

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра медицинской физики
наименование кафедры

**ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ ПАРАМЕТРОВ
БИОЛОГИЧЕСКОЙ КЛЕТОЧНОЙ СРЕДЫ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ
ИЗЛУЧЕНИЯ 45-60 ГГЦ**

наименование темы выпускной квалификационной работы полужирным шрифтом

**АВТОРЕФЕРАТ ВЫПУСКНОЙ КВАЛИКАЦИОННОЙ
МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ**

Студента(ки) 2 курса 2221 группы
направления (специальности) 03.04.02 «Физика»
код и наименование направления
институт физики
наименование факультета, института
Бабкиной Надежды Александровны
фамилия, имя, отчество

Научный руководитель
доцент, к.ф.-м.н., доцент
должность, уч. степень, уч. звание

02.06.2022 
дата, подпись

А.П. Рытик
инициалы, фамилия

Заведующий кафедрой
д.ф.-м.н., профессор
должность, уч. степень, уч. звание

А.В. 10.06.22
дата, подпись

А.В. Скрипаль
инициалы, фамилия

Саратов 2022

Введение

Электромагнитные процессы происходят на всех уровнях функционирования любых видов – от простейших до человека. Любое постороннее воздействие СВЧ ЭМИ, ТГц или же КВЧ, на какую-либо из молекулярных структур сказывается на состоянии организма в целом и ведет к его структурному изменению.

В настоящее время существует определенная потребность в быстром и бесконтактном определении некоторых параметров химических, биологических систем в условиях внешнего общего электромагнитного воздействия. При этом являются актуальными выбор модельной системы, а также методов регистрации влияния излучения. В частности, необходимы определенные механизмы визуализации картины распределения электромагнитных полей внутри объекта при взаимодействии излучения с веществом, которые на сегодняшний момент до конца не изучены.

Энергоинформационные свойства химических веществ распространяются в пространстве подобно волнам. Часть энергии представлена в виде поля и может излучаться в пространство, передаваться другим телам, при этом, изменяя их свойства. Таким образом, предполагается, что неконтактное влияние химических веществ имеет электромагнитную природу. Для понимания механизма физической рецепции электромагнитного излучения важно найти первичные физические объекты в биологических тканях, взаимодействующие с электромагнитными волнами. При правильном использовании, электромагнитное излучение может стать ключом к повышению различных параметров живых организмов.

Тщательное и поэтапное изучение влияния ЭМИ позволит применять полученные знания для целенаправленного воздействия на живые организмы, направленного на достижение определённых реакций и результатов: изменение характера и интенсивности процессов жизнедеятельности, роста и

развития биообъектов, модификацию их отклика на другие внешние воздействия, в том числе, стрессовые факторы и многие другие параметры.

Существует ряд работ, подтверждающих механизм изменения реакционной способности кислорода путем влияния на него электромагнитного излучения на частотах спектра поглощения кислорода или оксида азота. В одной из работ в 2012 году в журнале Nature [1] был заявлен сенсационный результат - первый кислород стимулировал появление биологических часов. Авторы предположили, что пероксиредоксин, фермент, участвующий в нейтрализации опасных форм кислорода в клетке, может быть основой биологических часов, универсальных для всех существующих живых организмов. Возможно, что нарушения циркадного ритма биологического объекта способны менять реакционную способность кислорода в клетке. Очевидно, что управление химическим осциллятором и метаболизмом клетки можно изменять реакционную способность стартовой молекулой кислорода.

А в работе [2] показано, что внешнее воздействие электромагнитного излучения, в том числе на частотах в диапазоне 45-60 ГГц, которые совпадают с частотами линии спектра поглощения атмосферного кислорода на автоколебательную реакцию Бриггса-Раушера происходит пролонгация времени реакции вследствие интенсификации процесса выделения кислорода.

Таким образом, можно заключить, что скоростью деления клеток можно управлять внешним ЭМИ, с помощью определенной частоты соответствующей линии спектра поглощения атмосферного кислорода. Управляя химическим осциллятором и метаболизмом клетки, можно изменять реакционную способность стартовой молекулы кислорода.

