

УДК 576. 315. 4

**ВЛИЯНИЕ МИКРОВОЛНОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ЧАСТОТАХ
МОБИЛЬНОЙ СВЯЗИ И СЕТИ WiMAX НА СОСТОЯНИЕ ХРОМАТИНА
КЛЕТОК БУККАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ ЧЕЛОВЕКА**

Бойко О.В.¹, Лантушенко А.О.¹, Лукьянчук Г.А.¹, Саламатин В.В.¹, Шкорбатюк Ю.Г.²

¹*Севастопольский национальный технический университет, Севастополь, Украина*

²*Харьковский национальный университет им. В.Н.Каразина, Харьков, Украина*

E-mail: lantushenko@mail.ru

Исследовали влияние излучения мобильного телефона, а также радиоволн рабочей частоты WiMAX - 3.7 ГГц разной мощности на клетки буккального эпителия человека. Оценивали состояние функциональной активности клеточных ядер путем изменения степени конденсации хроматина. Наблюдали значительное увеличение степени конденсации хроматина при действии мобильного излучения в течение 10 минут и более, а также микроволнового излучения рабочей частоты WiMAX – 3.7 ГГц плотностью потока мощности на поверхности облучаемого объекта 40 мВт/см².

Ключевые слова: микроволновое излучение, гетерохроматин, клетки буккального эпителия.

ВВЕДЕНИЕ

Микроволновое излучение является неотъемлемой и постоянно увеличивающейся частью общего электромагнитного фона, окружающего современного человека. Мобильная связь, беспроводные системы связи WiFi и WiMAX и другие промышленные и бытовые источники микроволнового излучения оказывают на человека определенное влияние, механизмы действия которого до конца на изучены.

Актуальность изучения влияния электромагнитного излучения на состояние клетки и клеточного ядра обусловлена тем, что именно на этом уровне происходит регуляция наиболее важных процессов жизнедеятельности, итогом которых на уровне всего организма может стать временное нарушение функционального состояния или заболевания. Таким образом, исследование влияния микроволнового излучения на клетки человека является актуальным в теоретическом и практическом отношении.

Ранее различными авторами проводились исследования возможного мутагенного влияния радиочастотного излучения низкой интенсивности. В ряде исследований было обнаружено, что радиочастотное излучение может вызывать мутации. Например, в работе [1] было показано, что под действием микроволнового излучения (частота 7.7 ГГц, мощность 0.5, 10 и 30 мВт/см²) с временем экспозиции 10, 30 и 60 мин имело место увеличение хромосомных aberrаций и микроядер в лимфоцитах человека. При более длительных временах облучения радиочастотные сигналы с SAR (Specific Absorbtion Rate, удельная величина поглощения излучения), равным 5 Вт/кг вызывали повреждения хромосом в лимфоцитах человека. Действие излучений на

четырёх различных частотах (в диапазоне 837-1909.8 МГц) в течение 24 часов со значением SAR от 5 до 10 Вт/кг приводило к существенному и высокоповторяемому увеличению количества лимфоцитов с микроядрами [2].

Однако в ряде других исследований мутагенное влияние микроволнового излучения обнаружено не было. Например, излучение с частотой 2.45 ГГц в течение двух часов в непрерывном (SAR=100 Вт/кг) и импульсном (максимум SAR=900 Вт/кг) режимах не вызывало хромосомных aberrаций в m5S клетках мышей [3]. Используемое в мобильных телефонах излучение с частотами 847.74– 813.56 МГц и значением SAR 2.4–26 мВт/кг не приводило к изменению уровня повреждения ДНК и не влияло на индукцию апоптоза в Molt-4 Т-лимфобластоидных клетках [4].

В работах [5,6] было показано, что при действии микроволнового излучения на ядра клеток буккального эпителия увеличивается количество гранул гетерохроматина, т.е. наблюдается конденсация хроматина. Для количественного описания наблюдаемых эффектов был введен параметр КГГ – количество гранул гетерохроматина. Были проведены исследования влияния на величину КГГ различных факторов: биологически активных веществ, УФ-, лазерного, микроволнового излучения [5-9]. Также эффект конденсации хроматина был продемонстрирован в работах Марковой [10] методом временной зависимости вязкости хроматина. 30-минутное ЭМ-воздействие на частотах 900 и 905 МГц приводило к статистически значимой конденсации хроматина в лимфоцитах человека [11].

