

УДК 579, 262:57.083.13, 537.868

ДИХРОИЧНЫЕ ОТНОШЕНИЯ КАК ХАРАКТЕРИСТИКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ СИСТЕМЫ

Р.Р. Асланян, Е.С. Лобакова, С.Ю. Королева, Е.С. Бабусенко, Г.А. Даллакян

(кафедра биоинженерии; e-mail: gena_b@mail.ru)

Установлено принципиальное отличие параметров спектральных характеристик поверхностных структур и целых клеток одноклеточных водорослей *Dunaliella tertiolecta* и *Tetraselmis viridis* до и после воздействия электромагнитного поля (ЭМП). Показано, что дихроичные отношения могут характеризовать степень адаптации культуры к изменяющимся условиям внешней среды.

Ключевые слова: электромагнитное поле, спектральные характеристики, дихроичные отношения, анизотропия.

Многие аспекты биологической эволюции, от зарождения жизни до развития социальной организации, рассматривают через отношения организма со средой обитания. Такая позиция обуславливается введением понятия “результат” в качестве универсального системообразующего фактора. “Само появление устойчивых систем с чертами саморегуляции стало возможным только потому, что возник первый результат этой саморегуляции в виде самой устойчивости, способной к сопротивлению к внешним воздействиям. Следовательно, регуляторная роль результата системы была первым движущим фактором развития системы, который сопровождал все эти этапы предбиологического, биологического и социального развития материи” [1].

Для того чтобы в системе происходили процессы саморегуляции, она должна быть “открытой”, в ней должны происходить постоянные притоки и оттоки вещества и энергии из внешней среды. «Простейшие живые существа нашей планеты представляют собой “открытые” системы, которые были связаны с окружающей средой через ряд химических превращений, начинающихся на границе живой мономолекулярной протоплазмы и продолжающихся в форме целой цепи отдельных реакций, заканчивающихся или вредным, или полезным для жизни итогом» [1].

Несмотря на то, что изменения в системе под воздействием меняющейся среды обитания носят приспособительный характер, адаптационные возможности систем не безграничны. В тех случаях, когда уровень изменения среды обитания приближается к пределу возможности, система оказывается в состоянии экологического и метаболического регресса [2].

Функционирование системы в значительной степени зависит от объема и скорости обмена информацией со средой обитания. Анализ информации можно осуществить на основе ее асимметрии (сим-

метрии). Чтобы прогнозировать переход системы в новое состояние, достаточно зафиксировать нарушение равновесия сил. Наличие предельных значений симметрии, а также периодичность ее изменения при переходе от одного этапа развития к другому и взаимодействию со средой обитания позволяют говорить о возможности прогнозирования развития живой системы. Нарушение симметрии можно регистрировать как во внешних структурах организма, так и в целой клетке, через изменение степени пространственной организации химических связей молекул биополимеров. Сопоставляя характер изменения направленности пространственной организации во внешних структурах с подобной характеристикой для целых клеток, вероятно, можно судить и о физиологическом состоянии культуры, связанном с возможностью ее адаптации к изменяющимся условиям среды обитания [3].

В настоящее время воздействие человека на окружающую среду принимает угрожающие масштабы. Необходимы осмысленные и целенаправленные действия, способные изменить ситуацию. Требуются обоснованные данные о воздействии на окружающую среду основных экологических факторов, наносящих ей вред — это отходы промышленно-бытового происхождения, теплоэлектроцентрали, от работы которых в воздух попадает сернистый газ, городской автотранспорт, загрязнение почвы пестицидами и много другое. Вызывает тревогу у экологов продолжающееся загрязнение Мирового океана нефтью и нефтепродуктами, достигающее уже 1/5 его поверхности.

Один из важнейших факторов, воздействующих на живой организм — электромагнитные поля (ЭМП) природного и техногенного происхождения: от крайненизкочастотных (3—30 Гц) до рентгеновских ($3 \cdot 10^{20}$ Гц). Принято выделять три основных вида биологической активности ЭМП: влияние на живые организмы электромагнитных процессов,

протекающих во внешней среде, участие внутренних электромагнитных процессов в жизнедеятельности организмов и электромагнитные взаимосвязи между организмами.

Быстрый рост количества искусственных источников ЭМП влечет за собой усиление электромагнитного загрязнения среды обитания. Есть основания полагать, что дальнейшее внедрение технологий с использованием ЭМП приведет к усугублению проблемы опасности неконтролируемой электромагнитной экспозиции населения.

