

ՀՀ ԿՐԹՈՒԹՅԱՆ, ԳԻՏՈՒԹՅԱՆ, ՄՇԱԿՈՒՅԹԻ ԵՎ ՍՊՈՐՏԻ
ՆԱԽԱՐԱՐՈՒԹՅՈՒՆ
ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ԳՐԻԳՈՐՅԱՆ ՍՎԵՏԼԱՆԱ ՎԱՀԱԳՆԻ

ՏԱՐԱԲՆՈՒՅԹ ԼԻԳԱՆԴՆԵՐԻ ՓՈԽԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ
ՄԱԿՐՈՄՈԼԵԿՈՒԼՆԵՐԻ ՀԵՏ ԳԲՀ ՄՄ ՏԻՐՈՒՅԹԻ ԱԼԻՔՆԵՐԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ
ՆԵՐՔՈ

Գ.00.02 – Կենսաֆիզիկա, կենսաինֆորմատիկա մասնագիտությամբ
կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի
գիտական աստիճանի հայցման ատենախոսության

ՍԵՂՄԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ 2026

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ, НАУКИ, КУЛЬТУРЫ И СПОРТА РА
ЕРЕВАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

ГРИГОРЯН СВЕТЛАНА ВААГНОВНА

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МУЛЬТИМОДАЛЬНЫХ ЛИГАНДОВ С МАКРОМОЛЕКУЛАМИ
ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ СВЧ ММ ВОЛН

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности
03.00.02 – Биофизика, биоинформатика

ЕРЕВАН 2026

Ատենախոսության թեման հաստատվել է Երևանի պետական համալսարանում

Գիտական ղեկավար՝ կենս. գիտ. դոկտոր, դոցենտ
Մարինե Աշոտի Փարսադանյան

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝ ֆիզմաթ. գիտ. դոկտոր, պրոֆեսոր
Յուրիկ Ստեփանի Բաբայան

կենս. գիտ. թեկնածու
Գայանե Ռաֆայելի Կիրակոսյան

Առաջատար կազմակերպություն՝ ՀՀ ԳԱԱ Լ. Օրբելու անվան
ֆիզիոլոգիայի ինստիտուտ

Ատենախոսության պաշտպանությունը տեղի կունենա 2026թ. փետրվարի 26-ին ժամը 14⁰⁰-ին, Երևանի պետական համալսարանում գործող ՀՀ ԲԿԳԿ-ի Կենսաֆիզիկայի 051 մասնագիտական խորհրդի նիստում (0025, Երևան, Ալեք Մանուկյան փ. 1, ԵՊՀ, կենսաբանության ֆակուլտետ):

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ Երևանի պետական համալսարանի գրադարանում:

Ատենախոսության սեղմագիրն առաքված է 2026թ. հունվարի 26-ին:

051 Մասնագիտական խորհրդի գիտական
քարտուղար, կենս. գիտ. դոկտոր, դոցենտ  Մ.Ա. Փարսադանյան

Тема диссертации утверждена в Ереванском государственном университете

Научный руководитель: доктор биол. наук, доцент
Парсаданян Маринэ Ашотовна

Официальные оппоненты: доктор физ.-мат. наук, профессор
Бабаян Юрий Степанович
кандидат биол. наук
Киракосян Гаяне Рафасловна

Ведущая организация: Институт физиологии
им. Л.А. Орбели НАН РА

Защита диссертации состоится 26-го февраля 2026г. в 14⁰⁰ часов на заседании Специализированного совета 051 по Биофизике КВОН РА при Ереванском государственном университете (0025, Ереван, ул. Алека Манукяна 1, ЕГУ, факультет биологии).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Ереванского государственного университета.

Автореферат диссертации разослан 26-го января 2026 г.

Ученый секретарь Специализированного совета 051,
доктор биол. наук, доцент  М.А. Парсаданян

Актуальность работы. Неионизирующие электромагнитные волны радиоволнового интервала (ЭМВ) на сегодняшний день занимают свое незаменное место почти во всех сферах нашей жизни. Следует отметить, что данный интервал в свою очередь имеет разные субклассификации, среди которых строго важное значение в сферах рутины, военной промышленности, урегулировании и создании космических объектов, имеют электромагнитные волны сверхвысоких частот (СВЧ) (3-30 ГГц) и крайне высоких частот (КВЧ) (30-300 ГГц). Электромагнитные волны КВЧ интервала по-другому называются ЭМВ миллиметрового диапазона (ММ) (1-10 мм). Естественный фон ММ ЭМВ не сильно высок в среде, однако его антропогенная интенсивность продолжительно растет в современном мире. Этот факт является огромным вызовом для систем, находящихся на любом уровне организации, с другой стороны, этот интервал воздействует на живые организмы, находящиеся на всех уровнях организации. Однако, плотность потока мощности ММ ЭМВ сохраняется на таком уровне, чтобы не проявлялись термические эффекты, тем не менее, наблюдается изменение различных физиологических критериев.

С этой точки зрения, в течение последних десятилетий одной из важных задач фундаментальной и прикладной науки является выявление механизмов воздействия этих волн на живые системы. В результате исследований многих ученых стало ясно, что механизмы воздействия многосторонние. В настоящем времени существуют несколько гипотез, среди которых широкое распространение получили гипотеза непосредственного влияния и гипотеза опосредованного влияния через воду на биологические системы. Вода во второй гипотезе имеет первостепенную роль, поскольку резонансные частоты молекул воды находятся именно в этом интервале – 50,3 ГГц, 51,8 ГГц, 64,5 ГГц и 100 ГГц. Следует отметить также, что часто эти два механизма могут иметь место одновременно.

В представленной работе исследовано влияние ММ ЭМВ резонансной и нерезонансной частоты для воды на структурные и функциональные особенности сывороточных альбуминов, а также на их взаимодействие с различными низкомолекулярными веществами – лигандами. Сывороточные альбумины были выбраны по двум причинам: исследовано влияние ММ ЭМВ на биосистему, находящиеся на молекулярном уровне и данный белок является одним из важнейших белков плазмы крови, который имеет важное значение в транспорте экзогенных и эндогенных веществ. Среди экзогенных веществ могут быть разные лекарственные препараты, поэтому важно выяснить, как ММ ЭМВ будет воздействовать на транспортные особенности альбумина. В работе проведены модельные исследования, направленные на определение параметров взаимодействия альбумина с потенциальными лекарственными и биологически активными веществами. В роли таких веществ выбраны Hoechst 33258 (H33258), как ДНК-специфический лиганд; метиловый фиолетовый, как лекарственный препарат, применяемый при кожных заболеваниях; эритрозин В, как пищевой краситель и биодобавка, хотя его применение в различных странах спорный вопрос; акридиновый оранжевый, как важный потенциальный лекарственный препарат, применяемый при аутоиммунных заболеваниях.

Цель и задачи исследования: Целью диссертационной работы было исследование изменений в конформации и функции комплексов биологически значимых низкомолекулярных веществ – лигандов с сывороточными альбуминами, индуцированных ММ ЭМВ резонансными и нерезонансными частотами для воды.

Для осуществления поставленной цели нами были приняты к решению следующие задачи:

- Изучение влияния ММ ЭМВ на спектральные свойства непосредственно после облучения, а также через 24 и 48 часов после облучения;
- Изучение влияния ММ ЭМВ на взаимодействие H33258 с ДНК и альбумином и сравнение полученных данных;
- Исследование влияния ММ ЭМВ на особенности взаимодействия альбумина с метиловым фиолетовым;
- Изучение влияния ММ ЭМВ на особенности взаимодействия альбумина с эритрозином Б;
- Исследование влияния ММ ЭМВ на особенности взаимодействия альбумина с акридиновым оранжевым.

Научная новизна: Впервые в работе проводилось комплексное исследование взаимодействия различных биологически важных лигандов с сывороточными альбуминами под воздействием ММ ЭМВ различных частот. На основании полученных данных показано, что:

- Воздействие ММ ЭМВ резонансных и нерезонансных частот для воды по-разному проявляется на спектральных свойствах альбумина через некоторые промежутки времени после облучения.
- Влияние ММ ЭМВ резонансных и нерезонансных частот для воды приводит к уменьшению сродства ДНК-специфического лиганда – H33258 с ДНК и альбумином.
- Влияние ММ ЭМВ резонансных и нерезонансных частот для воды приводит к ослаблению взаимодействия альбумина с метиловым фиолетовым.
- Воздействие ММ ЭМВ резонансных и нерезонансных частот для воды приводит к изменению стабильности комплекса эритрозина Б с альбумином.
- Воздействие ММ ЭМВ резонансных и нерезонансных частот для воды приводит к изменению взаимодействия альбумина с акридиновым оранжевым.

