

УДК 577.161.19:577.322.7

ДЕЙСТВИЕ ПЕРЕМЕННЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ НА СВЯЗЫВАНИЕ ГИДРОФОБНЫХ ЛИГАНДОВ СЫВОРОТОЧНЫМ АЛЬБУМИНОМ

Калиновский П. С., Мартынюк В. С.

ВВЕДЕНИЕ

На сегодня быстрое технологическое развитие остро ставит вопросы электромагнитной безопасности и разработки новых гигиенических норм предельно допустимого уровня ЭМП [1-4].

Согласно представлениям, развиваемым рядом авторов [5-7], объяснение многообразия биологических эффектов ЭМП состоит в том, что первичное воздействие ЭМП осуществляется на структурно-динамические свойства воды. Однако, данная гипотеза требует всесторонней экспериментальной проверки.

Одним из способов верификации данного предположения является изучение гидрофобных взаимодействий в биополимерах, в реализации которых важным [5-7] фактором являются структурно-динамические свойства воды. В качестве удобной модели гидрофобных взаимодействий может быть использовано явление связывания лигандов гидрофобной природы молекулами белков.

В связи с вышеизложенным, целью настоящего исследования была оценка влияния низкочастотных переменных магнитных полей (Пемп) на связывание биологически активных веществ гидрофобной природы сывороточным альбумином человека.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве модели гидрофобных взаимодействий в белке использовали систему *альбумин+ретинолацетат (витамин А)*. В связи с тем, что *витамин А* практически не растворим в воде, насыщение белка производилось на границе раздела фаз *раствор белка : органический растворитель*. В качестве растворителя использовали хлороформ. В данной серии экспериментов препарат альбумина, который получен стандартным методом спиртового осаждения с последующей лиофилизацией, любезно предоставлен Республиканской станцией переливания крови. Хроматографически чистый препарат *ретинолацетата* синтезирован и любезно предоставлен для исследований кафедрой органической химии Гаврического национального университета.

Степень связывания лиганда белком оценивали спектрофотометрически. Для этого проводили насыщение 0.1% растворов альбумина *витамином А* посредством наслаивания 3 мл раствора белка на 1.5 мл хлороформенного раствора лиганда с последующей инкубацией системы при комнатной температуре 22-24⁰С. С целью оценки растворимости *витамина А* в воде в соответствии с выше указанными пропорциями готовили систему *вода : хлороформенный раствор витамина А*. Для

оценки влияния хлороформа на спектральные характеристики изучаемых проб параллельно проводили инкубацию аликвот воды и растворов альбумина с хлороформом без *витамина А*.

По окончании инкубации регистрировали интегральные спектры поглощения водных растворов белка и витамина. В процессе инкубации происходит насыщение воды и растворов белка витамином А, что приводит к росту их оптической плотности в области 200-350 нм (рис.1) вплоть до насыщения (рис. 2).

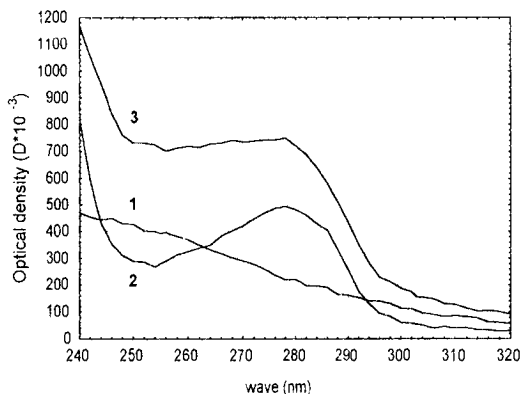


Рис. 1 Спектры поглощения раствора витамина А в воде (1), 0.1% раствора альбумина (2), и системы витамин А + 0.1% раствор альбумина (3).

Примечание: регистрацию спектров проводили против воды, насыщенной хлороформом.

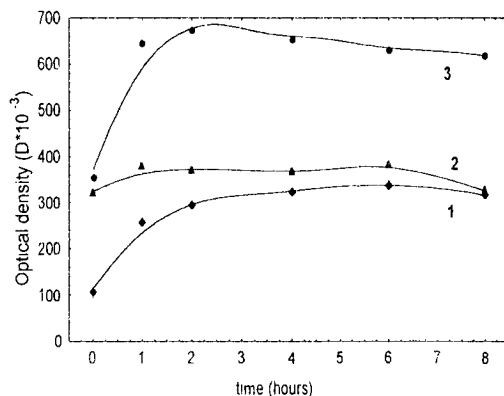


Рис. 2 Динамика оптической плотности ($\lambda=255$ nm) воды, насыщаемой 0.1% хлороформенным раствором витамина А (1); 0.1% раствора альбумина, насыщаемого хлороформом (2); 0.1% раствора альбумина, насыщаемого хлороформенным раствором витамина А (3). *Примечание:* см. Рис. 1.

