

Генетика

УДК 576.315.4.

## ВПЛИВ ЕЛІПТИЧНО ПОЛЯРИЗОВАНОГО МІКРОХВИЛЬОВОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НА СТАН ХРОМАТИНУ В ЯДРАХ КЛІТИН ЛЮДИНИ

В. Пасюга

*НДІ біології, Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна  
пл. Свободи, 4, Харків 61077, Україна  
e-mail: vpasiuga@gmail.com*

Вивчали вплив мікрохвильового випромінювання на стан хроматину в ядрах клітин букального епітелію людини. Умови експерименту: частота 36,64 ГГц, щільність потужності на рівні об'єкта 10 і 100 мкВт/см<sup>2</sup>, час опромінювання 10 с. Досліджували ефекти трьох варіантів поляризації мікрохвильового випромінювання: еліптична правостороння поляризація, еліптична лівостороння поляризація та лінійна поляризація. Використовували ізольовані клітини букального епітелію 7 донорів різного віку чоловічої статі. Клітини фарбували розчином ацеторсеїну. Оцінювали стан хроматину за допомогою показника вмісту гранул гетерохроматину (ВГГ). Правостороннє еліптично поляризоване мікрохвильове випромінювання демонструє більшу біологічну активність, ніж лівостороннє поляризоване випромінювання.

*Ключові слова:* мікрохвильове випромінювання, еліптична поляризація, букальний епітелій, вміст гранул гетерохроматину (ВГГ).

Штучне електромагнітне поле є важливим компонентом навколишнього середовища. Поряд із тим є свідчення негативного впливу низькоенергетичного мікрохвильового опромінювання на стан здоров'я людини [4, 5, 12]. Усе це зумовлює практичну важливість дослідження біологічних механізмів дії мікрохвильового опромінювання. З іншого боку, дослідження механізмів дії мікрохвильового опромінювання на клітину пов'язане з вирішенням ряду загальнобіологічних проблем регуляції функціонування клітини та дає змогу по-новому поглянути на проблеми регуляції генної активності, транспорту речовин через мембрани, регуляції активності ферментів і складних надмолекулярних систем.

Існує багато свідчень впливу мікрохвильового випромінювання на клітинному рівні. Опромінювання щурів електромагнітним випромінюванням частотою 915 МГц зі щільністю потужності 0,24, 2,4 та 24 мВт/см<sup>2</sup> викликає пошкодження нейронів: пошкоджені клітини фарбуються кризовим фіолетовим і втрачають внутрішню структуру [15]. Опромінювання культури клітин епітелію кристалика кролика мікрохвильовим випромінюванням з частотою 2,45 ГГц зі щільністю потужності від 0,5 до 2 мВт/см<sup>2</sup> викликає зниження життєздатності клітин, пригнічення синтезу ДНК та рівня проліферації клітин [23].

Значний практичний інтерес викликають дослідження можливої мутагенної дії електромагнітних полів низької інтенсивності радіочастотного діапазону. Деякі дослідження вказують на можливість мутагенної дії мікрохвильового випромінювання. На культурі клітин китайського хом'яка було виявлено зростання кількості хромосомних аберацій після опромінювання, причому кількість аберацій підвищувалася з експозицією (15, 30, 60 хв), а також спостерігалось зростання кількості мікроядер в опромінених

клітинах [9, 10]. У роботах [7, 8] було показано зростання кількості хромосомних аберацій під дією мікрохвильового випромінювання на лімфоцити людини. Інші автори також спостерігали підвищення кількості мікроядер у лімфоцитах [20]. У роботі [22] було показано підвищення відсотка клітин з мікроядрами, каріолізісом та клітин із двома ядрами у людей, що використовують мобільні телефони.

Проте деякі дослідники не спостерігали мутагенної дії мікрохвильового випромінювання. Опромінення мікрохвильовим випромінюванням з частотою 2,45 ГГц не призводило до утворення хромосомних аберацій у ядрах клітин миші [13]. Опромінення електромагнітним полем з частотою 847,74–813,56 МГц, що використовується у мобільних телефонах, не призводило до підвищення кількості розривів ДНК чи індукції апоптозу у лімфобластів [11] та не викликало підвищення частоти хромосомних аберацій і утворення мікроядер у лімфоцитах людини [21].

