

УДК 577.322: 537.632.5

ВЛИЯНИЕ МАГНИТНОГО ПОЛЯ РАЗНЫХ ЧАСТОТ НА СОБСТВЕННУЮ ФЛУОРЕСЦЕНЦИЮ СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА

Цейслер Ю.В.¹, Мартынюк В.С.², Артёменко А.Ю.², Мирошниченко Н.С.²¹ Факультет биомедицинских технологий

Открытого международного университета развития человека «Украина»

² Кафедра биофизики биологического факультета

Киевского национального университета имени Тараса Шевченко,

e-mail: yuliya.tseysler@gmail.com; mavis@science-center.net

Поступила в редакцию 19.03.2009

Работа посвящена изучению изменений спектров собственной флуоресценции сывороточного альбумина в зависимости от частоты переменного магнитного поля (ПеМП) в диапазоне от 0 до 100 Гц. Показано, что воздействие переменного магнитного поля длительностью 40 мин на частотах 46 Гц, 56-68 Гц, 72-74 Гц и 85 Гц повышает максимальную интенсивность флуоресценции, тогда как действие ПеМП на частотах 2 Гц, 12-26 Гц, 36 Гц, 52-56 Гц, 76, Гц, 80 Гц, 88-92 Гц приводит к снижению интенсивности собственной флуоресценции сывороточного альбумина.

Ключевые слова: переменное магнитное поле крайне низкой частоты, сывороточный альбумин, собственная флуоресценция белка.

ВВЕДЕНИЕ

Растущий интерес последних лет к влиянию низкоинтенсивных факторов различной природы на биологические системы [1, 2] привел к пониманию важности всестороннего изучения первичных механизмов биологического действия низкочастотных переменных магнитных полей (ПеМП), как одного из экологически важных физических факторов. В настоящее время электромагнитные вариации естественного происхождения рассматривают в качестве посредника между космической и земной погодой и биологическими процессами [3]. Одновременно с этим повышение уровня техногенного электромагнитного загрязнения в широком частотном диапазоне делает вопрос о механизмах биологического действия электромагнитных полей крайне актуальным. В настоящее время высокая биологическая активность слабых ПеМП, которые обладают высокой проникающей способностью и оказывают влияние на всех уровнях организации живых систем, не вызывает сомнений. Эффекты воздействия ПеМП обнаружены на уровне центральной и вегетативной нервной систем, эндокринной, иммунной и сердечно-сосудистой систем, а также на уровне метаболических и элементарных биофизических процессов [4-7]. Обнаружение частотно-зависимых биологических

эффектов действия ПеМП привело к появлению гипотез, которые объясняют отдельные квазирезонансные эффекты влияния ПеМП на молекулярном и клеточном уровнях [8, 9]. Однако они не могут объяснить широкий спектр явлений, которые наблюдаются в экспериментах. Поэтому молекулярные механизмы воздействия ПеМП на биологические системы по-прежнему остаются малоизученными. Большинство существующих гипотез в качестве мишеней действия ПеМП рассматривают клеточные и молекулярные структуры, такие как митохондрии, биологические мембраны, хроматин и белки. Для исследования влияния ПеМП на молекулярном уровне часто используют высокочувствительные методы, основанные на собственной флуоресценции макромолекул [10]. Параметры собственной флуоресценции позволяют судить о конформационных состояниях и структурных переходах в молекулах белков [11]. В связи с этим целью данного исследования было выявление зависимости изменений собственной флуоресценции сывороточного альбумина от частоты ПеМП.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом исследования были 0.1% растворы коммерческого лиофильного электрофоретически гомогенного препарата бычьего сывороточного

альбумина («Биоритм», Украина) в дистиллированной воде.

Для изучения зависимости изменений собственной флуоресценции сывороточного альбумина от частоты ПемП нами была проведена серия экспериментов в диапазоне частот 0-100 Гц. Экспериментальная установка представляла собой систему колец Гельмгольца, на которые в течение эксперимента подавали переменный ток. Источником тока служил генератор сигналов специальной формы Г6-28. Индукцию ПемП контролировали микротесламетром Г-79. Импульсы были прямоугольной формы и разной полярности. Вектор индукции создаваемого МП был ориентирован в направлении, параллельном вектору геомагнитного поля. Индукцию создаваемого поля составляла 25 мкТ и была выбрана на основе её гигиенической значимости. Данная величина соответствует 0.25 предельно допустимого уровня для жилых помещений и офисов [12].

