

УДК 574.2:53.082.9:550.837.3

## Генотоксическое действие ЭМИ диапазона мобильной связи (900 МГц)

В.С. СТЕЛЬМАХ, Г.А. МЕДВЕДЕВА, Д.Н. ДРОЗДОВ

В работе проведена оценка генотоксического действия электромагнитного поля дотепловой интенсивности *in vivo* на частоту микроядер в полихроматофильных эритроцитах костного мозга. В ходе эксперимента было установлено, что между контрольной и экспериментальной группой достоверное различие наблюдается на первом этапе эксперимента (30 сутки), после чего достоверного различия в группах выявить не удалось. Электромагнитное излучение диапазона мобильной связи стандарта GSM при времени экспозиции 30 суток увеличивает частоту микроядер в клетках костного мозга в 1,7 раз.

**Ключевые слова:** генотоксическое действие, микроядро, ЭМИ, электромагнитные поля, эритроциты.

The article presents the estimation of genotoxic action of an electromagnetic field of pre-heat intensity *in vivo* on frequency of micronuclei in polychromatophilous erythrocyte in a bone brain. During the experiment it was established that between control and experimental groups the authentic distinction is observed at the first stage of experiment (30<sup>th</sup> day) then the authentic distinction in groups was not possible to reveal. Electromagnetic radiation of a range of mobile connection of GSM standard at a 30-day time of exposition increases the frequency of micronuclei in a bone brain in 1.7 times.

**Keywords:** genotoxic action, micronucleus, EMR, electromagnetic fields, erythrocytes.

### **Введение**

Электромагнитное излучение прочно вошло в современную жизнь человека. Беспроводные технологии стали неотъемлемым атрибутом жизни и молодежи, и взрослого населения, городских и сельских жителей. В результате под влиянием электромагнитного поля радиочастотного диапазона современный человек, в той или иной мере, находится постоянно. И это нельзя недооценивать, поскольку использование электромагнитного излучения радиочастотного диапазона, которое излучают современные мобильные средства связи, обладает целым рядом характерных особенностей. С.И. Бобраков (2001), М.Ю. Маслов (2002), Ю.Г. Григорьев (2005, 2010) выделяют следующие особенности: круглосуточное хроническое облучение происходит на максимальном приближении, частота и продолжительность воздействия контролируется пользователем, воздействию ЭМП РЧ подвергается не только сам пользователь, но и окружающие его люди. Такое воздействие может не только негативно сказаться на функциях органов, но и вызывать генетические изменения в клетках, обладая, таким образом, генотоксическим действием [1].

Согласно литературным данным [2], повреждение генетического материала может происходить путем активации ряда процессов: образование свободных радикалов (окислительный стресс), микротермальные эффекты в клеточных структурах (экспрессия генов теплового шока), воздействие на ДНК-репарационные механизмы. К настоящему времени опубликовано большое количество работ по оценке генотоксического действия неионизирующих электромагнитных полей, в большинстве которых не выявлено неблагоприятных эффектов или получены противоречивые результаты [3], [4], [5]. Однако работы, в которых было выявлено повышение частоты злокачественных новообразований головного мозга у пользователей сотовых телефонов, не позволяют снять вопрос о возможном генотоксическом действии неионизирующих электромагнитных полей [6].

При поддержке Европейского Союза в рамках проекта «REFLEX» (2000–2004 гг.) были проведены совместные исследования 12-ю научными группами, направленные на оценку биологического действия радиочастотных ЭМП РЧ *in vitro* (на субклеточном и клеточном уровнях) с использованием стандартизованных методологических подходов. Результаты этих исследований позволили прийти к следующим выводам:

- ЭМП РЧ (1800 МГц) индуцирует генотоксические эффекты, а именно одонитевые и двунитевые разрывы ДНК, и приводит к повышению частоты микроядер в клетках HL-60;
- ЭМП РЧ при воздействии с SAR 2 Вт/кг приводит к повышению частоты хромосомных aberrаций в культуре фибробластов человека и нарушению репарации ДНК.

