**XXI Российская научная конференция школьников «Открытие»**

**СЕКЦИЯ БИОЛОГИИ**

**Изучение генотоксической активности ЭМИ мобильного телефона Apple iPhone 5s с использованием Allium cepa в качестве тест-объекта**

***Исследовательская работа***

**Автор – Дещенко Елизавета Владимировна,**

обучающаяся 11 класса

Средней школы

«Провинциальный колледж»

**Научный руководитель – Фомичева Анна Николаевна**

кандидат биологических наук, учитель биологии Средней школы «Провинциальный колледж»

**Ярославль, 2018**

[Введение 3](#_Toc506314474)

[1. Основная часть 4](#_Toc506314475)

[1.1. Материалы и методы исследования 4](#_Toc506314476)

[2. Результаты исследования и их обсуждение 6](#_Toc506314477)

[2.1. Спонтанный уровень митотической активности меристемы Allium cepa 6](#_Toc506314478)

[2.2. Уровень митотической активности меристемы при различном времени воздействия ЭМИ мобильного телефона iPhone 5s 7](#_Toc506314479)

[3. Заключение 10](#_Toc506314480)

[3.1. Выводы 10](#_Toc506314481)

[Список использованных источников и литературы 11](#_Toc506314482)

# Введение

В процессе жизнедеятельности человек постоянно находится в поле действия различного электромагнитного излучения (ЭМИ). Наиболее существенное влияние оказывают мобильные телефоны, СВЧ печи, компьютеры и телевизоры. Данные факторы стали одними из важнейших компонентов среды, оказывающих воздействие на человека. Влияние ЭМИ УВЧ (ультравысокой частоты) сотовых телефонов нельзя недооценивать. Такое воздействие может не только негативно сказаться на функциях органов, но и вызывать генетические изменения в клетках, то есть вызывать генотоксические эффекты.[[1]](#footnote-1)

Генотоксиканты – это факторы, которые имеют реальную или потенциальную мутагенную активность. Следовательно, генотоксиканты могут повышать как частоту мутаций, так и нарушать процессы, косвенно влияющие на выход мутаций.[[2]](#footnote-2)

Генетические нарушения в соматических клетках не передаются последующим поколениям, однако могут приводить к преждевременному старению, раковому перерождению клеток, аутоиммунным заболеваниям и др. Мутации, возникшие в половых клетках, передаются следующим поколениям и увеличивают генетический груз в популяции, что может привести виды к вырождению и вымиранию.

В связи с этим необходима оценка генотоксической активности ЭМИ УВЧ сотовых телефонов. Данные исследования проводятся для различных моделей сотовых телефонов с использованием растительных и животных тест-объектов.[[3]](#footnote-3)Однако, не все модели мобильных телефонов изучены, полученные данные противоречивы, тесты могут давать ложноотрицательный ответ в связи с видоспецифичностью. К тому же, активно разрабатываются новые, усовершенствованные модели сотовых телефонов, и сами производители заинтересованы в подобных исследованиях с целью уменьшения генотоксической активности ЭМИ аппаратов.

**Цель исследования** - изучить генотоксическую активность ЭМИ сотового телефона iPhone 5s с использованием Allium cepa в качестве тест-объекта.

**Задачи исследования:**

1. Облучить луковицы ЭМИ сотового телефона iPhone 5s в режиме разговора в течение различных временных промежутков.
2. Оценить митотическую активность меристемы кончиков корешков Allium cepa при различном времени облучения.
3. Сравнить воздействие ЭМИ сотового телефона на меристему при различном времени облучения.
4. Сравнить полученные в ходе собственной исследовательской работы результаты о воздействии ЭМИ мобильного телефона на меристему с результатами, полученными в других научных исследованиях.

# Основная часть

Обзор литературы по теме исследования представлен в приложении 1.

## 1.1. Материалы и методы исследования

Объектом исследования являлась меристема проростков корешков лука посевного – *Allium cepa* сорта Штутгартен, который впервые предложен Шведской Королевской Академией Наук как стандартный тест-объект, хорошо зарекомендовавший себя в течение длительного применения и известный как *Allium test.*

Тесты с использованием растительных тест-объектов достаточно удобны для оценки генотоксической активности факторов окружающей среды, т.к. они достаточно экономичны позволяют регистрировать все типы генетических повреждений: геномные, хромосомные, генные. Позволяют выявлять как мутагены, непосредственно повреждающие ДНК, так и промутагены, т.е. факторы генетически безопасные, но приобретающие мутагенную активность в процессе метаболизма в растительном организме.

*Allium test* рекомендован экспертами ВОЗ как стандарт в цитогенетическом мониторинге окружающей среды, т.к. результаты, полученные на данном тесте, показывают корреляцию с тестами на других организмах: водорослях, растениях, насекомых, в том числе и млекопитающих.

Чувствительность данного тест-объекта (*Allium cepa)* высока и сходна с чувствительностью клеток китайского хомяка и клеток лимфоцитов человека.[[4]](#footnote-4)

Для создания фактора электромагнитного излучения в исследовании использовался мобильный телефон *Apple iPhone 5s*, модели ME435RU/A с беспроводным модулем Wi-Fi стандарта 802.11n.

Генотоксическая активность электромагнитного излучения (ЭМИ) определялась по нарушению процесса митоза в меристеме (митотоксичность).

Луковицы подвергались облучению ЭМИ в течение 3 часов и 5 часов. В качестве контрольного варианта использовались луковицы, не подвергавшиеся облучению. Облучению телефона подвергались не пророщенные луковицы. Наибольший уровень ЭМИ у телефона наблюдается в районе антенны, около нее и располагались луковицы опытного образца, на максимально близком расстоянии.

