

УДК 577.3

МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ НИЗКОЧАСТОТНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ НА ВОДНЫЕ РАСТВОРЫ БИОПОЛИМЕРОВ

© 2023 г. Е.Е. Текуцкая*,#, Г.П. Ильченко*, М.Г. Барышев**

*Кубанский государственный университет, Ставропольская ул., 149, Краснодар, 350040, Россия

**Кубанский государственный технологический университет, Московская ул., 2, Краснодар, 350000, Россия

#E-mail: tekytska@mail.ru

Поступила в редакцию 27.12.2022 г.

После доработки 24.01.2023 г.

Принята к публикации 01.02.2023 г.

Предложен механизм преобразования сигнала магнитной составляющей низкочастотного электромагнитного поля, имеющего крайне низкую энергию, в химический и биохимический отклик в водных растворах биополимеров на основе нуклеиновых кислот и белков. Из разработанной теоретической модели следует, что в основе окислительных повреждений ДНК и конформационных переходов белков лежит универсальный механизм, связанный с изменением количества наиболее долгоживущей формы — перекиси водорода в химическом осцилляторе взаимопревращений активных форм кислорода под действием низкоинтенсивного электромагнитного поля. Экспериментально определено, что количественное содержание перекиси водорода в растворах биополимеров резонансоподобно зависит от частоты воздействующего поля. Конформационные изменения белков сопровождаются увеличением доступности и активности нуклеофильных центров, являющихся потенциальными мишенями для активных форм кислорода. Полное разворачивание и денатурация аминокислотной цепи белка под действием низкочастотного электромагнитного поля не происходит. Показано, что повышенное образование перекиси водорода при частотах 3 и 50 Гц приводит к окислительной модификации азотистых оснований ДНК.

Ключевые слова: низкочастотное электромагнитное поле, активные формы кислорода, перекись водорода, биополимеры, ДНК, альбумин, флуоресцентная спектроскопия.

DOI: 10.31857/S0006302923030095, EDN: PIZWON

Значительное количество магнитобиологических эффектов приходится на крайне низкочастотный (3–30 Гц) и сверхнизкочастотный (30–300 Гц) диапазоны электромагнитного поля (ЭМП), но первичные механизмы этого действия, несмотря на многочисленные исследования и предлагаемые модели, до сегодняшнего дня остаются до конца не ясными [1–4]. Между тем, воздействие ЭМП крайне низкочастотного и сверхнизкочастотного диапазонов на живые системы может носить двоякий характер. С одной стороны, негативное влияние ЭМП связано с необходимостью защиты организма человека, поскольку действие ЭМП на живые системы может приводить к повреждению ДНК, инициировать окислительную модификацию азотистых оснований и появлению одно- и двунитевых разрывов, а также к сбою в системе репарации ДНК, как показали исследования [5–7]. С другой стороны,

сверхнизкочастотное ЭМП в последние десятилетия занимает особое место в медицинских исследованиях, особенно в области лечения рака в сочетании с химиотерапевтическими препаратами и обезболивающими [8, 9]. Предполагается, что под действием ЭМП может изменяться скорость диффузии через биологические мембраны, ориентация и конформация биологических макромолекул, а также состояние свободных радикалов.

Одним из важных источников мутаций выступает эндогенный и экзогенный окислительный стресс, которому подвергается ДНК всех живых организмов. Повышенный уровень образования активных форм кислорода (АФК), опосредованный физическими, химическими или биологическими факторами среды является наиболее генотоксическим процессом, воздействующим на ДНК [10–11].

Цель работы заключалась в разработке физико-химического механизма генерации АФК в водных растворах под действием низкочастотно-

Сокращения: ЭМП — электромагнитное поле, АФК — активные формы кислорода, ЧСА — человеческий сывороточный альбумин.

го электромагнитного поля и инициации повреждений биополимеров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследований были водные растворы ДНК, получаемого химической и ультразвуковой обработкой водного экстракта молотосеменных и осетровых рыб (ICN, США), и человеческого сывороточного альбумина (ЧСА). Водные растворы ЧСА получали путем разведения белка до концентрации 5 мкМ в буферной системе с различными значениями pH. Концентрацию ДНК в конечном растворе определяли спектрофотометрически, используя коэффициент экстинкции, равный $E_{260\text{ нм}} = 200$.

Обработка проб электромагнитным полем. В ходе экспериментов использовали разработанное нами устройство для автоматизированного исследования биологических жидкостей в ЭМП, подробное описание и структурная схема которого приведены в работе [12]. Обработку растворов ДНК и ЧСА низкочастотным ЭМП, в котором преобладает магнитная составляющая, проводили в химически чистой стерильной пластиковой посуде при толщине слоя 2 мм согласно методике, изложенной в работе [6]. Образец помещали в центр соленоида, где ЭМП с достаточной точностью можно считать однородным, поскольку размеры соленоида много больше размеров образца. Эффективное значение напряженности поля, измерение которой производили прибором «Экофизика-110А» с цифровым измерительным преобразователем ПЗ-80-ЕН50, в месте нахождения образца составляло 550 ± 30 А/м. Частоту ЭМП варьировали от 0 до 50 Гц с шагом 0,5, 1 или 5 Гц. Задавали начальную частоту ЭМП и соответствующую напряженность и проводили обработку образца в течение 15 или 30 мин. Затем регистрировали спектр флуоресценции образца при соответствующей длине волны возбуждения. В растворе ДНК измеряли количественное содержание перекиси водорода.

Флуоресцентные исследования проводили на спектрофлуориметре F-2700 (Hitachi, Япония).

Определение содержания перекиси водорода в водных растворах ДНК проводили с помощью спектрофотометрического метода, используя набор «PerOx Метод определения перекисей в образцах ЭДТА плазмы» (Immun Diagnostic AG, Германия) на микропланшетном ридере Multiskan (Thermo Fisher Scientific, Финляндия). Калибровочный график линейен в диапазоне $1 \cdot 10^{-5}$ – $5 \cdot 10^{-2}$ М.