Основные положения, выносимые на защиту:

- Влияние ММ ЭМВ резонансных и нерезонансных частот на структурно-функциональные свойства сывороточного альбумина через определенные временные интервалы после облучения.
- Воздействие ММ ЭМВ резонансных и нерезонансных частот на особенности взаимодействия Hoechst 33258 с ДНК и сывороточным альбумином.
- Влияние ММ ЭМВ резонансных и нерезонансных частот на особенности взаимодействия метилового фиолетового с сывороточным альбумином.
- Влияние ММ ЭМВ резонансных и нерезонансных частот на особенности взаимодействия эритрозина Б с сывороточным альбумином.
- Влияние ММ ЭМВ резонансных и нерезонансных частот на особенности взаимодействия акридинового оранжевого с сывороточным альбумином.

Практическая ценность работы: Результаты, полученные в работе, позволяют получить представление о различных эффектах воздействия ММ ЭМВ на биосистему, находящуюся на молекулярном уровне организации. Полученные результаты четко показывают, что эти эффекты могут отличаться друг от друга при применении частот, резонансных и нерезонансных для воды. С другой стороны, одной из практических ценностей полученных в работе результатов является то, что показано, что низкомолекулярные вещества, которые попадают в кровоток и транспортируются посредством альбумина, в любом случае влияют на реализацию структуры и функции белка, что очень важно для сохранения гомеостаза целого организма.

Полученные в работе данные могут стать основой для дальнейших исследований в данной области. Они также могут быть использованы в специальных лекционных курсах для студентов соответствующих кафедр ЕГУ, а также в научных лабораториях, занимающихся исследованиями эффектов, имеющих место из-за воздействия ММ ЭМВ

различных частот на биологические системы, в частности на системы, находящиеся на молекулярном уровне организации.

Апробация работы: Материалы диссертации докладывались и обсуждались на семинарах кафедры биофизики ЕГУ и научной конференции: Актуальные вопросы биологической физики и химии, БФФХ 2024, Севастополь, Россия, 16-20 октября, 2024.

Публикации: По теме диссертации опубликовано 7 научных работ.

Структура и объем диссертации: Диссертационная работа состоит из введения, трех глав, заключения, выводов и списка литературы, насчитывающего 130 наименований. Диссертация изложена на 112 страницах, включает 24 рисунка и 10 таблиц.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во Введении кратко описывается структура диссертационной работы, обсуждаются ее цель, актуальность и научное значение.

Первая глава посвящена обсуждению имеющихся в научной литературе данных о биологических эффектах, индуцированных радио и микроволновыми электромагнитными волнами. Приводятся данные о прикладном значении миллиметровых волн в медицине. Обсуждаются данные о структуре и об основных функциях сывороточных альбуминов. Приводится обоснование значения изучения взаимодействий различных лигандов с сывороточными альбуминами.

Вторая глава посвящена материалам и методам исследования.

Использованные материалы. В экспериментах использованы следующие препараты: бычий сывороточный альбумин (БСА), сывороточный альбумин человека (САЧ), ДНК тимуса теленка, Hoechst 33258, метиловый фиолетовый, эритрозин Б, акридиновый оранжевый. Все препараты приобретены из фирмы Sigma (США) и использованы без дополнительной очистки. Для приготовления растворов использовались бидистиллированная вода и физиологический раствор. Для абсорбционных измерений концентрации препаратов определялись по следующим значениям коэффициентов экстинкции: $\epsilon_{280} = 43824 \text{ М}^{-1}\text{см}^{-1}$ для БСА, $\epsilon_{280} = 35700 \text{ М}^{-1}\text{см}^{-1}$ для САЧ, $\epsilon_{260} = 6600 \text{ М}^{-1}\text{см}^{-1}$ для ДНК и $\epsilon_{343} = 42000 \text{ М}^{-1}\text{см}^{-1}$ для Н33258, $\epsilon_{590} = 87000 \text{ М}^{-1}\text{см}^{-1}$ для метилового фиолетового, $\epsilon_{535} = 107000 \text{ М}^{-1}\text{см}^{-1}$ для эритрозина Б, $\epsilon_{490} = 35000 \text{ М}^{-1}\text{см}^{-1}$ для акридинового оранжевого. Растворы БСА, САЧ и ДНК облучались ММ ЭМВ с частотами 41,8, 50,3, 51,8 и 64,5 ГГц. Первая частота нерезонансная для воды, но воздействует на биологические системы, а остальные три частоты являются резонансными для воды. Продолжительность облучения составляла 1 час, что по ранним исследованиям является оптимальной. Усреднение данных произведено из 5-и полученных значений. Измерения проводились в термостатируемых ячейках, с использованием кварцевых кювет с длиной оптического пути 1 см, объемом 3 мл и герметически закрывающимися крышками. Во всех экспериментах ошибка составляла 5-10%.

Использованные приборы. Оптическую плотность образцов измеряли спектрофотометрически. В качестве источника облучения ММ ЭМВ применялись генераторы Г4-141 и Г4-142 (РФ), с рабочими диапазонами частот 37.50-53.57 ГГц и 53,57-78,33 ГГц соответственно и плотностью потока мощности 5 мВт/см², с мощностью на выходе 8 мВт. Частота выходного сигнала контролировали волномером СН2-25. Частота стабильности генератора в постоянном волновом режиме составляла $\pm 15 \text{ МГц}$. Облучение растворов образцов проводилось в дальней зоне цилиндрической антенны – отверстием размерами 32×32 мм на дистанции 250 мм от плоскости облучения антенны. Электромагнитное поле однородное, образец облучался сверху стеклянного контейнера с диаметром 6 см, где толщина раствора составляла 1 мм, что позволяло

лучам проникать в объем раствора. Облучение образцов проводилось в чашках Петри, которые были покрыты тонкой, прозрачной оболочкой, что препятствует испарению воды во время облучения. Специфический коэффициент абсорбции (SAR) составлял около 20 мкВт/кг, что меньше для индукции любого термического эффекта. Параллельно растворы БСА, САЧ и ДНК ложно облучались, когда они были расположены в зоне облучения, генератор был включен, но выходная мощность была приравнена нулю. В дальнейшем эти ложно облученные растворы применялись для контроля.

Спектры поглощения и флуоресценции были получены с помощью спектрофотометра UV-VIS Perkin Elmer Lambda 365 (США) и спектрофлуорометра Agilent Cary Eclipse (США). Спектры КД были получены с помощью спектрофотометра Olis™ DSM20 (США).

Спектры поглощения БСА регистрировались в интервале 250-300 нм, с учетом, что максимальное значение поглощения белка наблюдается при 280 нм. Спектры поглощения Н33258 в комплексе с БСА и ДНК регистрировались в интервале 300-700 нм. Спектры поглощения акридинового оранжевого и его комплексов с БСА регистрировались в интервале 220-560 нм. Концентрационное соотношение лиганд/биомакромолекула изменялось от 1/10 до 1/1.

Растворы комплексов белка с лигандами были помещены в соответствующих ячейках и температуру поднимали до 90°C со скоростью 0,5°C/мин. Термическую денатурацию проводили от 50°C и значения температуры и поглощения фиксировались через каждую минуту, при длине волны 280 нм.

Спектры флуоресценции Н33258 и его комплексов с ДНК и БСА регистрировали в интервале 400-600 нм, а возбуждение Н33258 проводили при 343 нм. Спектры флуоресценции метилового фиолетового и его комплексов с альбумином регистрировали в интервале 650-720 нм, с возбуждением при 590 нм. Спектры флуоресценции эритрозина Б и его комплексов с белком регистрировали в интервале 520-700 нм с возбуждением при длине волны 535 нм. Спектры флуоресценции акридинового оранжевого с БСА регистрировали в интервале 500-640 нм с возбуждением при длине волны 490 нм. Концентрационное соотношение лиганд/макромолекула менялось от 1/10 до 1/2.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение влияния электромагнитных волн миллиметрового диапазона на спектральные характеристики бычьего сывороточного альбумина. Проведены исследования для выяснения влияния ММ ЭМВ на структуру альбумина. На рис. 1 приведены спектры поглощения необлученных и облученных образцов альбумина. Как видно из рис. 1, по сравнению с необлученным альбумином, поглощение облученного образца с частотой 41,8 ГГц, непосредственно после облучения, резко повышается (кривая 2). Однако, через 24 часов после облучения, поглощение альбумина резко уменьшается (кривая 3). При облучении альбумина резонансной для воды частотой 51,8 ГГц, поглощение альбумина непосредственно после облучения уменьшается. Через 24 часа после облучения поглощение альбумина резко увеличивается, в то время как через 48 часов после облучения поглощение начинает уменьшаться, оставаясь выше, чем поглощение необлученного альбумина.

