

## ВЛИЯНИЕ ПОСТОЯННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА КОМПОНЕНТЫ БЕЛКОВЫХ СТРУКТУР КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

© 2017 г. В.Н. Казин, Е.А. Гузов, Е.М. Плисс, В.А. Мошарева, В.В. Макарьин\*,  
Н.Ю. Левшин\*\*, А.А. Баранов\*\*

*Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, 150003, Ярославль, ул. Советская, 14*

*E-mail: kaz@bio.uniyar.ac.ru*

*\*Ярославский государственный технический университет, 150023, Ярославль, Московский просп., 88*

*E-mail: vfak@yandex.ru*

*\*\*Ярославский государственный медицинский университет, 150000, Ярославль, ул. Революционная, 5*

*E-mail: levshin\_nikolaiy@mail.ru*

Поступила в редакцию 16.02.17 г.

После доработки 22.05.17 г.

Проведено исследование влияния постоянного магнитного поля на компоненты белковых структур крови человека методами электронной спектроскопии, оптической агрегатометрии и электрофореза на агарозном геле. Отмечено, что первичное воздействие постоянного магнитного поля принимают на себя белковые структуры различной локализации. В результате меняется суммарный заряд, форма и линейные размеры молекул, частота вращения звеньев вокруг валентных связей, что приводит к изменениям в пространственной структуре белковых компонентов крови. В качестве рабочей гипотезы предположено, что в основе этих изменений лежит возрастание под воздействием магнитного поля интенсивности процессов окисления и, следовательно, увеличение негативной активности кислородных метаболитов.

*Ключевые слова: магнитное поле, компоненты крови, агрегация тромбоцитов, электрофорез, электронная спектроскопия, пространственная структура белков.*

Воздействие физических полей на биологические системы является объектом изучения нескольких смежных научных областей от биофизики и биохимии молекул до физики полей, экологии и медицины [1,2]. В последние годы существенного развития достигла новая область знания – магнитобиология – раздел биофизики, изучающий влияние внешних магнитных полей (МП) на живые системы [3–9]. Магнитные и электромагнитные поля способны влиять на процессы, происходящие на многих иерархических уровнях организма, начиная от наноуровня (атомы, молекулы) и микроуровня (клетки), до макроуровня – систем человеческого организма и всего организма в целом. Макроскопические эффекты должны проявляться в процессах с участием крупных частиц (микросталлов, митохондрий, мембран) и могут быть значимы лишь в сильных и долговременных магнитных полях. Поэтому их вклад в магнитобиологию реализуется как суперпозиция многих эффектов, механизм действия которых не всегда можно

однозначно определить [6–8]. Гораздо более понятна магнитная зависимость биосистем на уровне элементарных молекулярно-химических процессов, в которых рождаются или участвуют спиновые носители – радикалы, ион-радикалы, парамагнитные частицы. Неспаренные электроны в них являются носителями спинового магнетизма, именно они взаимодействуют с магнитными полями – постоянными и переменными [6–9]. Очевидно, что влияние МП на биологические системы зависит от уровня их организации, и это влияние нельзя описывать только как сумму элементарных эффектов на атомном, молекулярном или клеточном уровне [10,11].

Подчеркнем, что если изучению влияния магнитного поля на элементарные химические и биохимические реакции уделяется достаточно много внимания [6–9,12–14], то систематические исследования механизмов влияния МП на уровне макросистем организма не проводились, подобные исследования ограничиваются отдельными публикациями [15–20].

В некоторых работах, посвященных изучению процессов агрегации в суспензиях биоло-

Сокращения: МП – магнитное поле, АДФ – аденозиндифосфат.

гических макромолекул и в крови под действием внешних магнитных полей, обсуждаются возможные механизмы наблюдаемых явлений. Предполагается [16,18], что в механизме влияния магнитного поля на процессы агрегации может быть выделена следующая цепь событий: ориентация макромолекул или их участков во внешнем постоянном поле, конформационные изменения молекулы, изменение свойств поверхностей агрегирующих частиц. В методической публикации [18] показано, что воздействие электромагнитного поля на растворы альбумина приводит к изменениям пространственной структуры макромолекулы. Под влиянием слабых постоянных полей (с индукцией 30–50 мкТл) и низкочастотных переменных магнитных полей (частота 1–10 Гц, индукция 10–100 нТл) происходят изменения ее функциональной активности, которые могут быть связаны с обратимыми изменениями в третичной структуре белка.

Представление о характере функциональной активности тромбоцитов дает исследование с применением различных биологических стимуляторов (индукторов): аденозиндифосфата (АДФ) в различных концентрациях, ритомидина, коллагена, адреналина, арахидоновой кислоты, тромбина (активных пептидов тромбина), серотонина и др. [17]. Исследование с АДФ наиболее полно отражает агрегационную активность тромбоцитов в целом, тогда как исследование с другими индукторами служит для выявления врожденной патологии тромбоцитов, эффективности применения антиагрегантов (аспирина и др.). С помощью исследования агрегации тромбоцитов под действием АДФ в клинической медицине диагностируется так называемое «гиперагрегационное состояние», чреватое развитием тромбоза в артериях живого организма, с помощью данного метода можно также обнаружить и снижение агрегационной активности тромбоцитов, например, при внешних воздействиях (приеме лекарственных препаратов и др.).