Статистическая обработка. Полученные данные анализировали в пакете статистического анализа Statistica 6.0. Проверка гипотезы о нормальном (гауссовом) типе распределения результатов

проводилась по Шапиро–Уилксу, а также с помощью определения ординат нормированной гауссовой функции распределения согласно рекомендациям, изложенным в монографии [13]. Сравнение групп по количественным признакам проводили с использованием двухвыборочного t-критерия Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Процесс образования АФК в водных растворах нуклеиновых кислот изучали с использованием растворов ДНК с известным нуклеотидным составом. Длины волн возбуждения флуоресценции $\lambda_{\text{возб}}$ в растворах ДНК подбирали таким образом, чтобы возбуждались пиримидиновые основания ДНК. Учитывали, что полоса поглощения УФ-излучения молекулами ДНК составляет от 160 до 320 нм и наибольшее разрушающее действие на ДНК оказывает излучение с длиной волны λ_{max} 253.7 нм. Оптимальной длиной волны возбуждения выбрана $\lambda_{\text{возб}} = 320$ нм, поскольку резонансный пограничный УФ-диапазон (3.94 эВ) не разрушает, а лишь возбуждает молекулу ДНК.

На спектрах флуоресценции растворов ДНК с концентрациями 2.5, 0.25, 0.025 мкг/мл в диапазоне от 320 до 720 нм отмечали два характерных максимума интенсивности флуоресценции в области длин волн 410 ± 3 нм и 645 ± 5 нм. Первый максимум связан с наличием в составе молекул ДНК хромофоров, поглощающих УФ-излучение, – сопряженные π -связи азотистых оснований. Появление второго максимума, по-видимому, связано с изменением содержания АФК в растворе и косвенно свидетельствует о наличии в водном растворе ДНК синглетного кислорода. Известно, что молекулы синглетного кислорода могут образовывать возбужденные эксимеры ($^1\text{O}_2$)₂, которые переходят в основное состояние с испусканием фотона в видимом диапазоне в районе 640–645 нм [14].

Получены зависимости интенсивности флуоресценции разбавленных водных растворов ДНК с концентрацией 0.025 мкг/мл от частоты ЭМП с шагом 5 Гц в области второго максимума 645 ± 5 нм (рис. 1). Наблюдается увеличение интенсивности флуоресценции области 645 ± 5 нм по сравнению с контролем (раствором ДНК соответствующей концентрации без обработки ЭМП) всех исследуемых растворов ДНК при обработке низкоинтенсивным ЭМП с частотами 3–5, 25–35 и 50 Гц, что косвенно свидетельствует об изменении количества АФК, в частности, синглетного кислорода, в водном растворе (рис. 1).

Время жизни радикалов АФК, как правило, очень мало, поэтому об их появлении удобно судить по накоплению наиболее долгоживущей

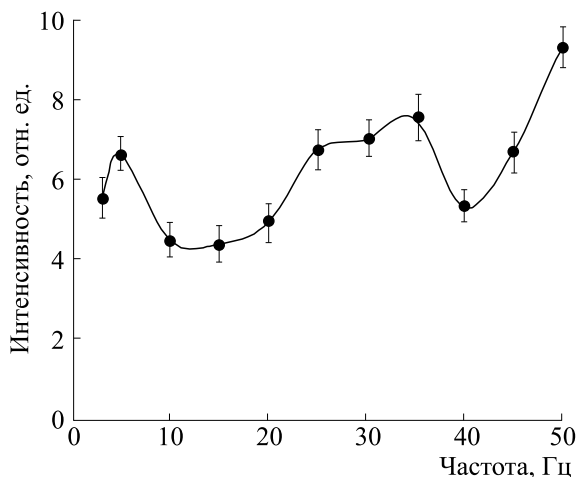


Рис. 1. Усредненная зависимость интенсивности флуоресценции при $\lambda_{\text{max}} = 645 \pm 5$ нм растворов ДНК с концентрацией 0.025 мкг/мл от частоты ЭМП. Время обработки образцов 30 мин, $t = 21^\circ\text{C}$.

формы — перекиси водорода. В водных растворах ДНК после обработки низкоинтенсивным ЭМП с соответствующими частотами определили содержание перекиси водорода. Из рис. 2 видно, что содержание H_2O_2 в растворах ДНК увеличивается после обработки ЭМП с частотами 3–8, 25 и 50 Гц.

Мы изучали действие низкочастотного ЭМП на растворы ЧСА при значениях pH от 3.0 до 7.0 после обработки ЭМП с частотами от 3 до 32 Гц в течение 15 мин с шагом 0.5 Гц. Величина интенсивности триптофановой флуоресценции изменялась от 230 до 500 отн. ед. в зависимости от используемой частоты ЭМП, максимумы спектров

флуоресценции значительно смешались. Характер изменения спектров триптофановой флуоресценции ЧСА также различался при разных значениях pH.

На рис. 3 в качестве примера приведено семейство спектров триптофановой флуоресценции ЧСА с концентрацией $1 \cdot 10^{-6}$ М при pH 3.0 после обработки ЭМП с разными частотами. В белковом растворе после обработки ЭМП наблюдали, кроме полосы флуоресценции триптофана, дополнительные полосы флуоресценции при всех изученных pH. Возможно, что данные полосы появляются в растворе ЧСА вследствие образования новых флуорофоров при окислении АФК аминокислотных остатков белка. Как видно из рис. 3, при pH 3.0 интенсивность флуоресценции $I_{\text{фл макс}}$ после обработки раствора ЧСА ЭМП уменьшается с 440 (без обработки ЭМП) до 230 отн. ед., при этом максимум флуоресценции $I_{\text{фл макс}}$ батохромно смещается в коротковолновую область на 15–20 нм.

Это свидетельствует о наличии хорошо известного эффекта — сдвига стационарного спектра испускания белков в коротковолновую область в присутствии тушителя [15].

