

# КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ

УДК 615.011.4

## ВЛИЯНИЕ ПОСТОЯННОГО ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ТОКА НА ГИДРОДИНАМИЧЕСКИЙ ДИАМЕТР СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА ЧЕЛОВЕКА

М. И. КОРПАН<sup>1</sup>, В. Ф. ГОРЧЕВ<sup>2</sup>, И. С. ЧЕКМАН<sup>3</sup>, В. М. ГУНЬКО<sup>4</sup>, В. ФИАЛКО-МОЗЕР

<sup>1</sup>Венский медицинский университет, Австрия;

<sup>2</sup>Институт биохимии им. А. В. Палладина НАН Украины, Киев;

<sup>3</sup>Национальный медуниверситет им. А. А. Богомольца МЗ Украины, Киев;

<sup>4</sup>Институт химии поверхности им. А. А. Чуйко НАН Украины, Киев;

e-mail: laserlab@biochem.kiev.ua

С использованием метода лазерной корреляционной спектроскопии исследовано влияние постоянного электрического тока ( $2 \text{ мА/см}^2$ ) на гидродинамический диаметр сывороточного альбумина человека. В исходном растворе средний диаметр глобул альбумина составляет  $\sim 7 \text{ нм}$ , после действия на них электрического тока в течение 2–5 мин диаметр глобул незначительно увеличивается (до  $7,5 \text{ нм}$ ), а при увеличении длительности действия тока до 20 мин размеры мономеров альбумина уменьшаются (до  $6,4 \text{ нм}$ ). Соответствующим образом ведут себя и олигомеры альбумина. Не исключено, что изменения размеров мономеров и олигомеров сывороточного альбумина человека при действии электрического тока обусловлены изменением плотности заряда, вследствие чего может происходить изменение третичной структуры молекул с возможным присоединением к ним ионов из буферного раствора.

*Ключевые слова:* лазерная корреляционная спектроскопия, электрический ток, альбумин.

В медицинской практике электрический ток применяют для лечения различных заболеваний и реабилитации больных [1, 2]. Известно, что электрический ток увеличивает количество подвижных ионов, изменяет осмотическое равновесие, физико-химические характеристики белков (гидрофильность, дисперсность, транспортную функцию), а также действует на функционирование биологических мембран. Слабый постоянный электрический ток стимулирует синтез белка, АТР и транспорт аминокислот в коже крыс, более быстрое формирование коллагена в ранах [3, 4]. В клинических исследованиях установлено, что электрическое возбуждение способствует более быстрому и эффективному заживлению ран [5–7].

В организме человека сывороточный альбумин выполняет разнообразные функции, одна из которых – связывание и транспорт лекарственных средств. Этот белок способствует обезвреживанию многих ядов, с которыми он образует комплексы [8–10]. Имеется множество сведений о физико-химических механизмах

действия электрического тока на белки, в том числе на альбумин [11–21].

Однако имеющиеся представления о физико-химических закономерностях действия электрического тока на структурно-функциональные свойства сывороточного альбумина нуждаются в дальнейшем изучении. С целью расширения представлений о возможных физико-химических механизмах лечебного действия физиотерапевтических факторов в данной работе изучено влияние электрического тока на структурные характеристики сывороточного альбумина человека (САЧ) с использованием метода лазерной корреляционной спектроскопии (ЛКС).

### Материалы и методы

В работе использовали 5%-й раствор САЧ (Киевская станция переливания крови, серия 121205) и лиофилизированный САЧ фирмы «Sigma-Aldrich», США (общий белок  $\geq 96\%$ ), который растворяли в натрий-фосфатном буфере при соотношении этих ингредиентов 9 : 1.

Для изучения влияния электрического тока на структурные характеристики САЧ использовали электрохимическую ячейку – стеклянный цилиндр ( $d = 30$  мм) с платиновыми электродами ( $d = 1$  мм), в которую помещали 10 мл 5%-ого раствора альбумина, пропускали через него постоянный электрический ток ( $2 \text{ мА/см}^2$ ), регистрируя ток и напряжение на электродах с помощью микроамперметра и вольтметра В7-40. Источником тока служил серийный клинический стимулятор фирмы «Schuhfried Medizintechnik» (Австрия).

После обработки током 0,5 мл раствора САЧ помещали в цилиндрическую стеклянную оптическую кювету диаметром 10 мм, которую вносили в термостатированную ячейку лазерного корреляционного спектрометра Zetasizer-3 («Malvern Instruments Ltd», Великобритания). Регистрацию лазерного излучения (гелий–неоновый лазер ЛГ-111, мощностью 25 мВт, длина волны 632,8 нм), рассеянного под углом  $90^\circ$ , проводили в течение 60–300 сек. На основании экспериментально полученных автокорреляционных функций рассчитывали распределение молекул САЧ по размеру нормированному на 100%, с использованием оригинальной компьютерной программы [23], основанной на алгоритме CONTIN [24].