Несмотря на существование множества гипотез о механизмах действия электромагнитного излучения диапазона мобильной связи на молекулярном и клеточном уровнях организации живых систем, до сих пор отсутствует целостная концепция, способная с единых позиций объяснить эффекты и механизмы действия ЭМИ на многоклеточный организм в целом. В связи с этим представляется актуальным проведение модельного эксперимента по изучению действия ЭМП РЧ на систему крови млекопитающих для изучения действия ЭМИ диапазона мобильной связи на геном соматических клеток.

Целью данной работы являлась оценка возможного генотоксического действия электромагнитного поля дотепловой интенсивности *in vivo* и определение частоты микроядер в полихроматофильных эритроцитах костного мозга.

### *Методика исследований*

Метод предложен независимо Heddle и Schmid в начале 70-х годов. Сущность феномена состоит в том, что во время деления клеток ацентрические фрагменты хромосом и оставшие хромосомы, не вошедшие в дочерние ядра, формируют в цитоплазме клеток одно, реже два ДНК-содержащих образования, получивших название микроядер (МЯ). Кроме того, возникновение микроядер может быть результатом обособления фрагментов обменов хромосомного типа (нестабильная транслокация), или образованию МЯ способствует нарушение функции ахроматинового веретена при разъединении хромосом в анафазе.

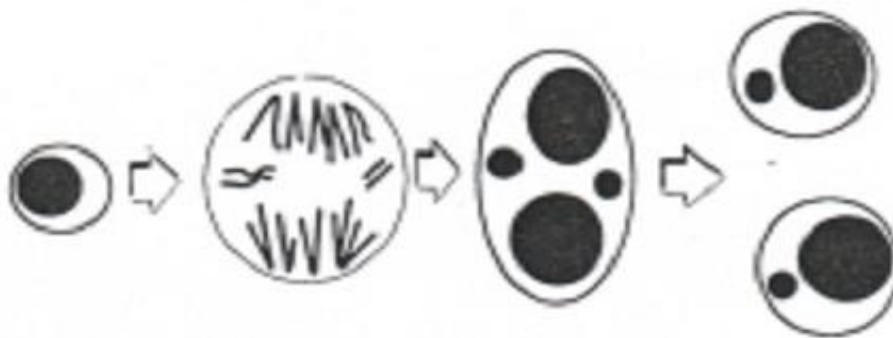


Рисунок 1 – Формирование микроядер в делящейся клетке

Таким образом, учет частоты клеток с микроядрами указывает на цитогенетическую активность изучаемого фактора. Самый надежный результат дает анализ МЯ в созревающих эритроцитах костного мозга – полихроматофильных эритроцитах (ПХЭ). Дифференциальное окрашивание позволяет легко отличить эти недавно прошедшие митоз клетки от зрелых эритроцитов.

Исследование выполнено на неполовозрелых белых беспородных крысах-самцах стадного разведения (возраст на момент начала эксперимента – 1 месяц). Все животные, содержавшиеся в типовых условиях, были разделены на 2 группы: интактные животные (контроль) и животные, которые в дневное время подвергались воздействию переменного электромагнитного излучения диапазона мобильной связи (897,2 МГц, 35-й канал, 0,2–0,3 мВт/см<sup>2</sup>; источник излучения – установка, имитирующая сигнал мобильного телефона в режиме разговора, вместо речи использовали модулированный по стандарту GSM псевдослучайно сгенерированный шум, предварительно сглаженный по Гауссу) ежедневно по 8 часов в день (16 30-минутных фракций с 5-минутными интервалами) непрерывно на протяжении 60 суток. Животные выводились из эксперимента сразу после 1, 2 месяцев облучения и на 3, 7, 14 и 28-е сутки после окончания облучения.

