

На правах рукописи

МУХАЧЕВ ЕВГЕНИЙ ВЛАДИМИРОВИЧ

МЕТОДЫ БИОТЕСТИРОВАНИЯ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ В ЗОНЕ РАБОЧЕГО МЕСТА ПОЛЬЗОВАТЕЛЯ ПЭВМ

03.02.08 - экология

АВТОРЕФЕРАТ диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук

1 8 ATTP 2013

Работа выполнена в Федеральном государственном унитарном предприятии «Научно-исследовательский институт прикладных проблем» Федеральной службы по техническому и экспортному контролю (ФГУП «ГосНИИПП» ФСТЭК России), г. Санкт-Петербург.

Научный руководитель:

Носов Виктор Николаевич, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник, ведущий научный сотрудник ФГУП «ГосНИИПП» ФСТЭК России

Официальные оппоненты:

Глухов Дмитрий Валерьевич, доктор медицинских наук, доцент, директор 3A0 «Российские наукоемкие технологии», г. Москва; Лебедев Андрей Андреевич, биологических доктор наук, профессор, научный старший сотрудник ФГБУ «НИИ экспериментальной медицины» СЗО РАМН, г. Санкт-Петербург.

Ведущая организация: Федеральное государственное унитарное предприятие «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» Федерального медико-биологического агентства (ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России), Ленинградская область, Всеволожский район, г.п. Кузьмоловский.

Защита состоится «25» апреля 2013 г. в 14 часов на заседании Совета по защите докторских и кандидатских диссертаций Д 212.203.17 при Российском университете дружбы народов по адресу: 115093, г. Москва, Подольское шоссе, д. 8/5.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВПО «Российский университет дружбы народов» по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6.

Автореферат разослан « $\frac{8}{8}$ » марта 2013 г.

Ученый секретарь Диссертационного Совета кандидат биологических наук, доцент Е. А. Карпухина

І. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы.

В настоящее время происходит значительный рост использования на рабочих местах средств хранения, обработки и передачи информации. Вклад персональных компьютеров и средств беспроводной передачи данных по протоколам «Wi-fi» и «Bluetooth» в экологическую обстановку рабочего места складывается из совокупности продуцируемых ими абиотических факторов, основным из которых является ЭМИ нетепловых уровней интенсивности (Кураев Г.А. и др., 2000; Мырова Л.О., 2008; Usman A. et al., 2011). Параметры электромагнитного поля в точке контроля являются взаимодействия полей всех действующих источников (ПЭВМ в соседних помещениях, модули беспроводной передачи данных и т.п.) в зоне их охвата, а потому, являются непостоянными и не поддающимися прогнозированию. Оценка соответствия параметров ЭМП действующим гигиеническим и санитарным нормам (СанПиН 2.1.8/2.2.4.1190-03; СанПиН 2.2.2/2.4.1340-03; СанПиН 2.2.4.1191-9603), как частного случая интегральной оценки качества окружающей среды, производится, главным образом, на основе результатов измерения значений интенсивности энергетических экспозиций волны..., 2006). (Колебания и Однако проведение качественного экологического мониторинга таким образом не всегда возможно ввиду множественности параметров этого фактора загрязнения, необходимостью привлечения высококвалифицированных специалистов и высокой стоимости реализации подобных технологий.

Результирующий отклик тест-системы на комбинированное воздействие абиотических факторов трудно предвидеть, пользуясь результатами физического измерения и его анализа. Таким образом, особо востребованными оказались методы интегральной оценки качества экологической обстановки, такие как биотестирование - процедура выявления загрязнения среды с помощью тест-объектов, сигнализирующих об опасности независимо от того, какие факторы и в каком сочетании вызывают изменения жизненно важных функций. Благодаря простоте, оперативности и доступности, биотестирование получило признание во многих отраслях промышленности и ЖКХ (Каттап U. et al., 2006).

Общепризнанных биоиндикаторов электромагнитной среды в настоящее время не существует, а разработанные модели, как правило, чувствительны к тепловым эффектам ЭМИ и не пригодны для оценки информационных воздействий.

Решение актуальных проблем современной экологии, касающихся изучения биологического действия факторов различной природы и интенсивности, требует разработки тест-систем, отличающихся относительно низким порогом чувствительности и быстротой получения результата (Вишневский В.Г. и др., 2007; Иголкина Ю.В., 2009; Биологический

контроль..., 2010), что, как правило, подразумевает использование простых по организации организмов (эмбрионы, протисты, одноклеточные грибы и т.п.).

Несмотря на востребованность методов биотестирования в ряде отраслей промышленности и актуальность проблемы интегральной оценки условий труда, в настоящее время не существует оперативных методов биотестирования электромагнитной обстановки, характерной для рабочих мест пользователей ПЭВМ и (или) распространения беспроводных сетей передачи данных.

Таким образом, актуальность настоящего исследования связана с низким качеством оперативной экологической диагностики ЭМИ, особенно информационной составляющей, традиционными методами, основанными на регистрации энергетических экспозиций ЭМИ, и заключается в необходимости разработки эффективных высокочувствительных методов биотестирования с использованием объектов различного уровня сложности.

Из представленного несоответствия актуальности проблемы и степени её проработанности и решения в отечественной и зарубежной прикладной науке, определена следующая научная задача данного исследования: разработка принципов и способов оперативного биотестирования экологического эффекта ЭМИ в зоне рабочего места пользователя ПЭВМ, вызывающего изменения на уровне физиологии нервной системы.

Объект и предмет исследования. Объектом исследования являются электромагнитные факторы экологической обстановки в зоне рабочего места пользователя ПЭВМ.

Предметом исследования являются закономерности влияния сверхслабого ЭМИ на интегральные биологические процессы на различных уровнях организации живых организмов.

