

УДК 581.52;550.72

**СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕЛИЙ-НЕОНОВОГО ЛАЗЕРА В СТИМУЛЯЦИИ РОСТА ХЕМОЛИТОТРОФНЫХ БАКТЕРИИ****<sup>1</sup>Канаева З.К., <sup>2</sup>Канаев А.Т., <sup>2</sup>Аманбаева У., <sup>1</sup>Сейдахмет З.**<sup>1</sup>*Казахский национальный исследовательский технический университет им. К.И. Сатпаева, Алматы;*<sup>2</sup>*Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, e-mail: Ashymhan.Kanaev@kaznu.kz*

Разработана схема последовательных пассажей для получения активных популяций штаммов *A. ferrooxidans*, основанная на определении интервалов между пассажами по срокам окисления закисного железа. Облучение гелий-неоновым лазером (ГНЛ) в непрерывном режиме при длине волны 632,8 нм вызывает ускорение окисления закисного железа, которое зависит от продолжительности облучения и физиологического состояния штаммов. Однократное облучение в течение 1 минуты культуры *A. ferrooxidans* штамм № 0 сокращает время окисления закисного железа на 3 суток, *A. ferrooxidans* штамм 1 – на 7 суток, *A. ferrooxidans* штамм 2 на – 4 суток. Активные культуры, полученные методом последовательных пассажей, не реагируют на действие гелий-неонового лазера.

**Ключевые слова:** гелий-неоновый лазер, непрерывный режим, микроорганизмы, *A. ferrooxidans*, *T. thiooxidans*, окисление железа

**CURRENT STATE OF THE USE OF HELIUM-NEON LASER TO PROMOTE GROWTH CHEMOLITROPHIC BACTERIA****<sup>1</sup>Kanayeva Z.K., <sup>2</sup>Kanayev A.T., <sup>2</sup>Amanbaeva U., <sup>1</sup>Seidakhmet Z.**<sup>1</sup>*Kazakh National Research Technical University after named K. Satpayev, Almaty;*<sup>2</sup>*Kazakh National University after named al-Farabi, Almaty, e-mail: Ashymhan.Kanaev@kaznu.kz*

A scheme of successive passages for the active population strains *A. ferrooxidans* based on certain passages of the intervals between periods of oxidation of ferrous iron. Irradiation of a helium-neon laser in continuous mode at 632.8 nm wavelength causes an acceleration of oxidation of ferrous iron, which depends on the duration of exposure and the physiological state of the strains. A single exposure of 1 minute culture *A. ferrooxidans* № 0 strain reduces the oxidation of ferrous iron to 3 days, strain *A. ferrooxidans* 1 – 7 days, strain *A. ferrooxidans* 2 – 4 days. Active cultures obtained by successive passages, does not respond to a helium-neon laser

**Keywords:** helium-neon laser, continuous mode, microorganisms, *A. ferrooxidans*, *T. thiooxidans*, iron oxidation

Биологические ткани способны поглощать кванты лазерного излучения. По закону Эйнштейна-Старка на каждый поглощенный фотон при фотохимической реакции образуется активированная частица (атом, молекула, свободный радикал). За ней следует клеточная реакция (первичная), переходящая в генерализованную (системную, вторичную) реакцию [3, 4]. Эффект, оказываемый гелий-неоновым лазером (ГНЛ) на биологический объект, зависит от мощности излучения, плотности его потока, экспозиции, количества и регулярности сеансов. Эти параметры ГНЛ определяют степень повышения тканевого дыхания, интенсивность обменных процессов, проницаемость сосудисто-тканевых барьеров [1]. ГНЛ стимулирует синтез коллагена за счет увеличения численности фибробластов, возрастанию их функциональной активности, проявляющейся в повышении интенсивности синтеза ДНК и РНК в фибробластах, ускорению их дифференцировки и самого процесса коллагенизации [2, 5]. После воздействия ГНЛ в ране увеличивается не только количество фибробластов, но и полинуклеаров, поли-

бластов, профибробластов, плазмоцитов, макрофагов, клеток многослойного эпителия, тканевых базофилов. Тем самым ГНЛ ускоряет фазу регенерации.