Из спектров триптофановой флуоресценции ЧСА в диапазоне длин волн от 270 до 440 нм рассчитана интегральная интенсивность флуоресценции растворов ЧСА при разных значениях pH по формуле:

$$I_{\text{от.}} = \frac{I_{\text{сум.ф}}}{I_{\text{сум.К}}},$$

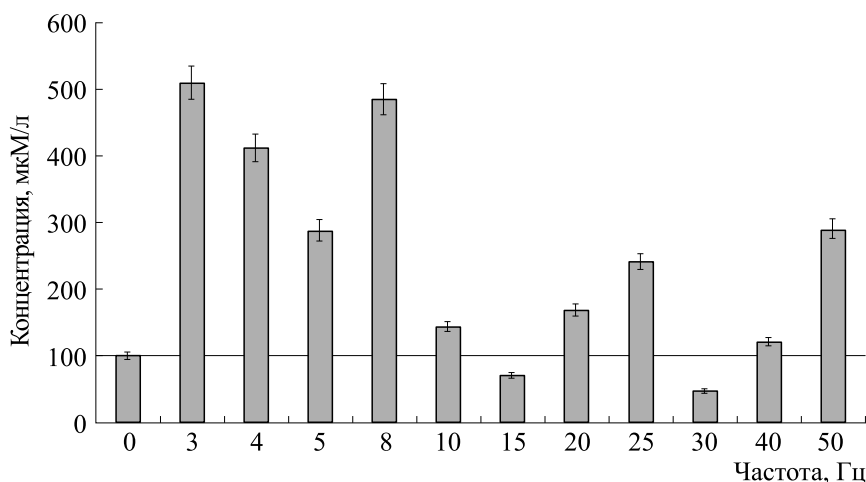


Рис. 2. Содержание перекиси водорода до (0 Гц) и после воздействия ЭМП с различными частотами в водных растворах ДНК с концентрацией 0.025 мкг/мл, время обработки образцов 30 мин, $t = 21^\circ\text{C}$.

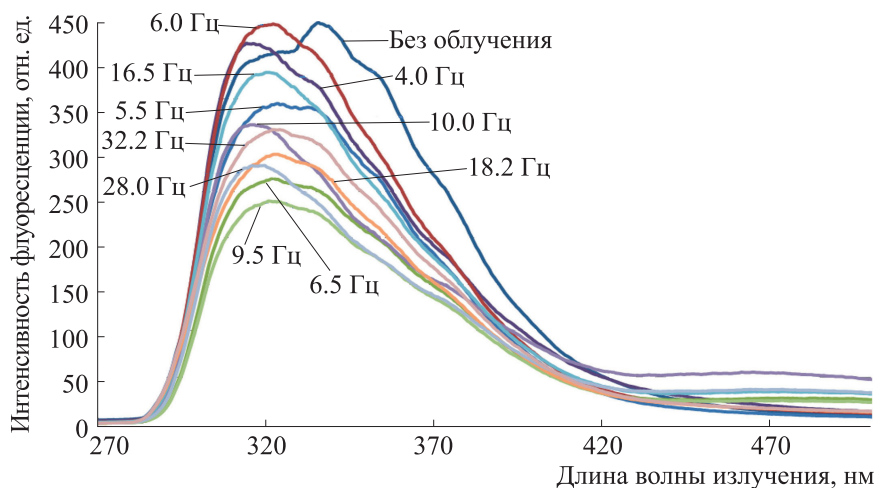


Рис. 3. Спектры триптофановой флуоресценции растворов ЧСА ($1 \cdot 10^{-6}$ М) после обработки ЭМП разной частоты при pH 3.0. Время обработки образцов 15 мин, $t = 23^\circ\text{C}$, $\lambda_{\text{возб}} = 295$ нм.

где $I_{\text{сум.Г}}$ — интегральная флуоресценция раствора ЧСА в диапазоне от 270 до 440 нм после обработки ЭМП с соответствующей частотой, $I_{\text{сум.К}}$ — интегральная флуоресценция раствора ЧСА в от 270 до 440 нм без обработки ЭМП.

На рис. 4. приведены зависимости интегральных значений флуоресценции $I_{\text{от}}$ водных растворов ЧСА от частоты ЭМП при значениях pH от 3.0 до 6.5.

Видно, что воздействие ЭМП приводит к увеличению $I_{\text{от}}$ растворов ЧСА, имеющих pH 4.5, что близко к значению изоэлектрической точки. Положение максимума флуоресценции при этом оставалось практически неизменным. Это свидетельствует об уменьшении доступности аминокислотных остатков альбумина в центре, содержащем триптофан, для молекул воды и АФК и об уплотнении гидрофобного окружения Тгр-214.

При других значениях pH величина $I_{\text{от}}$ ниже интегральной флуоресценции раствора ЧСА без обработки ЭМП (на рис. 4 показана пунктиром).

Значения квантовых выходов триптофановой флуоресценции растворов ЧСА изменяются при pH 4.5–5.5 с 0.041 до 0.070 и при pH 7.0 — с 0.040 до 0.048 после обработки ЭМП частотой 8 Гц (табл. 1). Это также является доказательством изменений окружения флуорофоров в молекуле альбумина, происходящих под действием низкоинтенсивного электромагнитного поля.

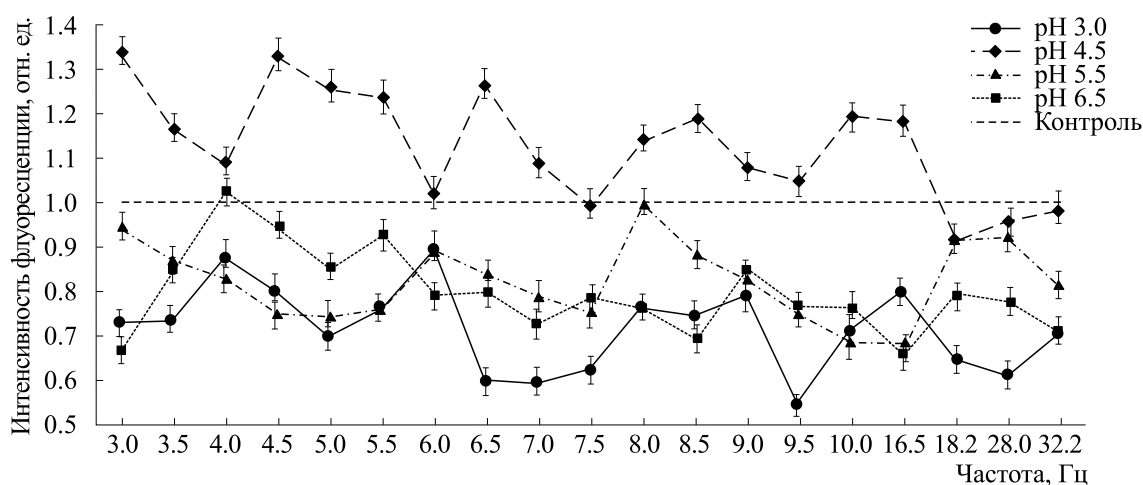


Рис. 4. Усредненные зависимости интегральной интенсивности флуоресценции растворов ЧСА ($1 \cdot 10^{-6}$ М) от частоты ЭМП при разных значениях pH. Время обработки образцов 15 мин, $t = 23^\circ\text{C}$.