В данной работе исследуется влияние микроволнового излучения на частоте мобильных телефонов (900 МГц), а также на частоте беспроводной связи WiMAX (3.7 ГГц) на состояние функциональной активности клеточных ядер, путем оценки изменения степени конденсации хроматина.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

1.1 Отбор клеток

В эксперименте использовалась краткосрочная клеточная культура буккального эпителия. Для проведения эксперимента производился отбор клеток буккального эпителия у трех доноров: А, В и С.

А – клетки донора женского пола, возраст донора – 22 года; В – клетки донора мужского пола, 24 года; С – клетки донора мужского пола, 34 лет.

Процесс изъятия клеток буккального эпителия из организма заключался в следующем: клетки соскребали с внутренней поверхности щеки донора с помощью тупого стерильного шпателя, далее клетки помещали в буферный раствор следующего состава: 3,03 мМ фосфатный буфер, рН = 7,0 с добавлением 2,89 мМ хлорида кальция [12]. Ранее было установлено, что в таких условиях изолированные клетки могут поддерживать постоянство количества гранул гетерохроматина (КГГ) в течение 24 ч и более [8].

После изъятия клетки хранились в кюветах с буферным раствором от нескольких минут до 24 часов, в зависимости от условий эксперимента. В тех случаях, когда соскобы клеток брали в полевых условиях, клетки помещали между двумя покровными стеклами и хранили во влажной камере, между двумя слоями фильтровальной бумаги.

1.2 Облучение клеток

1.2.1 Облучение излучением мобильного телефона

Клетки в виде суспензии наносились на поверхность предметного стекла и помещались в чашу Петри, на дне которой находилась заранее смоченная в воде влажная фильтровальная бумага. Клетки буккального эпителия подвергались электромагнитному облучению в течение 5 и 10 минут. В качестве источника микроволнового излучения использовался сотовый телефон марки Samsung SGH-J770, находящийся в режиме разговора (максимальная величина SAR за счет излучения телефона, согласно данным паспорта прибора, $SAR=0,6$ Вт/кг, частота излучения – 900 МГц).

1.2.2 Облучение клеток на частоте 3.7 ГГц

Раствор, содержащий клетки и фосфатный буфер, распределялся между несколькими эппендорфами (пробирками по 0.5 мл каждая). Далее, образцы поочередно размещались в волноводном тракте облучающей установки. Принципиальная схема установки представлена на Рисунке 1.

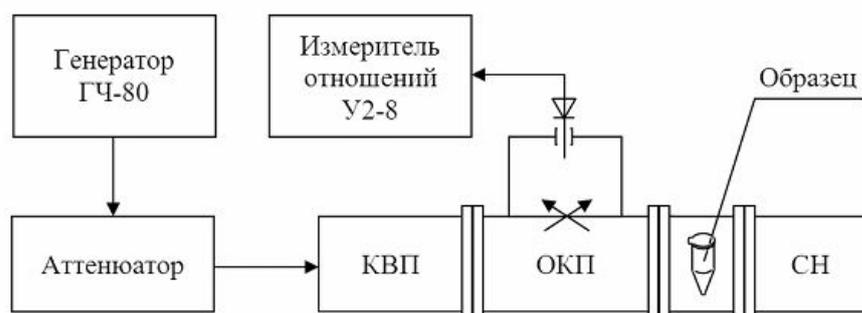


Рис.1. Принципиальная схема установки.

На схеме приняты следующие обозначения: КВП – коаксиально-волноводный переход; ОКП – ответвитель круговой поляризации, СН – согласованная нагрузка.

Установка работает следующим образом. С помощью СВЧ генератора в волноводном тракте формируется волна с частотой 3.7 ГГц. Эта частота соответствует рабочему диапазону стандарта WiMAX. Коаксиально-волноводный переход выполняет роль фильтра, выделяющего главную моду колебаний.