Взаимодействия электромагнитных волн с биологическими объектами является резонансность отклика биосистем на электромагнитное воздействие, означающее, что изменение состояния или функции биологического объекта наблюдается только под действием электромагнитного излучения в узком частотном интервале на определенной линии поглощения кислорода.

Существует несколько частот, воздействие на которых обуславливает качественно одинаковый отклик биосистем.

В связи с этим **целью данной работы явилось:** исследование и разработка методов визуализации электромагнитного излучения в гомогенизированном растворе хлорофилла в диапазоне частот 45-60 ГГц при различных параметрах (плотности мощности, экспозиции, частоты), а также изучить влияние импульсного электромагнитного излучения для линии зародышей кукурузы *in vitro* в процессе каллусогенеза.

В задачи исследования входило:

- Обоснование состава экспериментальной системы для изучения характера воздействия ЭМИ на биологические объекты и химические среды.
- Проведение экспериментальных исследований по оценки влияния ЭМИ в диапазоне частот 45-60 ГГц на раствор хлорофилла, при плотности мощности $0,1 \text{ мВт/см}^2$ - 2 мВт/см^2 , с учетом времени экспозиции излучения (не превышающего 15-ти минут).
- Произвести измерение однородности гомогенизированного раствора хлорофилла после электромагнитного излучения, произвести измерения локального нагрева кюветы и исследуемой среды.
- Провести предобработку зрелых зародышей кукурузы импульсным ЭМП СВЧ.
- Инициирование каллусогенез в культуре зрелых зародышей кукурузы в контрольных образцах и в образцах после воздействия ЭМИ.
- Анализ особенности стерильной культуры и развития каллуса до и после воздействия ЭМИ СВЧ.
- Обоснование проанализированных особенностей стерильной культуры развития каллуса до и после воздействия ЭМИ СВЧ.

- Влияние плотности мощности и экспозиции на метаболизм биологической клетки на примере каллусогенеза.
- Оценка результатов выполненных экспериментальных исследований и формулировка направления дальнейших исследований.

Новизна и научно-практическая значимость работы состоит в том, что впервые показана возможность регистрировать изменения однородности водного раствора хлорофилла, отличающийся тем, что в качестве изменений однородности раствора регистрируют осадок, по длине которого судят о плотности мощности излучения при воздействии неионизирующего излучения в полосе частот 45-60 ГГц и плотности мощности $0,1 \text{ мВт/см}^2 - 2 \text{ мВт/см}^2$, в том числе исследование возможности визуализации электромагнитного излучения сверхвысокочастотного диапазона, а также расширение аппаратных возможностей детектирования электромагнитного излучения. А также отмечено положительное влияние предобработки эксплантов импульсным магнитным полем на процесс каллусогенеза по подбору оптимальных параметров ЭМИ для индукции каллусогенеза у линий кукурузы с низким морфогенетическим потенциалом.

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, 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 *Daphniamagna 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. Влияние ЭМП на процесс каллусогенеза и понятие морфогенеза и его виды.

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

Каллусогенез –Большой интерес в исследованиях, представляет собой процесс культивации (прокариот и эукариот выращиваются в контролируемых условиях) недифференцированных клеток растения, которые способны к пролиферации или каллуса. У всех наземных растений, повреждённая ткань восстанавливается, благодаря запуску процесса разрастание ткани организма путём размножения клеток делением. Такие клетки называются каллусными.

Во второй главе изложены: принцип проведения эксперимента, состав экспериментальной установки и результаты исследования изменений параметров биологической клеточной среды при воздействии электромагнитного излучения на частоте одной из линий спектра поглощения кислорода 45-60 ГГц на раствор хлорофилла и для линии зародышей кукурузы *in vitro* в процессе каллусогенеза.

В работе были рассмотрены механизмы воздействия сверхвысокочастотного излучения диапазона частот от 45-60 ГГц на некоторые биологические объекты.

Для выполнения исследований разрабатывалась экспериментальная установка на основе СВЧ-генератора сигналов Г4-142 и фото, и видео регистрирующего устройства, для оценки изменения оптических свойств и формы осадка раствора (рис.1). В качестве исследуемой среды использовался заранее приготовленный раствор хлорофилла из листьев эвкалипта на основе деионизованной воды (в соотношении 1:1, 5 мл дистиллированной воды и 5 мл раствора хлорофилла) или использовался готовый раствор хлорофиллипта 2%-й концентрации (в соотношении 2:1, 2 мл. готового 2% раствора и 1 мл воды). Облучение выполнялось в прозрачной полипропиленовой кювете.