Особый интерес представляет изучение биологического действия магнитного поля на агрегацию тромбоцитов, так как именно образование тромбов после активации тромбоцитов является ключевым патогенетическим процессом развития инфаркта миокарда, ишемического инсульта и других сосудистых катастроф, что в свою очередь служит ведущей причиной инвалидизации и смертности населения во всем мире. В случае подавления активности тромбоцитов (эффект, противоположный активации) может, напротив, возникать повышенная кро-

воточивость и несостоятельность сосудистой стенки.

Авторами немногочисленных работ по данной проблематике получены противоречивые данные. Результаты работы [19] свидетельствуют о снижении значений параметров агрегации тромбоцитов в интервале магнитной индукции от 1,6 до 65 мТл. Теми же авторами отмечен [20] значительный рост агрегации тромбоцитов под действием МП, при этом существенно изменялись такие параметры, как степень и скорость агрегации. В обоих случаях подтверждено, что тромбоциты являются мишенью магнитных полей, а механизм воздействия остается неизученным. Очевидно, что необходимо комплексное изучение действия МП на гомеостаз крови человека.

Одним из этапов подобного исследования должно стать выявление характера влияния постоянного магнитного поля на различные компоненты белковых структур крови человека, что и явилось целью настоящей работы.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлись компоненты крови человека. На базе клинико-диагностической лаборатории Центра изучения тромбозов и аутоиммунных заболеваний Ярославского государственного медицинского университета у клинически здоровых испытуемых в возрасте от 19 до 23 лет проводился забор венозной крови объемом 30 мл. Уровень тромбоцитов в крови испытуемых находился в интервале  $(200-220) \cdot 10^9$  клеток/дм<sup>3</sup>. Кровь забирала в вакуумные пробирки с 3,8%-м раствором цитрата натрия (антикоагулянт, в присутствии которого связываются ионы кальция и кровь теряет возможность свертывания). Затем проводили двойное центрифугирование цитратной цельной крови. После первого центрифугирования отделялась обогащенная тромбоцитами плазма. Оставшуюся часть крови повторно центрифугировали (1000 g, 15 мин) и отбирали бедную тромбоцитами плазму. Пробы анализировали в трех повторностях, в каждой повторности по два измерения.

Обогащенную тромбоцитами плазму каждого испытуемого делили на две пробы. В одной из них определяли исходную агрегационную активность тромбоцитов, индуцированную АДФ. Другую пробу помещали в постоянное магнитное поле и определяли агрегационную активность тромбоцитов после воздействия.

На двухканальном оптическом агрегометре (CHRONO-LOG 490-2/4D, США) записывали

агрегатограммы богатой тромбоцитами плазмы крови турбидиметрическим методом. Метод основан на регистрации изменения светопропускания в суспензии тромбоцитов по мере формирования тромбоцитарных агрегатов после активации тромбоцитов. Бедная тромбоцитами плазма служила для калибровки прибора. В богатую тромбоцитами плазму вносили индуктор агрегации – раствор динатриевой соли АДФ с концентрацией 2,5 мкМ. После добавления АДФ в богатую тромбоцитами плазму начинается изменение ее оптических свойств, что и регистрирует агрегометр. Концентрации АДФ, равная 2,5 мкМ, была выбрана исходя из результатов предварительных записей агрегации тромбоцитов. Непосредственным механизмом влияния АДФ на тромбоциты является активирующее воздействие его на соответствующие рецепторы тромбоцитарной (P2Y1, P2Y12, P2X1) мембраны. В свою очередь, это приводит к экспрессии и активации рецептора GPIIb/IIIa на поверхности тромбоцитов. Данный рецептор определяет непосредственную агрегационную активность тромбоцитов (скорость и выраженность их связи друг с другом).

Воздействие магнитного поля создавалось с помощью установки, представляющей собой четыре пластинчатых магнита, между которыми помещались исследуемые образцы. Конструкция установки обеспечивала однородное магнитное поле с индукцией в диапазоне от 0,010 до 0,095 Тл между полюсами. Биологический эффект постоянного магнитного поля зависит от величины магнитной индукции и времени воздействия. Предельно допустимые величины нормируемых параметров постоянных магнитных полей для условий общего и локального воздействия находятся в интервале от 0,01 до 0,05 Тл [10]. Для обнаружения биологических эффектов действия магнитного поля выбрано значение индукции 0,095 Тл, превышающее почти в два раза допустимые значения санитарных норм и правил.

Электронные спектры поглощения образцов плазмы и цельной крови до и после воздействия МП записаны на спектрофотометре ПЭ-5400УФ в интервале длин волн 190–1000 нм. Плазму крови получали центрифугированием цельной крови (3000 об/мин, 15 мин). В качестве образца сравнения выступал физиологический раствор (0,9%-й водный раствор хлорида натрия). Кратность разбавления плазмы крови 1 : 1200, цельной крови – 1 : 2400. Время экспозиции магнитного поля варьировалось от 15 до 60 мин.