У наших попередніх дослідженнях ми показали, що поляризоване мікрохвильове випромінювання з частотою 35 ГГц та щільністю потужності 30 мкВт/см<sup>2</sup> викликає підвищення кількості гранул гетерохроматину в ядрах клітин людини залежно від поляризації [18]. У цій роботі ми досліджували вплив мікрохвильового випромінювання різної еліптичної поляризації та щільності потужності на стан хроматину в ядрах клітин людини.

Експерименти проводили на клітинах букального епітелію людини. Клітини букального епітелію одержували, зшкрябуючи їх за допомогою тупого шпателя з внутрішньої поверхні щоки. Потім поміщали ці клітини в буферний розчин такого складу: 3,03 мМ фосфатний буфер (рН=7,0) з додаванням 2,89 мМ хлориду кальцію. Донорами клітин були чоловіки різного віку. Донори: А – 18 років, В – 20 років, С – 20 років, D – 24 роки, Е – 37 років, F – 53 роки, G – 55 років. Усі донори були практично здоровими та такими, що не палять.

Для отримання електромагнітного поля застосовували установку, розроблену на кафедрі теоретичної радіофізики радіофізичного факультету Харківського національного університету ім. В.Н.Каразіна. Характеристики мікрохвильового випромінювання: частота 36,64±0,05 ГГц, щільність потужності на рівні об'єкта – 10 і 100 мкВт/см<sup>2</sup>. Еліптичну поляризацію отримували за допомогою гратчастого поляризатора. 25 мкл суспензії були розміщені на предметному склі та піддані мікрохвильовому опроміненню. Час мікрохвильового опромінення становив 10 с. Одразу після опромінення клітини фарбували 2% розчином орсеїну у 45% оцтовій кислоті. Дослід проводили при кімнатній температурі (25°C) у трьох незалежних повторностях. Контрольний варіант витримували у тих самих умовах без опромінення. У клітинах людини ми оцінювали кількість гранул гетерохроматину методом, описаним раніше [16]. Клітини досліджували при збільшенні  $\times 400$ . На рис. 1 представлена клітина букального епітелію, пофарбована осеїном. У кожному варіанті вміст гранул гетерохроматину (ВГГ) оцінювали в 30 ядрах і обчислювали середнє значення ВГГ і стандартну помилку цього показника.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою t-критерію Стьюдента і тесту дисперсійного аналізу (ANOVA test). У роботі прийнятий рівень достовірності  $P < 0,05$ .

У табл. 1 представлені результати впливу поляризованого мікрохвильового випромінювання зі щільністю потужності 10 та 100 мкВт/см<sup>2</sup> на стан хроматину у ядрах клітин людини. Мікрохвильове опромінення клітин людини викликає істотне збільшення параметра ВГГ. Це збільшення спостерігалось у клітинах всіх донорів, які були досліджені.

Біологічне значення процесу формування гетерохроматинових гранул, гетерохроматизації є зниження активності генів [14].

Для того щоб оцінити значення різних факторів (таких, як інтенсивність випромінювання, тип поляризації та вік донорів), на зміну показника ВГГ ми використовували тест дисперсійного аналізу (ANOVA test) (табл. 2). Як можна побачити, незалежні фактори А (щільність потужності випромінювання) та Р (поляризація випромінювання) викликають статистично значимі зміни показника ВГГ, тобто поляризація і потужність випромінювання відіграють значну роль у реакції клітин до мікрохвильового випромінювання. Вплив віку донора (фактор В) також є статистично достовірним, що збігається з попередніми нашими дослідженнями [17]. Взаємодія факторів В – А і В – Р не є статистично достовірною, тобто вік донора не впливає на реакцію клітини на мікрохвильове випромінювання.

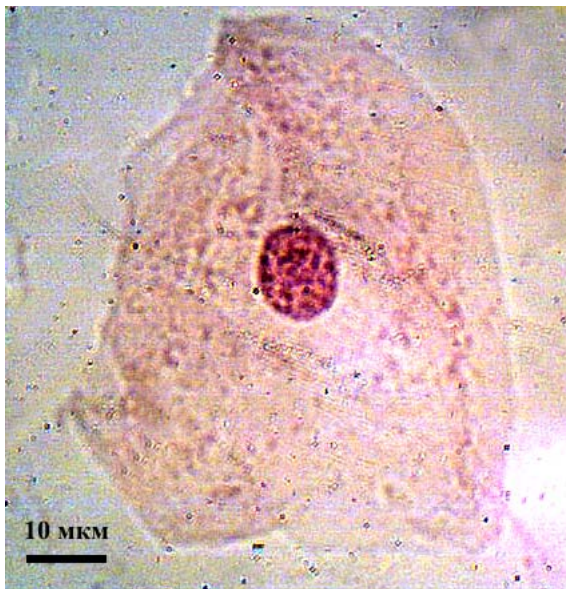


Рис. 1. Клітина букального епітелію, пофарбована осеїном (x400).