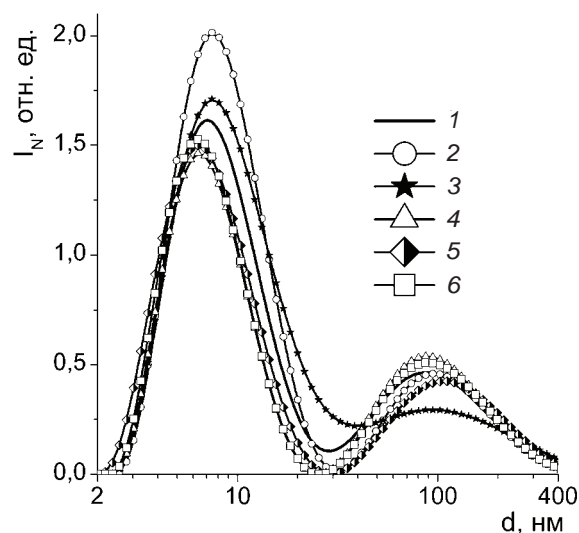
### Результаты и обсуждение

В случае монодисперсных систем метод ЛКС позволяет с высокой точностью определить константы скорости диффузии частиц, а также вычислить их гидродинамический диаметр, исходя из предположения о сферичности этих частиц [23, 25–27]. Однако в большинстве случаев растворы биологических жидкостей многокомпонентны, поэтому для полидисперсных систем были разработаны специальные математические методы обработки спектров, позволяющие анализировать биологические жидкости без предварительного разделения. Результатом таких расчетов является функция распределения светорассеивающих частиц по их размеру.

Данные о распределении по размеру мономеров и олигомеров САЧ до и после действия электрического тока, полученные с помощью метода ЛКС, представлены на рисунке. По оси ординат показано процентное отношение количества частиц определенных размеров к общему числу частиц в процессе светорассеяния, а по оси абсцисс – их гидродинамический диаметр в нанометрах. Анализ растворов САЧ с помощью метода ЛКС позволяет установить размеры мономеров и олигомеров. В наших

исследованиях средний гидродинамический диаметр мономеров САЧ в исходном состоянии достигает 7 нм (рис. 1, кривая 1), что согласуется с данными литературы [23]. Наблюдается также достаточно широкое распределение олигомеров САЧ с максимумом в области 87,7 нм. Как следует из полученных данных, влияние электрического тока на размеры мономеров и олигомеров САЧ зависит от времени его воздействия. Так, воздействие электрического тока в течение 2 и 5 мин приводит к незначительному увеличению диаметра мономеров САЧ – первый максимум распределения смещается к 7,5 нм, а для олигомеров – максимум смещается к 95,6 нм. Далее, с увеличением времени воздействия электрического тока до 10–20 мин, максимум первого пика смещается к 6,5–6,4 нм. Уменьшаются также практически до исходных размеры олигомеров, но после 15 мин воздействия тока они становятся больше исходных (кривая 5). Не исключено, что достаточно сложные изменения распределения размеров молекул САЧ в зависимости от времени обработки их электрическим током можно рассматривать как результат многофакторного его воздействия, что обуславливает лечебный эффект тока.

Обнаруженные нами изменения размеров мономеров и олигомеров САЧ под действием постоянного электрического тока могут быть обусловлены рядом причин. Например, увели-



Распределение по гидродинамическому диаметру мономеров и олигомеров сывороточного альбумина человека после воздействия постоянным электрическим током ( $2 \text{ мА/см}^2$ ) длительностью: 1 – контроль, 2 – 2 мин, 3 – 5 мин, 4 – 10 мин, 5 – 15 мин, 6 – 20 мин

чение размеров при малом времени обработки может быть связано с изменением плотности заряда на молекулах САЧ или с образованием их комплексов с ионами буферного раствора, что приводит к изменению энергии внутримолекулярных взаимодействий с нарушением третичной структуры молекул. Известно, что стереохимические характеристики сывороточного альбумина обусловлены, главным образом, наличием двух дисульфидных связей в белковой молекуле и их уникальным расположением. Полагают, что эти S-S-связи могут обеспечивать соответствующую конформационную перестройку молекул САЧ и их олигомеров под влиянием внешнего физико-химического воздействия [8].

