

# ВОДА КАК АКТИВНАЯ СРЕДА – СЕНСОР, ТРАНСФОРМАТОР И УСИЛИТЕЛЬ СЛАБЫХ ФИЗИЧЕСКИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ

**В.И.Брусков, С.В.Гудков, А.В.Черников, М.Е.Асташев<sup>1</sup>,  
С.Д.Захаров<sup>2</sup>, Л.С.Ягужинский<sup>3</sup>**

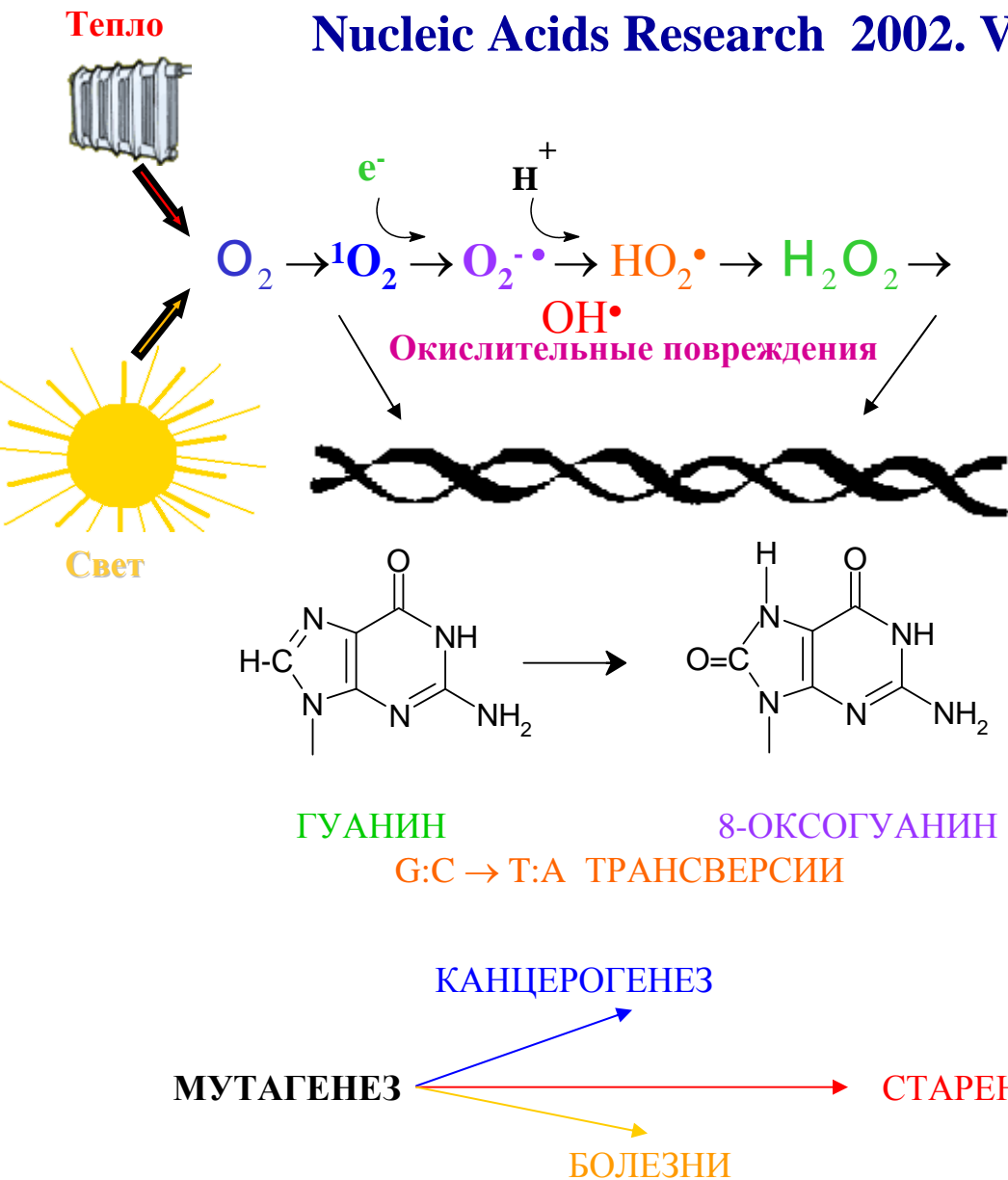
*Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,  
г.Пущино, Московская обл.*

*<sup>1</sup>Институт биофизики клетки РАН, 142290 г.Пущино, Московская обл.*

*<sup>2</sup>Физический институт им. П.Н. Лебедева РАН, Москва*

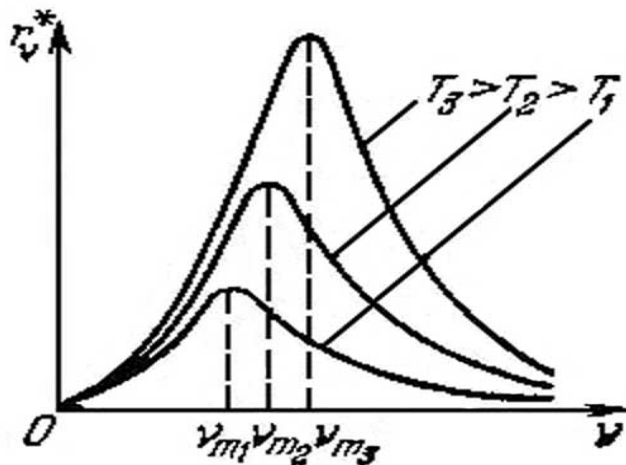
*<sup>3</sup>Институт физико-химической биологии им.А.Н.Белозерского  
Московского государственного университета им.М.В.Ломоносова, Москва*

Bruskov V.I., Malakhova L.V., Masalimov Zk., Chernikov A.V.  
 Nucleic Acids Research 2002. Vol 30. P. 1354-63.



Кислород под действием тепла в воде и водных растворах образует активные формы (АФК): синглетный кислород, супероксид радикалы, перекись водорода и гидроксильный радикал. АФК повреждают ДНК с образованием 8-оксогуанина, что ведет к мутационным заменам G:C → A:T, и может являться одной из причин канцерогенеза, старения и ряда заболеваний.

Наблюдается образование активных форм кислорода и азота в водной среде, насыщенной атмосферным воздухом в результате различных по величине энергии квантов электромагнитных воздействий: ионизирующего излучения, УФ-излучения, видимого света, теплового излучения. Эти воздействия приводят к радиолизу, фотолизу и термолизу воды, сопровождающейся разрывом химических связей в воде и образованием радикальных продуктов.



Формула Планка для испускательной способности абсолютно черного тела:

$$r_v^* = \frac{2\pi\nu^2}{c^2} \frac{h\nu}{\exp(h\nu/kT) - 1}$$

Вода – активная среда, способна накапливать дополнительно свободную энергию, которая под влиянием слабых воздействий может высвободиться в преобразованном виде стандартных высокоэнергетических процессов.

Одним из универсальных механизмов является накопление этой энергии в виде растворенных в воде микропузырьков воздуха и ее освобождение при их кавитационном схлопывании.

Установлено (ИОФАН), что в воде, насыщенной воздухом, содержатся бабстонные кластеры, состоящие из гроздей микропузырьков воздуха размером 10-100 нм. Бабстон - (bubble stabilized by ions).

