

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «САРАТОВСКИЙ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра медицинской физики
наименование кафедры

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА
ЧАСТОТАХ ЛИНИЙ СПЕКТРА ПОГЛОЩЕНИЯ КИСЛОРОДА НА
БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОБЪЕКТЫ И ХИМИЧЕСКИЕ СРЕДЫ**

АВТОРЕФЕРАТ
ВЫПУСКНОЙ КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЫ БАКАЛАВРА

студентки 4 курса 451 группы

направления 03.03.02 «Физика»
код и наименование направления

факультета нано- и биомедицинских технологий
наименование факультета

Бабкиной Надежды Александровны
фамилия, имя, отчество

Научный руководитель

Доцент, к.ф.-м.н.

должность, уч. степень, уч. звание

Рытик А.П.

подпись, дата

инициалы, фамилия

Зав. кафедрой медицинской физики

Профессор, д.ф.-м.н.

должность, уч. степень, уч. звание

Скрипаль Ан. В.

подпись, дата

инициалы, фамилия

Саратов 2020 г.

ВВЕДЕНИЕ

Множество современных достижений науки доказывают нам, что мир, в котором мы живём, это есть система. Живые организмы, которые нас окружают, представляют собой набор молекулярных структур, которые имеют упорядоченность, и ведут себя как единое целое. Поэтому любое постороннее воздействие СВЧ ЭМИ, ТГц или же КВЧ, на какую-либо из молекулярных структур сказывается на состоянии организма в целом и ведёт к его структурному изменению.

Анализ результатов современных исследований, посвященных влиянию высокочастотного электромагнитного (СВЧ ЭМИ) излучения на живые и неживые объекты, свидетельствует об объективном существовании различных эффектов и явлений. В частности, в живых объектах с клетками животного или растительного происхождения, которые в свою очередь затрагивают такие фундаментальные аспекты как: жизнедеятельность и функционирование клеточных мембран, а также жизнедеятельность в неживых объектах – в химических системах.

Общепризнанным является тот факт, что электромагнитное излучение влияет практически на все уровни функционирования любых видов – от простейших до человека. Учёными доказано, что максимальной чувствительностью к электромагнитному излучению обладают целостные организмы, меньшей чувствительностью – изолированные органы и клетки, а самой наименьшей чувствительностью - растворы макромолекул.

Однако следует заметить, что до настоящего времени нет единого мнения о ключевом звене, которое бы описывало влияние электромагнитного излучения на биологические объекты. Так, по мнению академика С. Э. Шноля, основным механизмом функционирования молекул является изменение их конформации. С другой стороны, существует ряд работ, которые посвящены описанию вращательных, колебательных и других движений молекул. Движения обуславливают поглощение электромагнитных волн, а конформационные колебания отдельных молекул синхронизируются посредством электромагнитных полей. С 1977-1988гг., Фрелих обосновал, что в результате периодических изменений объема макромолекулы генерируются акустические волны и низкочастотные электромагнитные поля. Взаимодействие между макромолекулами осуществляется

посредством электромагнитных полей. В качестве возможных путей реализации действия ЭМП предлагаются такие механизмы как:

1. Изменение ориентации больших молекул в сильных полях,
2. Тормозящее влияние на вращательную диффузию макромолекул,
3. Изменение угла химической связи в молекуле, изменение скорости реакции.

За последние 30 лет было опубликовано большое количество работ, которые посвящены поиску эффектов и механизмов действия электромагнитного излучения крайне высоких частот (ЭМИ КВЧ) на биологические объекты.

В настоящее время выделяют несколько гипотез о низко интенсивных электромагнитных излучениях для химических объектов: изменения свойств H_2O , как связанной, так и в среде, поляризация биологических молекул и клеток стохастический резонанс, изменение вероятности взаимных соударений.

Как и прежде, так и в настоящее время существует определенная потребность в быстром и бесконтактном определении некоторых параметров химических, биологических и экологических систем в условиях внешнего общего электромагнитного воздействия. При этом являются актуальными выбор модельной системы, а также методов регистрации влияния излучения. В частности, необходимы методы визуализации картины распределения электромагнитных полей внутри объекта при взаимодействии излучения с веществом.

В связи с этим **целью данной работы явилось**: исследование и разработка метода визуализации электромагнитного излучения в растворе хлорофилла на частотах 40-70ГГц, при различной мощности, а также влияние электромагнитного (СВЧ) излучения на жизнедеятельность монослойной клеточной линии глиомы крысы С6.

