

## ВЛИЯНИЕ ПЕРЕМЕННЫХ ТОКОВ НА КРИСТАЛЛОГЕННЫЕ СВОЙСТВА СЫВОРОТКИ КРОВИ *in vitro*

© 2022 г. А.К. Мартусевич\*, \*\*\*, А.Г. Галка\*, \*\*, А.Н. Тужилкин\*, \*\*\*,  
Е.С. Голыгина\*, А.С. Федотова\*\*\*, В.В. Назаров\*\*

Приволжский исследовательский медицинский университет МЗ РФ,  
603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

\*\*ФИЦ «Институт прикладной физики РАН», 603950, Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46

\*\*\*Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия,  
603107, Нижний Новгород, просп. Гагарина, 97

E-mail: [cryst-mart@yandex.ru](mailto:cryst-mart@yandex.ru)

Поступила в редакцию 22.09.2020 г.

После доработки 22.09.2021 г.

Принята к публикации 27.09.2021 г.

Целью исследования служила оценка модификации собственного кристаллообразования сыворотки крови при действии переменных токов различной частоты (40 и 100 кГц и 1 МГц). Эксперимент выполнен на десяти образцах сыворотки крови практически здоровых людей, каждый из которых делили на четыре порции — контрольную и три опытных, которые обрабатывали переменным током на частотах 40, 100 и 1000 кГц. Оценку эффекта воздействия осуществляли путем кристаллоскопического исследования, оцениваемого морфологически и морфометрически. Установлено, что воздействие переменного тока на образцы сыворотки крови человека приводит к модификации кристаллогенной активности биологической жидкости, что проявляется как в качественных изменениях морфологической картины (фации), так и в сдвигах морфометрических показателей (кристаллизуемость, индекс структурности, степень деструкции фации и выраженность краевой белковой зоны). При этом показана зависимость данного модулирующего эффекта от частотной характеристики, причем максимально выраженные сдвиги кристаллоскопических показателей относительно контрольного образца, с которым не производили никаких манипуляций, обнаружены для частоты 40 кГц, а минимальные — для частоты 1 МГц.

**Ключевые слова:** переменный ток, кристаллизация, сыворотка крови, биокристалломика.

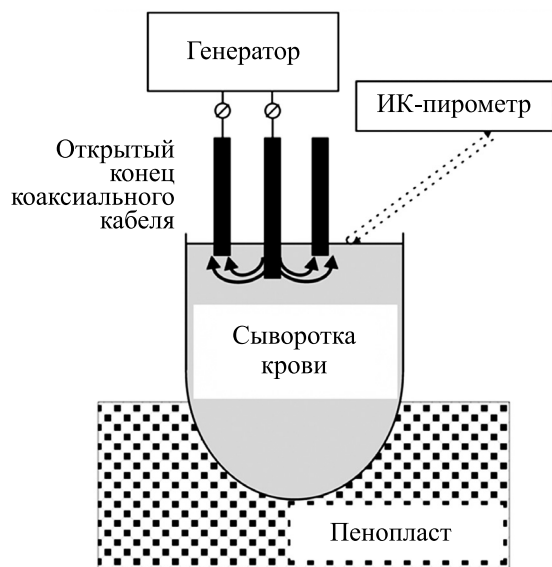
**DOI:** 10.31857/S0006302922010136

Влияние электромагнитного излучения на биологические объекты является предметом изучения уже на протяжении длительного времени [1–4], так как раскрытие основных принципов данного эффекта служит фундаментальным обоснованием технологий современной физиотерапии [1, 4–6], а также значимо для проведения правильной гигиенической оценки условий труда [4, 7–9]. В этом плане особый интерес представляет исследование зависимости биологического действия электромагнитных полей от его характеристик (в частности, рабочей частоты, интенсивности и др.) [2, 4–6, 8, 10]. Несмотря на активные разработки данного вопроса [3, 7, 10–14], многие аспекты действия нетеплового низкоинтенсивного излучения, в отличие от лазерного излучения [2, 4, 8, 9], изучены недостаточно подробно. Для решения задачи целостного понимания характера биологических эффектов переменного тока необходимо применение ин-

тегральных методов, к числу которых можно отнести биокристалломные технологии, позволяющие оценить физико-химические свойства биожидкостей и их компонентный состав с системных позиций. В частности, в наших предшествующих исследованиях с помощью данного метода были охарактеризованы метаболические эффекты различных активных форм кислорода и азота как в условиях *in vitro* [16, 17], так и *in vivo* [18]. Целью настоящего исследования служила оценка модификации собственного кристаллообразования сыворотки крови при действии токов различной частоты (40, 100 и 1000 кГц).