Кавитационное схлопывание микропузырьков воздуха при воздействии ультразвука носит взрывной характер и сопровождается сонолюминесценцией, нагреванием до высоких температур (более 10000 К), высокими давлениями в микрообъеме и образованием АФК.

Одной из причин, приводящей к нестабильности микропузырька воздуха, вызывающего его кавитацию является переход кислорода в синглетное состояние.

# МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

1. Определение образования  $\text{H}_2\text{O}_2$  под влиянием физических факторов среды методом усиленной хемилюминесценции в системе: люминол-параиодофенол-пероксидаза с регистрацией люминесценции жидкостным сцинтилляционным счетчиком для измерения бета – излучения работающим в режиме счета одиночных фотонов. Чувствительность метода определение концентраций  $\text{H}_2\text{O}_2$  на уровне долей наномолей на литр.
2. Определение образования гидроксильных радикалов с использованием флуоресцентного зонда кумарин-3-карбоновой кислоты, продукт гидроксирования которой – 7-ОН-кумарин-3-карбоновая кислота обладает интенсивной флуоресценцией.
3. Использование различных перехватчиков, тушителей и усилителей для выявления образования синглетного кислорода, гидратированного электрона и супероксидрадикалов.
4. Определение образования окислов азота с помощью флуоресцентного зонда 1,3-диаминонафталина и реактива Грисса
5. Исследование собственной хемилюминесценции воды под влиянием лазерного излучения



	Образец	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , нМ	К
1	1 мМ ФБ рН 6,8	3,2 ± 0,2	1
2	1 мМ ФБ рН 6,8, насыщенный O <sub>2</sub> (*)	5,7 ± 0,5	1,78
3	1 мМ ФБ рН 6,8, насыщенный N <sub>2</sub> (*)	1,7 ± 0,7	0,53
4	1 мМ ФБ рН 6,8, насыщенный Ar (*)	1,45 ± 0,3	0,45
5	1 мМ ФБ рН 6,8; 10 мМ NaN <sub>3</sub>	0,7 ± 0,1	0,2
6	1 мМ ФБ рН 6,8; 1 мМ гуанозин	0	0
7	1 мМ ФБ рН 6,8; 50% D <sub>2</sub> O	22,4 ± 15,1	7
8	1 мМ ФБ рН 6,8; 100% D <sub>2</sub> O	96,6 ± 21,4	30,2
9	1 мМ ФБ рН 6,8; 0,1 мМ тирон	0,4 ± 0,18	0,12
10	1 мМ ФБ рН 6,8; 0,1 мМ ЭДТА	0,5 ± 0,1	0,15
11	1 мМ ФБ рН 6,8; 0,1 мМ 1,10 фенантролин	3,25 ± 0,2	1
12	1 мМ ФБ рН 6,8; 0,1 мМ неocupроин	0	0
13	1 мМ ФБ рН 6,8; 5 мкМ FeSO <sub>4</sub>	1,0 ± 0,2	0,3
14	1 мМ ФБ рН 6,8; 2 мкМ CuSO <sub>4</sub>	6,6 ± 0,5	2
15	1 мМ ФБ рН 6,8; 0,075ед. СОД	5,3 ± 0,4	1,65

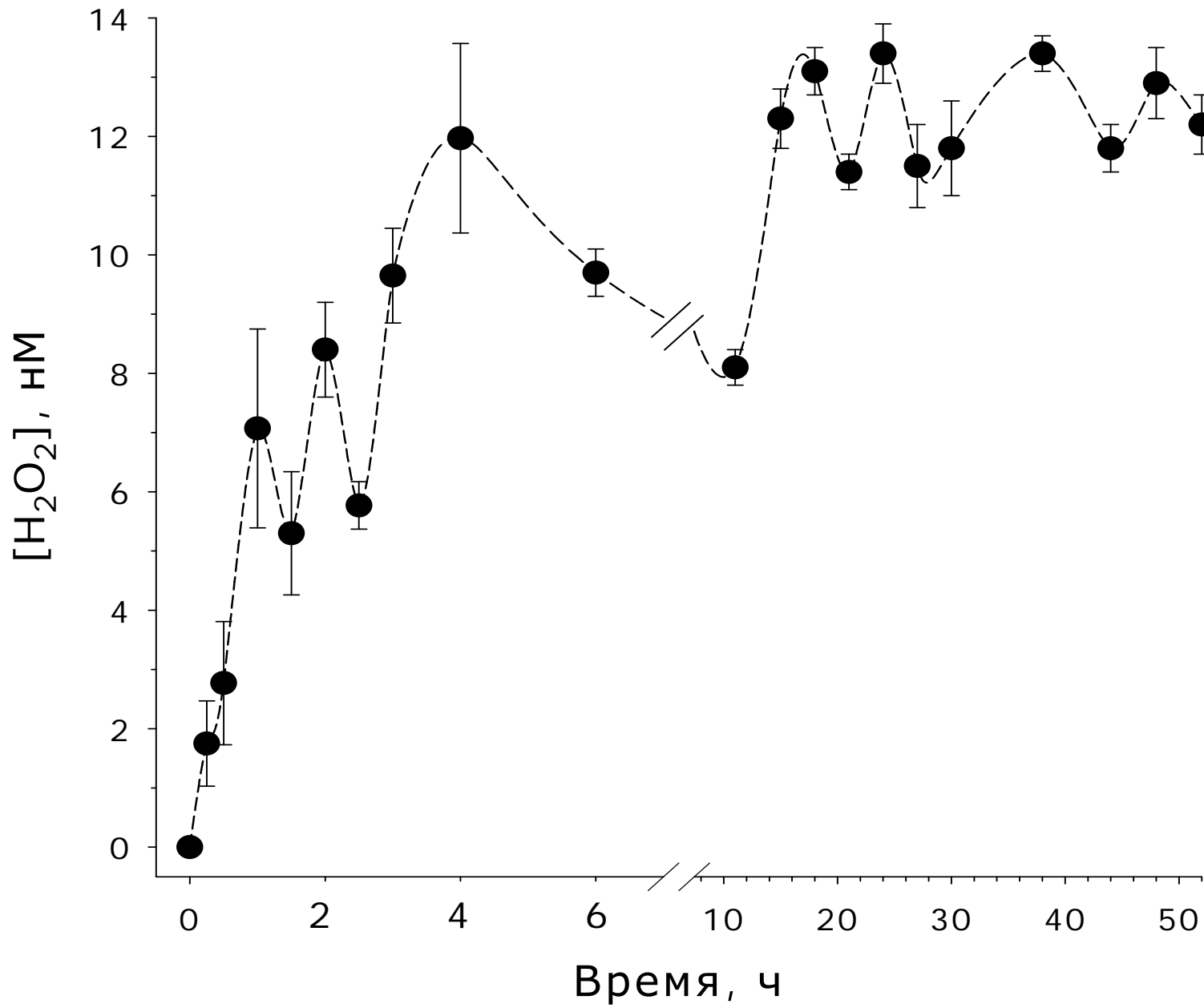
Влияние различных веществ на образование H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> под действием тепла. Нагревание ФБ 1 мМ, рН 6,8, 4 часа при 40°C.