В задачи исследования входило:

- обоснование состава экспериментальной системы для изучения характера воздействия ЭМИ;
- проведение экспериментальных исследований по оценке влияния ЭМИ на частоте одной из линий спектра поглощения кислорода на раствор хлорофилла, при различной мощности излучения, времени экспозиции излучения, частоты;

- оценка результатов выполненных экспериментальных исследований и формулировка направления дальнейших исследований;
- выполнение сравнительного анализа жизнеспособности монослойной клеточной линии глиомы крысы С6, при воздействии сверхвысокочастотного электромагнитного излучения.

Новизна и научно-практическая значимость работы состоит в том, что впервые показана возможность визуализации электромагнитного излучения в среде хлорофилла по форме осадка на дне кюветы. Метод позволяет различать излучение в зависимости от частоты, мощности, типа волны, времени воздействия, так же можно заключить, что в данной работе получены предпосылки к использованию сверхвысокочастотного электромагнитного излучения (СВЧ) на частотах 60, 129 и 150 ГГц для разработки физиотерапевтических методов и создании метода физического курирования роста глиомы.

Основное содержание работы

Во введении обосновывается актуальность выбранной темы и решаемых задач, формируется цель исследования и определяется научная новизна.

В первой главе рассматриваются основные понятия и спектры атмосферных газов, экспериментальные записи спектра поглощения лабораторной атмосферы в диапазоне 40-500 ГГц, полученные результаты представляют интерес для развития теории молекулярных столкновений. В спектре молекулярного кислорода в мм-диапазоне заметно проявление эффекта столкновительной связи линий. профиля атмосферы и дистанционное измерение атмосферного давления.

Механизмы воздействия излучения на биологические объекты, химические и физические среды, а в частности подробно рассматривается влияние ЭМИ на жизнедеятельность *Daphnia magna* Straus, *Escherichia coli* K-12, растений, полученные результаты исследователей свидетельствуют о том, что бактерии обладают наибольшей физиологической активностью и проявляют наибольшую чувствительность к действию различных экзогенных и эндогенных факторов,

которые стимулируют или подавляют их рост, а у растений низко интенсивное УВЧ-облучение оказывает стимулирующее влияние на рост и развитие растений.

Рассматриваются также свойства фотонного кристалла листа *Begoniarex*-часть длин волн, рассеиваемых при дифракции, идет на фотосинтезирующие комплексы, и это позволяет использовать энергию фотонов даже в той области спектра, которая недоступна обычным хлоропластам.

А также рассматривались такие понятия как:

Хлорофилл– это разновидность пигмента растений, ответственного за поглощение света в процессе фотосинтеза, в результате которого создается энергия. Зелёный пигмент присутствует во всех растениях и способствует поглощению растениями энергии солнца

Хлорофиллипт– средство растительного происхождения, применяемое в медицине, в качестве противогрибкового препарата, представляет собой сложный органический препарат, изготовленный из смеси хлорофиллов листьев эвкалипта.

Глиома головного мозга – это первичная опухоль головного мозга, происходящая из клеток нейроглии (вспомогательных клеток нервной ткани)

Во второй главе изложены: принцип проведения эксперимента, состав экспериментальной установки и результаты исследования влияния электромагнитного излучения на частоте одной из линий спектра поглощения кислорода на раствор хлорофилла (рис.1).

В ходе работы впервые показана возможность визуализации ЭМИ в среде хлорофилла по форме его осадка на дне кюветы. С помощью генератора Г4–142 выполняли облучение раствора хлорофиллипта 2%-го.

Генератор сигналов высокочастотный Г4–142 предназначен для использования в качестве источников СВЧ колебаний при настройке, регулировке и испытаниях радиотехнических устройств миллиметрового диапазона волн. Данные регистрировались с помощью видеокамеры.

Уровень мощности изменяли от 0 до максимальной $4 \cdot 10^{-3}$ Вт при помощи аттенюатора, проградуированного от 0 до 100дБ.

