

рушения. – М.: СЛОВО, 2003. – 271 с.

6. *Rechtshaffen A., Kales A.* Manual of standardized terminology, techniques, and criteria for the scoring of УДК 576.893.161.21:615.849.112.19[:612.085.2(045)]

stages of sleep and wakefulness of human subjects. – Washington, DC: US Government Printing Office, 1968. – 204 p.

ВЛИЯНИЕ ЛАЗЕРНОГО, СВЧ- И КВЧ-ИЗЛУЧЕНИЙ НА *TRYCHOMONAS VAGINALIS* В УСЛОВИЯХ НЕПРЕРЫВНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

П. В. Глыбочко, Д. А. Пляченко, В. С. Софьин, А. В. Лобанова

НИИ фундаментальной и клинической уронефрологии,
клиника кожных и венерических болезней,
Саратовский государственный медицинский университет

Изучено влияние лазерного, СВЧ- и КВЧ-излучений на жизнеспособность и морфологию *Tr. vaginalis* в условиях непрерывного его культивирования на жидких средах. Показано, что все виды излучений в терапевтических дозах способствуют увеличению количества клеток. Облучение культуры приводит к изменению формы и к потере подвижности трихомонад. Однако это не является свидетельством снижения их жизнеспособности, поскольку клетки сохраняли способность к интенсивному размножению. Различные дозы излучений не оказывают мутагенного действия на ДНК, что вызывает необходимость пересмотра отношения к этим физиотерапевтическим методам лечения трихомониаза.

Ключевые слова: *trichomonas vaginalis*, лазерное излучение.

EFFECT OF LASER, MICROWAVE AND EHF-RADIATION ON *TRYCHOMONAS VAGINALIS* IN CONDITIONS OF CONTINUOUS CULTURE GROWTH

P. V. Glybochko, D. A. Plyanchenko, V. S. Sofyin, A. V. Lobanova

Abstract. The effect of laser, microwave and EHF-radiation on the viability and morphology of *Tr. vaginalis* in conditions of growing it continually in liquid media is investigated. It is shown that all kinds of radiations in therapeutic doses promote an increase in the quantity of cells. The irradiation of culture results in a change of the form and in a loss of mobility of *Trichomonas*. However, this does not indicate a decrease in their viability as cells preserved their ability for intensive reproduction. Various doses of radiations have no mutagen action on DNA, which calls for revision of these physiotherapeutic methods of treatment of trichomoniasis.

Key words: *trichomonas vaginalis*, laser irradiation.

Трихомониаз является одним из распространенных заболеваний мочеполового тракта и занимает ведущее место среди заболеваний, передаваемых половым путем. Инвазия вызывается *Trichomonas vaginalis* и имеет "космополитический" характер. По данным Всемирной организации здравоохранения, частота заболеваемости трихомониазом в мире составляет ежегодно более 170 млн случаев [10], по Российской Федерации – 340–370 случаев на 100 тыс. населения [6].

В настоящее время при лечении больных острым и хроническим трихомониазом широко используются лазерное, КВЧ- и СВЧ-излучения. В литературе имеется ряд работ по изучению воздействия этих излучений на прокариотические организмы – патогенные и непатогенные бактерии [1, 2, 5]. Однако сведений о воздействии данных излучений на *Tr. vaginalis* не имеется. Между тем этот тканевой паразит относится к эукариотическим организмам, и поэтому можно пред-

положить, что биологический эффект воздействия на него различного рода излучений будет эффективным.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить влияние лазерного, СВЧ- и КВЧ-излучений на жизнеспособность и морфологию *Tr. vaginalis* в условиях непрерывного его культивирования на жидких средах.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Для исследования патологического материала использовали культуральный метод [7, 8], микроскопическое исследование нативных и окрашенных мазков [3, 4] и метод молекулярно-генетических исследований – полимеразную цепную реакцию (ПЦР) [9, 11, 12].

