



Биол. журн. Армении, 4 (63), 2011

ВЛИЯНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО НЕТЕПЛООВОГО КОГЕРЕНТНОГО ЭМИ КВЧ НА ОБЩУЮ АКТИВНОСТЬ И ИЗОФЕРМЕНТНЫЙ СОСТАВ ПЕРОКСИДАЗЫ

А.В. НЕРКАРАРЯН, М.А. ШАГИНЯН, А.В. ХАЧАТРЯН,
П.О. ВАРДЕВАНЯН

Ереванский госуниверситет, биологический факультет, кафедра биофизики
mariamsh@rambler.ru

Исследовано влияние низкоинтенсивного когерентного ЭМИ КВЧ на интенсивность обмена веществ развивающихся проростков пшеницы. В частности, определены общая активность и изоферментный состав пероксидазы клеток проростков в процессе роста. Исследована также роль воды в формировании ответной реакции организма на воздействие внешнего физического поля. Показано, что первичным звеном воздействия ЭМИ КВЧ на биосистему является вода. Облучение прорастающих семян ЭМИ КВЧ и обработка сухих семян и их проростков облученной водой стимулируют синтез пероксидазы в клетках проростков. В клетках проростков, подвергшихся воздействию ЭМИ КВЧ низкой интенсивности, происходит перераспределение количественного состава молекулярных форм пероксидазы.

ЭМИ КВЧ – облучение – пероксидаза – общая активность – изоферментный состав

Ուսումնասիրվել է ցածր ինտենսիվությամբ կոհերենտ ԾԲՀ ԷՄՃ ազդեցությունը ցորենի զարգացող ծիլերի նյութափոխանակության ինտենսիվության վրա: Մասնավորապես, որոշվել են աճի ընթացքում ծիլերի բջիջներում պերօքսիդազի ընդհանուր ակտիվությունը և իզոֆերմենտային կազմը: Ուսումնասիրվել է նաև ջրի դերը արտաքին ֆիզիկական դաշտի ներգործությանը օրգանիզմի պատասխան ռեակցիայի ձևավորման մեջ: Ցույց է տրվել, որ կենսահամակարգի վրա ԾԲՀ ԷՄՃ ներգործության առաջնային օղակը ջուրն է: Ծլող սերմերի ԾԲՀ ԷՄՃ ճառագայթահարումը և չոր սերմերի ու դրանց ծիլերի մշակումը ճառագայթահարված ջրով խթանում է ծիլերի բջիջներում պերօքսիդազի սինթեզը: Ցածր ինտենսիվությամբ ԾԲՀ ԷՄՃ ներգործության ենթարկված ծիլերի բջիջներում տեղի է ունենում պերօքսիդազի մոլեկուլային ձևերի քանակական կազմի վերաբաշխում:

ԾԲՀ ԷՄՃ – ճառագայթահարում – պերօքսիդազ – ընդհանուր ակտիվություն – իզոֆերմենտային կազմ

In this work the influence of non-thermal coherent EMR with low intensity and extremely high frequency on intensity of wheat developing germ metabolism has been investigated. Particularly, total activity and isoenzymatic composition of peroxidase of germ cells have been determined during their growth. The role of water in formation of organism response reaction to the external physical field effect has also been investigated. It has been shown, that water appears to be a primary

element of extremely high frequency EMR effect on biosystem. Extremely high frequency EMR irradiation of germinating seeds and the cultivation of dry seeds and their germs by irradiated water stimulate peroxidase synthesis in germ cells.

The redistribution of quantitative composition of peroxidase molecular forms takes place in germ cells effected by EMR with extremely high frequency and low intensity.

EMR with extremely high frequency – irradiation – peroxidase – total activity – isoenzyme composition

В настоящее время в биосфере значительно возросла интенсивность электромагнитного излучения (ЭМИ), имеющего антропогенное происхождение. Являясь невидимым фактором внешней среды, ЭМИ, тем не менее, не безразлично для живых организмов. Показано, что ЭМИ с разной длиной волны взаимодействуют с биологическими системами, имеющими разный уровень организации [1,2,5,16,18]. Обсуждаются механизмы взаимодействия ЭМИ с биологическими системами [2,4]. Особое внимание уделяется механизмам воздействия на живые организмы низкоинтенсивного ЭМИ крайне высокой частоты (КВЧ), которое не обусловлено тепловыми эффектами [3,5,7,8]. Проницаемость лучей данного диапазона очень маленькая, однако влияние, оказываемое на живые организмы, значительное, имеет особенности, зависит от частоты излучения [9,12,18].