Целью первого этапа исследований было изучение действия низкоинтенсивного лазерного излучения на исходные (неактивные) штаммы *A. ferrooxidans*.

**Материалы и методы исследования**

В качестве объектов исследования служили три штамма *A. ferrooxidans* (рис. 1).

В качестве питательной среды использовали среду Сильвермана и Лундгрена 9К. Среда составлялась из 2-х растворов. Они готовились отдельно и имели следующий состав (г/л): 1-й раствор в 700 мл дистиллированной воды растворяли  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 - 3,0$ ;  $\text{K}_2\text{HPO}_4 - 0,5$ ;  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O} - 0,5$ ;  $\text{KCl} - 0,1$ ;  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 - 0,01$ .

2-й раствор: в 300 мл дистиллированной воды растворяли  $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O} - 44,22$ , добавляли 1 мл 10N  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Приготовленные растворы смешивали, pH среды доводили до 2,0.

**Результаты исследования и их обсуждение**

Об эффективности воздействия лазерного излучения изучены лишь на гетеро-

трофных микроорганизмах и полностью отсутствуют сведения по воздействию лучей лазера на микроорганизмы, представляющие практический интерес для металлургической промышленности. Поэтому нами предпринято изучение влияния низкоинтенсивного гелий-неонового лазера на окислительную способность *A. ferrooxidans* – обитателей рудничных вод металлодобывающих комбинатов.

Обычно используют лучи лазера в непрерывном и импульсном режиме, однако мы не нашли в литературе данных о воздействии двух режимов на штаммы одного вида бактерий. Они обычно проводились на разных видах или даже родах микроорганизмов. Нами впервые изучено отношение тиаобацилл к разным режимам лазерного облучения: импульсного и непрерывного. Во всех исследованиях по изучению лазерного излучения использовали две культуры: исходную, далее называемую неактивной и активную, полученную в результате последовательных пассажей.

Исследуемые штаммы подвергали воздействию низкоинтенсивного излучения гелий-неонового лазера, с одновременным изучением динамики железоокислительного процесса в течение всего срока глубинного культивирования культур на качалке.

Культуры *A. ferrooxidans* подвергали воздействию низкоинтенсивного излучения гелий-неонового лазера в двух режимах облучения: непрерывном и импульсном. И непрерывный, и импульсный режимы облучения на штаммы *A. ferrooxidans* проводили одно- и многократно. Схема лазерной обработки указана на нижеследующем рисунке (рис. 2).

Для того, чтобы исключить возможность действия гелий-неонового лазера на химическое окисление закисного железа, мы провели эксперименты по облучению среды. Условия лазерного воздействия были аналогичны облучению среды, инокулированной бактериями. Лазерному излучению подвергалась среда 9 К в колбе в течение 1, 2 и 5 минут, а также на протяжении семи суток, во время которых колбы находились на качалке, то есть условия аэрации были такими же, как в опытном варианте с облучением популяций.

О действии лазерного излучения на среде 9К судили по скорости окисления закисного железа комплексометрически. На рис. 3 приведены данные по непрерывному облучению среды в течение 7 суток.

Определение содержания железа в течение всего эксперимента показало отсутствие окислительного процесса, содержание  $Fe^{2+}$  почти не изменялось на протяжении всего эксперимента. Таким образом, в течение 9 суток не происходило химическое окисление закисного железа и облучение лазером не изменяло ситуацию.

Мы начинали свои исследования с изучения действия однократного облучения гелий-неонового лазера. Суспензии культур облучались в течение 1 или 2 минут, подвергались облучению как исходные культуры, так и культуры, полученные после многократных пассажей. Первые обозначены нами как «неактивные», вторые – «активными».

Таким образом, однократному воздействию гелий-неонового лазера подвергались исходные неактивные культуры *A. ferrooxidans*, а также культуры, отобранные в результате автоселекции после многократных пассажей.