Методом электрофореза на агарозном геле изучено распределение белковых фракций плазмы крови. У испытуемых отбирали 10 мл крови

в вакуумную пробирку с 3,8%-м цитратом натрия. Бедную тромбоцитами плазму получали центрифугированием цельной крови (1000 g, время 15 мин). Полученную плазму разделяли на две пробы. Первая была контрольной, вторую помещали на 5 мин в постоянное магнитное поле (0,095 Тл). Воздействие магнитного поля на исследуемые образцы проводили с помощью установки, описанной выше. Далее осуществляли электрофоретическое разделение белковых фракций плазмы (система CORMAY DS-2, включающая денситометр, блок питания ZE-3p, камеру S-20 для разгонки белков и набор агарозных пластинок GEL PROTEIN 100). По результатам электрофореза рассчитывали индексы относительной электрофоретической подвижности и относительную концентрацию отдельных фракций плазмы крови.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На спектрах поглощения образцов плазмы крови отмечены два максимума: первый ( $\lambda = 202$  нм) представляет собой интенсивную полосу, второй ( $\lambda = 276$  нм) – слабовыраженную. Первый максимум в спектре поглощения в большей степени обусловлен наличием в белковых структурах остатков тирозина, фенилаланина, и в меньшей степени – остатков триптофана. Подобные фрагменты характеризуются максимумом поглощения в коротковолновой части спектра (200–220 нм). Кроме того, в коротковолновой области спектра располагаются полосы поглощения, характерные для пептидной связи,  $\alpha$ -спирали пептидной цепи, дисульфидных связей, остатков цистина и др. [21].

Произведена оценка изменения интенсивности полосы поглощения в УФ-спектрах образцов плазмы крови в зависимости от времени воздействия МП для следующих экспозиций: 0, 15, 30, 45 и 60 мин. Наблюдаются достоверные различия между средними величинами абсорбции до и после воздействия магнитного поля ( $\lambda_{\max} = 202$  нм, рисунок).

По истечении 60 мин эксперимента для образцов плазмы крови, находящихся вне действия магнитного поля, вновь записывали УФ-спектры. Величина абсорбции при  $\lambda_{\max} = 202$  нм составила  $1,161 \pm 0,007$ , что свидетельствует об отсутствии достоверных отличий от значений в начале точки эксперимента ( $1,152 \pm 0,010$ ). Следовательно, изменение величин абсорбции в экспонированных пробах связано с действием магнитного поля на образцы плазмы крови, а не с фактором времени.

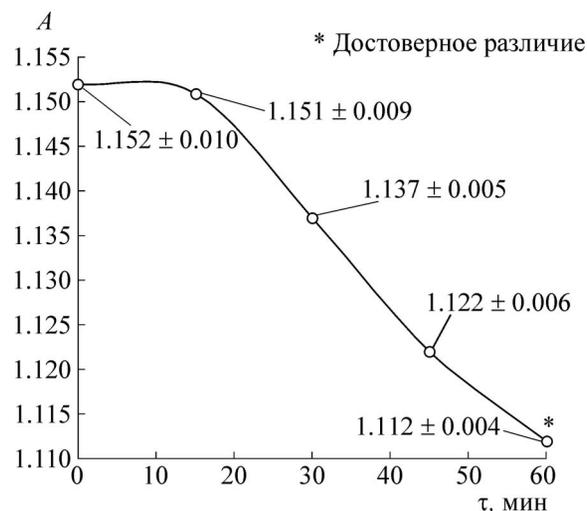
По мнению авторов работы [21], обнаруженная закономерность в ультрафиолетовых спектрах связана со сменой конформации белковых структур, а именно с изменением формы и линейных размеров молекул, а также вращением звеньев вокруг валентных связей.

Методом электрофореза плазмы крови выделены пять основных белковых фракций – альбумин,  $\alpha 1$ -,  $\alpha 2$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -глобулины – и вычислены индексы электрофоретической подвижности белковых зон до и после воздействия МП (табл. 1).

Отмечено, что значения индексов относительной электрофоретической подвижности после воздействия МП на образцы плазмы по отношению к контролю достоверно изменяются для фракции альбумина. Среди представленных фракций альбумины являются низкомолекулярными белками (молекулярная масса примерно 65000 Да). Под действием МП можно выделить снижение относительной электрофоретической подвижности для высокомолекулярных фракций  $\beta$ - и  $\gamma$ -глобулинов, хотя эффект слабо выражен в связи с разветвленной пространственной структурой и с естественной низкой подвижностью молекул в агарозном геле. Распределение белковых фракций зависит от массы молекулы и ее электрических свойств. Электрические свойства белков определяются присутствием положительно и отрицательно заряженных аминокислотных остатков. Наличие заряженных фрагментов белка определяет суммарный заряд белковой молекулы. Под действием магнитного поля меняется суммарный заряд молекул и, как следствие, пространственная структура белка. Изменение геометрии для разветвленных полипептидов, наряду с суммарным зарядом, влияет на снижение или увеличение электрофоретической подвижности.

Величины относительных концентраций белковых фракций плазмы человека до и после воздействия магнитного поля представлены в табл. 2. Относительные концентрации белков были определены спектрофотометрически.

Для оценки биологического эффекта действия магнитного поля на плазму крови использовали альбумин-глобулиновый коэффициент, который является интегральным показателем. Он определяет отношение количества альбуминов к количеству глобулинов в биологических жидкостях. Как видно из табл. 2, в присутствии магнитного поля наблюдаются неоднозначные изменения этого коэффициента за счет биологического эффекта, возникающего при действии МП на плазму крови разных испытуемых. Варьирование концентраций между белковыми



Зависимость изменения величины абсорбции образцов плазмы крови от времени воздействия магнитного поля ( $\lambda_{\max} = 202$  нм); \* – достоверное различие.