Цель и задачи исследования. Цель данной работы состоит в повышении чувствительности, оперативности и эффективности способов интегральной оценки неблагоприятных эффектов электромагнитного излучения в зоне рабочего места пользователя ПЭВМ, различных по типам аппаратной загрузки, путем разработки комплекса методов биотестирования с использованием модельных систем различных уровней организации.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

- 1 разработать и экспериментально опробовать комплекс методов экологического биотестирования, основанных на использовании организмов различного уровня сложности и онтогенетической зрелости;
- 2 экспериментально обосновать структурно-физиологические мишени воздействия сверхслабых ЭМИ;
- 3 исследовать влияние ЭМИ ПЭВМ на ряд интегральных и прогностических параметров физиологии нервной системы: эмоциональную реактивность, долговременную память крыс и вариабельность сердечного ритма пользователей ПЭВМ;
- 4 дать сравнительно-аналитическую оценку биологического эффекта ЭМИ ПЭВМ в различных режимах загрузки аппаратных средств (стандартная и с попеременной активацией модулей «Wi-fi» и «Bluetooth»);

Научные результаты.

- 1 Разработано пять методов биотестирования, обладающих оперативной чувствительностью к сверхслабым ЭМИ ПЭВМ.
- 2 Получены результаты биотестирования экологических эффектов электромагнитного излучения в зоне рабочего места пользователя ПЭВМ.
- 3 Получены результаты исследований длительного воздействия ЭМИ ПЭВМ, различных по типам аппаратной загрузки, на ряд параметров нервной системы животных и пользователей ПЭВМ.

Положения, выносимые на защиту.

- 1 Разработанные методы биотестирования на основе использования организмов различного уровня сложности позволяют реализовать принципы динамичности и дифференцированности экологической диагностики ЭМИ в зоне рабочего места оператора ПЭВМ, что повышает её объективность, надежность и эффективность.
- 2 Режим аппаратной загрузки ПЭВМ определяет дифференцированный биологический эффект, состоящий в значительном усилении последствий воздействия ЭМИ при загрузке модулей беспроводной передачи данных по протоколам «Wi-fi» и «Bluetooth».
- 3 Сверхслабые ЭМИ ПЭВМ и средств беспроводной передачи данных, при условии длительного (от пяти суток) непрерывного воздействия, являются причиной снижения уровня эмоционально-поведенческой реактивности, нарушения долговременной памяти, парасимпатического сдвига регуляции вегетативной нервной системы.

Научная новизна. Научная новизна исследования состоит в том, что впервые:

- 1 обоснованы и испытаны способы снижения порога электромагнитной чувствительности дрожжей Sacharomyces и инфузорий Рагатесішт применительно к ЭМИ ПЭВМ путем неполного ингибирования роста колоний и повышения генетической и онтогенетической однородности популяции, соответственно;
- 2 разработан и опробован метод оценки пролиферативного статуса популяций эмбриональных полипотентных клеток, основанный на наведенном метафазном блоке.

Теоретическая значимость.

- 1 доказана оперативная чувствительность ряда тест-реакций к ЭМИ ПЭВМ;
- 2 определены соответствующие мишени ЭМИ ПЭВМ на клеточном и системном уровнях.

Практическая значимость.

- 1 разработаны и внедрены новые методы биотестирования, позволяющие проводить оперативный анализ электромагнитного загрязнения окружающей среды сверхслабой интенсивности;
- 2 представлены рекомендации по дифференциальному применению разработанных методов и перспективы их практического использования;

3 определены временные пределы эффективного применения ряда тест-реакций для биотестирования.

Соответствие диссертации Паспорту научной специальности. Диссертационное исследование соответствует п. 2.1 " Факториальная экология — исследование влияния абиотических факторов на живые организмы в природных и лабораторных условиях с целью установления пределов толерантности и оценки устойчивости организмов к внешним воздействиям, возникающим в результате строительной хозяйственной деятельности и эксплуатации ЖКХ." и п. 2.4 "Экология человека — изучение общих вопросов взаимодействия человека и биосферы, исследования влияния условий среды обитания (в том числе созданной в результате строительной, хозяйственной деятельности и эксплуатации ЖКХ) на человека" паспорта специальности 03.02.08 — "Экология".

Апробация и реализация результатов работы. Основные положения диссертации изложены в виде: шести докладов на научно-практических конференциях, докладе на заседании секции «Биология развития» Санкт-Петербургского Общества Естествоиспытателей (2007 г.), двух докладах на заседаниях научно-технического совета ФГУП «ГосНИИПП» (2011, 2012 гг.), отчета по инициативному исследованию ФГУП «ГосНИИПП» «Отработка методики экспресс тестов абиотических факторов окружающей среды с использованием дрожжевых колоний» (2010 г.).

Материалы диссертации реализованы в научной работе ФГУП «ГосНИИПП» (Акт об использовании), учебном процессе биолого-почвенного факультета Санкт-Петербургского государственного университета (Справка о практической ценности), практической деятельности сети ветеринарных клиник «Вега» (Акт о внедрении), научно-исследовательской и производственной деятельности фармакологической компании ООО «АТГ Сервис Ген» (Акт о реализации).

Публикации по теме диссертации. По теме диссертации опубликовано десять работ (пять статей и пять тезисов докладов), пять из которых в изданиях перечня ВАК РФ.

Декларация личного участия. Личный вклад соискателя состоит в выполнении всего объема теоретической работы, разработке и апробации методов оперативного биотестирования, непосредственном участии в получении исходных экспериментальных данных, их обработке и интерпретации. При участии автора подготовлены основные публикации по выполненной работе.

Объем и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, пяти разделов, заключения и выводов. Объем работы составляет 150 страниц, включая 23 таблицы и 45 рисунков. Список литературы включает 202 источника, 98 из которых - на иностранных языках.