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент выполнен на десяти образцах крови практически здоровых людей, каждый из которых делили на четыре порции. Для проведения эксперимента каждую порцию центрифуги-



**Рис. 1.** Схема эксперимента по воздействию токов переменной частоты на сыворотку крови.

ровали по стандартной методике. Первая порция сыворотки крови из них была контрольной, с нею не проводили никаких манипуляций, остальные обрабатывали токами переменной частоты 40, 100 и 1000 кГц. Электромагнитное воздействие на сыворотку крови осуществляли с помощью оголенного конца коаксиального кабеля РК-50-2-21 с выступающей на 2 мм центральной жилой. Конец кабеля полностью погружали в сыворотку крови таким образом, чтобы край оплетки кабеля (земляного электрода) был погружен в жидкость на 1 мм (рис. 1).

Амплитуда напряжения синусоидального сигнала, подаваемого от генератора АWG 41-51, составляла 5 В. Измеренная амплитуда тока для сигналов на частотах 40, 100 и 1000 КГц составляла 11, 12.5 и 13.5 мА соответственно. Продолжительность воздействия составляла одну минуту. Экспозиция после завершения воздействия составляла 10 мин. Температуру контролировали с помощью пирометра. Эквивалентная электрическая схема нагрузки на конце кабеля представляла собой конденсатор с сывороткой крови, образованный краевой емкостью выступающей центральной жилы относительно оплетки кабеля.

По завершении периода экспозиции проводили кристаллоскопическое исследование всех образцов. Для этого сыворотку крови в объеме 100 мкл наносили на предметное стекло и приготавливали микропрепараты высушенной биологической жидкости в соответствии с методом классической кристаллоскопии, позволяющим оценивать собственную кристаллогенную активность биологической среды [16–20]. Высушенные микропрепа-

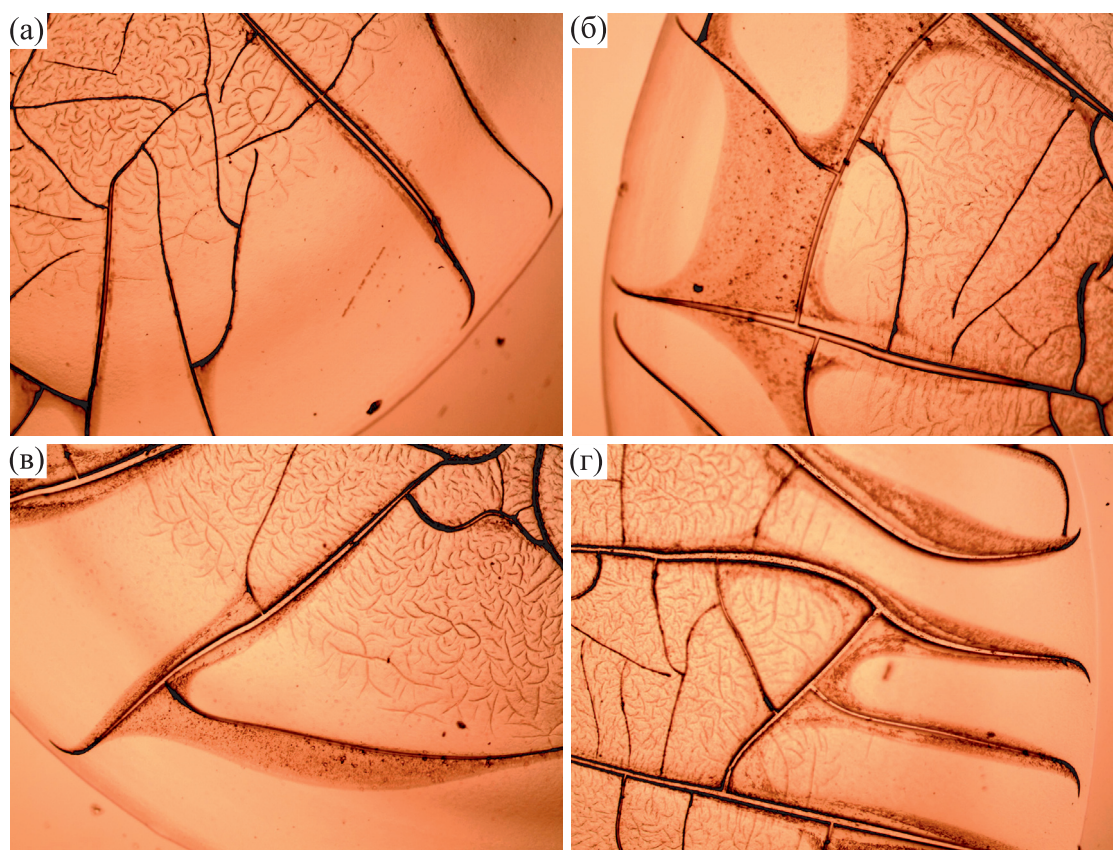
раты оценивали морфологически (путем описания особенностей структуризации высушенного образца биологической жидкости) и визуаметрически (с применением собственной системы параметров) [19, 20]. Основными визуаметрическими показателями, оцениваемыми по балльной шкале, служили кристаллизуемость (отражает количественную сторону кристаллизации — плотность кристаллических элементов в фации), индекс структурности (характеризует сложность строения), степень деструкции фации (представляет собой индикатор качественной стороны процесса — правильности образования структур) и выраженность краевой зоны микропрепарата. Оценку проводили по трем параллельно получаемым фациям, по которым суммарно вычисляли значения показателей. Анализу подвергали всю площадь фаций, фотофиксацию образцов осуществляли с помощью цифрового микроскопа «Levenhuk» на малом увеличении (60х).