Модулированный сигнал от генератора может привести к увеличению проникновения излучения вглубь раствора, и, соответственно, к усилению эффектов самоорганизации в растворе, позволяющих наглядно увидеть фронт распространяющейся электромагнитной волны.

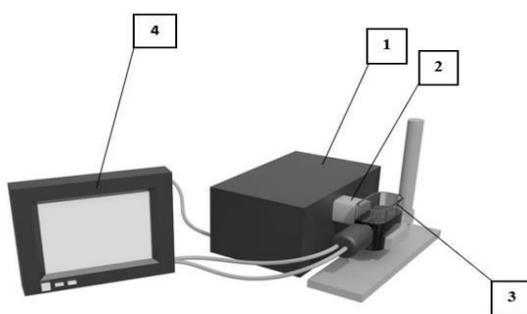


Рис.1. Блок схема экспериментальной установки: 1. Генератор сигналов высокочастотный Г4-142; 2. Рупорная металлическая антенна; 3. Кювета с гомогенизированным раствором хлорофилла; 4. Регистрирующее устройство (видеокамера).

Способ визуализации электромагнитного излучения, заключался в воздействии электромагнитного излучения на частотах от 45 до 60 ГГц на изотропный гомогенизированный раствор хлорофилла и регистрации изменений однородности раствора, отличающийся тем, что в качестве изменений однородности раствора регистрировался осадок, по длине которого

были сделаны соответствующие выводы о плотности мощности излучения при различной длине осадков:

- при длине осадка 0,1-1,0 см плотность мощности составляет 0,01-0,7 мВт/см²,
- при длине осадка 1,5 – 2,0 см плотность мощности составляет 1 мВт/см²,
- при длине осадка 2,1–2,5 см плотность мощности составляет 2 мВт/см².

А также оценивалась возможность визуального обнаружения электромагнитного поля сверхвысокочастотного диапазона при помощи раствора хлорофилла.

Воздействие СВЧ- излучения влияет на однородность раствора хлорофилла – в кювете наблюдается осветленная область и в растворе появляются структуры, по которым можно говорить о наличии электромагнитного излучения.

В третьей главе изложены: влияние электромагнитного излучения на каллусогенез зрелых зародышей кукурузы

Биологическим объектом для исследования электромагнитного излучения послужили две линии зародышей кукурузы: АТТМ (характеризуется наследственной предрасположенностью к партеногенезу) и КМ (Коричневый маркер, контролирующий окраску растения: стебель, обертки початков; в период цветения растения приобретают коричневый цвет. Такая линия кукурузы характеризуется позднеспелостью растения.).

В качестве источника ЭМИ использовалась экспериментальная установка, разработанная сотрудниками научно-производственного предприятия «ООО НПП НИКА» (рис.2)

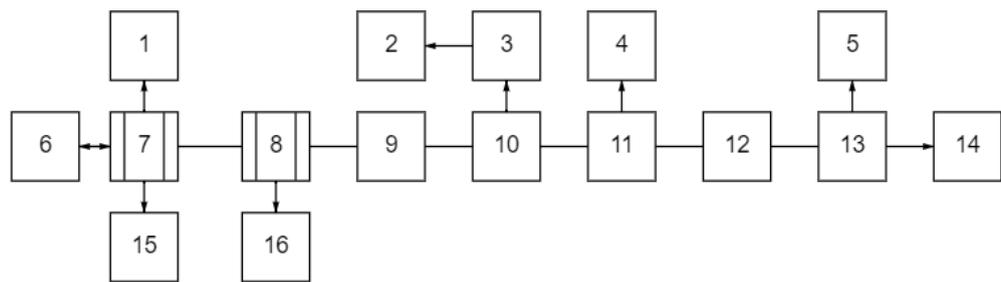


Рис.2. Блок схема экспериментальной установки

1 – Система охлаждения; 2 – Осциллограф; 3 – Детекторная секция СВЧ; 4 – Ваттметр-измеритель мощности (1); 5 – Измеритель мощности (2); 6 – Модулятор; 7 – Магнетрон; 8 – у-циркулятор; 9 – Аттеньюатор; 10, 11, 13 – Направленные ответвители; 12 – Рабочая камера; 14, 16 – Согласованные нагрузки; 15 – Блок канала