Благодарности. Считаю своим долгом выразить признательность моему научному руководителю д.м.н. В.Н. Носову за неоценимую помощь на всех

этапах исследования, особую благодарность выражаю С.А. Егорову, д.т.н. О.В. Цветкову и к.т.н. А.И. Сиренко – за оказанное доверие и возможность проведения работы, д.т.н. А.В. Корякину, к.м.н. А.С. Титову, к.б.н. А.И. Ерофееву - за ценные замечания по содержанию рукописи, д.т.н. Г.М. Дегтяреву, к.м.н. Ф.В. Арсеньеву, к.т.н. А.А. Вишнякову, к.м.н. С.П. Кропотову, к.м.н. Д.О. Белогорцеву, к.м.н. Л.И. Глико – за поддержку и внимание к работе, к.т.н. К.Г. Лямову – за помощь в автоматизации методов исследования, д.в.н. С.В. Баушеву и к.т.н. В.П. Турусову – за консультации по методическим вопросам. Отдельную благодарность выражаю своим учителям из СПбГУ: к.б.н. В.И. Ефремову, к.б.н. Д.Г. Полтевой и к.ф.н. Л.Н. Румянцевой – за приобщение к университетским принципам науки и мировоззрения.

ІІ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во Введении обосновывается актуальность исследования, сформулированы цель и задачи, показаны научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы.

Раздел 1. Современное состояние проблемы влияния электромагнитного излучения на биологические системы

В разделе представлена и обобщена информация об электромагнитном факторе окружающей среды. Выделены основные этапы и направления исследований по данной проблеме. Приведены общие сведения об электромагнитных излучениях, в т.ч. характерных для персональных компьютеров.

Показано, что живые организмы различных систематических групп чрезвычайно чувствительно к ЭМИ во всех частотных диапазонах (Григорьев Ю.Г. и др., 2003). Приведены экспериментальные данные влияния ЭМИ на все системы и органы млекопитающих, наиболее уязвимой из которых является нервная (Пальцев Ю.П. и Суворов Г.А., 1998).

Приведен обзор современных представлений о механизмах и специфических мишенях воздействия ЭМИ, среди которых выделяют: кальцийзависимые эффекты (Bawin S.M. et. al., 1975), водную компоненту клеток (Емец Б.Г., 1999), рецепторные системы мозга (Юринская М.М. и др., 1996). Приведена теория информационных воздействий на биосистемы (Акоев И.Г. и др., 1986) как научное обоснование воздействия ЭМИ сверхслабых интенсивностей на биологические системы. Дана характеристика зависимости биологического эффекта от различных параметров ЭМИ.

Дана характеристика принципам нормирования ЭМИ для основного населения с приведением действующих гигиенических стандартов (СанПиН 2.2.2/2.4.1340-03).

Представлены основные методические концепции исследований влияния ЭМИ на биологические системы: хронические исследования, биотестирования и способы их экстраполяции.

Раздел 2. Материалы и методы исследований

Исследования влияния ЭМИ ПЭВМ и средств беспроводной передачи данных (2008-2011 гг производства) на биологические системы различного уровня сложности и онтогенетической зрелости проводились в 2009–2012 гг. на базе ФГУП «ГосНИИПП».

В качестве источников ЭМИ использовали: портативные ПЭВМ «Acer», «Asus», «Sony», «Toshiba», «НР» и стационарные ПЭВМ «Lenovo». Компьютеры работали как в стандартном режиме загрузки аппаратных средств, так и в режимах активации модулей беспроводной передачи данных по протоколам iEEE 802.11 «Wi-fi» и iEEE 802.15.1 «Bluetooth». Величины напряженности электрического и магнитного полей ПЭВМ и величины плотности потока энергии (ППЭ) приведены в таблице 1.

Для корректности интерпретации полученных результатов, все условия экспозиций, за исключением параметров ЭМИ, поддерживались на одном уровне.

Комплексное исследование воздействия ЭМИ ПЭВМ на живые организмы осуществляли посредством проведения хронических экспериментов и с использованием методов интегральной оценки качества экологической обстановки – биотестирования.

Таблица 1

Напряженности магнитного и электрического полей ПЭВМ и величины ППЭ

Торговая Марка ПЭВМ	Напряженность магнитного поля 1-30 МГц (А/м)	Напряженность электрического поля 1-300 МГц (В/м)	Интенсивно сть ППЭ >300МГц (Вт/м²)	Интенсив ность ППЭ WiFi (Вт/м²)	Интенсивно сть ППЭ Bluetooth (Вт/м²)
Lenovo	7×10 ⁻⁴	1,5×10 ⁻²	-	-	
Acer	3×10 ⁻²	1,1×10 ⁻¹	3,9×10 ⁻⁷		
Sony	1,3×10 ⁻¹	1,5×10 ⁻¹	1,9×10 ⁻⁶		
Toshiba	7×10 ⁻²	8×10 ⁻²	2,6×10 ⁻⁵	3.0×10 ⁻²	5.5×10 ⁻²
HP	1,3×10 ⁻¹	1,1×10 ⁻¹	2,0×10 ⁻⁶		
Asus	1,3×10 ⁻¹	1,1×10 ⁻¹	8,2×10 ⁻⁷		_

В качестве модельного организма в длительных исследованиях использовали самцов белых беспородных крыс в возрасте от 4-х до 10-ти месяцев. Для определения влияния ЭМИ ПЭВМ на эмоциональную реактивность и долговременную память животных, оценивали влияние длительной экспозиции на горизонтальную двигательную активность в автоматизированном тесте «Открытое поле» и выработку условного пищевого рефлекса в автоматизированном тесте «Трехлучевой лабиринт». Объемы выборок в тестах составили 80 и 70 животных, соответственно

В качестве объектов биотестирования использованы организмы различного уровня сложности и онтогенетической зрелости. Перечень методов

биотестирования, а также, соответствующие объемы экспериментальных выборок приведены в таблице 2.

