

## ДЕЙСТВИЕ КОМБИНИРОВАННЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ С ОЧЕНЬ СЛАБОЙ ПЕРЕМЕННОЙ НИЗКОЧАСТОТНОЙ КОМПОНЕНТОЙ НА ЛЮМИНОЛЗАВИСИМУЮ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЮ КРОВИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

© 2015 г. В.В. Новиков, Е.В. Яблокова, Е.Е. Фесенко

Институт биофизики клетки РАН, 142290, Пущино Московской области

E-mail: dostag@mail.ru

Поступила в редакцию 18.03.15 г.

Показано, что воздействие комбинацией постоянным (42 мкТл) и коллинеарным ему очень слабым переменным низкочастотным (1 Гц, 600 нТл; 4,4 Гц, 100 нТл; 16,5 Гц, 160 нТл) магнитными полями на гепаринизированную и разбавленную фосфатным буфером венозную кровь человека при физиологических температурах вызывает резкое 3–4-кратное усиление ее хемилюминесценции после добавки люминола.

*Ключевые слова:* магнитное поле, кровь, хемилюминесценция.

Влияние, которое оказывают слабые магнитные поля (СМП) на процессы в живых организмах, является предметом исследований, не прекращающихся в течение многих лет [1–4]. Это представляет как теоретический, так и практический интерес, связанный с чувствительностью многих людей к действию магнитных бурь [5], и с тем, что все мы подвергаемся электромагнитному облучению все возрастающим количеством приборов и бытовой техники. Отсутствие единого объяснения является естественным следствием сложности объекта – живого организма, а также многообразия возможных биофизических механизмов действия СМП [3]. К настоящему времени достигнут определенный прогресс в исследованиях эффектов и механизмов действия слабых и крайне слабых постоянных и переменных магнитных полей с параметрами, соответствующими диапазону естественных (геомагнитных) и искусственных (техногенных) магнитных полей – нано- и микротесловые интенсивности и низкие частоты (единицы, десятки и сотни герц) [4,6,7].

Разработаны теоретические модели механизмов действия СМП [6–8], в которых определены наиболее вероятные первичные мишени их действия (магнитные моменты ядер биологически важных атомов; магнитные диполи электронных спинов, носителями которых являются парамагнитные молекулы, например,

кислород, радикалы и ион-радикалы). Сделан прогноз биологически активных параметров поля, определены вероятные пути трансдукции от первичных мишеней к эффекторным молекулам, которые, как и в случае для более сильных полей, могут являться активными формами кислорода (АФК), перекисями и пероксирадикалами [7].

Характер ряда биологических эффектов СМП, регистрируемых в разных лабораториях, например стимуляция-ингибирование регенераторных процессов у планарий [9–12] или противоопухолевое действие [13,14], ясно указывает на возможность участия АФК в их реализации. Недавние экспериментальные данные, полученные в опытах по регенерации хвоста у головастика [15], показывают, что регенераторный процесс сопровождается повышением содержания перекиси водорода и близких ей АФК в клетках регенерирующей ткани, при этом ингибирование образования перекиси химическими и генетическими методами нарушает регенерацию. О положительной роли АФК для организма млекопитающих при лечении злокачественных новообразований свидетельствуют данные, систематизированные в работе [16], об индукции АФК при действии практически всех из известных эффективных физических и химических противоопухолевых агентов, и устранении их эффектов при совместном использовании с антиоксидантами. Напротив, чрезмерная активация свободнорадикальных процессов вызывает окислительный стресс [17], оказывает

Сокращения: СМП – слабые магнитные поля, АФК – активные формы кислорода.

повреждающее действие на живые клетки и ткани, что особенно выражено в условиях недостатка антиоксидантных систем. Это лежит в основе развития ряда патологических состояний (воспаление, гипоксическое повреждение, атеросклероз, многие виды интоксикаций) и целого ряда наиболее тяжело протекающих болезней человека и животных (нейродегенеративных, сердечно-сосудистых, гормональных нарушений, многих иммунных заболеваний и др.) [18].