фракциями в образцах плазмы крови до и после воздействия магнитного поля связано с изменением значений абсорбции разделенных зон, что непосредственно привело к изменению концентрации. Полученные результаты напрямую согласуются с приведенными ранее данными по УФ-спектроскопии и являются дополнительной информацией о степени влияния МП на каждую фракцию отдельно.

Более сложным объектом для дополнительного исследования влияния магнитного поля на живые системы служит цельная кровь, которая на протяжении десятков лет является интегральной диагностической характеристикой состояния организма человека. В электронных спектрах образцов цельной крови, не подвергшихся воздействию МП, нами зарегистрированы шесть полос поглощения – на длинах волн 201, 272, 342, 415, 541 и 576 нм. Первые две полосы соответствуют максимумам, отмеченным в спектре поглощения плазмы крови. Остальные максимумы поглощения относятся к форменным элементам крови, в основном эритроцитам. Известно [22], что производные гемоглобина имеют максимумы поглощения в интервале от 400 до 600 нм. По характеру пиков и их расположению в экспериментальном спектре (в соответствии с работой [22]) нами определен оксигемоглобин ( $\text{HbO}_2$ ), который характеризуется тремя полосами поглощения в видимой области спектра – 414 нм (полоса Сорре), 540 и 576 нм.

В электронных спектрах образцов цельной крови человека после воздействия МП (60 мин), как и в случае плазмы, отмечено достоверное

**Таблица 1.** Средние значения индексов относительной электрофоретической подвижности фракций плазмы крови до и после воздействия магнитного поля

№ пробы		Средние значения индексов относительной электрофоретической подвижности фракций плазмы крови				
		альбумин	$\alpha$ 1-глобулины	$\alpha$ 2-глобулины	$\beta$ -глобулины	$\gamma$ -глобулины
1	До воздействия	0,81 ± 0,03	0,66 ± 0,03	0,47 ± 0,03	0,34 ± 0,03	0,22 ± 0,03
	После воздействия	0,73 ± 0,02	0,64 ± 0,03	0,50 ± 0,02	0,25 ± 0,02	0,07 ± 0,02
	Изменение, %	-9,88	-3,03	+6,38	-26,47	-68,18
2	До воздействия	0,77 ± 0,02	0,63 ± 0,03	0,45 ± 0,02	0,26 ± 0,03	0,06 ± 0,01
	После воздействия	0,84 ± 0,01	0,70 ± 0,03	0,41 ± 0,02	0,23 ± 0,03	0,05 ± 0,01
	Изменение, %	+9,09	+11,11	-8,89	-11,54	-16,67
3	До воздействия	0,72 ± 0,01	0,57 ± 0,02	0,42 ± 0,02	0,25 ± 0,03	0,03 ± 0,01
	После воздействия	0,86 ± 0,03	0,66 ± 0,03	0,41 ± 0,03	0,22 ± 0,03	0,02 ± 0,01
	Изменение, %	+19,44	+15,79	-2,38	-12,00	-33,33
4	До воздействия	0,82 ± 0,02	0,65 ± 0,02	0,43 ± 0,03	0,26 ± 0,03	0,15 ± 0,02
	После воздействия	0,75 ± 0,02	0,62 ± 0,03	0,41 ± 0,03	0,19 ± 0,03	0,05 ± 0,03
	Изменение, %	-8,54	-4,62	-4,65	-26,92	-66,67
5	До воздействия	0,86 ± 0,02	0,64 ± 0,03	0,40 ± 0,03	0,28 ± 0,03	0,16 ± 0,02
	После воздействия	0,74 ± 0,02	0,60 ± 0,02	0,39 ± 0,02	0,21 ± 0,03	0,10 ± 0,02
	Изменение, %	-14,00	-6,25	-2,50	-25,00	-37,5

снижение значений абсорбции (гипохромный эффект) для всех максимумов поглощения (приведены значение абсорбции без МП/значение абсорбции в присутствии МП):  $\lambda = 201$  нм ( $A = 0,800 \pm 0,011/0,760 \pm 0,016$ );  $\lambda = 272$  нм ( $A = 0,290 \pm 0,008/0,270 \pm 0,007$ );  $\lambda = 342$  нм ( $A = 0,260 \pm 0,005/0,240 \pm 0,007$ );  $\lambda = 415$  нм ( $A = 0,440 \pm 0,023/0,400 \pm 0,003$ );  $\lambda = 541$  нм ( $A =$

