

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ КИШЕЧНОЙ ПАЛОЧКИ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Е.А. Пронина

Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии
ГОУ ВПО Саратовский ГМУ Росздрава
Ул. Б. Казачья, 112, Саратов, Россия, 410012
8(905)3846710

Г.М. Шуб, И.Г. Швиденко

Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии
ГОУ ВПО Саратовский ГМУ Росздрава
Ул. Б. Казачья, 112, Саратов, Россия, 410012

В статье изложены результаты исследований о влиянии электромагнитного излучения (ЭМИ) на частоты молекулярного спектра поглощения и излучения (МСПИ) оксида азота (150 ГГц) и атмосферного кислорода (129 ГГц) на чувствительность кишечной палочки к ряду антибиотиков. Проведенные эксперименты свидетельствуют, что облучение на выбранных частотах влияет на экспрессию генов лекарственной устойчивости.

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

Интерес к воздействию электромагнитного излучения (ЭМИ) миллиметрового диапазона на биологические объекты привел к серии исследований во многих научных центрах мира [2; 10].

Экспериментальный материал свидетельствует о способности ЭМИ миллиметрового диапазона воздействовать на все известные типы клеток в модельных системах любого уровня организации биологического объекта [4].

Кислород и его так называемые «реактивные формы» (РФК) рассматриваются как одна их систем внутриклеточных и межклеточных мессенджеров.

Другой важнейшей биологически активной молекулой является оксид азота (NO), который наряду с РФК активирует клеточные функции и межклеточные взаимодействия.

Данные литературы указывают на то, что в зависимости от уровня концентрации в биообъектах оксида азота проявляется «двойственность» эффектов воздействия. С одной стороны, он играет роль одного из универсальных регуляторов метаболизма и стартовой молекулы, включающей различные биохимические реакции. С другой стороны, при более высоком уровне концентрации оксид азота проявляет цитотоксическое действие [5; 8; 9].

На молекулярном уровне, при электромагнитном воздействии КВЧ диапазона, в реакциях организма участвуют биохимические механизмы, за счет которых в клетках, подвергнутых облучению, происходит активация различных систем.

Известно, что вращательные молекулярные спектры резонансного поглощения и излучения молекул важнейших клеточных метаболитов (NO, CO, O₂, CO₂) находятся именно в КВЧ диапазоне [1].

Поскольку фундаментальной основой функционирования сложных биологических систем являются молекулы-метаболиты, постольку детерминированное управление их реакционной способности излучением, совпадающим со спектрами их излучения и поглощения, может направленно регулировать процесс метаболизма в биосреде.

Создание генераторов, работающих на частоте спектров поглощения и излучения биологически активных молекул NO, CO, O₂, CO₂, открывает новые направления в практическом использовании электромагнитных волн [6; 7].

Целью работы явилось экспериментальное изучение влияния ЭМИ на частотах молекулярного спектра поглощения и излучения биологически активных молекул — молекулярного кислорода (129 ГГц) и оксид азота (150 ГГц) на лекарственную устойчивость бактерий.

Исследования по влиянию электромагнитного излучения указанных выше частот на генетические структуры бактерий проводятся впервые.

Материал и методы исследования. В работе использовали панорамно-спектрометрический измерительный комплекс, в котором возбуждались электромагнитные КВЧ колебания, имитирующие структуру молекулярного спектра поглощения и излучения атмосферного кислорода и оксид азота, разработанный в ОАО ЦНИИИА г. Саратова [6; 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 [3].

Объектом исследования были эталонные штаммы:

1. *E. coli* j 53 (Rp-1) (Плазида Rp-1 несет гены устойчивости к канамицину (K) с молекулярной массой 40 Md МЗК канамицина 250 мкг/мл).
2. *E. coli* j 53 (R 100-1) (Плазида R 100-1 несет гены устойчивости к левомицитину и стрептомицину (Ch и St) с молекулярной массой 70 Md МЗК левомицитина 125 мкг/мл, стрептомицина 250 мкг/мл).

Была проведена серия исследований влияния ЭМИ МСПИ на частотах атмосферного кислорода и оксид азота на чувствительность кишечной палочки к ан-

тибиотикам: левомецетину, стрептомицину и канамицину. Последнюю оценивали по величине минимальной задерживающей концентрации (МЗК).

Минимальную задерживающую концентрацию антибиотиков (левомецетина, стрептомицина и канамицина) определяли в жидкой питательной среде Мюллера—Хинтона (БиоМерье, Франция), используя метод серийных разведений. Метод основан на последовательных двукратных разведениях антибиотика, от максимальной к минимальной концентрации. Последняя пробирка, в которой отмечалось отсутствие роста, давала величину МЗК антибиотика.