Эппендорф с исследуемым образцом размещается в максимуме электрического поля на участке прямоугольного волновода между ОКП и согласованной нагрузкой. ОКП представляет собой Т-образное соединение отрезков волноводов прямоугольного и круглого сечений. Падающая и отраженная волны ответвляются из первичного канала ОКП во вторичный с одинаковым коэффициентом передачи. Во вторичном канале ответвителя возбуждаются две волны с круговой поляризацией, вращающиеся в противоположных направлениях. Суперпозиция этих полей, в зависимости от соотношения их амплитуд, приводит к формированию эллиптически или линейно поляризованной волны.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

2.1 Облучение излучением мобильного телефона

Облучение клеток мобильным телефоном в режиме разговора вызвало увеличение показателя КГГ. Результаты представлены на Рис.3.

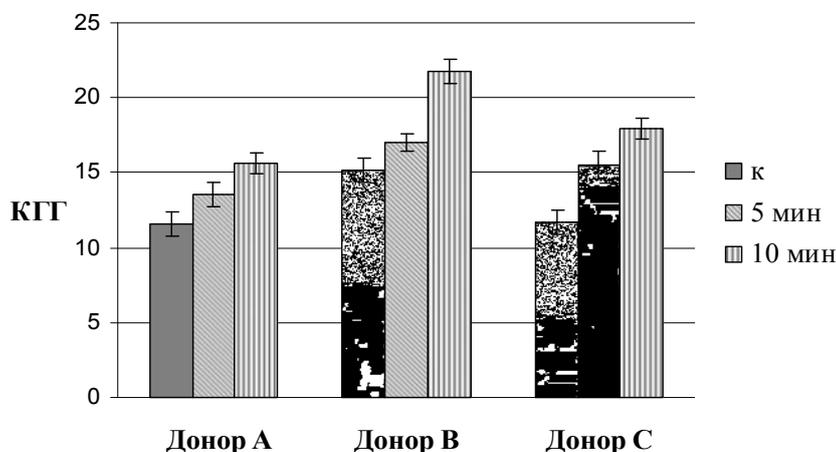


Рис. 3. Количество гранул гетерохроматина (КГГ) в клетках буккального эпителия после облучения мобильным телефоном в течение 5 и 10 мин относительно к – контрольных значений для каждой группы доноров.

Как видно из гистограммы, наибольшее, статистически достоверное, значение показателя КГГ наблюдается для клеток всех доноров при облучении в течении максимального времени – 10 мин. Относительное увеличение количества гранул гетерохроматина в этом случае составило для донора А – 26 %, донора В – 30 %, донора С – 35 %.

Пятиминутное воздействие ЭМП мобильного телефона также приводит к увеличению КГГ, но в меньшей степени. Это увеличение является статистически достоверным в случае использования клеток донора С.

Наблюдаемое нами увеличение показателя КГГ свидетельствует о высокой степени конденсации гетерохроматина в клетке, а следовательно, и уменьшении функциональной активности как клеточного ядра, так и клетки в целом, под воздействием электромагнитных волн мобильного телефона. Наибольший вклад в уменьшение ядерной активности клетки вносит 10-минутное облучение.

Для того чтобы определить статистическую связь между полученными данными, был проведен дисперсионный анализ. Анализируя данные по факторам «время» и «донор», было определено, какой из них оказывает большее влияние на показатель КГГ.

Дисперсионный анализ проводился в программе StatistiXL (Statistical power for MS Excel). Данные анализа приведены в Таблице 1.

Как видно из Таблицы выходных данных, фактор времени оказывает наибольшее влияние (критерий Фишера F –максимален), а следовательно именно

продолжительность облучения является определяющим фактором в поставленном эксперименте.

Таблица 1
Результаты двухфакторного дисперсионного анализа ANOVA для клеток, облученных мобильным телефоном

Tests of effects for Y=КГГ					
Фактор	Type III SS	Df	Mean Sq.	F	Prob.
донор	52.478	2	26.239	10.833	0.000
время	438.672	1	438.672	181.118	0.000
донор*время	63.744	2	31.872	13.159	0.000

О том, что входные данные при проведении дисперсионного анализа подходят для данного вида анализа, свидетельствует нулевое значение функции «Prob.», т.е. для данного исследования выполняются следующие статистические допущения: независимо от уровня фактора величины отклика имеют нормальный (Гауссовский) закон распределения и одинаковую дисперсию.