**Таблица 2.** Относительные концентрации белковых фракций плазмы крови человека до и после воздействия магнитного поля

№ пробы		Альбумин, %	$\alpha$ 1-Глобулины, %	$\alpha$ 2-Глобулины, %	$\beta$ -Глобулины, %	$\gamma$ -Глобулины, %	Альбумин-глобулиновый коэффициент
1	До воздействия	59,59 ± 1,02	7,19 ± 0,19	10,04 ± 0,42	11,46 ± 0,11	11,77 ± 0,25	1,47 ± 0,04
	После воздействия	64,02 ± 1,34	4,78 ± 0,12	8,87 ± 0,33	10,74 ± 0,12	11,58 ± 0,39	1,78 ± 0,07
	Изменение, %	+4,43	-2,41	-1,17	-0,72	-0,19	+0,31
2	До воздействия	65,63 ± 1,21	3,26 ± 0,10	7,21 ± 0,23	10,04 ± 0,15	13,87 ± 0,35	1,91 ± 0,03
	После воздействия	59,78 ± 0,99	5,63 ± 0,17	10,00 ± 0,34	10,47 ± 0,11	14,12 ± 0,18	1,51 ± 0,05
	Изменение, %	-5,85	+2,37	+2,79	+0,43	+0,25	-0,40
3	До воздействия	50,68 ± 1,11	5,43 ± 0,21	8,24 ± 0,12	13,03 ± 0,19	22,61 ± 0,25	1,03 ± 0,04
	После воздействия	55,16 ± 1,09	4,82 ± 0,15	8,00 ± 0,19	11,64 ± 0,24	20,38 ± 0,33	1,23 ± 0,02
	Изменение, %	+4,48	-0,61	-0,24	-1,39	-2,23	+0,20
4	До воздействия	60,13 ± 1,01	9,31 ± 0,45	7,06 ± 0,27	9,22 ± 0,32	14,28 ± 0,31	1,51 ± 0,03
	После воздействия	60,26 ± 1,10	9,81 ± 0,29	13,96 ± 0,29	5,23 ± 0,16	10,74 ± 0,36	1,52 ± 0,05
	Изменение, %	+0,13	+0,50	+6,90	-3,99	-3,54	-
5	До воздействия	62,42 ± 1,27	7,00 ± 0,28	6,40 ± 0,09	12,57 ± 0,13	11,61 ± 0,29	1,66 ± 0,05
	После воздействия	62,51 ± 1,13	7,96 ± 0,13	6,71 ± 0,14	12,77 ± 0,22	10,06 ± 0,32	1,67 ± 0,06
	Изменение, %	+0,09	+0,96	+0,31	+0,20	-1,55	-

**Таблица 3.** Средние значения скорости оседания эритроцитов до и после воздействия магнитного поля

№ пробы	Средние значения скорости оседания эритроцитов, мм/ч		Изменение, %
	до воздействия МП	после воздействия МП	
1	8 ± 0,57	6 ± 0,57	-25
2	22 ± 1,00	14 ± 0,57	-36
3	8 ± 0,57	5 ± 0,57	-37
4	6 ± 0,57	4 ± 0,57	-33
5	6 ± 0,57	4 ± 0,57	-33

0,270 ± 0,010/0,250 ± 0,006);  $\lambda = 576$  нм ( $A = 0,270 \pm 0,010/0,250 \pm 0,006$ ). Отмеченный эффект позволяет сделать вывод об изменении конформационного состояния без других структурных изменений, таких как гемолиз [23].

Изучение скорости оседания эритроцитов дает дополнительную информацию о биологическом действии магнитного поля на форменные элементы крови [24]. Нами установлено (табл. 3), что в присутствии магнитного поля происходит снижение значений скорости оседания эритроцитов в среднем на 33% по отношению к контрольному образцу.

Скорость оседания эритроцитов определяется степенью агрегации. Поверхность мембран эритроцитов обладает отрицательным зарядом, который препятствует агрегации из-за возникающих сил кулоновского взаимодействия. Следовательно, можно предположить, что под действием магнитного поля происходит изменение суммарного заряда белковых структур на поверхности мембраны эритроцита, что согласуется с ранее полученными данными по изучению плазмы крови методами электронной спектроскопии [21,25] и электрофореза [24].

Активность агрегации тромбоцитов, индуцированной АДФ, анализировали на основе агрегатограммы богатой тромбоцитами плазмы крови обследуемых лиц до и после воздействия магнитного поля. По характеру ответной реакции тромбоцитов можно выделить две разноплановые тенденции (табл. 4): степень агрегации после воздействия МП может как увеличиваться, так и уменьшаться.

В серии дополнительных исследований было изучено влияние фактора времени на агрегационную активность тромбоцитов. В отсутствие магнитного поля определена агрегационная активность тромбоцитов непосредственно после получения обогащенной тромбоцитами плазмы (контроль) и спустя 20 мин. Именно такое время требовалось для проведения эксперимента в присутствии магнитного поля. Существенных изменений в агрегационной активности тром-

боцитов не обнаружено: исходная агрегационная активность тромбоцитов сопоставима в трех независимых опытах и среднее значение составило 43,4%, а спустя 20 мин – 42,5%.

Таким образом, можно заключить, что отмеченные в работе изменения значений абсорбции плазмы и цельной крови, индексов относительной электрофоретической подвижности белковых зон, относительных концентраций белковых фракций плазмы крови, скорости оседания эритроцитов, агрегационной активности тромбоцитов связаны именно с влиянием магнитного поля на компоненты белковых структур крови человека.

Неочевидным фактом является то, что после воздействия магнитного поля на тромбоциты для всех образцов зарегистрированы близкие значения степени агрегации (от 60 до 65%), что требует более детального исследования отмеченного эффекта.