Предобработка зародышей кукурузы перед воздействием ЭМИ:

Из обработанных зрелых зерновок кукурузы в стерильных ламинарных боксах выделяли зародыши кукурузы и помещали их в пробирки на заранее подготовленную, искусственную, питательную среду Мурасиге-Скуга (МС), пробирки закрывали стерильными пробками и подвергали воздействию электромагнитного излучения с частотой 60 ГГц в течение 5 минут

Стерилизацию материала проводилась в несколько этапов: Зерновки промывали под проточной водой в течение 15 минут. По прошествии суток, в ламинарном боксе убирали скальпелем с зерновок семенную кожуру, после помещали очищенные зерновки в стерильный мерный стаканчик и заливали спиртом 70%-м на 30 секунд, после сразу заливали Мертиолят и оставляли зерновки на 5 минут. По прошествии 5 минут, зерновки промывали тремя подходами дистиллированной воды, выдерживая каждый раз по 5 минут и помещали зерновки в чашки Петри.

Исследования проводились в несколько повторов. В каждой итеративности использовали 20 помеченных пробирок (S1-S20) с облученными зародышами кукурузы и 20 пробирок Kontrl (1)- Kontrl (20), которые не подвергались электромагнитному излучению.

Через 5-6 недель проводили оценку стерильных культур. Определяли количество инициированных культур, как соотношение эксплантов на которых развивался каллус, к общему количеству эксплантов.

Для выявления влияния ЭМИ на интенсивность клеточных делений использовался косвенный показатель – вес каллуса. Для определения веса каллуса эксплант извлекали из пробирок и взвешивали с помощью лабораторных весов.

1. Оценка эксплантов через 5 недель культивирования показала, что у обеих линий АТТМ и КМ, образовывалась каллусная ткань, но в то же время, стоит отметить, что у контрольной линии КМ, частота инициации стерильных культур была на несколько порядков ниже по сравнению с контрольной линией АТТМ ($33,3 \pm 15,3$ и $60 \pm 27,4\%$).

При воздействии ЭМИ СВЧ на зародыши кукурузы, у обеих линий АТТМ (S1-S20) и КМ (S1-S20) успешно инициировались к развитию около 60% эксплантов (рис.3.). Причем, итеративность эксперимента варьировала частоту инициации в меньшей степени, по сравнению с контролем. Так, у линии КМ количество инициированных культур после воздействия на зародыши кукурузы ЭМИ составило от 55,0 до 60,0% (коэффициент вариации $CV=8,3\%$ - стандартного отклонения к среднему), а у линии АТТМ от 65,0 до 70,0% ($CV=10,9\%$).

Рис.3. Анализ развития каллуса в культуре зародышей кукурузы контрольных образцов КМ- (Контроль1-Контроль20) и АТТМ образцов – Kontrl (1)- Kontrl (20)а также, АТТМ- (S1-S20) и КМ - (S1-S20) после облучения ЭМИ. (через 5 недель культивирования)

2. Оценка результатов обработки зародышей кукурузы ЭМИ на рост каллуса через 6 недель.

Через 6 недель культивирования экспланты извлекали из пробирок и взвешивали. Анализ полученных результатов показал, что рост каллуса зависит от генотипа линии.

В отличие от линии КМ после ЭМИ СВЧ (S1-S20) и КМ Kontrl (1)- Kontrl (20) у линии АТТМ каллусная ткань наиболее активно нарастала как после воздействия электромагнитного излучения (S1-S20), так и в контрольных образцах Kontrl (1)- Kontrl (20).

Достоверных отличий по интенсивности развития каллуса в контроле и образцах после воздействия ЭМИ у линии АТТМ не обнаружено. В контроле средний вес эксплантов составил $41,0 \pm 32,8$ мг, а после воздействия электромагнитного излучения – $42,0 \pm 13,8$ мг (рис.4.). У линии КМ, напротив, вес эксплантов после воздействия ЭМИ СВЧ на зародыши кукурузы был больше, чем в контроле ($29,3 \pm 2,4$ и $18,9 \pm 4,5$ мг).