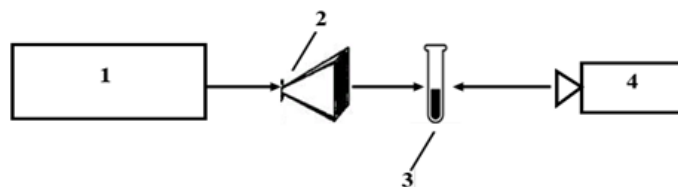


Рис.1. Блок схема экспериментальной установки

Установка имеет следующие основные элементы:

1. Генератор сигналов высокочастотный Г4–142. В приборах Г4–142 применена электрическая перестройка частоты. Установка частоты осуществляется кодовым переключателем, расположенным на передней панели Г4–142.
2. Рупорная металлическая антенна
3. Кювета с раствором хлорофиллипта масляного 2%-го, с добавлением дистиллированной воды в соотношении 1:1 (Среда во время облучения была открыта)
4. Регистрирующее устройство (Видеокамера)

По истечении времени от 10 до 60 минут, на дне кюветы образовывался осадок в форме симметричной параболы и регистрировались данные, (длительность каждой точки эксперимента; длина и ширина осадка; цвет; интенсивность исследуемого образца), но возможна не совершенность результатов, проведенных исследований и она обусловлена внешним воздействием и не идеальностью условий проведения эксперимента.

Данный метод позволяет различать излучение в зависимости от частоты, мощности, типа волны, времени воздействия. При значении ослабления мощности от 25 до 60дБ наблюдается распределение осадка по дну кюветы в форме параболы. На мощности от 25 до 30дБ у нас будет слабовыраженный осадок, он почти не заметен, аналогично и на 40-45 дБ.

На низких частотах, таких как от 40-45 ГГц явных изменений осадка по ширине и длине нет, а на частотах от 50 до 60 ГГц, наблюдается изменение цвета осадка (интенсивность цвета) увеличение в ширине и длине, а также смещение осадка, при установке диэлектрика в волновод и образование симметричной параболы (рис.2).

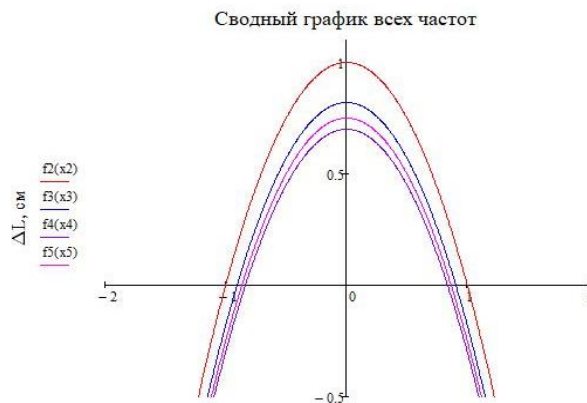


Рис.2. Сводный график всех частот

Наиболее подходящее время воздействия на раствор хлорофиллипта от 40 до 60 минут, так как осадок за это время приобретает ярко выраженный зелёный цвет и, а также увеличивается длина осадка (рис.3).

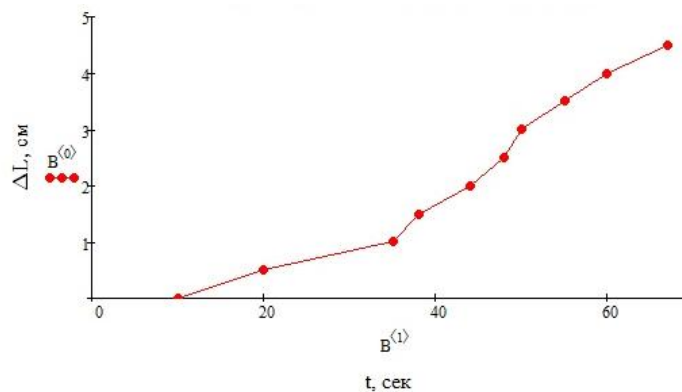


Рис.3. Зависимость длины осадка от времени

Для данного метода визуализации электромагнитного излучения в среде хлорофилла по форме его осадка на дне кюветы, подходящей частотой и мощностью является 60 ГГц и 60 дБ, так как можно наблюдать и в полной мере оценивать распределение осадка по дну кюветы и форму осадка, и тип волны. Если же вставить диэлектрик в волновод, то мы получаем совершенно другой результат: происходит «отклонение» осадка в противоположную сторону, в отличие от контрольного образца. Мы наблюдаем изменения в толщине и длине осадка, а также в интенсивности цвета.

В третьей главе изложены: принцип проведения эксперимента, состав экспериментальной установки и результаты исследования сравнительного анализа жизнеспособности клеточной линии глиомы крысы (C₆) при воздействии электромагнитного излучения сверхвысокочастотного диапазона.