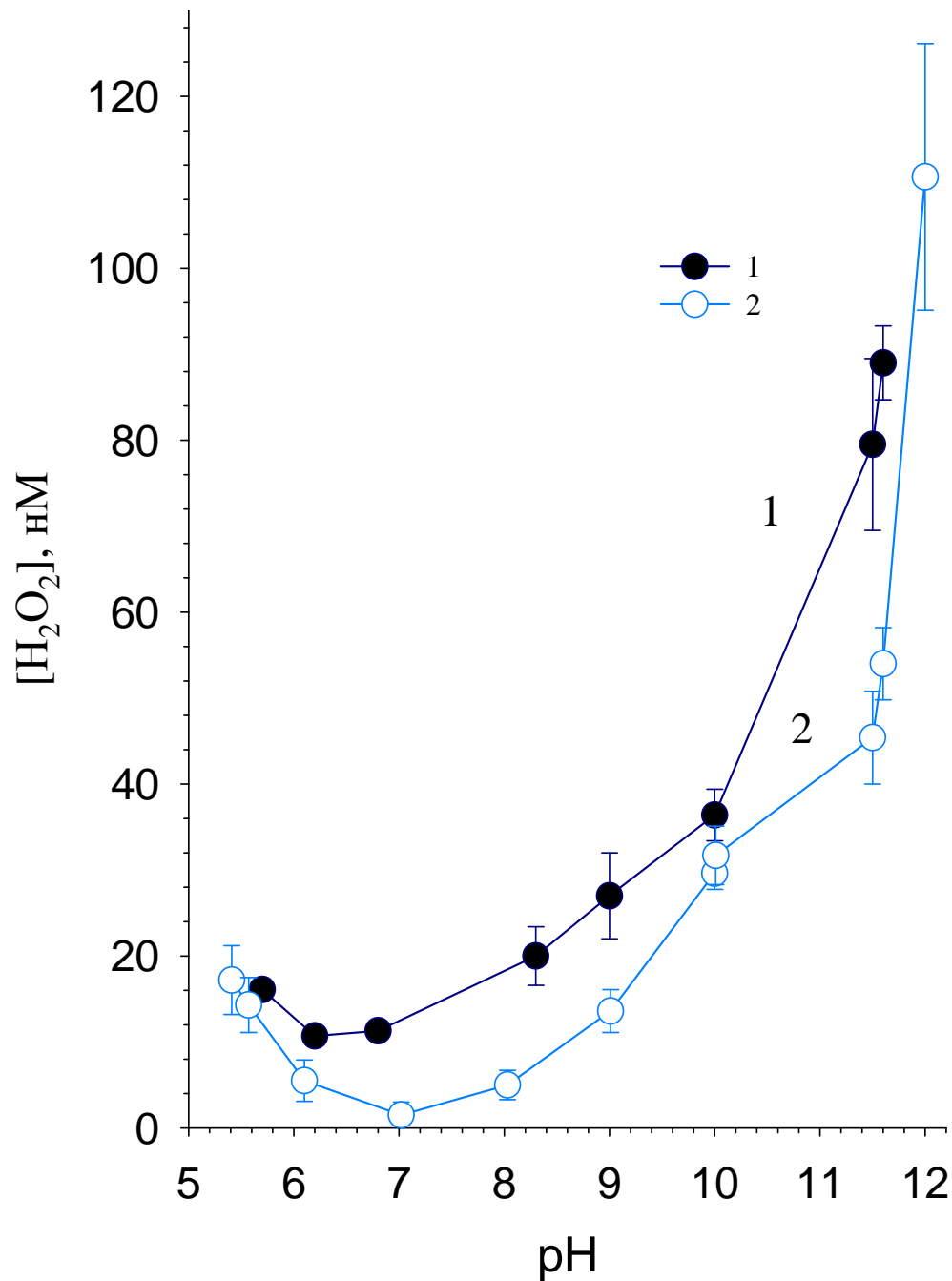
\* Вода насыщалась 30 мин пробулькиванием газа перед нагреванием.

\*\* СОД добавлялась сразу после нагревания.

К – относительное изменение величины H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> под действием данного вещества по отношению к контролю.