Антибиотикочувствительные мутанты выявляли методом реплик после воздействия на культуры кишечной палочки ЭМИ на частоте МСПИ атмосферного кислорода и оксида азота. Культуры в концентрации $2 \cdot 10^5$ микроб. кл/мл засеивали в пробирки с бульоном и подвергали облучению. Контролем служили необлученные культуры. Посевы инкубировали 24 часа при 37 °С. На следующие сутки из пробирок с заметным ростом делали высевы на плотную питательную среду, при этом исходные культуры разводили физиологическим раствором таким образом, чтобы при высеве 0,1 мл разведенной культуры на чашках выросло 100 изолированных колоний. Чашки с посевами инкубировали 18 часов при 37 °С, а затем переносили 100 колоний на агаровые пластины, содержащие антибиотики: канамицин, стрептомицин и левомецетин.

Частоту элиминации выражали разницей между числом колоний, растущих на простой питательной среде и на среде с антибиотиками, у культур, подвергнутых и неподвергнутых облучению ЭМИ. Процент элиминации высчитывали по формуле:

$$\left(\frac{a-b}{a} - \frac{a_1-b_1}{a_1} \right) \cdot 100,$$

где a — число облученных колоний, выросшее на среде без антибиотика; b — число облученной колоний той же культуры, выросшее на среде с антибиотиками; a_1 — число колоний той же культуры в контроле, выросшее на среде без антибиотика; b_1 — число колоний той же культуры в контроле, выросшее на средах с антибиотиками.

В экспериментах использовали антибактериальные препараты отечественного производства: стрептомицин, канамицин, левомецетин (хлорамфеникол) (Россия).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием стандартной программы обработки данных MS Excel.

Результаты исследования и их обсуждение. Проведенные исследования позволяют говорить о том, что детерминанты резистентности *E. coli* утрачивались в процессе культивирования. Так, например, спонтанное появление канамицинчувствительных вариантов наблюдалось у 9% клеток штамма *E. coli* j 53 (Rp-1), стрептомицинчувствительных вариантов 4%, и 7% левомецетинчувствительных вариантов у штамма *E. coli* j 53 (R 100-1).

После воздействия ЭМИ на указанных частотах интенсивность появления чувствительных мутантов значительно увеличилась.

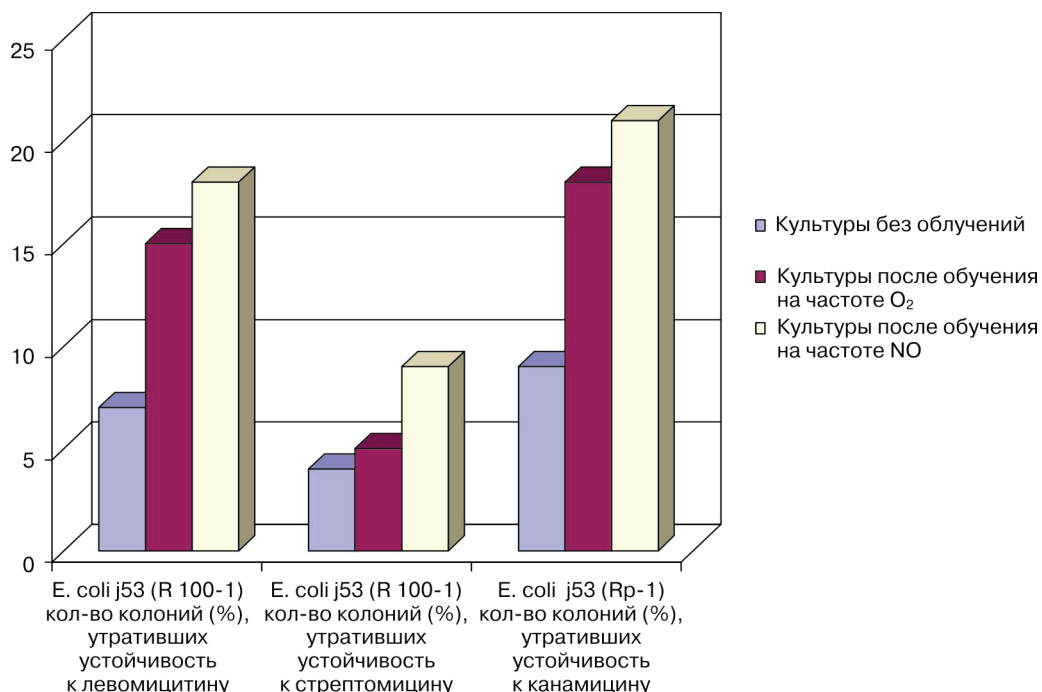


Рис. 1. Частота элиминации лекарственной устойчивости у кишечной палочки после воздействия ЭМИ на частоте МСПИ атмосферного кислорода и оксид азота

После воздействия электромагнитного излучения на частоте МСПИ атмосферного кислорода появление канамицинчувствительных вариантов наблюдалось у 18% клеток штамма *E. coli* j 53 (Rp-1), 5% — стрептомицинчувствительных вариантов и 15% — левомоцитинчувствительных вариантов у штамма *E. coli* j 53 (R 100-1).