Механізми біологічної дії мікрохвильового випромінювання ще не досліджені досконало. У ряді експериментальних досліджень [6, 19] показана наявність специфічного поглинання електромагнітного випромінювання в препаратах ДНК і білка. Мікрохвильове випромінювання здатне викликати підвищення інтенсивності смуг інфрачервоного поглинання ДНК у препаратах у вигляді сухих і вологих плівок ДНК із різних джерел, а також мономерів амінокислот і нуклеотидів [1]. Встановлено також, що ДНК у розчині має кілька резонансних частот поглинання в мікрохвильовій області, причому спектр частот поглинання змінюється при переході від циклічної,

Таблиця 1

Вплив мікрохвильового випромінювання на стан хроматину у ядрах клітин людини

Варіант досліджу	Донор А	Донор В	Донор С	Донор D	Донор Е	Донор F	Донор G
10 мкВт/см <sup>2</sup>							
Контроль	16,8±0,2	17,6±0,3	15,6±0,2	16,1±0,2	17,8±0,2	17,6±0,2	18,7±0,4
Права	25,2±0,1*	24,1±0,1*	19,6±0,5*	20,9±0,2*	23,1±0,3*	22,9±0,2*	23,9±0,6*
Ліва	24,5±0,2*	23,6±0,4*	18,9±0,3*	20,6±0,3*	21,9±0,5*	22,1±0,1*	23,6±0,2*
Лінійна	25,3±0,2*	24,2±0,3*	20,6±0,3*	20,4±0,3*	23,5±0,1*	24,5±0,3*	24,6±0,2*
100 мкВт/см <sup>2</sup>							
Контроль	16,8±0,2	17,6±0,3	15,6±0,2	16,1±0,2	17,8±0,2	17,6±0,2	18,7±0,4
Права	29,1±0,5*	28,2±0,3*	26,1±0,3*	28,5±0,2*	28,5±0,3*	29,2±0,3*	28,6±0,2*
Ліва	28,4±0,1*	27,2±0,2*	25,6±0,1*	27,8±0,2*	27,6±0,2*	28,4±0,2*	28,1±0,4*
Лінійна	29,4±0,1*	29,1±0,4*	26,9±0,3*	29,1±0,3*	29,5±0,4*	29,3±0,4*	29,8±0,4*

Примітка. \* – статистично достовірна наявність ефекту.

Розрахунок впливу щільності потужності та частоти мікрохвильового випромінювання на стан хроматину в ядрах клітин людини за допомогою ANOVA test

Фактори	F	p
A	2798.13*	0.00
P	208.33*	0.00
A*P	11.25*	0.00
B	13.14*	0.00
B*A	1.35	0.39
B*P	0.82	0.76
B*A*P	0.31	0.96

**Примітка.** А – незалежний фактор потужності випромінювання: 1 – 10 мкВт/см<sup>2</sup>, 2 – 100 мкВт/см<sup>2</sup>; Р – незалежний фактор поляризації випромінювання: 1 – контроль, 2 – права, 3 – ліва, 4 – лінійна; В – залежний фактор віку донорів А-С. \* – статистично достовірною наявністю ефекту.

суперскрученої ДНК до лінійної форми молекули ДНК [6]. Спектр поглинання залежить також від довжини молекули ДНК [19].

Останнім часом було показано, що молекули ДНК відіграють значну роль у взаємодії мікрохвиль з біологічними об'єктами. Мікрохвилі можуть прискорювати реакцію перенесення електронів у молекулі ДНК, що призводить до ослаблення водневих зв'язків і розходження двох ланцюгів ДНК [2].

Різницю у реакції біологічних об'єктів на право- та лівополяризоване мікрохвильове випромінювання було показано раніше. У роботі [3] було показано, що правополяризоване мікрохвильове випромінювання частотою 51,76 ГГц знижує репарацію пошкоджень молекул ДНК після радіаційного пошкодження. Лівополяризоване випромінювання не впливає на процеси репарації.

