

ДЛЯ ФІЗИЧНИХ ФАКТОРІВ НА БІОЛОГІЧНІ ОБ'ЄКТИ

Оригінальна стаття

<https://doi.org/10.26565/2075-3810-2022-47-04>

УДК 57.042:577.352

ВПЛИВ ІМПУЛЬСНИХ МАГНІТНИХ ПОЛІВ НАДНИЗЬКИХ ЧАСТОТ НА H_2O_2 - ТА Fe^{2+} -ІНДУКОВАНЕ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ В ЛІПОСОМАЛЬНИХ СУСПЕНЗІЯХ**В. С. Мартинюк^{id}, Ю. В. Цейслер^{id}***Київський національний університет імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська, 60,
м. Київ, Україна, 01033**e-mail: mavispublisher@gmail.com*

Надійшла до редакції 13 квітня 2022 р. Переглянута 10 червня 2022 р.

Прийнята до друку 15 червня 2022 р.

Актуальність. Тривалий час в експериментальній біології і медицині приділяється особлива увага вільнорадикальним процесам за участю активних форм кисню. В електромагнітній біології інтерес до вільнорадикального окиснення в біологічних мембранах значно підвищився завдяки відкриттю спінових механізмів дії магнітних полів на вільнорадикальні процеси. На даний час саме ці механізми розглядають в якості ключових у процесах магніторецепції в живих організмах. Ліпосоми, як найпростіші моделі біологічних мембран, часто використовують для вивчення первинних механізмів дії факторів різної природи на структурно-функціональні властивості клітинних мембран. Однак вплив магнітних полів наднизьких частот, що мають певне екологічне значення, на вільнорадикальне окиснення в ліпосомальних суспензіях вивчено недостатньо.

Мета роботи: з'ясування особливостей впливу імпульсних магнітних полів (ІМП) наднизьких частот на H_2O_2 - і Fe^{2+} -індуковане перекисне окиснення природних фосфоліпідів у ліпосомальних суспензіях.

Матеріали і методи. В роботі використовували ліпосомальні суспензії у фосфатному буфері рН=7,4. Згідно даним літератури і власних результатів по світлорозсіюванню середній діаметр ліпосом був біля 500 Å. Надслабке світіння ліпосомальних суспензій реєстрували за допомогою приладу, який працював в режимі рахунку окремих квантів світла. Він складався з світлоізолюючого кюветного блоку, де розміщували дослідні зразки, а також датчика температури та соленоїда, за допомогою якого створювали ІМП. Оптичний контакт зразків з фотоелектронним помножувачем здійснювали за допомогою світловоду. Реєструюча система складалася з ширококутового детектору світла — ФЕП-130, який знаходився при температурі -20°C . Для відокремлення корисного сигналу, що відповідав реєстрації окремих квантів світла хемілюмінесценції, використовували аналізатор імпульсів АІ-256. Напруження на ФЕП подавали в діапазоні вольтамперних характеристик ФЕП, в якому випадкові флуктуації напруги мінімально впливали на вимірювання корисного сигналу. Кількість квантів світла, яку реєстрували за певні інтервали часу, характеризувала загальну інтенсивність процесу вільнорадикального окиснення ліпідів у досліджуваних зразках. Імпульсне магнітне поле створювали за допомогою соленоїдної котушки, розташованої в кюветній частині. ІМП створювали за допомогою серійного генератора Г6-28. Імпульси магнітного поля були прямокутної форми зі змінною поляристю за один період коливань. Індукцію ІМП контролювали мікродесламетром Г-79. Вибір серії наднизьких частот

Як цитувати: Мартинюк В.С., Цейслер Ю.В. Вплив імпульсних магнітних полів наднизьких частот на H_2O_2 - та Fe^{2+} -індуковане вільнорадикальне окиснення ліпідів в ліпосомальних суспензіях. Біофізичний вісник. 2022;47:40–50. <https://doi.org/10.26565/2075-3810-2022-47-04>

Incites: Martynyuk VS, Tseyslyer YuV. Influence of impulse magnetic fields of extremely low frequencies on H_2O_2 - and Fe^{2+} -induced free radical lipid oxidation in liposomal suspensions. Biophysical Bulletin. 2022;47:40–50. <https://doi.org/10.26565/2075-3810-2022-47-04> (in Ukrainian)

Open Access. This article is licensed under a Creative Commons Attribution 3.0 <http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>

(5-80 Гц) і індукції (5–500 мкТл) ІМП був обумовлений їх екологічною і фізіологічною значущістю.

Результати. ІМП різних частот з індукцією 5 і 50 мкТл не впливало ($p > 0,05$) на H_2O_2 - і Fe^{2+} -індуковане окиснення ліпідів в ліпосомальних суспензіях. Статистично значущі зміни ($p < 0,05$) були зареєстровані тільки при експозиції ліпосомальних суспензій у ІМП з індукцією 500 мкТл. Встановлено, що дія ІМП частотою 8 Гц 500 мкТл достовірно пригнічувала H_2O_2 -індукований і підсилювала Fe^{2+} -індукований сплеск хемілюмінесценції. Цей ефект пов'язаний з пригніченням розпаду і накопиченням гідроперекисів фосфоліпідів, які у присутності іонів Fe^{2+} розпадаються і рекомбінують, що супроводжується більш потужною хемілюмінесценцією. Дослідження залежності динаміки інтенсивності хемілюмінесценції від частоти ІМП свідчить про наявність певної залежності ефектів у діапазоні до 30 Гц. При цьому інгібуючий вплив ІМП на H_2O_2 -індуковану фазу окиснення не завжди супроводжується достовірним підвищенням амплітуди Fe^{2+} -залежного спалаху хемілюмінесценції, що свідчить про загальний інгібуючий вплив ІМП на окремих наднизьких частотах.

