

## ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ КИШЕЧНОЙ ПАЛОЧКИ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

*Е. А. Пронина, Г. М. Шуб, И. Г. Швиденко*

*Саратовский государственный медицинский университет*

В статье изложены результаты исследований о влиянии электромагнитного излучения (ЭМИ) на частоте 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*.

## GENE EXPRESSION FOR DRUG RESISTANCE OF COLIBACILLUS UNDER THE IMPACT OF E-FIELD RADIATION

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

The paper presents results of studying the effect of e-field radiation at absorption and radiation molecular spectrum of nitrogen oxide (150 GHz) and atmospheric oxygen (129 GHz) on the sensitivity of colibacillus to a number a antibiotics. The experiments performed indicate that irradiation at the given frequencies affects the gene expression of drug resistance.

*Key words:* e-field radiation, gene expression, *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, 4, 12, 13].

Экспериментальный материал свидетельствует о способности ЭМИ мм-диапазона воздействовать на все известные типы клеток в модельных системах любого уровня организации биологического объекта [4, 5].

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.

Сведения 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 [6, 9, 10, 11].

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, O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>) находятся именно в КВЧ диапазоне [1].

Поскольку фундаментальной основой функционирования сложных биологических систем являются молекулы-метаболиты, 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, O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, открывает новые направления в практическом использовании электромагнитных волн [7, 8].

### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Экспериментальное изучение влияния ЭМИ на частотах молекулярного спектра поглощения и излучения биологически-активных молекул — молекулярного кислорода (129 ГГц) и оксида азота (150 ГГц) на лекарственную устойчивость бактерий.

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

### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе использовали генератор O<sub>2</sub>.

Для решения поставленной задачи использовался панорамно-спектрометрический измерительный комплекс, в котором возбуждались электромагнитные КВЧ колебания, имитирующие структуру молекулярного спектра поглощения и излучения атмосферного кислорода и оксид азота [7, 8].

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). Плазмида Rp-1 несет гены устойчивости к канамицину (K) с молекулярной массой 40 Md минимальной задерживающей концентрации (МЗК) канамицина 250 мкг/мл.

2. *E. coli j 53* (R 100-1). Плазмида R 100-1 несет гены устойчивости к левомицитину и стрептомицину (Ch и St) с молекулярной массой 70 Md МЗК левомицетина 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 антибиотикам: левомицетину, стрептомицину и канамицину. Последнюю оценивали по величине МЗК.

Минимальную задерживающую концентрацию антибиотиков (левомицетина, 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 пробирика, в которой отмечалось отсутствие роста, давала величину МЗК антибиотика.

Антибиотикочувствительные мутанты выявлялись 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 левомицетин.

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:

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

где  $a$  — число облученных колоний, выросших на среде без антибиотика;  $b$  — число облученной колонии 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 среде с антибиотиками.

В экспериментах использовали антибактериальные препараты отечественного производства: стрептомицин, канамицин, левомицетин (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 % левомицетинчувствительных вариантов у штамма *E. coli j 53* (R 100-1).

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

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 % левомицетинчувствительных вариантов у штамма *E. coli j 53* (R 100-1).

