

ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КОНФОРМАЦИИ ГЕМОГЛОБИНА БОЛЬНЫХ ЛЕГОЧНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ ПРИ ДЕЙСТВИИ ПЕРЕМЕННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ

С.Н. Мамаева¹, А.Н. Павлов А.Н.¹, О.В. Слатинская², Г.В. Максимов^{2,3}

¹ Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова, Якутск

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

³ Национальный исследовательский технологический университет “МИСиС”, Москва

Влияние магнитного поля на человека – до сих пор не до конца изученный вопрос. Последствия кратковременных и долгосрочных воздействий как сильных, так и слабых электрических и магнитных полей активно изучаются. Одним из основных направлений исследований является изучение влияния магнитных полей на кровь и на отдельные компоненты крови, в частности молекулу гемоглобина.

Целью данного исследования является изучение методом спектроскопии комбинационного рассеяния кратковременного влияния (1, 15 и 30 минут) переменного магнитного поля 300 мТл, который эквивалентен излучению от обычных источников статического магнитного поля, на выделенный гемоглобин, а также на гемоглобин в эритроцитах образцов крови доноров с легочной гипертензией до и после лечения. Установлено воздействие переменного магнитного поля как на конформацию гема (железосодержащего участка), так и на его белковую часть (глобина), следовательно, его влияние на способность гемоглобина связывать лиганды, в частности кислород. Выявлено изменение уровня оксигенированного и дезоксигенированного гемоглобина и увеличение вероятности нахождения гемоглобина в Т-форме. Также выявлено изменение в полярности окружения аминокислотных остатков. Наблюдалось понижение полярности окружения аминокислотных остатков, а также упорядоченность и плотность аминокислот. В экспериментах с эритроцитами наблюдалось значительное повышение текучести клеточной мембраны.

Ключевые слова: *магнитное поле, гемоглобин, эритроциты, легочная гипертензия, спектроскопия комбинационного рассеяния*

DOI: 10.52775/1810-200X-2022-96-4-72-80

Введение

Известно, что биоэволюция биологических систем формируется под непрерывным влиянием магнитного поля (МП, геомагнитное поле) [1]. Очевидно, что в связи с развитием новых технологий, по мере того, как возрастает объем применения электрических приборов,

антенн связи, линии электропередач, а также приборов для медицинской диагностики (метод магнитно-резонансной томографии), уровень так называемого “электромагнитного загрязнения” среды возрастает [2]. Все это стимулирует исследования воздействия МП на функционирование живых организмов. За послед-

ние десятилетия было накоплено значительное количество результатов, свидетельствующих о наличии биологических эффектов при воздействии постоянного и переменного магнитного поля как *in vivo*, так и *in vitro* [3].

Значительный интерес в ходе биомедицинских исследований уделяется влиянию МП на компоненты крови, так как эта среда содержит эритроциты с железосодержащим гемоглобином (Гб), который обладает чувствительностью к магнитному полю [4]. Известно, что воздействие магнитным полем 1,33 Тл в течение одной минуты снижает вязкость крови на 33 %, эффект сохранялся и при более длительном воздействии [5]. Установлено, что воздействие на животных МП в 3 мТ приводит к увеличению осмотической хрупкости эритроцитов и снижению эластичности плазматической мембраны эритроцита, частичному изменению молекулярной структуры гемоглобина и увеличению уровня активности фермента аланинаминотрансферазы. Известно, что уровень активности аспаратаминотрансферазы в плазме крови меняется при повреждении клеточной мембраны клеток печени. Повышение концентрации малонового диальдегида и активности каталазы указывает на увеличение уровня свободных радикалов [6]. С помощью экспериментальных методов и метода математического моделирования было подтверждено влияние магнитного поля в 100–600 мТл на реологические свойства искусственной крови, состоящей из воды, глицерина и частиц оксида железа, скорость имитируемой крови, содержащей магнитные частицы Fe_3O_4 , уменьшалось с 2 до 1,6 мм/с при увеличении магнитного поля со 100 до 600 мТл [7].

Доказано, что различные физиологические процессы, включая обратные потоки и изменения в скорости сдвига могут быть вызваны МП достаточно высокой интенсивности [8]. Известно, что при воздействии постоянного магнитного поля в 4 и 8 Тл эритроциты меняли свою ориентацию в потоке крови в сосудах. Например, после воздействия МП плоскость диска всех эритроцитов оказалась ориентированной параллельно направлению магнитного поля, при этом в контроле наблюдалось их хаотичное расположение [9]. Во многих исследованиях сообщают о сосудорасширяющем эффекте, усилении тока крови и повышении артериального давления, а также о влиянии на развитие сосудов [10]. Имеются существенные доказательства, свидетельствующие о влиянии МП на

проницаемость полимерной электролитной мембраны для ионов лития [11] и эффекта МП на ионный состав в седалищном нерве лягушки (содержание кальция и железа) [12].