Таблица 1. Квантовый выход триптофановой флуоресценции водных растворов сывороточного альбумина ($1 \cdot 10^{-6}$ М) с различными значениями pH после обработки ЭМП частотой 8 Гц

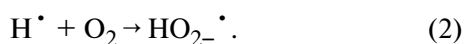
pH	Квантовый выход до обработки ЭМП	Квантовый выход после обработки ЭМП
3.0	0.069 ± 0.001	0.072 ± 0.002
3.5	0.065 ± 0.002	0.068 ± 0.001
4.5	0.041 ± 0.001	0.057 ± 0.002
5.5	0.058 ± 0.001	0.071 ± 0.001
6.5	0.035 ± 0.002	0.035 ± 0.001
7.0	0.040 ± 0.002	0.048 ± 0.002

МОДЕЛЬ ВОЗДЕЙСТВИЯ НИЗКОЧАСТОТНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ НА ВОДНЫЕ РАСТВОРЫ БИОПОЛИМЕРОВ

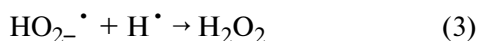
В разбавленных растворах биополимеров процессы образования АФК протекают по типу химического осциллятора [17]. Начальной стадией является инициация процесса — присоединение электрона e^- с ридберговски возбужденных уровней макромолекул (например, ДНК) [18] к свободным протонам воды с образованием радикала водорода:



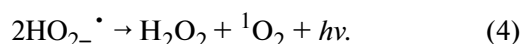
При нейтральном pH радикал водорода взаимодействует с молекулами растворенного кислорода, концентрация которых на 3 порядка выше, чем концентрация протонов и гидроксид-ионов (10^{17} против 10^{14} молекул/см³) [19], образуя гидроперекисный радикал:



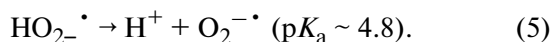
Дальнейшее образование перекиси происходит двумя способами:



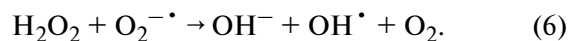
или



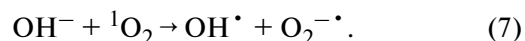
По мере увеличения концентрации перекиси водорода по реакциям (3) и (4) pH раствора растет. При нейтральных и щелочных pH водного окружения гидроперекисный радикал распадается с образованием супероксид-иона:



Освободившийся в результате протекания реакции (5) протон снова может взаимодействовать с ридберговским e^-_{Rg} макромолекулы. Таким образом, протекание реакций (1)–(4) приводит к накоплению в водном растворе биополимера перекиси водорода, синглетного кислорода и супероксид-иона. С ростом содержания перекиси водорода супероксид-ион способствует ее разложению с образованием гидроксильного радикала [20]:



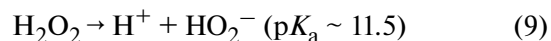
Присутствие синглетного кислорода в нейтральной и слабощелочной среде приводит к дальнейшему образованию супероксид-иона:



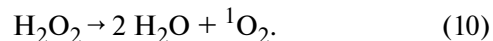
Дисмутация гидроксильного радикала приводит к образованию перекиси водорода:



С ростом pH перекись способна самопроизвольно распасться с подкислением среды:



или с образованием синглетного кислорода:



Самораспад перекиси по реакции (10) имеет порядок от 1 до 2 и приводит к образованию синглетного кислорода 1O_2 , который вновь участвует в цикле взаимопревращений АФК. Введя обозначение k_i для констант скоростей реакций (1)–(10), запишем соответствующие кинетические уравнения для скорости образования в разбавленных водных растворах биополимеров разных АФК в общем виде:

$$\frac{d}{dt} [\dot{\text{H}}] = k_1 [\text{H}^+][e^-_{\text{Rg}}] - k_2 [\dot{\text{H}}][\text{O}_2] - k_3 [\dot{\text{H}}][\text{HO}_2^- \cdot], \quad (11)$$

$$\frac{d}{dt} [\text{HO}_2^- \cdot] = k_2 [\dot{\text{H}}][\text{HO}_2^- \cdot] - k_4 [\text{HO}_2^- \cdot]^2 - k_3 [\text{HO}_2^- \cdot][\dot{\text{H}}] - k_5 [\text{HO}_2^- \cdot], \quad (12)$$

$$\frac{d}{dt} [^1\text{O}_2] = k_4 [\text{HO}_2^- \cdot]^2 - k_7 [^1\text{O}_2][\text{OH}^-] + k_{10} [\text{H}_2\text{O}_2], \quad (13)$$

$$\frac{d}{dt} [\text{O}_2^- \cdot] = k_5 [\text{HO}_2^- \cdot] - k_6 [\text{H}_2\text{O}_2][\text{O}_2^- \cdot] + k_7 [\text{OH}^-], \quad (14)$$

$$\frac{d}{dt} [\text{OH} \cdot] = k_6 [\text{H}_2\text{O}_2][\text{O}_2^- \cdot] + k_7 [\text{OH}^-][^1\text{O}_2] - k_8 [\text{OH} \cdot], \quad (15)$$

$$\frac{d}{dt} [\text{H}_2\text{O}_2] = k_3 [\dot{\text{H}}][\text{HO}_2^- \cdot] + k_4 [\text{HO}_2^- \cdot]^2 + k_8 [\text{OH} \cdot]^2 - k_6 [\text{H}_2\text{O}_2][\text{O}_2^- \cdot] - k_9 [\text{H}_2\text{O}_2] - k_{10} [\text{H}_2\text{O}_2]. \quad (16)$$