Висновки. ІМП наднизьких частот достовірно впливає на вільнорадикальне окиснення в ліпосомальних суспензіях тільки при індукціях, які перевищують декілька сотень мікротесла. Це вказує на те, що в умовах вибраної мембранної моделі вплив ІМП на вільнорадикальні процеси реалізується переважно через спінові взаємодії, які визначають рекомбінацію вільних радикалів. Зниження індукції на один-два порядки, а також збільшення частоти ІМП вище 50 Гц призводить до зниження ефективності впливу цього фізичного фактору на інтенсивність вільнорадикального окиснення ліпідів в ліпосомальних суспензіях. Найбільш чутливою ланкою до впливу ІМП є H_2O_2 -індуковане вільнорадикальне окиснення ліпідів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: вільнорадикальне окиснення ліпідів; імпульсне магнітне поле; хемілюмінесценція; фосфоліпіди; ліпосомальні суспензії.

Тривалий час в експериментальній біології і медицині приділяється особлива увага вільнорадикальним процесам за участю активних форм кисню [1–3]. До активних форм кисню відносять $OH\cdot$, $O_2\cdot^-$, $HO_2\cdot$, H_2O_2 і O_2^* (синглетний кисень). У переважній більшості робіт вказується на пошкодуючу дію кисневих радикалів на біологічні структури. Однією з головних мішеней активних форм кисню є ліпіди біологічних мембран. Їх вільнорадикальне окиснення призводить до утворення перекисних продуктів, що суттєво змінює властивості біологічних мембран і порушує їх бар'єрні функції. Давно добре відомо, що активація вільнорадикальних процесів за участю активних форм кисню відбувається при різних патологічних станах і насамперед при різного роду запальних процесах [3–5]. Однак окремі дослідники відмічають позитивний вплив кисневих радикалів, які використовуються клітинними системами для різних задач, зокрема для енергетичних [6].

Чисельні дослідження довели, що вільнорадикальне окиснення ліпідів супроводжується надто слабким світінням. Його походження пов'язано із рекомбінацією перекисних радикалів, утворенням проміжних продуктів у електронно-збудженому стані. Перехід в основний, не збуджений, стан супроводжується випромінюванням квантів світла. Перекисне окиснення ліпідів в живих системах відбувається постійно і тому ще у 60-х роках минулого століття Тарусов Б. Н. запропонував використовувати інтенсивність надто слабого випромінювання біологічних тканин у якості одного з показників гомеостазу [7]. На цей час найбільш дослідженими є механізми надслабкого світіння при перекисному окисненні ліпідів в біологічних мембранах [1, 8, 9]. Дослідження кінетики вільнорадикальних процесів показало, що інтенсивність хемілюмінесценції можна використовувати у якості інтегрального показника, який характеризує швидкість реакцій даного типу як у розчинах, так і у біологічних тканинах [8, 9, 19].

В електромагнітній біології інтерес до вільнорадикальних процесів в біологічних мембранах значно підвищився завдяки відкриттю спінових механізмів впливу постійних магнітних полів на рекомбінацію вільних радикалів [10, 11]. На цей час саме

ці механізми розглядають в якості ключових в процесах магніторецепції у різних тварин [12, 13].

Ліпосоми, як найпростіші модельні системи біологічних мембран, часто використовують для дослідження первинних механізмів дії факторів різної природи на структурно-функціональні властивості клітинних мембран. Дослідження показали, що постійні магнітні поля впливають на окиснення ліпосомальних суспензій [14]. В інших дослідженнях встановлено зміни властивостей біліпідного шару ліпосомальних мембран під впливом електромагнітних полів [15, 16]. Однак вплив магнітних полів низьких і наднизьких частот на вільнорадикальне окиснення в ліпосомальних суспензіях хемілюмінесцентним методом вивчено недостатньо.

У зв'язку з цим метою дослідження було з'ясувати особливості впливу імпульсних магнітних полів (ІМП) наднизьких частот на H_2O_2 - і Fe^{2+} -індуковане перекисне окиснення природних фосфоліпідів у ліпосомальних суспензіях.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Ліпосомальні суспензії формували з фосфоліпідів яєчного жовтка, які отримували згідно [17]. Ліпосоми отримували авторським інжекційним методом, принцип якого було взято в [18]. Спиртові розчини фосфоліпідів готували у концентрації 10^{-2} М. Вказані розчини об'ємом 0,3 мл за допомогою інсулінового шприцу на 1 мл з внутрішнім діаметром голки 0,15 мм зі швидкістю 0,15 мл/с вносили у 29,7 мл 0,1 М фосфатного буфера рН=7,4 й одразу перемішували протягом 2 сек. Відповідно до результатів наших власних вимірювань методом спектру мутності [26] за таких умов формуються ліпосоми сферичної форми з середнім діаметром приблизно 500 Å.

Надслабке світіння реєстрували за допомогою реєструючої системи (рис. 1), що побудована за блоковим принципом із серійних реєструючих приладів, яка працювала в режимі рахунку окремих квантів світла. Система мала світлоізолюючий кюветний блок, де розміщували зразки, що досліджувались, а також датчик температури і соленоїд, за допомогою якого утворювали ІМП. Температура всередині даного блоку підтримувалась системою на основі водного термостату.