Поскольку под действием электрического тока в водном растворе альбумина образуются продукты электролиза, взаимодействующие впоследствии с дисульфидными мостиками как в мономерах, так и олигомерах САЧ, то не исключено, что в таких условиях происходит разрушение части дисульфидных мостиков в олигомерах альбумина. Это приводит к их мономеризации и, как следствие, к уменьшению размера регистрируемых частиц.

Согласно существующим в настоящее время представлениям лечебное действие электрического тока может быть обусловлено не только его влиянием на структуру белков, а и на активность последних [28, 29], что наблюдается при воздействии тока на ткани ран. Электрическая стимуляция повышает активность таких ферментов, как  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ-аза, ацетилхолинэстераза [30] и тирозинкиназа [31].

Следует отметить, что размеры глобул САЧ изменяются при многих заболеваниях человека и на разных стадиях их протекания. Полученные нами результаты свидетельствуют о возможности с помощью лазерной корреляционной спектроскопии регистрировать происходящие под действием электрического тока тонкие изменения в распределении по размерам мономеров и олигомеров сывороточного альбумина.

Авторы благодарны член-кор. НАНУ, проф. С. А. Костерину за помощь в обсуждении полученных результатов.

### ВПЛИВ ПОСТІЙНОГО ЕЛЕКТРИЧНОГО СТРУМУ НА ГІДРОДИНАМІЧНИЙ ДІАМЕТР СИРОВАТКОВОГО АЛЬБУМІНУ ЛЮДИНИ

*М. І. Корпан<sup>1</sup>, В. Ф. Горчев<sup>2</sup>, І. С. Чекман<sup>3</sup>,  
В. М. Гунько<sup>4</sup>, В. Фіалко-Мозер<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Віденський медичний університет, Австрія;

<sup>2</sup>Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна  
НАН України, Київ;

<sup>3</sup>Національний медуніверситет  
ім. О. О. Богомольця МОЗ України, Київ;

<sup>4</sup>Інститут хімії поверхні ім. О. О. Чуйко  
НАН України, Київ;  
e-mail: laserlab@biochem.kiev.ua

Методом лазерної кореляційної спектроскопії досліджували вплив слабких електричних струмів на гідродинамічний діаметр сироваткового альбуміну людини. У вихідному розчині такого альбуміну середній діаметр глобули дорівнює  $\sim 7$  нм. Після впливу електричного струму ( $2 \text{ мА/см}^2$ ) протягом 2–5 хв розмір мономера альбуміну незначно (до 7,5 нм) збільшується. У разі подовження тривалості дії електричного струму до 20 хв розміри мономерів зменшуються до 6,4 нм. Відповідним чином змінюються також розміри олігомерів сироватного альбуміну. Не виключено, що зміни розмірів мономерів та олігомерів за дії електричного струму зумовлено змінами щільності заряду, внаслідок чого змінюється третинна структура молекул і створюється можливість для приєднання до них іонів з буферного розчину.

Ключові слова: лазерна кореляційна спектроскопія, електричний струм, альбумін.

**INFLUENCE OF DIRECT ELECTRIC CURRENT ON HYDRODYNAMIC DIAMETER OF HUMAN SERUM ALBUMIN**

M. I. Korpan<sup>1</sup>, V. F. Gorchev<sup>2</sup>,  
I. S. Chekman<sup>3</sup>, V. M. Gun'co<sup>4</sup>,  
V. Fialka-Moser<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Vienna Medical University, Austria;

<sup>2</sup>Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;

<sup>3</sup>Bogomolets National Medical University, Ministry of Public Health, Kyiv, Ukraine;

<sup>4</sup>Chuyko Institute of Surface Chemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;  
e-mail: laserlab@biochem.kiev.ua

**S u m m a r y**

The effect of the weak electric current (2 mA/cm<sup>2</sup>) on structural characteristics (hydrodynamic diameter and molecular weight) of the human serum albumin (HSA) was studied using photon correlation spectroscopy (PCS). The average diameter of initial HSA globule is approximately 7 nm (66.8 kDa). After electric current treatment during 2–5 min the diameter of HSA monomer increases to 7.5 nm. The duration of electric current treatment being increased to 20 min the size of HSA monomers decreases to 6.4 nm. The behaviour of HSA oligomers is close to that of monomers. Consequently, changes in the sizes of monomers and oligomers of HSA under the electric current treatment are caused by the change in the charge density stimulating change of tertiary structure of molecules and possible addition of ions from the buffer solution to them.