Исследовано влияние низкоинтенсивного когерентного ЭМИ КВЧ на интенсивность обмена веществ развивающихся проростков пшеницы: определены общая активность и изоферментный состав пероксидазы (ПО) клеток проростков в процессе роста. Исследовано также участие воды в формировании ответной реакции организма на воздействие внешнего физического поля.

Материал и методика. В экспериментах использовали семена пшеницы сорта “Безостая”. В качестве источника монохроматического ЭМ излучения КВЧ использовался генератор Г4-141 с областью рабочих частот 37,5-53,5 ГГц. Облучение производилось в дальней зоне излучения генератора. Производилось однократное 20-, 30- и 60-минутное облучение прорастающих семян пшеницы и воды ЭМИ с частотой, ГГц: 49, 50.3, 51.8, 53 и плотностью потока мощности 0,6 мВт/см². Проростки облученных семян в процессе роста поливали необлученной водой. Проростки семян, замоченных в облученной воде, поливали облученной ЭМИ водой. Растительный экстракт получали в 0.15 М трис-НСI буфере, содержащем 0.01 М ДТТ, рН 8 (на 100 мг растительного материала добавляли 0.2 мл буфера и растирали полученную массу в охлажденной ступке). Экстракцию проводили в течение 30 мин на магнитной мешалке. Полученную массу центрифугировали 15 мин при ускорении 18000 g. В экспериментах использовали надосадочную жидкость. Все процедуры производились в условиях холода. Активность ПО определяли по изменению оптической плотности реакционной смеси при 430 нм в реакции окисления пирогаллола (1,2,3-триоксibenзол) перекисью водорода [14]. Количество белка определяли по методу Лоури [17]. Электрофоретическое разделение изоферментов проводили на 5.5 %-ном полиакриламидном геле по методу диск-электрофореза [15]. В каждую трубочку на гель наносили растительный экстракт по 0.6 мкг белка на трубочку. После электрофореза гели окрашивали по методу [11].

Общую активность ПО рассчитывали по формуле:

$$A = \frac{\Delta D \cdot f}{c \cdot t},$$

где A - общая активность фермента, ΔD - изменение оптической плотности, c - количество белка (мг/мл), f - коэффициент разбавления, t - продолжительность измерения оптической плотности (мин.).

Проведена статистическая обработка результатов.

Результаты и обсуждение. Исследована зависимость реакции биологической системы на облучение от продолжительности воздействия. О реакции биосистемы на внешнее физическое воздействие судили по величине общей активности ПО.

Показано, что облучение прорастающих семян индуцирует повышение активности ПО проростков и величина изменения зависит от продолжительности облучения (рис. 1).