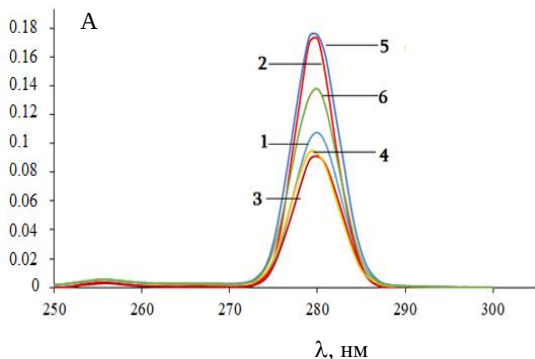


Рис. 1. Спектры поглощения необлученного (кривая 1) и облученных образцов (кривые 2-6) альбумина. Кривая 2 соответствует облученному образцу частотой 41,8 ГГц непосредственно после облучения, кривая 3 – частотой 41,8 ГГц через 24 часов после облучения; кривые 4-6 соответствуют облученным образцам альбумина частотой 51,8 ГГц непосредственно после облучения, через 24 и 48 часов после облучения.

Мы полагаем, что эти изменения, которые происходят при облучении частотой резонансной для воды, могут быть обусловлены изменениями степени гидратации в непосредственном окружении триптофановых остатков, либо изменениями структуры белка, либо этими двумя эффектами. Примечательно, что резонансные и нерезонансные частоты имеют разностороннее влияние. Поглощение молекул отражает силу осцилляции, в том случае, если хромофорная группа (триптофановые остатки) имеет относительно высокую степень свободы. На рис. 2 приведены спектры флуоресценции облученных и необлученных образцов альбумина. Как видно из рис. 2, интенсивность флуоресценции альбумина, облученного частотой 41,8 ГГц, несколько уменьшается (кривая 2) непосредственно после облучения, по сравнению с контролем. Однако, через 24 часа после облучения, интенсивность флуоресценции увеличивается (кривая 3), становясь выше, чем интенсивность необлученного альбумина.

Гиперхромность спектров флуоресценции гидрофобных молекул в водных растворах свидетельствует о том, что эти молекулы находятся в неполярной среде. Следовательно, через 24 часов после облучения структура альбумина изменяется таким образом, что не исключается перемещение триптофановых остатков в более гидрофобную среду.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что облучение ММ ЭМВ значительно влияет на водные растворы биомакромолекул, в результате чего меняются их некоторые характеристики. С другой стороны, влияние ММ ЭМВ уменьшается через 48 часов после облучения, в результате чего наблюдается восстановление конформации при облучении резонансной для воды частотой. Однако, то же самое не происходит при облучении альбумина нерезонансной частотой через 24 и 48 часов после облучения, поскольку конформация альбумина отличается от предыдущей. Мы полагаем, что облучение ММ ЭМВ приводит к таким изменениям водной среды альбумина, в результате чего изменяется упаковка белка, что и отражается на оптических характеристиках триптофановых остатков.

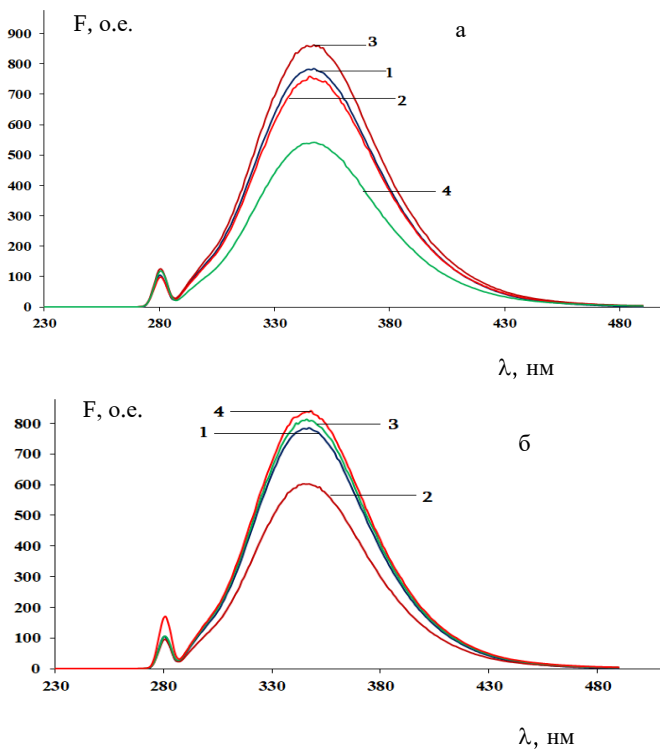


Рис. 2. Спектры флуоресценции необлученных (кривая 1) и облученных (кривые 2-4) образцов альбумина. Образцы альбумина облучены частотой 41,8 ГГц (а) и 51,8 ГГц (б). Кривые 2 соответствуют спектрам флуоресценции, которые получены непосредственно после облучения, кривые 3 – через 24 часов после облучения, кривые 4 – через 48 часов после облучения.

Изучение влияния электромагнитных волн миллиметрового диапазона на комплексообразование Hoechst 33258 с биомакромолекулами. Нами исследованы особенности взаимодействия Н33258 с ДНК и САЧ под воздействием ММ ЭМВ. Н33258 является ДНК-специфическим лигандом, поэтому интересно выяснить, как он будет взаимодействовать с САЧ при транспортировке кровотоком. Получены спектры поглощения Н33258 с ДНК и САЧ. Из спектров поглощения рассчитаны константы связывания Н33258 с ДНК и САЧ. Значения констант связывания представлены в таблице 1. Как видно из таблицы 1, облучение ММ ЭМВ растворов ДНК и САЧ приводит к уменьшению констант связывания. Уменьшение констант связывания почти в два раза свидетельствует о том, что облучение ММ ЭМВ частотой 50,3 ГГц влияет на доступность ДНК и САЧ таким образом, что сродство лиганда к макромолекуле уменьшается. По всей вероятности, вокруг макромолекулы вода структурируется, увеличивается упорядоченность молекул воды, вследствие чего связывание Н33258 с макромолекулой затрудняется. В случае сильного взаимодействия Н33258 в малом желобке ДНК затрудняется доступ молекул лиганда к АТ-богатым последовательностям

ДНК, поэтому константа связывания резко уменьшается. В случае слабого, электростатического взаимодействия Н33258 с фосфатными группами ДНК, происходит увеличение степени упорядоченности воды вокруг ДНК, в результате чего сила связывания снова уменьшается. С САЧ же Н33258 взаимодействует посредством водородных связей и ван-дер-Ваальсовых сил. В данном случае мы можем заключить, что вокруг молекулы САЧ степень гидрофильности возрастает, вследствие чего гидрофильные взаимодействия исчезают и связывание затрудняется. С другой стороны, водородные связи могут появляться между Н33258 и водой, что также уменьшит эффективность связывания Н33258 с САЧ. При облучении же частотой 41,8 ГГц, по сравнению с необлученным образцом, константа связывания Н33258 с ДНК почти не меняется при сильном и слабом способах связывания. В случае же взаимодействия Н33258 с САЧ константа связывания несколько увеличивается. Это может быть связано с тем, что облучение частотой 41,8 ГГц может непосредственно влиять на конформацию белка.

Таблица 1. Значения констант связывания Н33258 с необлученным и облученным ДНК и САЧ частотами 41,8 ГГц и 50,3 ГГц

Комплексы		Необлученные образцы ($K \cdot 10^{-5}$)	Облученные образцы, частотой 50,3 ГГц ($K \cdot 10^{-5}$)	Облученные образцы, частотой 41,8 ГГц ($K \cdot 10^{-5}$)
ДНК- Н33258	Сильный способ	105±0.5	58±0.2	101±0.3
	Слабый способ	1.1±0.05	0.52±0.05	1.3±0.08
САЧ-Н33258		0.33±0.02	0.15±0.02	0.41±0.01

Для подтверждения вышеприведенных предположений, проводились также флуоресцентные исследования. Получены спектры флуоресценции Н33258 с ДНК и САЧ (спектры не приводятся) при облучении частотами 41,8 ГГц и 50,3 ГГц. Поскольку спектры флуоресценции комплексов ДНК с Н33258 увеличивались, на основе спектров флуоресценции строились кривые тушения методом Штерна-Вольмера и рассчитаны значения констант тушения только для взаимодействия Н33258 с альбумином (рис. 3).