Облученные и интактные луковицы помещались в чистую воду для проращивания в течение 4 дней. В исследовании использовалась негазированная питьевая вода марки «Некрасовская» из артезианской скважины № 104, жесткостью не более 7 мг-экв/л, с минеральными солями не более (мг/л): Кальций 130; Магний 65; Калий 20; Гидрокарбонаты 400; Сульфаты 250; Хлориды 250 (соответствует ГОСТ Р 52181-2003, производитель ООО «Большие Соли»).

В каждом варианте облучению подвергались 3 луковицы. Каждый опыт сопровождался интактным[[5]](#footnote-5) контролем из 5 луковиц. Для приготовления препаратов использовалось 5 корешков из каждой повторности.

Фиксацию срезанных корешков провели фиксатором Кларка, состоящим из этилового спирта (96%) и ледяной уксусной кислоты в соотношении 3:1. Затем корешки окрашивали 2% ацетоорсеином в фарфоровых тиглях.

Для анализа готовили временные давленые препараты корневых меристем. Лезвием отрезали кончик корешка длиной 2-3 мм, помещали на предметное стекло в каплю 45% уксусной кислоты, накрывали покровным стеклом и с помощью спички раздавливали до получения монослоя клеток.[[6]](#footnote-6)

Препараты анализировали под цифровым микроскопом «Альтами» при увеличении около 1206,5 раз. На препаратах рассматривали мелкие, округло-квадратной формы клетки с хорошо прокрашенными ядрами и неповрежденными клеточными стенками.

Учет митотической активности проводили следующим образом. Просматривали около 600 клеток для каждого препарата. Подсчитывали общее количество делящихся клеток и отдельно клетки на разных стадиях митоза.

Показателем уровня митотической активности является митотический индекс (MI, %) - доля клеток, находящихся в митозе, к общему числу проанализированных клеток, исследованных на препарате.

Индекс может говорить о нормальном протекании митоза, об угнетении процесса деления клеток или, напротив, усилении митотической активности тканей. На основании этого делается заключение о митозомодифицирующем действии изучаемого фактора. Увеличение MI может быть обусловлено как усилением деления клеток, так и изменением продолжительности различных фаз, то есть задержкой клеток на определенных фазах митоза.

Чтобы вскрыть причины изменений MI подсчитывали фазные индексы (ПИ,% - профазный индекс; МИ, % - метафазный индекс; А-ТИ, % - ана-телофазный индекс) - доля клеток в различных стадиях митоза от общего количества делящихся клеток.

Математическая обработка результатов проводилась с помощью программы MS Excel. Для всех значений рассчитывалось среднее значение и ошибка среднего (m). Достоверность разницы между контролем и опытом проводилась с помощью t-критерия Стьюдента для малых выборок.[[7]](#footnote-7)

# 2. Результаты исследования и их обсуждение

## **2.1. Спонтанный уровень митотической активности меристемы Allium cepa**

Данные, характеризующие уровень митотической активности меристемы в контрольном варианте представлены в таблице 1.

**Таблица 1**

**Митотический индекс и индексы фаз митоза в меристеме *A. cepa***

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **номер повторности** | **MI, %** | **ПИ,%** | **МИ, %** | **А-ТИ, %** |
| 1 | 5,47 | 69,44 | 2,78 | 27,78 |
| 2 | 6,33 | 52,63 | 10,53 | 36,84 |
| 3 | 3,77 | 30,43 | 17,39 | 52,17 |
| 4 | 3,87 | 18,18 | 45,45 | 36,36 |
| 5 | 3,09 | 47,06 | 11,76 | 41,18 |
| **Среднее значение** | 4,51 | 43,55 | 17,58 | 38,87 |
| **m** | 0,60 | 8,89 | 7,35 | 3,97 |

Как можно увидеть по данной таблице, среднее значение митотического индекса составляет 4,51%, при этом в различных повторностях он варьируется от 3,09% до 6,33%, что может говорить о различном уровне митотической активности в меристеме корешков *Allium cepa.* Ошибка среднего (m) составляет 0,60%. Анализ индексов фаз митоза позволяет отметить преобладание клеток на стадии профазы (43,55%), доля клеток на стадии метафазы наименьшая (17,58%).

## 2.2. Уровень митотической активности меристемы при различном времени воздействия ЭМИ мобильного телефона iPhone 5s

Для изучения влияния времени воздействия ЭМИ мобильного телефона на митотическую активность меристемы луковицы облучали в течение различных периодов: 3 часа (опыт 1) и 5 часов (опыт 2). Результаты представлены в таблице 2 и на рис. 1,2.