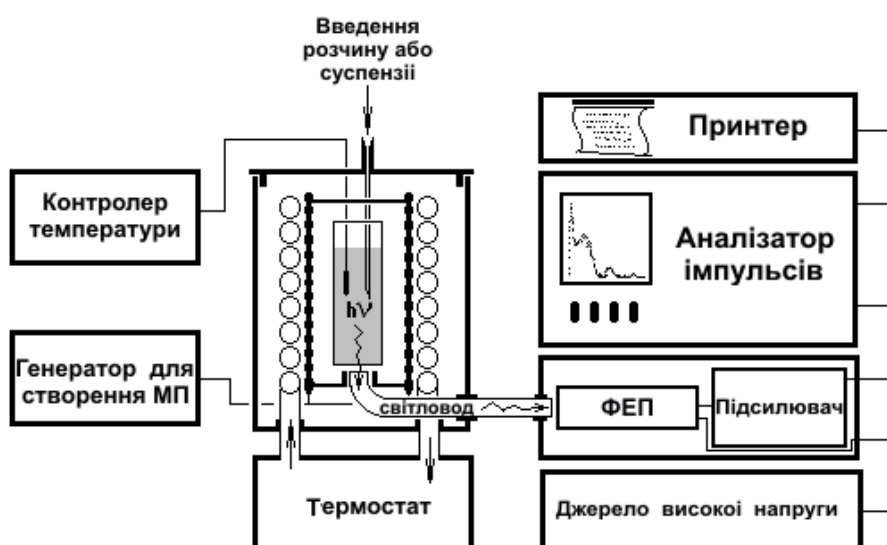


Рис. 1. Схема приладу для реєстрації хемілюмінесценції в режимі рахунку квантів.

Fig. 1. Scheme of the device for registration of chemiluminescence in the mode of quantum counting.

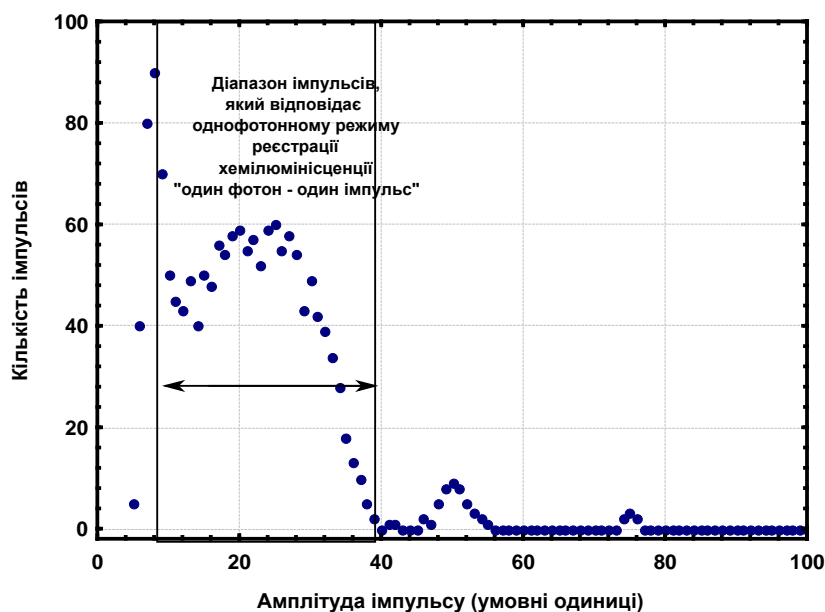


Рис. 2. Амплітудний розподіл імпульсів, які надходять з ФЕП на вхід аналізатора імпульсів. Стрілками показано робочий діапазон імпульсів, який відповідає хемілюмінесцентному сигналу в режимі «один фотон — один імпульс».

Fig. 2. Amplitude distribution of pulses coming from the photoelectronic amplifier to the input of the impulse analyzer. The arrows show the operating range of impulses, which corresponds to the chemiluminescent signal in the mode "one photon — one impulse".

Оптичний контакт зразків, що досліджували, з фотоелектронним помножувачем здійснювали за допомогою світловоду. Реєструюча система складалася з ширококутового детектора світла — ФЕП-130, який знаходився при температурі — 20°C. Імпульсні сигнали, які виникали внаслідок взаємодії фотонів світла з фоточутливим шаром ФЕП, надходили на узгоджуючий підсилювач і далі — в аналізатор імпульсів АІ-256, за допомогою якого отримували розподіл імпульсів за різними каналами залежно від їх амплітуди. Це дозволило відокремити корисний сигнал, який відповідав реєстрації окремих квантів хемілюмінесценції на фоні імпульсного шуму посилювача і ФЕП (рис. 2). Час накопичення імпульсів встановлювали експериментально залежно, з одного боку, від природи і концентрації речовин, які вступали в реакцію, а з іншого — від експериментальних умов і вимог, які забезпечували адекватну реєстрацію часової динаміки досліджуваних процесів.

Напруження на ФЕП подавали з таким розрахунком, щоб воно відповідало діапазону вольтамперних характеристик ФЕП, в якому випадкові флуктуації напруги мінімально впливали на вимірювання корисного сигналу.

Дані про кількість імпульсів у кожному каналі аналізатора у виділеному діапазоні виводились на спеціальний принтер і сумувались. Таким чином отримували інформацію про кількість квантів світла, які потрапляли у світловод, — світлосуму, яка у свою чергу характеризувала загальну інтенсивність процесу вільнорадикального окиснення ліпідів у дослідних зразках.

Імпульсне магнітне поле створювали за допомогою соленоїдної котушки, розташованої в кюветному блоці (рис. 1), та серійного генератора Г6-28, який дозволяє створювати магнітні поля встановлених частот і амплітуд. Імпульси МП були прямокутної форми зі змінною полярністю за один період коливань. Індукцію ІМП контролювали мікротесламетром Г-79.