Полученные данные были статистически обработаны в программном пакете Statistica 6.1 for Windows. Нормальность распределения значений параметров оценивали с использованием критерия Шапиро–Уилка. С учетом характера распределения признака для оценки статистической значимости различий применяли *H*-критерий Краскала–Уоллеса.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведение морфологического анализа высушенных образцов сыворотки крови позволило четко проследить особенности модификации кристаллогенной активности биологической жидкости при воздействии переменного тока при отсутствии теплового нагрева (рис. 2). В процессе воздействия температура образцов не различалась более чем на 0.5°C. При этом обнаружено, что рабочая частота генератора тока является значимой характеристикой, определяющей выраженность данного модулирующего эффекта. Так, в контрольных образцах сыворотки крови, которые не подвергались каким-либо воздействиям, были отмечены формирование относительно регулярной структуры, содержащей небольшое количество центров кристаллизации, умеренно равномерно распределенные «разломы» фации и широкая краевая зона (рис. 2а). При этом структурный компонент кристаллоскопической картины был представлен одиночными кристаллами и аморфными элементами, распределенными по текстуре образца с низкой плотностью.

Обработка сыворотки крови переменным током с рабочей частотой генератора 40 кГц способствовала резкой активации кристаллогенной активности биосреды, что проявлялось в увеличении плотности образующихся структур, причем в кристаллограммах в данном случае присутствова-



**Рис. 2.** Кристаллограммы интактной и обработанной токами различной частоты сыворотки крови человека: (а) — контроль, (б) — ток с частотой 40 кГц, (в) — ток с частотой 100 кГц, (г) — ток с частотой 1 МГц.

ли как одиночно-кристаллические, так и поликристаллические (дендритные) элементы (рис. 2б). Это сопровождалось нарастанием степени разрушения кристаллов, а также сужением краевой зоны микропрепаратов высушенной биологической жидкости.