Материалом исследования служили клетки костного мозга. Для получения суспензии клеток костного мозга бедренную кость промывали 5 мл раствора Хэнкса без фенолового

красного, содержащего 10% сыворотки, 0,5% раствор антибиотиков (Antibiotic/antimicotik cocktail, Sigma) и гепарин (2,5 Ед/мл). Уровень микроядер в полихроматофильных эритроцитах костного мозга определялся по стандартной методике с использованием метанольной фиксации и окраски Гимза [7].

Статистическая обработка результатов исследования проведена с использованием элементов дискриптивного и дисперсионного анализа. Для оценки достоверности различия частоты микроядер на 1000 клеток использовался параметрический (критерий Стьюдента) метод статистики. За величину уровня статистической значимости различий принимали  $p \leq 0,05$ . Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0.

### **Результаты исследований и их обсуждение**

С помощью светового микроскопа проводился подсчет полихроматофильных эритроцитов и клеток с микроядрами. Оценка проводилась при помощи метода подсчета микроядер на 1000 клеток в контрольной и экспериментальной группе. На рисунке 2 представлена фотография полихроматофильного ретикулоцита без микроядра (слева) и ретикулоцита с микроядром (справа).

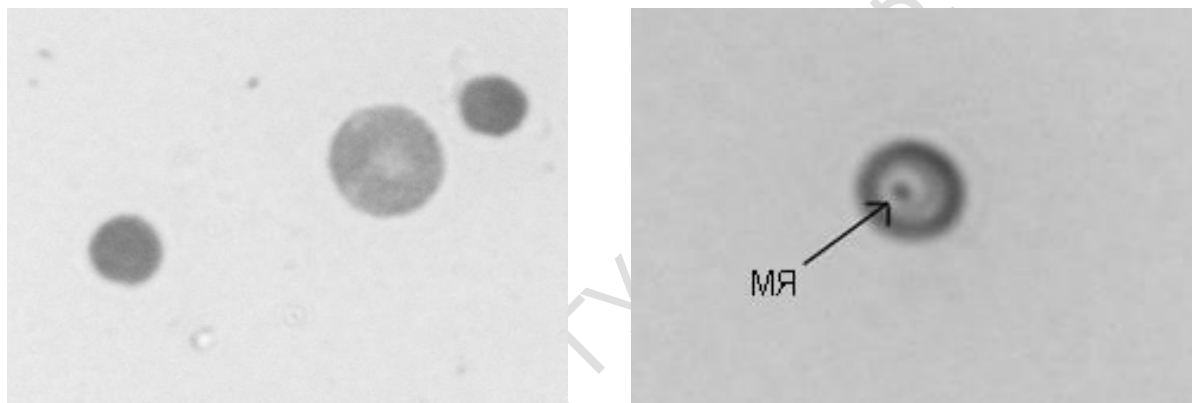


Рисунок 2 – Полихроматофильные ретикулоциты

В ходе исследования было установлено, что средняя частота микроядер как в контрольной, так и в группе облученных животных не превысила 3 микроядра на 1000 клеток, что не превышает спонтанный фоновый уровень появления микроядер в ретикулоцитах. Несмотря на отсутствие достоверных отличий в содержании ядерных клеток в костном мозге и экспериментальной группе животных, повышение коэффициента вариации показателя у облученных животных свидетельствует о запуске механизмов ответного реагирования на данный стресс-фактор. Полученный результат согласуется с работой [1]. В таблицах 1 и 2 приведены результаты, полученные в контрольной и экспериментальной группе.