Вибір серії наднизьких частот (5–80 Гц) та індукції (5–500 мкТл) ІМП був обумовлений їх екологічною і фізіологічною значущістю. Зокрема, на цей час Всесвітня організація охорони здоров'я і наукова громадськість акцентують увагу на тому факті, що електромагнітні поля наднизьких частот є одним з факторів забруднення навколишнього середовища, який може впливати на здоров'я людини [22, 23]. Водночас з цим, електромагнітні поля наднизьких частот, як біологічно активний фізичний фактор, використовують в медицині, особливо для купування болі, прискорення загоєння тканин, тощо [24, 25].

Протокол дослідження дозволяв отримувати достатні для отримання нормального розподілу статистичних вибірок отриманих даних. Тому статистичну обробку проводили за допомогою параметричних статистичних методів. В якості критерію достовірності різниць між показниками використовували t-критерій Ст'юдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Дослідження динаміки інтенсивності хемілюмінесценції показало, що додавання перекису водню у ліпосомальні суспензії викликало спалах світіння, який спадав протягом перших хвилин, після чого світіння суспензій виходило на новий стаціонарний рівень, який перевищував початковий фоновий рівень приблизно у 1,5 рази (рис. 3). Це вказує на те, що внесення 3% розчину H_2O_2 у ліпосомальні суспензії у співвідношенні 1:10 активує вільнорадикальне окиснення ліпідів, після чого процес виходить на відносно стаціонарний рівень. Така поведінка є типовою для систем, що моделюють вільнорадикальне окиснення в біологічних зразках [1, 19]. Внесення в систему іонів заліза Fe^{2+} у вигляді розчину сульфату заліза в кінцевій концентрації 10^{-4} М, що є потужним каталізатором перекисного окиснення ліпідів [1, 19], призводило до ще більш сильної активації вільнорадикального окиснення фосфоліпідів і виходу системи на більш високий рівень світіння (рис. 3).

З самого початку важливо відмітити, що ІМП різних частот з індукцією 5 і 50 мкТл не впливало ($p > 0,05$) на H_2O_2 - і Fe^{2+} -індуковане окиснення ліпідів в ліпосомальних суспензіях. Статистично значущі зміни ($p < 0,05$) були зареєстровані тільки при експозиції ліпосомальних суспензій у ІМП з індукцією 500 мкТл (рис. 3). Тому у подальшому мова буде йти тільки про результати дослідження із впливом ІМП з цими параметрами.

Встановлено, що дія ІМП частотою 8 Гц достовірно пригнічувала H_2O_2 -індукований і підсилювала Fe^{2+} -індукований сплеск хемілюмінесценції (рис. 3). При цьому стаціонарні рівні світіння мало відрізнялися один від одного. Така різниця окислювальної системи на вплив ІМП потребувала подальшого уточнення магніточутливих ланок перекисного окиснення ліпідів. Тому було проведено вивчення диференційного впливу ІМП, тобто або під час розвитку H_2O_2 -індукованого окиснення, або при внесенні іонів заліза, які ініціювали розпад перекису водню і органічних пероксидів.

Як показали результати досліджень, магніточутливою ланкою переважно є стадія H_2O_2 -індукованого окиснення (рис. 4). Тобто, якщо проводити вільнорадикальне окиснення перексидом водню без впливу ІМП, то при впливі цього фізичного фактору тільки на Fe^{2+} -індуковану стадію окиснення достовірних змін інтенсивності хемілюмінесценції не відбувається (рис. 4). Даний факт можна пояснити таким чином, що при H_2O_2 -індукованому окисненні вплив ІМП частотою 8 Гц пригнічує розпад і стимулює накопичення гідропероксидів фосфоліпідів, які при додаванні іонів Fe^{2+} піддаються подальшому окисненню, що супроводжується більш потужним випромінюванням квантів світла.

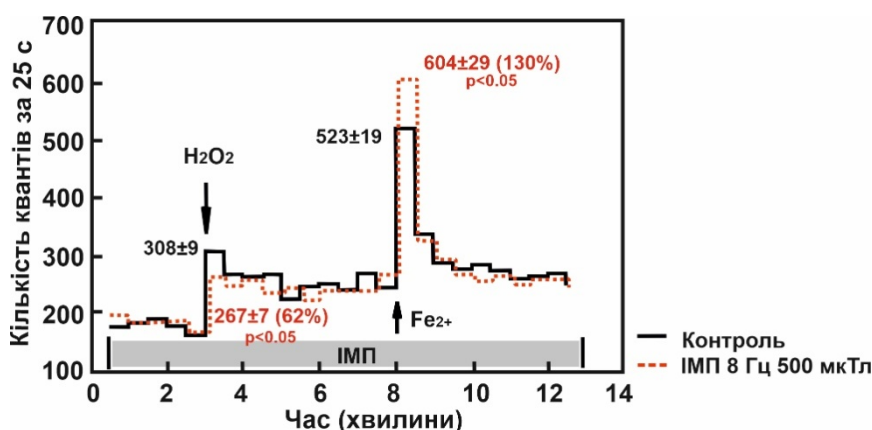


Рис. 3. Динаміка H_2O_2 - і Fe^{2+} -індукованої хемілюмінесценції ліпосомальних суспензій в контрольних умовах (суцільна лінія) і у режимі безперервного впливу ІМП 8 Гц 500 мкТл (штрих-лінія).

Примітки: цифрами біля ліній вказано середні значення та похибки середньої кількості квантів світла за час спалаху за 25 секунд, у скобках — величина сигналу відносно контрольних значень.

Fig. 3. Dynamics of H_2O_2 - and Fe^{2+} -induced chemiluminescence in liposomal suspensions for control conditions (solid line) and for the mode of continuous exposure to PMF 8 Hz 500 μT (dash line).