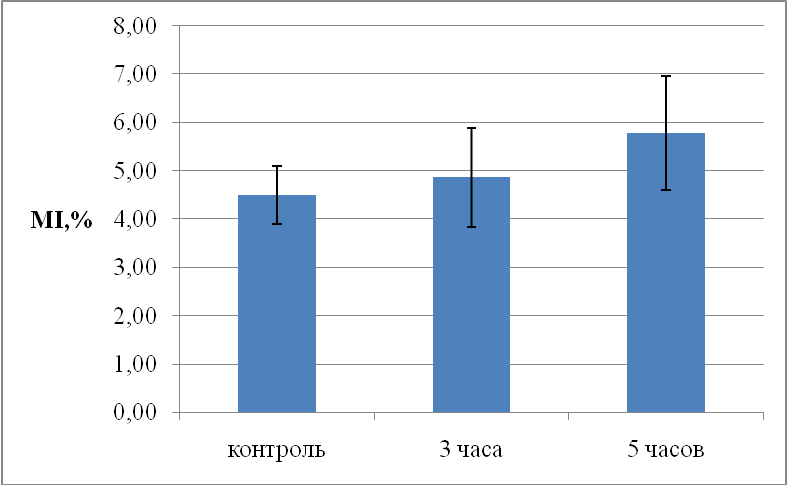
**Таблица 2**

**Митотический индекс и индексы фаз митоза в меристеме *A. сepa* при облучении в течение 3 часов (опыт 1) и 5 часов (опыт 2)**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Время облучения** | MI, % | ПИ,% | МИ, % | А-ТИ, % |
| **Контроль** | **4,51±0,60** | **43,55±8,89** | **17,58±7,35** | **38,87±3,97** |
| **Облучение ЭМИ 3 часа** | **4,87±1,02** | **49,22±3,90** | **26,74±6,32** | **24,04±9,26** |
| **Облучение ЭМИ 5 часов** | **5,78±1,17** | **38,62±3,95** | **28,19±6,83** | **33,19±4,48** |

Митотический индекс при облучении в течение 3 часов повышается до 4,87%, 5 часов - 5,78%, однако различия между контролем и опытом недостоверны. Повышение митотического индекса может свидетельствовать о митозстимулирующем действии ЭМИ мобильного телефона. Данный эффект можно отнести к группе митотоксических эффектов, т.к. повышение митотической активности клеток может негативно сказываться на развитии организма, приводя к онкологическом заболеваниям.

Сравнение митотического индекса при различном времени облучения представлено на рис. 1.



**Рис. 1. Митотический индекс в меристеме *A. сepa* при различном времени облучения ЭМИ мобильного телефона**

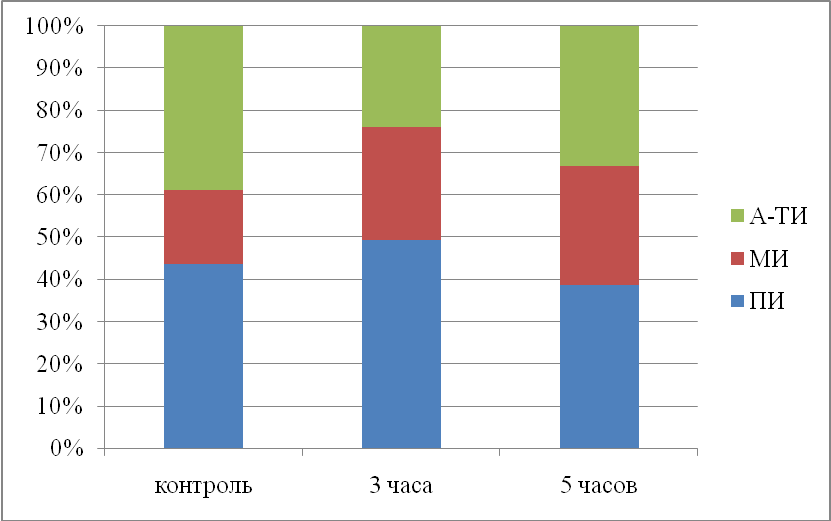
Изучение длины корней при различном времени облучения также позволяет отметить отсутствие достоверных различий с контрольным вариантом (таблица 3**)**. Так как длина корней не увеличивается, можно предположить, что происходит задержка клеток на стадиях митоза.

На рисунке 2 мы можем увидеть соотношение индексов фаз митоза при различном времени облучения ЭМИ мобильного телефона. Сравнение индексов фаз митоза позволяет отметить, что их соотношение незначительно изменяется по сравнению с контрольным вариантом. При облучении в течение 3 часов повысилась доля клеток на стадии профазы и метафазы, уменьшилось количество клеток на стадии ана-телофазы. При облучении в течение 5 часов уменьшилась доля клеток на стадиях профазы и ана-телофазы по сравнению с контролем, увеличилась на стадии метафазы. Таким образом, при воздействии излучения телефона доля делящихся клеток увеличивается, имеет место изменение соотношения индексов фаз митоза, однако прироста корней не происходит. Это может свидетельствовать о нарушениях прохождения клетками отдельных фаз митоза. Задержка клеток на стадии профазы может быть связана с нарушениями сборки веретена деления, спирализации хромосом, прикрепления хромосом к веретену деления и др., на стадии метафазы – с подвижностью хромосом на ахроматиновом веретене, на стадии анафазы - с нарушениями расхождения хромосом к полюсам клетки (разделение центромера, изменения длины нитей веретена деления).

**Таблица 3**

**Длина корней в меристеме *A. сepa* при облучении в течение 3 часов (опыт 1) и 5 часов (опыт 2)**

|  |  |
| --- | --- |
| **Время облучения** | **Длина корней, см** |
| **Контроль** | **3,84±0,37** |
| **Облучение ЭМИ 3 часа** | **3,53±0,08** |
| **Облучение ЭМИ 5 часов** | **3,78±0,09** |



**Рис. 2. Индексы фаз митоза в меристеме *A.cepa* при различном времени облучения ЭМИ мобильного телефона**

Сравнение полученных данных с результатами исследований отечественных и зарубежных учёных позволяет отметить, что наши данные о генотоксичности ЭМИ сотового телефона подтверждаются. В работе Engelmann J.C., Deeken R. (2008 г.) исследование проводилось на клетках арабидопсиса, которые находились в поле действия ЭМИ в течение 24 ч. Генотоксическая активность ЭМИ была вывялена по изменению транскрипции 10 генов.