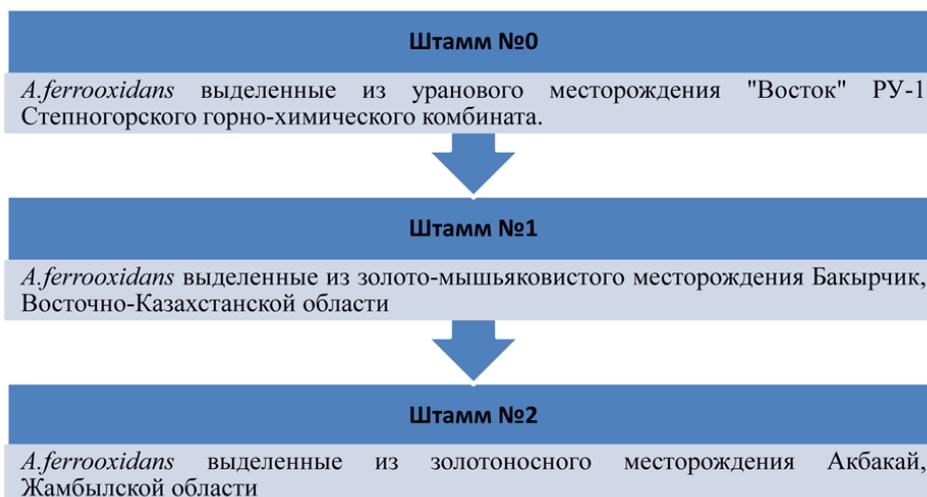


Рис. 1



Рис. 2. Обработка культур гелий-неоновым лазером

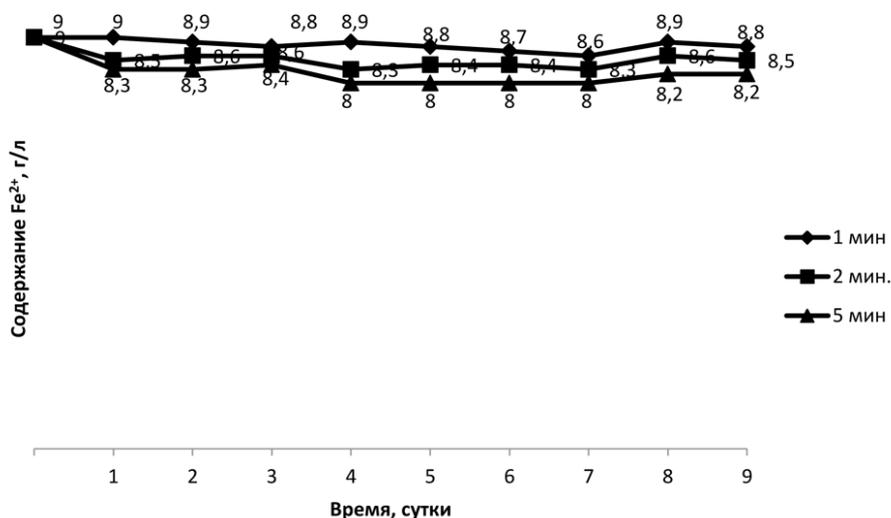


Рис. 3. Облучение среды Сильвермана и Лундгрена (9К) гелий-неоновым лазером

После одно- и многократного облучения культуры выращивали на качалке и ежедневно определяли количество закисного железа. Результаты эксперимента представлены на рис. 4.

Все штаммы рода *Thiobacillus* одинаково реагировали на воздействие гелий-неонового лазера, а именно, после облучения культуры быстрее окисляли закисное железо в окисное. Заметное активизирующее

влияние на *A. ferrooxidans* и *A. ferrooxidans* штамм 1, независимо от продолжительности облучения, проявилось уже на вторые сутки роста.

Активацию штамма 2, в эти сроки, вызывало облучение в течение 2 минут. Культура *A. ferrooxidans* штамм № 0, облученная в течение 2 минут в начале роста быстрее окисляла  $Fe^{2+}$ , но после 6 суток активность ее ослабевала и окисление  $Fe^{2+}$  завершалось

через 13 суток. Популяция, облученная в течение 1 минуты, наоборот, вначале уступала по активности популяции, облученной в течение 2 минут, но затем активность ее стала

возрастать и, в итоге, окисление закисного железа завершилось на 11 сутки. Влияние продолжительности облучения особенно было заметно на штамме 1.