Методы биотестирования

Таблица 2

Экспериментальный	Оцениваемый	Объём экспериментальной
параметр	физиологический параметр	выборки
Размножение клона инфузорий P. Caudatum	Клеточная пролиферация	16 445 клеток
Ингибируемый рост колоний дрожжей Sacharomyces	Проницаемость клеточной мембраны	11 098 KOE
Вылупляемость зародышей D. rerio	Дифференцировка клеток	7 308 зародышей
Частота сердечных сокращений личинок <i>D. rerio</i>	Регуляция вегетативного гомеостаза	7 308 личинок
Статмоинетика метафазного блока у зародыша <i>D. rerio</i>	Пролиферация плюрипотентных клеток	15 000 клеток

Все методы биотестирования разработаны для решения поставленных задач. Так, для корректной оценки результатов экспериментов с использованием модели размножения инфузорий (Носов В.Н. и др., 2011), предварительно проводили клонирование одной клетки, что повышало генетическую однородность и синхронность клеточных циклов экспериментальных выборок.

Метод использования роста колоний дрожжей (Мухачев Е.В. и др., 2011) разработан с применением модели неполного ингибирования размножения, обеспечившего повышенную чувствительность к сверхслабым ЭМИ.

Разработан (Мухачев Е.В., 2006, 2007; Ефремов В.И. и др., 2007; Еfremov V.I. et al., 2007) и использован статмокинетический метод оценки пролиферативного статуса клеточных популяций ранних зародышей *Danio rerio*, позволяющий произвести проверку признаков влияния ЭМИ на пролиферацию в размножении инфузорий на уровне плюрипотентных клеток позвоночных.

Анализ воздействия ЭМИ ПЭВМ на вегетативный гомеостаз пользователей проводился по методике Р.М. Баевского (1968).

Статистический анализ осуществлялся с использованием пакетов STATISTICA и EXEL. После проверки гипотезы о соответствии распределения нормальному, использовали либо двусторонний t-критерий Стьюдента (p<0,05), либо непараметрические методы: U-критерий Манна-Уитни, критерий Колмогорова-Смирнова (p<0,05). В случае представления исходных данных в виде выборки двух переменных, представленных в номинальных шкалах, производили анализ таблицы сопряженности с использованием критерия χ^2 (α =0.05).

Раздел 3. Биологические эффекты длительного воздействия электромагнитного излучения персональных компьютеров

Для оценки целесообразности разработки комплекса методов биотестирования для исследуемых параметров, производили предварительное выявление степени и сроков проявления чувствительности к воздействию сверхслабых ЭМП таких интегральных и прогностических параметров как эмоциональная реактивность и долговременная память у крыс. Дополнительными задачами исследования было выявление дифференциальной чувствительности оцениваемых параметров к различным режимам загрузки аппаратных средств ПЭВМ.

В результате проведенных экспериментов показано, что обозначенные физиологические параметры являются чувствительными к нетепловым воздействиям ЭМИ ПЭВМ, причем срок проявления первых достоверных отличий составляет от семи до восемнадцати суток.

Таким образом, результаты хронических исследований воздействия ЭМИ ПЭВМ на интегральные параметры нервной системы млекопитающих показали, что методы биотестирования, разработанные для исследуемых параметров ЭМИ соответствуют критерию экологического реализма.

Исследования влияния ЭМИ ПЭВМ и модуля «Bluetooth» в тесте «Открытое поле» показали значимое снижение эмоциональной реактивности и исследовательского поведения крыс с 19-х суток экспозиции. В качестве примера, приведены (рисунок 1) результаты влияния ЭМИ ПЭВМ «Sony» на длину пройденного пути.

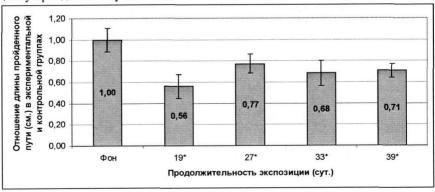


Рисунок 1. Влияние ЭМИ ПЭВМ Sony на длину (см) пройденного пути крысами в тесте «Открытое поле» за 600 секунд. Данные представлены в виде $m\pm Cl.*$ - достоверное отличие от физиол. контроля, p<0,05.

Экспозиция крыс в ЭМИ ПЭВМ «Sony» привела к значимым задержкам (по сравнению с контрольной группой) в скорости выработки условного

пищевого рефлекса в трехлучевом лабиринте (рисунок 2), что свидетельствует о влиянии сверхслабых ЭМИ на долговременную память.

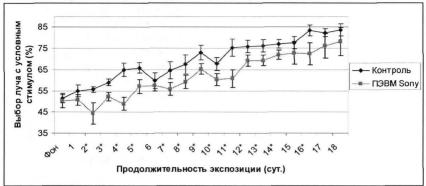


Рисунок 2. Влияние ЭМИ ПЭВМ Sony на скорость выработки условного пищевого рефлекса у самцов белых беспородных крыс. Данные представлены в виде $m\pm CI$. * - достоверное отличие между группами, p<0,05

Показан неблагоприятный эффект ЭМИ модуля беспроводной передачи данных по протоколу «Bluetooth» на выработку условного пищевого рефлекса. Эксперимент заключался в сравнении динамик обучения крыс в трехлучевом лабиринте при двух вариантах экспозиции: ПЭВМ «Asus» в стандартном режиме загрузки и в режиме активации модуля. Результаты эксперимента представлены на рисунке 3. В экспериментальной группе животных наблюдается падение кривой обучения ниже отметки 50%, что свидетельствует об активном избегании лучей со световым стимулом.