В работе Gandhi G. (2005 г.) изучалась генотоксичность волн частотой от 800 до 2000 МГц с помощью метода ДНК-комет и микроядерного теста на лимфоцитах периферической крови человека. Сравнение контрольной группы людей (не пользовавшихся мобильными телефонами) с группой людей, являвшихся активными пользователями мобильных устройств, показало, что увеличилось количество разрывов в ДНК в клетках крови (на 39,75 %) и доля клеток с микроядрами.

Метод ДНК-комет был также применён Cam S.T. и Seyhan N. (2012 г.). Было изучено воздействие волн частотой 900 МГц на клетки корней волос человека. Образцы клеток исследовались до и после облучения в течение 15 и 30 мин. В результате было зафиксировано увеличение кол-ва однонитевых разрывов ДНК, причём больше нарушений было обнаружено после использования телефона в течение 30 мин.

Изучением мутагенного эффекта УВЧ излучения сотовых телефонов занимался и Песня Д.С. Его исследование с использованием Allium cepa в качестве тест-объекта показало, что при суммарном облучении в течение 3 ч. произошло повышение частоты мутаций в 5 раз, при суммарном облучении в течение 9 ч. – в 7 раз.

Таким образом, данные нашей исследовательской работы подтверждаются результатами исследований других авторов с использованием различных тест-объектов и свидетельствуют о наличии генотоксического эффекта ЭМИ мобильных телефонов.

# 3. Заключение

## 3.1. Выводы

По результатам исследовательской работы можно сделать следующие выводы:

* + 1. Спонтанный митотический индекс в меристеме *А.сера* составляет 4,51±0,60%, профазный индекс - 43,55±8,89%, метафазный индекс - 17,58±7,35%, ана-телофазный индекс - 38,87±3,97%.
    2. Воздействие ЭМИ мобильного телефона *Apple iPhone 5s* (модель ME435RU/A с беспроводным модулем Wi-Fi стандарта 802.11n) в течение 3 и 5 часов приводит к повышению митотического индекса в меристеме *А.сера* до4,87±1,02% (облучение в течение 3 часов) и 5,78±1,17% (облучение в течение 5 часов), следовательно, ЭМИ данного мобильного телефона обладает генотоксической активностью.
    3. Повышение доли делящихся клеток в облученной меристеме не приводит к увеличению длины корней *А.сера*, следовательно, воздействие ЭМИ индуцирует задержку прохождения клетками фаз митоза и не вызывает повышения доли клеток, вступающих в митоз.
    4. Воздействие ЭМИ мобильного телефона *Apple iPhone 5s* вызывает повышение доли профаз и метафаз в меристеме, что может быть связано с нарушением в облученных клетках процессов спирализации хромосом, формирования веретена деления, прикрепления хромосом к митотическому веретену.
    5. Митотический индекс наиболее значительно повышается при облучении ЭМИ сотового телефона в течение 5 часов (5,78±1,17%), чем при воздействии 3 часа (4,87±1,02%), следовательно, при увеличении времени облучения генотоксический эффект ЭМИ усиливается.

# Список использованных источников и литературы

1. Инге-Вечтомов С. Г. Генетика с основами селекции. М.: Высшая школа, 1989. С. 290-317.
2. Калаев В.Н., Карпова С.С. Цитогенетический мониторинг: методы оценки загрязнения окружающей среды и состояния генетического аппарата организма. Воронеж, 2004. 80 с.
3. Песня Д.С. Разработка методики для оценки влияния УВЧ-излучения сотовых телефонов и других приборов с ЭМИ РЧ на организмы in vivo // Ярославский педагогический вестник. №3, 2010. С. 80-84.
4. Прохорова И.М., Ковалева М.И., Фомичева А.Н. Генетическая токсикология. Лабораторный практикум: учебное пособие. Яросл. гос. ун-т, Ярославль, 2005. 132 с.
5. Прямые и обратные мутации: [Электронный ресурс] // Зооинженерный факультет МСХА. URL: http://www.activestudy.info/pryamye-i-obratnye-mutacii. (Дата обращения: 31.03.2017).
6. Слатинская Л. Ю. Действие электромагнитных полей на человека. Красноярск, 2009.
7. Трансверсия: [Электронный ресурс] // База знаний по биологии человека. URL:http://humbio.ru/humbio/tarantul\_sl/00001596.htm. (Дата обращения: 31.03.2017).
8. Электромагнитные поля и общественное здравоохранение: мобильные телефоны: [Электронный ресурс] // Всемирная организация здравоохранения. Информационный бюллетень N°193, 2014. URL: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs193/ru.(Дата обращения: 31.03.2017).
9. Лакин Г.Ф. Биометрия: Учеб. пособие для биол. спец. вузов. - 4-е изд. М.: Высш. шк., 1990. С.113-119.
10. Engelmann J.C., Deeken R., Müller T., Nimtz G., Roelfsema M.R., Hedrich R. Is gene activity in plant cells affected by UMTS-irradiation? A whole genome approach // Adv. Appl. Bioinform. Chem. 1, 2008. С.71-83.
11. Gandhi G. Genetic damage in mobile phone users: some preliminary findings // Int. J Hum. Genet. 11, 2005. С. 99-104.
12. Cam S.T., Seyhan N. Single-strand DNA breaks in human hair root cells exposed to mobile phone radiation // Int. J Radiat. Biol. 88(5), 2012. С. 420-424.

## Приложение 1

## 1. Обзор литературы

## 1.1. Понятие и классификация мутаций

Мутациями называют изменение количества или структуры ДНК данного организма.[[8]](#footnote-8) Причиной их возникновения служат генотоксиканты – это факторы, которые оказывают отрицательное действие на генетическую информацию и механизмы ее реализации.