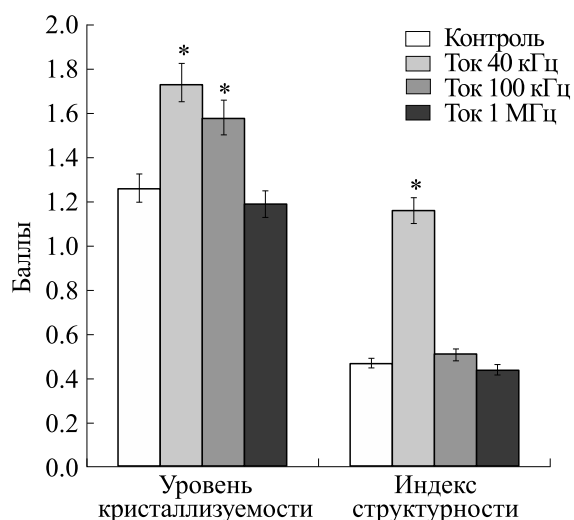
Иной характер реагирования сыворотки крови был выявлен при влиянии на нее переменного тока с частотой 100 кГц (рис. 2в). При применении данного фактора кристаллогенная активность возрастает менее выражено, чем при действии тока с частотой 40 кГц. Основу кристаллического компонента фазии составляли одиночные элементы, «разломы» текстуры были достаточно регулярными, но существенно более разряженными. Краевая белковая зона была шире, чем при использовании более низкой частоты, однако не достигала размеров таковой в контрольном образце.

Кристаллограммы сыворотки крови при действии переменного тока с частотой 1 МГц были в наибольшей степени сходны с интактным образцом (рис. 2г). В них фиксировали образование умеренного количества аморфных и одиночно-

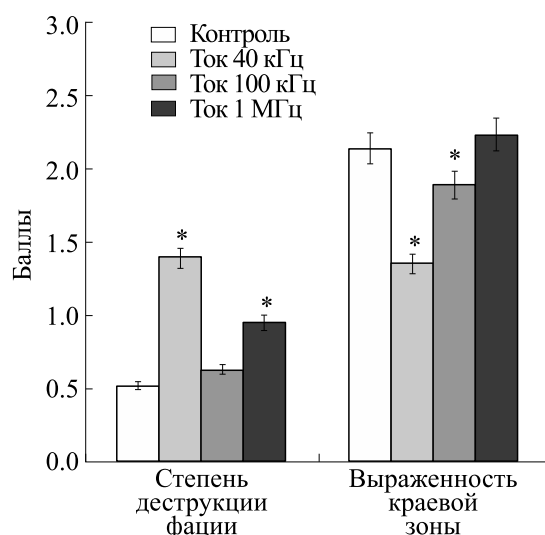
кристаллических элементов с незначительной выраженностью деструктивных изменений. Особенностью данных микропрепаратов явилась большая плотность и максимальная регулярность «разломов» текстуры образца и широкая краевая зона.

Качественные преобразования кристаллограмм сыворотки крови, происходящие при обработке последней токами различной частоты, были в полной мере подтверждены с применением морфометрических показателей (рис. 3 и 4). Установлено, что воздействие переменного тока с частотой 40 кГц приводит к повышению кристаллизруемости, характеризующей плотность кристаллических структур, в 1.38 раза относительно контрольного образца ( $p < 0.05$ ; рис. 3). Повышение частоты тока до 100 кГц снижает выраженность данного эффекта (+25.4%;  $p < 0.05$ ). Дальнейшее увеличение частоты (до 1 МГц) нивелирует указанные различия, и уровень кристаллизруемости в этом случае не отличается от интактного образца ( $p > 0.1$ ).

В отношении другого ключевого показателя — индекса структурности, характеризующего слож-



**Рис. 3.** Уровень кристаллизуемости и индекс структурности высушенных образцов сыворотки крови при обработке токами различной частоты; \* — статистическая значимость различий относительно контрольного образца,  $p < 0.05$ .



**Рис. 4.** Степень деструкции фации и выраженность краевой зоны в высушенных образцах сыворотки крови при обработке токами различной частоты; \* — статистическая значимость различий относительно контрольного образца,  $p < 0.05$ .

ность структуропостроения элементов, — также выявлены существенные вариации (рис. 3). Так, минимальная из рассмотренных частот (40 кГц) вызывает значимое усложнение структур фации, что сопровождается ростом соответствующего показателя в 2.47 раза ( $p < 0.01$ ). Иные режимы обработки не обнаруживали значимых отличий от интактного образца биологической жидкости.

Также был проанализирован уровень основного интегрального критерия оценки кристаллограмм — степени деструкции фации (рис. 4). Выявлено, что динамика ответа сыворотки крови в целом аналогична обнаруженной для кристаллизуемости и индекса структурности. В то же время следует отметить нелинейность данного ответа: только при использовании переменного тока с частотой 100 кГц степень деструкции фации не отличалась от контрольного образца, тогда как при остальных воздействиях (частоты 40 кГц и 1 МГц) — превышала значение, рассчитанное для микропрепаратов сыворотки крови, на которую не оказывали никаких воздействий (в 2.67 и 1.83 раза по сравнению с контрольным образцом;  $p < 0.05$  для обоих случаев).