Опытные образцы белка помещали в центр экспериментальной установки, неоднородность МП в котором не превышала 5%. Экспозиция проходила при комнатной температуре составляла 40 минут в ПемП, после чего регистрировали спектры собственной флуоресценции сывороточного альбумина при возбуждении на длинах волн, которые соответствуют максимумам поглощения фенилаланина ($\lambda=255$ нм), тирозина ($\lambda=278$ нм) и триптофана ($\lambda=288$ нм). Время экспозиции образцов в ПемП было установлено экспериментально. Оно соответствовало минимальной экспозиции, при которой регистрируются относительно устойчивые эффекты воздействия для ПемП частотой 8 Гц.

Флуоресцентные исследования проводили на спектрофлуориметре («ЛОМО», Санкт-Петербург) (флуоресцентный монохроматор МДР-23 с шириной щели 2.2 мм и точностью ее настройки 0.01 мм; светосильный монохроматор МДР-12 с шириной щели 4.0 мм и точностью ее настройки 0.01 мм; дифракционная решетка 200-500 нм с 1200 штрихов на 1 мм; шаг сканирования спектра 0.5 нм).

Математический анализ полученных результатов исследования проводили в соответствии с общепринятыми правилами вариационной статистики, в частности использовали следующие статистические оценки – математическое ожидание и его среднюю ошибку. Среднестатистические спектры получали усреднением спектральных линий, полученных в повторных экспериментах. Для оценки достоверности различий между экспериментально полученными статистическими выборками использовали t-критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рисунке 1 представлена зависимость изменений (в % относительно контроля) максимальной интенсивности собственной флуоресценции ($\lambda_{\text{макс}}=338-340$ нм) сывороточного альбумина при ее возбуждении на длинах волн $\lambda=255$ нм, $\lambda=278$ нм, $\lambda=288$ нм от частоты ПемП в диапазоне 0-100 Гц. Результаты исследования показали сложный характер зависимости. Следует отметить, что стандартное отклонение от среднего значения (σ) в выборке контрольных образцов ($n=18$) составило 3.9 %, поэтому выявленные эффекты влияния ПемП, превышающие 11.7% (3σ), не могут быть случайными и свидетельствуют о реальных структурных изменениях в молекуле сывороточного альбумина. Как видно из рисунка 1, максимальная интенсивность собственной флуоресценции белка повышалась под действием ПемП в отдельных частотных диапазонах: 46 Гц (при возбуждении на длинах волн поглощения тирозина (278 нм) и фенилаланина (255 нм)), 56-68 Гц (при возбуждении на длинах волн поглощения всех ароматических аминокислотных остатков), 72-74 Гц (при возбуждении на длине волны поглощения триптофана (288 нм)), 85 Гц (при возбуждении на длинах волн поглощения фенилаланина (255 нм) и триптофана (288 нм)). Одновременно с этим обращает на себя внимание снижение интенсивности флуоресценции альбумина на частотах ПемП: 2 Гц (при возбуждении на длинах волн поглощения всех ароматических аминокислотных остатков), 14-26 Гц (при возбуждении на длинах волн поглощения всех ароматических аминокислотных остатков), 32-36 Гц (при возбуждении на длинах волн поглощения всех ароматических аминокислотных остатков), 48 Гц (при возбуждении на длине волны поглощения триптофана (288 нм)), 52-56 Гц (при возбуждении на длинах волн поглощения всех ароматических аминокислотных остатков), 76-80 Гц (при возбуждении на длинах волн поглощения всех ароматических аминокислотных остатков), 88-92 Гц (при возбуждении на длинах волн поглощения фенилаланина (255 нм) и триптофана (288 нм)), 100 Гц (при возбуждении на длинах волн поглощения всех ароматических аминокислотных остатков).