Мутации классифицируют в соответствии с различными принципами.

1. По характеру изменения генома выделяют:

* Геномные – изменения числа хромосом
* Хромосомные – изменения структуры хромосом
* Генные – изменения генов

1. По проявлению в гетерозиготе:

* Доминантные
* Рецессивные

1. По уклонению от нормы:

* Прямые - мутации гена от состояния дикого типа к новому состоянию[[9]](#footnote-9)
* Реверсии – мутации гена от состояния мутантного (нового) типа к дикому

1. В зависимости от причин, вызывающих мутации:

* Спонтанные, возникающие без видимой причины
* Индуцированные, возникающие после какого-либо индуцирующего воздействия со стороны экспериментатора

1. По локализации в клетке:

* Ядерные – мутации генов, расположенных в ядре клетки
* Цитоплазматические – мутации неядерных генов

1. По отношению к возможности наследования:

* Генеративные, происходящие в половых клетках
* Соматические, происходящие в соматических клетках

1. По фенотипическому проявлению:

* Летальные – мутации, вызывающие изменения, несовместимые с жизнью
* Морфологические – мутации, вызывающие видимые изменения в строении органов и тканей
* Биохимические – мутации, приводящие к изменению синтеза определённых химических веществ в организме
* Поведенческие – мутации, вызывающие изменения физиологических процессов

По характеру нарушения генома выделяют:

Генные мутации (точковые)

Генные мутации представляют собой молекулярные, не видимые в световом микроскопе изменения структуры ДНК. К мутациям генов относятся любые изменения молекулярной структуры ДНК, независимо от их локализации и влияния на жизнеспособность. Особое внимание уделяется точковым (точечным) мутациям – изменениям пар нуклеотидов ДНК (или нуклеотида РНК).[[10]](#footnote-10)

Выделяют следующие типы генных мутаций:

1. Транзиции – тип мутаций, заключающийся в замене одного пуринового основания на другое или одного пиримидинового основания на другое.
2. Трансверсии – тип мутаций, заключающийся в замене пуринового азотистого основания в молекуле ДНК на пиримидиновое или наоборот.[[11]](#footnote-11)
3. Вставка лишней пары нуклеотидов.
4. Выпадение пары нуклеотидов.

Все транзиции и трансверсии можно объяснить изменением нуклеотидной последовательности молекулы ДНК в определённом участке хромосомы, что в дальнейшем приводит к изменению последовательности аминокислот в полипептидной цепи.

Хромосомные мутации

Представляют собой перемещения генетического материала, приводящие к изменению структуры хромосомы в пределах кариотипа. В такие перестройки могут быть вовлечены участки одной хромосомы или разных – негомологичных – хромосом.

В соответствии с этим критерием выделяют мутации внутрихромосомные и межхромосомные.

Внутрихромосомные – дефишенси (концевые нехватки), делеции (выпадения частей хромосом), дупликации (удвоения), инверсии (изменения чередования генов).

Межхромосомные – транслокации (перемещения части одной хромосомы на другую, не гомологичную ей).

Хромосомные мутации часто приводят к различным фенотипическим изменениям, которые объясняются локализацией точек разрывов внутри или вблизи тех или иных генов.

Геномные мутации

Результат изменений числа хромосом, т.е. изменений генома – гаплоидного набора хромосом с локализованными в них генами.

Среди геномных мутаций различают полиплоидию и анеуплоидию. Если изменения числа хромосом кратны гаплоидному набору, то говорят о полиплоидии. Если изменяется число экземпляров только одной или некоторых хромосом набора, то говорят об анеуплоидии.

Полиплоидия широко и неравномерно распространена в природе. Причинами возникновения полиплоидии могут быть нарушения в митотических и мейотических делениях клеток и гибридизация.

## 1.2. Понятие и классификация мутагенов

Мутагены – химические, физические и биологические факторы, вызывающие мутации.

Наиболее распространённой является следующая классификация мутагенов:

По источнику происхождения:

1. Экзогенные мутагены - различные и многочисленные факторы внешней среды (радиационное излучение, алкилирующие агенты, окислители, многие вирусы).
2. Эндогенные мутагены образуются в процессе жизнедеятельности организма (мутации могут возникать под влиянием свободных радикалов, продуктов липопероксидации).

По природе возникновения воздействующих факторов:

1. Физические мутагены - ионизирующее излучение и температурный фактор.
2. Химические мутагены - сильные окислители или восстановители, алкилирующие агенты (йодацетамид), пестициды, некоторые пищевые добавки (ароматические углеводороды, цикламаты), продукты переработки нефти, органические растворители, цитостатики, содержащие ртуть средства, иммунодепрессанты.
3. Биологические мутагены - вирусы (например, кори, краснухи, гриппа).

Также мутагены могут быть как спонтанными (действуют в нормальных природных условиях без видимых причин), так и индуцированными (искусственно инициируются человеком для своих целей).

В современном мире количество индуцированных мутагенов увеличивается с каждым днём. Таким образом, наиболее распространёнными и опасными физическими мутагенами являются источники слабого электромагнитного излучения, которое действует в течение длительного промежутка времени. К таким источникам относится в основном аудио-видео техника, бытовая техника. Существенную роль в жизни человека играют мобильные телефоны, СВЧ печи, компьютеры и телевизоры. Проблема электромагнитного излучения, исходящего от персональных компьютеров, встает достаточно остро ввиду нескольких причин: компьютер имеет сразу два источника излучения (монитор и системный блок); пользователь ПК практически лишен возможности работать на расстоянии; очень длительное время воздействия. Встаёт вопрос о том, что электромагнитное излучение может представлять реальную угрозу для здоровья человека. Оказывается, что электромагнитные и радиационные поля близки по некоторым своим параметрам. Это было доказано как российскими, так и зарубежными учеными.