2.2 Облучение клеток человека на частоте 3.7 ГГц

Данные по облучению клеток на рабочей частоте аппаратов беспроводной связи WiMAX – 3.7 ГГц были получены для клеток трёх доноров. Для каждой группы клеток донора эксперимент проводился при трех значениях плотности потока мощности на поверхности облучаемого объекта: 40 мкВт/см², 10 мкВт/см², 2.5 мкВт/см² и времени облучения – 0.5, 1 и 5 минут. Полученные данные представлены на Рис.4-6.

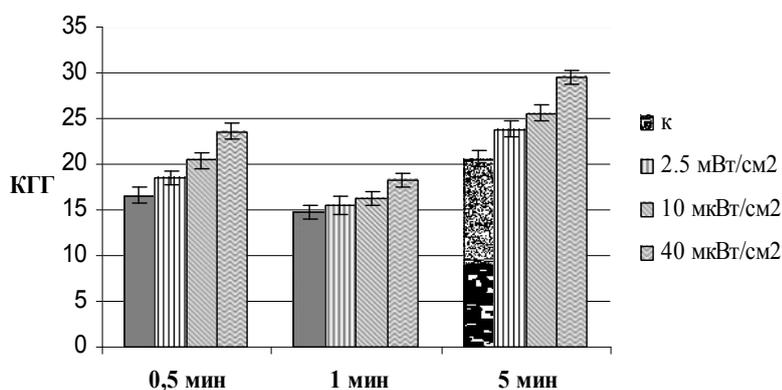


Рис. 4. Данные облучения клеток донора А на частоте 3.7 ГГц относительно (к) – контрольных значений.

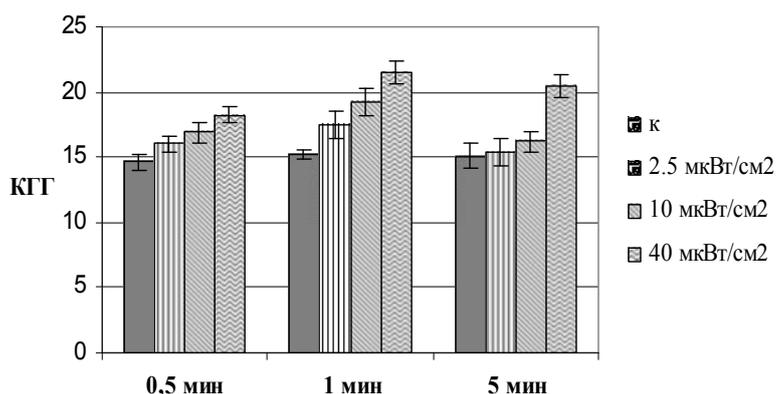


Рис. 5. Данные облучения клеток донора В на частоте 3.7 ГГц относительно (к) – контрольных значений.

Из Рис. 4-6 видно, что наибольшее влияние на увеличение показателя КГГ у всех доноров оказывает излучение наибольшей интенсивности – 40 мкВт/см². К значительному росту КГГ (до 33%) также приводит увеличение времени экспозиции до 5 мин. Интересно отметить, что у донора В максимальное увеличение КГГ наблюдается при 1-минутном облучении.

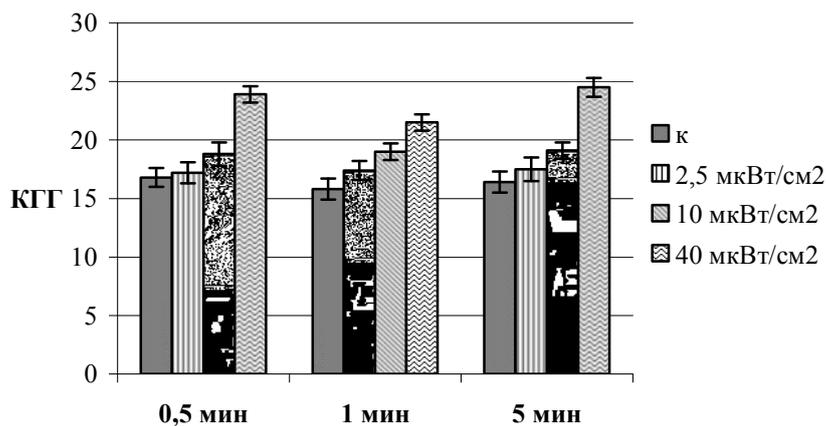


Рис. 6. Данные облучения клеток донора С на частоте 3.7 ГГц относительно (к) – контрольных значений.