Notes: The numbers next to the lines indicate the mean values and mean errors of number of light quanta during the flash in 25 seconds, in parentheses — the value of the signal in % relative to the control values.

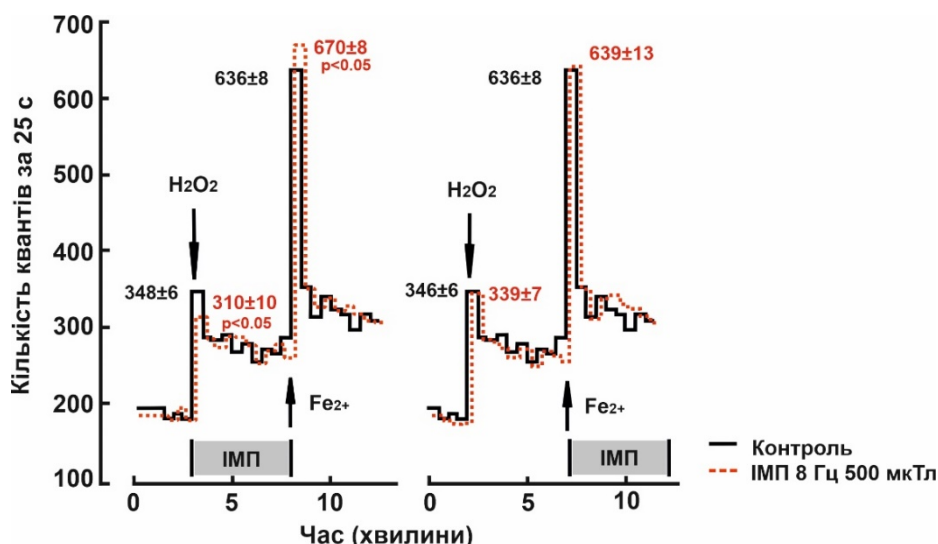


Рис. 4. Динаміка H_2O_2 - і Fe^{2+} -індукованої хемілюмінесценції ліпосомальних суспензій в контрольних умовах (суцільна лінія) та у режимі диференційованого впливу ІМП 8 Гц 500 мкТл (штрих-лінія).

Примітки: цифрами біля ліній вказано середні значення та похибки середньої кількості квантів світла за час спалаху 5 секунд, діапазони впливу ІМП позначені стрілками вздовж осі часу.

Fig. 4. Dynamics of H_2O_2 - and Fe^{2+} -induced chemiluminescence of liposomal suspensions for control conditions (solid line) and for the mode of differentiated influence of PMF 8 Hz 500 μT (dash line).

Notes: The numbers next to the lines indicate the mean values and mean errors of number of light quanta during the flash in 5 seconds, the ranges of the PMF are indicated by arrows along the time axis.

Аналіз отриманих результатів в контексті сучасних уявлень про механізми дії магнітних полів на вільнорадикальні процеси дозволяють зробити припущення про первинні механізми дії ІМП для даної моделі перекисного окиснення. ІМП наднизьких частот можна розглядати як квазістатичне, тому що тривалість магнітних імпульсів на багато порядків перевищує час життя радикальних пар у комірках розчинника. Таким чином, вплив ІМП може здійснюватися за механізмом спінової заборони [10, 11]. Даний механізм базується на тому, що МП по різному змінює частоту прецесії спінів окремих радикалів у радикальній парі, що змінює вірогідність їх рекомбінації. Це призводить до змін утворення тих чи інших продуктів реакції. Для ліпосомальної моделі можна припустити, що ІМП наднизьких частот сприяє рекомбінації ліпідних радикалів $\text{R}\cdot$ з радикалами $\text{HO}\cdot$, що призводить до зростання концентрації і накопичення гідропероксидів ROOH , розпад яких каталізують іони Fe^{2+} . При цьому, на рекомбінацію таких радикалів, як $\text{RO}\cdot$, які у більшій кількості утворюються при Fe^{2+} -індукованому окисненні, ІМП, ймовірно, суттєво не впливає.

Однак, може бути й інше пояснення. Зокрема, якщо ІМП підвищує вірогідність рекомбінації $\text{HO}\cdot$ -радикалів, що утворюються при розпаді перекису водню, то це буде еквівалентним зниженню витрат перекису водню, який є необхідним для ініціації вільнорадикального окиснення та його збереження у молекулярній формі. Тому зниження інтенсивності хемілюмінесценції у фазі H_2O_2 -індукованого окиснення може бути наслідком такого інгібуючого («антиоксидантного») впливу ІМП. Внесення іонів заліза в розчин буде призводити до розпаду не тільки органічних пероксидів, але й перекису водню, який не прореагував, що у свою чергу забезпечить більш інтенсивне вільнорадикальне окиснення і, як наслідок, — підвищення інтенсивності спалаху хемілюмінесценції.

Логічно припустити, що вказані шляхи впливу ІМП на перекисне окиснення ліпідів реалізуються одночасно.

Якщо такі пояснення є правильними, то величина інгібуючого ефекту повинна сильно залежати від індукції ІМП, але мало залежати від частоти у діапазоні наднизьких частот. Як було вказано вище, в експериментах з низькою індукцією ІМП ефекти дії цього фактору були практично відсутні. Аналіз літературних даних показує, що помітний і статистично значущий вплив МП на вільнорадикальні хімічні реакції починається з індукції МП 100–200 мкТл [11, 14], що також спостерігалось у наших експериментах. Таким чином, встановлені факти впливу ІМП індукцією 500 мкТл на вільнорадикальне окиснення фосfolіпідів, здається, цілком можна пояснити у рамках вищенаведених теоретичних поглядів.