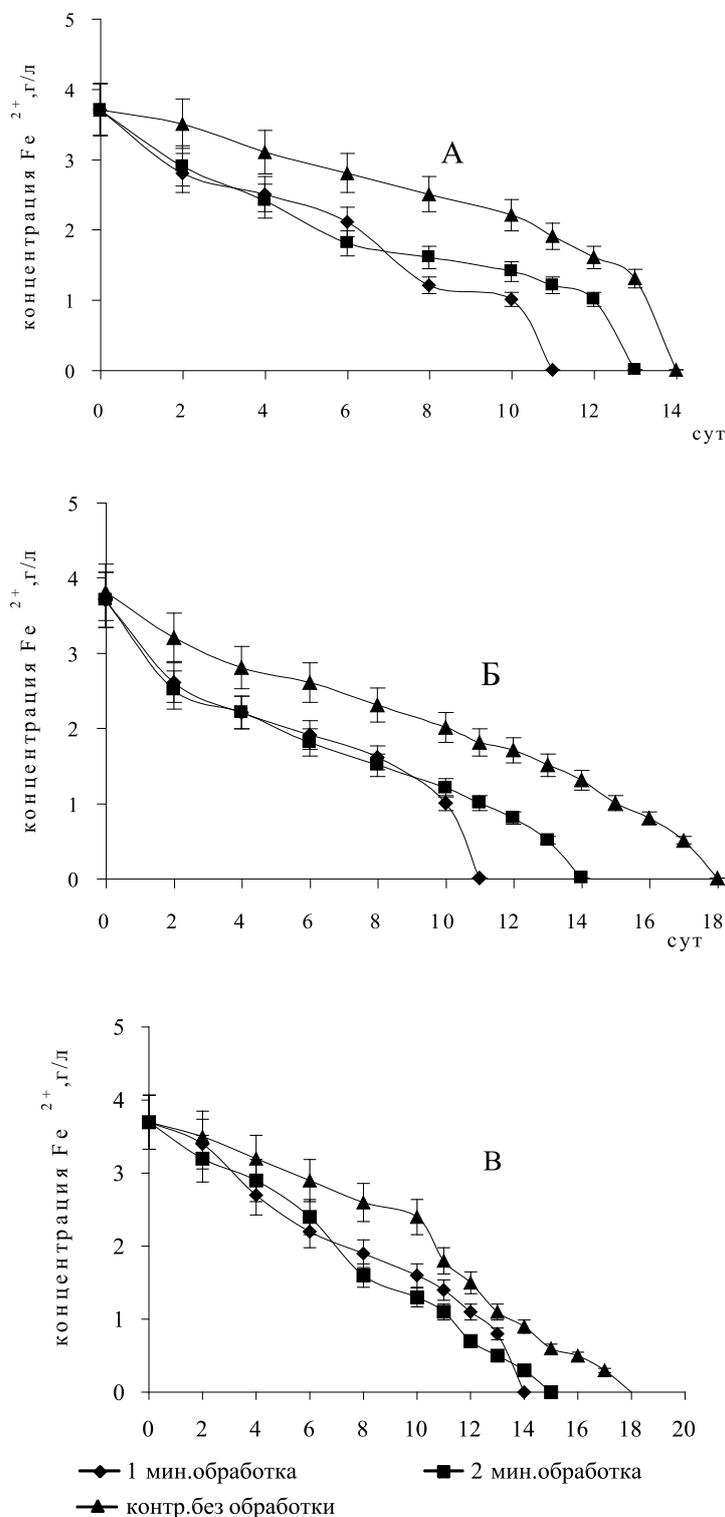


Рис. 4. Однократное действие гелий-неонового лазера на аборегенные культуры – А – *A. ferrooxidans* штамм № 0, Б – *A. ferrooxidans* штамм 1, В – *A. ferrooxidans* штамм 2

Популяция, облучавшаяся в течение 1 минуты, завершила окисление на 11 сутки, как и культура *A. ferrooxidans* штамм № 0, а после 2 минутного облучения только на 14 сутки. Штамм 2 отличался по ответу на лазерное облучение от двух предыдущих. Отличие было не только в том, что эта культура слабее активизировалась лазером, но и в иной реакции на продолжительность облучения. Популяция этой культуры, подвергнутая 1 минутному воздействию лазера, только в конце процесса по активности превзошла популяцию, получившую в два раза большую дозу.