Из кривых Штерна-Вольмера видно, что облучение приводит к уменьшению констант тушения, при этом, в зависимости от частоты облучения, степень уменьшения K_{sv} разная. Так, при облучении ММ ЭМВ частотой 41,8 ГГц значение K_{sv} уменьшается в 1,2 раза по сравнению с необлученным образцом, в то время как при облучении частотой 50,3 ГГц оно уменьшается в 2,2 раза. Этот результат еще раз подтверждает предположение о том, что облучение ММ ЭМВ частотой 50,3 ГГц приводит к увеличению упорядоченности воды, в результате чего сродство Н33258 к САЧ уменьшается. При облучении же частотой 41,8 ГГц сродство Н33258 к САЧ увеличивается.

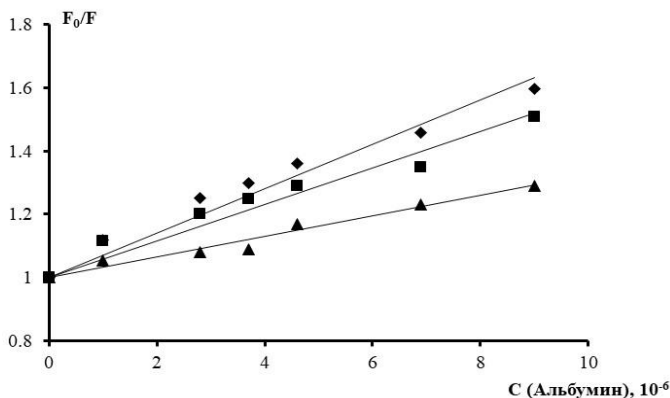


Рис. 3. Характеристические кривые Штерна-Вольмера при связывании N33258 с САЧ. Сверху вниз кривые соответствуют случаям без облучения и с облучением частотами 41,8 ГГц и 50,3 ГГц соответственно.

Изучение влияния электромагнитных волн миллиметрового диапазона на взаимодействие метилового фиолетового с сывороточным альбумином человека. Среди лигандов, являющихся лекарственными препаратами с различными физиологическими свойствами, метиловый фиолетовый (МФ) является важным соединением, благодаря его некоторым свойствам. На рис. 4 приведены кривые денатурации комплексов необлученного и облученного САЧ с МФ. Из рис. 4 видно, что облучение ММ ЭМВ дестабилизирует комплекс и степень дестабилизации разная, в зависимости от частоты. В таблице 2 приведены значения температуры денатурации и ширины интервала денатурации. Из табличных данных видно, что облучение ММ ЭМВ приводит к уменьшению температуры денатурации. Однако, облучение частотой 64,5 ГГц приводит к тому, что комплекс белок-лиганд денатурируется в более низких температурах, по сравнению с образцом, облученным нерезонансной 41,8 ГГц частотой. В то же время ширина интервала денатурации комплекса МФ-САЧ, облученным частотой 41,8 ГГц, не меняется значительно по сравнению с таковой, соответствующей контрольным образцам.

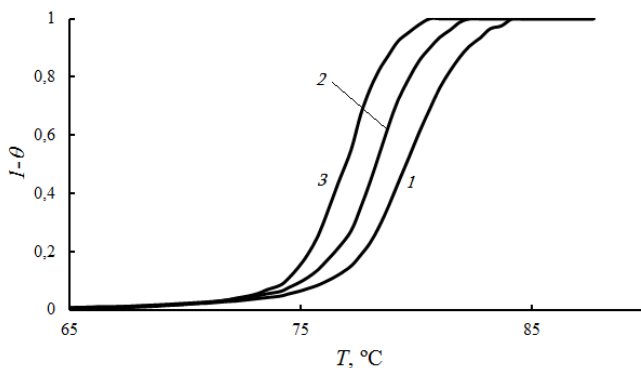


Рис. 4. Кривые денатурации комплексов САЧ-МФ (1), комплексов САЧ-МФ, облученных ММ ЭМВ частотами 41,8 ГГц (2) и 64,5 ГГц (3).

Таблица 2. Значения параметров денатурации необлученных и облученных комплексов САЧ-МФ

Комплексы	$T_m, ^\circ\text{C}$	$\Delta T, ^\circ\text{C}$
САЧ-МФ	84.5 ± 0.1	10.1 ± 0.4
Комплекс САЧ-МФ, облученный частотой 41,8 ГГц	83.8 ± 0.2	10.3 ± 0.5
Комплекс САЧ-МФ, облученный частотой 64,5 ГГц	80 ± 0.2	9.1 ± 0.5

Однако, ширина интервала денатурации комплекса САЧ-МФ, облученной частотой 64,5 ГГц, отличается от двух предыдущих. Этот факт связан с опосредованием воздействия через воду. Поскольку влияние ММ ЭМВ частотой 64,5 ГГц реализуется посредством воды, оно дестабилизирует структуру САЧ, что приводит к денатурации белка при низких температурах и относительно быстро.

Для выяснения стабильности образовавшегося комплекса проведены флуоресцентные исследования. Получены спектры флуоресценции МФ и его комплексов с САЧ (кривые не приводятся), на основании которых видно, что САЧ тушит флуоресценцию МФ по мере возрастания его концентрации. На основании спектров флуоресценции строились кривые Штерна-Вольмера при температуре 25°C (рис. 5). Из кривых Штерна-Вольмера рассчитаны значения коэффициентов тушения. Показано, что в отсутствие облучения $K_{SV}=6.5 \times 10^3$ л/моль, при облучении частотой 41,8 ГГц - $K_{SV}=3.8 \times 10^3$ л/моль, а частотой 64,5 ГГц - $K_{SV}=2.6 \times 10^3$ л/моль. Видно, что коэффициент тушения уменьшается при облучении ММ ЭМВ, по сравнению с ложно-облученными образцами. Более того, при облучении частотой 64,5 ГГц значение K_{SV} уменьшается больше, чем при облучении частотой 41,8 ГГц. Полученные данные находятся в соответствии с таковыми, полученными с помощью денатурации, показывая, что облучение уменьшает стабильность белка.

Для того, чтобы подтвердить имело ли место конформационное изменение белка или нет, проведены исследования методом КД спектроскопии. Спектры КД мы здесь не приводим, однако, из этих спектров ясно, что по мере увеличения концентрации МФ, спектры КД САЧ меняются, что свидетельствует о том, что происходит взаимодействие между САЧ и МФ. Спектры КД САЧ отличаются от таковых комплексов САЧ-МФ. Следует также отметить, что спектры КД комплексов САЧ-МФ, облученных частотой 64,5 ГГц, ведут себя так, как таковые необлученных комплексов, в то время как спектры комплексов САЧ-МФ, облученных частотой 41,8 ГГц, отличаются от таковых для необлученных образцов. Изменение формы спектра свидетельствует об изменении конформации белка вследствие облучения. Эти данные находятся в соответствии с таковыми, полученными ранее, свидетельствующие о том, что облучение частотой 41,8 ГГц влияет непосредственно на белок, в то время как облучение частотой 64,5 ГГц не меняет форму спектра, т.е. воздействие опосредовано через воду.