Используем условие постоянства промежуточных продуктов в системе (1)–(10) и упрощение кинетической модели производства и убыли перекиси водорода. В результате решения системы

уравнений (11)–(16) получаем выражение для скорости образования наиболее устойчивой и долгоживущей АФК — перекиси водорода:

$$\frac{d}{dt} [\text{H}_2\text{O}_2] = \frac{k_1}{2} [\text{OH}^-][e^-_{\text{Rg}}] + \frac{k_4}{2} \left(\frac{k_2}{k_3} \right)^2 [\text{O}_2]^2 - k_{10} [\text{H}_2\text{O}_2]. \quad (17)$$

Из уравнения (17) следует, что в разбавленных растворах биополимеров скорость накопления перекиси водорода зависит от pH раствора, концентрации электронов e^-_{Rg} с ридберговски возбужденных уровней макромолекул и концентрации растворенного кислорода, что частично совпадает с выводами, приведенными в работе [21]. Периодическое накопление и разложение перекиси водорода и определяют периодичность всего цикла взаимопревращений в химическом осцилляторе АФК.

Рассмотрим образование химического осциллятора взаимопревращений АФК в водных растворах биополимеров. На рис. 5 приведена упрощенная схема превращений H_2O_2 в ходе протекания химических реакций в водных растворах

биополимеров. Реакции образования перекиси водорода, протекающие согласно уравнениям (1)–(8), разделим на три группы: первая группа — инициация цикла и первоначальное образования H_2O_2 описывается уравнениями (1)–(3), на рис. 5 обозначена как I; вторая группа — реакции с участием синглетного кислорода, описываются уравнениями (4)–(8), на рис. 5 обозначена как II; третья группа — уравнение (8), обозначена как III. Отдельным блоком IV выделены процессы распада перекиси водорода согласно реакциям (9)–(10), они протекают эффективно при накоплении достаточного количества H_2O_2 в растворе, k_0 — степень распада перекиси водорода.

Введем величину τ — время увеличения концентрации $[\text{H}_2\text{O}_2]$ в каждом цикле реакций в e

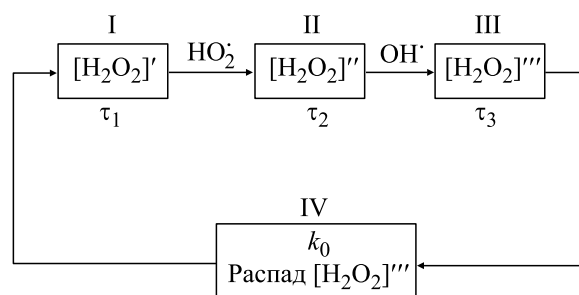


Рис. 5. Схема взаимопревращений перекиси водорода в водном растворе биополимера в ходе протекания реакций (1)–(10).

раз. Величина τ учитывает не только время накопления перекиси водорода, но и время жизни и диффузии соответствующих ионов и радикалов в каждой группе реакций.

Для процесса взаимопревращения перекиси водорода в химическом осцилляторе АФК можно записать:

$$\frac{d[\text{H}_2\text{O}_2]''}{dt} + \frac{1}{\tau_1}[\text{H}_2\text{O}_2]'' = \frac{1}{\tau_1}[\text{H}_2\text{O}_2]', \quad (18)$$

$$\frac{d}{dt}[\text{H}_2\text{O}_2]''' + \frac{1}{\tau_2}[\text{H}_2\text{O}_2]''' = \frac{1}{\tau_2}[\text{H}_2\text{O}_2]'', \quad (19)$$

$$\frac{d}{dt}[\text{H}_2\text{O}_2]^{IV} + \frac{1}{\tau_3}[\text{H}_2\text{O}_2]^{IV} = \frac{1}{\tau_3}[\text{H}_2\text{O}_2]''', \quad (20)$$

$$[\text{H}_2\text{O}_2]^I = -k_0[\text{H}_2\text{O}_2]^{IV}. \quad (21)$$

С учетом протекания реакций распада перекиси водорода и уменьшения ее концентрации показатель k_0 в уравнении (21) имеет знак «-». Преобразовав систему уравнений (18)–(21) и отбросив член, содержащий третью производную, ввиду его малости, получим окончательное уравнение для изменения концентрации перекиси водорода в водном растворе биополимера:

$$\frac{d^2}{dt^2}[\text{H}_2\text{O}_2] + \frac{\tau_1 + \tau_2 + \tau_3}{\tau_1\tau_2 + \tau_1\tau_3 + \tau_2\tau_3} \frac{d}{dt}[\text{H}_2\text{O}_2] + \frac{k_0 + 1}{\tau_1\tau_2 + \tau_1\tau_3 + \tau_2\tau_3}[\text{H}_2\text{O}_2] = 0. \quad (22)$$

Уравнение (22) является дифференциальным уравнением свободных колебаний, возникающих в гармоническом осцилляторе [22]. В этом уравнении выражение перед $[\text{H}_2\text{O}_2]$ есть квадрат частоты собственных колебаний в химическом осцилляторе:

$$\omega_0^2 = \frac{k_0 + 1}{\tau_1\tau_2 + \tau_1\tau_3 + \tau_2\tau_3},$$

а выражение перед $\frac{d}{dt}[\text{H}_2\text{O}_2]$ — показатель затухания колебаний концентраций перекиси водорода в химическом осцилляторе:

$$\delta = \frac{\tau_1 + \tau_2 + \tau_3}{\tau_1\tau_2 + \tau_1\tau_3 + \tau_2\tau_3}.$$

С учетом этого уравнение (22) примет вид:

$$\frac{d^2}{dt^2}[\text{H}_2\text{O}_2] + \delta \frac{d}{dt}[\text{H}_2\text{O}_2] + \omega_0^2[\text{H}_2\text{O}_2] = 0. \quad (23)$$

Рассмотрим влияние низкочастотного ЭМП, в котором преобладает магнитная составляющая, на выход перекиси водорода в водном растворе биополимера. Магнитная составляющая ЭМП, изменяющаяся синусоидально, описывается уравнением $H = H_m \sin \omega t$.