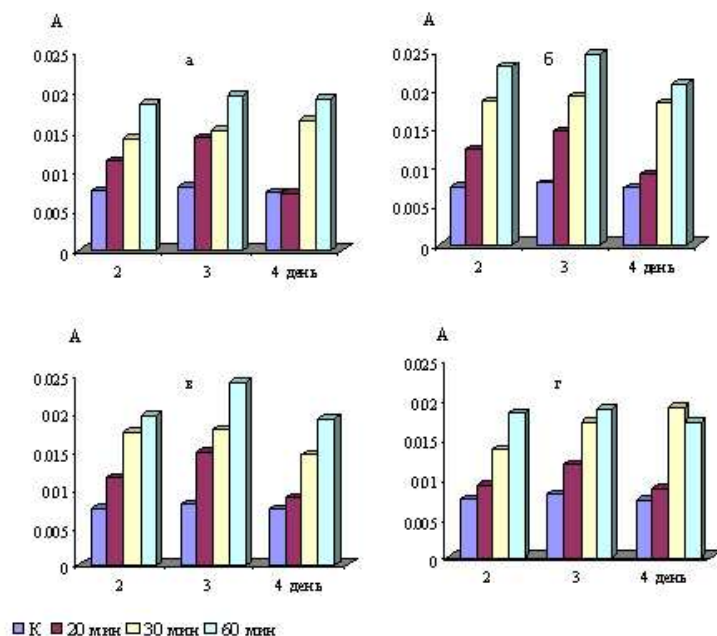


Рис. 1. Зависимость общей активности ПО (А) проростков от продолжительности облучения семян ЭМИ с частотой, ГГц: 49 (а), 50,3 (б), 51,8 (в) и 53 (г).

Активность ПО в процессе роста изменяется как в контрольных проростках, так и в проростках облученных семян. Однако в процессе роста величина наблюдаемых изменений разная.

Из данных, представленных на рис. 1, видно, что в проростках облученных ЭМ волнами частотой 49 ГГц на второй и третий дни после облучения наблюдается значительное увеличение активности ПО, и величина изменения зависит от продолжительности облучения. В частности, при облучении в течение 20 мин увеличение общей активности ПО на второй и третий дни, по сравнению с контролем, составляет соответственно 52,7% и 78,8%, при 30-минутном – 91,9% и 90%. На четвертый день после облучения картина несколько изменяется: при 20-минутном облучении активность ПО в опытных и контрольных проростках одинаковая, в проростках семян, подвергнутых 30-минутному облучению, продолжает увеличиваться и превышает контрольное значение приблизительно на 125 %, а подвергнутых 60-минутному облучению – на 162 %.

Та же закономерность наблюдается в процессе роста проростков, облученных низкоинтенсивным ЭМИ с частотой, ГГц: 50,3, 51,8, 53.

Полученные данные указывают на то, что в облученных организмах стимулируются процессы, которые направлены на преодоление стресса и последствия внешнего воздействия. При 20-минутном облучении на четвертый день воздейст-

вия организму удастся восстановить нормальное состояние – “выйти из стресса”. При увеличении продолжительности облучения прорастающих семян восстановление нормального состояния, по всей вероятности, происходит медленнее. Более того, в проростках, облученных в течение 30 мин ЭМИ с частотой, 49 ГГц и 53 ГГц, тенденция повышения активности ПО сохраняется и на четвертый день облучения. В последующие дни активность фермента в проростках уменьшается (рис. 1). На рис. 2 приведена зависимость активности пероксидазы облученных ЭМИ КВЧ семян от частоты при различной продолжительности облучения. Полученные результаты указывают на важную роль воды в процессе формирования реакции организма на внешнее воздействие: наибольшее отклонение от контрольных значений общей активности ПО наблюдалось в проростках семян, облученных ЭМИ с частотой, 50,3 ГГц и 51,8 ГГц, которые являются резонанс-ными частотами воды.

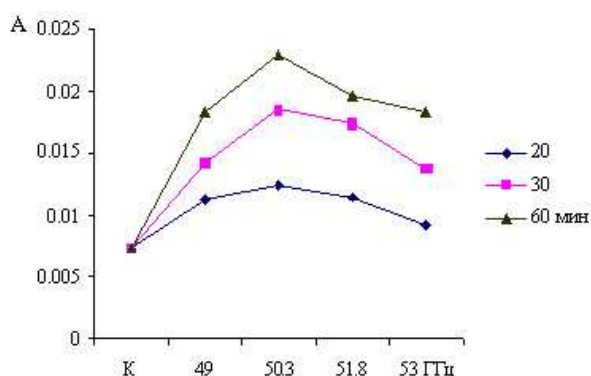


Рис. 2. Зависимость активности ПО (А) двухдневных проростков облученных ЭМИ КВЧ семян пшеницы от продолжительности облучения.

Результаты исследований, направленных на выявление механизмов воздействия низкоинтенсивных ЭМИ КВЧ на биологические системы, легли в основу различных гипотез [3,4,10,13]. Одна из них основана на предположении, что первичным звеном воздействия ЭМИ КВЧ на биосистемы является вода. Предполагается, что облучение меняет регулярную структуру воды, вследствие чего меняется характеристика воды, и это приводит к изменению свойств макромолекул в биосистеме, а также более маленьких молекул и органических соединений [6,10]. Эти изменения формируют ответную реакцию, направленную на внешнее физическое воздействие.