Источниками ЭМП промышленной частоты 50 Гц являются электростанции, линии электропередач, городская система электроснабжения, железнодорожный транспорт и любой транспорт на электроприводе, а также радиовещательные и телевизионные передатчики и т.п. Источники ЭМП промышленной частоты, как правило, оказывают негативное воздействие на человека, животных, культурные и дикие растения, насекомых и микроорганизмы. Даже при кратковременном контакте человека с ЭМП может возникнуть целый комплекс неврологических проявлений и тяжелые патологические реакции. В отличие от сверхвысокочастотных воздействие низкочастотных ЭМП (50 Гц) изучено меньше, так как оно имеет часто скрытый характер и может проявляться через месяцы и даже годы [4–7].

Для контроля за состоянием среды обитания перспективно использовать живые организмы в связи с тем, что при определенных изменениях среды система откликается соответствующей реакцией. Она проявляется либо в количественном варианте (изменение количества биохимических компонентов), либо в качественном (изменение векторов градиентов биохимических компонентов и степень их пространственной организации). Ориентация отдельных химических связей с макромолекулярными компонентами клеток находит отражение в спектрах и может характеризовать *in vivo* организованность биосистемы в определенные отрезки времени. На основании спектральных данных можно получить информацию об изменениях в структуре клеток, так как спектральные характеристики связаны со строением молекул и атомов и отражают все изменения, происходящие в клетках в процессе воздействия внешних факторов, в том числе электромагнитных волн.

В ранее проведенной работе исследовалось воздействие ЭМП промышленной частоты 50 Гц на суспензию клеток посевного материала *Dunaliella tertiolecta* и *Tetraselmis viridis* и дальнейшее развитие культуры одноклеточных зеленых водорослей. Были получены данные о биохимических компонентах и их градиентах в поверхностных структурах и в целой неразрушенной клетке водорослей с использованием метода спектроскопии в неполяризованном свете [8].

Целью данной работы было получение информации об изменениях в структурной организации важнейших биополимеров клеток зеленых водорослей *Dunaliella tertiolecta* и *Tetraselmis viridis* после 6-часового воздействия ЭМП промышленной частоты на клетки инокулята. Используемый нами метод спектроскопии внутреннего отражения в поляризованном свете позволит решить эту задачу.

Материалы и методы

Водоросли *Dunaliella tertiolecta* и *Tetraselmis viridis* в стационарной фазе помещали в стеклянных ампулах в соленоид для облучения в течение 6 ч при температуре 20°. После облучения суспензию в качестве посевного материала вносили в колбы с питательной средой и инкубировали в течение 30 сут при температуре 20° и освещенности 3000 лк.

В качестве источника электромагнитного излучения использовали соленоид с напряженностью поля (H) 1400 А/м, частота переменного низкочастотного электромагнитного поля составляла 50 Гц.

Для анализа неразрушенных клеток в ИК диапазоне 1800–1200 см⁻¹ использовали неинвазивный метод многократно нарушенного полного внутреннего отражения (МНПВО) [9]. Спектральные характеристики, полученные этим методом в поляризованном свете, позволяют получить информацию о тех процессах, которые выражаются пространственной переориентацией отдельных (белковых, липидных и др.) макромолекул. Можно предположить, что преимущественная ориентация определенных химических связей в ансамблях макромолекулярных компонентов клеток находит отражение в спектрах и может характеризовать *in vivo* организованность биосистемы и ее функциональное состояние в определенный момент времени.

Для характеристики реакции клеточных структур водорослей *D. tertiolecta* и *T. viridis* на воздействие ЭМП проводили расчет дихроичных отношений по полосам поглощения белков амид 1 (A_1) и амид 2 (A_2), являющимися важнейшими биополимерами клеток. В опытах были использованы измерительные элементы из оптической керамики и германия, обеспечивающие проникновение света в клетку на глубину от 0,1 до 3,0 мкм. При записи спектров в параллельно поляризованном свете для анализа наиболее удобен угол падения светового потока $\theta = 45^\circ$. При этом в случае неупорядоченности (изотропности) распределения молекул, ответственных за поглощение в поляризованном свете, дихроичное отношение $A = D_{\parallel}/D_{\perp} = 2$. Любое же отклонение от этого значения характеризует преимущественную ориентацию химических связей клеточных структур [9]. Каждый вариант эксперимента проводился не менее чем в 3 повторностях. Ошибка в расчетах не превышала 10%.

Результаты и обсуждения

Ранее было установлено, что в результате воздействия ЭМП на инокулят одноклеточных водорослей в течение 6 ч прирост клеток к концу срока культивирования у *D. tertiolecta* по сравнению с контролем составлял 30%, а у *T. viridis* вовсе отсутствовал [7].