Данная работа направлена на экспериментальный анализ возможности генерации свободных радикалов кровью млекопитающих при действии комбинированных магнитных полей с крайне слабой переменной низкочастотной компонентой. В работе использован метод хемилюминесценции, предложенный Ю.А. Владимировым с соавторами [18] для определения радикалов и других АФК в крови млекопитающих – человека и лабораторных животных, основанный на регистрации хемилюминесценции в присутствии химических активаторов, в данном случае люминола. Это исследование является важным для более полного выяснения механизма биологического действия СМП и определения возможностей этого физического фактора для управления состоянием биообъекта.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для исследований использовали свежие образцы венозной крови из кубитальной вены от практически здоровых доноров с гепарином в качестве антикоагулянта. Кровь разводили в фосфатном буфере (147 мМ NaCl, 10 мМ Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 5 мМ KCl, pH 7,4). Для опытов готовили образцы следующего состава и объема: 200 мкл фосфатного буфера, 25 мкл гепаринизированной (20 М.Е. на 1 мл) крови, предварительно разведенной в соотношении 1:3. Образцы инкубировали при 37°C в плоскодонных цилиндрических кварцевых пробирках, закрытых парафильмом, в которых затем проводили регистрацию хемилюминесценции. Типичное время инкубации составляло 1 ч.

Образцы контрольных групп находились в локальном геомагнитном поле с постоянной составляющей ~ 42 мкТл и уровнем магнитного фона на частоте 50 Гц в 15–50 нТл, соответствующем этим показателям в экспериментальных группах, за исключением заданной искусственно переменной компоненты поля.

Установка для воздействия СМП состояла из двух пар коаксиально расположенных колец Гельмгольца диаметром 140 см, ориентирован-

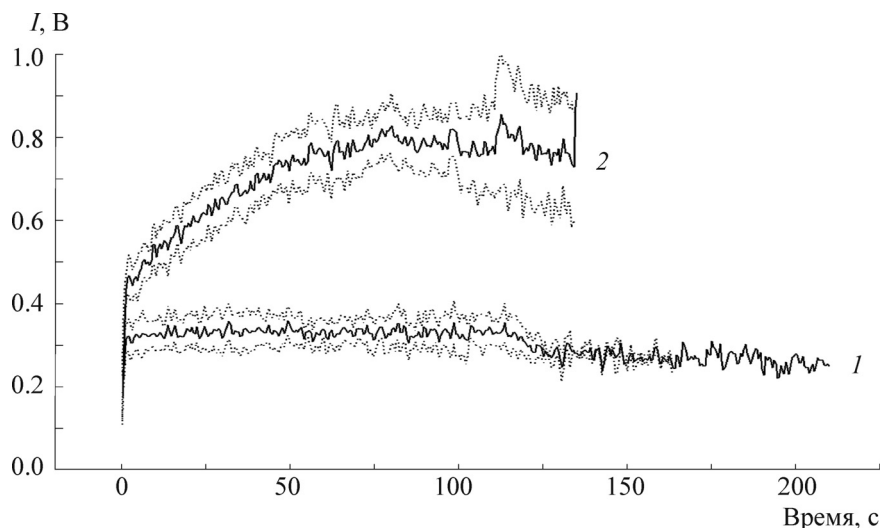
ных вдоль вектора геомагнитного поля. На одну пару колец подавали постоянный ток для формирования заданной величины постоянной составляющей магнитного поля  $42 \pm 0,1$  мкТл. На вторую пару колец подавали электрический ток от генератора синусоидальных сигналов для формирования переменной компоненты поля. Амплитуда переменной компоненты составляла  $860 \pm 10$  нТл. В опытах был использован трехчастотный сигнал 1,0; 4,4 и 16,5 Гц, показавший наибольшую активность в предыдущих опытах [13], с амплитудами отдельных частот 600, 100 и 160 нТл соответственно. Величины действующих магнитных полей определяли прямым измерением с помощью феррозондового датчика Mag-03 MS 100 (Bartington, Великобритания).

После часовой инкубации измеряли интенсивность хемилюминесценции в контрольных и опытных образцах крови после добавки в них 10 мкл  $10^{-2}$  М раствора люминола (Sigma, США). В работе использован хемилюминометр Lum-5773, измеряющий интенсивность света, возникающего в биологических образцах. Значения интенсивности свечения соответствовали световому потоку, т.е. количеству фотонов в единицу времени. При этом  $1 \text{ мВ} \approx 1 \text{ фотон/с}$ . Полученные данные обработаны с помощью программы Statistica 6.0. Результаты статистически обработаны с применением *t*-критерия Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как видно из рис. 1, часовая обработка разбавленной фосфатным буфером венозной крови человека вызывает резкую активацию хемилюминесценции образца после добавки в него люминола. Подобный эффект отсутствует в контрольных образцах. Следует отметить, что выраженность и проявляемость эффекта существенно не зависят от пола донора крови (рис. 1 и 2). Представленные результаты, полученные в опытах *in vitro*, однозначно свидетельствуют о реакции крови млекопитающих на воздействие слабыми магнитными полями с переменной низкочастотной компонентой менее 1 мкТл.

