахил усіх ділянок. Тобто, опромінення НІЕМВ на частоті стимулюючого впливу підвищує значення інтегральної теплоти змочування, але не впливає на зміщення ферментації, спричинене дією ацетону.

ВИСНОВКИ

Методами диференціальної мікрокалориметрії та визначення швидкості газовиділення досліджено інтенсивність екзогенного та ендogenous метаболізму клітин дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* після тривалого опромінення НІЕМВ у водогінній воді та в розчині ацетону (концентрацією до 6 мас. %). Встановлено, що активність процесів життєдіяльності клітин дріжджів у суспензіях при підвищенні концентрації ацетону суттєво пригнічена. Відносна швидкість газовиділення нелінійно зменшується у порівнянні зі значеннями, отриманими для суспензії без ацетону, і досягає рівня 0,4 при вмісті ацетону 6 %. Спостерігається адитивність накладання дії двох факторів різної природи на життєдіяльність клі-

тин дріжджів – НІЕМВ міліметрового діапазону та ацетону. В частотній області, де проявляються мінімуми активності клітин, відмічено підсилення негативної дії ацетону. Отже, відбувається не тільки інгібування метаболічного процесу дріжджів під впливом НІЕМВ, але й пригнічення захисних функцій організму по відношенню до токсичної дії ацетону. Показано, що активізація метаболічного процесу на частотах 40 та 47,5 ГГц здатна компенсувати негативний вплив ацетону з концентрацією до 3 % на процеси життєдіяльності клітин дріжджів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Grandolfo M. Worldwide standards on exposure to electromagnetic fields: an overview // *Environmentalist*. – 2009. – V. 29. – P. 100–117.
2. Лебедева Н.Л., Потулова Л.А. Динамика ритмической активности коры головного мозга человека при воздействии электромагнитного поля мобильного телефона // *Биомедицинская радиоэлектроника*. – 2010. – № 10. – С. 3–10.
3. Newhauser W.D., Duranteb M. Assessing the risk of second malignancies after modern radiotherapy // *Nat. Rev. Cancer*. – 2011. – N 5. – P. 1038–1041.
4. Roy C.R. Rapporteur Report: ICNIRP international workshop on EMF dosimetry and biophysical aspects relevant to setting exposure guidelines // *Health Phys.* – 2007. – V. 92, N 6. – P. 658–667.
5. Родунат И.В. Интерстициальная (внеклеточная) и внутриклеточная вода: некоторые регуляторные механизмы адаптации в контексте КВЧ-воздействия низкой интенсивности // *Биомедицинские технологии и радиоэлектроника*. – 2005. – № 6. – С. 28–32.
6. Петросян В.И., Майбородин А.В., Дубовицкий С.А. и др. Резонансные свойства и структура воды // *Миллиметровые волны в биологии и медицине*. – 2005. – № 1. – С. 18–31.
7. Хиженяк Е.Е., Хиженяк Е.П., Бецкий О.В. и др. Роль микроконвекции в тонких пограничных слоях жидких сред в механизмах биологических эффектов миллиметровых излучений нетепловых интенсивностей // *Биомедицинская радиоэлектроника*. – 2010. – № 5. – С. 34–38.
8. Емец Б.Г. Влияние низкоинтенсивного СВЧ-излучения на эффективную толщину неперемешиваемого слоя воды, примыкающего к мембране эритроцита // *Вісн. Харків. ун-тету. Біофізич. вісн.* – 1999. – Вип. 5(3). – С. 112–115.
9. Кожокару А.Ф., Кожокару Н.Л., Буровецкая Ж.И. Механизмы прямого и опосредованного действия через воду низкоинтенсивного радиочастотного ЭМИ на мембранные системы и биологические объекты // *Биомедицинские технологии и радиоэлектроника*. – 2006. – № 8. – С. 58–68.
10. Харланов А.В. Возможный механизм резонансного воздействия электромагнитных волн на биологические объекты // *Биомедицинские технологии и радиоэлектроника*. – 2007. – № 5. – С. 10–14.