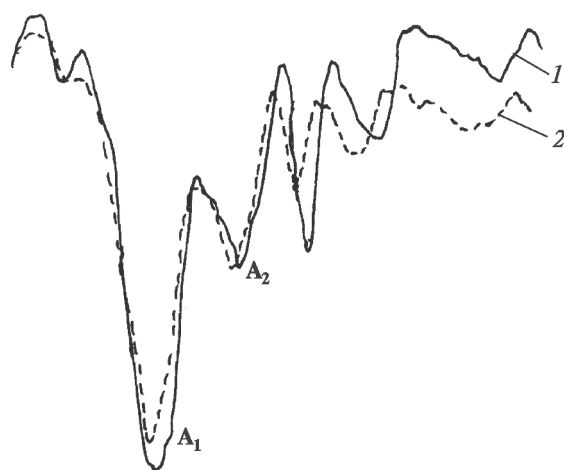
Различия полученных нами спектров в поляризованном свете согласуются с этими результатами. Спектры поглощения поверхностных структур и целой клетки по полосам A_1 после воздействия ЭМП у обеих культур остаются без изменения. Спектры поглощения по полосам A_2 после воздействия ЭМП у *D. tertiolecta* не искажены, однако у *T. viridis* они сильно трансформированы, что свидетельствует о значительных изменениях пространственной организа-

ции клеточных структур, т.е. о неупорядоченном распределении молекул (рисунок, А–Г).

В работах [10, 11] было установлено, что дихроичные отношения полос поглощения основных клеточных биополимеров водорослей *D. tertiolecta* и *T. viridis* имели значения больше или меньше 2 и изменялись в процессе развития культуры и условий внешней среды. Предполагалось, что целым неразрушенным клеткам свойственна упорядоченность (анизотропность).

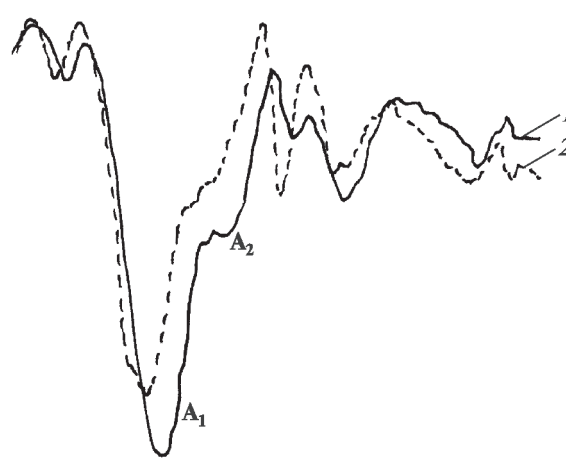
Исследования контрольных вариантов водорослей *D. tertiolecta* и *T. viridis* показали, что поверхностным структурам свойственна определенная степень неупорядоченности организации макромолекул, о чем свидетельствуют дихроичные отношения спектров, а целым клеткам свойственна определенная степень упорядоченности. Однако после воздействия