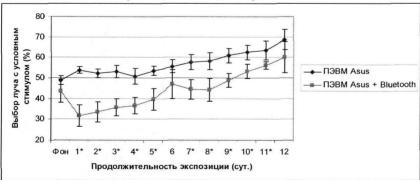


Рисунок 3. Влияние ЭМИ модуля Bluetooth (ПЭВМ Asus) на скорость выработки условного пищевого рефлекса у самцов белых беспородных крыс. Данные представлены в виде $m\pm CI$. * - достоверное отличие между группами, p<0.05

Дополнительный эффект активации модуля «Bluetooth» выражен сопоставимо с непосредственный эффектом ЭМИ портативного ПЭВМ (рисунок 2). Однако, согласно устоявшимся представлениям, высокочастотное ЭМИ беспроводных передатчиков данных на основе протокола «Bluetooth» слишком слабы для того, чтобы оказать значимый эффект на биологические процессы и здоровье человека, соответственно. Возможные объяснения полученных данных по воздействию модуля «Bluetooth» дает теория «информационных воздействий ЭМП» на биосистемы (Акоев И.Г. и др., 1986), основанная на нетепловых и биорезонансных воздействиях ЭМП на биологические системы и процессы.

Воздействие экспозиции экспериментальных животных ЭМИ стационарного ПЭВМ «Lenovo» оказалось значительно менее выраженным по сравнению с ПЭВМ типа ноутбук («Sony» и «Asus»). Полученные результаты подтверждают концепцию (Мырова Л.О., 2008) меньшего угнетающего воздействия стационарных компьютеров по сравнению с портативными.

Раздел 4. Биотестирование электромагнитного излучения персональных компьютеров

Задачами данного этапа исследований были: разработка методов биотестирования (чувствительных к параметрам ЭМИ, вызывающим значимые эффекты на уровне физиологии нервной системы), выявление мишеней воздействия ЭМИ ПЭВМ и оценка эффектов активации модулей беспроводной передачи данных по протоколам «Wi-fi» и «Bluetooth».

Обобщенные результаты экспериментальной апробации методов биотестирования приведены на рисунках 4-7.

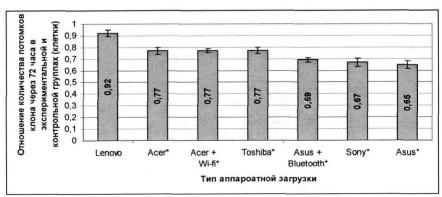


Рисунок 4. Сравнение влияния работы различных ПЭВМ на пролиферацию инфузорий. Данные представлены в виде $m\pm CI$. * - достоверное отличие от физиол. контроля, p<0.05.

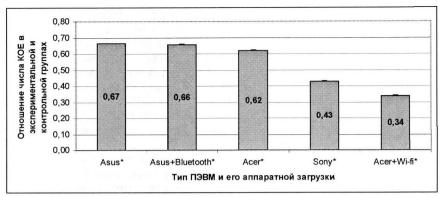


Рисунок 5. Степень воздействия ПЭВМ на проницаемость мембраны дрожжей в различных режимах загрузки аппаратных средств; показаны дополнительный угнетающий эффект ЭМИ модуля «Wi-fi» и его отсутствие для модуля «Bluetooth». Данные представлены в виде $m\pm CI$. * - достоверное отличие от физиол. контроля, p<0,05.

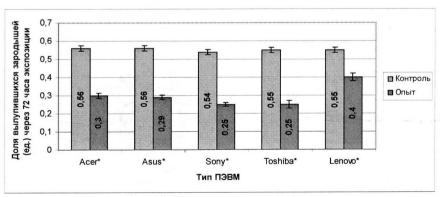


Рисунок 6. Сравнение влияния работы различных ПЭВМ на вылупляемость зародышей. Данные представлены в виде $m\pm CI$. * - достоверное отличие между группами, p<0.05.

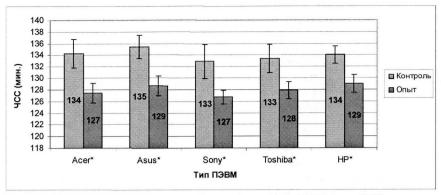


Рисунок 7. Сравнение влияния работы различных ПЭВМ на ЧСС личинок. Данные представлены в виде $m\pm CI.*$ - достоверное отличие между группами, p<0,05.

Таким образом, все разработанные и адаптированные методы биотестирования оказались оперативно чувствительными к сверхслабым ЭМИ ПЭВМ. Показаны следующие эффекты: снижение пролиферативной активности клона инфузорий (рисунок 4), замедление ингибируемого роста колоний дрожжей (рисунок 5), задержка вылупляемости зародышей (рисунок 6) и снижение частоты сердечных сокращений личинок (рисунок 7).

Для проверки значимости выявленных эффектов сверхслабых ЭМИ ПЭВМ для процессов клеточного деления (показанной в экспериментах с инфузориями) на уровне организма позвоночных был разработан и реализован метод статмокинетической оценки влияния ЭМИ на пролиферативный пул клеток раннего зародыша Danio rerio. Показано достоверное снижение (на 8%) пролиферативного индекса клеточных популяций зародышей на стадии высокой бластулы, подвергавшихся экспозиции, что раскрывает предпосылки результатов биотестирования с использованием модели деления инфузорий на уровне плюрипотентных эмбриональных клеток позвоночных животных.

Модель ингибируемого роста колоний дрожжей Sacharomyces оказалась не только чувствительной к воздействию ЭМИ ПЭВМ, но и позволила показать дополнительный неблагоприятный эффект модуля беспроводной передачи данных «Wi-fi». Так, активация этого модуля обусловила большее различие между контрольной и экспериментальной группами (отношение медиан выборок — 0,62 и 0,34 для ПЭВМ «Асег» без активации модуля и с его активацией, соответственно), что свидетельствует о дополнительном влиянии исследуемого фактора (ЭМИ модуля «Wi-fi»). Выявленные отличия, по всей видимости, отражают влияние ЭМИ ПЭВМ на механизмы избирательной проницаемости клеточной мембраны.