Необходимо отметить, что полученные данные о частотной зависимости изменений собственной флуоресценции альбумина в определенной степени согласуются с результатами исследований, проведенных на других биологических объектах. В частности, имеются данные о зависимости уровня дегрануляции тучных клеток от частоты действующего ПемП [4]. Так, например,

«активными» частотами, достоверно изменяющими уровень функциональной активности тучных клеток, были 2 Гц, 32-36 Гц, 50-56 Гц, 72-74 Гц.

Это, вероятно, указывает на общность механизмов действия ПемП, в основе которых лежат изменения структуры белков.

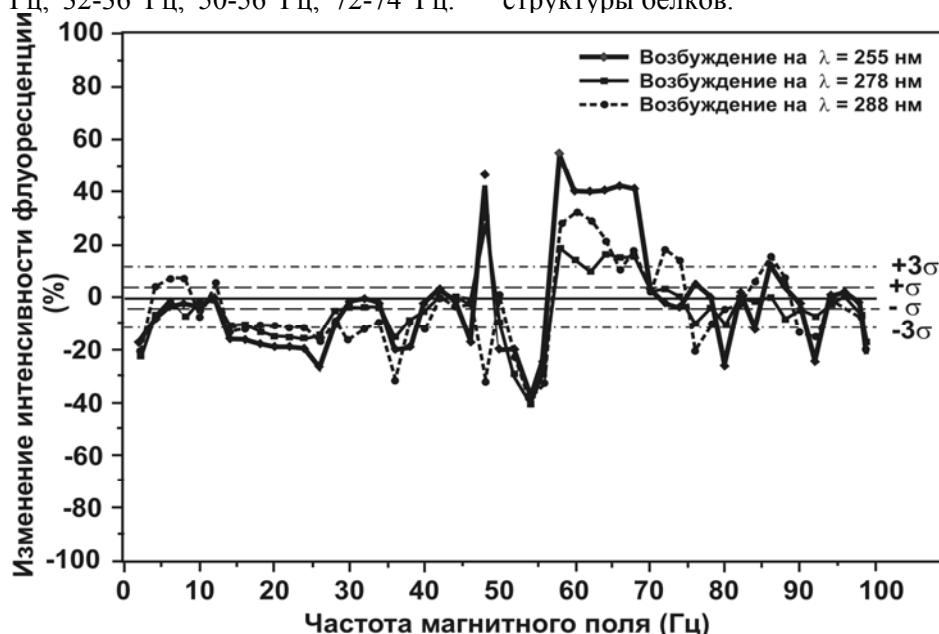


Рис. 1. Зависимость изменений собственной флуоресценции сывороточного альбумина (в % относительно контроля) на максимуме ($\lambda_{\text{макс}}=338-340$ нм) при возбуждении на длинах волн $\lambda=255$ нм, $\lambda=278$ нм, $\lambda=288$ нм от частоты ПемП в диапазоне 0-100 Гц, $n=18$.

Обращает внимание тот факт, что максимальные изменения интенсивности флуоресценции сывороточного альбумина приходятся на МП частой 48-68 Гц, что ещё раз подтверждает высокую биологическую активность промышленных частот и указывает на необходимость дальнейших исследований молекулярных механизмов их влияния.

ВЫВОДЫ

Результаты исследований собственной флуоресценции сывороточного альбумина показывают, что 40-минутное воздействие слабых ПемП изменяет флуоресцентные свойства белка, что можно рассматривать как свидетельство изменений пространственной структуры макромолекулы белка. Направленность и характер указанных изменений зависят от частоты ПемП. Наиболее «активные» частоты лежат в диапазоне 46-68 Гц. Полученные результаты подтверждают идею о том, что белки являются одними из основных первичных мишеней действия ПемП.

Литература

1. Бурлакова Е.Б., Конрадов А.А., Мальцева Е.Л. Сверхмалые воздействия химических соединений и физических факторов на биологические системы // Биофизика. – 2004. – Т. 49, вып. 3. – С. 551–564.
2. Гатовский С.И., Перов Ю.В. Особенности биологического действия физических факторов

малых и сверхмалых интенсивностей и доз. – М.: «ИМЕДИС», 2000. – 192 с.