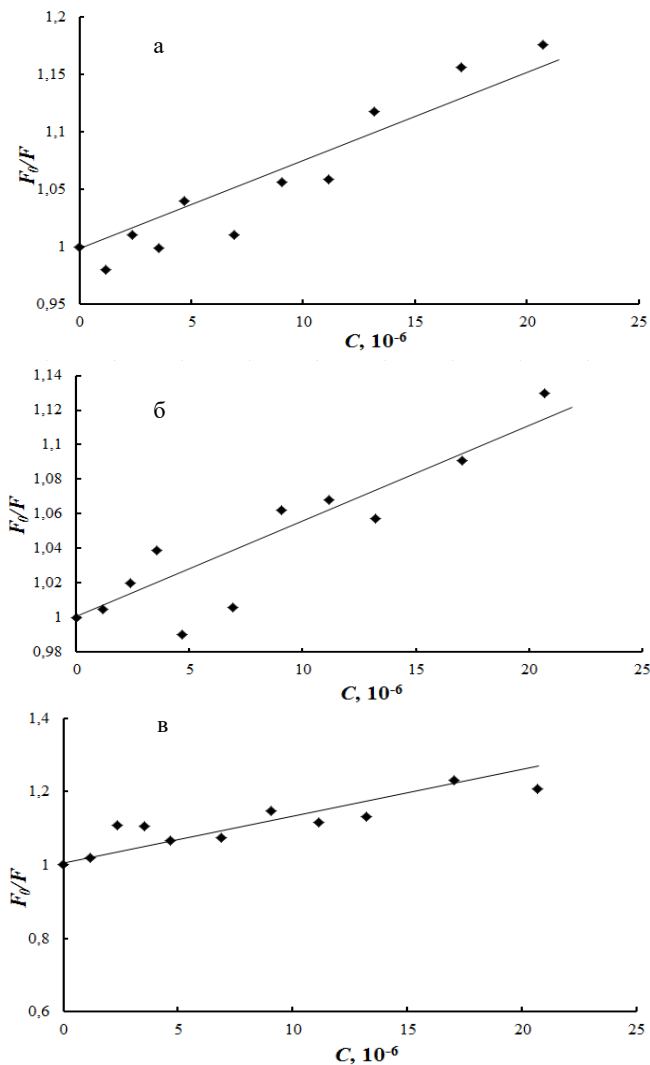


Рис. 5. Кривые Штерна-Вольмера для комплексов САЧ-МФ (а), САЧ-МФ, облученных частотой 41,8 ГГц (б), САЧ-МФ, облученных частотой 64,5 ГГц.

Изучение влияния электромагнитных волн миллиметрового диапазона на взаимодействие эритрозина Б с сывороточным альбумином. Одним из известных пищевых красителей и биодобавок является эритрозин Б, который широко используется в промышленности. При попадании в организм эритрозин Б транспортируется кровотоком, будучи связанным с сывороточным альбумином. С этой точки зрения интересно выяснить, как эритрозин Б связывается с альбумином и каким образом на их

связывание будут влиять ММ ЭМВ. На рис. 6 приводятся кривые денатурации БСА с эритрозином Б. Как видно из приведенного рисунка, по сравнению с необлученным БСА, облученный БСА образует более стабильный комплекс с эритрозином Б, что отражается сдвигом кривой денатурации в сторону более высоких температур. При этом, стоит отметить, что если при облучении БСА частотой 41,8 ГГц, сдвиг денатурации небольшой и составляет почти 1°C, то в случае облучения частотой 51,8 ГГц разница температур денатурации составляет почти 3°C. В таблице 3 приведены значения параметров денатурации – температура денатурации T_m и ширина интервала денатурации ΔT .

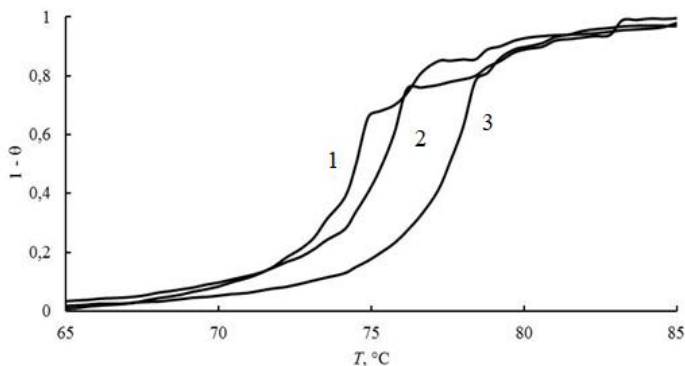


Рис. 6. Кривые денатурации комплексов БСА-эритрозин Б без облучения (1), при облучении частотой 41,8 ГГц (2) и при облучении частотой 51,8 ГГц (3).

Из данных, представленных в таблице 3, выявляется, что при облучении частотой 41,8 ГГц, ширина интервала денатурации практически не меняется по сравнению с необлученным образцом. При облучении БСА частотой 51,8 ГГц значение ΔT комплексов БСА-эритрозин Б повышается почти на 4°C.

Таблица 3. Значения параметров денатурации комплексов необлученных и облученных комплексов БСА-эритрозин Б

Параметр, °C	БСА-эритрозин Б	БСА-эритрозин Б, облученный частотой 41,8 ГГц	БСА-эритрозин Б, облученный частотой 51,8 ГГц
T_m	74.5 ± 0.5	75.3 ± 0.5	77.5 ± 0.4
ΔT	6.6 ± 0.1	6.5 ± 0.2	7.1 ± 0.1

Это свидетельствует о том, что облучение частотой 51,8 ГГц приводит к большей стабилизации, и соответственно оба параметра денатурации повышаются.

Проведены также исследования методом абсорбционной спектроскопии. Поскольку облучение частотой 41,8 ГГц не привело к значительным изменениям, то далее не будем рассматривать эту частоту. Получены спектры поглощения эритрозина Б и его комплексов с необлученными и облученными БСА (рис. 7).

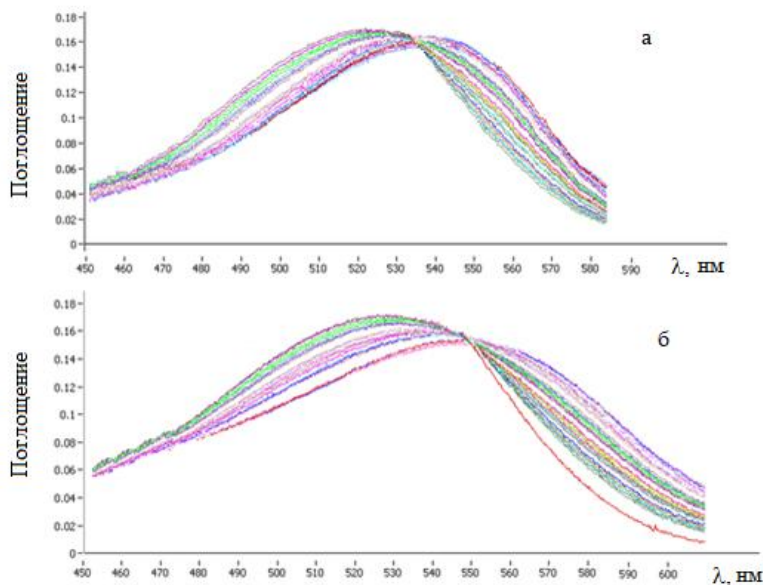


Рис. 7. Спектры поглощения эритрозина Б при облучении (а) и без облучения (б) БСА.

Как видно из приведенного рисунка, на спектрах поглощения эритрозина Б появляется изобестическая точка, что свидетельствует о том, что эритроцин Б находится в двух состояниях: свободном и связанном. В таблице 4 приводятся значения констант связывания и числа мест связывания эритрозина Б с БСА под воздействием ММ ЭМВ и без облучения. Из табличных данных видно, что сродство эритрозина Б к БСА довольно сильное, а при облучении БСА частотой 51,8 ГГц значения данных параметров возрастает.

Таблица 4. Значения параметров связывания эритрозина Б с необлученным и облученным частотой 51,8 ГГц БСА

Образец	$K, M^{-1}, \times 10^5$	n
БСА-эритроцин Б	3.2 ± 0.1	5
Облученный БСА-эритроцин Б	4.2 ± 0.2	6

Для подтверждения полученных результатов, приведены флуоресцентные данные. Получены спектры флуоресценции (спектры не приведены), на основании которых строились кривые Штерна-Вольмера и определены значения K_{SV} (табл. 5). Из значений K_{SV} становится ясно, что облучение частотой 51,8 ГГц приводит к повышению данного параметра, что свидетельствует о том, что интенсивность флуоресценции эритрозина Б уменьшается при взаимодействии с БСА. При облучении раствора БСА, уменьшение

интенсивности флуоресценции более ощутимо, что выявляется по значениям K_{sv} . Кривые Штерна-Вольмера построены в трех температурах, чтобы определить термодинамические параметры и, убедиться, что образуется комплекс, т.е. тушение статическое. Значения термодинамических параметров обобщены в таблице 6. Из табличных данных видно, что изменение энтальпии отрицательное при облучении частотой 51,8 ГГц, что означает, что, по всей вероятности, образуются дополнительные водородные связи и ван-дер-Ваальсовы взаимодействия между БСА и эритрозином Б. С другой стороны, изменение энтропии почти не наблюдается. Изменение свободной энергии Гиббса отрицательное и при облучении, и без него. Последний факт свидетельствует о том, что комплексообразование термодинамически выгодный процесс.