Как отмечалось выше, согласно уравнению (17) в растворах биополимеров скорость накопления перекиси водорода зависит от pH, концентрации электронов с ридберговски возбужденных уровней макромолекул и концентрации растворенного O_2 . Магнитная составляющая ЭМП мо-

жет воздействовать на магнитные моменты электронов с ридберговски возбужденных уровней макромолекул [17]. Кроме того, в водных растворах биополимеров имеются радикальные пары с различными g-факторами партнеров (например, $\text{H}^\bullet$, $\text{HO}_2^\bullet$, $\text{OH}^\bullet$). Магнитная составляющая ЭМП, по-видимому, ориентирует спины бирадикальных пар (например, $\text{H}^\bullet$ и O_2), меняя их подвижность, что возвращает нас к теории взаимодействия триплет-синглетных пар, разработанной А.Л. Бучаченко [23]. При действии магнитной составляющей ЭМП на растворенный в воде O_2 (триплетный, парамагнитный) возможно изменение скорости реакции (2) с образованием гидроперекисного радикала — лимитирующей стадии и ключевой реакции цикла образования АФК, ответственной за суммарный выход перекиси водорода и синглетного кислорода. Таким образом, возможно преобразование сигнала магнитной составляющей вначале в химический, а затем и в биохимический отклик.

Все вышесказанное позволяет предположить, что под влиянием ЭМП приращение концентрации перекиси водорода изменяется пропорционально напряженности магнитной составляющей:

$$\Delta[\text{H}_2\text{O}_2] = \alpha H_m \sin \omega t,$$

где α — коэффициент пропорциональности.

В результате колебания, возникающие в химическом осцилляторе, станут вынужденными и для них будет справедливо уравнение

$$\frac{d^2}{dt^2}[\text{H}_2\text{O}_2] + \delta \frac{d}{dt}[\text{H}_2\text{O}_2] + \omega_0^2[\text{H}_2\text{O}_2] = \alpha H_m \sin t. \quad (24)$$

Решение такого неоднородного уравнения равно сумме общего решения однородного уравнения (22), характеризующего затухающий процесс образования перекиси водорода, возникающий после скачкообразного приложения внешнего воздействия, и частного решения, которое описывает установившийся колебательный процесс под действием приложенной вынуждающей силы.

Общее решение записывается в виде:

$$[\text{H}_2\text{O}_2] = [\text{H}_2\text{O}_2]_{\text{m}0} e^{-\delta t} \sin(\omega_0 t + \varphi_0), \quad (25)$$

где $[\text{H}_2\text{O}_2]_{\text{m}0}$ – амплитуда свободных колебаний концентрации перекиси водорода, $\omega = (\omega_0^2 - \delta^2)^{1/2}$.

Частное решение имеет вид:

$$[\text{H}_2\text{O}_2] = [\text{H}_2\text{O}_2]_{\text{m}} \sin(\omega t + \varphi_0), \quad (26)$$

где $[\text{H}_2\text{O}_2]_{\text{m}}$ – амплитуда вынужденных колебаний концентрации перекиси водорода под воздействием ЭМП.

Для определения амплитуды вынужденных колебаний $[\text{H}_2\text{O}_2]_{\text{m}}$ в уравнение (24) подставим значения первой и второй производной уравнения

$$\frac{d}{dt}[\text{H}_2\text{O}_2] = [\text{H}_2\text{O}_2]_{\text{m}} \cos(\omega t + \varphi), \quad (27)$$

$$\frac{d^2}{dt^2}[\text{H}_2\text{O}_2] = -\omega^2 [\text{H}_2\text{O}_2]_{\text{m}} \sin(\omega t + \varphi). \quad (28)$$

Подставляя выражение (28) в уравнение (25), получим значение амплитуды вынужденного колебания концентрации перекиси водорода под воздействием ЭМП:

$$[\text{H}_2\text{O}_2]_{\text{m}} = \alpha H_{\text{m}} \left((\omega_0^2 - \delta^2)^2 + 4\delta^2 \omega^2 \right)^{-1/2}. \quad (29)$$

Если потери в химическом осцилляторе невелики, а частота вынуждающей силы незначительно отличается от собственной частоты взаимопревращений перекиси водорода в химическом осцилляторе, то получим решение исходного уравнения (24) в следующем виде:

$$[\text{H}_2\text{O}_2] = [\text{H}_2\text{O}_2]_{\text{m}0} e^{-\delta t} \sin(\omega_0 t + \varphi) + [\text{H}_2\text{O}_2]_{\text{m}} \sin(\omega t + \varphi), \quad (30)$$

где $[\text{H}_2\text{O}_2]_{\text{m}} = \alpha H_{\text{m}} \left((\omega_0^2 - \delta^2)^2 + 4\delta^2 \omega^2 \right)^{-1/2}$, φ – начальная фаза, которая при сделанных допущениях одинакова как для затухающих, так и для незатухающих колебаний.

Из анализа выражения (30) следует, что результирующее колебание содержания перекиси водорода является суммой двух колебаний, имеющих разные частоты. Численное соотношение между частотами колебаний в системе химического осциллятора и внешнего поля в целом определяет характер переходного процесса.

Таким образом, поведение химического осциллятора АФК, находящегося под действием внешнего низкоинтенсивного ЭМП, существенно зависит от амплитуды и частоты ω этого поля. При этом различаются отдельные случаи:

1. Если частота ω_0 химического осциллятора взаимопревращений перекиси водорода значительно больше частоты ω внешнего ЭМП, то действие поля сводится к эффекту модуляции автоколебаний осциллятора колебаниями поля, который проявляется в изменении амплитуды колебаний концентрации перекиси водорода. Это приводит к увеличению/уменьшению выхода перекиси водорода в растворе биополимера.