Таблица 1 – Уровень микроядер в полихроматофильных эритроцитах костного мозга в контрольной группе

Частота микроядер на 1000 клеток, %					
30-е сутки	60-е сутки	63-е сутки	67-е сутки	74-е сутки	90-е сутки
0,2	0,2	0,4	0,3	0,4	0,4
0,2	0,2	0,3	0,2	0,1	0,3
0,2	0,4	0,3	0,2	0,4	0,4
0,2	0,1	0,2	0,1	0,3	0,3
0,3	0,2	0,4	0,3	0,2	0,7
0,3	0,3	0,3	0,4	–	0,3

Таблица 2 – Уровень микроядер в полихроматофильных эритроцитах костного мозга в экспериментальной группе

Частота микроядер на 1000 клеток, %					
30-е сутки	60-е сутки	63-е сутки	67-е сутки	74-е сутки	90-е сутки
0,2	0,1	0,2	0,3	0,2	0,4
0,3	0,2	0,1	0,1	0,1	0,5
0,6	0,3	0,2	0,3	0,2	0,2
0,5	0,4	0,2	0,6	0,2	0,1
0,5	0,1	0,5	0,4	0,4	0,3
0,6	0,2	0,2	0,2	0,3	0,6

Значение коэффициента вариации в экспериментальной группе более чем в 1,5 раза превышает варьирование в контрольной группе. Кроме того, значение коэффициента вариации в контрольной группе нарастала от 20% до 40%, а в экспериментальной группе – от 40% до 55%.

Частота клеток с микроядрами в костном мозге облученных ЭМИ животных достоверно возрастает на 30-е сутки, среднее значение в контрольной группе  $0,23 \pm 0,02$ , в экспериментальной группе –  $0,45 \pm 0,07$ . На рисунке 3 представлена динамика частоты ПХЭ с микроядрами в контрольной и экспериментальной группе на разных этапах эксперимента.

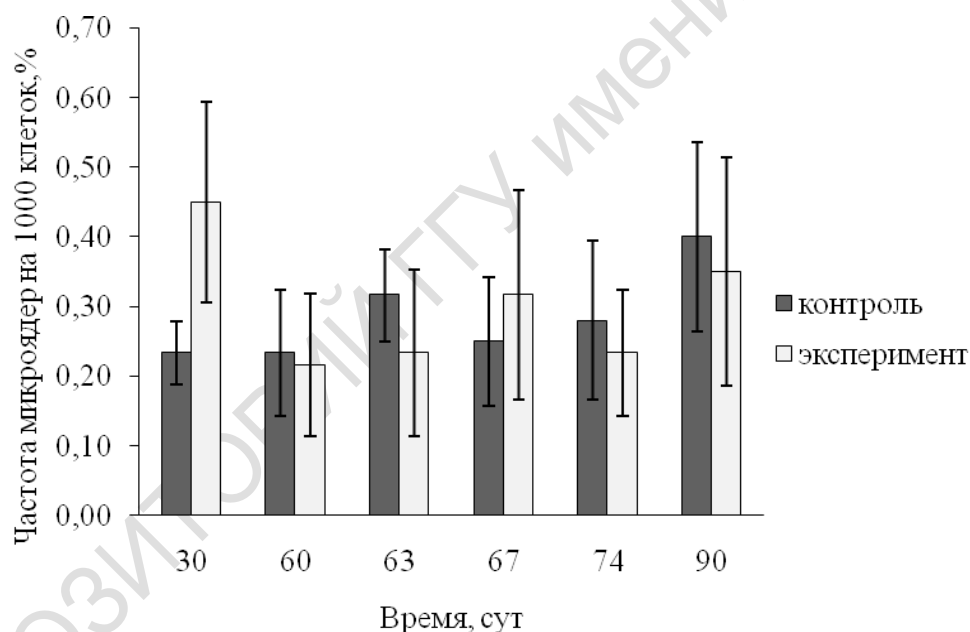


Рисунок 3 – Динамика частоты ПХЭ с микроядрами

Из рисунка 3 видно, что между контрольной и экспериментальной группой достоверное различие наблюдается на первом этапе эксперимента (30 сутки), после чего достоверного различия в группах выявить не удалось. Снижение количества ПХЭ с микроядрами происходит к 60–74 суткам, что можно объяснить высокой пролиферативной активностью клеток костного мозга. Электромагнитное излучение диапазона мобильной связи (897,2 МГц,  $0,2-0,3$  мВт/см<sup>2</sup>) стандарта GSM при времени экспозиции 30 суток увеличивает частоту ПХЭ с микроядрами в костном мозге в 1,7 раз.