Химические мутагены окружают нас буквально везде: распыленные в воздухе препараты бытовой химии, краски для волос, производственные выбросы и выхлопные газы автомобилей. Вредные химические вещества, накапливающиеся в почве, со временем переходят в съедобные части растений. Большинство пестицидов являются синтетическими органическими веществами. На практике используется около 600 пестицидов, относящихся к разным классам химических соединений. Поскольку они циркулируют в биосфере, мигрируют в естественных трофических цепях, накапливаясь в некоторых биоценозах и сельскохозяйственных продуктах, то к прогнозированию последствий их применения привлекаются не только медики, гигиенисты, но и экологи. Речь идет о повышении мутационного процесса не только у человека, но и в растительном и животном мире. Человек контактирует с химическими веществами при их производстве, при их применении на сельскохозяйственных работах, получает небольшие их количества с пищевыми продуктами, водой из окружающей среды.

## 1.3. Мутагенное загрязнение окружающей среды и его негативные последствия

Среда обитания живых организмов содержит большое количество различных мутагенов, что приводит к необходимости выявления их влияния, анализа механизмов действия и разработки методов предсказания и предотвращения генетических последствий действия мутагенов на живые организмы. В настоящее время отмечается глобальное загрязнение окружающей среды техногенными продуктами, которые, обладая повышенной мутагенной активностью, несут в себе опасность воздействия на генетический аппарат живых существ.[[12]](#footnote-12)

Мутации, возникающие в половых клетках, называют генеративными. Мутации, возникающие в клетках других тканей тела, называют соматическими. Необходимость такого разделения вызвана тем, что эволюционная ценность генеративных и соматических мутаций различна и определяется типом размножения организма.

Мутации генов в половых клетках обнаруживаются на стадии зиготы следующих поколений. Если генеративная мутация возникает в одной клетке на ранней стадии зачаткового пути или в период размножения сперматогониев и оогониев, то такая мутация размножится в количестве, пропорциональном числу, прошедших клеточных делений. Мутация, возникшая на стадии сперматозоида или яйцеклетки, останется, как правило, единичной.

Соматические мутации по своей природе ничем не отличаются от генеративных. Различие состоит лишь в проявлении и методах их обнаружения. Чем раньше в онтогенезе возникает соматическая мутация, тем больше оказывается участок ткани, несущие данную мутацию, и чем позднее — тем меньше. В силу диплоидности набора хромосом в клетках соматической ткани, проявление мутации возможно только в тех случаях, когда мутантная аллель оказывается доминантной или будет рецессивна и будет находиться в гомозиготном состоянии.

Главная опасность загрязнения окружающей среды мутагенами, как полагают генетики, заключается в том, что вновь возникающие мутации, не “переработанные” эволюционно, отрицательно повлияют на жизнеспособность любых организмов. И если поражение зародышевых клеток может привести к росту числа носителей мутантных генов и хромосом, то при повреждении генов соматических клеток возможно возрастание числа раковых заболеваний. Более того, существует глубокая связь различных на первый взгляд биологических эффектов.

Например, мутагены окружающей среды влияют на величины рекомбинаций наследственных молекул, являющихся также источником наследственных изменений. Возможно и влияние на функционирование генов, что может быть причиной, например, тератологических отклонений (уродств), наконец, вероятны поражения ферментных систем, что изменяет различные физиологические особенности организма, вплоть до деятельности нервной системы, а, следовательно, сказывается и на психике.

В результате вредных мутаций в популяции повышается частота рецессивных аллелей, таким образом, накапливается генетический груз. Под понятием генетический груз понимают существование в популяции неблагоприятных аллелей, входящих в гетерозиготные генотипы.[[13]](#footnote-13) Увеличение генетического груза приводит к увеличению вероятности проявления редких наследственных заболеваний, иногда не совместимых с жизнью.

## 1.4. Методы оценки мутагенов

В настоящее время разработаны относительно простые и высокочувствительные цитогенетические методы, основанные на оценке структурных и численных изменений хромосом, микроядерный тест, исследования активности ферментов, являющиеся показателем экспрессии соответствующих генов. Эти подходы позволяют дать реальную оценку воздействия на окружающую среду, подвергшуюся всему спектру биологических изменений, что оказывается затруднительным при применении других подходов. Методы достаточно просты и недороги, пригодны для широкого использования.[[14]](#footnote-14)

Можно назвать основные требования, применяемые к современным методам оценки мутагенов:

1. высокая чувствительность (чтобы не пропустить потенциальный мутаген, не дать ложноотрицательного ответа);
2. специфичность (чтобы регистрировать только истинные мутагены, не давать ложноположительного ответа);
3. способность выявлять все типы мутаций;
4. возможность выявлять как прямые мутагены, так и косвенные мутагены (промутагены), приобретающие мутагенную активность в процессе метаболизма в организме;
5. возможность выявлять как универсальные мутагены, индуцирующие мутации у всех организмов, так и мутагены, активные в ограниченном наборе биологических систем;
6. экономичность, краткосрочность, простота в выполнении;
7. воспроизводимость результатов (возможность получения аналогичных результатов на той же тест-системе);
8. возможность экстраполяции полученных данных на человеке;
9. регистрация как нарушений структуры ДНК, так и генетических процессов (генетическая репарация, кроссинговер, протекание митоза, нарушение центромеры, митотического аппарата).