Наконец, проведено изучение выраженности краевой зоны кристаллограмм, в которой концентрируются нативные белки, содержащиеся в анализируемой биологической жидкости (рис. 4). Установлено, что имеет место обратная зависимость между частотной характеристикой тока и размером краевого пояса кристаллоскопической фации сыворотки крови. Так, наибольшее сужение последнего наблюдали при обработке био-

среды переменным током с частотой 40 кГц (в 1.59 раза;  $p < 0.05$ ), менее выраженное — при использовании частоты 100 кГц (в 1.13 раза;  $p < 0.05$ ). Напротив, применение тока с максимальной из примененных частот (1 МГц) сохраняет размеры краевой зоны на уровне, выявленном в фациях сыворотки крови, на которые не оказывали никаких воздействий.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Изучение модулирующего эффекта неионизирующих излучений, как и других физических факторов, целесообразно проводить методами, позволяющими интегрально оценивать физико-химические свойства биологических систем [1, 2, 6, 8, 11]. К числу таковых относятся методы биокристалломики — нового биомедицинского диагностического направления, основанного на исследовании кристаллогенной активности биологических жидкостей [19–23]. Показано, что анализ картин дегидратационной структуризации биосред может быть информативным способом описания органико-минерального баланса компонентов биологического образца [19–22], а также особенностей структуры его протеома [19, 21–24]. С этих позиций изучение эффектов неионизирующих излучений логично производить с использованием кристаллоскопических технологий, что продемонстрировано на примере лазерного излучения [15], однако данный метод ранее не применялся для оценки биологических эф-

фектов переменного тока. На основании этого, нами впервые показано, что кристаллогенные свойства сыворотки модифицируются при действии переменного тока, причем выраженность данного влияния непосредственно определяется характеристиками фактора, а именно — его частотой. Установлено, что более высокие частоты (100–1000 кГц) обладают более позитивным воздействием на кристаллогенную активность сыворотки крови в условиях *in vitro*. Эти данные нуждаются в дополнении и уточнении с применением другими аналитическими методами, позволяющими раскрыть биофизические и биохимические механизмы, обеспечивающие выявленные эффекты, что и будет являться предметом дальнейших исследований.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования позволили установить, что воздействие переменного тока на образцы сыворотки крови человека приводит к модификации кристаллогенной активности биологической жидкости, что проявляется как в качественных изменениях морфологической картины (фазии), так и в сдвигах морфометрических показателей (кристаллизруемость, индекс структурности, степень деструкции фазии и выраженность краевой белковой зоны). При этом показана зависимость данного модулирующего эффекта от частотной характеристики, причем максимально выраженные сдвиги кристаллоскопических показателей относительно контрольного образца, с которым не производили никаких манипуляций, обнаружены для частоты 40 кГц, а минимальные — для 1 МГц.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствовали этическим стандартам Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям. У всех участников было получено информированное добровольное согласие.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. В. С. Улащик, Здравоохранение **10**, 21 (2007).
2. A. Fedorowski and A. Steciwko, Med. Pr. **49** (1), 93 (1998).