Степень ускорения превращения  $Fe^{2+}$  в  $Fe^{3+}$  у первых двух штаммов после 8 суток роста зависела от продолжительности облучения. Менее длительное воздействие (в течение 1 минуты) по конечным результатам оказалось более эффективным, чем двухминутное. Однако, разница между одно- и двухминутным облучением выявлялась в разные сроки культивирования.

Так, у *A. ferrooxidans* штамм № 0 уже через четверо суток роста было заметно, что одноминутное облучение эффективнее, чем двухминутное. В контрольных вариантах окисление  $Fe^{2+}$  идет плавно, постепенно снижаясь до нуля.

После воздействия лазерного излучения в первые восемь суток форма кривых опытных вариантов почти повторяет кривые контрольных, но скорость окисления  $Fe^{2+}$  увеличивается. К концу культивирования происходит резкое увеличение скорости окисления  $Fe^{2+}$ , которое у *A. ferrooxidans* штамм № 0 приходится на девятые сутки, у *A. ferrooxidans* штамм 1 на десятые сутки, *A. ferrooxidans* штамм 2 на двенадцатые сутки.

Показатели железоокисления всех трех штаммов *A. ferrooxidans* приводят к выводу, что наиболее заметно активизируется лучом лазера штамм 1, у которого разница в сроках окислительного процесса между контролем и экспериментальным вариантом составила семь суток, в то время, как

у *A. ferrooxidans* штамм № 0 – трое суток, у штамма 2 – четверо суток.

По конечным результатам, по срокам завершения окисления закисного железа, наиболее эффективным оказалось 1 минутное облучение. В этих условиях наиболее сильно активизировались культуры *A. ferrooxidans* штамм 1 и *A. ferrooxidans* штамм № 0. Однако разница между штаммами лучше выявлялась при воздействии лазера в течение 2 минут. Так, после 2-х минутного облучения лучшие результаты были получены с *A. ferrooxidans* штамм № 0 (окисление завершилось на 13 сутки), на втором месте оказалась культура *A. ferrooxidans* штамм 1 (окисление завершилось на 14 сутки), и на третьем месте *A. ferrooxidans* штамм 2 (окисление завершилось на 15 сутки).

### Выводы

Таким образом, однократное воздействие лазером в непрерывном режиме активизировало окислительный процесс и эффективность лазерного воздействия зависела от продолжительности облучения и штаммовых различий культур.

### Список литературы

1. Дуванский В.А., Дзагаидзе Н.С., Мараев В.В., Бисеров О.В., Гаджиев А.В. Микроциркуляция гнойных ран по данным лазерной доплеровской фло-уметрии // Журнал «Лазерная медицина». – 2007 – т. 11, № 1 – С. 46–49.
2. Мамонтов А.С., Павлов И.Н., Беневский А.И., Смирнов А.К. Лазер ОКГ-12 в лечении послеоперационных осложнений при раке пищевода // Сов. медицина. – 1986. – № 8. – С. 95–97.
3. Перетягин С.П. Механизмы лечебного действия лазера при гипоксии // Тез. докл. II Всерос. Научно-практической конф. с международным участием «Озон в биологии и медицине», Н. Новгород. – 6–8 сентября 1995. – С. 4–5.
4. Трапезников Н.Н., Купин В.И., Кадагидзе З.Г. Потенцирующее действие лазерного излучения на показатели клеточного и гуморального иммунитета // Вопр. онкологии. – 1985. – № 6. – С. 460–465.
5. Greco M., Guida G., Perlino E. et al. Increase in RNA and protein synthesis by mitochondria irradiated with helium-neon laser // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1989. – V. № 3. – P. 1428–1434.