### Литература

1. Шилкова, Т.В. Оценка влияния электромагнитного поля радиочастотного диапазона низкой интенсивности на содержание микроядер в эритроцитах костного мозга /

Т.В. Шилкова, Д.З. Шибкова // Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды : материалы III Междунар. науч.-практ. конференции, Челябинск, 22–23 нояб. 2010 г. – С. 66–68.

2. Hardell, L. Pooled analysis of two case-control studies on the use of cellular cordless telephones the risk of benign brain tumors diagnosed during / L. Hardell // *Int. J. Oncol.*, 2006

3. Risk Evaluation of Potential. Environmental. Hazards From Low Frequency Electromagnetic Field Exposure Using Sensitive in vitro Methods // REFLEX Final, report. – 2004. – 291 p.

4. Красовский, Г.Н. Методические указания по изучению мутагенной активности химических веществ при обосновании их ПДК в воде / Г.Н. Красовский, В.С. Журков. – М. : МЗ СССР, 1986. – № 411086.

5. Конопля, Е.Ф. Воздействие электромагнитных излучений миллиметрового диапазона на геном соматических клеток / Е.Ф. Конопля, Л.Н. Николаевич, В.И. Шалатонин // *Радиационная биология. Радиоэкология.* – 2004. – Т. 44, № 4. – С. 432–437

6. Ruediger, H.W. Genotoxic effects of RF electromagnetic fields / H.W. Ruediger. – *Pathophys.* – 2009. – Vol. 16(2–3). – P. 89–102.

7. Лукьяница, В.В. Магнитное поле, его характеристика, влияние на биологические объекты и исследования в медицине / В.В. Лукьяница // Учебное пособие для студентов мед. вузов. – Минск : МГМИ, 1997. – 38 с.

8. Рыбалко, С.Ю. Медико-биологические аспекты воздействия электромагнитного излучения мобильного телефона / С.Ю. Рыбалко, И.А. Грецкий // *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины.* – 2011. – Т. 1, № 1(1).

9. Diem, E. Non-thermal DNA breakage by mobile-phone radiation in human fibroblasts and in GFSH-R17 ragranulosa cells in vitro / E. Diem, C. Schwarz, F. Adlkofer, O. Jahn, H. Rudiger. – *Mutat Res.* – 2005. – Vol. 583(2). – P. 178–183.

10. Sharma, V.P. Mobile phone radiation inhibits Vigna radiata root growth by inducing oxidative stress / V.P. Sharma, H.P. Singh, R.K. Kohli, D.R. Batish. – *Sci. Total Environ.* 2009. – Vol. 407(21). – P. 5543–5547.

11. Vian, A. Microwave Irradiation Affects Gene Expression in Plants / A. Vian, D. Roux, S. Girard, P. Bonnet, F. Paladian, E. Davies, G. Ledoigt. – *Plan Sign Behav.* – 2006. – Vol. 1(2). – P. 67–70.

12. Hintzsche, H. 900 MHz radiation does not induce micronucleus formation in different cell types / H. Hintzsche, C. Jastrow, T. Kleine-Ostmann, T. Schrader, H. Stopper // *Mutagenesis.* – 2012. – Vol. 27(2).

13. Ferreira, A.R. Ultra high frequency-electromagnetic field irradiation during pregnancy leads to an increase in erythrocytes micronuclei / A.R. Ferreira, T. Knakievicz, M.A. Pasqualia, D.P. Gelaina, F. Dal-Pizzolo, C.E.R. Fernandez, A.A. Sallese, H.B. Ferreirab, J.C.F. Moreira // *Life Sci.* – 2006. – Vol. 80(1). – P. 43–50.

14. Пряхин, Е.А. Влияние неионизирующих ЭМИ на животных и человека : монография / Е.А. Пряхин, А.В. Аклев. – Челябинск : Полиграф-Мастер, 2006. – 220 с.