*Микробные тест-системы*. Один из подходов заключается в ступенчатой системе испытаний, которая основывается на том, что фактически все генетически опасные вещества можно выявить с помощью простых или быстрых методов скрининга (просеивания). К скрининговым тест-системам относятся методы, в которых в качестве индикатора мутагенности используются микроорганизмы. Мутагены, обнаруженные при скрининге, подвергают всестороннему исследованию на тест-системах, позволяющих учитывать индукцию генетических нарушений в клетках млекопитающих in vitro и in vivo.

*Учет хромосомных аберраций*. Изменение числа и структуры хромосом в соматических клетках и зародышевых клетках могут возникать спонтанно или после воздействия физическими и химическими агентами. Нарушения хромосом, возникающие в зародышевых клетках, приводят к разнообразной врожденной патологии у человека. Эти нарушения принято относить к мутациям, которые могут быть разделены на геномные в случае изменения числа хромосом и хромосомные – при структурных нарушениях.

Многочисленные работы последних лет свидетельствуют о том, что накопление хромосомных мутаций в соматических клетках является одним из факторов, индуцирующих развитие клонов злокачественных клеток, а также процессы старения.

Анализ хромосом соматических клеток методически хорошо разработан. Аномалии хромосом в экспериментальных условиях можно индуцировать различными агентами в клеточных культурах и в соматических клетках лабораторных животных in vivo. В последнем случае обычно в качестве модели используют клетки костного мозга животных.

*Микроядерный тест.* Метафазный анализ, который используется при учете хромосомных аберраций в соматических клетках животных и человека, требует много времени и высокой квалификации исследователя. Поиск же новых принципов учета структурных нарушений хромосом был направлен на упрощение метода. В 1973 г. J.A.Heddle и W.Schmid независимо друг от друга предложили микроядерный тест, основанный на учете микроядер в полихромных эритроцитах костного мозга. Первоначально он был разработан для эритроидных клеток костного мозга, а позже тест стал применяться для учета микроядер в печени плода при изучении трансплацентарной активности химических соединений, в клетках слизистой рта, лимфоцитах человека, в клетках печени и толстой кишки животных. К настоящему времени учет микроядер стал возможен в большинстве популяций делящихся клеток.

В большинстве случаев растительным тест-системам отдаётся предпочтение, так как результаты, полученные на данных тест-системах, показывают корреляцию с тестами на других организмах: водорослях, растениях, насекомых, в том числе и млекопитающих.[[15]](#footnote-15)

## 1.5. Электромагнитное излучение как мутагенный фактор

В настоящее время мобильные или сотовые телефоны являются неотъемлемой частью современных телекоммуникаций. Во многих странах более половины населения пользуется мобильными телефонами, а торговля ими растет быстрыми темпами. По оценкам, в 2014 году во всем мире было зарегистрировано 6,9 миллиарда пользователей. В некоторых частях мира мобильные телефоны являются наиболее надежными или единственно имеющимися телефонами.[[16]](#footnote-16)

В связи с большим числом пользователей мобильных телефонов важно исследовать, понимать и контролировать их потенциальное воздействие на здоровье людей. На настоящий момент данные о мутагенной активности противоречивы: кто-то выявил мутагенность, кто-то нет.

Связь по мобильным телефонам осуществляется с помощью радиоволн, распространяемых через сеть фиксированных антенн, называемых базовыми станциями. Радиочастотные волны являются электромагнитными полями, которые в отличие от ионизирующего излучения, такого как рентгеновские лучи или гамма-лучи, не могут ни разрывать химические связи, ни вызывать ионизацию в организме человека. Длина радиоволн УВЧ колеблется в диапазоне 0,1-1 м. Мобильные телефоны осуществляют приём и передачу данных в диапазоне частот 453-1875 МГц.

Согласно данным литературы, повреждение генетического материала может происходить путем активации излучением ряда процессов: образования свободных радикалов (окислительный стресс), микротермальных эффектов в клеточных структурах (экспрессия генов теплового шока), воздействия на ДНК-репарирующие механизмы.

Основным механизмом взаимодействия между радиочастотной энергией и организмом человека является нагрев тканей. На частотах, используемых мобильными телефонами, основная часть энергии поглощается кожей и другими поверхностными тканями, что приводит к незначительному повышению температуры мозга или каких-либо других органов.[[17]](#footnote-17)