Тим не менш, дослідження частотної залежності окремих характеристик динаміки інтенсивності люмінесценції показує наявність певної залежності ефектів у діапазоні до 30 Гц (рис. 5). При цьому інгібуючий вплив ІМП на H_2O_2 -індуковану фазу окиснення не завжди супроводжується достовірним підвищенням амплітуди Fe^{2+} -залежного спалаху хемілюмінесценції. Показник світлосуми також демонструє інгібуючий ефект на стадії H_2O_2 -ініційованого окиснення фосfolіпідів у смузї частот до 10 Гц. Однак на частоті 20 Гц інгібуючий вплив МП спостерігається для обох варіантів окиснення, тобто для H_2O_2 - і Fe^{2+} -індукованого окиснення (рис. 5).

Слід відмітити, що наявність певної частотної залежності вказує на те, що в основі первинних механізмів впливу можуть лежати різні фізичні явища. Добре відомо, що магнітні поля змінюють швидкість рекомбінації вільних радикалів [10, 11]. Діючи на радикальні пари магнітне поле може ініціювати або гальмувати їх синглет-триплетну конверсію і, як наслідок, впливати на їх рекомбінацію і, відповідно, на швидкість утворення продуктів вільнорадикального процесу.

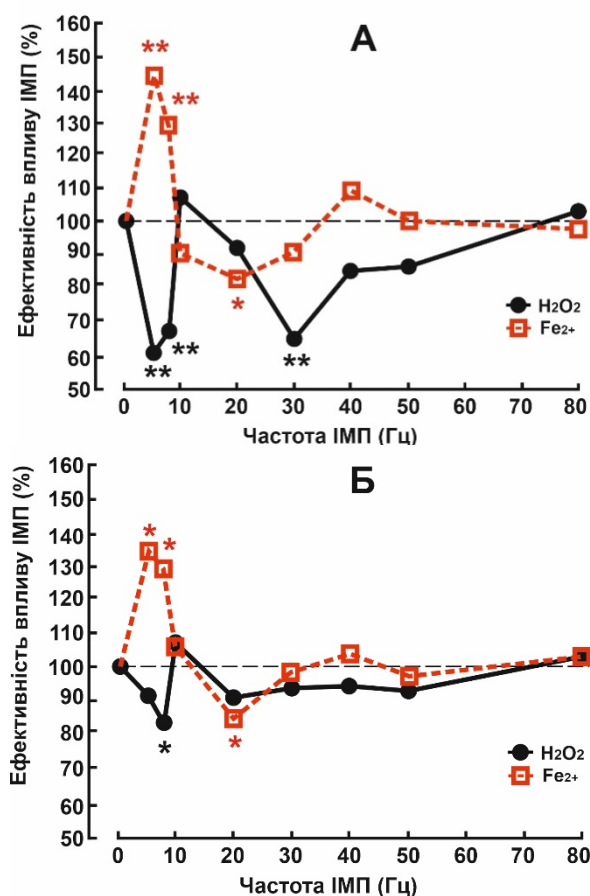


Рис. 5. Частотна залежність впливу ІМП 8 Гц індукцією 500 мкТл відносно контрольних значень на амплітуду спалаху (А) і світлосуму (сумарна кількість квантів за 5 хв. з моменту розвитку спалаху) (Б) H₂O₂- і Fe²⁺-індукованої хемілюмінесценції. За 100% прийнято контрольні значення.

Примітки: * — p<0.05, ** — p<0.01.

Fig. 5. Frequency dependence of the effect of PMF 8 Hz 500 μ T (in % relative to control values) on the amplitude of the flash (A) and light sum (total number of quanta in 5 minutes after the flash start) (B) for H₂O₂- and Fe²⁺-induced chemiluminescence. Control values were taken as 100%.

Notes: * — p < 0.05, ** — p < 0.01.

Швидкість синглет-триплетної конверсії тим вище, чим більше різниця g-факторів для пари вільних радикалів і вище напруженість магнітного поля. У випадку нашого експерименту імпульсне магнітне поле, що змінювалось за напрямом у діапазоні наднизьких частот, для реалізації даного механізму можна розглядати як квазістатичне. Саме тому при низькому напруженні магнітного поля у діапазоні 5–50 мкТл ми не спостерігали достовірних ефектів його впливу на вільнорадикальне окиснення ліпідів в ліпосомах. Питання щодо механізмів частотної залежності впливу магнітного поля індукцією 500 мкТл залишається дискусійним і, можливо, пов'язано з іншими первинними механізмами впливу. Серед таких кандидатів на цю роль можуть бути також фізичні явища, які пов'язані зі змінами властивостей водної фази і зсуву гідрофільно-гідрофобного балансу, що зрештою проявляється у змінах поверхнево-активних властивостей фосfolіпідів, а також гідрофільності/гідрофобності поверхні та інших фізичних властивостей мембран [20, 21], що у свою чергу повинно впливати на кінетику вільнорадикальних процесів в біліпідному шарі мембран.

ВИСНОВКИ

Таким чином, ІМП наднизьких частот достовірно пригнічує вільнорадикальне окиснення в ліпосомальних суспензіях тільки при індукціях, які перевищують декілька сотень мікروتесла. Це вказує на те, що в умовах вибраної мембранної моделі вплив ІМП на вільнорадикальні процеси реалізується переважно через спінові взаємодії, що визначають рекомбінацію вільних радикалів. Зниження індукції на один-два порядки, а також збільшення частоти ІМП вище 40–50 Гц, призводить до суттєвого зниження ефективності впливу цього фізичного фактору на інтенсивність вільнорадикального окиснення ліпідів у ліпосомальних суспензіях. Найбільш чутливою ланкою до впливу ІМП є H_2O_2 -індуковане вільнорадикальне окиснення ліпідів.