Относительное увеличение КГГ при облучении средней мощностью 10 мкВт/см² для всех доноров меньше, чем при мощности 40 мкВт/см², и составило от 9 до 20%.

Излучение наименьшей мощности 2,5 мкВт/см² приводит к наименьшему росту КГГ и не превышает 10%. Можно предположить, что излучение данной мощности

является порогом чувствительности клетки к излучению на частоте 3.7 ГГц, т.е. дальнейшее уменьшение мощности не будет влиять на показатель КГГ.

Чтобы определить, какой из факторов «время» или «мощность» облучения оказывают статистически больший вклад, в программе StatisticXL был проведен дисперсионный анализ полученных в ходе эксперимента данных для всех доноров. Результаты анализа приведены в Таблице 2.

Как видно из таблицы выходных данных, функция prob. принимает нулевое значение для всех исследованных факторов и их сочетания (время*мощность), что свидетельствует об их статистической значимости, при этом для всех доноров критерий Фишера F максимален для фактора «мощность», а, следовательно, именно мощность облучения является определяющим фактором в поставленном эксперименте.

Таблица 2

**Результаты двухфакторного дисперсионного анализа ANOVA для клеток
буккального эпителия при действии излучения с частотой 3.7 ГГц.**

Tests of effects for Y=КГГ					
Фактор	Type III SS	Df	Mean Sq.	F	Prob.
Донор А					
время	437,163	2	218,581	131,663	0,000
мощность	1302,941	2	651,470	392,416	0,000
время*мощность	230,259	4	57,565	34,674	0,000
Донор В					
время	16,207	2	8,104	4,240	0,000
мощность	553,985	2	276,993	144,919	0,000
время*мощность	98,481	4	24,620	12,881	0,000
Донор С					
время	72,496	2	36,248	10,631	0,000
мощность	1443,696	2	721,848	211,704	0,000
время*мощность	81,415	4	20,354	5,969	0,000

ВЫВОД

Таким образом, результаты данной работы подтверждают выдвинутое ранее предположение о том, что общим откликом на действие ЭМИ является конденсация хроматина. Этот процесс может быть обусловлен изменением ДНК-белковых взаимодействий, вызванных излучением. Теоретически конденсация

хроматина может являться причиной мутаций, т.к. известно, что конденсация хроматина в хромосомах приводила к повышению вероятности мутаций [14]. Важно также отметить, что процесс гетерохроматинизации связан с уменьшением транскрипционной активности клеток. Результаты данной работы свидетельствуют о наличии существенного влияния электромагнитного излучения мобильного телефона при длительном облучении (порядка 10 минут и более) и микроволнового излучения рабочей частоты WiMAX – 3.7 ГГц при плотности потока мощности 40 мкВт/см² на клетки человека. При действии исследованных в работе микроволн наблюдается увеличение показателя КГГ, что свидетельствует об уменьшении функциональной активности клеток.