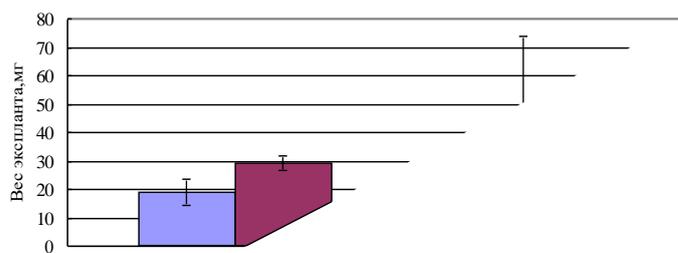


Рис.4. Анализ веса эксплантов в культуре зародышей кукурузы, контрольных образцов КМ- Kontrl (1)- Kontrl (20) и АТТМ образцов - Kontrl (1)- Kontrl (20) а также, АТТМ- (S1-S20) и КМ - (S1-S20) после облучения ЭМИ. (через 6 недель культивирования)

Заключение

Визуализация магнитных и электромагнитных полей является важной задачей, в частности для понимания механизмов влияния СВЧ излучения на человека. Методы визуализации электромагнитного излучения (ЭМИ) используются не только в научных исследованиях, но и в промышленности, медицине и т.д., характеристиками в подборе новых сред для визуализации ЭМИ являются: диапазон частот и плотность мощности, которые возможно детерминировать. В настоящее время существует определенная потребность в быстром и бесконтактном определении некоторых параметров химических, биологических систем в условиях внешнего общего электромагнитного воздействия. При этом являются актуальными выбор модельной системы, а также методов регистрации влияния излучения.

В работе по исследованию влияния ЭМИ на раствор хлорофилла, были рассмотрены механизмы воздействия излучения диапазона частот от 45-60 ГГц и были получены следующие результаты, в качестве изменений однородности раствора регистрировался осадок, по длине которого были сделаны соответствующие выводы о плотности мощности излучения при различной длине осадков:

- при длине осадка 0,1-1,0 см плотность мощности составляет 0,01-0,7 мВт/см²,
- при длине осадка 1,5 – 2,0 см плотность мощности составляет 1 мВт/см²,
- при длине осадка 2,1–2,5 см плотность мощности составляет 2 мВт/см².
- Дополнительно проводились тепловизионные исследования, которые достоверно показывали отсутствие нагрева среды или кюветы от плотного примыкания кюветы к фланцу волновода генератора.
- Нарушение изотропности вызывают лишь частоты от 45 до 60 ГГц.

- В диапазоне частот от 70 до 100 ГГц, не наблюдается желаемого эффекта визуализации ЭМИ. Гомогенизированный раствор не выпадал в осадок, среда равномерно распределялась по дну кюветы.

Полученные результаты позволяют предположить возможность использования изотропной среды хлорофилла для визуализации ЭМИ. Данный метод позволяет различать излучение в зависимости от частоты, плотности мощности, времени воздействия.

В ходе экспериментальных исследований по *воздействию ЭМИ СВЧ на культуру зародышей кукурузы* пришли к выводам о том, что:

1. При использовании в качестве эксплантов зрелых зародышей у изученных линий кукурузы (АТТМ и КМ) на частоту инициации каллусной культуры достоверное влияние оказывал как генотип линии, так и предобработка зародышей импульсным ЭМП СВЧ. У линии КМ наблюдалось существенное увеличение (в среднем на 25%) частоты инициации каллусных культур после предобработки эксплантов ЭМИ.

2. После облучения импульсным электромагнитным полем, у линии КМ наблюдалось достоверное увеличение веса каллусов с $18,9 \pm 4,5$ мг (контроль) до $29,3 \pm 2,4$ мг. Достоверных отличий по интенсивности развития каллуса в контроле и опыте у линии АТТМ не обнаружено ($41,0 \pm 32,8$ и $42,0 \pm 13,8$ мг, соответственно).

3. У линии КМ из щитка зародыша развивался плотный и компактный каллус (каллус первого типа), который характеризуется медленным ростом. У линии АТТМ развитие каллуса происходило по второму типу, т.е. формировался мягкий, хрупкий, белый или бледно-желтый каллус, который характеризуется более высокой скоростью роста по сравнению с каллусом первого типа.