КОНФЛІКТ ІНТЕРЕСІВ

Автори повідомляють про відсутність конфлікту інтересів.

Authors' ORCID ID

V. S. Martynyuk  <https://orcid.org/0000-0002-5311-3565>

Yu. V. Tseyslyer  <https://orcid.org/0000-0001-7689-9620>

REFERENCES

- Vladimirov YA, Archakov AI. Perekisnoe okislenie lipidov v biologicheskikh membranah [Lipid peroxidation in biological membranes]. Moscow: Nauka; 1972. 250 p. (in Russian)
- Dickinson BC, Chang CJ. Chemistry and biology of reactive oxygen species in signaling or stress responses. *Nat Chem Biol.* 2011;7(8):504–11. <https://doi.org/10.1038/nchembio.607>
- Checa J, Aran JM. Reactive Oxygen Species: Drivers of Physiological and Pathological Processes. *J Inflamm Res.* 2020;13:1057–73. <https://doi.org/10.2147/JIR.S275595>
- Lipid Peroxides in Biology and Medicine. Kunio Yagi, editor. Academic Press; 1982. 364 p. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-768050-7.X5001-X>
- Yoshida Y, Umeno A, Shichiri M. Lipid peroxidation biomarkers for evaluating oxidative stress and assessing antioxidant capacity *in vivo*. *J Clin Biochem Nutr.* 2013;52(1):9–16. <https://doi.org/10.3164/jcfn.12-112>
- Voeikov VL. Fundamental role of water in bioenergetics. In: Belousov LV, Voeikov VL, Martynyuk VS, editors. *Biophotonic and Coherent Systems in Biology*. NY: Springer; 2007. p. 89–104. <https://link.springer.com/book/10.1007/978-0-387-28417-0>
- Tarusov BN, Ivanov II, Petrushevich YuM. Sverhslaboe svechenie biologicheskikh system [Extremely low luminescence of biological systems]. Moscow: MGU; 1967. 69 p. (in Russian)
- Vasil'ev RF. Hemiluminescenciya rastvorov [The chemiluminescence of solutions]. *Uspekhi fizicheskikh nauk [Successes of Physical Sciences]*. 1966;89(34):409–36. (in Russian)
- Zhuravlev AI. Spontannaya biohemiluminescenciya zhivotnykh tkanej [Spontaneous biochemiluminescence of animal tissues]. In: *Biochemiluminescence*. Moscow: Nauka; 1983. p. 3–30. (in Russian)
- Buchachenko AL, Sagdeev RZ, Salikhov KM. Magnitnye i spinovye efekty v biologicheskikh sistemah [Magnetic and spin effects in biological systems]. Novosibirsk: Nauka; 1978. 294 p. (in Russian)
- Sagdeev RZ, Salikhov RV, Molin YuN. Vliyanie magnitnogo polya na processy s uchastiem radikalov i tripletnykh molekul v rastvorah [Influence of magnetic field on processes with radicals and triplet molecules in solutions]. *Uspekhi himii [Advances in chemistry]*. 1977;46(4):569–601. (in Russian)
- Rodgers CT, Hore PJ. Chemical magnetoreception in birds: The radical pair mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009;106(2):353–60. <https://doi.org/10.1073/pnas.0711968106>
- Wong SY, Wei Y, Mouritsen H, Solov'yov IA, Hore PJ. Cryptochrome magnetoreception: four tryptophans could be better than three. *J R Soc Interface.* 2021;18:20210601. <https://doi.org/10.1098/rsif.2021.0601>
- Aristarkhov VM, Klimenko LL, Deev AI, Ivanekha VV. Vliyanie postoyannogo magnitnogo polya na processy perekisnogo okisleniya lipidov v membranah [Influence of static magnetic field on processes of lipid peroxidation in membranes]. *Biofizika [Biophysics]*. 1983;28(5):800–6. (in Russian)
- Ramundo-Orlando A, Mattia F, Palombo A, D'Inzeo G. Effect of low frequency, low amplitude magnetic fields on the permeability of cationic liposomes entrapping carbonic anhydrase: II. No evidence for surface enzyme involvement. *Bioelectromagnetics.* 2000;21(7):499–507. [https://doi.org/10.1002/1521-186X\(200010\)21:7<499::AID-BEM3>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/1521-186X(200010)21:7<499::AID-BEM3>3.0.CO;2-9)
- Rosen AD. Mechanism of action of moderate-intensity static magnetic fields on biological systems. *Cell Biochem Biophys.* 2003;39:163–73. <https://doi.org/10.1385/CBB:39:2:163>

17. Kucherenko NE, Vasil'ev AN. Lipidy [Lipids]. Kyev: Vysshaya Shkola; 1985. 248 p. (in Russian)
18. Patil YP, Jadhav S. Novel methods for liposome preparation. *Chem Phys Lipids*. 2014;177:8–18. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2013.10.011>
19. Tang L, Zhang Y, Qian Z, Shen X. The mechanism of Fe²⁺-initiated lipid peroxidation in liposomes: the dual function of ferrous ions, the roles of the pre-existing lipid peroxides and the lipid peroxy radical. *Biochem J*. 2000;352(1):27–36. <https://doi.org/10.1042/bj3520027>
20. Marron MT, Goodman EM, Sharpe PT, Greenebaum B. Low frequency electric and magnetic fields have different effects on the cell surface. *FEBS Letters*. 1988;230(1–2):13–6. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(88\)80631-8](https://doi.org/10.1016/0014-5793(88)80631-8)
21. Martynyuk VS, Panov DA Surfactant Properties of Natural Phospholipids in Media Treated with Extremely Low Frequency Magnetic Field. *Biophysics*. 2004;49(1):23–5.
22. Extremely low frequency fields. Geneva: World Health Organization; 2007. 519 p. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241572385>
23. Valberg PA. Magnetic Fields: Possible Environmental Health Effects. *Encyclopedia of Environmental Health*. 2011;545–57. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52272-6.00207-5>
24. Markov MS. Magnetic Field Therapy: A Review. *Electromagn Biol Med*. 2007 Jan;26(1):1–23. <https://doi.org/10.1080/15368370600925342>
25. Paolucci T, Pezzi L, Centra AM, Giannandrea N, Bellomo RG, Saggini R. Electromagnetic Field Therapy: A Rehabilitative Perspective in the Management of Musculoskeletal Pain – A Systematic Review. *J Pain Res*. 2020;13:1385–400. <http://doi.org/10.2147/JPR.S231778>
26. Bezrukova AG, Rozenberg OA. Determination of the parameters of liposomes by the turbidity spectrum method. *Bull Exp Biol Med*. 1981;91(4):553–5. <https://doi.org/10.1007/BF00836392>

