

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ СЕКРЕТОРНЫХ ПРОДУКТОВ НЕЙТРОФИЛОВ, ПРЕДВАРИТЕЛЬНО ПОДВЕРГШИХСЯ ВОЗДЕЙСТВИЮ МОДЕЛИРОВАННЫМ НИЗКОИНТЕНСИВНЫМ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫМ ИЗЛУЧЕНИЕМ ПРИРОДНОГО И АНТРОПОГЕННОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ, НА БИОПЛЕНКООБРАЗУЮЩУЮ СПОСОБНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ ЛИЦ, ИСПОЛЬЗУЮЩИХ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ОРТОПЕДИЧЕСКИЕ КОНСТРУКЦИИ

© 2018 г. Ю. С. Шишкова¹, С. Н. Даровских², М. С. Бабинова¹,
Н. В. Вдовина², О. Р. Вильданова¹, И. И. Долгушин¹

¹ФГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия;

²ФГБОУ ВПО Южно-Уральский государственный университет, Челябинск, Россия

Поступила: 23.05.2018. Принята: 29.06.2018

Представлены результаты сравнительной оценки влияния секреторных продуктов нейтрофилов, предварительно подвергшихся воздействию моделированным низкоинтенсивным электромагнитным излучением природного и антропогенного (техногенного) происхождения, на биопленкообразующую способность микроорганизмов, выделенных из ротовой полости лиц, использующих стоматологические ортопедические конструкции. Установлено, что электромагнитное излучение как природное, так и техногенное оказывает дифференцированное воздействие на функционирование нейтрофильных гранулоцитов. Оно проявляется в дифференцированном влиянии указанных излучений на процессы биопленкообразования стрептококков, стафилококков, кишечной палочки и лактобактерий. Полученные результаты открывают перспективы разработки мер профилактики и коррекции инфекционных процессов в ротовой полости с применением низкоинтенсивного ЭМИ.

Ключевые слова: электромагнитное излучение (ЭМИ), нейтрофилы, микрофлора, биопленки

DOI: 10.31857/S102872210002434-2

Адрес: 454092 Челябинск, ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», Шишкова Юлия Сергеевна, Бабинова Марина Сергеевна.

Тел.: +79514731180, 8(351)7292249;

E-mail: marina.babikova.86@mail.ru.

Авторы:

Шишкова Ю. С., д.м.н., профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия;

Даровских С. Н., д.т.н., заведующий кафедрой инфокоммуникационные технологии ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный университет, Челябинск, Россия;

Бабинова М. С., соискатель кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия;

Вдовина Н. В., к.т.н., доцент кафедры инфокоммуникационные технологии ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный университет, Челябинск, Россия;

Вильданова О. Р., ассистент кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия;

Долгушин И. И., академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, д.м.н., проф., заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия.

ВВЕДЕНИЕ

Жизнь на Земле возникла под влиянием природного электромагнитного фона. Основными его источниками являются электромагнитное и корпускулярное излучения Солнца. На протяжении сотен миллионов лет эти излучения, которые не всегда обладали определенной ста-

бильностью, лежали в основе формирования организмами и микроорганизмами, в частности, различных адаптационных механизмов к среде их существования [1]. Однако на процесс поддержания в них гомеостаза в последние десятилетия существенную роль стали оказывать электромагнитные поля и излучения техногенного происхождения. К ним в первую очередь следует отнести радиопередающие центры связи и навигации, мобильную и сотовую связь, радиолокационные станции, беспроводные компьютерные сети и др. [2].