Основной белок эритроцитов гемоглобин – гемсодержащий белок, отвечающий за транспорт кислорода в организме человека, также обладает магнитными свойствами [13]. Гемоглобин представляет собой тетрамерный белок, состоящий из двух α -субъединиц и двух β -субъединиц. Каждая субъединица имеет сайт связывания кислорода [14]. При связывании гемоглобином кислорода в нём происходит изменение конформации и увеличивается сродство белка к молекулярному кислороду. Поэтому последующим молекулам кислорода становится легче образовывать связь с гемоглобином, у которого одна связь уже образовалась. Существует модель, объясняющая это кооперативное связывание на основе двух состояний гемоглобина: R-форма (R-relaxed, “расслабленная”) высокоаффинная форма с высоким сродством к кислороду и T-форма (T – tense, напряжённая) с низким сродством к кислороду [15].

Исследования [16, 17] показали, что связывание кислорода с гемоглобином вызывает изменение магнитной восприимчивости гемоглобина. Атом Fe^{2+} гемоглобина может быть либо парамагнитным с эффективным спином 2 (высокоспиновое состояние – кислород не связан, дезоксигемоглобин (дГб)) и диамагнитным (низкоспиновое состояние – кислород связан, оксигемоглобин (оГб)) а Fe^{3+} всё время парамагнитен [18]. Состояния атома железа в геме зависят от атомов-лиганд. При этом глобин и порфирин в гемоглобине являются диамагнетиками. В недавнем исследовании было обнаружено, что геометрическая форма гемоглобина претерпевает изменения при воздействии статических магнитных полей [19]. В свою очередь, электромагнитные поля с высокими частотами способны менять третичную структуру, а также сродство Гб к кислороду. Изменение конформации гемоглобина приводит к изменению межмолекулярных взаимодействий, электромагнитные поля с низкой частотой влияют на вторичную структуру гемоглобина. Доказано, что при воздействии электромагнитного поля с частотой 50 Гц и силой 1 мТл в течение 4 часов наблюдаются изменения интенсивностей в спектре, полученном инфракрасной спектроскопией, α -спиральной компоненты и β -складчатости, и получены свидетельства того, что происходит процесс “разворачивания” белка, что может

привести к образованию агрегатов, что может привести к ряду патологий [20]. В другом исследовании показано, что количество адсорбированного гемоглобином кислорода увеличивается при воздействии электромагнитных полей, и хотя изменения были отмечены как во вторичной, так и третичной структуре, изменения в последней были самые значительные [21].

Таким образом, гемоглобин, как и другие гемсодержащие белки крови, могут быть чувствительными к воздействию МП. Большая часть исследований посвящена влиянию МП на реологические свойства потока плазмы в кровеносных сосудах, а также на функциональное состояние эритроцитов. Показано, что при воздействии МП в эритроцитах происходят изменения проницаемости мембраны, меняется ионный гомеостаз и увеличивается уровень оксидативного стресса [22]. Также существуют доказательства влияния переменного и постоянного МП на структуру и свойства молекулы гемоглобина. Однако несмотря на наличие большого количества научных данных по влиянию МП на кровь, все еще нет однозначного ответа на вопрос о влиянии МП на свойства гемоглобина крови. В связи с этим существует необходимость в проведении дополнительного исследования, учитывая тот факт, что влияние МП на человека, растения и животных будет только возрастать, по мере развития технологий.

Данная работа направлена на изучение влияния кратковременного воздействия переменного магнитного поля (ПМП) (1, 15 и 30 минут) 300 мТл, интенсивности 1,8 Вт/см² на выделенный Гб, а также на гемоглобин в эритроцитах образцов крови доноров с легочной гипертензией (ЛГ) до и после лечения.

Материал и методы

Материалом для исследования являлась кровь больных ЛГ. Сбор крови производился из кубитальной вены в вакуумные пробирки. Антикоагулянт – каолин 50 ед. на 1 мл. После забора крови – хранение при +4°C и использование при истечении 4 часов. Подготовка эритроцитов: 150 мкл крови и 750 мл буфера для отмывки эритроцитов от элементов плазмы (соотношение крови и буфера примерно 1:3). Далее проводили центрифугирование (4 мин при 1500 об/мин) и отмывали образец 3 раза. Получение выделенного Гб заключалось в сле-

Таблица 1
Состав буфера на 100 мМ

| Вещество | Количество, мМ | Масса, мг |
|--|----------------|-----------|
| NaCl | 145 | 841 |
| KCl | 5 | 37 |
| Na ₂ H ₂ PO ₄ ·10H ₂ O | 4 | 143 |
| NaH ₂ PO ₄ ·2H ₂ O | 1 | 15 |
| MgSO ₄ | 1 | 12 |
| CaCl ₂ | 1 | 110 |
| Глюкоза | 10 | 180 |

дующем: растворение в 10-кратном объеме воды, добавка буфера (состав буфера приведен в табл. 1). pH довели до метки 0,1 моль HCl. Чтобы избавиться от мембраны эритроцитов, выполняли центрифугирование 10 мин при 8000 оборотах в минуту.