2. С приближением частоты химического осциллятора перекиси водорода ω_0 к частоте ЭМП

ω картина меняется. Частота генерации ω_0 «подтягивается» к частоте внешнего ЭМП и при некотором значении $\Delta\omega = \omega_0 - \omega$, зависящем от соотношения амплитуд, химический осциллятор начинает работать точно на частоте $\omega_0 = \omega$ без каких-либо признаков модуляции. Частота химического осциллятора перекиси водорода оказывается синхронизирована частотой вынуждающего воздействия – ЭМП. При увеличении внешней частоты ω период автоколебаний концентрации перекиси водорода может перестраиваться таким образом, чтобы быть кратным периоду внешних колебаний. Таким образом, может происходить резонансное взаимодействие внешнего воздействующего ЭМП и химического осциллятора.

Предложенная модель не касается биофизической природы мишени и учитывает лишь характер ее взаимодействия с окружением.

Рассмотренный нами цикл автоколебаний в водных растворах биополимеров перекиси водорода является, возможно, доминирующим. Хотя одновременно могут существовать и несколько параллельно действующих химических осцилляторов превращений отдельных форм АФК, каждый из которых будет иметь собственную частоту колебаний.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Предложенная модель преобразования сигнала магнитной составляющей низкочастотного электромагнитного поля в химический и биохимический отклик в водных растворах биополимеров на основе нуклеиновых кислот и белков находится в качественном соответствии с полученными экспериментально частотными зависимостями. Так, значительное резонансоподобное увеличение содержания перекиси водорода в растворах ДНК при воздействии электромагнитным полем частотами 3–8 и 50 Гц (рис. 2), а также появление синглетного кислорода (рис. 1), приводят к увеличению уровня окисленных модификаций азотистых оснований в ДНК. Как было экспериментально показано в работе [6], обработка образцов крови магнитным полем данными частотами (3 и 50 Гц) приводит к достоверному (в 1.5 раза) повышению уровня содержания 8-гидрокси-2-деоксигуанозина (8-OHdG) в геномной ДНК — одного из ключевых биомаркеров окислительных повреждений нуклеиновых кислот, опосредованных с генерацией АФК. При нарушении процессов репарации ДНК накопление окислительных повреждений может привести к дальнейшим структурным изменениям ДНК, в частности, к появлению одно- и двунитевых разрывов.

Образующиеся в ходе резонансного взаимодействия низкочастотного электромагнитного поля и химического осциллятора повышенные количества АФК атакуют нуклеофильные центры белков, повреждая их. Кислотные ($N \rightarrow F^+ \rightarrow F \rightarrow E$) и основные ($N \rightarrow B$) переходы альбумина сопровождаются увеличением доступности и активности этих нуклеофильных центров при изменении pH.

В ЧСА многие аминокислоты подвержены модификациям, обусловленным действием АФК, в частности, гидроксильными радикалами и супероксид-анион-радикалами. Так, аминокислоты, входящие в состав ЧСА, активно снижают выход перекиси водорода, являясь эффективными перехватчиками гидроксильных радикалов: Trp — на 70%, Tug — на 80% и His — на 36%. Как известно, из всех аминокислот наиболее эффективным тушителем синглетного кислорода является Trp, константа скорости тушения синглетного кислорода триптофаном, полученная с помощью уравнения Штерна–Фольмера, составляет $(4.6 \pm 0.6) \cdot 10^7$ л/М·с [16]. Наблюдаемые батохромные сдвиги соответствующих спектров флуоресценции ЧСА (рис. 3) связаны, вероятно, с увеличением подвижности микроокружения аминокислотных остатков Trp и Tug в альбумине и усилением

процессов тушения вследствие разрушения третичной структуры белка. При действии ЭМП происходят изменения в центре связывания молекулы альбумина, содержащий Trp, а именно увеличение (разрыхление) F-формы ЧСА и открытие гидрофобной зоны ($F^+ \rightarrow F$ -переход). Это приводит к проникновению молекул воды в данный центр, взаимодействию образующихся в воде АФК с ароматическим кольцом Trp и тушению его флуоресценции. Среди других мест окисления ЧСА возможны гистидин и метионин.

Тушение триптофановой флуоресценции ЧСА при обработке ЭМП указывает на одностадийный характер денатурации альбумина при $pH > pI$ ЧСА — разрыхлении белковых глобул и изменение конформационных состояний с разными временами жизни возбужденного состояния. В таких состояниях флуоресцентные характеристики Trp в ЧСА определяются не только положением индольного кольца как таковым, но и характером взаимодействия флуорофора с аминокислотным окружением, которое также может влиять на степень завершенности релаксационных процессов за время жизни возбужденного состояния [15]. Полученные эффекты согласуются с выводами авторов статьи [24], в которой показано, что обработка ЭМП водных растворов альбуминов приводит к существенным изменениям белковых макромолекул и обусловлены, хотя бы частично, изменением свойств водной фазы. О возможностях оценки параметров изменения гидратной оболочки белков при различных внешних воздействиях указывают и авторы работы [25].

Иными словами, деформация молекулярной структуры альбумина при не очень больших воздействиях низкочастотным ЭМП может быть связана с окислением аминокислотных остатков и локализоваться именно в неплотно упакованных участках, не приводя к полному разрушению структуры молекулы. При этом могут происходить окислительно-восстановительные модификации сульфгидрильных и гидроксильных групп белков. Это предотвращает дальнейшую денатурацию белка.

Таким образом, основываясь на теоретических выкладках и экспериментальных результатах, можно сделать вывод о возможности увеличения/уменьшения выхода перекиси водорода в водных растворах биополимеров в процессе воздействия на них низкоинтенсивным низкочастотным электромагнитным полем. Если воздействие низкочастотного электромагнитного поля, опосредованное генерацией АФК в водной среде, на ДНК носит в основном повреждающий характер (либо окислительный, либо структурный), то

белки претерпевают в основном конформационные переходы. Изменения состояния биополимеров вызывают дальнейшие изменения на уровне систем, клеток [26] и поведения целого организма [27].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложен механизм преобразования сигнала магнитной составляющей низкочастотного электромагнитного поля в химический и биохимический отклик в водных растворах биополимеров на основе нуклеиновых кислот и белков. Результатом описанного механизма является изменение концентрации перекиси водорода, определяемое выражением (30), под действием электромагнитного поля в химическом осцилляторе АФК. Этот процесс имеет резонансный характер. Резонанс наступает, когда частота внешнего поля совпадает (или кратна) собственной частоте химического осциллятора. Изменение концентрации АФК в водном растворе позволяет объяснить экспериментально наблюдаемые эффекты влияния низкочастотного электромагнитного поля на биохимические процессы.