Для посева использовали жидкую диагностическую среду "*Vagicult*" (Финляндия), которая содержит белковый гидролизат, дрожжевой экстракт, мальтозу, цистеин, аскорбиновую кислоту, сыворотку крови овец, а также антибиотики для

подавления сопутствующей патогенной микрофлоры. Культивирование проводили в термостате при температуре 37 °С. Была проведена 4-кратная пересадка материала. В 1-м и 2-м пассажах продолжительность культивирования трихомонад достигала 15–20 суток.

Микроскопический контроль материала проводился ежедневно. Для этого использовались нативные препараты и препараты, окрашенные раствором метиленового синего, которые изучались с помощью микроскопа "Jenava" при 1000-кратном увеличении. Микрофотографии изготавливались с помощью цифровой камеры-окуляра "Scopetek DCM35". Подсчет клеток *Tr. vaginalis* осуществлялся методом кратных разведений, который ранее не использовался для этого объекта.

ПЦР и ее модификация использовалась для изучения влияния излучений на геном трихомонад в культивируемом материале, подвергнутом лазерному и КВЧ-излучениям.

Инокуляционный материал брали у мужчин с предполагаемым клиническим диагнозом "трихомониаз" путем соскоба из уретры желобоватым зондом. Для обогащения инокулята вводили в уретру 5–7 мл раствора Рингера–Локка для смыва ее содержимого. Материал брался в утреннее время до мочеиспускания.

В качестве источников лазерного, СВЧ- и КВЧ-излучений применяли широко распространенные физиотерапевтические аппараты: "Узор-А-2К", "Луч-4", "Явь-1". Интенсивность, длина волны, а также экспозиция соответствовали таковым при физиотерапевтических процедурах при лечении больных урогенитальным трихомониазом.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

После первого сеанса облучения культуры импульсным лазерным излучением наблюдалось 5-кратное увеличение числа трихомонад в 1 мл среды – с 200 до 1 000 (табл. 1). В последующие дни их количество постепенно возрастало и после 5-го облучения (на 6-й день культивирования) достигало максимального значения – 5 000 клеток в 1 мл среды.

Лазерное воздействие привело к резкому снижению подвижности трихомонад: после 3-го облучения еще сохранялась подвижность, после 4-го – полностью утрачивалась. Движение на одном месте возобновилось после 5-го облучения одновременно с изменением формы клеток на округлую.

С 1-го по 4-е облучение форма клеток *Tr. vaginalis* оставалась типичной грушевидной, а после 5-го, помимо типичных форм, в нативных и окрашенных препаратах стали встречаться круглые (рис. 1).

Для воздействия на культуру КВЧ-излучения с помощью аппарата "Явь-1" использовали параметры, применяемые для лечения больных урогенитальным трихомониазом: длина волны – 7,1 мм, частота – (42194±10) МГц, время воздействия – 10 и 15 мин.

После 2-го сеанса воздействия КВЧ-излучения наблюдалось увеличение количества клеток в 10 раз (табл. 2). Их максимальное количество отмечено после 4-го сеанса – 4 000 на 1 мл среды. После 1-го и 2-го облучений форма клеток оставалась типичной (грушевидной), после 3-го, помимо типичных форм, появились округлые клетки; после 5-го – большинство клеток *Tr. vaginalis* приобрели круглую форму (рис. 2). Отмечено, что подвижность трихомонад при КВЧ-обработке материала прекращается после 2-го облучения.

Таблица 1

Влияние импульсного лазерного излучения на морфологию и жизнеспособность *Tr. vaginalis* в культуре *in vitro*

День культивирования	Повторность облучения	Кол-во пробирок, шт.	Кол-во клеток в 1 мл среды, шт.	Форма клеток	Поведенческая активность
1	0	10	200	Грушевидная, типичная	Активное движение
2	1	10	1000	Грушевидная, типичная	Активность резко снизилась до полного отсутствия движения
3	2	10	2000	Грушевидная, типичная	Движение по кругу или на одном месте
4	3	10	2000	Грушевидная, типичная	Движение по кругу или на одном месте
5	4	2	2000	Грушевидная, типичная	Неподвижны
		8	3000	Грушевидная, типичная	Неподвижны

(22)