В данной серии экспериментов исследовали влияние МП на выделенный гемоглобин, а также на гемоглобин из эритроцита. Использовались 2 группы образцов крови: группа I – кровь больных ЛГ, группа II – кровь больных после лечения, а также образцы контрольной группы. Условия получения, хранения и съемки этих групп одинаковые. В эксперименте участвовало две группы объектов исследования: гемоглобин и эритроциты.

В ходе исследования изготовлялся капилляр, куда помещался объект съемки. Капилляр гематокритный 75 мм (ООО “Агат-Мед”, Россия). Капилляр герметически запаивался с двух сторон пластилином.

Исследования по воздействию магнитных полей на конформацию гемоглобина проводились методом спектроскопии комбинационного рассеяния (КР). Прибор – конфокальный КР-спектрометр NTEGRA-SPECTRA (NT-MDT, Россия). Характеристики излучения прибора при съемке: лазер с длиной волны излучения 532 нм, He-Ne источник, мощность 2 мВт. Охлаждение CCD камеры –50°C. Время регистрации одного спектра 10 с, время накопления сигнала 5 с. Диапазон от 900 до 3110 см⁻¹, шаг съемки 1,2 см⁻¹. Объектив 5х с апертурой 0,15, количество штрихов в решетке 1800. Съемка проводилась 30 мин, спектр снимался через 1 минуту или 5 минут с различным количеством накоплений сигнала (1 минута – 1, 5 минут – 3). Между измерениями объект не освещался. В эксперименте группы I с капилляром при съемке с шагом в 5 минут магнитостимулятор отключался на время регистрации спектра.

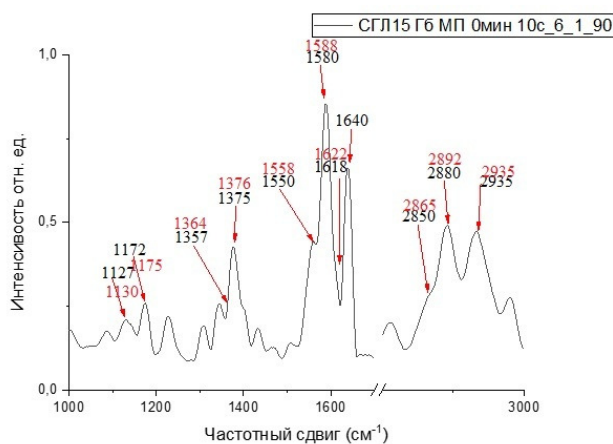


Рис. 1. Обработанный спектр гемоглобина

Для создания ПМП применялся оригинальный магнестимулятор (кафедра биофизики МГУ им. Ломоносова, характеристики – магнитная индукция 0,3 Тл, частота вращения ~20 Пц, интенсивность 1,8 Вт/см²). При исследовании влияния ПМП на гемоглобин магнестимулятор помещался над капилляром. Расстояние от капилляра до прибора не более 2 см (около 1,5 см). Съёмка проходила при комнатной температуре.

Полученные спектры КР от гемоглобина и эритроцитов обрабатывались в программе OriginPro2021 (OriginLab Corporation, США). Этапы обработки включали в себя вычитание базовой линии, нормировку и сглаживание по 15 точкам. Регистрация интенсивности КР проводилась в точках, указанных на рис. 1.

Для оценки изменений конформации гема и глобина молекулы Гб использовали величины соотношений интенсивностей характерных полос спектра КР [18–23]:

I_{1375}/I_{1127} – колебания боковых радикалов $\text{C}\beta\text{CH}_3$ в гемопорфирине, зависит от белкового окружения и конформации глобина возле гемопорфирина вклад боковых CH_3 групп колебаний полуколец пиррола в гемопорфирине, выраженных при изменении конформации глобина в непосредственной близости от гема, характеризует выраженность симметричных и ассиметричных колебаний пиррольных полуколец (изменение величины соотношения характеризует изменение конформации Гб из Т (дезоксигемоглобин) в R (оксигемоглобин). Чем оно выше, тем выше вероятность нахождения гема в R-форме.

I_{1375}/I_{1172} – групповые колебания связей полуколец пиррола в гемопорфирине, зависит

от белкового окружения глобина возле гемопорфирина (характеризует выраженность симметричных и ассиметричных колебаний пиррольных полуколец). Изменение соотношения может быть связано с конформационными изменениями пирролов.

I_{1375}/I_{1580} – относительная способность Гб выделять лиганды (в том числе, O_2), чем оно выше, тем меньше способность выделять лиганды.