Наші експериментальні дані щодо різної чутливості клітин до поляризованого мікрохвильового випромінювання, можливо, інтерпретуються у зв'язку з асиметрією біологічних молекул, у першу чергу ДНК. Відомо, що молекула ДНК – права спіраль, і тому її асиметрична взаємодія з циркулярно поляризованим випромінюванням, можливо, є результатом стереоасиметрії молекули ДНК.

Таким чином, дані, отримані в цій роботі, демонструють важливі біологічні ефекти монохроматичного мікрохвильового випромінювання з частотою 36,64 ГГц. Мікрохвильове випромінювання викликає конденсацію хроматину в клітинах людини. Лівополяризоване випромінювання викликає меншу конденсацію хроматину, ніж лінійно поляризоване.

1. Довбешко Г. И., Литвинов Г. С. Влияние миллиметрового излучения на спектральные характеристики полос инфракрасного поглощения свободной и внутриклеточной ДНК // Фундаментальные и прикладные аспекты применения миллиметрового электромагнитного излучения в медицине: Тез. докл. I Всесоюз. симп. с междунар. участием. К. 1989. Ч. 1. С. 31–33.
2. Blank M., Goodman R. Initial Interactions in Electromagnetic Field-Induced Biosynthesis // J. Cel. Phys. 2004. Vol. 199. P. 359–363.
3. Belyaev I. Non-thermal Biological Effects of Microwaves // Microwave Review. 2005 Vol. 11. P. 13–29.
4. Berg G., Spallek J., Schüz J. et al. Occupational Exposure to Radio Frequency Microwave Radiation and the Risk of Brain Tumors: Interphone Study Group, Germany // Am. J. Epidem. 2006. Vol. 164. P. 538–548.

5. *Bernhardt J. H.* Non-ionizing radiation safety: radiofrequency radiation, electric and magnetic fields // *Phys. Med. Biol.* 1992. Vol. 37. N 4. P. 807.
6. *Edwards G. S., Davis C. C., Saffer J. D., Swicord M. L.* Resonant microwave absorption of selected DNA molecules // *Phys. Rev. Letters.* 1983. Vol. 53. P. 1284–1288.
7. *Garaj-Vrhovac V.* Micronucleus assay and lymphocyte mitotic activity in risk assessment of occupational exposure to microwave radiation. // *Chemosphere.* 1999. Vol. 39. N 13. P. 2301–2312.
8. *Garaj-Vrhovac V., Fucic A., Horvat D.* The correlation between the frequency of micronuclei and specific chromosome aberrations in human lymphocytes exposed to microwaves // *Mutat. Res.* 1992. Vol. 281. P. 181–186.
9. *Garaj-Vrhovac V., Horvat D., Koren Z.* Effect of microwave radiation on the cell genome // *Mutat. Res., Mutat. Res. Lett.* 1990. Vol. 243. N 2. P. 87–93.
10. *Garaj-Vrhovac V., Horvat D., Koren Z.* The relationship between colony-forming ability, chromosome aberrations and incidence of micronuclei in V79 Chinese hamster cells exposed to microwave radiation // *Mutat. Res.* 1991. Vol. 263. N 3. P. 143–149.
11. *Hook G. J., Zhang P., Lagroye I.* Measurement of DNA damage and apoptosis in Molt-4 cells after in vitro exposure to radiofrequency radiation // *Rad. Res.* 2004. Vol. 161. P. 193–200.
12. *Kheifets L., Repacholi M., Saunders R.* The Sensitivity of Children to Electromagnetic fields // *Pediatrics.* 2005. Vol. 116. P. 303–313.
13. *Komatsubara Y., Hirose H., Sakurai T.* Effect of high-frequency electromagnetic fields with a wide range of SARs on chromosomal aberrations // *Mut. Res.* 2005. Vol. 587. P. 114–119.
14. *Lewin B.* Genes VIII. Pearson. Prentice Hall. 2004.
15. *Salford L. G., Brun A. E., Eberhardt J. L.* et al. Nerve cell damage in mammalian brain after exposure to microwaves from GSM mobile phones // *Environ. Health Perspect.* 2003. Vol. 111. P. 881–883.
16. *Shckorbatov Y. G.* He-Ne laser light induced changes in the state of chromatin in human cells // *Naturwissenschaften.* 1999. Vol. 86. N 9. P. 452–453.
17. *Shckorbatov Y.* Age-related changes in the state of chromatin in human buccal epithelium cells // *Gerontol.* 2001 Vol. 47. P. 224–225.
18. *Shckorbatov Y. G., Pasiuga V. N., Kolchigin N. N.* et al. The influence of differently polarized microwave radiation on chromatin in human cells // *Int. J. Rad. Biol.* 2009. Vol. 85. N 4. P. 322–329.
19. *Swicord M. L., Edwards G. S., Sagripanti J. L., Davis C. C.* Chain-length-dependent microwave absorption of DNA // *Biopolymers.* 1983. Vol. 22. P. 2515–2516.
20. *Tice R. R., Hook G. G., Donner M.* et al. Genotoxicity of radiofrequency signals. I. Investigation of DNA damage and micronuclei induction in cultured human blood cells // *Bioelectromagnetics.* 2002. Vol. 23. P. 113–126.
21. *Vijayalaxmi, Bisht K. S., Pickard W. F.* et al. Chromosome damage and micronucleus formation in human blood lymphocytes exposed in vitro to radiofrequency radiation at a cellular telephone frequency (847.74 MHz, CDMA) // *Rad. Res.* 2001. Vol. 156. P. 430–432.
22. *Yadav A. S., Sharma M. K.* Increased frequency of micronucleated exfoliated cells among humans exposed *in vivo* to mobile telephone radiations // *Mutat. Res.* 2008. Vol. 650. N 2. P. 175–180.
23. *Yao K., Wang K. J., Sun Z. H.* et al. Low power microwave radiation inhibits the proliferation of rabbit lens epithelial cells by upregulating P27Kip1 expression // *Mol. Vis.* 2004. Vol. 10. P. 138–143.