Гипоксия характерна для солидных опухолей, а для их лечения применяется в частности гипербарическая оксигенация. Изменения концентрации кислорода влияют на антиоксидантные пути, что ведет к изменению сигнализации о выживаемости клеток. Данные о влиянии гипербарической оксигенации на глиому не однозначны и требуют дополнительных исследований.

Можно заключить, что наличие кислорода в опухолевом процессе имеет значение для ее роста.

В связи с этим целью работы явилось выполнение сравнительного анализа жизнеспособности монослойной клеточной линии глиомы крысы С6, при воздействии сверхвысокочастотного электромагнитного излучения (СВЧ) на частотах 60, 129 и 150 ГГц при плотности мощности 4 мВт/см^2 . Выбранные частоты 60 и 129 ГГц входят в спектры поглощения атмосферного кислорода, частота 150 ГГц характерна для спектральной линии поглощения оксида азота. Клетки культуры помещали каждый час в течении 6 часов из термостата под рупор СВЧ- генератора на 5 минут непрерывного воздействия (рис.4). Время до начала воздействия излучения от начала посева на питательную среду составляло 24 часа.

Можно заключить, что в данной работе получены предпосылки к использованию сверхвысокочастотного электромагнитного излучения (СВЧ ЭМИ) на частотах 60, 129 и 150 ГГц для разработки физиотерапевтических методов и создания метода физического курирования роста глиомы.

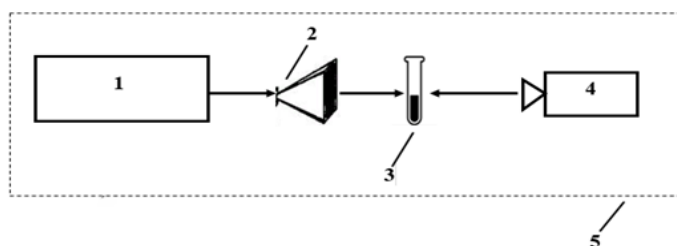


Рис.4. Блок-схема экспериментальной установки

Установка имеет следующие основные элементы:

1. Генератор сигналов высокочастотный Г4-142. В приборах Г4-142 применена электрическая перестройка частоты. Установка частоты осуществляется кодовым переключателем, расположенным на передней панели Г4-142.

А) Аппарат КВЧ терапии и миллиметрового диапазона (1-10мм) крайне высокой частоты молекулярных спектров оксида азота ($150 \pm 0,75 \text{ ГГц}$) и кислорода ($129 \pm 0,75 \text{ ГГц}$).

2. Рупорная металлическая антенна

3. Колба с питательной средой. Клетки глиомы крысы С6 в питательной среде ДМЕМ с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки и антибиотиков пенициллин 10^5 ед/л, стрептомицин 100 мг/л. (Среда во время облучения была открыта)

4. Регистрирующее устройство (Видеокамера)

5. Термостат (Biosan Thermo Scientific, прибор, предназначенный для поддержания постоянной температуры)

Клетки линии глиомы крысы С6 культивировали в питательной среде ДМЕМ с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки и антибиотиков (пенициллин 10^5 ед/л, стрептомицин 100 мг/л). Клетки культивировали в 6-ти луночном планшете, вносили $0,5 \cdot 10^5$ кл/лунка. По достижении 70-90% монослоя клеток, проводили облучение клеток. Через 24 часа проводили подсчет общего количества живых клеток. Жизнеспособность культур оценивали с помощью окрашивания 4%-ным раствором трипанового синего (BioRad, США), клеточную суспензию смешивали с реактивом, в соотношении 1:1. Через 5 мин проводили подсчет общего количества и доли живых клеток, на автоматическом счетчике клеток TC20 (BioRad, США). Препараты вносились в 3 повторах, эксперимент повторяли 3 раза. Воздействие СВЧ излучения на жизнеспособность клеток оценивали по следующим показателям:

- общая концентрация клеток;
- концентрация живых клеток;
- концентрация мертвых клеток;
- жизнеспособность клеток (% живых клеток от их общего количества).

Статистический анализ данных.

Все исследования проводили в трех технических повторах.

Подсчитывали среднее значение и величину разброса от него в Excel (Microsoft, США). Оценку достоверности различий жизнеспособности клеток при разных условиях хранения проводили с использованием U-критерия Манна–Уитни.