I_{1580}/I_{1550} – вклад колебаний метиновых мостиков между пирролами в гемопорфирине, выраженных при деформации макроцикла – где гемопорфирин растянут и деформирован, либо имеет компактную недеформированную конформацию (характеризует сродство Гб к лигандам, в частности к кислороду). Чем оно выше, тем выраженнее сродство к лигандам.

$I_{1355}/(I_{1355}+I_{1375})$ – относительное количество комплексов дГб.

$(I_{1355}/I_{1550})/(I_{1375}/I_{1580})$ – сродство Гб к лигандам (в первую очередь, O_2).

I_{1618}/I_{1580} – относительное число комплексов Гб с $\text{NO}(\text{I})$.

I_{2850}/I_{2880} – отношение симметричных колебаний –СН метиленовых групп аминокислот к несимметричным колебаниям. Указывает на изменение липидной текучести мембраны. Чем выше соотношение, тем ниже плотность упаковки.

I_{2880}/I_{2930} – вклад колебаний Н метиленовых групп аминокислот, определяется конформационной подвижностью. При увеличении параметра увеличивается упорядоченность аминокислот и плотность упаковки аминокислот.

I_{2930}/I_{2850} – отношение вклада колебаний симметричных концевых метиленовых групп к симметричным колебаниям метиленовых групп аминокислот. Характеризует изменение полярности окружения аминокислот. Чем выше соотношение, тем ниже полярность окружения.

На рис. 1 стрелками показаны участки, где измерялись интенсивности пиков, а частотные сдвиги указаны ориентировочно.

Результаты и обсуждение

В ходе работы исследовали изменения конформации гемопорфирина Гб в растворе и в эритроците при действии переменного магнит-

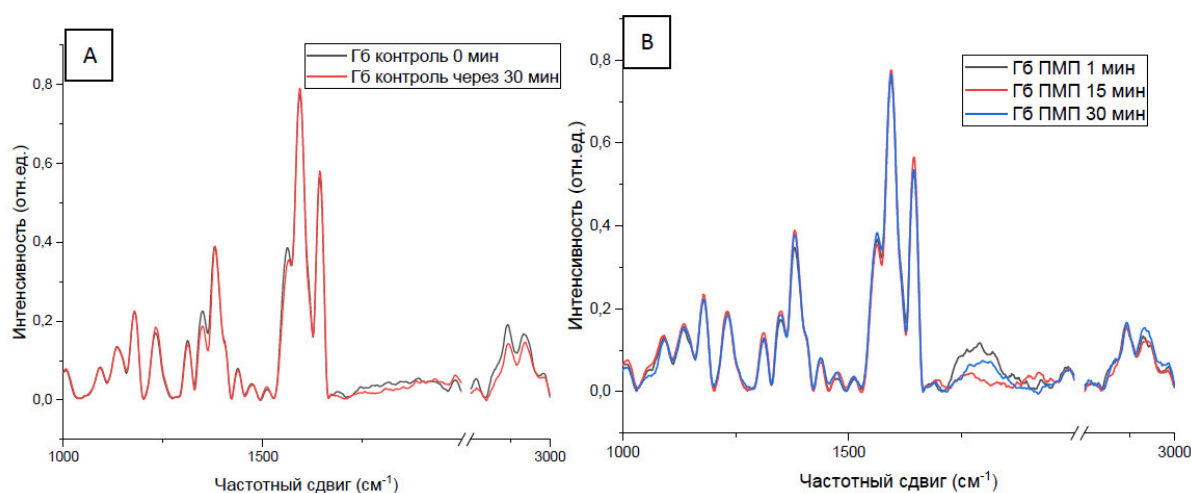


Рис. 2. Спектры КР гемоглобина: А – контроля в начале эксперимента и через 30 минут, В – опытной группы гемоглобина в начале эксперимента и после 15 и 30 минут воздействия ПМП. Группа II капилляр, шаг 1 минута

ного поля. Для оценки изменения конформации гема использовали соотношения интенсивности основных полос спектра КР крови для опытных и контрольной групп (рис. 2). Соотношение результатов опыт/контроль после 30 минут для экспериментов с выделенным Гб при воздействии ПМП представлены в табл. 2.

Определение соотношения интенсивностей полос спектра гемоглобина было проведено для всех выбранных соотношений пиков в обеих исследуемых группах с шагом 1 и 5 мин, также было проведено сравнение результатов доноров с ЛГ с результатами контрольной группы (рис. 3).

Установлено, что при действии ПМП на выделенный из эритроцита Гб изменяется конформация как гема, так и белка глобина (по

сравнению с контролем). Во всех экспериментах наблюдалась одинаковая тенденция в изменении конформации Гб, переход к Т-форме, что мы определяли по изменению соотношению полос I_{1375}/I_{1127} , которое свидетельствует об изменении конформации макропорфиринового цикла в ответ на перераспределение атома железа. Изменения составляли от 1 до 15 %.