3. F. Gao, Q. Zheng, and Y. Zheng, Med. Phys. **41** (5), 053302 (2014). DOI: 10.1118/1.4871783.
4. L. Hardell and C. Sage, Biomed. Pharmacother. **62** (2), 104 (2008). DOI: 10.1016/j.biopha.2007.12.004.
5. T. Schunck, F. Bieth, S. Pinguet, and P. Delmote, Electromagn. Biol. Med. **35** (1), 84 (2016). DOI: 10.3109/15368378.2014.977388.
6. Y. Yu and K. Yao, J. Int. Med. Res. **38** (3), 729 (2010). DOI: 10.1177/147323001003800301.
7. A. L. Galeev, Neurosci. Behav. Physiol. **30** (2), 187 (2000). DOI: 10.1007/BF02463157.
8. I. L. Iakimenko, E. P. Sidorik, and A. S. Tsybulin, Ukr. Biokhim. Zh. **83** (2), 20 (2011).
9. I. Yakymenko, E. Sidorik, and S. Kyrylenko, V. Chekhun, Exp. Oncol. **33** (2), 62 (2011).
10. A. M. Marjanović, I. Pavičić, and I. Trošić, Arh. Hig. Rada Toksikol. **63** (3), 407 (2012). DOI: 10.2478/10004-1254-63-2012-2215.
11. J. Breckenkamp, G. Berg, and M. Blettner, Radiat. Environ. Biophys. **42** (3), 141 (2003). DOI: 10.1007/s00411-003-0203-x.
12. S. R. Morgan, O. Hieda, Y. Nakai, et al., Sci. Rep. **8** (1), 13742 (2018). DOI: 10.1038/s41598-018-32110-0.
13. X. Zhang, W.J. Huang, and W. W. Chen, Exp. Ther. Med. **12** (4), 1969 (2016). DOI: 10.3892/etm.2016.3567.
14. S.L. Cellemme, M. Van Vorst, E. Paramore, and G. D. Elliott, Biopreserv. Biobank. **11** (5), 278 (2013). DOI: 10.1089/bio.2013.0024.
15. А. А. Бритова и В. Ю. Романюк, Лазерная медицина **11** (1), 25 (2007).
16. А. К. Мартусевич и С. П. Перетягин, Биофизика **58** (6), 1038 (2013).
17. А. К. Мартусевич, Л. К. Ковалева и А. В. Давыдюк, Биофизика **61** (2), 345 (2016).
18. А. К. Мартусевич, А. А. Мартусевич и Л. К. Ковалева, Биофизика **62** (4), 753 (2017).
19. А. К. Мартусевич. *Биокристалломика в молекулярной медицине* (Изд-во СПбГМУ, СПб., 2011).
20. А. К. Мартусевич и Н. Ф. Камакин, Бюл. эксперим. биологии и медицины **143** (3), 358 (2007).
21. Т. А. Яхно, Nat. Sci. **3**, 220 (2010).
22. Т. А. Яхно, В. В. Казаков, О. А. Санина и др., Журн. технической физики **80** (7), 17 (2010).
23. А. А. Ющенко, А. Д. Даудова, А. К. Аюпова и Н. Г. Урляпова, Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. **7**, 113 (2004).
24. Ю. Ю. Тарасевич, О. П. Исакова, В. В. Кондухов и А. В. Савицкая, Журнал техн. физики **80** (5), 45 (2010).

**Effect of Alternating Currents on Crystallogenic Properties of Blood Serum *in vitro***

**A.K. Martusevich\*, \*\*, A.G. Galka\*, \*\*\*, A.N. Tuzhilkin\*, \*\*, E.S. Golygina\*,  
A.S. Fedotova\*\*, and V.V. Nazarov\*\*\***

*\*Privolzhsky Research Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation,  
pl. Minina i Pojarskogo 10/1, Nizhny Novgorod, 603005 Russia*

*\*\*Nizhny Novgorod State Agricultural Academy, prosp. Gagarina 97, Nizhny Novgorod, 603107 Russia*

*\*\*\*Federal Research Center "Institute of Applied Physics", Russian Academy of Sciences,  
ul. Ulyanova 46, Nizhny Novgorod, 603950 Russia*

The goal of this study was to evaluate the modification of crystal formation of blood serum utilizing currents at different frequencies (40 and 100 kHz, 1 MHz). The experiment was performed on 10 blood samples of practically healthy individuals, each sample was divided into four sets (three experimental sets, which were subjected to a microwave environment at 40, 100 and 1000 kHz, and one control set). The effect of exposure was estimated by the method of crystalloscopy through morphologic and morphometric analysis. It was found that exposure of human blood serum samples to alternating current leads to modification of the crystallogenic activity of the biological fluid, which undergoes both qualitative changes in the morphological picture (facies) and changes in morphometric parameters (crystallizability, structure index, the facies destruction degree and the clarity of the marginal protein zone). It was shown that according to the modeling effect, modification is strongly dependent on the applied frequency, and changes in the crystalloscopic parameters were significantly more pronounced for the control set, which did not receive any treatment, at 40 kHz, and a minimum appeared at 1 MHz.

*Keywords: alternating current, crystallization, blood serum, biocrystallomics*