В результате экспериментов по оценке влияния ЭМИ на вылупляемость зародышей *Danio rerio* показаны достоверные отличия между контрольными и экспериментальными выборками во всех экспериментальных сериях (35 экспериментов, 7000 эмбрионов). Результатом экспозиции во всех случаях являлась задержка вылупления. Выявленные отличия отражают комплексную задержку таких онтогенетических процессов как дифференцировка и пролиферация, так как причиной задержки вылупления может являться либо недоразвитие железы вылупления, либо недостаточное количество клеток для ее функционирования.

Олним наиболее значимых для экстраполяции результатов из биотестирований является частота сердечных сокращений личинок Danio rerio. В результате проведенных экспериментов показаны достоверные отличия между контрольными и экспериментальными выборками в исследованиях с портативными ПЭВМ - происходит снижение частоты сокращений сердца личинки. В опытах со стационарным ПЭВМ отличий между выборками не выявлено, что является еще одним аргументом в пользу гипотезы о большем негативном биоэффекте ЭМИ портативных ПЭВМ (Мырова Л.О., 2008). Выявленные отличия отражают замедление процессов генерации нервных импульсов в системе водителей ритма сердца посредством вызванного парасимпатического сдвига в регуляции вегетативной нервной системы (Mann К.D. et al., 2010). Особая чувствительность к ЭМП сердечно-сосудистой системы, по мнению некоторых исследователей (Пресман А.С., 1968; Borzsonyi L. et al., 2006), обусловлена непосредственным воздействием ЭМП на вегетативную нервную систему.

Приведенные методические рекомендации по дифференциальному применению разработанных методов биотестирования позволяют осуществлять выбор наиболее эффективного способа индикации электромагнитной обстановки в зоне рабочего места пользователя ПЭВМ и распространения беспроводных сетей передачи данных.

Раздел 5. Оценка влияния электромагнитного излучения персональных компьютеров на организм человека

Данные, полученные в результате проведения исследований с использованием систем биотестирования и хронических экспериментов, позволяют произвести предварительную оценку воздействия исследуемого фактора на физиологию и операторскую деятельность человека.

Общие положения о способах экстраполяции результатов хронических исследований представлены в таблице 3.

Разработка и создание методов биотестирования, в первую очередь, обусловлено необходимостью быстрой регистрации биологического эффекта ЭМИ и, по возможности, его количественной оценки. Однако данные этих тестов представляют особый интерес и для прогнозирования возможных эффектов в организме человека, так как каждая из представленных моделей

особым образом представляет собой анализ воздействия ЭМИ на отдельно взятый биологический процесс, представленный, в эволюционно – и физиологически модифицированной форме, и в организме человека.

Таблица 3 Способы экстраполяции результатов ллительных экспериментов

Методы	Значение для животного	Экстраполяция на человека
Трёхлучевой лабиринт	Долговременная память	Внимание, память на образы и числа, логическое мышление.
Открытое поле	Уровень эмоционально- поведенческой реактивности, стратегия исследовательского и оборонительного поведения	Личностная и ситуативная тревожность, нервно- психическая Устойчивость
Количество выходов в центр, время пребывания в центре	Появления признаков тревожности в психике	Нервно-психическая устойчивость
Горизонтальная двигательная активность	Ориснтировочно – исследовательское поведение	Личностная и ситуативная тревожность

Эксперименты с инфузориями представляют собой тест воздействия фактора на пролиферативную активность клеток. Несмотря на существенную разницу между одноклеточным организмом и дифференцированной клеткой Metazoa, механизмы регуляции клеточного цикла являются эволюционно консервативными, потому, выявленное у инфузорий угнетение пролиферации, может служить основанием предполагать аналогичный эффект для организма может в замедлении (угнетении) человека. который быть выражен пролиферации обеспечивающих реализацию пула стволовых клеток, физиологической регенерации. Подтверждением такого предположения можно считать результаты статмокинетического пролиферации клеток бластодермы зародышей Danio rerio.

Параметрами развития зародышей *Danio rerio*, оказавшимися чувствительными ко всем модификациям исследуемого фактора являлись вылупляемость и частота сердечных сокращений.

Задержка вылупляемости свидетельствует об общем замедлении эмбриогенеза: как пролиферации, так и дифференцировки. Для организма млекопитающих подобный эффект может быть аналогичным для пулов стволовых клеток, о чем свидетельствуют результаты статмокинетического анализа.

Уменьшение частоты сердечных сокращений свидетельствует о непосредственном влиянии исследуемого фактора на деятельность сердечной мышцы и (или) водители ритма. Для организма млекопитающих подобный эффект может быть выражен в аналогичных проявлениях изменения частоты и ритмики сердечных сокращений, не соответствующих текущему

физиологическому состоянию организма. В механизме наблюдаемых явлений, по видимому, лежат обратимые нарушения проводимости ионных каналов возбудимых мембран сердца с развитием явлений типа холинергического эффекта и электрического рассоединения кардиомиоцитов: происходит снижение возбудимости нервных и мышечных элементов с нарушением процессов межклеточных взаимодействий, что зачастую приводит к урежению частоты сердечных сокращений и ослаблению сократительной функции сердца (Gerasimov I. et al., 1998). Вторым возможным механизмом является парасимпатический сдвиг в регуляции вегетативной нервной системы (Карпенко Ю.Д., 2011).

Эксперименты с дрожжами представляют собой тест воздействия исследуемого фактора на проницаемость клеточной мембраны, которая достоверно повышается в результате экспозиции с ЭМИ ПЭВМ. Для млекопитающих подобный эффект может быть выражен в нарушении работы клеточных барьерных систем, таких как гематоэнцефалический барьер.