Интенсивности полос I_{1375}/I_{1172} характеризуют групповые колебания связей, связанных с полукольцами пиррола в гемопорфирине. Изменение этого соотношения может означать конформационные изменения пиррола. Для всех экспериментов с выделенным гемоглобином наблюдается уменьшение этого соотношения. Отметим, что выявленные изменения

Таблица 2

Соотношение результатов опыт/контроль после 30 минут для экспериментов с выделенным гемоглобином при воздействии ПМП

| Отношение линий | Клетки после лечения | | | | Клетки доноров с ЛГ | | | |
|---|----------------------|---|-----------|---|---------------------|---|-----------|---|
| | Шаг 1 мин | * | Шаг 5 мин | * | Шаг 1 мин | * | Шаг 5 мин | * |
| I_{1375}/I_{1127} | 0,85 | – | 0,99 | – | 0,88 | – | 0,98 | – |
| I_{1375}/I_{1172} | 0,98 | – | 0,97 | – | 0,86 | – | 0,96 | – |
| I_{1375}/I_{1580} | 1,00 | – | 1,09 | + | 0,83 | – | 0,99 | – |
| I_{1580}/I_{1550} | 0,90 | – | 0,83 | – | 1,09 | + | 0,95 | – |
| $I_{1375}/(I_{1355}+I_{1375})$ | 0,995 | – | 0,94 | – | 0,96 | – | 0,99 | – |
| $(I_{1355}/I_{1550})/(I_{1375}/I_{1580})$ | 0,91 | – | 0,98 | – | 1,22 | + | 0,99 | – |
| I_{1618}/I_{1580} | 0,94 | – | 0,96 | – | 0,87 | – | 1,04 | + |
| I_{2930}/I_{2850} | 0,72 | – | 1,03 | + | 1,31 | + | 0,85 | – |
| I_{2880}/I_{2930} | 1,12 | + | 1,11 | + | 0,94 | – | 1,10 | + |

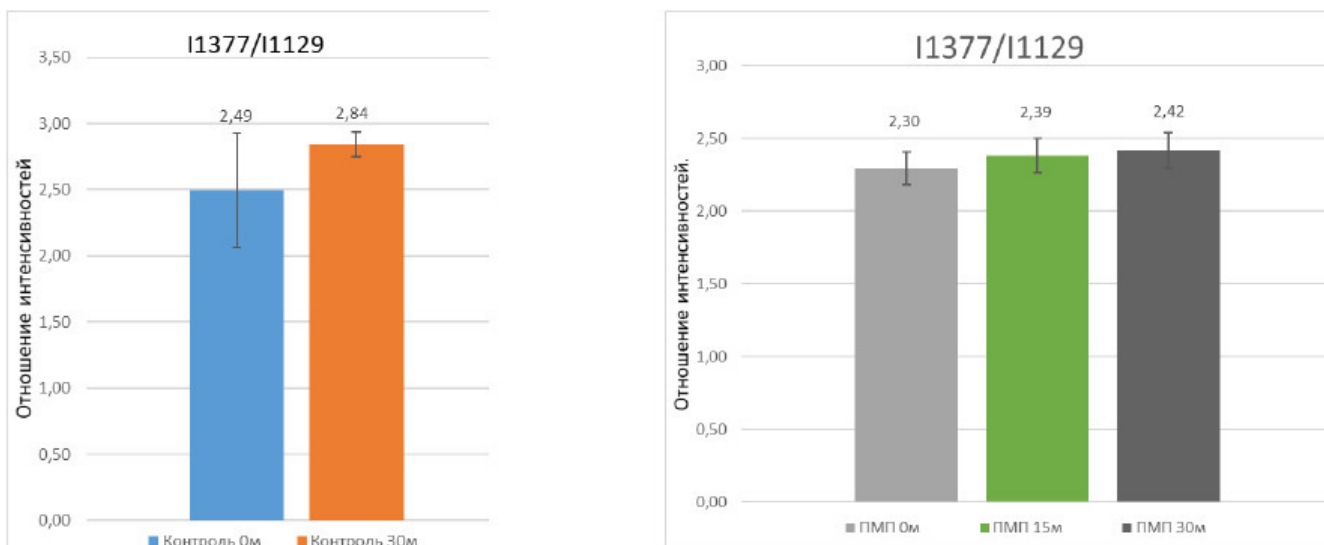


Рис. 3. Соотношения интенсивностей различных полос спектра гемоглобина с доверительными интервалами, полученные во всех проведённых экспериментах для группы II, шаг 1 мин

составляли 2 %, 3 % для клеток пациентов после лечения, и 14 % и 4 % для клеток больных ЛГ. Таким образом, воздействие ПМП различно для крови больных и пациентов прошедших лечение.