INFLUENCE OF IMPULSE MAGNETIC FIELDS OF EXTREMELY LOW FREQUENCIES ON H₂O₂- AND Fe²⁺-INDUCED FREE RADICAL LIPID OXIDATION IN LIPOSOMAL SUSPENSIONS

V. S. Martynyuk^{ID}, Yu. V. Tseyslyer^{ID}

Taras Shevchenko National University of Kyiv, 60 Volodymyrska Str., Kyiv, 01033, Ukraine

e-mail: mavispublisher@gmail.com

Submitted April 13, 2022; Revised June 10, 2022;

Accepted June 15, 2022

Background: For a long time, special attention in experimental biology and medicine is paid to free radical processes involving reactive oxygen species. In electromagnetic biology, the interest in free radical oxidation in biological membranes has increased significantly due to the discovery of spin mechanisms of magnetic fields on free radical processes. In the present day, these mechanisms are considered to be key in the processes of magnetoreception in living organisms. Liposomes, as the simplest models of biological membranes, are often used to study the primary mechanisms of action of different factors on the structural and functional properties of membranes. However, the influence of ecological significant extremely low-frequency magnetic fields on free radical oxidation in liposomal suspensions has not been studied enough.

Objectives: The elucidation of the peculiarities of the influence of the extremely low frequency pulsed magnetic fields (ELF PMF) on H₂O₂- and Fe²⁺-induced peroxidation of natural phospholipids in liposomal suspensions.

Materials and methods: The liposomal suspensions in phosphate buffer pH=7.4 were used. According to the literature and own results on light scattering the average diameter of liposomes was about 500 Å. Ultra-weak chemiluminescence of liposomal suspensions was recorded using a device that operated in the mode of single photons counting. It consisted of a light-insulated cuvette unit where the test samples were placed, as well as a temperature sensor and a solenoid, which was used to create the PMF. Optical contact of the test samples with the photoelectron multiplier was carried out using a light guide. The recording system consisted of a broadband photomultiplier tube detector — FEU-130, which was at a temperature of –20°C. The pulse analyzer AI-256 was used to separate the useful signal that corresponded to the registration of single chemiluminescence light quanta. The voltage on the photomultiplier tube detector was applied in the range of current-voltage characteristics of this detector, in which a random voltage fluctuation had a minimal effect on the measurement of the useful signal. The number of light quanta that were recorded for defined time intervals characterized the overall intensity of the process of free radical oxidation of lipids in the experimental samples. The pulsed magnetic field was created using a solenoid coil located in the cuvette part. PMF was created using a serial generator G6-28. The magnetic field pulses were rectangular in shape with variable polarity for a period of oscillations. The induction of PMF

was monitored using microteslameter G-79. The series of extremely low frequencies (5–80 Hz) and induction (5–500 μT) of PMF was chosen due to their environmental and physiological significance.

Results: PMF of different frequencies with induction of 5 and 50 μT did not affect ($p > 0.05$) H_2O_2 - and Fe^{2+} -induced lipid oxidation in liposomal suspensions. Statistically significant changes ($p < 0.05$) were revealed only when liposomal suspensions were exposed to PMF with induction of 500 μT . It was found that the action of PMF with the frequency of 8 Hz 500 μT significantly inhibited H_2O_2 -induced and enhanced Fe^{2+} -induced chemiluminescence. This effect is associated with inhibition of the decomposition and with the accumulation of phospholipid hydroperoxides, which decompose and recombine in the presence of Fe^{2+} ions, which is accompanied by stronger chemiluminescence. The study of the dependence of the dynamics of the chemiluminescence intensity on the frequency of the PMF indicates the presence of a certain dependence of the effects in the range of up to 30 Hz. However, the inhibitory effect of PMF for the H_2O_2 -induced oxidation phase is not always accompanied by a statistically significant increase in the amplitude of Fe^{2+} -dependent light flash of chemiluminescence that indicates the general inhibitory effect of PMF at a certain frequency.

Conclusions: PMF of extremely low frequencies statistically significantly affects the free radical oxidation in liposomal suspensions only at inductions exceeding several hundred microteslas. This indicates the effect of PMF on free radical processes for the conditions of the selected membrane model is realized mainly through spin interactions that determine the recombination of free radicals. The decrease of induction by one or two orders of magnitude, as well as increasing in frequency of the PMF above 50 Hz, leads to a decrease in the effectiveness of the influence of this physical factor on the intensity of lipid-free radical oxidation in liposomal suspensions. The most sensitive to the influence of ELF PMF is the phase of H_2O_2 -induced free radical oxidation of lipids.

KEY WORDS: lipid free radical oxidation; extremely low frequency pulsed magnetic field; chemiluminescence; phospholipids; liposomal suspensions.