Для проверки корректности экстраполяции полученных результатов и приведенной интерпретации данных, проведена оценка влияния экологической обстановки рабочего места пользователя ПЭВМ на параметры вариабельности сердечного ритма (ВРС) - индикатора нейральных и психофизиологических реакций организма на совокупность абиотических факторов окружающей среды (Михайлов В.М., 2000). Так, среди прочего, показано влияние ЭМИ ПЭВМ «НР» на процент колебаний низкой и высокой частот в общей мощности (рисунок 8), что свидетельствует снижении 0 симпатической регуляции посредством частичного угнетения вагусной (колебания низкой частоты) И повышения активности парасимпатической регуляции (колебания высокой частоты) через 5 суток операторской деятельности. Эти подтверждают данные парасимпатическом характере влияния ЭМИ на ЧСС личинок Danio rerio.

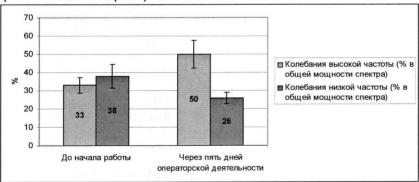


Рисунок 8. Влияние ЭМИ ПЭВМ НР на процент колебаний низкой и высокой частот в общей мощности спектра. Данные представлены в виде $m\pm CI$. Отличия между группами сравнения достоверны, p<0.05

Заключение

Проведенные эксперименты по изучению воздействия ЭМИ ПЭВМ на биологические системы различного уровня сложности и онтогенетической зрелости свидетельствуют о значимых неблагоприятных экологических эффектах сверхслабых ЭМИ, которые проявляются на различных уровнях организации живой материи (от клеточного до системного).

В результате проведения длительных экспериментальных исследований, показаны сроки проявления эффектов (на эмоциональную реактивность и долговременную память), вызванных непрерывной экспозицией в ЭМП ПЭВМ, динамика развития отклонений. Выявлен избирательный эффект ЭМИ беспроводных модулей передачи данных, который зависит как от протокола передачи, так и от типа биологической мишени. Неоднократное сравнение проявления эффектов ЭМИ стационарных и портативных ПЭВМ показало большую выраженность влияния последних.

биотестирования разработаны на основании результатов (калибровка чувствительности ллительных экспериментов порога обоснование экологического реализма), их апробация показала возможность регистрации сверхслабых ЭМИ, что позволяет, использовать их для оценки электромагнитного загрязнения среды, а вовторых, пользоваться их результатами для анализа механизмов наблюдаемых интегральных эффектов воздействия абиотических факторов. Доказательная и экстраполяционная "сила" этих методов многократно возрастает при их комплексной оценке. Подтверждая результаты длительных экспериментов, специфичность воздействия ЭМИ показаны беспроводной передачи данных и больший угнетающий эффект ноутбуков по сравнению со стационарными ПЭВМ.

Наиболее чувствительным и оперативным методом биотестирования сверхслабых ЭМИ оказался ингибируемый рост колоний дрожжей Sacharomyces. Метод размножения клона инфузорий *Paramecium caudatum*, несмотря на несколько больший порог чувствительности, является наиболее простым в реализации. Методы анализа параметров эмбрионального развития *Danio rerio*, в свою очередь, позволяют произвести оценку ЭМИ на системном уровне (пролиферация плюрипотентных клеток, вегетативный гомеостаз).

На основании приведенного анализа опробования разработанных методов и их технологических особенностей, была разработана рекомендательная схема дифференциального применения различных методов биотестирования, в зависимости от задач и условий проведения исследований.

Анализ экспериментальных данных позволил объединить результаты биотестирований и длительных экспериментов на млекопитающих в общую картину воздействия сверхслабых ЭМИ на живые организмы, где экологический эффект на уровне организма складывается из нарушения многочисленных биологических процессов на уровне клетки или ткани.

Многократная повторяемость основных результатов исследований и их взаимное подтверждение при использовании различных методов и объектов

позволила произвести предварительную оценку воздействия исследуемого фактора (факторов) на физиологию и операторскую деятельность человека. Исследование физиологических эффектов операторской деятельности с участием пользователей ПЭВМ подтвердила корректность экстраполяции данных проведенных экспериментов и разработанных методик на уровень ожидаемых эффектов для организма человека.

и выводы

- 1 Путем разработки комплекса методов биотестирования с использованием модельных систем различных уровней организации, повышены чувствительность, оперативность и эффективность интегральной оценки неблагоприятных эффектов электромагнитного излучения ПЭВМ, различных по типам аппаратной загрузки.
- 2 Разработанные и апробированные методы биотестирования сверхслабых ЭМИ, как основного экологического фактора в зоне рабочего места пользователя ПЭВМ, обладая необходимой чувствительностью, позволяют оценить физиологический эффект на такие параметры как: скорость клеточной репродукции *Paramecium caudatum* (снижение до 1,5 раз), интенсивность ингибируемого роста колоний дрожжей Sacharomyces (снижение до 2,9 раз), доля вылупившихся зародышей (снижение до 2,2 раз) и частота сердечных сокращений (снижение до 5 %) личинок костистых рыб *Danio rerio*.
- 3 Структурно-физиологическими мишенями воздействия сверхслабых ЭМИ ПЭВМ являются: проницаемость клеточной мембраны, пролиферация и дифференцировка эмбриональных клеток, снижение возбудимости нервно-мышечных элементов. Нарушения подобных процессов являются предпосылками к таким интегральным эффектам как: замедление регенерации тканей, нарушения памяти и умственной работоспособности, снижение уровня эмоционально-поведенческой реактивности и т.п.
- 4 Сверхслабое ЭМИ ПЭВМ обладает выраженным эффектом на такие параметры физиологии нервной системы как: уровень эмоциональной реактивности (снижение горизонтальной двигательной активности крыс до 1,74 раз через 19 суток экспозиции), долговременная память (снижение скорости выработки условного пищевого рефлекса у крыс от 5 до 25 % с третьих суток экспозиции), регуляция вегетативной нервной системы, проявляющейся в повышении активности парасимпатического отдела (повышение колебаний высокой частоты в общей мощности спектра у пользователей ПЭВМ через 5 дней операторской деятельности на 17%).
- 5 Экологический эффект ЭМИ в зоне рабочего места пользователя ПЭВМ, возникающий при активации модулей беспроводной передачи данных по протоколам iEEE 802.11 «Wi-fi» и iEEE 802.15.1 «Bluetooth», является дополнительным неблагоприятным фактором, особо влияющим на такие биологические процессы как выработка условнорефлекторной деятельности и процессы памяти, а также проницаемость клеточных мембран.