Список литературы

1. Garaj-Vrhovac V. The correlation between the frequency of micronuclei and specific chromosome aberrations in human lymphocytes exposed to microwaves / V. Garaj-Vrhovac, A. Fucic, D. Horvat // *Mutation Research*. – 1992. – V. 281. – P. 181–186.
2. Genotoxicity of radiofrequency signals. I. Investigation of DNA damage and micronuclei induction in cultured human blood cells / R.R. Tice, G.G. Hook, M. Donner [et al.] // *Bioelectromagnetics*. 2002. – V. 23. – P.113–126.
3. Effect of high-frequency electromagnetic fields with a wide range of SARs on chromosomal aberrations in murine m5S cells / Y. Komatsubara, H. Hirose, T. Sakurai [et al.] // *Mutation Research*. – 2005. V. 587. – P.114–119.
4. Measurement of DNA damage and apoptosis in Molt-4 cells after in vitro exposure to radiofrequency radiation / G.J. Hook, P. Zhang, I. Lagroye [et al.] // *Radiation Research*. – 2004. – V. 161. – P. 193–200.
5. Shckorbatov Y. He-Ne laser light induced changes in the state of the chromatin in human cells / Y. Shckorbatov // *Naturwissenschaften*. – 1999. – V.86. – P. 450–453.
6. The influence of differently polarised microwave radiation on chromatin in human cells / Y.G. Shckorbatov, V.N. Pasiuga, N.N. Kolchigin [et al.] // *Int. J. Radiat. Biol.* – 2009. – V. 85, No.4. – P. 322–329.
7. Shckorbatov Y. Age-related changes in the state of chromatin in human buccal epithelium cells / Y. Shckorbatov // *Gerontology*. – 2001. – V.47. – P. 224–225.
8. Microwave irradiation influences on the state of human cell nuclei / Y.G. Shckorbatov, V.G. Shakhbazov, N.N. Grigoryeva [et al.] // *Bioelectromagnetics*. – 1998. – V. 19. – P. 414–419.
9. Changes in the state of chromatin in human cells under the influence of microwave radiation / Y.G. Shckorbatov, V.G. Shakhbazov, V.V. Navrotska [et al.] // 16th International Wroclaw Symposium and Exhibition on electromagnetic compatibility, Wroclaw Part. – 2002. – V. 1. – P. 87–88.
10. Microwaves from GSM mobile telephones affect 53BP1 and g-H2AX foci in human lymphocytes from hypersensitive and healthy persons / E. Markova, L. Hillert, L. Malmgren [et al.] // *Environmental Health Perspectives*. – 2005. – V. 113. – P. 1172–1177.
11. Sarimov R. Nonthermal GSM microwaves affect chromatin conformation in human lymphocytes similar to heat shock / R. Sarimov, L.O. Malmgren, E. Markova // *Plasma Science, IEEE Transactions*. – 2004. – V. 32. – P. 1600–1608.
12. Тартаковский А.Д. Питательные среды для культивирования клеток млекопитающих. Методы культивирования клеток. / А.Д. Тартаковский. – Л.: Наука, 1988. – С.44–63.
13. Ашмарин И.П. Молекулярная биология / И.П. Ашмарин. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1977. – 368 с.
14. Links between chromosome structure, DNA repair and chromosome fragility / J. Surrales, S. Puerto, M.J. Ramirez [et al.] // *Mutation Research*. – 1998. – V. 404. – P. 39–44.

Бойко О.В. Вплив мікрохвильового випромінювання на частотах мобільного зв'язку та мережі WiMAX на стан хроматину клітин букального епітелію людини / **О.В. Бойко, А.О. Лантушенко, Г.О. Лукьянчук, В.В. Саламатін, Ю.Г. Шкорбатів** // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2010. – Т. 23 (62), № 4. – С. 56-65.

Досліджували вплив мікрохвильового випромінювання мобільного телефону, а також радіохвильової робочої частоти WiMAX – 3.7 ГГц різної потужності на клітини букального епітелію людини. Оцінювали стан функціональної активності клітинних ядер за допомогою зміни ступеня конденсації хроматину. Спостерігали значне збільшення ступеня конденсації хроматину під дією мобільного випромінювання протягом 10 хвилин та більше, а також мікрохвильового випромінювання робочої частоти WiMAX – 3.7 ГГц та щільністю потоку потужності на опромінюваній поверхні 40 мкВт/см².

Ключові слова: мікрохвильове випромінювання, гетерохроматин, клітини букального епітелію.

Boiko O.V The effect of mobile phone microwave radiation and influence of electromagnetic radiation (EMR) of different intensities of WiMAX radio frequency on chromatin in human cells / **O.V. Boiko, A.O. Lantushenko, G.A. Lukyanchuk, V.V. Salamatin, Y.G. Shkorbatov** // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2010. – Vol. 23 (62), No 4. – P. 56-65.

The effect of mobile phone microwave radiation and influence of electromagnetic radiation of different intensities of WiMAX radio frequency – 3.7 GHz on chromatin in human cells have been studied. The functional activity of cell nuclei has been assessed by the changes in degree of chromatin condensation. The results of the study indicate the substantial increase in degree of chromatin condensation caused by mobile phone electromagnetic 10-minute irradiation and microwave WiMAX frequency – 3.7 GHz of 40 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ surface power density.

Keywords: microwave radiation, heterochromatin, buccal cells.

Поступила в редакцію 12.11.2010 г.