На сегодняшний день электромагнитное загрязнение внешней среды обитания человека практически исключило природный электромагнитный фон в поддержании гомеостаза живых организмов, что создает предпосылки для развития различного рода патологических процессов [2]. Это проявляется усилением патогенных свойств микроорганизмов в виде интенсификации процессов биопленкообразования, обеспечивающих защиту их от неблагоприятных условий [1]. На повышение данных свойств влияет частота, интенсивность и время облучения ЭМИ. Спектр этих величин весьма широк, поэтому вызванные ими изменения могут быть весьма разнообразными, от теплового и информационного воздействия, до оказывающих разрушительное действие на клеточном уровне. По мнению ученых, разрешение данной проблемы возможно, в т.ч. путем восстановления управляющей роли природного электромагнитного фактора, который оказывает информационно-управляющее воздействие на постоянство внутренней среды организмов в виде включения механизмов саморегуляции клеток [3, 4].

Кроме того, в настоящее время в регуляции гомеостаза также активно исследуется участие и секреторных клеток нейтрофилов. Известно, что нейтрофилы, находятся не только внутри тканей, но и выходят на поверхность слизистых оболочек с целью выполнения своих функций. Наряду с фагоцитарной способностью при встрече с микроорганизмом они могут выделять антимикробные вещества – секреторные продукты, которые обладая бактерицидностью, влияют на микрофлору, заселяющую слизистые оболочки. Кроме того, нейтрофилы вступая в контакты с микрофлорой слизистых оболочек, могут оказывать регулирующее действие на формирование микробиоценозов [5, 6]. Данное взаимодействие нейтрофилов и обитателей слизистых оболочек постоянно находится под

воздействием внешних факторов среды, в т.ч. и микроволнового излучения Солнца. В связи с этим, можно предположить, что воздействие электромагнитного облучения, играет определенную роль во взаимодействии нейтрофилов и их секреторных продуктов с представителями патогенной, условно-патогенной и резидентной микрофлоры организма человека. Учитывая это, мы решили на первом этапе изучить влияние моделированного низкоинтенсивного ЭМИ природного и техногенного происхождения на матриксинтезирующую способность микроорганизмов, выделенных из ротовой полости лиц, использующих стоматологические ортопедические конструкции (СОК), а затем, на втором этапе оценить действие секреторных продуктов нейтрофилов, предварительно подвергшихся моделированному низкоинтенсивному ЭМИ, аналогичному природному и антропогенному, на биопленкообразующую способность бактерий, выделенных из ротовой полости лиц, использующих СОК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для проведения первого этапа исследования нами были выбраны наиболее часто встречающиеся микроорганизмы, такие как, оральные стрептококк, кишечная палочка, лактобактерии и золотистый стафилококк, выделенные из ротовой жидкости лиц, использующих СОК и контрольной группы лиц без стоматологического протезирования. Оценку биопленкообразующей активности микроорганизмов осуществляли планшетным методом [7] с учетом результатов на фотометре «Anthos 2020». Каждое исследование проводили в 5 повторах. На втором этапе исследованию подлежали секреторные продукты нейтрофилов, выделенных из периферической венозной крови 28 условно-здоровых доноров. Получение фракции нейтрофилов проводили на двойном градиенте фиколла-урографина [8]. Чистую фракцию нейтрофильных гранулоцитов доводили до концентрации $5 \cdot 10^6$ клеток/мл, делили на 3 части и подвергали моделированному низкоинтенсивному электромагнитному излучению, аналогичному природному, антропогенному или оставляли без воздействия (контроль), а после использовали для получения секреторных продуктов [8]. Для создания низкоинтенсивного электромагнитного поля применили прибор «АИМТ-1» [2]. Моделирование низкоинтенсивного ЭМИ, аналогичного природному, осуществляли путем изменения

режима генерации широкополосного электромагнитного излучения с возрастанием его интенсивности от 50 до 500 мкВт/см² в диапазоне частот 4,00–4,34 ГГц. Для моделирования ЭМИ антропогенного происхождения использовалось моночастотное излучение на частоте 4,13 ГГц с интенсивностью излучения 500 мкВт/см². Общая продолжительность времени обработки микроорганизмов в каждом эксперименте составила 16 минут [9].