Результаты эксперимента показаны на рисунке 5 и приведены в таблице №1.

Так же жизнеспособность культур оценивали с помощью окрашивания пропидиум иодидом и бисбензимидам (Hoechst 33342) по стандартному методу.

Суспензию клеток культивировали в питательной среде DMEM с добавлением пропидиум йодида 5 мкг/мл и бисбензимида 5 мкг/мл при 37°C с 5% содержанием CO₂, в течении 10 мин (рис.5).

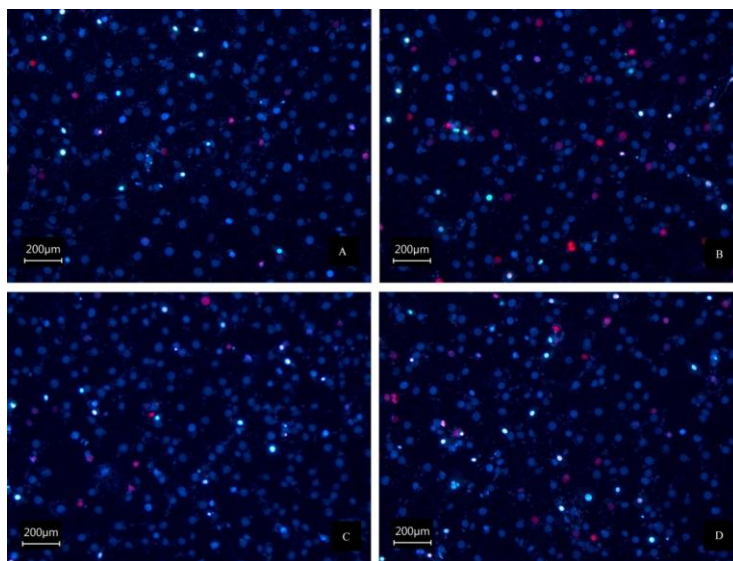


Рис.5. Фотографии клеток С6, контрольной группы (А) и после воздействия СВЧ на частотах 60, 129 и 150 ГГц (В, С, D) при плотности мощности 4 мВт/см², окрашенные пропидиум йодидом и бисбензимидадом.

Из рисунка 5 видно, что гомогенность окрашенной среды при подсчете живых клеток разная, наибольшее отличие наблюдается в случае воздействия излучения на частоте 150 ГГц. Данные по количеству живых клеток представлены в следующей таблице №1.

Таблица № 1 – Количество жизнеспособных клеток

Исследуемая группа	Количество всех клеток, *10 ⁵ кл/лунка	Количество живых клеток, *10 ⁵ кл/лунка	Количество всех клеток, в %	Количество живых клеток, в %
Контроль	1,59 ± 0,19	0,94 ± 0,28	100 ± 12%	100 ± 11,8%
150 NO ГГц	2,01 ± 0,35	1,01 ± 0,15	126,2 ± 22,2%	107 ± 6,3%
129 O ₂ ГГц	1,77 ± 0,08	0,9 ± 0,09	111,3 ± 5,0%	95,8 ± 4,1%
60 ГГц	1,88 ± 0,39	0,91 ± 0,09	118,1 ± 24,8%	96,5 ± 3,9%

Из результатов анализа таблицы можно сделать вывод, что воздействие СВЧ излучения на число живых клеток не значительно и зависит от частоты СВЧ излучения. В частности, наблюдается схожая тенденция для двух линий спектра

поглощения кислорода 60 ГГц и 129 ГГц, что говорит об одинаковом механизме влияния этого излучения. На частоте 150 ГГц наблюдается практически противоположный эффект.

При воздействии сверхвысокочастотного электромагнитного излучения (СВЧ) на частотах 60 ГГц и 129 ГГц при плотности мощности 4 мВт/ оказывают угнетающее воздействие на клеточную линию С6, снижая метаболическую активность и количество живых клеток в процентном соотношении, а при воздействии излучения на частоте 150 ГГц активизирует клеточный метаболизм клеточной линии С6, при этом повышается процент жизнеспособных клеток, относительно контрольной группы.

Полученные данные по воздействию сверхвысокочастотного электромагнитного излучения (СВЧ ЭМИ) на частотах 60, 129 и 150 ГГц при плотности мощности 4 мВт/см² могут быть использованы для разработки физиотерапевтических методов и создании метода физического курирования роста глиомы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследования были проведены для того, чтобы определить, как высокочастотные электромагнитные излучения (СВЧ ЭМИ), терагерцовое излучение (ТГц) и КВЧ излучения влияют на биообъекты и химические среды.