Соотношение интенсивностей пиков I_{1375}/I_{1580} для Гб из крови больных ЛГ повысилась (на 17 и 1 %), что свидетельствует об уменьшении способности гемоглобина выделять лиганды, а у гемоглобина крови больных после лечения наоборот, понизилась (на 9 % у одной группы, у другой изменения менее 0,5 %), что говорит об обратном эффекте.

Известно, что параметр спектра КР I_{1580}/I_{1550} характеризует деформацию гемопорфирина средство к лигандам, в частности к кислороду. Для большинства экспериментов наблюдалось понижение этого соотношения (на 10 и 17 % меньше в клетках здоровых, на 9 больше и на 5 меньше у больных), то есть средство к лигандам понизилось.

Согласно результатам, для соотношения $I_{1375}/(I_{1355}+I_{1375})$ относительное количество комплексов оГб уменьшилось, но незначительно (в одной группе менее чем на 0,5 %, в других изменения в 6, 4 и 1 %). А количество комплексов дГб увеличилось у всех групп на 1, на 9, на 8 и 3 %.

Известно, что соотношение интенсивности полос КР-спектра $(I_{1355}/I_{1550})/(I_{1375}/I_{1580})$, демонстрирующего средство Гб к лигандам, в первую очередь к кислороду, средство к лиган-

дам уменьшилось для всех групп (на 9, 2 и 1 %) кроме одной, где оно увеличилось на 22 %, этот гемоглобин относится к клеткам больных.

Известно, что отношение I_{1618}/I_{1580} характеризует число комплексов гемоглобина с NO без нарушения связи между белком и гемопорфирином. Для большей части экспериментов (3 из 4) наблюдается понижение числа этого комплекса (на 6, на 4 и на 13 %). Повышение наблюдается для одного эксперимента с Гб крови больных, где увеличение составило 4 %. Таким образом, данное воздействие увеличивает конкуренцию между азотом и кислородом за связывание с гемомом Гб.

Относительно плотности упаковки I_{2930}/I_{2850} , I_{2880}/I_{2930} , упорядоченности и полярности окружения аминокислот, в наших экспериментах были получены противоречивые результаты и общей тенденции не выявлено. Наблюдается как повышение, так и понижение, причём изменения для группы клеток больных и здоровых также не совпадают.

В следующей серии экспериментов исследовали действие ПМП на конформацию выделенного из эритроцитов Гб. Для экспериментов с исследованием изменений конформации Гб в эритроцитах (табл. 3) вероятность нахождения гема в Т-форме значительно выше, чем для выделенного гемоглобина (43, 53, 8 и 71 %) для одного эксперимента наблюдается наоборот, смещение к Т-форме (изменение составило 6 %). Установлено, что изменения конформации

Таблица 3

Соотношение результатов опыт/контроль после 30 минут для экспериментов с гемоглобином из эритроцита при воздействии ПМП

| Отношение линий | группа II (клетки после лечения) | | | | Группа I (клетки доноров с ЛГ) | | | |
|---|----------------------------------|---|---------------------|---|--------------------------------|---|---------------------|---|
| | Шаг 1 мин, капилляр | * | Шаг 5 мин, капилляр | * | Шаг 1 мин, капилляр | * | Шаг 5 мин, капилляр | * |
| I_{1375}/I_{1127} | 0,67 | - | 1,06 | + | 0,47 | - | 0,92 | - |
| I_{1375}/I_{1172} | 1,03 | + | 1,01 | + | 0,87 | - | 0,93 | - |
| I_{1375}/I_{11580} | 0,98 | - | 0,93 | - | 1,07 | + | 1,01 | + |
| I_{1580}/I_{1550} | 1,46 | + | 1,34 | + | 1,00 | - | 0,71 | - |
| $I_{1375}/(I_{1355}+I_{1375})$ | 1,11 | + | 1,06 | + | 1,06 | + | 0,95 | - |
| $(I_{1355}/I_{1550})/(I_{1375}/I_{1580})$ | 1,11 | + | 1,16 | + | 1,04 | + | 0,81 | - |
| I_{1618}/I_{1580} | 1,50 | + | 0,87 | - | 1,68 | + | 1,12 | + |
| I_{2850}/I_{2880} | 2,14 | + | 1,30 | + | 1,52 | + | 1,35 | + |
| I_{2930}/I_{2850} | 0,56 | - | 1,04 | + | 0,80 | - | 0,66 | - |
| I_{2880}/I_{2930} | 0,84 | - | 0,76 | - | 0,82 | - | 0,97 | - |

* – характер изменения, "+" – увеличение (>1), "-" – уменьшение по сравнению с контролем

пирролов были незначительными при исследовании эритроцитов крови больных после лечения: после лечения наблюдается повышение на 3 и 1 %, а для клеток с лёгочной гипертензией – понижение на 13, 7 и 31 %.