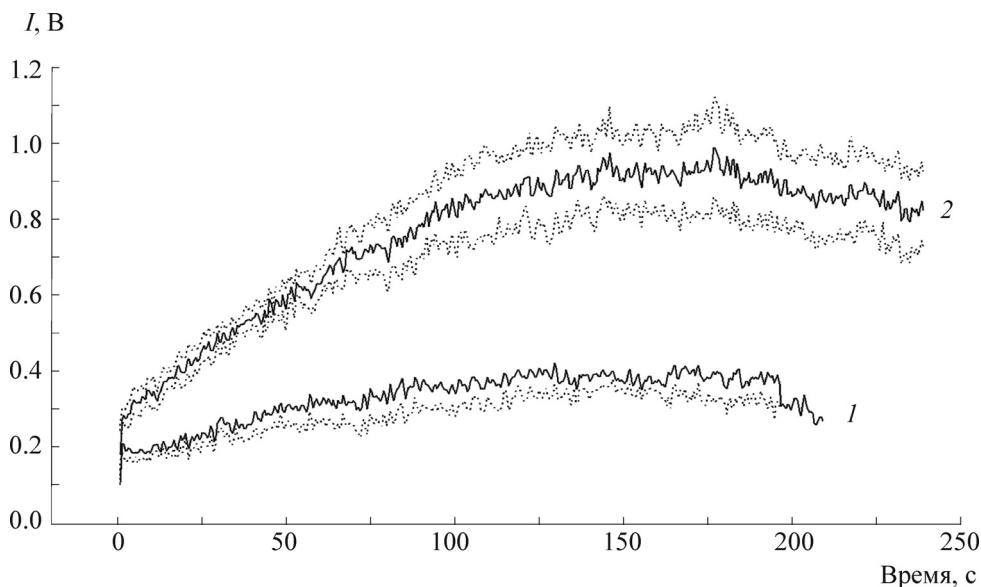
Участие свободных радикалов и других активных форм кислорода в эффектах сильных магнитных и электромагнитных полей с индукцией магнитной компоненты свыше 100 мкТл обосновано с позиций спиновой химии [3,19]. Разрабатываются подходы к обоснованию биологических эффектов и более слабых полей с амплитудами, сравнимыми и меньшими, чем геомагнитное поле (50 мкТл) [7,8], содержащих крайне слабую низкочастотную компоненту.



**Рис. 1.** Влияние слабых магнитных полей (постоянное магнитное поле 42 мкТл; переменное магнитное поле 16,5 Гц, 160 нТл; 4,4 Гц, 100 нТл; 1 Гц, 600 нТл) на хемилюминесценцию венозной крови донора мужчины при добавлении люминола. Контрольные (1) и опытные (2) образцы инкубировали 60 мин при 37°C, забор крови был произведен за сутки до начала эксперимента. Пунктирными линиями обозначены стандартные отклонения. По оси абсцисс – время в секундах ( $t$ , с) с момента введения люминола; по оси ординат – интенсивность хемилюминесценции ( $I$ , В), где 1000 фотон/с = 1 В.

Известно, что в нормальных условиях кислород находится в основном в триплетном состоянии [17]. Для реализации зарегистрированных нами эффектов (генерация АФК) требуется синглетный кислород, который может быть получен при действии СМП на магнитные моменты протонов в аквакомплексах среды и их организующем влиянии на систему электронных спинов в ходе реакции радикалов с молекулами кислорода [7]. Этот описанный ранее теорети-

чески процесс, по-видимому, может являться источником необходимой энергии для перехода между триплетным и синглетным состояниями реакционного комплекса, в частности, в компонентах крови млекопитающих, что хорошо согласуется с полученными в данной работе экспериментальными данными, как по направленности процессов (стимуляция производства АФК), так и по величинам частот и амплитуд переменной компоненты поля (эффективные



**Рис. 2.** Влияние слабых магнитных полей (постоянное магнитное поле 42 мкТл; переменное магнитное поле 16,5 Гц, 160 нТл; 4,4 Гц, 100 нТл; 1 Гц, 600 нТл) на хемилюминесценцию венозной крови донора женщины при добавлении люминола. Обозначения соответствуют приведенным на рис. 1.