**Key words:** photon correlation spectroscopy, electric current, serum albumin.

1. Самосюк И. З., Чухряев Н. В., Зубкова С. Т. и др. Физические методы в лечении и медицинской реабилитации больных и инвалидов/ Под ред. И.З. Самосюка. — К.: Здоров'я, 2004. — 624 с.
2. Fialka-Moser V. (Hrsg) Kompendium der Physikalischen Medizin und Rehabilitatin. Diagnostische und therapeutische konzepte.- New York: Springer, 2001. — 245 p.
3. Cheng N., Van Hoff H., Bockx E. et al. // Clin. Orthopaedics. — 1982. — **171**. — P. 264–272.
4. Reger S. I., Hyodo A., Negami S. et al. // Artif. Organs. — 1999. — **23**. — P. 460–462.
5. Carley P. J., Wainapel S. F. // Arch Phys Med Rehabil. — 1985. — **66**. — P. 443–446.
6. Feedar J. A., Kloth L. C., Gentzkow G. D. // Phys Ther. — 1991. — **71**. — P. 639–649.
7. Weiss D. S., Kirsner R., Eaglstein W. H. // Arch Dermatol. — 1990. — **126**, N 2. — P. 222–225.
8. Луйк А. И., Лукьянчук В. Д. Сывороточный альбумин и биотранспорт ядов. — М.: Медицина, 1984. — 224 с.
9. Чёгёр С. И. Транспортная функция сывороточного альбумина. — Бухарест: Изд-во Академии Социалистической Республики Румынии, 1975. — 183 с.
10. Улащик В. С. Очерки общей физиотерапии. — Минск : Наука и техника, 1994. — 200 с.
11. Корпан М. И., Шуффрид О., Чекман И. С. и др. // Доп. НАН України. — 2001. — № 6. — С. 190–194.
12. Ройтуб Б. А. Конформационные переходы в белках крови при различных функциональных состояниях нервной системы. — К.: Наукова думка, 1975. — 191 с.
13. Biedebach M. C. // Acupunct Electrother Res. — 1989. — **3**, N 14. — P. 43–60.
14. Luthert P., Vrbova G., Ward K.M. // J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry. —1980. — **43**, N 9. — P. 803–809.
15. Bach S., Bilgrav K., Gottrup F., Jorgensen T. E. // Eur. J. Surg. — 1991. — **157**. — P. 171–174.
16. Mehedinti T., Rosca D., Cernaianu E. // Morphol. Embryol. (Bucur). — 1985. — **31**, N 1. —559.
17. Bourguignon G. J., Bourguignon L. Y. W. // Fed. Am. Soc. Exp. Biol. J. — 1987. — **1**. — P. 398–408.
18. Lee P. Y., Chesnoy S., Huang L. // J. Invest. Dermatol. — 2004. — **123**. — P. 791–798.
19. Dow D. E., Cederna P. S., Hassett C. A. et al. // Muscle Nerve. —2004. — **1**, N 30. —P. 77–86.
20. Лопухин Ю. М., Добрецов Г. Е., Грызунов Ю. А. // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 2000. — **130**, № 7. — С. 4–8.
21. Zhu H., Bilgin M., Bangham R. et al. // Science. — 2001. — 293(5537). — P. 2101–2105.
22. Zhu H., Bilgin M., Snyder M. //Proteomics. Annual Reveivs in Biochemistry. — 2003. — **2**. — P. 783–812.
23. Gun'ko V. M., Klyueva A. V., Levchuk Yu. N., Leboda R. // Adv. Colloid Interface Sci. — 2003. — **105**. — P. 201–328.
24. Provencher S. W. // Comp. Phys. Comm. — 1982. — **27**. — P. 213–227.
25. Бажора Ю. И., Кресюн В. И., Запорожан В. Н. и др. Молекулярно-генетические и биофизические методы исследования в медицине. — К.: Здоров'я, 1996. — 208 с.
26. Лебедев А. Д., Левчук Ю. Н., Носкин В. А. Лазерная корреляционная спектроскопия в биологии. — К.: Наукова думка, 1987. — 256 с.
27. Salmeen I., Rimai L., Luftig R.B. et al. // Virology. — 1976. — **17**. — P. 584–590.

28. Ландау М. А. Молекулярные механизмы действия физиологически активных соединений. – М.: Наука, 1981. – 262 с.
29. Hsu S. F., Lin J. G., Liu H. J. et al. // Am. J. Clin. Med. – 2003. – **31**, N 6 – P. 967–975.
30. Lee D. Z., Sun A. Y. // Neurochem. Res. – 1984. – **5**, N 9. – P. 669–678.
31. Cheng X. D., Wu G. C., He Q. Z. et al. // Acupunct Electrother Res. – 1998. – **23**, N 3–4. – P. 161–170.

Получено 08.06.2006