Как отмечалось выше, активность агрегации тромбоцитов, индуцированной АДФ, непосредственно зависит от двух типов рецепторов – АДФ-рецептора и GPIIb/IIIa-рецептора на мембране тромбоцита. На АДФ-рецептор непосредственно воздействует индуктор агрегации АДФ, приводя к дальнейшей активации клетки и экспрессии на ее поверхности второго рецептора GPIIb/IIIa, «готового» для участия во взаимодействии с другими тромбоцитами, т.е. формирования агрегатов. Лигандом для GPIIb/IIIa является молекула белка плазмы фибриногена, соединяющая данные рецепторы разных клеток между собой. Таким образом, резонно предположить, что МП может изменять состояние (конформацию, степень экспрессии на мембране) одного или обоих из означенных выше рецепторов, особенно GPIIb/IIIa, и в зависимости от характера изменения повышать или снижать активность тромбоцитов в целом.

Другим возможным объяснением выявленных колебаний активности тромбоцитов может быть влияние МП на белки плазмы, в том числе фибриноген, обильно циркулирующий в

**Таблица 4.** Влияние магнитного поля на параметры агрегации тромбоцитов в обогащенной тромбоцитами плазме

№	Параметр агрегации	Образец до воздействия МП	Образец после воздействия МП	Изменение, %
1	Степень агрегации ( $T_{\max}$ , %)	46 ± 2,58	63 ± 2,32	+17
	Скорость агрегации, ( $\Delta T\%$ в 1 мин)	71 ± 2,71	95 ± 3,47	+24
2	Степень агрегации ( $T_{\max}$ , %)	50 ± 2,56	63 ± 2,39	+13
	Скорость агрегации, ( $\Delta T\%$ в 1 мин)	77 ± 2,43	90 ± 2,78	+13
3	Степень агрегации ( $T_{\max}$ , %)	41 ± 2,55	64 ± 2,53	+23
	Скорость агрегации, ( $\Delta T\%$ в 1 мин)	73 ± 2,92	110 ± 2,99	+37
4	Степень агрегации ( $T_{\max}$ , %)	55 ± 2,52	64 ± 2,41	+9
	Скорость агрегации, ( $\Delta T\%$ в 1 мин)	82 ± 2,59	97 ± 3,17	+15
5	Степень агрегации ( $T_{\max}$ , %)	65 ± 2,12	73 ± 2,32	+8
	Скорость агрегации, ( $\Delta T\%$ в 1 мин)	104 ± 3,52	123 ± 3,22	+19
6	Степень агрегации ( $T_{\max}$ , %)	49 ± 1,82	63 ± 1,97	+14
	Скорость агрегации, ( $\Delta T\%$ в 1 мин)	73 ± 2,19	91 ± 2,62	+18
7	Степень агрегации ( $T_{\max}$ , %)	60 ± 2,02	53 ± 2,11	-7
	Скорость агрегации, ( $\Delta T\%$ в 1 мин)	99 ± 3,12	91 ± 2,12	-8
8	Степень агрегации ( $T_{\max}$ , %)	80 ± 2,50	62 ± 2,09	-18
	Скорость агрегации, ( $\Delta T\%$ в 1 мин)	101 ± 3,46	82 ± 2,56	-19
9	Степень агрегации ( $T_{\max}$ , %)	73 ± 2,39	60 ± 2,22	-13
	Скорость агрегации, ( $\Delta T\%$ в 1 мин)	106 ± 3,30	93 ± 2,79	-13
10	Степень агрегации ( $T_{\max}$ , %)	78 ± 2,52	65 ± 2,60	-13
	Скорость агрегации, ( $\Delta T\%$ в 1 мин)	110 ± 3,07	98 ± 3,21	-12

крови (в норме его концентрация в плазме составляет 2–4 г/л). Свидетельством такого изменения можно расценивать обнаруженный эффект МП на электрофоретическую подвижность белков. Изменение свойств молекулы фибриногена может приводить к изменению характера его связи с тромбоцитарным GPIIb/IIIa-рецептором и, как следствие, к изменению активности агрегации в целом.

Другие белки, помимо фибриногена, также могут оказывать влияние на состояние GPIIb/IIIa-рецептора, поэтому в основе обнаруженных явлений может лежать более сложное клеточно-белковое взаимодействие в крови.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании представленных результатов и опубликованных ранее с участием авторов настоящей работы данных [25] можно заключить, что первичное воздействие постоянного магнитного поля принимают на себя белковые структуры различной локализации. Выявленные изменения величин абсорбции, электрофоретической подвижности, концентрации, скорости оседания эритроцитов и параметров агрегации, вероятнее всего, происходят за счет изменения

электрических и стереохимических свойств белковых молекул. Этот вывод согласуется с результатами, цитированными в настоящем исследовании [5,11,12,17,21]. При этом необходимо отметить, что на пути выяснения механизма процесса сделаны только первые шаги, поскольку, как отмечено во введении, мы имеем дело с брутто-эффектом. Проведенные биологические эксперименты по изучению действия МП посвящены установлению связи между физико-химическими характеристиками действующих факторов и вызываемого ими биологического отклика. При таком подходе выяснение механизмов действия МП на уровне отдельных биохимических реакций, являющихся основой жизнедеятельности любого организма, не представляется возможным. Отчасти это связано с тем, что в ходе проведения таких экспериментов сложно оценить степень вовлеченности различных уровней организации живой системы (биохимического, физиологического и т.п.). Однако можно сделать некоторые первичные заключения.