6	5	2	3000	Круглая	Движение на одном месте
		8	5000	Круглая	Движение на одном месте

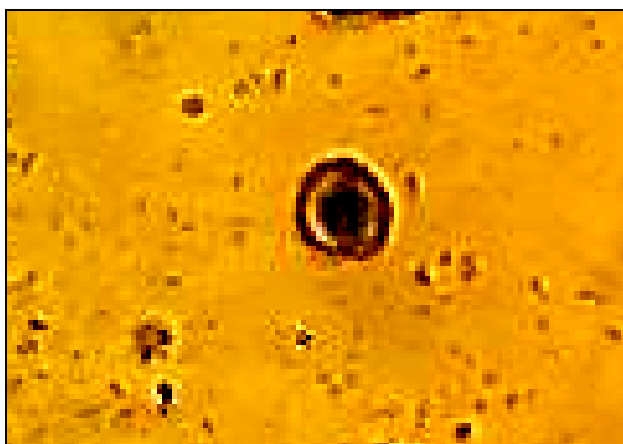


Рис. 1. Атипичная форма *Tr. vaginalis* после воздействия импульсного лазерного излучения



Рис. 2. Округлая форма *Tr. vaginalis* после обработки культуры КВЧ-излучением

Таблица 2

Влияние КВЧ-излучений на морфологию и жизнеспособность *Tr. vaginalis* в культуре *in vitro*

День культивирования	Кратность облучения	Кол-во пробирок	Кол-во клеток в 1 мл среды	Форма	Активность
1	0	10	200	Грушевидная, типичная	Активное движение
2	1	10	200	Грушевидная, типичная	Активное движение
3	2	7	2000	Грушевидная, типичная	Неподвижны
		3	1000	Грушевидная, типичная	Неподвижны
4	3	10	2000	Грушевидная, круглая	Неподвижны
5	4	10	4000	Грушевидная, круглая	Неподвижны
6	5	10	3000	Круглая	Неподвижны

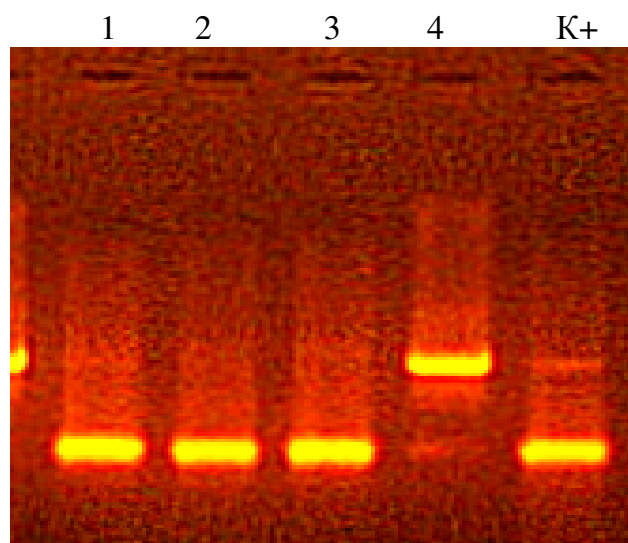


Рис. 3. Электрофореграмма ДНК облученной и необлученной культур *Tr. vaginalis*: 1 – физиотерапевтические дозы КВЧ-излучения; 2 – физиотерапевтические дозы магнитно-лазерного излучения; 3 – необлученная культура; 4 – чистая среда *Vagicult*; K+ – положительный контроль амплификации ДНК

Массовая гибель трихомонад в вариантах с КВЧ-облучением также отмечена на 7-й день облучения.

ПЦР-анализ контрольной культуры трихомонад (без облучения) и культур, обработанных лазерным и КВЧ-облучением, показал присутствие в этих вариантах ДНК *Tr. vaginalis*.

При 5-кратном облучении СВЧ и в течение 6 суток культивирования клетки трихомонады сохраняли типичную грушевидную форму (табл. 3). Количество клеток в 1 мл среды

после 1-го облучения увеличилось в 15 раз. Последующие два облучения также сопровождались кратным увеличением числа клеток. Максимальное их количество наблюдалось после 3-го облучения – 9 000 клеток в 1 мл среды. Однако, несмотря на высокий темп размножения, подвижность клеток исчезала уже после 1-го облучения, сохранялись лишь движения жгутика. Начиная с 4-го сеанса облучения темп размножения клеток снижается.