Для оценки влияния секреторных продуктов нейтрофилов на биопленкообразование кишечной палочки, лактобактерий и золотистого стафилококка, выделенных из ротовой жидкости лиц, использующих СОК, и контрольной группы лиц с интактными зубными рядами, 100 мкл супернатанта нейтрофилов соединяли с 50 мкл взвеси тестируемых культур в физиологическом

растворе в концентрации 1g 6 КОЕ/мл. и 50 мкл питательного бульона. Оценку биопленкообразующей активности микроорганизмов осуществляли планшетным методом [7] через 24 часа после инкубации при температуре 37°C с учетом результатов оптической плотности экстрагированного красителя на фотометре «Anthos 2020».

Статистическую обработку данных проводили с помощью компьютерной программы Statistica (v. 8.0, StatSoft Inc.). Результаты представляли в виде медианы (Me) и ее квартилей. Сравнение показателей проводили с помощью U-критерия Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе проведенного первого этапа исследования определили, что при воздействии на стреп-

Таблица 1. Влияние низкоинтенсивного ЭМИ, аналогичного природному, на биопленкообразующую способность микроорганизмов

Вид микроорганизма	Показатели оптической плотности	
	Контроль без воздействия ЭМИ	ЭМИ, аналогичное природному
1	2	3
<i>E.coli</i>	0,359 (0,328–0,363)	0,252 (0,226–0,253) p=0,007937
<i>S.aureus</i>	0,309 (0,285–0,350)	0,294 (0,285–0,385) p=0,690476
<i>Streptococcus spp.</i>	0,408 (0,408–0,431)	0,565 (0,521–0,634) p=0,015873
<i>Lactobacillus</i>	0,297 (0,292–0,366)	0,335 (0,290–0,364) p=1,000000

Примечание: результаты выражались медианой и 25 и 75 квартилями, сравнение групп проводилось с помощью критерия Манна-Уитни, p—статистическая значимость различий между группами

Таблица 2. Влияние низкоинтенсивного ЭМИ, аналогичного антропогенному, на биопленкообразующую способность микроорганизмов

Вид микроорганизма	Показатели оптической плотности	
	Контроль без воздействия	ЭМИ, аналогичное антропогенному
1	2	3
<i>E.coli</i>	0,359 (0,328–0,363)	0,281 (0,276–0,320) p=0,015873
<i>S.aureus</i>	0,309 (0,285–0,350)	0,235 (0,232–0,276) p=0,031746
<i>Streptococcus spp.</i>	0,408 (0,408–0,431)	0,275 (0,269–0,288) p=0,007937
<i>Lactobacillus</i>	0,297 (0,292–0,366)	0,171 (0,151–0,180) p=0,007937

Примечание: результаты выражались медианой и 25 и 75 квартилями, сравнение групп проводилось с помощью критерия Манна-Уитни, p—статистическая значимость различий между группами

Таблица 3. Влияние секреторных продуктов нейтрофилов на биопленкообразование бактерий

Группы	Супернатант нейтрофилов без воздействия ЭМИ (контроль) (n=28)	Супернатант нейтрофилов, подвергшихся действию природного ЭМИ (n=28)	Супернатант нейтрофилов, подвергшихся действию антропогенного (техногенного) ЭМИ (n=28)
	1	2	3
Биопленкообразование <i>S. aureus</i>	0,210 (0,173–0,248)	0,231 (0,204–0,261) $p_{1-2}=0,103324$	0,242 (0,219–0,277) $p_{1-3}=0,030395$ $p_{2-3}=0,365949$
Биопленкообразование <i>E. coli</i>	0,268 (0,238–0,291)	0,256 (0,239–0,313) $p_{1-2}=0,763588$	0,284 (0,243–0,322) $p_{1-3}=0,183169$ $p_{2-3}=0,563577$
Биопленкообразование <i>Lactobacillus</i> (n=28)	0,241 (0,217–0,253)	0,244 (0,223–0,293) $p_{1-2}=0,340493$	0,269 (0,247–0,320) $p_{1-3}=0,002338$ $p_{2-3}=0,103324$