Основной вклад в магнитную зависимость биосистем вносят химические процессы, в которых генерируются или участвуют радикалы, ион-радикалы, парамагнитные частицы, неспа-

ренные электроны которых являются носителями спинового магнетизма и взаимодействуют с магнитными полями [7–9]. Установлено, что магнитно-спиновые эффекты могут проявляться только в многоспиновых системах, когда имеются хотя бы два спина – радикальная пара [26]. Магнитные поля могут индуцировать спиновые триплет-синглетные переходы в таких парах, изменять их спиновое состояние и реакционную способность. Эта экспериментально и теоретически обоснованная концепция лежит в основе спиновой химии и спиновой биохимии [6,7–9]. Подавляющее большинство магнитно-спиновых эффектов, известных и изученных в спиновой химии, получено в достаточно «искусственных» условиях, когда реакции направлялись по спин-селективному механизму путем генерации радикальных пар прямым (фотолиз кетонов [27]) или триплетно-сенсibilизированным фотолизом (фотовосстановление бензохинонов [28]). Известны несколько систем, в которых радикальные пары получали в термически стимулированной реакции: взаимодействие алкилгалоидов с алкиллитием [29], слабый магнитно-полевой эффект в сильных полях ( $> 4$  Тл) наблюдали в реакции распада бензоилпероксида [30]. В слабом магнитном поле (0,4 Тл) обнаружено возрастание скорости цепного окисления непредельного углеводорода стирола и его насыщенного аналога – этилбензола [14]. Все эти результаты свидетельствуют об увеличении скоростей изучаемых процессов при наложении МП. Однако совсем недавно обнаружено замедляющее действие кислорода и внешнего магнитного поля на скорость инициирования радикалов при распаде гидропероксидов в каталитических нанореакторах – смешанных обращенных мицеллах «катионное поверхностно-активное вещество–гидропероксид» [13], т.е. сделан шаг от микроуровня к макроскопическим эффектам.

Не подлежит сомнению тот факт, что обнаруженные эффекты связаны с образованием и превращением в биологических системах активных форм кислорода – оксильных и пероксильных радикалов, гидропероксидов, фрагментов липидных мембран, пероксида водорода и т.д. [31,32]. Все эти результаты позволяют в первом приближении рассмотреть гипотетический механизм влияния постоянного магнитного поля на компоненты системы гомеостаза человека. Представленные в настоящей работе результаты получены при использовании крови и ее компонентов, на которые в той или иной степени воздействовали активные формы кислорода. Сами эксперименты проведены в среде кислорода воздуха. Это дает основание пред-

полагать, что на пространственную структуру белков оказывают воздействие процессы окисления. Образовавшиеся активные формы кислорода приводят к структурным изменениям в составе компонентов крови. В результате радикальных реакций продолжения и обрыва цепей в магнитном поле усиливаются изменения агрегации тромбоцитов крови человека (сшивка макромолекул белков, образование устойчивых комплексов между полярными фрагментами липидных мембран). К этому добавляется снижение влияния активности адреналина на агрегацию тромбоцитов вследствие его неферментативного окисления.

Как следует из полученных данных, под действием магнитного поля происходит изменение суммарного заряда белковых структур на поверхности мембраны эритроцита и свойств молекулы фибриногена, что может приводить к изменению характера его связи с тромбоцитарным GPIIb/IIIa-рецептором и, как следствие, изменению активности агрегации в целом. Эти результаты согласуются с высказанными в работах [13,33] предположениями, что причиной магнитного эффекта является образование в мицеллярном агрегате нескольких типов диффузионных радикальных пар, на вероятность рекомбинации которых может влиять магнитное поле. Возможно, что магнитный эффект влияет на свойства двойного электрического слоя, в котором происходит распад гидропероксидов на радикалы. Все эти факторы играют важную роль в неферментативной системе антиоксидантной защиты и позволяют рассчитывать на описание макроскопически наблюдаемого процесса, что станет важным шагом к установлению детального механизма реакций, протекающих в условиях окислительного стресса.

Естественно, высказанные предположения представляют собой лишь некий фрагмент возможного механизма влияния МП на биосистемы. Однако даже такой весьма приближенный подход позволяет наметить ближайшие пути дальнейших исследований. Прежде всего, необходимо на модельных системах для процессов в отсутствие и при воздействии магнитного поля изучить ассоциацию фрагментов липидных мембран в анаэробных условиях и в присутствии кислорода. Необходимо установить кинетические различия в реакции окисления адреналина без ингибиторов и в их присутствии, а также исследовать действие супероксиддисмутазы на этот процесс. Очевидно, что исследования надо проводить при действии на систему постоянного магнитного поля. Несомненно, что проводимые исследования должны

носить систематический характер с использованием кинетических методов, квантово-химического и математического моделирования в комбинации с современными методами инструментального анализа (оптическая, ЯМР- и ЭПР-спектроскопия, высокоэффективная жидкостная хроматография, хромато-масс-спектрометрия).