**EFFECTS OF ELLIPTICALLY POLARIZED MICROWAVE RADIATION  
ON CHROMATIN STATE IN HUMAN CELL NUCLEI****V. Pasiuga**

*Institute of Biology, Kharkiv National University  
4, Svoboda Ave., Kharkiv 61077, Ukraine  
e-mail: vpasiuga@gmail.com*

The influence of microwave electromagnetic irradiation on human buccal epithelium cell nucleus was studied. Experimental conditions: frequency  $f=36,65$  GHz, power density at the surface of exposed object  $P=10$  and  $100 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ , exposure time – 10 seconds. Effects of three variants of electromagnetic wave polarization – linear, elliptical left-sided and elliptical right-sided polarizations were studied. Isolated human buccal epithelium cells were used. Cells were stained immediately after irradiation by orcein. As a measure of chromatin condensation the heterochromatin granule quantity (HGQ) was estimated. The more intense irradiation produces more chromatin condensation. The right-sided elliptically polarized irradiation demonstrates more biological activity, than the left-sided polarized one.

*Key words:* microwave irradiation, elliptical polarization, buccal epithelium, heterochromatin granule quantity (HGQ).

**ВЛИЯНИЕ ЕЛЛИПТИЧЕСКИ ПОЛЯРИЗОВАННОГО МИКРОВОЛНОВОГО  
ИЗЛУЧЕНИЯ НА СОСТОЯНИЕ ХРОМАТИНА В ЯДРАХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА****В. Пасюга**

*НИИ биологии, Харьковский национальный университет  
имени В.Н.Каразина  
пл.Свободы, 4, Харьков 61077, Украина  
e-mail: vpasiuga@gmail.com*

Изучали влияние микроволнового излучения на состояние хроматина в ядрах клеток буккального эпителия человека. Условия эксперимента: частота 36,64 ГГц, плотность мощности на уровне объекта 10 и 100 мкВт/см<sup>2</sup>, время облучения 10 с. Исследовали эффекты трех вариантов поляризации микроволнового излучения: правосторонняя эллиптическая поляризация, левосторонняя эллиптическая поляризация и линейная поляризация. Использовали изолированные клетки буккального эпителия 7 доноров разного возраста мужского пола. Клетки красили раствором ацеторсеина. Оценивали состояние хроматина с помощью показателя содержания гранул гетерохроматина (СГГ). Правостороннее эллиптически поляризованное микроволновое излучение демонстрирует большую биологическую активность, чем левостороннее поляризованное излучение.

*Ключевые слова:* микроволновое излучение, эллиптическая поляризация, буккальный эпителий, содержание гранул гетерохроматина (СГГ).

Стаття надійшла до редколегії 09.02.10  
Надійшла після доопрацювання 16.04.10  
Прийнята до друку 30.04.10