# Содержание $\text{H}_2\text{O}_2$ в бидистиллированной воде при $37^\circ\text{C}$

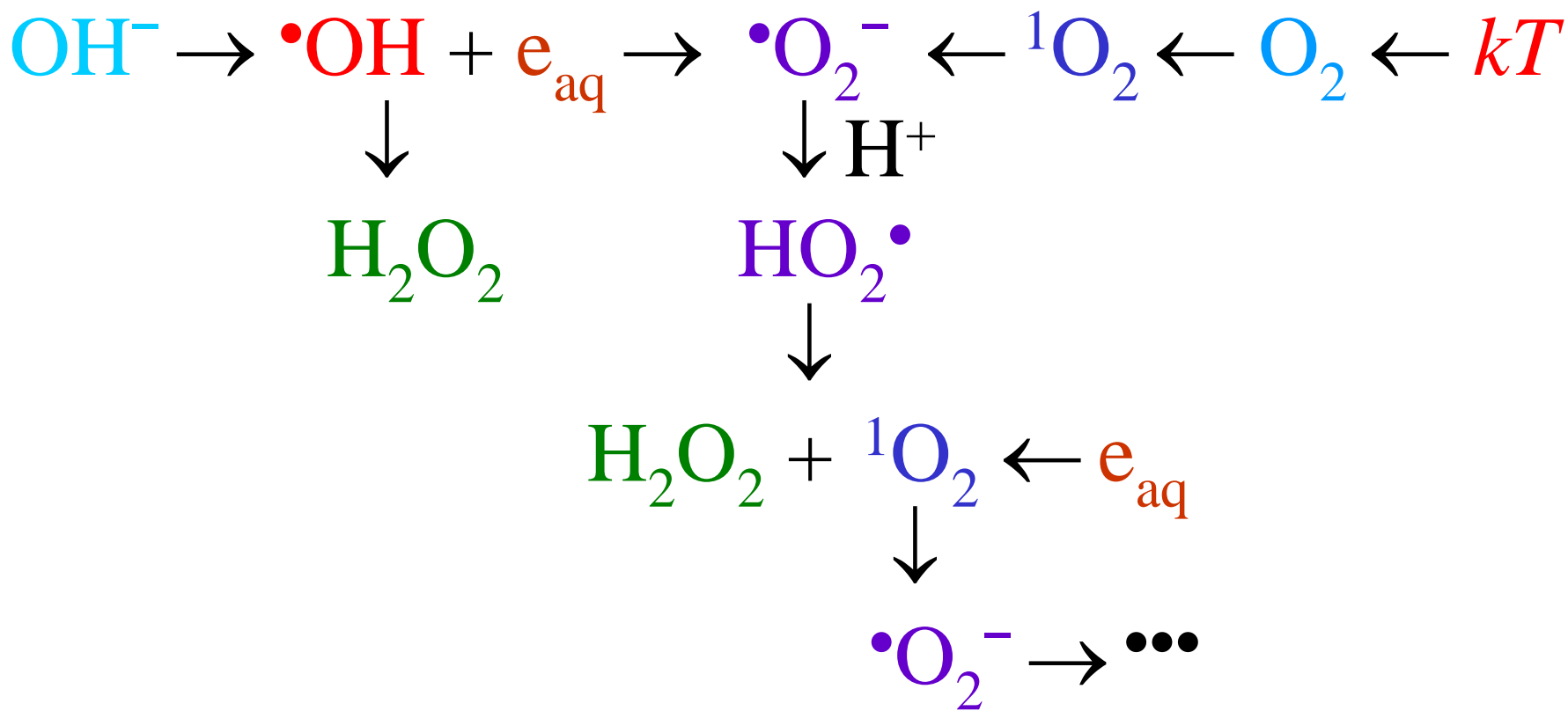


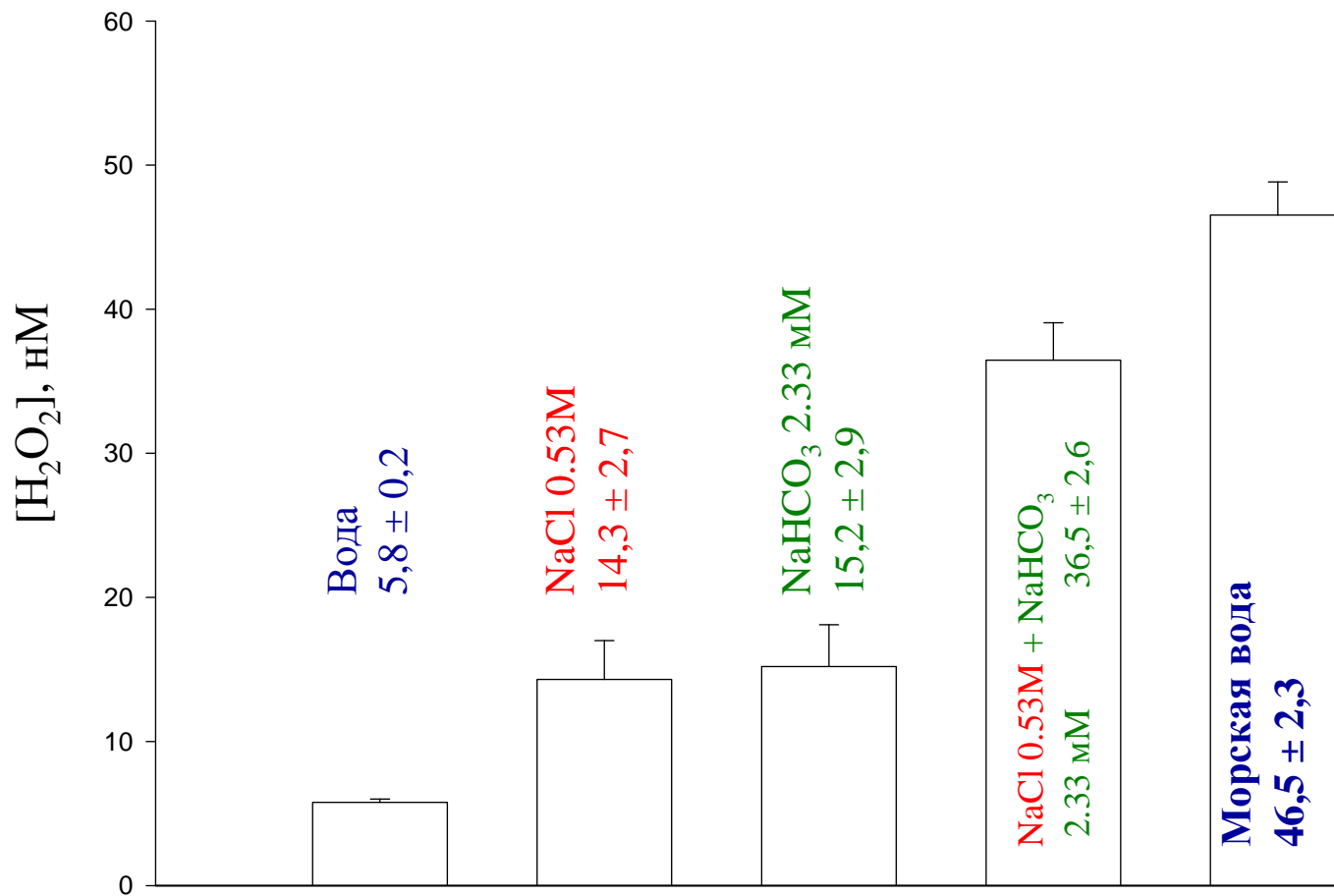


Зависимость от рН величины образования  $H_2O_2$  в бидистиллированной воде насыщенной воздухом (2) и дополнительно кислородом (1) при нагревании  $40^\circ C$  в течение трех часов. Вода насыщалась кислородом в течение 30 мин пробулькиванием газа перед нагреванием. Изменение рН осуществляли добавлением  $NaOH$ . Приведены средние значения не менее трех независимых экспериментов и их стандартные отклонения.



Схема последовательности реакций образования  
активных форм кислорода  
в воде под действием тепла

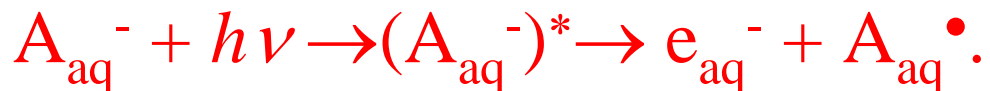




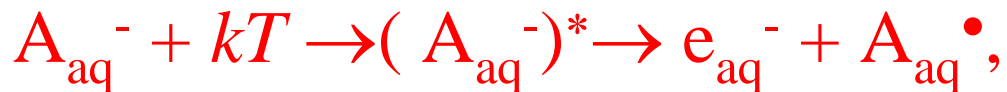
Образование H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> под действием тепла при нагревании растворов в течение 3 часов при 40°C, pH воды и растворов 8,5.

А: - вода (n=8); Б: - NaCl 0,53 М (n=2), В: - NaHCO<sub>3</sub> 2,33 мМ (n=2), Г: NaCl 0,53 М и NaHCO<sub>3</sub> 2,33 мМ (n=3), Д: - морская вода (n=5).

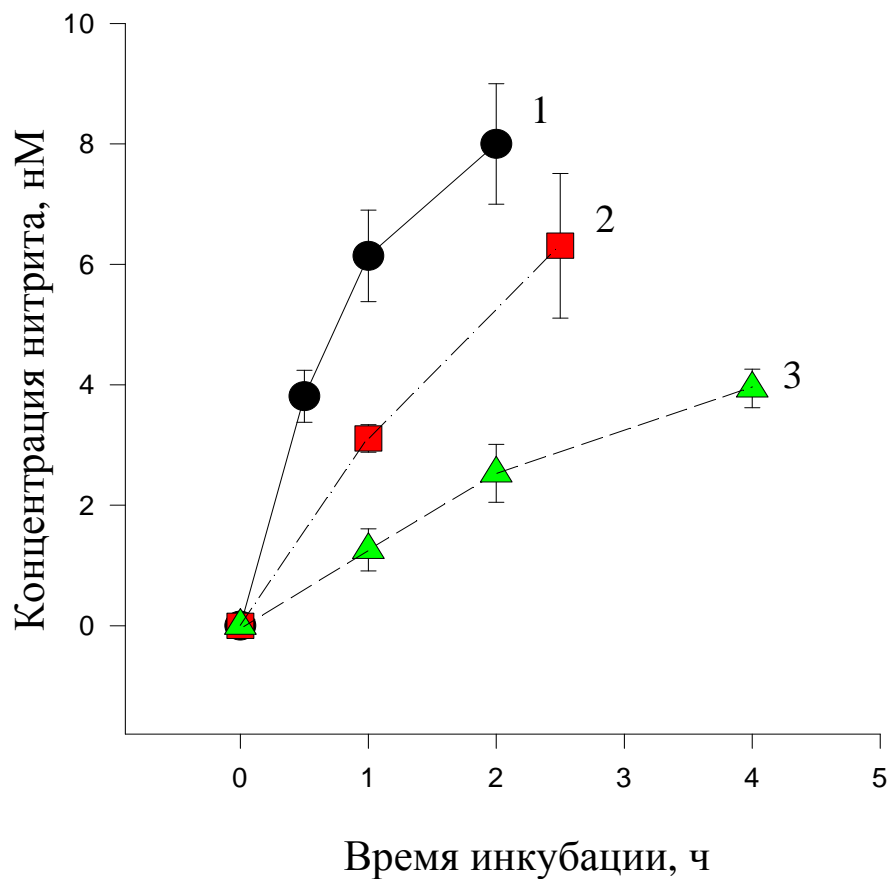
Целый ряд анионов таких как  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{I}^-$ ,  $\text{OH}^-$ ,  $\text{PO}_4^{2-}$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$  продуцируют гидратированный электрон при их флеш-фотолизе в процессе:



Можно полагать, что тепловое воздействие, подобно квантам света, также приводит к аналогичному процессу:



где  $kT$  означает действие теплового электромагнитного излучения. Радикалы, в свою очередь, рекомбинируют с образованием молекулярных форм:  $A_{\text{aq}}^\bullet + A_{\text{aq}}^\bullet = A_2$ , или, если присутствует ряд различных радикалов, то с дополнительным образованием их перекрестных форм.



Кинетика образования  $\text{NO}_2^-$  в бидистиллированной воде при нагревании при различных температурах ( $^{\circ}\text{C}$ ):  
1 – 80, 2 – 70, 3 – 60. (n = 2-6)

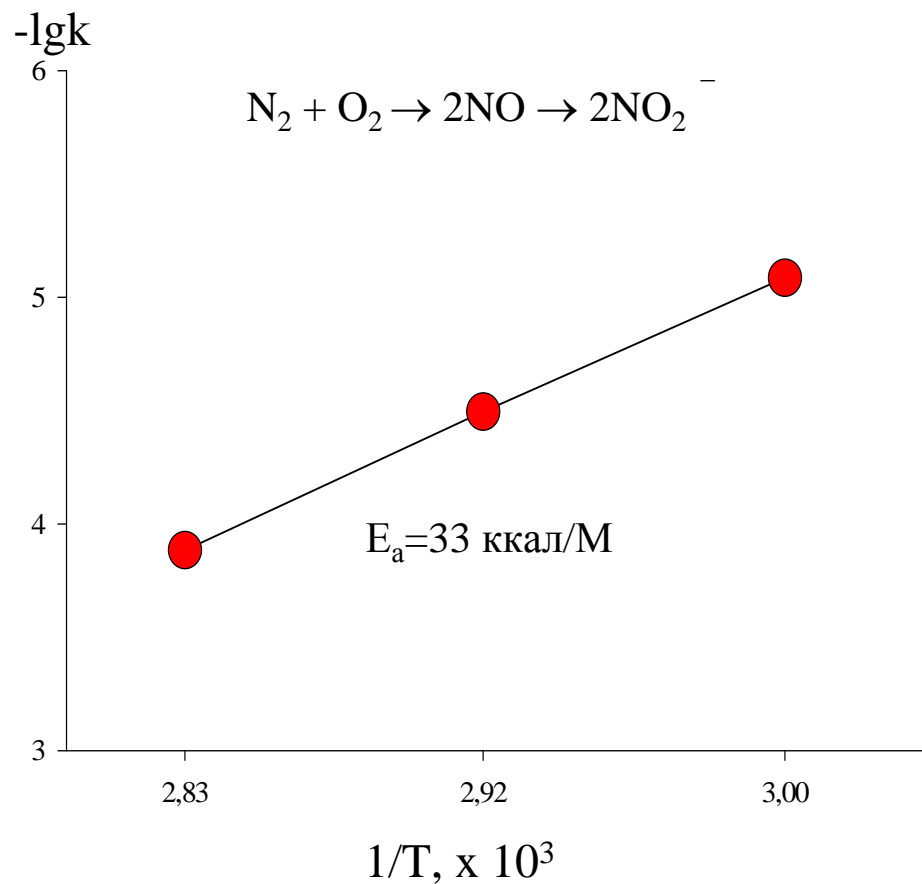
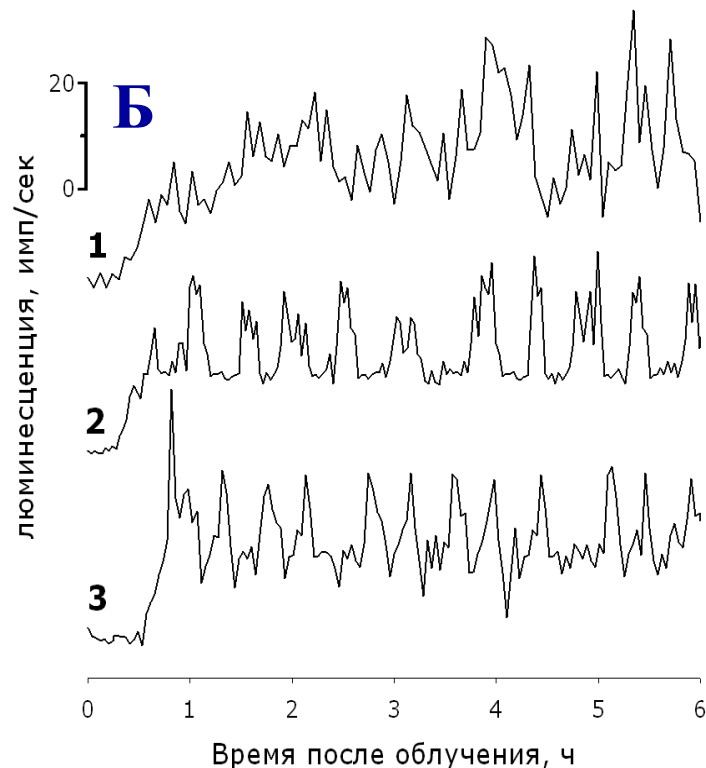
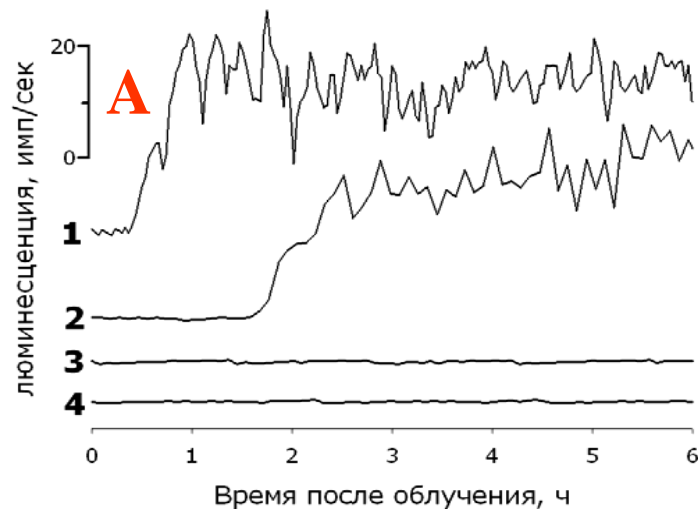


График Аррениуса зависимости  $-\lg k$  от обратной температуры для определения энергии активации образования  $\text{NO}_2^-$  в бидистиллированной воде при нагревании ( $k$  – константа скорости генерации  $\text{NO}_2^-$  ( $\text{M}^{-1} \cdot \text{c}^{-1}$ ),  $T$  – температура (K)).