Исследовано влияние облученной воды на рост и развитие проростков пшеницы. Согласно полученным данным, многократная обработка проростков облученной водой индуцирует большие изменения активности ПО, чем однократное облучение прорастающих семян. В этом случае также наблюдается зависимость величины отклика биологической системы от продолжительности облучения. Кроме того, как видно из представленных данных (рис. 1 и 3), величина отклика биосистемы, вызванного облучением, зависит также от частоты ЭМИ.

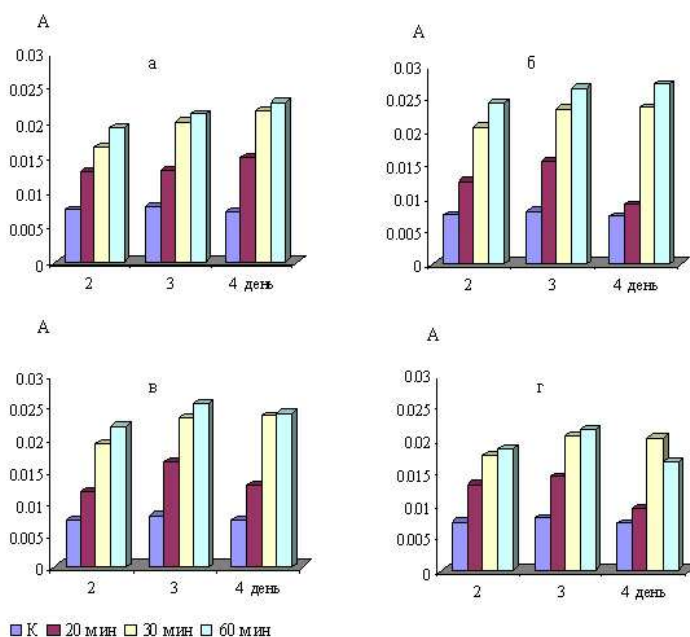


Рис. 3. Зависимость общей активности ПО (А), обработанных облученной ЭМИ с частотой, ГГц: 49 (а), 50,3(б), 51,8 (в) и 53(г) водой проростков от продолжительности облучения.

Изменение общей активности ПО больше при обработке водой, облученной ЭМИ с частотой 50,3 ГГц и 51,8 ГГц. Тот факт, что и при облучении семян и их обработке облученной водой наиболее сильная реакция проявляется в вариантах, подвергшихся опосредованному (обработка облученной водой) воздействию ЭМИ с частотой, 50,3 ГГц и 51,8 ГГц, указывает на то, что вода на самом деле является первичным звеном воздействия.

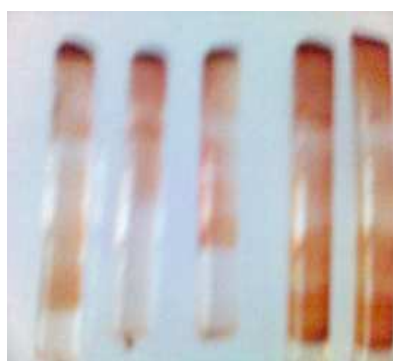
Облучение биосистемы низкоинтенсивным ЭМИ КВЧ изменяет структуру воды поверхностных слоев, что приводит к изменению свойств воды. Изменение свойств воды может вызывать изменения физико-химических свойств клеточных мембран, которые запускают цепь последовательных процессов, в результате которых формируется ответ биосистемы на воздействие внешнего физического поля.

Индукцированное облучением повышение общей активности ПО проростков может быть обусловлено активацией генов, контролирующих синтез ПО, или изменениями на эпигенетическом уровне. В частности, диссоциацией и реассоциацией субъединиц фермента, что может быть связано с изменениями свойств воды. Диссоциация и последующая реассоциация могут привести к изменению количественного соотношения молекулярных форм фермента.