1800 1680 1560 1440 1320 1200 λ , cm^{-1}



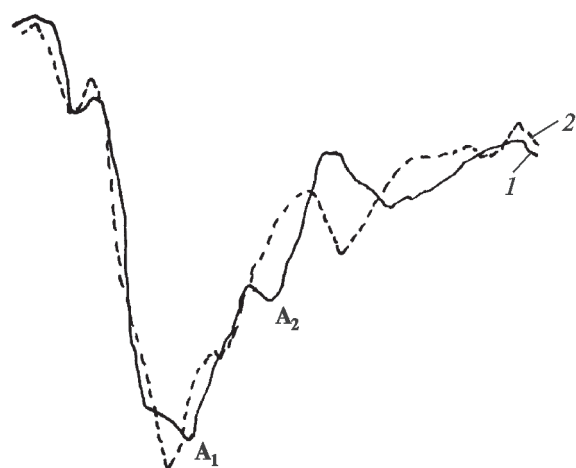
А

1800 1680 1560 1440 1320 1200 λ , cm^{-1}



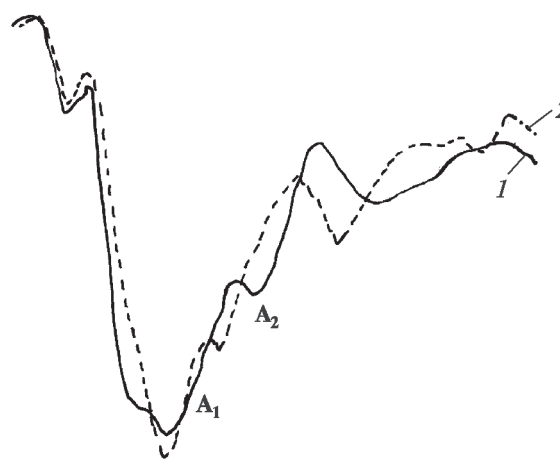
Б

1800 1680 1560 1440 1320 1200 λ , cm^{-1}



В

1800 1680 1560 1440 1320 1200 λ , cm^{-1}



Г

Спектры поверхностных структур и целых клеток *D. tertiolecta* и *T. viridis* в параллельно поляризованном свете. А — *D. tertiolecta*, поверхностные структуры; Б — *D. tertiolecta*, целые клетки; В — *T. viridis*, поверхностные структуры; Г — *T. viridis*, целые клетки.

Обозначения: амид1 — A_1 , амид2 — A_2 ; 1 — контроль, 2 — опыт

ЭМП изотропное состояние поверхностных структур резко увеличивается, затрагивая целую клетку.

Проведенные эксперименты показывают, что если в нормально развивающейся культуре дихроичные отношения поверхностных структур по полосе A_1 близки к 2, то система находится в неупорядоченном состоянии, но тогда для целой клетки дихроичные отношения значительно отличаются от 2, т.е. система перестраивается к упорядоченному состоянию. Правильно и обратное соотношение. Если же культура в результате внешних воздействий теряет способность к адаптации и нормальному развитию (в наших экспериментах это *T. viridis*), то рассмотренные соотношения не соблюдаются. Эксперименты показывают, что обычно величина дихроичных отношений колеблется от 0,5 до 4.

Расчет дихроичных отношений спектров культуры *T. viridis* из-за сильной трансформации полос поглощения A_2 был возможен только по полосе поглощения A_1 . В контроле дихроичные отношения спектров поверхностных структур составляли 3,1, в опыте, после воздействия ЭМП, — 3,6. В целых клетках до и после воздействия ЭМП величина дихроичных отношений составляла 1,9 и 3,8 соответственно.

Как правило, дихроичные отношения сравнивают по одной и той же полосе спектров, поэтому расчеты по спектрам *D. tertiolecta* проводили только по полосе A_1 .

Расчеты дихроичных отношений спектров показали, что для *D. tertiolecta*, которая была более устойчива к воздействию ЭМП, в контроле дихроичным отношениям спектров поверхностных структур соответствовало значение 1,9, в опыте, после воздействия ЭМП, — 3,9. В контрольных образцах дихроичным отношениям спектров целых клеток соответствовало значение 3,4, в опытных — 2,1. Полученные данные характеризуют нормально развивающуюся культуру, сохранившую адаптационные возможности в условиях эксперимента.

Поскольку дихроичные отношения отражают взаимодействие культуры со средой обитания, вероятно, что в результате воздействия ЭМП сте-

пень адаптации культуры *T. viridis* снижается и ее адаптационные возможности практически исчерпаны. Следовательно, дихроичные отношения могут характеризовать физиологическое состояние культуры и степень ее адаптации к изменяющимся условиям внешней среды.

Механизм воздействия ЭМП на биологические объекты до конца не ясен. Чувствительность биологических объектов к ЭМП во многом обусловлена структурной организацией и функционированием поверхностных структур, в том числе мембран [12, 13]. Мембранные структуры на 93% и более состоят из белков и липидов, соотношение между которыми меняется в зависимости от состояния системы. Они обладают выраженной упорядоченностью, материальная основа которой связана с характером распределения в пространстве слабых нековалентных связей — направленными градиентами их силы. Степень пространственной организации макромолекулярных комплексов может быть связана с изменением параметров химических связей. Если биологические макромолекулы рассматривать как волновые резонансные системы, то изменение этих параметров должно привести к изменению волновых процессов в данной системе. Повышение степени упорядоченности приводит к резкому сокращению разнообразия резонансных систем в пограничном слое. Напротив, неупорядоченность поверхностного слоя организма предполагает наличие большого количества молекулярных систем с разнообразным набором резонансных свойств, обеспечивающих возможность клетки обмениваться информацией со средой обитания, т.е. “открытость” системы [14].