Для выяснения того, имели ли место конформационные изменения БСА или нет при облучении частотой 51,8 ГГц, проведены спектроскопические исследования методом КД (рис. 8). В случае отсутствия облучения, спектры КД совпадают, что свидетельствует о том, что эритрозин Б взаимодействует с БСА практически без конформационных изменений, в случае облучения частотой 51,8 ГГц КД спектр комплексов БСА-эритрозин Б меняется. Мы полагаем, что если облучение само не меняет конформацию БСА (рис. 8а, кривая 1), то связывание эритрозина Б с облученным БСА приводит к конформационному изменению.

Таблица 5. Значения коэффициента Штерна-Вольмера

Температура	БСА-эритрозин Б, л/моль, $\times 10^3$	БСА-эритрозин Б облученный частотой 51,8 ГГц, л/моль, $\times 10^3$
25°C	8.7	9.0
35°C	4.9	5.1
45°C	2.7	3.2

Таблица 6. Значения термодинамических параметров комплексов БСА-эритрозин Б без облучения и при облучении частотой 51,8 ГГц

Параметр	БСА-эритрозин Б	Облученный БСА-эритрозин Б
ΔH° , кДж/моль	-46.3	-40.75
ΔG° , кДж/моль	-21.7	-21.92
ΔS° , Дж/(моль·К)	-0,082	-0,083

Таким образом, облучение ММ ЭМВ частотой 51,8 ГГц приводит к стабилизации комплекса БСА-эритрозин Б, что сопровождается конформационными изменениями комплекса.

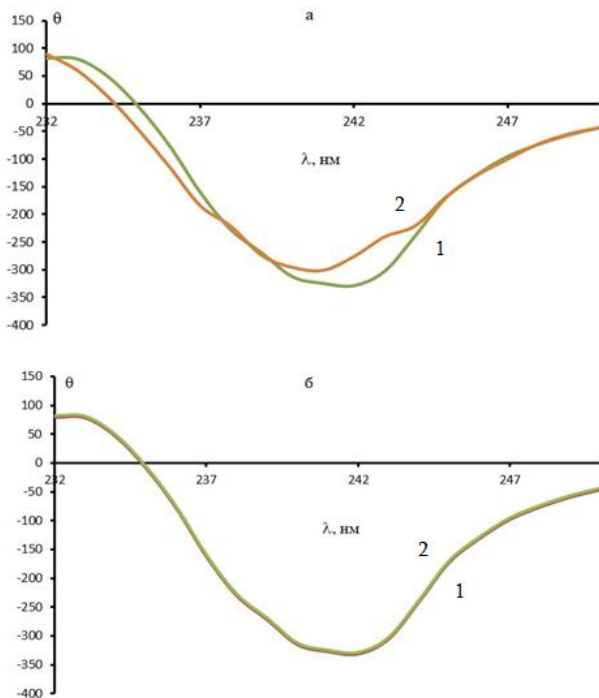


Рис. 8. Спектры КД БСА (кривая 1) и комплексов БСА-эритрозин Б (кривая 2). а – облученный частотой 51,8 ГГц образец, б – необлученный образец.

Изучение влияния электромагнитных волн миллиметрового диапазона на взаимодействие акридинового оранжевого с бычьим сывороточным альбумином. Акридиновый оранжевый (АО) является важным гетероциклическим веществом, из-за ряда свойств, в том числе применения в противоопухолевой терапии. Получены спектры поглощения комплексов АО с БСА (спектры не приводятся), когда раствор БСА облучался частотой 50,3 ГГц (спектры необлученных образцов совпадают с таковыми, облученными частотой 41,8 ГГц). Показано, что максимумы поглощения комплексов уменьшаются по мере титрации раствором БСА. Определены значения констант связывания, которые приведены в таблице 7.

Табличные данные показывают, что облучение приводит к возрастанию значения константы связывания, что означает, что облученный БСА связывается с АО сильнее, чем необлученный БСА. С другой стороны, облучение ММ ЭМВ частотой 50,3 ГГц приводит к возрастанию величины К почти в 1.2 раза. Число мест связывания почти не меняется для облученных и необлученных образцов.

Для подтверждения результатов, полученных методом абсорбционной спектроскопии, проведены также флуоресцентные исследования. На рис. 9 приведены спектры флуоресценции АО и его комплексов с БСА при облучении частотой 41,8 ГГц (а) и 50,3 ГГц (б). Спектры флуоресценции для необлученных образцов не приводятся, поскольку по форме совпадают с таковыми, облученными частотой 41,8 ГГц. Как видно

из рис. 9, интенсивность флуоресценции АО уменьшается по мере добавления раствора БСА.

Таблица 7. Значения констант связывания и мест связывания комплексов АО-БСА

Параметр	Комплексы АО-БСА	Комплексы АО-БСА, облученный частотой 41,8 ГГц	Комплексы АО-БСА, облученный частотой 50,3 ГГц
$K (\times 10^3 \text{ л/моль})$	5.1 ± 0.2	5.5 ± 0.3	6.2 ± 0.3
n	0.78 ± 0.02	0.77 ± 0.01	0.75 ± 0.02

Облучение раствора БСА частотой 50,3 ГГц, по всей вероятности, является следствием структурирования молекул воды вокруг БСА, что облегчает перемещение молекул АО в гидрофильную среду, при связывании с БСА. Для этих случаев рассчитаны коэффициенты Штерна-Вольмера и строились кривые Штерна-Вольмера (кривые не приводятся). Показано, что для необлученных комплексов БСА-АО $K_{sv} = 1.27 \times 10^3 \text{ л/моль}$, при облучении частотой 41,8 ГГц – $K_{sv} = 1.32 \times 10^3 \text{ л/моль}$, а при облучении частотой 50,3 ГГц – $K_{sv} = 1 \times 10^4 \text{ л/моль}$.

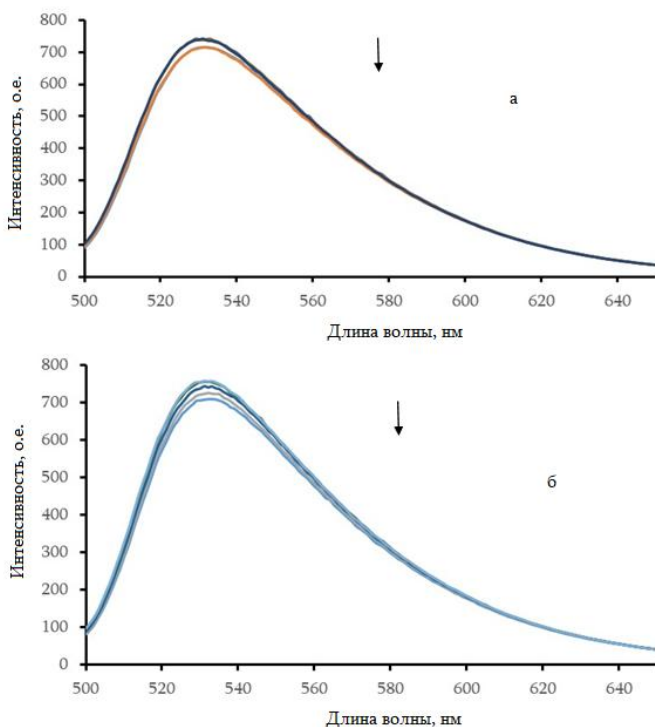


Рис. 9. Характеристические спектры флуоресценции АО и его комплексов с БСА при облучении частотами 41,8 ГГц (а) и 50,3 ГГц (б).

Из полученных данных можно заключить, что наибольшее значение коэффициента тушения Штерна-Вольмера получается в том случае, когда БСА облучается частотой 50,3 ГГц. Эффект же тушения необлученных комплексов БСА с АО наименьший, что подтверждает факт о том, что облучение БСА частотой 50,3 ГГц приводит к структурированию молекул воды вокруг растворенных молекул, вследствие чего сродство лиганда к протенину возрастает, по сравнению с необлученными образцами. Этот результат находится в соответствии с таковым, полученным методом абсорбционной спектроскопии.

Для подтверждения конформационных изменений в молекуле БСА, при взаимодействии с АО под воздействием ММ ЭМВ, проведены КД спектроскопические исследования. На рис. 10 представлены спектры КД БСА, комплексов БСА-АО после облучения и без него.