Исследовано влияние ЭМИ КВЧ на состав молекулярных форм ПО в клетках проростков пшеницы. В контроле – в проростках необлученных семян – были выявлены 9 фракций, обладающих пероксидазной активностью. В облученных вариантах изменение числа фракций не наблюдается, однако, по сравнению с контролем, изменяются интенсивность окрашивания и ширина полос быстро мигрирующих фракций (рис. 4 и 5). Как видно на рис. 4, изоферментный состав ПО в трехдневных проростках семян, облученных ЭМИ с частотой, 51,8 ГГц и 53 ГГц, не меняется, но окрашивание выявляющихся полос более интенсивное, что с учетом увеличения общей активности ПО в экстракте проростков указывает на

активацию генов, контролирующих синтез фермента.

В проростках семян, облученных ЭМИ с частотой, 49 ГГц и 50,3 ГГц в течение 30 мин и 60 мин, интенсивность окрашивания быстрых фракций больше по сравнению с контролем, а в проростках обработанных водой, облученной ЭМИ с той же частотой и продолжительностью, наблюдается расширение полос указанных фракций, что свидетельствует об увеличении количества соответствующих изоферментов. Наблюдается также более четкое разделение изоферментов (рис. 5). Последнее может свидетельствовать об изменении поверхностных зарядов изоферментов ПО, обусловленное присутствием в среде облученной воды.



К 49 50.3 51.8 53 ГГц

Рис. 4. Изоферментный состав пероксидазы в трехдневных проростках семян пшеницы при однократном 20-минутном облучении ЭМИ КВЧ.

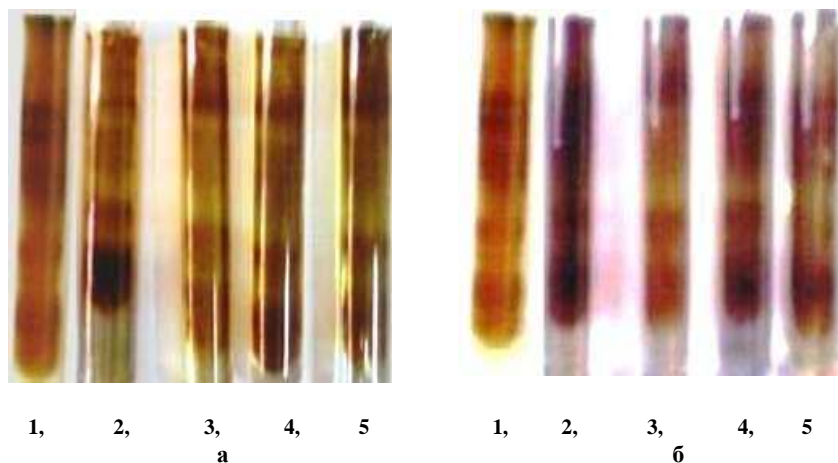


Рис. 5. Изоферментный состав пероксидазы проростков облученных семян пшеницы и проростков, обработанных облученной водой:

а - облучение ЭМИ с частотой 49 ГГц, б - облучение ЭМИ с частотой 50,3 ГГц.

1 – контроль, 2 – проростки, облученные в течение 30 мин, 3 – проростки, обработанные облученной в течение 30 мин водой, 4 – проростки, облученные в течение 60 мин, 5 – проростки, обработанные облученной в течение 60 мин водой.

Интенсивность окрашивания медленно мигрирующих фракций в обработанных облученной водой проростках также увеличивается. Полученные данные свидетельствуют об изменении количественного соотношения изоферментов ПО проростков, подвергшихся непосредственному или опосредованному воздействию низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ. Степень выраженности эффекта зависит от продолжительности облучения.