экспериментально величины магнитных полей соответствуют теоретически прогнозируемым). При рассмотрении механизма влияния СМП на кровь млекопитающих следует учесть, что дезоксигемоглобин эритроцитов периферической венозной крови является магниточувствительным [20,21]. При окислении гемоглобина его магнитные свойства утрачиваются (оксигемоглобин диамагнитен). По-видимому, парамагнетизм гемоглобина и кислорода могут определять чувствительность крови к действию СМП с амплитудой переменной компоненты  $\sim 1$  мкТл. Вероятно, СМП оказывает влияние на ход реакции гемоглобина с кислородом и/или перекисями, что обуславливает генерацию свободных радикалов и усиление хемилюминесценции. В этой связи важно отметить, что обнаруженные нами эффекты СМП зарегистрированы именно в венозной периферической крови. В настоящий момент неизвестно, какие компоненты крови (клетки, плазма) млекопитающих являются источником усиления свечения при действии СМП. Работы по выяснению биофизического механизма обнаруженного эффекта СМП продолжаются.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований и Правительства Московской области № 14-44-03676р\_центр\_а.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. A. R. Liboff, *J. Biol. Phys.* **13**, 99 (1985).
2. V. V. Lednev, *Bioelectromagnetics* **12**, 71 (1991).
3. В. Н. Бинги, *Принципы электромагнитной биофизики* (Изд-во Физматлит, М., 2011).
4. В. В. Новиков, В. О. Пономарев, Г. В. Новиков и др., *Биофизика* **55** (4), 631 (2010).
5. N. G. Kleimenova, O. V. Kozyreva, T. K. Breus, and S. I. Rapoport, *Biophysics* **52**, 625 (2007).
6. В. В. Леднев, в сб. «*Моделирование геофизических процессов*» (Объединенный институт физики Земли им. О. Ю. Шмидта, 2003), сс. 130–136.
7. В. О. Пономарев и В. В. Новиков, *Биофизика* **54**, 235 (2009).
8. В. О. Пономарев, В. В. Новиков, А. В. Карнаухов и О. А. Пономарев, *Биофизика* **53**, 197 (2008).
9. V. V. Novikov, I. M. Sheiman, and E. E. Fesenko, *Bioelectromagnetics* **29**, 387 (2008).
10. Н. А. Белова, А. М. Ермаков, А. В. Знобищева и др., *Биофизика* **55** (4), 704 (2010).
11. L. W. E. Tessaro and M. A. Persinger, *Bioelectromagnetics* **34**, 613 (2013).
12. X. П. Тирас, А. Н. Скавуляк, К. Б. Асланиди и Г. Р. Иваницкий, *Докл. РАН* **443** (6), 1 (2012).
13. V. V. Novikov, G. V. Novikov, and E. E. Fesenko, *Bioelectromagnetics* **30**, 343 (2009).
14. J. H. Hu, I. S. St-Pierre, C. A. Buckner, et al., *Int. J. Radiat. Biol.* **86**, 79 (2010).
15. N. R. Love, Y. Chen, S. Ishibashi, et al., *Nat. Cell Biol.* **15**, 222 (2013).
16. J. Watson, *Open Biol.* **3**, 120144 (2013).
17. Н. К. Зенков, В. З. Ланкин и Е. Б. Меньщикова, *Окислительный стресс: биохимический и патофизиологический аспекты* (Наука/Интерпериодика, М., 2001).
18. Ю. А. Владимиров и Е. В. Проскурина, *Успехи биол. наук* **49**, 341 (2009).
19. А. Л. Бучаченко, *Успехи химии* **83** (1), 1 (2014).
20. Л. А. Блюменфельд, *Гемоглобин и обратимое присоединение кислорода* (Сов. Наука, М., 1957).
21. Л. А. Блюменфельд, *Сор. образ. журн.*, № 4, 33 (1998).

## **Action of Combined Magnetic Fields with a Very Weak Low-frequency Alternating Component on Luminol-dependent Chemiluminescence in Mammalian Blood**

**V.V. Novikov, E.V. Yablokova, and E.E. Fesenko**

*Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

It is shown that the exposure of heparinized venous human blood diluted in phosphate buffer saline to extremely weak alternating magnetic fields of the ultralow-frequency (1 Hz, 600 nT; 4.4 Hz, 100 nT; 16.5 Hz, 160 nT) in combination with a collinear static magnetic field of 42  $\mu$ T at physiological temperatures, causes a sharp 3–4 fold increase in its chemiluminescence after addition of luminol.

*Key words: magnetic field, blood, chemiluminescence*