Путем сравнения спектров были выбраны длины волн в разных спектральных участках, на которых вклад витамина А наиболее выражен - 255 и 303 нм. Эти длины волн были использованы в исследовании динамики изучаемого процесса. Как видно, модельная система *раствор белка : хлороформенный раствор витамина А* приходит в равновесное состояние в течение 2-4 часов, характеризующееся выходом оптической плотности на плато (рис. 2).

Импульсное магнитное поле создавали кольцами Гельмгольца. Импульсы были прямоугольной формы и разной полярности. Источником тока служил генератор сигналов специальной формы Г6-28. Частота магнитного поля составляла 8 Гц, индукция 25 μ Т. Вектор индукции создаваемого магнитного поля колебался в направлении, параллельном вектору геомагнитного поля. Контроль параметров ПемП осуществляли с помощью микротесламетра Г-79. Опытные образцы помещали в кольца Гельмгольца. Контрольные пробы находились в условиях фоновых значений ПемП, характерных для данной лаборатории (25-40 нТ). Для

оценки возможного влияния различий в уровне фоновых ЭМП в местах расположения опытных и контрольных образцов проводили эксперименты с ложным воздействием ЭМП. В этом случае опытные образцы помещали в кольца Гельмгольца, но не подвергали воздействию ЭМП.

Статистическую достоверность влияния КНЧ ПеМП на растворимость витамина А оценивали по критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ полученных результатов показал, что влияние МП на процесс насыщения воды и водных растворов альбумина витамином А, оцениваемый по скорости увеличения оптической плотности, имело нелинейный характер, зависящий от исходной концентрации лиганда в хлороформенном растворе и времени экспозиции. ПеМП влияло как на скорость выхода оптической плотности на плато, так и на его абсолютную величину. Выявляемые эффекты по абсолютной величине не превышали 10-15%, однако, они носили статистически достоверный характер и удовлетворительно воспроизводились в повторных экспериментах.

Одновременно с этим, эффекты ПеМП в воде и растворах белка имели определенные различия. На рисунке 3 представлены результаты влияния ПеМП на растворимость витамина А в воде. Значения, характеризующие каждую точку, получены усреднением величин отклонений оптической плотности относительно контрольных образцов при разных экспозициях. Как видно, надежные эффекты ПеМП имели место для крайних значений в выбранном диапазоне концентраций витамина А в хлороформе (рис. 3). При этом наибольшая относительная эффективность влияния исследуемого фактора на процесс насыщения воды витамином А, выраженная в процентах по отношению к контрольным значениям, выявляется в экспериментах с самыми низкими значениями концентрации лиганда в органическом растворителе.

Одновременно с этим, процесс насыщения витамином А растворов альбумина не обнаруживает концентрационной зависимости в исследуемом диапазоне концентраций (рис.4). Во всех случаях воздействие ПеМП приводило к повышению оптической плотности исследуемых растворов, которое, однако, не превышало 5-10% относительно контрольных значений. Обращает на себя внимание тот факт, что в экспериментах с ложным воздействием ПеМП изменения в белковых растворах, насыщаемых низкими концентрациями витамина А, носили противоположный характер. В литературе подобные эффекты носят общее название «эффекта места», одной из причин которого могут служить локальные неоднородности геомагнитного поля и различия в частотных и амплитудных характеристиках фоновых ПеМП, которые традиционно относятся к категории неконтролируемых факторов. Следует также отметить, что «эффект места» практически не выявляется в экспериментах в насыщении витамином А воды. Вероятно, это указывает на более высокую чувствительность белковых систем к воздействию сверхслабых доз физических и химических факторов.

Таким образом, полученные данные могут рассматриваться как свидетельство незначительного достоверного повышения растворимости витамина А в воде и

растворах белка в условиях воздействия слабых ПемП. Одновременно с этим, результаты указывают на высокую чувствительность белковых растворов в сверхслабом фоновом ПемП, интенсивность которых не превышает 50 нТл, что по порядку величин сравнимо с природными флуктуациями геомагнитного поля [8].

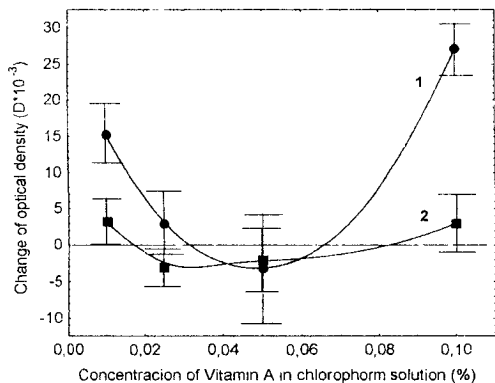


Рис. 3 Зависимость влияния импульсного ПемП частотой 8 Гц 25 мкТл на растворимость витамина А в воде ($\Delta D = D_{mf} - D_{con}$) от его исходной концентрации в хлороформенном растворе (1 – экспозиция в магнитном поле; 2 – ложная экспозиция).