Подобная тенденция наблюдалась и при воздействии ЭМИ на частоте МСПИ оксид азота: 21% — канамицинчувствительных вариантов, 9% — стрептомицинчувствительных и 18% — левомоцитинчувствительных мутантов.

Приведенные результаты свидетельствуют, что облучение на частотах МСПИ NO (150 ГГц) и атмосферного кислорода (129 ГГц) при плотности мощности не более 0,3 мВт/см² угнетало экспрессию генов лекарственной устойчивости плазмиды Rp-1 (устойчивость к канамицину) и плазмиды Rp-100-1 (устойчивость к левомоцитину и стрептомицину).

Таким образом, исследованные частотные диапазоны в режиме плотности мощности не более 0,3 мВт/см² при длительности воздействия 30 минут оказывают влияние на генетические структуры бактериальной клетки.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Башаринов А.Е., Тучков Л.Г., Поляков В.М. и др. Измерение радиотепловых и плазменных излучений в СВЧ-диапазоне. — М.: Советское радио, 1968.
- [2] Бецкий О.В., Девятков Н.Д., Лебедева Н.Н. Лечение электромагнитными полями. Часть 1, 2, 3 // Биомедицинская радиоэлектроника. — 2000. — № 7. — С. 3—9; № 10. — С. 8—21; № 12. — С. 11—30.

- [3] *Бецкий О.В., Креницкий А.П., Майборodin А.В. и др.* Молекулярные NITRAN-спектры газов-метаболитов в терагерцевом и ИК-диапазонах частот и их применение в биомедицинских технологиях // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. — 2007. — № 8—9. — С. 27—43.
- [4] *Девятков Н.Д., Голант М.Б., Бецкий О.В.* Миллиметровые волны и их роль в процессах жизнедеятельности. — М.: Радио и связь, 1991.
- [5] *Ванин А.Ф.* Оксид азота и его обнаружение в биосистемах методом электронного парамагнитного резонанса // Успехи физических наук. — 2000. — № 4. — С. 455—458.
- [6] *Креницкий А.П., Майборodin А.В., Бецкий О.В. и др.* Квазиоптический КВЧ генераторный комплекс моделирования детерминированных шумов для биофизических исследований // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. — 2003. — № 2. — С. 5—11.
- [7] *Майборodin А.В., Креницкий А.П., Тупикин В.Д. и др.* Панорамно-спектрометрический комплекс для исследования тонких структур молекулярных спектров физических и биологических сред // Биомедицинская радиоэлектроника. — 2001. — № 8. — С. 35—47.
- [8] *Марков Х.М.* Окись азота и окись углерода — новый класс сигнальных молекул // Успехи физиологических наук. — 1996. — № 4. — С. 30—44.
- [9] *Снайдер С.Х., Бредт Д.С.* Биологическая роль окиси азота // В мире науки. — 1992. — № 7. — С. 15—24.
- [10] *Тамбиев А.Х.* Миллиметровые волны и фотосинтезирующие организмы. — Радиотехника. — 2003.

PLASMID GENE EXPRESSION OF ESCHERICHIA COLI DRUG RESISTANCE UNDER THE INFLUENCE OF ELECTRO-MAGNETIC RADIATION

**E.A. Pronina, G.M. Shub,
I.G. Shvidenko**

Department of microbiology, virology and immunology
Saratov State Medical University
B. Kazachya str., 112, Saratov, Russia, 410012

This article gives the account of the research results of electro-magnetic influence on a frequency of nitric oxide absorption and radiation molecular spectrum (150 GHz) and atmospheric oxygen absorption and radiation molecular spectrum (129 GHz) on the sensitivity of *Escherichia coli* to several antibiotics. The panoramic spectrometric measuring complex, developed in Central Scientific Research Institute of measuring equipment Public corporation, Saratov, was used while carrying out the research. Electro-magnetic vibrations of extremely high frequencies were stimulated in this complex imitating the structure of atmospheric oxygen and nitric oxide absorption and radiation molecular spectrum.

The experiments that were carried out indicate the influence of radiation on chosen frequencies on the gene expression of drug resistance.

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