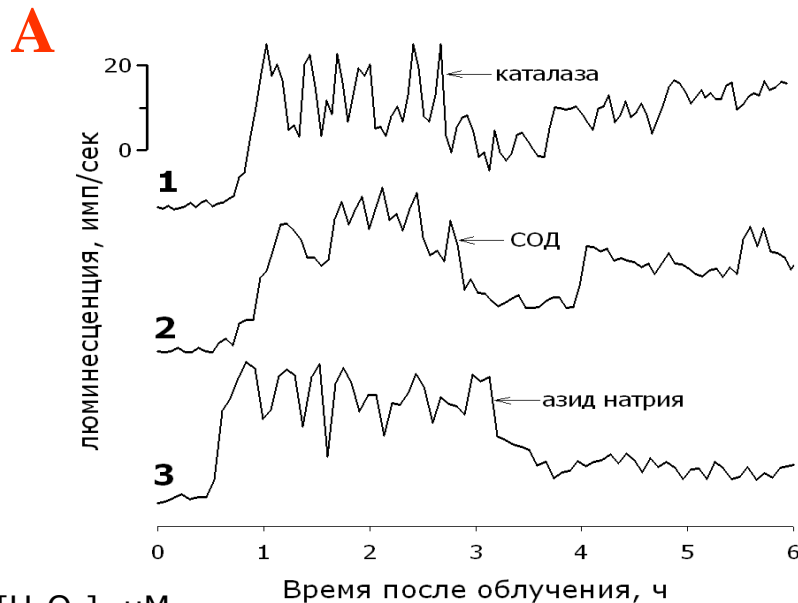
*В.И.Брусков, С.В.Гудков, С.Ф.Чалкин, Е.Г.Смирнова, Л.С.Ягужинский // Докл. РАН. 2009. Т. 425, С. 827-829.*

**А.** Влияние длительности лазерного облучения на люминесценцию воды. Воздействие облучения гелий-неоновым лазером на воду в течение 5 мин ( 1 ), 3 мин ( 2 ) и 1 минуты ( 3 ). Люминесценция воды без облучения (4).

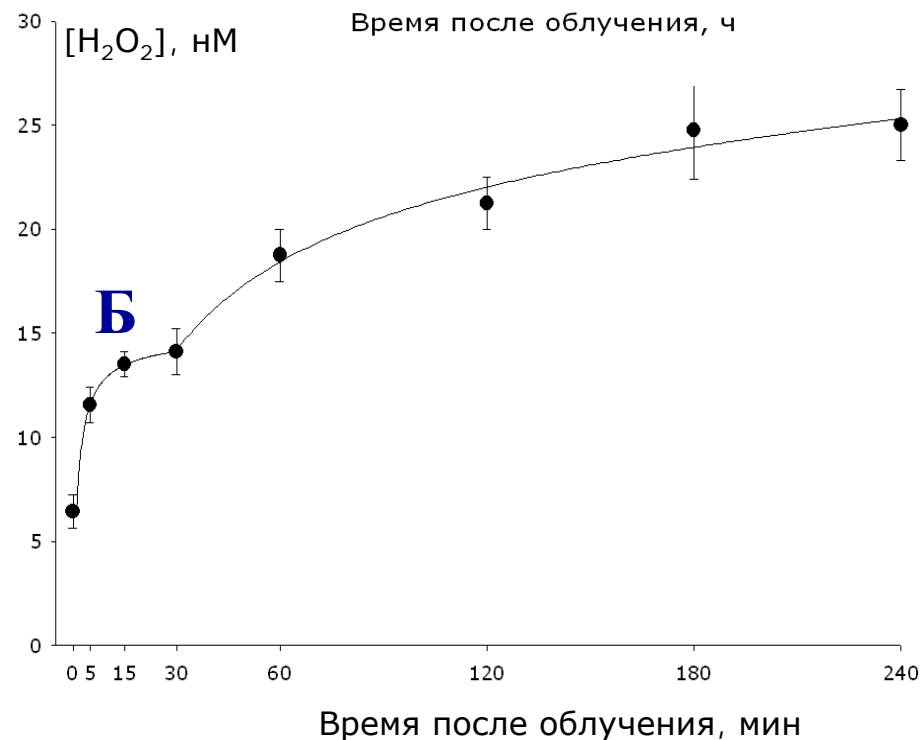
**Б.** Основные типы автоколебаний люминесценции воды индуцированные облучением лазера в течение 5 мин. Нерегулярные колебания люминесценции воды (1), колебания типа пакета импульсов (2), колебания люминесценции воды типа регулярные пики (3).

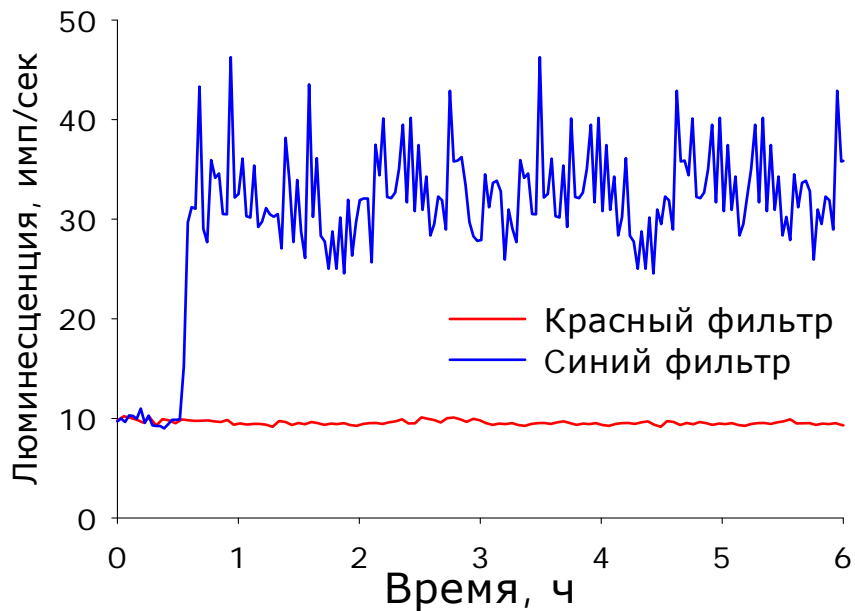


**А.** Влияние на колебательный процесс люминесценции воды каталазы (1), СОД (2) и азида натрия (3) после воздействия лазерного излучения в течение 5 мин. Момент внесения этих веществ показан стрелками.