Примечание: результаты выражались медианой и 25 и 75 квартилями, сравнение групп проводилось с помощью критерия Манна-Уитни, p – статистическая значимость различий между группами

тококк низкоинтенсивное ЭМИ природного происхождения в сравнении с контролем без воздействия усиливает процесс биопленкообразования. Кишечная палочка, выделенная из ротовой жидкости лиц, использующих СОК, под действием низкоинтенсивного ЭМИ природного происхождения теряет матриксинтезирующую способность. Лактобактерии и золотистый стафилококк сохраняют биопленкообразование при действии низкоинтенсивного ЭМИ природного происхождения (таблица 1).

Низкоинтенсивное ЭМИ антропогенного происхождения у всех тестируемых микроорганизмов значимо снижало процессы биопленкообразования (таблица 2).

По результатам исследований, проведенных на втором этапе, определили, что секреторные продукты нейтрофилов, подвергшихся природному ЭМИ, не влияют на процесс биопленкообразования у всех тестируемых микроорганизмов. Секреторные продукты нейтрофилов, подвергшихся техногенному ЭМИ, действуют иначе, они стимулируют матриксинтезирующую функцию у бактерий, при этом золотистый стафилококк и лактобактерии значимо усиливают пленкообразование по сравнению с контрольной группой (таблица 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенного исследования позволяют заключить, что низкоинтенсивное ЭМИ влияет на процессы биопленкообразования у бактерий, при этом отмечено, что природное

ЭМИ стимулирует пленкообразование у резидентных бактерий и подавляет эту способность у представителей условно-патогенной флоры ротовой полости, регулируя микробный баланс слизистой оболочки. В рамках нашего исследования, также определено, что при действии природного ЭМИ на нейтрофилы, их секреторные продукты не влияют на процесс пленкообразования у микроорганизмов слизистой оболочки полости рта лиц, использующих СОК, сохраняя врожденное звено противoinфекционной защиты слизистых оболочек.

Техногенное ЭМИ подавляет матриксинтезирующую способность у всех изучаемых представителей микрофлоры свободной ротовой жидкости, в том числе и резидентных. Такое действие ЭМИ на микроорганизмы совпадает с результатами ранее проведенных исследований по изучению влияния физических факторов на микроорганизмы. Так, Неманом М. Абдулкадер, П. В. Калущким было установлено, что под воздействием магнитного поля повышенной напряженности наблюдается перестройка популяции стафилококков и кишечной палочки, направленная на усиление проявления их вирулентных и персистентных свойств [10, 11]. Кроме того, С. Н. Даровских, Ю. С. Шишкова, Н. В. Вдовина приводят факты, свидетельствующие, что микроволновые изучения техногенного происхождения являются фактором ускоренного размножения микроорганизмов и усиления их антибиотикорезистентных свойств, в частности стимулируют рост золотистого стафилококка и понижают его чувствительность к антибакте-

риальным препаратам [9]. При действии моделированного ЭМИ природного происхождения происходит разрушение внеклеточного матрикса и снижается способность к формированию ростовых трубок и псевдогриф у грибов рода Кандида [2].

Кроме того, супернатант нейтрофилов, находящихся под действием антропогенного (техногенного) ЭМИ, стимулируют пленкообразование у золотистого стафилококка и лактобактерий, усиливая персистентный потенциал условно-патогенной флоры, что может привести к снижению колонизационной резистентности эпителия и развитию инфекционных процессов слизистой оболочки ротовой полости у лиц, использующих СОК.