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 14-23-00018).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. H. Hayashi, *Introduction to Dynamic Spin Chemistry: Magnetic Field Effects on Chemical and Biochemical Reactions* (World Scientific, New Jersey, 2004).
2. R. Saunders, *Progr. Biophys. Molec. Biol.* **87** (2–3), 225 (2005).
3. В. Н. Бинги, *Магнитобиология: Эксперименты и модели* (Милта, М., 2002).
4. В. Н. Бинги и А. В. Савин, *Успехи физ. наук* **173**, 265 (2003).
5. В. Н. Бинги, В. А. Милаев, Д. С. Чернавский и А. Б. Рубин, *Биофизика* **51**, 553 (2006).
6. A. L. Buchachenko, *J. Phys. Chem. B* **117** (8), 2231 (2013).
7. A. L. Buchachenko, *Magneto-Biology and Medicine* (Nova Science Publishers, N.Y., 2014).
8. А. Л. Бучаченко, *Успехи химии* **83** (1), 1 (2014).
9. A. L. Buchachenko, *Bioelectromagnetics* **37** (1), 1 (2016).
10. В. В. Лукьяница, *Магнитное поле, его характеристика, влияние на биологические объекты и использование в медицине* (МГМИ, М., 1997).
11. M. M. Cortese-Krott and M. Kelm, *Redox Biol.* **2**, 251 (2014).
12. G. Zhao, S. Chen, L. Wang, et al., *Bioelectromagnetics* **32** (2), 94 (2011).
13. O. T. Kasaikina and L. M. Pisarenko, *Russ. Chem. Bull.* **64** (10), 2319 (2015).
14. E. M. Pliss, A. M. Grobov, A. K. Kuzaev, and A. L. Buchachenko, *Mendeleev Com.* 2017 (in press).
15. Ю. В. Цейслер, В. С. Мартынюк, А. Ю. Артеменко и Н.С. Мирошниченко, *Физика живого* **17** (1), 94 (2009).
16. *Биомеханика: достижения и перспективы*, под ред. А. К. Цатуряна и А. А. Штейна (Изд-во МГУ, М., 2006).
17. С. А. Васильев, А. Л. Мелкумян, А. Л. Берковский и др., *Клинико-лабораторная диагностика нарушений функций тромбоцитов* (Гематологический научный центр МЗ РФ, М., 2013).
18. В. В. Новиков, В. В. Кувичкин и Е. Е. Фесенко, *Биофизика* **44** (2), 224 (1999).
19. E. Sagdilek, O. Sebik, and G. Celebi, *Bioelectromagnetics* **34** (5), 349 (2013).
20. E. Sagdilek, O. Sebik, and G. Celebi, *Electromagnetic Biol. Medicine* **31** (4), 382 (2012).
21. Л. И. Карнаухова и Е. Н. Тупицын, *УФ-спектроскопия биологических макромолекул* (Изд-во Саратовского гос. университета им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, 2002).
22. М. Б. Ингерлейб, *Полный справочник анализов и исследований в медицине* (Омега-Л.–Книжкин Дом, М., 2014).
23. В. К. Рыбальченко и М. М. Коганов, *Структура и функции мембран* (Выш. шк., М., 1988).
24. П. Ф. Ливицкий, *Патофизиология* (ГЭОТАР– Медиа, М., 2009).
25. В. Н. Казин, В. В. Макарьин, Е. А. Гузов и др., *Журн. прикл. спектроскопии* **83** (3), 413 (2016).
26. А. Л. Бучаченко, *Новая изотопия в химии и биологии* (Наука, М., 2007).
27. N. J. Turro, V. Ramamurthy, and J. C. Scaiano, *Modern Molecular Photochemistry of Organic Molecules* (University Science Books, Sausalito, 2010).
28. P. P. Levin and V. A. Kuzmin, *Chem. Phys.* **162**, 79 (1992).
29. J. C. Scaiano and D. J. Lougnot, *J. Phys. Chem.* **88**, 3379 (1984).
30. Р. З. Сагдеев, К. М. Салихов и М. Ю. Молин, *Успехи химии* **46**, 569 (1977).
31. Е. Б. Меньщикова, В. З. Ланкин, Н. К. Зенков и др., *Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты* (Слово, М., 2006).
32. А. Л. Бучаченко и Е. М. Плисс, *Успехи химии* **85** (6), 557 (2016).
33. Д. А. Круговов, Е. А. Менгеле и О. Т. Касаикина, *Башкирский хим. журн.* **23** (4), 78 (2016).

## **The Influence of the Constant Magnetic Field on Components of Protein Structures of Human Blood**

**V.N. Kazin\*, E.A. Guzov\*, E.M. Pliss\*, V.A. Moshareva\*, V.V. Makaryin\*\*,  
N.Yu. Levshin\*\*\*, and A.A. Baranov\*\*\***

*\*Demidov Yaroslavl State University, ul. Sovetskaya 14, Yaroslavl, 150003 Russia*

*\*\*Yaroslavl State Technical University, Moskovskii prosp. 88, Yaroslavl, 150023 Russia*

*\*\*\*Yaroslavl State Medical University, ul. Revolutsionnaya 5, Yaroslavl, 150000 Russia*

The influence of a constant magnetic field on the components of protein structures of human blood was studied with the use of the methods for performing electron spectroscopy, optic aggregometry and agarous gel electrophoresis. Interestingly, protein structures in various localization get under the primary influence of a constant magnetic field. As a result, the boundary space charge, the shape and the linear dimensions of molecules, a rotation frequency of links around valence bonds change leading to alterations in spatial structure of protein components of blood. As a working hypothesis it is assumed that an increase in intensity of oxidation processes under the influence of the magnetic field and, consequently, an increase in negative activity of oxygen metabolites is the cornerstone of these changes.

*Keywords: magnetic field, blood components, aggregation of thrombocytes, electrophoresis, electron spectroscopy, spatial structure of proteins*