## Приложение 2

**Учёт результатов эксперимента**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Вариант опыта** |  |  |  | **Количество клеток на стадиях митоза** | | |  |  |  |  |
| **Контроль** | **всего клеток** | **неделящиеся клетки** | **всего делящихся клеток** | **Профаза** | **Метафаза** | **Ана-телофаза** | **MI, %** | **ПИ, %** | **МИ, %** | **А-ТИ, %** |
| 1 | 658 | 622 | 36 | 25 | 1 | 10 | 5,47 | 69,44 | 2,78 | 27,78 |
| 2 | 600 | 562 | 38 | 20 | 4 | 14 | 6,33 | 52,63 | 10,53 | 36,84 |
| 3 | 610 | 587 | 23 | 7 | 4 | 12 | 3,77 | 30,43 | 17,39 | 52,17 |
| 4 | 568 | 546 | 22 | 4 | 10 | 8 | 3,87 | 18,18 | 45,45 | 36,36 |
| 5 | 551 | 534 | 17 | 8 | 2 | 7 | 3,09 | 47,06 | 11,76 | 41,18 |
| **ср.знач.** | 597,40 | 570,20 | 27,20 | 12,80 | 4,20 | 10,20 | 4,51 | 43,55 | 17,58 | 38,87 |
| **m** | 33,80 | 28,66 | 7,56 | 7,47 | 2,85 | 2,34 | 0,60 | 8,89 | 7,35 | 3,97 |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| **Облучение в течение 3ч** | **всего клеток** | **неделящиеся клетки** | **всего делящихся клеток** | **Профаза** | **Метафаза** | **Ана-телофаза** | **MI, %** | **ПИ, %** | **МИ, %** | **А-ТИ, %** |
| 1 | 605,00 | 567,00 | 38,00 | 16 | 9,00 | 13,00 | 6,28 | 42,11 | 23,68 | 34,21 |
| 2 | 626,00 | 608,00 | 18,00 | 10 | 7,00 | 1,00 | 2,88 | 55,56 | 38,89 | 5,56 |
| 3 | 625,00 | 591,00 | 34,00 | 17 | 6,00 | 11,00 | 5,44 | 50,00 | 17,65 | 32,35 |
| **ср.знач.** | 618,67 | 588,67 | 30,00 | 14,33 | 7,33 | 8,33 | 4,87 | 49,22 | 26,74 | 24,04 |
| **m** | 6,84 | 11,89 | 6,11 | 2,19 | 0,88 | 3,71 | 1,02 | 3,90 | 6,32 | 9,26 |
| **t-критерий Стьюдента** |  |  |  |  |  |  | 0,33 | 0,47 | 0,85 | 1,73 |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| **Облучение в течение 5ч** | **всего клеток** | **неделящиеся клетки** | **всего делящихся клеток** | **Профаза** | **Метафаза** | **Ана-телофаза** | **MI, %** | **ПИ, %** | **МИ, %** | **А-ТИ, %** |
| 1 | 642,00 | 595,00 | 47,00 | 17 | 11,00 | 19,00 | 7,32 | 36,17 | 23,40 | 40,43 |
| 2 | 627,00 | 586,00 | 41,00 | 19 | 8,00 | 14,00 | 6,54 | 46,34 | 19,51 | 34,15 |
| 3 | 690,00 | 666,00 | 24,00 | 8 | 10,00 | 6,00 | 3,48 | 33,33 | 41,67 | 25,00 |
| **ср.знач.** | 634,50 | 590,50 | 44,00 | 18,00 | 9,50 | 16,50 | 5,78 | 38,62 | 28,19 | 33,19 |
| **m** | 19,00 | 25,30 | 6,89 | 0,58 | 0,87 | 1,44 | 1,17 | 3,95 | 6,83 | 4,48 |
| **t-критерий Стьюдента** |  |  |  |  |  |  | 1,09 | 0,40 | 0,97 | 0,91 |

1. Слатинская Л. Ю. Действие электромагнитных полей на человека. Красноярск, 2009. [↑](#footnote-ref-1)
2. Инге-Вечтомов С. Г. Генетика с основами селекции. – М.: Высшая школа, 1989. С. 290-317. [↑](#footnote-ref-2)
3. Песня Д.С. Разработка методики для оценки влияния УВЧ-излучения сотовых телефонов и других приборов с ЭМИ РЧ на организмы in vivo // Ярославский педагогический вестник. №3, 2010. С. 80. [↑](#footnote-ref-3)
4. Песня Д.С. Разработка методики для оценки влияния УВЧ-излучения сотовых телефонов и других приборов с ЭМИ РЧ на организмы in vivo // Ярославский педагогический вестник. №3, 2010. С.81. [↑](#footnote-ref-4)
5. Не подвергавшимся облучению ЭМИ [↑](#footnote-ref-5)
6. Прохорова И.М., Ковалева М.И., Фомичева А.Н. Генетическая токсикология. Лабораторный практикум: учебное пособие. Яросл. гос. ун-т, Ярославль, 2005. 132 с. [↑](#footnote-ref-6)
7. Лакин Г.Ф. Биометрия: Учеб. пособие для биол. спец. вузов. - 4-е изд. М.: Высш. шк., 1990. С.113-119. [↑](#footnote-ref-7)
8. Тейлор Д., Грин Н., Стаут У. Биология: В 3-х т. – Т.3. М.: Мир, 2010. С. 209. [↑](#footnote-ref-8)
9. Прямые и обратные мутации: [Электронный ресурс] // Зооинженерный факультет МСХА. [↑](#footnote-ref-9)
10. Инге-Вечтомов С. Г. Генетика с основами селекции. – М.: Высшая школа, 1989. С. 308. [↑](#footnote-ref-10)
11. Трансверсия: [Электронный ресурс] // База знаний по биологии человека. [↑](#footnote-ref-11)
12. Калаев В.Н., Карпова С.С. Цитогенетический мониторинг: методы оценки загрязнения окружающей среды и состояния генетического аппарата организма. – Воронеж, 2004. – С.4-5. [↑](#footnote-ref-12)
13. Тейлор Д., Грин Н., Стаут У. Биология: В 3-х т. – Т.3. М.: Мир, 2010. С. 319. [↑](#footnote-ref-13)
14. Калаев В.Н., Карпова С.С. Цитогенетический мониторинг: методы оценки загрязнения окружающей среды и состояния генетического аппарата организма. – Воронеж, 2004. С.5. [↑](#footnote-ref-14)
15. Песня Д.С. Разработка методики для оценки влияния УВЧ-излучения сотовых телефонов и других приборов с ЭМИ РЧ на организмы in vivo // Ярославский педагогический вестник. №3, 2010. С.81. [↑](#footnote-ref-15)
16. Всемирная организация здравоохранения. Информационный бюллетень N°193, 2014 [↑](#footnote-ref-16)
17. Слатинская Л. Ю. Действие электромагнитных полей на человека. Красноярск, 2009. [↑](#footnote-ref-17)