Следует учесть, что предложенная модель не рассматривает биофизическую природу мишени и учитывает лишь характер ее взаимодействия с окружением. Магнитная составляющая низкочастотного электромагнитного поля может воздействовать на бирадикальные магнитохимические реакции химического осциллятора АФК, изменяя константы скорости их образования. Исходя из этого, рассматриваемая проблема требует более детального изучения с учетом биофизической природы мишени, что авторы предполагают сделать в дальнейшем.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания каких-либо исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. В.Н. Бинги, Биофизика, **61** (1), 201 (2016).
2. J. L. Phillips, N. P. Singh, and H. Lay, Pathophysiology, **16**, 79 (2009).
3. Л. Н. Галль, *Физические принципы функционирования материи живого организма* (Изд-во политех. ун-та, СПб., 2014).
4. В. В. Новиков, В. О. Пономарев, Г. В. Новиков и др., Биофизика, **55** (4), 631 (2010).
5. D. Lingvay, A. G. Bors, and A. M. Bors, Electrotehnica, Electronica, Automatica, **66** (2), 5 (2018).
6. Е. Е. Текуцкая, М. Г. Барышев, Л. Р. Гусарук и Г. П. Ильченко, Биофизика, **65** (4), 664 (2020). DOI: 10.31857/S0006302920040055
7. Y. Wang, X. Liu, Y. Zhang, et al., Biol. Open, **8**, bio041293 (2019). DOI: 10.1242/bio.041293
8. C. A. Buckner, A. L. Buckner, S. A. Koren, et al., PloS One, **10** (4), e0124136 (2015). DOI: 10.1371/journal.pone.0124136
9. F. Sanie-Jahromi and M. Saadat, Mol. Biol. Reports, **45**, 807 (2018). DOI: 10.1007/s11033-018-4223-7
10. С. В. Смирнова, С. В. Гудков и В. И. Брусков, *8-Оксоугуанин и продукты его окисления. Образование в ДНК под действием тепла, ионов уранила и гамма-излучения* (Lambert Acad. Publ., Saarbrücken, 2011).
11. Е. Б. Менщикова, В. З. Ланкин, Н. Л. Зенков и др., *Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты* (Слово, М., 2006).
12. Е. Е. Текуцкая, М. Г. Барышев, Е. Е. Тумаев и Г. П. Ильченко, Биофизика, **65** (3), 479 (2020). DOI: 10.31857/S0006302920030060
13. А. Н. Герасимов, *Медицинская статистика* (ООО «Медицинское информационное агентство», М., 2007).
14. С. В. Гудков, О. Э. Карп, С. А. Гармаш и др., Биофизика, **57** (1), 5 (2012).
15. Е. В. Немцева, О. О. Лащук и М. А. Герасимова, Биофизика, **61** (2), 231 (2016).
16. Д. Н. Буторина, А. А. Красновский мл. и А. В. Приезжев, Биофизика, **48** (2), 201 (2003).
17. С. В. Гудков, О. Э. Карп, С. А. Гармаш и др., Биофизика, **57** (1), 5 (2012).
18. С. В. Авакян и Л. А. Баранова, Биофизика, **64** (1), 12 (2019).
19. Л. В. Беловолова, Оптика и спектроскопия, **128** (7), 923 (2020).
20. Н. Л. Лаврик и Н. М. Бажин, Биофизика, **56** (3), 574 (2011).
21. В. О. Пономарев и В. В. Новиков, Биофизика, **54** (2), 235 (2009).
22. Т. И. Трофимова, *Курс физики. Учебное пособие для вузов* (Издательский центр «Академия», М., 2006).
23. А. Л. Бучаченко, Успехи химии, **83** (1), 1 (2014).
24. Ю. В. Цейслер, В. С. Мартынюк, А. Ю. Артеменко и Н. С. Мирошниченко, Физика живого, **17** (1), 94 (2009).
25. Е. В. Рубцова, А. Б. Соловей и В. И. Лобышев, Биофизика, **59** (6), 1071 (2014).
26. Е. Е. Текуцкая, Л. Р. Гусарук и Г. П. Ильченко, Биофизика, **67** (1), 113 (2022). DOI: 10.31857/S0006302922010112
27. Е. Е. Текуцкая, И. С. Рябова, С. В. Козин и др., Бюл. эксперим. биологии и медицины, **172** (11), 602 (2021). DOI: 10.47056/0365-9615-2021-172-11-602-606

Mechanism of Action of the Low-Frequency Electromagnetic Field on Aqueous Solutions of Biopolymers

E.E. Tekutskaya*, G.P. Ilchenko*, and M.G. Baryshev**

*Kuban State University, Stavropol'skaya ul. 149, Krasnodar, 350040 Russia

**Kuban State Technological University, Moskovskaya ul. 2, Krasnodar, 350000 Russia

This paper presents the mechanism of signal transformation by which a signal from the magnetic component of the low-frequency electromagnetic field with extremely low energy is changed into chemical and biochemical signals which elicit a biological response in aqueous solutions of biopolymers based on nucleic acids and proteins. A theoretical model developed shows that the basis of oxidative DNA damage and conformational transitions of proteins is a universal mechanism associated with a change in the amount of the most long-lived form — hydrogen peroxide in a chemical oscillator of mutual transformations of reactive oxygen species under the influence of low-intensity electromagnetic field exposure. It has been experimentally established that the quantitative content of hydrogen peroxide in solutions of biopolymers resonantly depends on the frequency of applied field. Conformational changes in proteins are accompanied by an increase in the availability and activity of the nucleophilic centers that are potential targets for reactive oxygen species. Complete unfolding and denaturation of the amino acid chain of the protein under the influence of low-frequency electromagnetic field exposure do not occur. It has been shown that enhanced hydrogen peroxide formation at 3 Hz and 50 Hz leads to oxidative modification of nitrogenous bases in DNA.

Keywords: low-frequency electromagnetic field, reactive oxygen species, hydrogen peroxide, biopolymers, DNA, albumin, fluorescent spectroscopy