11. Шейн А.Г., Харланов А.В. Дипольное представление мембраны // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. – 2007. – № 5. – С. 15–19.
12. Гапеев А.Б., Чемерис Н.К. Механизмы биологического действия электромагнитного излучения крайне высоких частот на клеточном уровне // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. – 2007. – № 2–4. – С. 44–61.
13. Голант М.Б., Брюхова А.К., Двадцатова Е.А. и др. Эффекты нетеплового воздействия миллиметрового излучения на биологические объекты / под ред. Н.Д. Девяткова. – Москва: ИРЭ АН СССР. – 1983. – С. 115–122.
14. Барабой В.А., Брехман И.И., Голотин В.Г., Кудряшов Ю.Б. Перекисное окисление и стресс. – Санкт-Петербург: Наука, 1992. – 148 с.
15. Thomas J.R., Burch L.S., Yeandle S.S. Microwave radiation and chlordiazeperoxide: synergistic effects on fixed-interval behavior // Science. – 1979. – V. 203, N 4387. – P. 1357–1358.
16. Гаркуша О.М., Махно С.Н., Мазуренко Р.В., Горбик П.П. Влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на жизнедеятельность клеток *Saccharomyces cerevisiae* // Биофизика. – 2008. – Т. 53, № 5. – С. 817–821.
17. Гаркуша О.М., Махно С.Н., Багацкая А.Н., Горбик П.П. Тепловые эффекты при иммерсионном смачивании силикагеля и дрожжевых клеток в процессе образования их водных суспензий // Коллоидн. журн. – 2010. – Т. 72, № 3. – С. 323–328.
18. Элленхорн М. Дж. Медицинская токсикология: диагностика и лечение отравлений у человека. – Москва: Медицина, 2003. – 2092 с.
19. Гунько В.М., Туранская С.П., Нечипор О.В. и др. Слабо ассоциированная вода в биологических объектах и на межфазной границе кремнезёмов // Химия, физика и технология поверхности. – 2006. – Вып. 11–12. – С. 397–430.
20. Гаркуша О.М., Махно С.М., Багацкая Г.М., Радченко О.С. Особливості впливу низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання міліметрового діапазону на дріжджові клітини // Вісн. Київськ. нац. ун-ту. Біологія. – 2008. – Вип. 52–53. – С. 104–106.

Надійшла 30.05.2011, прийнята 06.06.2011

Влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на процессы жизнедеятельности дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в агрессивной среде

О.М. Гаркуша, А.Н. Багацкая, С.Н. Махно, П.П. Горбик

Институт химии поверхности им. А.А. Чуйко Национальной академии наук Украины
ул. Генерала Наумова, 17, Киев, 03164, Украина, oksana.garkusha@gmail.com

Представлены экспериментальные результаты влияния облучения низкоинтенсивным электромагнитным излучением миллиметрового диапазона на процессы жизнедеятельности дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae* в воде и водном растворе ацетона в условиях экзогенного и эндогенного метаболизма, полученные с помощью методов дифференциальной микрокалориметрии (при эндогенной ферментации) и определения скорости газовой выделении (при экзогенной ферментации). Установлено наличие аддитивного влияния излучения разной частоты и модельной агрессивной среды (ацетона) на жизнедеятельность клеток дрожжей. В широком частотном диапазоне наблюдается ингибирование метаболического процесса дрожжей и угнетение защитных функций микроорганизм вследствие токсичного действия ацетона. Выявлена активизация метаболизма клеток на частотах 40 и 47,5 ГГц, которая способна компенсировать отрицательное влияние ацетона (при концентрациях до 3 мас. %).

Effect of low intensity millimetric range electromagnetic radiation on the vital activity processes of yeast *Saccharomyces cerevisiae* in aggressive medium

O.M. Garkusha, A.N. Bagatskaya, S.N. Makhno, P.P. Gorbik

Chuiko Institute of Surface Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine
17 General Naumov Str., Kyiv, 03164, Ukraine, oksana.garkusha@gmail.com

The experimental results on the influence of low intensity of milimetric range electromagnetic radiation on the vital activity processes of *Saccharomyces cerevisiae* cells are shown. The experiment has been carried out with water and a aqueous solution of acetone under both exogenic and endogenic metabolism conditions. The results have been obtained by the differential microcalorimetry (for endogenic fermentation) and determination of the rate of gas release methods (for exogenic one). The presence has been found of an additive influence of the intensity of electromagnetic radiation of different frequencies and model hostile medium (acetone) on the vital activity of yeast cells. The inhibition of yeast metabolic processes and oppression of microorganism protective functions owing to toxic action of acetone in a wide frequency range have been observed. Intensification has been revealed of cells metabolism for frequencies of 40 and 47.5 GHz capable to compensate the negative effect of acetone (3 % solution).