Таблица 3

Влияние СВЧ-излучений на морфологию и жизнеспособность *Tr. vaginalis* в культуре *in vitro*

День культивирования	Кратность облучения	Кол-во пробирок	Кол-во клеток в 1 мл среды	Форма клеток	Активность
1	0	10	200	Грушевидная (типичная)	Активное движение
2	1	10	3000	Грушевидная	Неподвижны
3	2	10	6000	Грушевидная	Неподвижны
4	3	10	9000	Грушевидная	Неподвижны
5	4	7	5000	Грушевидная	Неподвижны
		3	3000	Грушевидная	Неподвижны
6	5	10	3000	Грушевидная	Неподвижны

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Все виды использованных в работе излучений в терапевтических дозах способствовали значительному увеличению количества клеток по сравнению с необлученными культурами. Это указывает на стимуляцию пролиферации *Tr. vaginalis* лазерным, СВЧ- и КВЧ-излучениями. В то же время облучение культуры урогенитальной трихомонады приводило к изменению формы простейших: они приобретали округлую атипичную форму. Вероятно, это результат модификационной изменчивости, индуцированной излучением. В связи с тем, что полиморфность трихомонад сильно затрудняет диагностику трихомониаза, то полученные данные представляют интерес для дальнейшего исследования возможности влияния использованных в работе видов излучений на морфологию возбудителя физиотерапевтическими методами.

2. Использованные виды облучений приводят к потере активной подвижности трихомонад, которая не является свидетельством снижения их жизнеспособности, поскольку клетки сохраняли способность к интенсивному размножению. Мы полагаем, что это связано с воздействием излучений на гидрогеносомы, выполняющие функции митохондрий.

3. Молекулярно-генетические исследования культур после обработки всеми видами излучений показали наличие в ДНК *Tr. vaginalis* как при физиотерапевтических дозах, так и при высоких дозах облучения. Это свидетельствует о том, что

различные дозы излучений не оказывают мутагенного действия на видоспецифические праймерные сайты ДНК. Выявленная *in vitro* стимуляция лазерным, СВЧ- и КВЧ-излучениями обозначила проблему пересмотра отношения к этим физиотерапевтическим методам лечения трихомониаза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гамалея Н. Ф. // Лазеры в эксперименте и клинике. – М.: Медицина, 1972. – С. 256–260.
2. Голант М. Б. // Биофизика – 1989. – Т. 34, вып. 2. – С. 339–348.
3. Дмитриев Г. А. // Cons. med. – 2005. – Т. 7, № 3.
4. Ильин И. И., Туранова Е. Н. // Венерические болезни: Руководство для врачей / Под ред. О. К. Шапошникова – М.: Медицина, 1980. – С. 422–440.
5. Клячкин Л. М., Виноградова М. Н. // Физиотерапия. – М.: Медицина, 1995. – С. 231–236.
6. Козлюк А. С., Козлюк В. А. // ИППП. – 2001. – № 6. – С. 26–28.
7. Копылов В. М. // Урогенитальный трихомониаз. Актуальные вопросы диагностики и лечения: Пособие для врачей. – М.: Медицина, 2001. – С. 22–23.
8. Лабораторная диагностика мочеполового трихомониаза (пособие для врачей-лаборантов) / В. Н. Беднова, Г. А. Дмитриев, М. М. Васильев и др. – М.: Медицина, 1997. – С. 3–7.
9. Madico G., Quinn T.C., Rompalo A., et al. // J. Clin. Microbiol. – 1998. – Vol. 36, № 11. – P. 3205–3210.
10. Petrin D., Deldaty K., Bhatt R., et al. // Clin. Microbiol. Rev. – 1998. – №11. – P. 300–317.
11. Ryu J. S., Chung H. L., Min D. Y., et al. // Yonsei