После лечения наблюдалось повышение способности Гб выделять лиганды I_{1375}/I_{1580} (на 2, 7, и 33 %). Для экспериментов с клетками больных, напротив, имеет место небольшое понижение на 7 и 1 %.

Для группы клеток доноров, прошедших лечение, наблюдалось значительное повышение выраженности сродства к лигандам. Эти изменения составляли 46, 34 и 46 % для группы клеток до лечения; повышения также либо вовсе не наблюдалось, либо наблюдалось значительное понижение сродства к лигандам.

Количество комплексов оГб немного повысилось в группе клеток после лечения (на 6 и 11 %). В группе клеток больных наблюдалось его понижение на 5 % для двух экспериментов, а для третьего повышение составило 6 %. Для комплексов с дГб наблюдается противоположная тенденция. Сродство гемоглобина к лигандам (в первую очередь к O_2) повысилось для большинства клеток (изменения составили 11, 16, 4 и 67 % при исследовании мазка с эритроцитами). Для одной группы клеток больных сродство понизилось на 19 %. Выявлено повышение относительного числа комплексов гемоглобина с NO на 50, 68, 12 и 21 %. Обратное изменение (13 %) наблюдается для группы клеток после лечения.

Полярность окружения аминокислот при действии ПМП повысилась на 44, 20, 33 %.

Противоположный эффект наблюдается у группы клеток после лечения (повышение составило 4 %).

Упорядоченность и плотность аминокислот понизилась для всех групп клеток. Изменения составили 14, 26, 18, 3 и 2 %. Во всех экспериментах наблюдается значительное понижение плотности упаковки липидной мембраны, и как следствие, увеличение текучести билипидного слоя (70, 48, 65 %).

Заключение

Итак, было установлено, что переменное магнитное поле оказывает воздействие на конформацию выделенного гемоглобина и на конформацию гемоглобина в эритроците, причем как на конформацию гема (железосодержащего участка – атом двухвалентного железа), так и на его белковую часть (глобина). Следовательно, меняются и свойства гемоглобина, его способность связывать лиганды, в частности кислород, меняется уровень оГб и дГб, значительно увеличивается вероятность нахождения гемоглобина в Т-форме. Также выявлено изменение в полярности окружения аминокислотных остатков. Наблюдается понижение полярности окружения аминокислотных остатков. Упорядоченность и плотность аминокислот понизилась во всех образцах, однако в гемоглобине из эритроцитов наблюдаемое понижение намного больше, чем в образцах с выделенным гемоглобином. В экспериментах с эритроцитами наблюдается значительное повышение текучести клеточной мембраны.

Следует также отметить, что воздействие, оказываемое на гемоглобин доноров с легкой гипертензией и доноров, прошедших лечение, зачастую сильно различается, в отдельных случаях наблюдается диаметрально противоположное воздействие.

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта № FSRG-2021-0014 "Разработка и внедрение новых комплексных подходов исследования актуальных задач медицины, сельского хозяйства, промышленности, в том числе, обработки драгоценных камней, а также палеонтологии, биологии, вирусологии с применением методов спектроскопии, микроскопии и радиационных технологий".