Анализ результатов исследований, влияния высокочастотного электромагнитного (СВЧ ЭМИ) излучения на живые и неживые объекты, в ходе выполненной работы, свидетельствует о создании метода физического курирования роста глиома, и о создании нового метода визуализации электромагнитного излучения в среде хлорофиллпипта по форме распространения осадка по дну кюветы.

С помощью генератора Г4-142 выполнялось облучение раствора хлорофиллпипта двухпроцентного и по истечении определенного времени, в среднем это занимало от 10 до 60 минут, свидетельствовало нам это о том, что на дне кюветы образовывался осадок в форме симметричной параболы. Регистрировались данные: время эксперимента; длина и ширина осадка; цвет – интенсивность исследуемого образца.

Данный метод позволяет различать излучение в зависимости от частоты, мощности, типа волны, времени воздействия. При значении ослабления мощности от 25 до 60дБ наблюдается распределение осадка по дну кюветы в форме параболы. На мощности от 25 до 30дБ у нас будет слабовыраженный осадок, он почти не заметен, аналогично и на 40-45 дБ.

При значении мощности от 50-60 осадок приобретает форму симметричной параболы, длина его составляет до 3,5 см. При установке диэлектрика в волновод, осадок смещается в правую сторону на 2,5 мм. Аналогичные изменения осадка, наблюдаются из-за изменения частоты от 40-60 ГГц. На низких частотах, таких как от 40-45 ГГц явных изменений осадка по ширине и длине нет, а на частотах от 50 до 60 ГГц, наблюдается изменение цвета осадка (интенсивность цвета) увеличение в ширине и длине, а также смещение осадка, при установке диэлектрика в волновод и образование симметричной параболы.

Наиболее подходящее время воздействия на раствор хлорофиллипта от 40 до 60 минут, так как осадок за это время приобретает ярко выраженный зелёный цвет и, а также увеличивается длина осадка.

Для данного метода визуализации электромагнитного излучения в среде хлорофилла по форме его осадка на дне кюветы, подходящей частотой и мощностью является 60 ГГц и 60 дБ, так как можно наблюдать и в полной мере оценивать распределение осадка по дну кюветы и форму осадка, и тип волны. Если же вставить диэлектрик в волновод, то мы получаем совершенно другой результат: происходит «отклонение» осадка в противоположную сторону, в отличие от контрольного образца. Мы наблюдаем изменения в толщине и длине осадка, а также в интенсивности цвета.

Возможна несовершенство результатов, проведенных исследований и она обусловлена внешним воздействием (температурой помещения, влажность воздуха, свет) и не идеальностью условий проведения эксперимента.

Результаты исследования сравнительного анализа жизнеспособности монослойной клеточной линии глиомы крысы С6, при воздействии сверхвысокочастотного электромагнитного излучения (СВЧ ЭМИ) на частотах 60,129 и 150 ГГц, свидетельствуют нам о том, что:

- воздействие СВЧ на число живых клеток не значительно и зависит от частоты СВЧ излучения
- Схожая тенденция результатов проглядывается в результатах для двух линий спектра поглощения кислорода 60 и 129 ГГц
- На частоте наблюдался 150 ГГц противоположный эффект, в отличие того, что было на 60 и 129 ГГц.
- На частотах 60 и 129 ГГц при воздействии СВЧ излучения, оказывается угнетающее воздействие на клеточную линию С6.
- На частотах 60 и 129 ГГц снижается метаболическая активность и количество живых клеток.
- При воздействии излучения на частоте 150 ГГц активируется клеточный метаболизм, клеточной линии С6.

- При воздействии излучения (СВЧ ЭМИ) на частоте 150 ГГц повышается процент жизнеспособных клеток, относительно контрольной группы клеточной линии С6.

Все вышеперечисленные данные сверхвысокочастотного электромагнитного излучения (СВЧ) на частотах 60, 129 и 150 ГГц при плотности мощности 4 мВт/см^2 , могут быть использованы для разработки физиотерапевтических методов и так же участвовать в создании метода физического курирования роста глиомы.

А также полученные в ходе выполняемой работы результаты могут быть положены в основу при выработке рекомендаций для использования в воздействия излучения различной природы в качестве лечебных процедур.