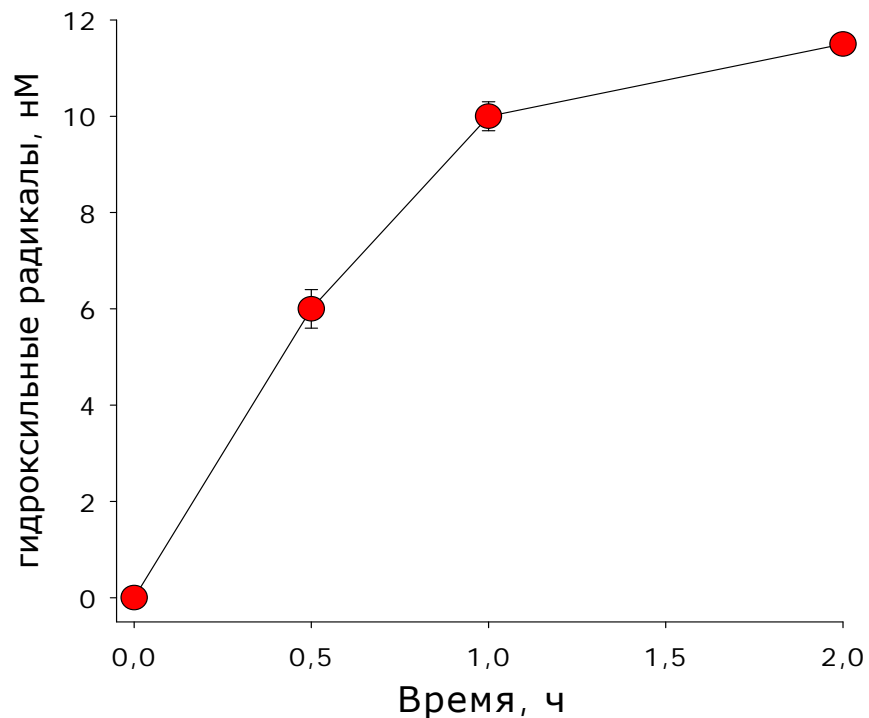
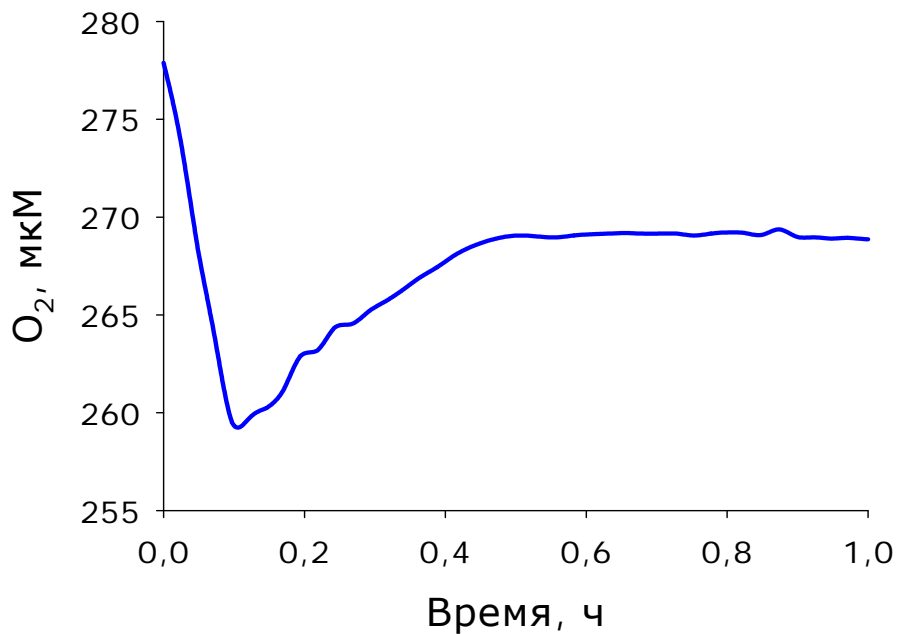


**Б.** Кинетика увеличения средней концентрации  $\text{H}_2\text{O}_2$  индуцируемой лазерным облучением воды в течение 5 мин.



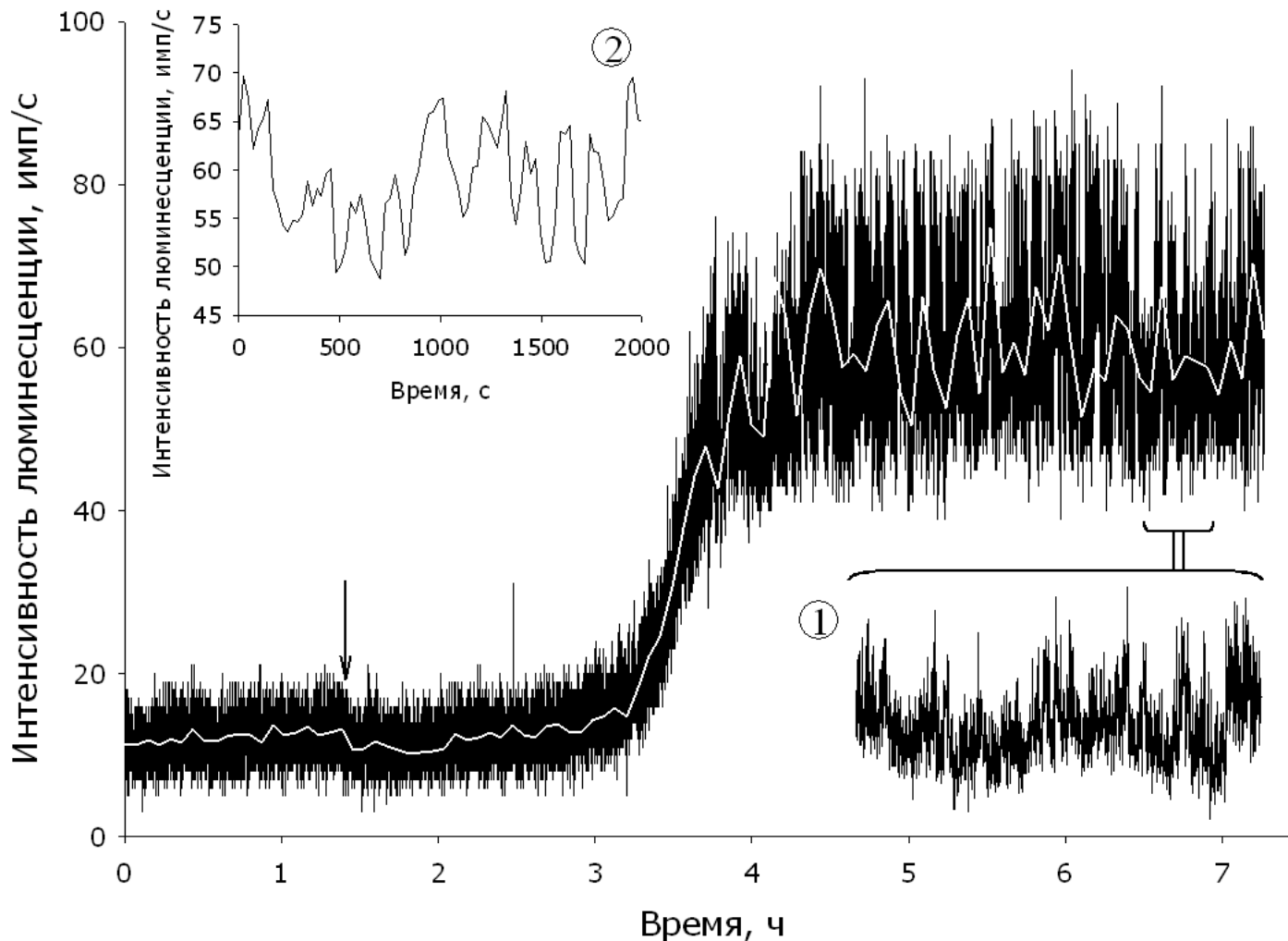


**Облучение He-Ne лазером  
с длиной волны 633 нм  
мощностью 1,7 мВт  
в течение 5 мин**



# ***Влияние ИК лазерного излучения ( $\lambda=1,26$ мкм, мощность 5 кВт, 5 мин) на интенсивность люминесценции воды.***

*На вкладке 1 представлена микроструктура изменения люминесценция воды. На вкладке 2 представлена интегральная интенсивность люминесценции воды с вкладки 1.*