4. Выявленное положительное влияние предобработки эксплантов импульсным электромагнитным полем на процесс каллусогенеза

свидетельствует о перспективности работ по подбору оптимальных параметров ЭМИ для индукции каллусогенеза у линий кукурузы с низким морфогенетическим потенциалом.

Проведенные исследования и все вышеперечисленные данные анализа результатов исследований, влияния высокочастотного электромагнитного (СВЧ ЭМИ) излучения на неживые объекты, могут помочь при описании влияния высокочастотных электромагнитных излучений (СВЧ ЭМИ), а также могут способствовать расширению аппаратных возможностей детектирования электромагнитного излучения. Также полученные результаты могут быть полезны: дозиметристам, физикам, радиобиологам и в отраслях науки и техники, где необходимо наличие индикации излучения.

В результате настоящего исследования, был разработан метод визуализации электромагнитных полей и исследованы параметры изменения биологических сред, вследствие облучения ЭМИ СВЧ. Полученные результаты исследования легли в основу патентной заявки «Способ визуализации электромагнитного излучения в изотропном растворе хлорофилла» №2022102296, 01.02.2022г.

Список использованной литературы

1. Edgar, R., Green, E., Zhao, Y. et al. Peroxiredoxins are conserved markers of circadian rhythms. *Nature* 485, 459–464 (2012).
2. Усанов Д.А., Рытик А.П. Влияние терагерцового электромагнитного излучения на частоте поглощения молекулярного кислорода на автоколебательную реакцию Бриггса-Раушера // *Изв. вузов. Прикладная нелинейная динамика*. 2012, т.20, номер 5, с. 26-32.
3. Макаров Д.С. Спектр поглощения кислорода в ММ диапазоне: измерение и моделирование профиля поглощения в широком интервале температур // *Автореферат*, 2011. -27с
4. Серов Е., Кошелев М., Вилков И., Одинцова Т., Паршин В. Исследование спектра поглощения микроволн атмосферным водяным паром для задач дистанционного зондирования окружающей среды, 2015. -77с.
5. Березовчук А.В., Шантроха А.В., Старшов. М. Электромагнитное излучение и химические реакции // *Молодой ученый*. — 2010. — №11. Т.1. С. 109-112.
6. Третьяков М. Ю. Высокоточная резонаторная спектроскопия атмосферных газов в миллиметровом и субмиллиметровом диапазонах длин волн // — Нижний Новгород: ИПФ РАН, 2016. — 320 с
7. Tretyakov M. Yu., Koshelev M. A., Dorovskikh V. V., Makarov D. S., Rosenkranz P. W. 60GHz oxygen band: precise broadening and central frequencies of fine structure lines, absolute absorption profile at atmospheric pressure, revision of mixing coefficients // *J. Mol. Spectrosc.* — 2005. — Vol. 231. — P. 1—14.
8. Белоусов А.В., Коварский В.А., Мерлин Е.Т., Ястребов Б.С. Ферментативная реакция во внешнем электромагнитном поле // *Биофизика*, 1993. Т.38, №. 4. С. 619-626.
9. Перельмутер В.М. Медико-биологические аспекты взаимодействия электромагнитных волн с организмом: учебное пособие / В.М. Перельмутер,

В.А. Ча, Е.М. Чуприкова. - Томск: Издательство Томского политехнического университета, 2009. - 128 с.

10. Гапочка Л.Д. Оценка влияния электромагнитного излучения на гидробионты и среду их обитания с использованием культуры микроводорослей в качестве биотеста / Л.Д. Гапочка, М.Г. Гапочка, Т.С. Дрожжина, О.Б. Шавырина // IV Международная конференция «Актуальные проблемы современной альгологии». – Киев, 2012. – с. 67–70.

11. Усанов Д.А., Скрипаль А.В., Усанов А.Д., Рытик А.П. Биофизические аспекты воздействия электромагнитных полей: Учеб. пособие для студ. фак. nano- и биомед. технологий, обучающихся по спец. «Медицинская физика» и направлению «Биомедицинская инженерия». – Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 2008. - 136 с.

Дрожжина О.Б. 2022