ВЫВОДЫ

Таким образом, процессы био пленкообразования у микроорганизмов при взаимодействии с секреторными продуктами нейтрофилов, предварительно подвергшихся воздействию моделированным низкоинтенсивным ЭМИ природного и антропогенного происхождения, изменяются. Оказываемое влияние ЭМИ, аналогичного природному и антропогенному, на представителей микрофлоры, заселяющих полость рта, дифференцировано. В связи с чем, избыточное действие техногенного ЭМИ может привести к нарушению колонизационной резистентности слизистых оболочек и развитию инфекционных процессов, а применение моделированного ЭМИ, аналогичного солнечному, возможно использовать для ослабления персистентных свойств микроорганизмов, что в перспективе может открыть новые подходы профилактики и лечения инфекционных процессов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Вдовина Н. В. Аппаратно-программные средства снижения резистентных свойств условно-патогенных микроорганизмов. Диссертация кандидата технических наук, Челябинск, 2016, 162. [Vdovina N. V. Hardware-software means for reducing the resistance properties of opportunistic microorganisms. Thesis of the Cand. Tech. Sci., Chelyabinsk, 2016, 162].
2. Даровских С. Н., Шишкова Ю. С., Попечителев Е. П., Вдовина Н. В. Микроволновая гелиобиология. Монография, 2016, 99. [Darovskikh S. N., Shishkova Yu. S., Popeshitelev E. P., Vdovina N. V. Microwave Heliobiology. Monograph, 2016, 99].
3. Даровских С. Н., Шишкова Ю. С., Вдовина Н. В., Комарова И. А. Прикладные аспекты современной гелиобиологии. Наука и Мир, 2015, 9 (25), 24–26. [Darovskikh S. N., Shishkova Yu. S., Vdovina N. V., Komarova I. A. Applied aspects of modern heliobiology. Science and Peace, 2015, 9 (25), 24–26].
4. Даровских С. Н. Проблемы информационного управления гомеостазом организма с помощью электромагнитных излучений миллиметрового диапазона и основные направления их разрешения. Биомедицинские технологии и радиоэлектроника, 2012, 3, 3. [Darovskikh S. N. Problems of information management of the body's homeostasis with the help of electromagnetic radiation of the millimeter range and the main directions of their resolution. Biomedical Technologies and Radioelectronics, 2012, 3, 3].
5. Андреева Ю. С., Долгушин И. И. Роль нейтрофилов в формировании микробиоценоза слизистых оболочек. Вестник новых медицинских технологий, 2009, 1, 20–22. [Andreeva Yu. S., Dolgushin I. I. The role of neutrophils in the formation of microbiocenosis of the mucous membranes. Bulletin of New Medical Technologies, 2009, 1, 20–22].
6. Долгушин И. И. Антимикробные эффекты секреторных продуктов нейтрофилов. Известия Челябинского научного центра УрО РАН, 2001, 2, 201–210. [Dolgushin I. I. Antimicrobial effects of secretory products of neutrophils. Proceedings of the Chelyabinsk Scientific Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 2001, 2, 201–210].
7. Шишкова Ю. С., Позднякова Н. Л., Молчанова И. В. Определение био пленкообразующей способности микроорганизмов, выделенных из патологического трахеобронхиального секрета. Южно-Уральский медицинский журнал, 2014, 3, 29–32. [Shishkov Yu., Pozdnyakov N. L., Molchanova I. V. Determination people companies ability of microorganisms isolated from pathological tracheobronchial secretions. South Ural medical journal, 2014, 3, 29–32].
8. Долгушин И. И., Бухарин О. В. Нейтрофилы и гомеостаз. Издательство УрОРАН, 2001, 256. [Dolgushin I. I., Bukharin O. V. Neutrophils and homeostasis. Publisher URORAN, 2001, 256].
9. Даровских С. Н., Шишкова Ю. С., Вдовина Н. В. Сравнительная оценка модифицирующего действия микроволновых излучений природного и антропогенного происхождения на золотистый стафилококк. Биомедицинская радиоэлектроника, 2015, 3, 50–55. [Darovskikh S. N., Shishkova Yu. S., Vdovina N. V. Comparative evaluation of the modifying effect of microwave radiation of natural and anthropogenic origin on Staphylococcus aureus. Biomedical radioelectronics, 2015, 3, 50–55].
10. Неман А. Абдулькадер. Влияние магнитного поля повышенной напряженности на проявления вирулентных и персистентных свойств стафилококков при экспериментальной инфекции. Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье» 2011, 4, 67–70. [Neman A. Abdulkader. Influence of magnetic field of increased intensity on the manifestation of virulent and persistent properties of staphylococci in experimental infection. Kursk Scientific and Practical Bulletin "The Man and His Health" 2011, 4, 67–70].