Получены данные об изменениях в распределении и пространственной организации макромолекул важнейших биополимеров в поверхностных структурах и целой клетке водорослей до и после воздействия ЭМП. Анализ полученных данных позволяет рассматривать выявленные изменения в пространственной организации макромолекул важнейших биополимеров в клетке водорослей как объективный показатель реакции клетки на повреждающий фактор внешней среды.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анохин П.К. Очерки по физиологии функциональных систем. М.: Медицина, 1975. 446 с.
2. Абакумов В.А. Значение особенностей временной организации популяций в эволюционном процессе // Организация и эволюция живого (философские, историко-научные и теоретические аспекты проблемы). Л.: Наука, 1972. С. 112—116.
3. Гусев М.В., Королев Ю.Н. Эволюция и “открытость” живых систем (о взаимосвязи теории и эксперимента) // Вестн. Моск. ун-та. Сер. Биология. 2004. № 3. С. 3—12.
4. Григорьев Ю.Г., Григорьев О.А. Магнитные поля промышленной частоты: реальна ли опасность? // Энергия. 1999. № 6. С. 46—50.
5. Григорьев Ю.Г. Электромагнитные поля и здоровье человека. М.: РУДН, 2002. 177 с.
6. Бинги В.Н. Нетепловые биологические эффекты электромагнитных полей // Наука и технологии в промышленности. 2002. № 3(10)—4(11). С. 74—77.
7. Аслаян Р.Р., Тульский С.В., Григорян А.В., Бабусенко Е.С. Взаимодействие живой системы с электромагнитным полем // Вестн. Моск. ун-та. Сер. Биология. 2009. № 4. С. 20—24.
8. Аслаян Р.Р., Бабусенко Е.С., Королев Ю.Н. Нелинейная методология для анализа реакции системы на ЭМП промышленной частоты // Вестн. Моск. ун-та. Сер. Биология. 2010. № 2. С. 27—30.

9. Королев Ю.Н., Малахов Ю.И., Калабеков А.Л. Использование методов спектрометрии МНПВО для анализа биологических объектов // Измерительные технологии. 2002. № 8. С. 40—45.

10. Асланян Р.Р., Лебедева А.Ф., Бабусенко Е.С., Королев Ю.Н., Королева С.Ю. Культуры микроорганизмов как пример информационного взаимодействия // Вестн. Моск. ун-та. Сер. Биология. 2009. № 2. С. 19—25.

11. Асланян Р.Р., Королев Ю.Н. Исследование роста культуры одноклеточных зеленых водорослей методом неинвазивного анализа // Вестн. Моск. ун-та. Сер. Биология. 2007. № 3. С. 13—16.

12. Бинги В.Н. Физика взаимодействия живых объектов с окружающей средой. М., 2004. 230 с.

13. Кудряшов Ю.Б., Петров Ю.Ф., Рубин А.Б. Радиационная биофизика: радиочастотные и микроволновые электромагнитные излучения. М.: ФИЗМАТЛИТ, 2008. 184 с.

14. Гусев М.В., Королев Ю.Н. О взаимосвязи эволюции живых систем и их открытости // Синергетика. Т. 7. Проблемы открытости сложных эволюционирующих систем. М.: МГУ, 2004. С. 150—169.

Поступила в редакцию
29.05.10

DICHROIC RATIO AS THE CHARACTERISTIC OF THE FUNCTIONAL CONDITION OF THE SYSTEM

R.R. Aslanyan, E.S. Lobakova, S.U. Koroleva, E.S. Babusenko, G.A. Dallakyan

The data on the spatial organization of the major biopolymers in superficial structures and in the whole cell before and after influence an electromagnetic field are received. Dichroic ratio can characterize a degree of adaptation of culture in varied conditions of an environment have been showed.

Key words: *electromagnetic fields, spectral characteristics, dichroic ratio, anisotropic.*

Сведения об авторах

Асланян Рубен Рачикович — канд. биол. наук, вед. науч. сотр. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел. (495)939-25-87; e-mail: lbabus@mail.ru

Лобакова Елена Сергеевна — докт. биол. наук, проф. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел. (495)939-41-69; e-mail: gene_b@mail.ru

Королева Светлана Юрьевна — аспирантка, кафедра биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел. (495)939-25-87; e-mail: cordekor@list.ru

Бабусенко Елена Сергеевна — канд. биол. наук, доц. кафедры биотехнологии РХТУ им. Д.И. Менделеева. Тел. (495)495-23-79; e-mail: lbabus@mail.ru

Даллакян Генарис Арменакович — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры гидробиологии биологического факультета МГУ. Тел. (495)939-27-91, e-mail: honaris@bk.ru