Таким образом, можно заключить, что первичным звеном воздействия ЭМИ КВЧ на биосистемы является вода. Облучение семян ЭМИ КВЧ и обработка семян и их проростков облученной водой стимулируют синтез ПО в клетках проростков. В клетках проростков, подвергших воздействию ЭМИ КВЧ низкой интенсивности, вследствие изменения структуры воды меняются пространственная структура и поверхностный заряд молекулярных форм ПО. Эти изменения приводят к перераспределению количественного соотношения молекулярных форм пероксидазы.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Бабаян Ю.С., Вардеванян П.О., Антонян А.П. и др.* Некоторые физико-химические свойства ДНК, облученной низкоэнергетическими миллиметровыми когерентными электромагнитными волнами. Биомедицинские технологии и радиоэлектроника, 11, с. 64-68, 2006.
2. *Бецкий О.В., Кислов В.В., Лебедева Н.Н.* Миллиметровые волны и живые системы, М.: "САЙНС-ПРЕСС", 107с., 2004.
3. *Бецкий О.В.* Механизмы биологических эффектов взаимодействия ММ волн с живыми организмами. Сб.: Вопросы использования электромагнитных излучений малой мощности КВЧ в медицине (КВЧ-терапия), Ижевск: АО НИЦ "ИКАР", с. 2-6, 1992.
4. *Гапеев А.Б., Чемерис Н.К.* Действие непрерывного и модулированного ЭМИ КВЧ на клетки животных. Обзор части 1: Особенности и основные гипотезы о механизмах биологического действия ЭМИ КВЧ. Вестник новых медицинских технологий, 6, 1, с. 15-22, 1999.
5. *Девятков Н.Д., Голант М.В., Бецкий О.В.* Миллиметровые волны и их роль в процессах жизнедеятельности. М.: "Радио и связь", 168с., 1991.
6. *Девятков Н.Д., Голант М.В., Бецкий О.В.* Особенности медико-биологического применения миллиметровых волн. М.: ИРЭ РАН, с. 6-43, 1994.
7. *Курик М.В.* О фрактальности питьевой воды (живая вода). Физика сознания и жизнь, космология и астрофизика, 3, с. 45-48, 2001.
8. *Мосин О.В.* Воздействие на воду электромагнитных волн. <http://www.o8ode.ru>
9. *Неркараян А.В., Парсаданян М.А., Минасбемян Л.А., Дарбинян М.Р., Калантарян Б.Г., Вардеванян П.О.* Влияние низкоинтенсивного нетеплового когерентного ЭМИ мм-диапазона на рост проростков. VI Междунар. Симпоз. Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования, Пушино, 3, с. 185-188, 2005.
10. *Петросян В.И., Синицын Н.И., Елкин В.А. и др.* Роль молекулярно-волновых процессов в природе и их использование для контроля и коррекции состояния экологических систем. Биомедицинская радиоэлектроника, 5-6, с. 62-114, 2001.
11. *Сафонов В.И., Сафонова М.П.* Анализ белков растений методом вертикального электрофореза в полиакриламидном геле. Физиология растений, 16, вып. 2, с. 350-357, 1969.
12. *Смолянская А.З., Гельвич Э.А., Голант М.В., Махов А.М.* Резонансные явления при действии электромагнитных волн миллиметрового диапазона на биологические объекты. Успехи совр. биологии, 87, 3, с. 381-392, 1979.
13. *Тамбиев А.Х., Кирикова Н.Н.* Некоторые новые представления о причине формирования стимулирующих эффектов КВЧ-излучения. Биомедицинская радиоэлектроника, 1, с. 23-33, 2000.
14. *Baden D.G., Corbett M.D.* Peroxidases produced by the marine sponge *Iotrochota birotulata*. Comp. biochem. physiol., 64B, 3, p. 279-283, 1979.

15. *Dietz A.A., Lubran I.* Separation and quantitation of lactic dehydrogenase isoenzymes by discel electrophoresis. *Anal. biochem.*, 20, p. 264-257, 1967.
16. *Kalantaryan V.P., Vardevanyan P.O., Antonyan A.P. et al.* Influence of Low Intensity Coherent Electromagnetic Millimeter Radiation (EMR) on Aqua Solution of DNA. *Progress in Electromagnetics Research Letters*, 13, p. 1-9, 2010,
17. *Lowry O.H., Rosebrough H.I., Farr A.K., Randall R.I.* Protein measurement with the folin reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 1, p. 265-273, 1951.
18. <http://www.vidhuk-centr.org.ua>.

Поступила 30.06.2011