Как видно из рис. 10, спектры КД комплексов БСА-АО, когда БСА не облучен, или облучен частотой 50,3 ГГц не меняются по сравнению со спектром чистого БСА, что свидетельствует о том, что не происходят конформационные изменения. С другой стороны, спектры КД, облученных комплексов БСА-АО частотой 41,8 ГГц, меняются. Этот факт еще раз подтверждает, что облучение ММ ЭМВ частотой 41,8 ГГц непосредственно влияет на молекулу БСА, меняя его конформацию.

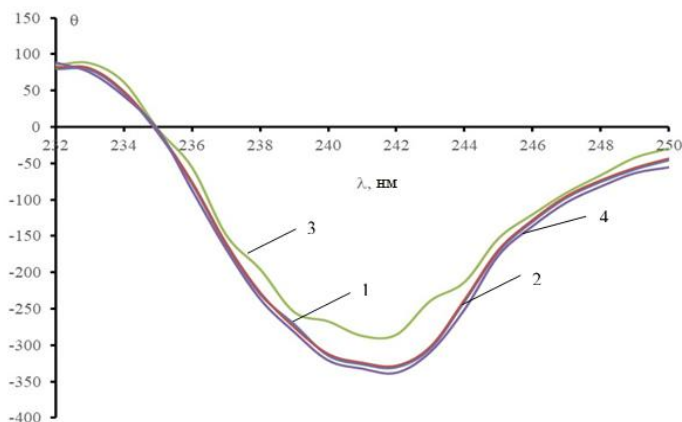


Рис. 10. Спектры КД БСА (1), необлученного комплекса БСА-АО (2), облученного комплекса БСА-АО частотой 41,8 ГГц (3), облученного комплекса БСА-АО частотой 50,3 ГГц (4).

ВЫВОДЫ

1. Электромагнитные волны миллиметрового диапазона значительно влияют на взаимодействие различных низкомолекулярных веществ – лигандов с сывороточным альбумином, что может иметь важное значение на аккумуляцию и транспорт лекарственных соединений посредством альбумина.
2. Исследование изменений спектральных свойств альбумина через некоторое время после облучения свидетельствуют о том, что нерезонансная частота (41,8 ГГц) непосредственно воздействует на структуру белка, в то время как влияние резонансной частоты (51,8 ГГц) опосредовано водой.

3. Облучение ММ ЭМВ частотами 41,8 и 50,3 ГГц ДНК и альбумина приводит к уменьшению их сродства к Hoechst 33258. При этом, уменьшение более ярко выражено при воздействии резонансной для воды частотой, в то время как при облучении нерезонансной частотой изменение незначительное.
4. При воздействии ММ ЭМВ частотами 41,8 и 64,5 ГГц ослабевает взаимодействие между альбумином и метиловым фиолетовым. При облучении частотой 41,8 ГГц конформация альбумина меняется, в то время как при частоте 64,5 ГГц эффект проявляется, будучи опосредованный через воду.
5. При воздействии на раствор альбумина частотами 41,8 и 51,8 ГГц, меняется стабильность комплекса альбумин-эритрозин Б, при этом, в случае нерезонансной для воды частоте в рамках ошибки она почти не отличается от необлученного случая, а при облучении частотой резонансной для воды стабилизация комплекса значительна и возрастает также сродство связывания.
6. При облучении раствора альбумина ММ ЭМВ частотами 41,8 и 50,3 ГГц, изменяется взаимодействие альбумина и акридинового оранжевого. В этом случае также при воздействии нерезонансной для воды частотой наблюдается конформационное изменение белка.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Vardevanyan P.O., Shahinyan M.A., Vardanyan A.V., Grigoryan S.V. Study of interaction of Hoechst 33258 with DNA and Human serum albumin under the influence of millimeter range electromagnetic waves. Proc. Of The YSU, Chem and Biol, 2021, 55(2), p. 136-143.
2. Вардеванян П.О., Шагинян М.А., Микаелян М.С., Григорян С.В. Исследование влияния ММ ЭМВ на комплексообразование Hoechst 33258 с биомакромолекулами. Актуальные вопросы биол физики и химии, 2022, т. 7(1), с. 40-44.
3. Vardevanyan P.O., Shahinyan M.A., Parsadanyan M.A., Grigoryan S.V., Kalantaryan V.P. Human serum albumin interaction with methyl violet under the influence of millimeter-range electromagnetic waves. J. of Cont. Physics (Arm Acad Sci), 2023, v. 58(2), p. 198-203.
4. Parsadanyan M.A., Shahinyan M.A., Grigoryan S.V., Mikaelyan M.S., Poghosyan G.H., Kalantaryan V.P., Vardevanyan P.O. Interaction of serum albumin with erythrosine B under the influence of millimeter-range electromagnetic waves. J. of Cont. Physics (Arm Acad Sci), 2023, v. 58(4), p. 428-434.
5. Grigoryan S.V. Study of spectral characteristics of bovine serum albumin under the effect of millimeter range electromagnetic waves. Proc of The YSU, Chem and Biol, 2024, 58(2), p. 126-132.
6. Parsadanyan M.A., Shahinyan M.A., Mikaelyan M.S., Grigoryan S.V., Poghosyan G.H., Vardevanyan P.O. Influence of millimeter range electromagnetic waves on bovine serum albumin interaction with acridine orange. Electromagnetic Biology and Medicine, 2024, 43(4), p. 246-255.
7. Григорян С.В., Шагинян М.А., Микаелян М.С., Парсаданян М.А., Вардеванян П.О. Исследование спектральных характеристик бычьего сывороточного альбумина под влиянием электромагнитных волн миллиметрового диапазона. Актуальные вопросы биол физики и химии, БФФХ 2024, Севастополь, с. 13.

ՏԱՐԱԲՆՈՒՅԹ ԼԻԳԱՆԴՆԵՐԻ ՓՈԽԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ
ՄԱԿՐՈՍՈՒԼԵԿՈՒԼՆԵՐԻ ՀԵՏ ԳԲՀ ՄՄ ՏԻՐՈՒՅԹԻ ԱԼԻՔՆԵՐԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ
ՆԵՐՔՈ

ԱՄՓՈՓՈՒՄ

Հանգուցային բառեր. Շիճուկային ալբումին, Hoechst 33258, մեթիլ մանուշակագույն, էրիթրոզին Բ, ակրիդինային նարնջագույն, ջերմային դենատուրացիա, սպեկտրալ մեթոդներ, դենատուրացիայի պարամետրեր, կապման պարամետրեր, մարման գործակից

Ներկայացված ատենախոսական աշխատանքում ուսումնասիրվել է միլիմետրային տիրույթի էլեկտրամագնիսական ալիքների (ՄՄ ԷՄԱ) ազդեցությունը շիճուկային ալբումինների հետ որոշ ցածրամոլեկուլային միացությունների լիզանդների փոխազդեցության տարբեր ցուցանիշների վրա: Որպես այդպիսի լիզանդներ ընտրվել են Hoechst 33258-ը, մեթիլ մանուշակագույնը, էրիթրոզին Բ-ն, ակրիդինային նարնջագույնը: ՄՄ ԷՄԱ ներգործությունը իրականացվել է ջրի համար ոչ ռեզոնանսային՝ 41,8 ԳՀց և ռեզոնանսային՝ 50,3, 51,8 և 64,5 ԳՀց հաճախություններով:

Ուսումնասիրվել է ՄՄ ԷՄԱ ազդեցությունը ալբումինի սպեկտրալ հատկությունների վրա ճառագայթումից անմիջապես հետո, ինչպես նաև ճառագայթումից 24 և 48 ժամ անց: Ստացված արդյունքները վկայում են այն մասին, որ 41,8 ԳՀց և 51,8 ԳՀց հաճախություններով ճառագայթելու դեպքում սպիտակուցի կոնֆորմացիան էականորեն փոփոխվում է, ընդ որում 51,8 ԳՀց հաճախությամբ ներգործության դեպքում ճառագայթումից 48 ժամ անց էֆեկտն անհետանում է: Սակայն 41,8 ԳՀց հաճախությամբ ազդեցության դեպքում ճառագայթումից 24 և 48 ժամ անց ալբումինի կոնֆորմացիան այլ է դառնում նախնականից: Այսինքն 41,8 ԳՀց ոչ ռեզոնանսային հաճախությամբ ճառագայթելիս էֆեկտը չի կորչում, սա հիմք է տալիս մեզ հետագա ուսումնասիրություններում պնդել, որ ուղղակի ազդեցությունը կոնֆորմացիոն փոփոխության պատճառ է դառնում:

Ատենախոսական աշխատանքում ուսումնասիրվել է նաև ԴՆԹ-ի և ալբումինի հետ Hoechst 33258-ի փոխազդեցության առանձնահատկությունները որպես ԴՆԹ-սպեցիֆիկ լիզանդ ՄՄ ԷՄԱ ազդեցության ներքո: Ստացված արդյունքները վկայում են այն մասին, որ ճառագայթումը հանգեցնում է ալբումինի և ԴՆԹ-ի նկատմամբ Hoechst 33258-ի խնամակցության նվազմանը: Ընդ որում, խնամակցությունն ավելի մեծ չափով նվազում է 50,3 ԳՀց հաճախությամբ ճառագայթման դեպքում:

Ատենախոսական աշխատանքում հետազոտություններ են իրականացվել նաև ալբումինի հետ մեթիլ մանուշակագույնի փոխազդեցության առանձնահատկությունները բացահայտելու ուղղությամբ: Ստացված տվյալները վկայում են այն մասին, որ ջերմային դենատուրացիայի դեպքում ՄՄ ԷՄԱ ճառագայթումը հանգեցնում է մեթիլ մանուշակագույնի և ալբումինի միջև փոխազդեցության թուլացմանը, սակայն 64,5 ԳՀց հաճախությամբ ճառագայթումը նվազեցնում է այն մեծ չափով, քան ոչ ռեզոնանսային 41,8 ԳՀց հաճախությամբ

ճառագայթումը: ՇԴ սպեկտրները ցույց են տալիս, որ 41,8 ԳՀց հաճախությամբ ՄՄ ԷՄԱ ճառագայթումը անմիջականորեն ազդում է ալբումինի կոնֆորմացիայի վրա, քանի որ փոխվում է վերջինիս երկրորդային կառուցվածքը, մինչդեռ 64,5 ԳՀց հաճախությամբ ճառագայթումը միջնորդված է ջրով:

Աշխատանքում ուսումնասիրվել են նաև ալբումինի և էրիթրոզին Բ-ի փոխազդեցության առաձնահատկությունները ՄՄ ԷՄԱ ներգործության առկայությամբ: Արդյունքները ցույց են տալիս, որ ալբումինը էրիթրոզին Բ-ի հետ կապվում է մեծ խնամակցությամբ, քանի որ կապման հաստատունի արժեքը աճում է 51,8 ԳՀց հաճախությամբ ճառագայթման դեպքում: Ֆլուորեսցենտային հետազոտությունները ցույց են տալիս, որ էրիթրոզին Բ-ի հետ ալբումինի կապման պրոցեսը թերմոդինամիկորեն ձեռնտու է, ընդ որում, 51,8 ԳՀց հաճախությամբ ճառագայթումը հանգեցնում է լրացուցիչ ջրածնական և վան-դեր-Վաալսյան փոխազդեցությունների առաջացմանը: ՇԴ սպեկտրները վկայում են այն մասին, որ 51,8 ԳՀց հաճախությամբ սպիտակուցի լուծույթի ճառագայթումը չի ազդում սպիտակուցի կոնֆորմացիայի վրա: Հատկանշական է, որ ճառագայթումը հանգեցնում է սպիտակուցի կոնֆորմացիոն փոփոխություններին միայն էրիթրոզին Բ-ի հետ կոմպլեքսում:

Ատենախոսական աշխատանքում ուսումնասիրվել են նաև ակրիդինային նարնջագույնի փոխազդեցությունը ալբումինի հետ ՄՄ ԷՄԱ ազդեցության ներքո: Ստացված արդյունքներից հետևում է, որ ալբումինի լուծույթի ճառագայթումը ազդում է ակրիդինային նարնջագույնի հետ նրա փոխազդեցության վրա, ընդ որում այդ ազդեցությունը կախված է կիրառվող հաճախությունից: Այսպես, 41,8 ԳՀց հաճախությամբ ճառագայթումը քիչ է տարբերվում չճառագայթահարված դեպքից, ինչը նշանակում է, որ 41,8 ԳՀց հաճախությամբ ՄՄ ԷՄԱ անմիջական էֆեկտը չի կարող էականորեն փոխել փոխազդեցությունը ալբումինի և ակրիդինային նարնջագույնի միջև: Ընդհակառակը, 50,3 ԳՀց հաճախությամբ ՄՄ ԷՄԱ ճառագայթումը վառ արտահայտված փոփոխություններ է հրահրում սպիտակուցի և այս լիգանդի փոխազդեցության մեջ: Հավանաբար, դա կապված է ջրով միջնորդված ճառագայթահարման էֆեկտի հետ, քանի որ 50,3 ԳՀց հաճախությունը համարվում է ջրի համար ռեզոնանսային:

GRIGORYAN SVETLANA V.

INTERACTIONS OF MULTIMODAL LIGANDS WITH MACROMOLECULES UNDER THE EFFECT OF SHF MM RANGE WAVES

SUMMARY

Keywords: Serum albumin, Hoechst 33258, methyl violet, erythrosine B, acridine orange, thermal denaturation, spectral methods, denaturation parameters, binding parameters, quenching coefficient

In the presented dissertation work the influence of millimeter range electromagnetic waves (MM EMW) on the various criteria of the interaction of some low-molecular compounds – ligands with serum albumins has been studied. As such ligands Hoechst 33258, methyl violet, erythrosine B, acridine orange were chosen. The effect of MM EMW was implemented by the

frequencies non resonant for water – 41.8 GHz and resonant for water – 50.3, 51.8 and 64.5 GHz.

The effect of MM EMW on the albumin spectral properties was investigated immediately after the irradiation as well as 24 and 48 hours after the irradiation. The obtained results indicate that at the irradiation by the frequencies 41.8 and 51.8 GHz, the protein conformation significantly changes, though, in the case of the influence by 51.8 GHz, 48 hours after the irradiation the effect disappears. However, at the effect by the frequency 41.8 GHz, 24 and 48 hours after the irradiation, the albumin conformation alters from the previous one. It means that at the irradiation by the non-resonant frequency 41.8 GHz the effect is not lost; it gives us a basis to insist in the further studies that the direct impact becomes a reason for conformation change.

In the dissertation work it was also studied the interaction peculiarities of Hoechst 33258, as DNA-specific ligand, with DNA and albumin under the influence of MM EMW. The obtained results indicate that the irradiation leads to the affinity decrease of Hoechst 33258 toward albumin and DNA. Moreover, the affinity decreases more at the irradiation by the frequency 50.3 GHz.

In the dissertation work the studies were carried out to reveal the interaction peculiarities of methyl violet with albumin as well. The obtained data indicate that in the case of thermal denaturation the irradiation MM EMW results in weakening of the interaction between methyl violet and albumin, but the irradiation by the frequency 64.5 GHz decreases it more, than the irradiation by the non-resonant 41.8 GHz frequency. CD spectra show that MM EMW irradiation by the frequency 41.8 GHz immediately affects albumin conformation, since the latter's secondary structure changes, while the irradiation by the frequency 64.5 GHz is mediated by water.

In the work the interaction peculiarities of albumin with erythrosine B were studied as well in the presence of MM EMW effect. The results show that albumin binds to erythrosine B with high affinity, since the binding constant value increases at the irradiation by 51.8 GHz. Fluorescence studies show that the binding process of erythrosine B with albumin is thermodynamically beneficial, moreover, the irradiation by 51.8 GHz results in formation of additional hydrogen and van-der-Waals interactions. CD spectra indicate that the irradiation of albumin solution by the frequency 51.8 GHz does not affect the protein conformation. It is remarkable that the irradiation results in protein conformation changes only being in the complex with erythrosine B.

In the dissertation work the interaction of acridine orange with albumin was studied as well under the effect of MM EMW. It is followed from the obtained results that the irradiation of albumin solution affects its interaction with acridine orange; moreover, this effect depends on the applied frequency. Thus, the interaction by the frequency 41.8 GHz little differs from the non-irradiated case, which means that the immediate effect of MM EMW by 41.8 GHz cannot relevantly change the interaction between albumin and acridine orange. In contrast, MM EMW irradiation by the frequency 50.3 GHz pronouncedly induces changes in the interaction of the protein and this ligand. Most apparently, it is connected to the water-mediated effect of the irradiation, since the frequency 50.3 GHz is considered as water-resonant one.