3. Степанюк И. А. Электромагнитные поля при аэро– и гидрофизических процессах. – Санкт–Петербург, 2002. – 215 с.
4. Абу Хада Р.Х., Мартынюк В.С. Реакция тучных клеток на действие переменных магнитных полей в условиях *in vitro* // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И.Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2001. – Т.14 (53), № 2 – С. 3-7.
5. Martynuk V.S., Panov D.A. Surfactant Properties of Natural Phospholipids in Media Treated with Extremely Low Frequency Magnetic Field // Biophysics. – 2004. – V. 49. – N. 1. – P.23-25.
6. Темурияц Н.А., Макеев В.В., Малыгина В.Н. Влияние слабых ПемП КНЧ на инфранианную ритмику симпатoadренальной системы крыс // Биофизика. – 1992. – Т.37. - № 4. – С. 653-655.
7. Темурияц Н.А., Минко В.А., Нагаева Е.И. Особенности инфранианной ритмики бактерицидных систем нейтрофилов крови крыс с различными индивидуальными особенностями и ее изменение при воздействии ПемП СНЧ // Геофизические процессы и биосфера. – 2005. – Т.4, №1/2. – С. 31-39.
8. Леднев В.В. Биологические эффекты крайне слабых магнитных полей: идентификация первичных мишеней / Моделирование геофизических процессов. – М., 2003. – С. 130–136.
9. Бинги В.Н., Савин А.В. Физические проблемы действия слабых магнитных полей на биологические системы // Успехи физических наук. – 2003. – Т. 173, № 3. – С. 265–300.

10. Новиков В.В., Кувичкин В.В., Фесенко Е.Е. Влияние слабых комбинированных постоянного и низкочастотного переменного магнитных полей на собственную флуоресценцию ряда белков в водных растворах // Биофизика. – 1999. – Т. 44. – С. 224–230.
11. Лакович Дж. Основы флуоресцентной спектроскопии. - М.: Мир, 1986. – 496 с.
12. Гатовский С.И., Перов Ю.В. Электромагнитная безопасность в офисе и дома. – М.: «Имедис», 1998. – 136 с.

ВПЛИВ МАГНІТНОГО ПОЛЯ РІЗНИХ ЧАСТОТ НА ВЛАСНУ ФЛУОРЕСЦЕНЦІЮ СИРОВАТКОВОГО АЛЬБУМІНУ

Цейслер Ю.В., Мартинюк В.С., Артеменко О.Ю., Мірошніченко М.С.

Роботу присвячено вивченню змін спектрів власної флуоресценції сироваткового альбуміну в залежності від частоти магнітного поля в діапазоні від 0 до 100 Гц. Показано, що змінне магнітне поле на частотах 46 Гц, 56-68 Гц, 72-74 Гц і 85 Гц підвищує інтенсивність флуоресценції, тоді як дія магнітного поля на частотах 2 Гц, 12-26 Гц, 36 Гц, 52-56 Гц, 76, Гц, 80 Гц, 88-92 Гц призводить до зниження інтенсивності власної флуоресценції сироваткового альбуміну.

Ключові слова: змінне магнітне поле наднизької частоти, сироватковий альбумін, власна флуоресценція білка.

INFLUENCE OF MAGNETIC FIELD OF DIFFERENT FREQUENCIES ON OWN FLUORESCENCE OF SERUM ALBUMIN

Tseyslyer Yu. V., Martynyuk V.S., Artemenko A.Yu., Miroshnichenko N.S.

The research is devoted to studying of dependence of spectral changes of own fluorescence of serum albumin from frequency of extremely low frequency magnetic field in range 0-100 Hz. It is shown that the extremely low frequency magnetic field with frequencies of 46 Hz, 56-68 Hz, 72-74 Hz and 85 Hz raises intensity of fluorescence whereas action of this factor on frequencies of 2 Hz, 12-26 Hz, 36 Hz, 52-56 Hz, 76, Hz, 80 Hz, 88-92 Hz result in reduction in intensity of fluorescence of serum albumin.

Key words: extremely low frequency magnetic fields, serum albumin, own fluorescence of pritein.