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

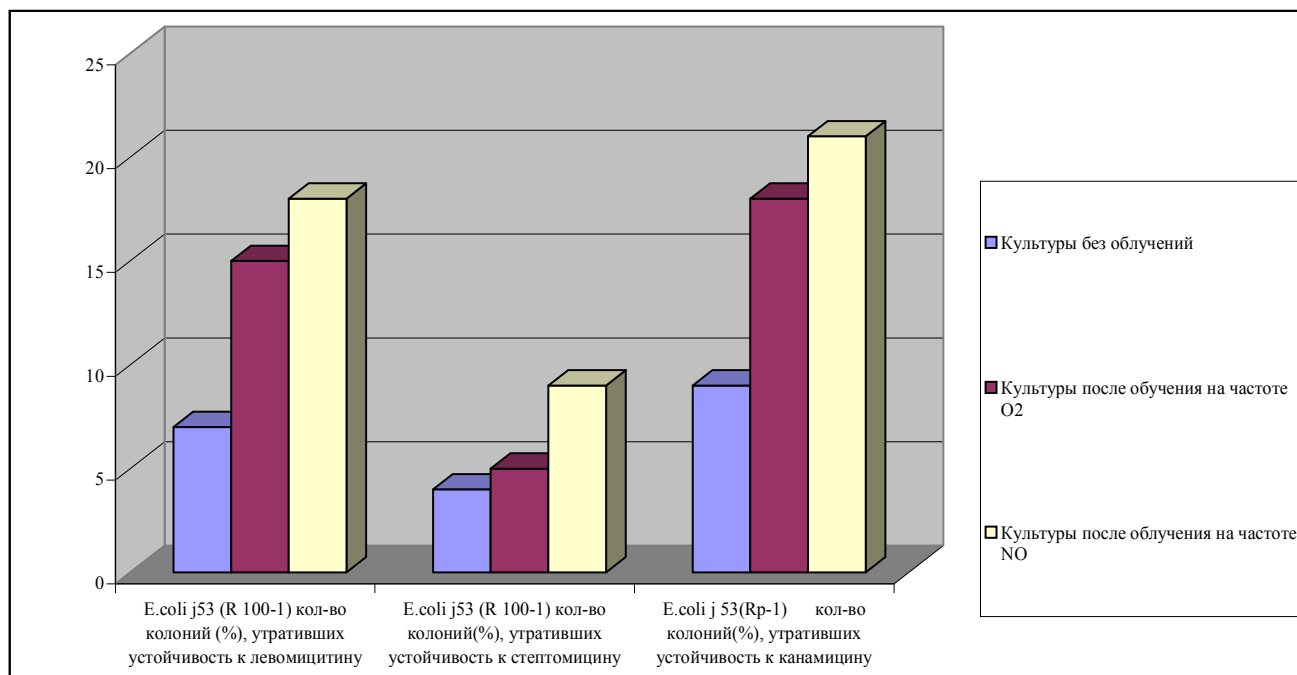


Рис. Частота элиминации лекарственной устойчивости у кишечной палочки после воздействия ЭМИ на частоте МСПИ атмосферного кислорода и оксида азота

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

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

Таким образом, исследованные частотные диапазоны в режиме плотности мощности не более 0,3 мВт/см<sup>2</sup> 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. // Биомедицинская радиоэлектроника. — 2000. — №7. — С. 3—9; № 10. — С. 8—21; № 12. — С. 11—30.
3. Бецкий О. В., Креницкий А. П., Майбородин А. В. и др. // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. — 2007. — № 8, 9. — С. 27—43.
4. Бецкий О. В., Лебедева Н. Н. // Миллиметровые волны в биологии и медицине. — 2001. — № 3. — С. 5—18.

5. Девятков Н. Д., Голант М. Б., Бецкий О. В. Миллиметровые волны и их роль в процессах жизнедеятельности. — М.: Радио и связь, 1991.

6. Ванин А. Ф. // Успехи физических наук. — 2000. — Т. 170, № 4. — С. 455—458.

7. Креницкий А. П., Майбородин А. В., Бецкий О. В. и др. // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. — 2003. — № 2. — С. 5—11.

8. Майбородин А. В., Креницкий А. П., Тупикин В. Д., Киричук В. Ф., Авдеев В. С. // Биомедицинская радиоэлектроника. — 2001. — № 8. — С. 35—47.

9. Марков Х. М. // Успехи физиологических наук. — 1996. — Т. 27, № 4. — С. 30—44.

10. Северина И. С. // Биохимия. — 1998. — Т. 63, № 7. — С. 939—997.

11. Снайдер С. Х., Бредт Д. С. // В мире науки. — 1992. — № 7. — С. 15—24.

12. Тамбиев А. Х. Миллиметровые волны и фотосинтезирующие организмы / Под ред. Ю. В. Гуляева, А. Х. Тамбиева. — М.: Радиотехника, 2003.

13. Grundler W., Kaiser F., Keilmann F., Walleczek J. // Naturwissenschaften. — 1992. — Vol. 79. — P. 551—559.

## Контактная информация:

**Пронина Елена Александровна** — к. м. н., доцент кафедры микробиологии Саратовского государственного медицинского университета, e-mail: [katkova@licey.net](mailto:katkova@licey.net)