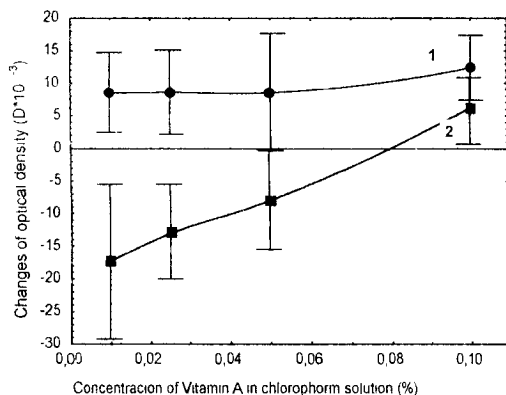


Рис. 4. Зависимость влияния импульсного ПемП частотой 8 Гц 25 мкТл на растворимость витамина А в 0.1% растворе альбумина ($\Delta D = D_{mf} - D_{con}$) от его исходной концентрации в хлороформенном растворе (обозначения см. рис. 3).

Возникает закономерный вопрос о природе молекулярных механизмов наблюдаемых малых, но достоверных изменений растворимости витамина А в воде водных растворах белка. Согласно современным представлениям о динамической структуре воды [5-7] действие слабых и сверхслабых ПемП может проявляться в изменении характера коллективных взаимодействий молекул воды, приводящих к образованию кластерных структур с новыми особенностями их пространственно-временной организации. Такие изменения могут приводить к сдвигу параметров гидрофобной гидратации, и, как следствие, к изменению растворимости веществ неполярной природы.

ВЫВОДЫ

1. Воздействие низкочастотного ПемП малой амплитуды достоверно изменяет растворимость гидрофобных лигандов в воде и водных растворах альбумина.
2. Эффективность влияния МП в зависимости от концентрации гидрофобного лиганда имеет нелинейный характер и максимальна в области низких концентраций.
3. Изменение растворимости веществ гидрофобной природы при действии ПемП может быть результатом изменения динамической структуры воды и параметров гидрофобной гидратации.

Список литературы

1. Птицына Н. Г., Виллорези Дж., Тясто М. И., Копытенко Ю. А., Копытенко Е. А., Ючки Н., Бочко В. А. Поиск потенциально опасных для здоровья характеристик магнитных полей окружающей среды // Тезисы докладов 4-го Международного симпозиума «Корреляции биологических и физико-химических процессов с космическими и гелио-геофизическими факторами», Пушино-на-Оке, 23-28 сентября 1996. – Пушино. – 1996. – С. 43-44.
2. Кузьмичев В. Е., Чернова Г. В., Эндебера О. П. Природный электромагнитный фон и электромагнитное загрязнение биосферы // Тезисы докладов 2-го Международного конгресса «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине», Санкт-Петербург 3-7 июля 2000. – С-Пб, 2000. – С. 229-230.
3. Антипова С. Е., Кольчугин Ю. И., Романов В. А., Рубцова Н. Б. Вопросы гигиенического нормирования электромагнитных полей технических средств связи // Тезисы докладов 2-го Международного конгресса «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине», Санкт-Петербург 3-7 июля 2000. – С-Пб. – 2000. – С. 242.
4. Темурьянц Н. А., Владимирский Б. М., Тишкин О. Г. Сверхнизкочастотные электромагнитные сигналы в биологическом мире. – К.: Наукова думка, 1992. – 185 с.
5. Слесарев В. И., Шабров А. В. Влияние структуры воды на её статические и динамические свойства // Тезисы докладов 2-го Международного конгресса «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине», Санкт-Петербург 3-7 июля 2000. – С-Пб. – 2000. – С. 102-103.
6. Холмогоров В. Е., Халоймов А. И., Винниченко М. Б., Кочнев И. Н., Григорьев А. Е., Лехтлаан-Тыниссон Н. П., Покровская Л. А. Структурно-динамические перестройки в воде и водных растворах при действии сверхслабого поля оператора // Тезисы докладов 2-го Международного конгресса «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине», Санкт-Петербург 3-7 июля 2000. – С-Пб. – 2000. – С. 125.
7. Кяйверяйнен Л. И. Динамическое поведение белков в водной среде и их функции. – Л.: Наука, 1980. – 272 с.
8. Пресман А. С. Электромагнитные поля и живая природа. – М.: Наука, 1968. – 288 с.