Список литературы

1. Vernadsky VI, McMenamin MA. The Biosphere; Langmuir DB, McMenamin MAS, Eds.; Copernicus Publisher: Goettingen, Germany, 1997; pp. 1–192, ISBN 10 038798268X, ISBN 13 9780387982687.
2. Keith M. L. Are environmental magnetic fields dangerous? *Physics World*. 1992; 5(1): 41.
3. Rongen EV. Effects of static magnetic fields relevant to human health. *Rapporteurs report: dosimetry and volunteer studies*. *Prog Bioph Mol Biol*. 2005; 87: 329-33.
4. Apel M, Heinlein U, Miltenyi S, et al. *Magnetism in Medicine*. 2007.
5. Tao R, Huang K. Reducing blood viscosity with magnetic fields. *Phys Rev E*. 2011; 84(1): 011905.
6. Shalaby TE, Shawki MM. Biophysical and biochemical changes in the characteristics of rat blood exposed to combined alternating and static magnetic fields. *Rom J Biophys*. 2006; 16(3): 169-80.
7. Sharma S, Singh U, Katiyar VK. Magnetic field effect on flow parameters of blood along with magnetic particles in a cylindrical tube. *J Magnetism Magn Materials*. 2015; 377: 395-401.
8. Varshney G, Katiyar V, Kumar S. Effect of magnetic field on the blood flow in artery having multiple stenosis: a numerical study. *Int J Eng, Sci Technol*. 2010; 2(2): 967-82.
9. Terumasa Higashi, Akio Yamagishi, Tetsuya Takeuchi, et al. Orientation of Erythrocytes in a Strong Static Magnetic Field. *Date Blood*. 1993; 82(4): 1328-34.
10. McKay JC, Prato FS, Thomas AW. A literature review: the effects of magnetic field exposure on blood flow and blood vessels in the microvasculature. *Bioelectromagnetics*. 2007; 28(2): 81-98.
11. Majewski PW, Gopinadhan M, Osuji CO. The effects of magnetic field alignment on lithium ion transport in a polymer electrolyte membrane with lamellar morphology. *Polymers*. 2019; 11(5): 887.
12. Amara S, Abdelmelek H, Sakly M. Effects of acute exposure to magnetic field on ionic composition of frog sciatic nerve. *Pakistan J Med Sci*. 2004; 20: 91-6.
13. Pauling L, Coryell CD. The magnetic properties and structure of hemoglobin, oxyhemoglobin and carbonmonoxyhemoglobin. *Proc Nat Acad Sci*. 1936; 22(4): 210-6.
14. Seiyama A, Maeda N, Shiga T. Analysis of the distribution of flowing erythrocytes in a model vessel under an inhomogeneous magnetic field. *Eur Biophys J*. 1996; 25(1): 1-7.
15. Friedman JM. Structure, dynamics, and reactivity in hemoglobin. *Science*. 1985; 228(4705): 1273-80.
16. Bruno SM, Bonaccio S, Bettati C, et al. High and low oxygen affinity conformations of T state hemoglobin. *Protein Sci*. 2001; 10(11): 2401-7.
17. Schenck JF. Health and physiological effects of human exposure to whole-body four-tesla magnetic fields during MRI. *Ann New York Acad Sci*. 1992; 649(1): 285-301.
18. Yang J, Zhang J, Ding C, Dong D, Shang P. Regulation of osteoblast differentiation and iron content in MC3T3-E1 cells by static magnetic field with different intensities. *Biol Trace Element Res*. 2018; 184(1): 214-25.
19. Atef MM, Abd Ei-Baset MS, Ell-Kareem A, Aida S. Effects of a static magnetic field on haemoglobin structure and function. *Int J Biol Macromolecules*. 1995; 17(2): 105-11.
20. Calabro E., Magazu S. Unfolding-induced in haemoglobin by exposure to electromagnetic fields: A ftir spectroscopy study. *Orient J Chem*. 2014; 30(1): 31-5.
21. Magazu S, Calabro E, Campo S, et al. New insights into bioprotective effectiveness of disaccharides: An FTIR study of human haemoglobin aqueous solutions exposed to static magnetic fields. *J Biol Phys*. 2012; 38(1): 61-74.
22. Хуторская ИА, Балашов ВП, Балькова ЛА и др. Анализ конформационных состояний гемопорфирина гемоглобина при различ-

ных видах физических нагрузок в эксперименте. Вестник новых медицинских технологий. 2016; 23(3): 55-61.

23. Ghodbane S, Lahbib A, Sakly M, et al. Bioeffects of static magnetic fields: oxidative stress, genotoxic effects, and cancer studies. *BioMed Res Int.* 2013; 2013.

INVESTIGATION OF HEMOGLOBIN CONFORMATION CHANGES IN PATIENTS WITH PULMONARY HYPERTENSION UNDER THE ACTION OF ALTERNATING MAGNETIC FIELD

S.N. Mamaeva¹, A.N. Pavlov¹, O.V. Slatinskaya², G.V. Maksimov^{2,3}

¹ M.K. Ammosov North Eastern Federal University, Yakutsk, Russia

² M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

³ National Research Technological University "MISIS", Moscow, Russia

The influence of magnetic field on human health is still not fully understood. The effects of short-term and long-term effects of both, strong and weak electric and magnetic fields are being actively studied. One of the main areas of research is the study of the effect of magnetic fields on the blood and on individual blood components, in particular the hemoglobin molecule. The purpose of this research work is to study of short term (1, 15 and 30 minutes) influence of 300 mT alternating magnetic field (AMF), which is equivalent to that observed from conventional sources of statistical magnetic field, on isolated hemoglobin, as well as on hemoglobin in erythrocytes of blood samples of donors with pulmonary hypertension before and after treatment with Raman spectroscopy. The effect of AMF on both the conformation of heme (iron-containing site) and its protein part (globin) has been established, hence the effect on the ability of hemoglobin to bind ligands, in particular oxygen. Change in the level of oxygenated and deoxygenated hemoglobin and an increase in the probability of finding hemoglobin in T-form were revealed. A change in the polarity of the environment of amino acid residues was also revealed. There was a decrease in the polarity of the environment of amino acid residues, as well as the ordering and density of amino acids. In experiments with erythrocytes, a significant increase in cell membrane fluidity was observed.

Key words: *magnetic field, hemoglobin, erythrocytes, pulmonary hypertension, Raman spectroscopy*

E-mail: sargylana_mamaeva@mail.ru