IV СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

* – публикации в изданиях перечня ВАК РФ

- 1* Габай И.А., **Мухачев Е.В.**, Михайлова К.А., Носов В.Н. Апробация метода оценки горизонтальной двигательной активности белых лабораторных крыс с помощью автоматизированной установки «Открытое поле» // Общество. Среда. Развитие. 2011. Т.З. С. 223-226.
- 2* Ефремов В.И., Глуздикова Г.М, **Мухачев Е.В.** Разработка модели экспериментальной синхронизации клеточной репродукции у ранних зародышей костистой рыбы *Danio rerio* (Teleostei) // Онтогенез. 2007. Т. 38. №5. С. 1-8.
- 3 **Мухачев Е.В.** Влияние временного митотического блока на кинетику пролиферации ранних зародышей *Danio rerio* (Teleostei) // Сборник тезисов девятой медико-биологической конференции молодых исследователей «Человек и его здоровье». Санкт-Петербург. 2006. С. 227-228.
- 4 **Мухачев Е.В.** Цитология снятия митостатического блока // Сборник тезисов десятой медико-биологической конференции молодых исследователей «Человек и его здоровье». Санкт-Петербург. 2007. С. 295-296.
- 5* **Мухачев Е.В.**, Михайлова К.А., Габай И.А., Носов В.Н. Метод биотестирования влияния электромагнитного излучения УВЧ диапазона с использованием модели ингибируемого роста колоний дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* S288C // Общество. Среда. Развитие. 2011. Т.4. С. 247-250.
- 6* **Мухачев Е.В.**, Габай И.А., Носов В.Н., Михайлова К.А., Канайкин Д.П. Влияние электромагнитного излучения модуля беспроводной передачи данных по протоколу iEEE 802.15.1 (Bluetooth) на динамику выработки условного пищевого рефлекса у крыс // Общество. Среда. Развитие. 2012. Т.4. С. 268-272.
- 7 Носов В.Н., Габай И.А, **Мухачев Е.В**, Михайлова К.А. Воздействие электромагнитного излучения ПЭВМ различных производителей на пролиферацию *Paramecium caudatum* // Материалы 5й Всероссийской конференции с международным участием «Медико-физиологические проблемы экологии человека». Ульяновск. 2011. С. 194-195.
- 8 Носов В.Н., **Мухачев Е.В**, Габай И.А, Михайлова К.А. Воздействие электромагнитного излучения модуля беспроводной передачи данных Bluetooth на обучение крыс в трехлучевом лабиринте // Там же, С. 193-194.
- 9 Носов В.Н., **Мухачев Е.В.**, Габай И.А. Возможность экспресс-анализа воздействия абиотических факторов на биологические системы, основанная на использовании зародышей *Danio rerio* (Teleostei) // Материалы 3й Всероссийской конференции с международным участием «Медикофизиологические проблемы экологии человека». Ульяновск. 2009. С. 226-227.
- 10* Efremov V.I., Gluzdikova G.M., **Mukhachev E.V.** Development of the model of cell cycle synchronization in early embryos of *Danio rerio* (Teleostei) // Russian journal of developmental biology. 2007. V. 38. №5. P. 372-379.

Мухачев Евгений Владимирович (Россия) Методы биотестирования электромагнитного излучения в зоне рабочего места пользователя ПЭВМ

Данное исследование посвящено решению такой актуальной научной задаче как разработка принципов и способов оперативного биотестирования экологического эффекта электромагнитных излучений в зоне рабочего места пользователя персональных электронно-вычислительных машин, вызывающего изменения на уровне физиологии нервной системы.

В качестве тест-объектов использовались организмы различных таксономических групп и онтогенетических стадий: инфузории *Paramecium caudatum*, дрожжи Sacharomyces, зародыши и личинки Костистых рыб *Danio rerio*. Для доказательства экологического реализма разработанных методов биотестирования были проведены серии хронических исследований по оценке эффектов длительного воздействия электромагнитного фактора на интегральные параметры физиологии нервной системы млекопитающих и человека.

В результате исследования разработан комплекс методов биотестирования, обладающих дифференциальной чувствительностью к сверхслабым электромагнитным излучениям ПЭВМ, работающих в различных режимах загрузки аппаратных средств.

Mukhachev Evgeniy Vladimirovich (Russia) Bioassay methods of electromagnetic irradiation in the PECM user workplace

This research is devoted to decision of such scientific issue of the day as development of principles and ways to operative bioassay methods of electromagnetic irradiation ecological effects in the personal electronic-calculating machines user workplace, causing changes at the nervous system level.

Organisms from rather taxonomy groups and ontogenetic stages were used as test-objects: infusoriums *Paramecium caudatum*, yeasts Sacharomyces, embryos and larvas Teleost fishes *Danio rerio*. For proving the ecological realism of developed bioassay methods, were carried some series of chronic researches for testing the effects of long electromagnetic exposition to nervous system integral parameters in mammalian and human organisms.

As a result of research, was developed a complex of bioassay methods, differentially sensible to ultra weak electromagnetic irradiations of PECM, working in a various modes of apparatus devises loads.

Подписано в печать «18» марта 2013 г. Формат 60х84/16 Бумага офсетная. Печать офсетная. Усл. печ. л. 1,1. Тираж 100 экз. Заказ № 4442 Отпечатано в цифровом копировальном центре «Восстания – 1» 191036, Санкт-Петербург, Восстания, 1.