11. Неман А. Абдулкадер, Калуцкий П. В. Изменение структуры популяции кишечной палочки при развитии инфекционного процесса в условиях воздействия магнитного поля повышенной напряженности. Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье» 2012, 1, 29–32.

[Neman A. Abdulkader, Kalutskiy P. V. Changing the structure of the *E. coli* population during the development of the infectious process under the influence of a magnetic field of increased tension. Kursk Scientific and Practical Herald “The Man and His Health” 2012, 1, 29–32].

A COMPARATIVE ASSESSMENT OF THE EFFECT OF SECRETORY PRODUCTS OF NEUTROPHILS PREVIOUSLY EXPOSED TO SIMULATED LOW-INTENSITY ELECTROMAGNETIC RADIATION OF NATURAL AND ANTHROPOGENIC ORIGIN ON THE BIOFILM-FORMING ABILITY OF MICROORGANISMS ISOLATED FROM THE ORAL CAVITY OF PERSONS USING DENTAL ORTHOPEDIC CONSTRUCTIONS

© 2018 Yu. S. Shishkova¹, S. N. Darovskikh², M. S. Babikova¹, N. V. Vdovina², O. R. Vildanova¹, I. I. Dolgushin¹

¹FSBEI of Higher Education South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia;

²FSBEI of Higher Education South Ural State University, Chelyabinsk, Russia

Received: 23.05.2018. Accepted: 29.06.2018

We presented the results of a comparative evaluation of the effect of secretory products of neutrophils previously exposed to simulated low-intensity electromagnetic radiation of natural and anthropogenic (technogenic) origin on the biofilm-forming ability of microorganisms isolated from the oral cavity of persons using dental orthopedic constructions. It was established that electromagnetic radiation, both natural and technogenic, has a differentiated effect on the functioning of neutrophilic granulocytes. It manifests itself in the differentiated effect of these radiations on the processes of biofilm formation of streptococci, staphylococci, *E. coli* and lactobacilli. The results obtained open the way for the development of measures for the prevention and correction of infectious processes in the oral cavity with the use of low-intensity EMR.

Key words: electromagnetic radiation (EMR), neutrophils, microflora, biofilms

Authors:

Shishkova Yu. S., scientific adviser, habilitated doctor of medical sciences, professor of the Department of Microbiology, Virology, Immunology and Clinical Laboratory Diagnostics of South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia;

Darovskikh S. N., Doctor of technical sciences, Head of the Department of Infocommunication Technologies, Chelyabinsk, Russia;

Babikova M. S., external PhD student of the Department of Microbiology, Virology, Immunology and Clinical Laboratory Diagnostics of South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia;

454092 Chelyabinsk, South Ural State Medical University, Phone: +79514731180, 8(351)7292249; **E-mail:** marina.babikova.86@mail.ru;

Vdovina N. V., Ph.D. in Technical Sciences, Associate Professor of the Department of Infocommunication Technologies, FSBEI HE South Ural State University, Chelyabinsk, Russia;

Vildanova O. R., assistant lecturer of the Department of Microbiology, Virology, Immunology and Clinical Laboratory Diagnostics of South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia;

Dolgushin I. I., Academician of the Russian Academy of Sciences, Honored Scientist of the Russian Federation, Habilitated doctor of medical sciences, Professor, Head of the Department of Microbiology, Virology, Immunology and Clinical Laboratory Diagnostics FSBEI HE South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia.