

Иванов Ю.Д.¹, Мальсагова К.А.¹, Татур В.Ю.², Веснин С.Г.³, Иванова Н.Д.⁴, Зиборов В.С.⁵

СВЧ-излучение раствора альбумина при внешнем возбуждении

¹ — Федеральное Государственное Бюджетное Научное Учреждение

«Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича», 119121, Москва, Погодинская ул., д. 10

² — Фонд перспективных технологий и новаций, 115682, г. Москва, Шипиловская ул., 64, 1, 147

³ — ООО «Фирма РЭС», 105082, Москва, Большая Почтовая ул., д. 22

⁴ — ФГБОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина», 109472, Москва ул. Академика Скрябина, д. 23

⁵ — Объединенный институт высоких температур РАН, 125412, Москва, ул. Ижорская, д. 13, стр. 2

Цель исследования — измерение неравновесного СВЧ-излучения водного раствора альбумина при его механическом возбуждении. **Методика.** Проводился мониторинг изменения соотношения величин яркостных температур $T_{\text{СВЧ}}$ и $T_{\text{ИК}}$ после механического возбуждения водного раствора альбумина в измерительной ячейке при температуре 35—39°C. Измерения яркостных температур проводились при помощи радиотермометра. СВЧ-диапазон составлял 3,4—4,2 ГГц, ИК-диапазон составлял 8—13 мкм. **Результаты.** Обнаружено, что при механическом возбуждении водного раствора альбумина при температуре около 39°C возникает изменение соотношения между $T_{\text{СВЧ}}$ и $T_{\text{ИК}}$. Это соответствует появлению неравновесного СВЧ-излучения раствора вблизи области фазового перехода с температурой ~39°C. **Заключение.** Выявлен эффект возникновения неравновесного микроволнового излучения белкового раствора в области температуры раствора 39°C. Эта температура соответствует температуре организма человека при патологических состояниях, связанных с воспалительными процессами. Обнаруженный эффект может быть использован для разработки новых диагностических приборов и неинвазивных методов диагностики заболеваний.

Ключевые слова: кластеры воды, СВЧ-излучение, механическое воздействие

Для корреспонденции: Иванов Юрий Дмитриевич, доктор биол. наук, проф., руководитель лаборатории нанобиотехнологии, e-mail: yurii.ivanov@gambler.ru

Для цитирования: Иванов Ю.Д., Мальсагова К.А., Татур В.Ю., Веснин С.Г., Иванова Н.Д., Зиборов В.С. СВЧ-излучение раствора альбумина при внешнем возбуждении. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2016; 60(3): 101—104.

Финансирование. Работа была выполнена при поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013—2020 годы, гранта РНФ № 14-25-00132 и гранта РФФИ 15-04-08368а.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 12.05.16

Ivanov Yu.D.¹, Malsagova K.A.¹, Tatur V.Yu.², Vesnin S.G.³, Ivanova N.D.⁴, Ziborov V.S.⁵

SHF radiation from albumin solution upon external excitation

¹ — Institute of Biomedical Chemistry, 10, ul. Pogodinskaya, Moscow, 119121, Russia

² — Foundation of Perspective Technologies and Novations, 64 build. 1, ul. Shipilovskaya, Moscow, 115682, Russia

³ — RES Ltd., 22, ul. B. Pochtovaya, Moscow, 105082, Russia

⁴ — Skryabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology, 23, ul. Akademika Skryabina, Moscow, 10947, Russia

⁵ — Joint Institute for High Temperatures of Russian Academy of Sciences, 13 build. 2, ul. Izhorskaya, Moscow, 125412, Russia

The purpose of the research consisted in the measurement of nonequilibrium radiation in superhigh frequency (SHF) range from aqueous solution of albumin upon its mechanical stimulation. **Methods:** the monitoring of change in the ratio between brightness temperatures T_{SHF} and T_{IR} values after the mechanical stimulation of aqueous solution of albumin in the measuring cell at 35—39°C. The measurements of brightness temperatures were carried out with use of radiothermometer. SHF frequency range corresponded to 3.4—4.2 GHz, SHF frequency range corresponded to 8—13 μm . **Results:** It was found that mechanical stimulation of aqueous solution of albumin at the temperature ~39°C, the change in the ratio between T_{SHF} and T_{IR} occurs. This corresponds to emergence of nonequilibrium SHF radiation from the solution near the phase transition with ~39°C temperature. **Conclusion:** The effect of emergence of nonequilibrium SHF radiation from protein solution near its temperature 39°C was found. This temperature corresponds to the temperature of human organism upon a

number of pathological states connected with inflammatory processes. The discovered effect can be used in the development of novel non-invasive methods of disease diagnostics.

Keywords: water clusters, SHF emission, mechanical impact.

For correspondence: Yuri D. Ivanov, Doctor of Biological Sciences, Head of Laboratory, Institute of Biomedical Chemistry; 10, ul. Pogodinskaya, Moscow, 119121, Russia, e-mail: yurii.ivanov@rambler.ru

For citation: Ivanov Yu.D.¹, Malsagova K.A.¹, Tatur V.Yu.², Vesnin S.G.³, Ivanova N.D.⁴, Ziborov V.S. SHF radiation from albumin solution upon external excitation. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya Terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2016; 60 (3): 101–104. (in Russ).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. This work was funded by the Russian Science Foundation, Grant No. 14-25-00132, and by RFBR Grant No. 15-04-08368a. The work was performed in the framework of the Program for Basic Research of State Academies of Sciences for 2013—2020.

Information about authors

Ivanov Yu.D., <http://orcid.org/0000-0001-5041-1914>

Pleshakova T.O., <http://orcid.org/0000-0003-3217-9095>

Received 12.05.2016

Введение

Белок альбумин присутствует в крови в высокой концентрации, порядка 7×10^{-4} М [1]. Вода, в свою очередь, является основной составляющей организма. Как известно, в воде существуют устойчивые кластеры с характерными частотами массивного льда [2]. Структура воды обуславливает ее сложные свойства, такие, как наличие нескольких фазовых переходов в ряде температурных диапазонов — в области 4°C , комнатных температур $19\text{—}25^\circ\text{C}$, в области физиологических температур $35\text{—}37^\circ\text{C}$ [2, 3]. Ранее нами было обнаружено СВЧ-излучение воды при ее механическом возбуждении в этих областях фазового перехода [4]. Взаимодействие белков с молекулами воды приводит к формированию структурированного слоя белка около молекулы воды [2]. Причем структура белкового раствора способна к изменению при изменении температуры, в том числе температуры организма. Известно, что при патологических процессах в организме температура может повышаться до 40°C и выше, а в определенных случаях и понижаться. Интересно отметить, что вязкость водного раствора гемоглобина, извлеченного из эритроцитов уменьшается на порядок в области температуры $36,6^\circ\text{C}$ при увеличении концентрации альбумина в 1,7 раза до 500 мг/мл [2]. Таким образом, водные растворы белка при патологических состояниях резко изменяют свои свойства. Также следует отметить, что проницаемость капилляров для эритроцитов скачкообразно изменяется при температуре выше 37°C [2].

Цель исследования — измерение СВЧ-излучения водного раствора белка при его механическом возбуждении в температурном диапазоне $35\text{—}39^\circ\text{C}$. Температурный диапазон был выбран исходя из физиологического диапазона температур в норме и патологии.

Методика

Деионизованная, ультрачистая вода была получена на установке Milli-Q System (Millipore, USA). Лиофилизированный раствор BSA белка (Sigma) разводили деионизованной водой до концентрации 10^{-4} М.

Измерение яркостной температуры в СВЧ-диапазоне и ИК-диапазоне

Известно, что в состоянии термодинамического равновесия любая среда излучает сплошной спектр, том числе в инфракрасном и в СВЧ-диапазоне. Интенсивность излучения в каждом из этих диапазонов определяется величиной яркостной температуры, характеризующей излучения. В состоянии равновесия яркостная температура в СВЧ-диапазоне ($T_{\text{СВЧ}}$) равна яркостной температуре в ИК-диапазоне ($T_{\text{ИК}}$).

В общем случае, зависимость яркостной температуры среды от времени в разных диапазонах может отличаться друг от друга, что указывает на появление неравновесного излучения.

В работе проводился мониторинг изменения соотношения величин $T_{\text{СВЧ}}$ и $T_{\text{ИК}}$ после механического воздействия на водный раствор альбумина. Для измерений использовали радиометр RTM-01 RES (Россия) с помощью которого определялось электромагнитное излучение среды: $T_{\text{СВЧ}}$ — в случае измерений в СВЧ-диапазоне и $T_{\text{ИК}}$ — в случае измерений в ИК-диапазоне. СВЧ-диапазон составлял $3,4\text{—}4,2$ ГГц (или $7,1\text{—}8,8$ см), ИК-диапазон составлял $8\text{—}13$ мкм. Для регистрации излучения использовалась штыревая антенна, соединенная с радиотермометром. Точность измерения температуры составляла $0,1^\circ\text{C}$.

*Механическое возбуждение
водного раствора альбумина*

Механическое возбуждение водного раствора альбумина осуществлялось посредством пипетирования (инъекции) раствора ($V = 1$ мл) в измерительной ячейке. За исходную температуру измерений принимали начальное значение $T_{ИК}$ до пипетирования. Общий объем раствора наполнения ячейки составлял 6 мл. Исследования проводили при температурах $T_{ИК} \sim 35\text{—}39^\circ\text{C}$. Необходимая температура поддерживалась с помощью водяной бани с термостатом.

Результаты и обсуждение

Основные результаты экспериментов при температурах 39 и 35°C приведены на рис. 1 и 2. Начальное значение $T_{ИК}$ использовалось в качестве температуры воды, при которой проводился эксперимент, т.е. для отнесения температурных условий эксперимента к одному из указанных выше температурных диапазонов.

Как показано на рис. 1, после механического возбуждения раствора белка при температуре 39°C наблюдалось импульсное увеличение $T_{СВЧ}$ на $\sim 1^\circ\text{C}$ и последующий спад до прежнего уровня. При этом $T_{ИК}$ снижалась (примерно на 2°C), причем этом снижение наблюдалось в течение всего времени эксперимента, то есть наблюдалось значительное расхождение $T_{СВЧ}$ и $T_{ИК}$ после механического перемешивания среды, что означает появление неравновесного СВЧ-излучения. Таким образом, было показано, что при механическом возбуждении жидкости имеет место изменение соотношения уровня СВЧ-излучения и уровня ИК-излучения вблизи фазовых переходов воды.

На рис. 2 показана зависимость $T_{СВЧ}$ и $T_{ИК}$ раствора альбумина при механическом возбуждении при $T_{ИК} = 35^\circ\text{C}$. Как видно, в этой области температур после механического возбуждения раствора белка появляется только импульс СВЧ-излучения с характерной яркостной температурой порядка $T_{СВЧ} \sim 1^\circ\text{C}$, после чего $T_{СВЧ}$ возвращается на прежний уровень, а $T_{ИК}$ не изменяется.

Изменение уровня неравновесного СВЧ-излучения при возбуждении жидкости было различным при $T_{ИК} = 35$ и 39°C для разных областей фазовых переходов. При повышении температуры до 39°C наблюдается повышение неравновесности состояния раствора, выражающегося в расхождении температур $T_{СВЧ}$ и $T_{ИК}$.

Повышенный уровень $T_{СВЧ}$ по сравнению с уровнем $T_{ИК}$ связан с тем, что при механическом возбуждении жидкости инициируется изменение содержания льдоподобных структур в этой жидкости. А выделя-

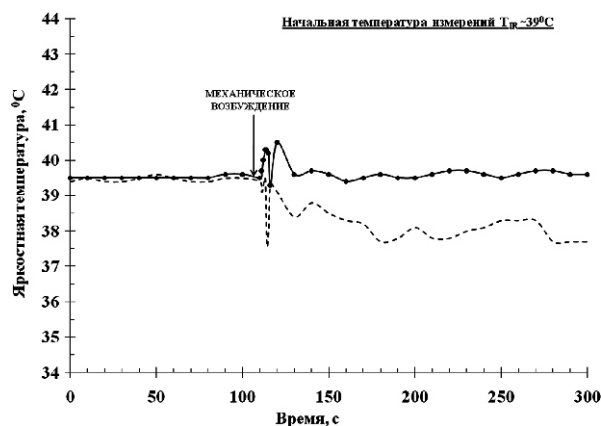


Рис. 1. Результаты измерения яркостной температуры в СВЧ-диапазоне $T_{СВЧ}$ (сплошная линия) и в инфракрасном диапазоне $T_{ИК}$ (прерывистая линия) в воде. Вертикальными стрелками указан момент механического воздействия на жидкость. $T_{ИК} \sim 39^\circ\text{C}$. По оси X — время измерений, минуты; по оси Y — величина яркостной температуры, градусы.

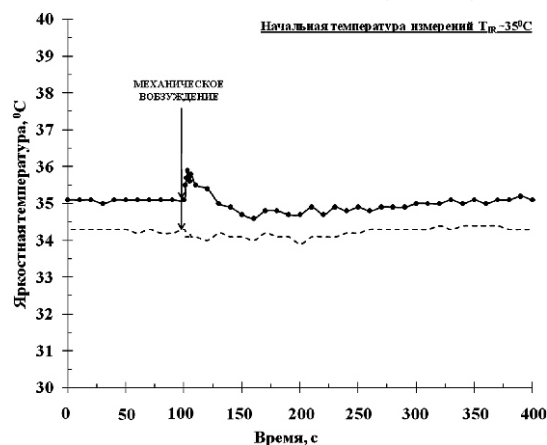


Рис. 2. Результаты измерения яркостной температуры в СВЧ-диапазоне $T_{СВЧ}$ (сплошная линия) и в инфракрасном диапазоне $T_{ИК}$ (прерывистая линия) в воде. Вертикальными стрелками указан момент механического воздействия на жидкость. $T_{ИК} \sim 35^\circ\text{C}$. По оси X — время измерений, минуты; по оси Y — величина яркостной температуры, градусы.

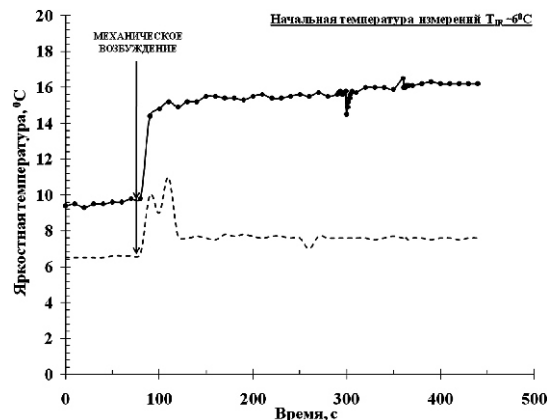


Рис. 3. Результаты измерения яркостной температуры в СВЧ-диапазоне $T_{СВЧ}$ (сплошная линия) и в инфракрасном диапазоне $T_{ИК}$ (прерывистая линия) в воде. Вертикальными стрелками указан момент механического воздействия на жидкость. $T_{ИК} \sim 6^\circ\text{C}$. По оси X — время измерений, минуты; по оси Y — величина яркостной температуры, градусы.

References

ющаяся энергия преобразования ледовых кластеров выделяется в виде СВЧ-излучения. Частота генерации этого излучения соответствует вращательным переходам воды и гидроксила [5]. Что интересно, это подтверждается экспериментами в области температур другого фазового перехода раствора ($T_{ИК}$ порядка $4-8^{\circ}C$), где наблюдается резкое увеличение $T_{СВЧ}$ раствора белка при сохранении $T_{ИК} \sim 6-8^{\circ}C$ (рис. 3), связанного с температурой плавления льда.

Обнаруженный эффект возникновения неравновесного состояния водного раствора альбумина в области повышенной температуры (температура организма человека при воспалительных заболеваниях) может быть использован для разработки новых неинвазивных серологических методов диагностики заболеваний. Следует сказать, что диагностика ряда патологических состояний на основе анализа СВЧ-излучения тканей пациента уже используется в клинике [<http://www.google.com/patents/WO2010074608A3?hl=ru&cl=ru>].

Таким образом, обнаружено неравновесное излучение водного раствора альбумина в СВЧ-диапазоне после механического воздействия. Характер и выраженность изменений уровня СВЧ-излучения различно для разных температурных диапазонов.

Учитывая, что СВЧ-поле в этом диапазоне может влиять на свойства ферментативных систем [6], можно сделать предположение о возможной синхронизации процессов в организме человека посредством этого излучения. Интересно отметить, что для области пониженных температур ($6^{\circ}C$), когда наблюдается выход из анабиоза земноводных, происходит существенное ступенчатое повышение СВЧ-излучения.

При комнатной температуре ($\sim 22^{\circ}C$) наблюдается максимальная функциональная активность некоторых ферментативных систем почвенных бактерий, как нами было показано ранее с помощью АСМ [7] для цитохрома P450BM3 из *Bacillus megaterium* [8].

Обнаруженные эффекты генерации СВЧ в воде могут быть полезны для создания новых методов диагностики патологических состояний человека, в том числе сопряженные с высокочувствительными системами на базе нанопроводных детекторов [9, 10] и АСМ [11].

Сведения об авторах:

Мальсагова Кристина Ахмедовна, мл. науч. сотр. лаб. нанобиотехнологии

Татур Вадим Юрьевич, исполнительный директор

Веснин Сергей Георгиевич, канд. технических наук, доцент, генеральный директор

Иванова Нина Дмитриевна, преподаватель

Зиборов Вадим Серафимович, канд. физико-математических наук, ст. науч. сотр. лаборатории №1.1.1. — ударно-волновых воздействий

1. Fasano M., Curry S., Terreno E., Galliano M., Fanali G., Narciso P., Notari S., Ascenzi P. The extraordinary ligand binding properties of human serum albumin. *IUBMB Life*. 2005; 57: 787-96.

2. Pershin S.M. Ortho-Para Conversion of H₂O in Water and a Jump in Erythrocyte Fluidity Through a Microcapillary at a Temperature of $36.6 \pm 0.3^{\circ}C$. In: *V International Congress «Weak and Ultra-Weak Fields and Emissions in Biology and Medicine». Conference Proceedings*. 2009; St.-Petersburg: 87-97. (in Russian)

3. Kholmanskiy A.S. Two types of anomalous thermodynamics of water. *Apriori. Series: Iestestvennye I tekhnicheskie nauki*. 2015; 1: 1-17. (in Russian)

4. Ivanov Yu.D., Malsagova K.A., Tatur V.Yu., Vesnin S.G., Ivanova N.D., Ziborov V.S. Microwave emission from water in bioanalytical systems. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimentalnaya terapiya*. 2015; 59(4): 78-81. (in Russian)

5. Pershin S.M., Bunkin A.F., Anisimov N.V., Pirogov Yu.A. Water enrichment by H₂O ortho-isomer: four-photon and NMR spectroscopy. *Laser Physics*. 2009; 19(3): 410-3.

6. Ivanov Yu.D., Pleshakova T.O., Malsagova K.A., Kaysheva A.L., Kopylov A.T., Izotov A.A. et al. AFM-based protein fishing in the pulsed electric field. *Biochemistry (Moscow) Suppl. Series B: Biomedical Chemistry*. 2015; 9(2): 121-9.

7. Ivanov Y.D., Bukharina N.S., Pleshakova T.O., Frantuzov P.A., Krokhin N.V., Ziborov V.S., Archakov A.I. Atomic force microscopy visualization and measurement of the activity and physicochemical properties of single monomeric and oligomeric enzymes. *Biofizika*. 2011; 56: 939-44. (in Russian)

8. Ivanov Y.D., Malsagova K.A., Izotov A.A., Pleshakova T.O., Tatur V.Yu., Vesnin S.G. et al. Detection of microwave radiation of cytochrome CYP102 A1 solution during the enzyme reaction. *Biochemistry and Biophysics Reports*. 2016; 5: 285-9.

9. Ivanov Y.D., Pleshakova T.O., Kozlov A.F., Malsagova K.A., Krohin N.V., Shumyantseva V.V. et al. SOI nanowire for the high-sensitive detection of HBsAg and a-fetoprotein. *Lab Chip*. 2012; 12: 5104-11.

10. Malsagova K.A., Ivanov Y.D., Pleshakova T.O., Kaysheva A.L., Shumov I.D., Kozlov A.F. et al. A SOI-nanowire biosensor for the multiple detection of D-NFATc1 protein in the serum. *Anal. Methods*. 2015; 7: 8078-85.

11. Ivanov Y.D., Pleshakova T., Malsagova K., Kozlov A., Kaysheva A., Kopylov A. et al. Highly sensitive protein detection by combination of atomic force microscopy fishing with charge generation and mass spectrometry analysis. *FEBS J*. 2014; 281: 4705-17.