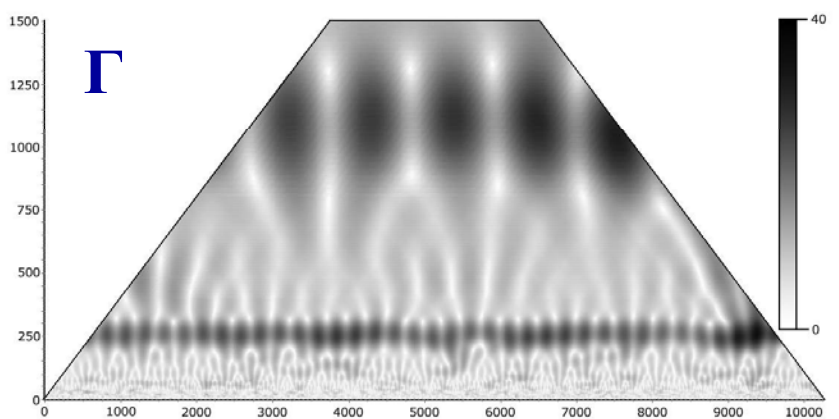
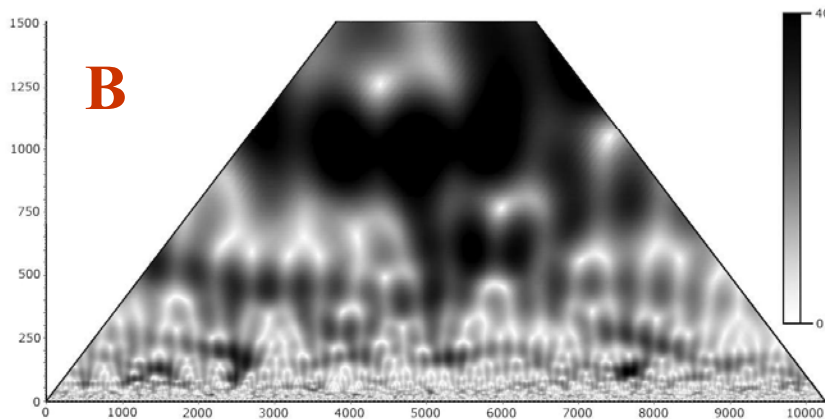
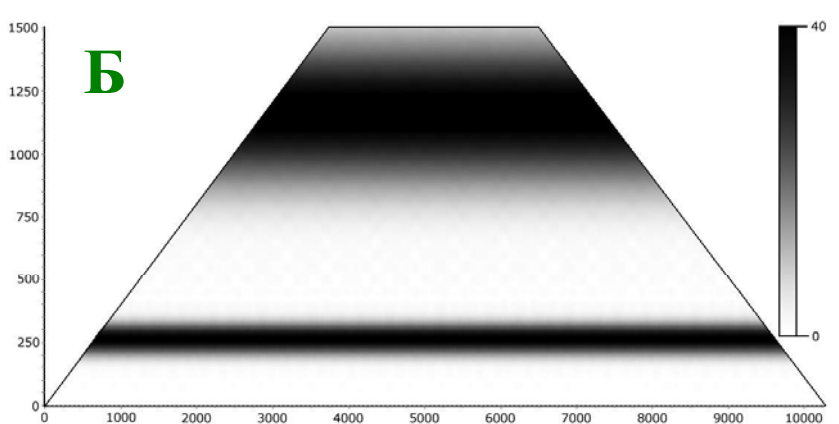
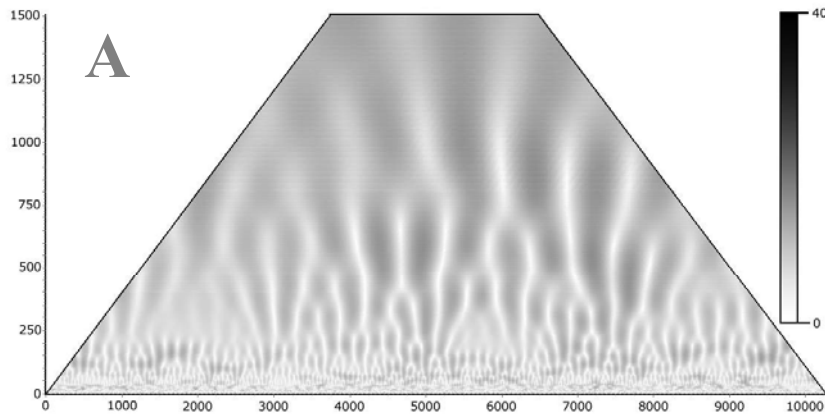
# Анализ временных рядов с помощью вейвлет-преобразования

А – при отсутствии ИК лазерного воздействия

Б – модельный сигнал  $y = \sin(x) + \sin(5x)$

В – стандартный результат после воздействия ИК лазера

Г – наиболее четкий результат выявленной периодичности (~5 и 19 мин)



Экспериментальные свидетельства наличия кавитационного процесса при облучении воды гелий-неоновым и инфракрасным (1260 нм) лазером:

1. Преобразование энергии низкой плотности в энергию высокой плотности, как основной критерий кавитации.

2. Образование АФК (перекиси водорода, гидроксильных радикалов и др. радикальных продуктов) и окислов азота (15 мин облучение He-Ne лазером приводит к образованию  $2,4 \pm 0,2$  нМ  $\text{NO}_2^-$ )

3. Уменьшение концентрации кислорода.

*Оценки величин энергии активации образования перекиси водорода и оксида азота при тепловых воздействиях дают величину, соответствующую возбуждению кислорода при переходе его в синглетное состояние.*

Не исключено, что биологические эффекты воздействия слабых магнитных полей на ядерные спины биологически важных ионов могут реализовываться путем усилительного процесса, связанного с кавитационным схлопыванием бабстонов.

**Благодарю за внимание**

## ЛИТЕРАТУРА:

1. Брусков В.И., Масалимов Ж.К., Черников А.В. Образование активных форм кислорода под действием тепла при восстановлении растворенного кислорода воздуха. **Доклады РАН** 2001 т. 381, №2, с.262-264.
2. Bruskov V. I., Malakhova L. V., Masalimov Zh. K., Chernikov A.V. Heat-induced formation of reactive oxygen species and 8-oxoguanine, a biomarker of damage to DNA. **Nucleic Acids Res.** 2002, Vol.30, No 6. P.1354-1363.
3. Брусков В.И., Масалимов Ж.К., Черников А.В. Образование активных форм кислорода в воде под действием тепла. **Доклады РАН** 2002 т. 384, №6, с.821-824.
4. Черников А.В., Брусков В.И. Генерация гидроксильных радикалов и других редокс-активных соединений в морской воде под действием тепла. // **Биофизика.** 2002. Т.47. С.773-781.
5. Брусков В.И., Черников А.В., Гудков С.В., Масалимов Ж.К. Активация восстановительных свойств анионов морской воды под действием тепла. **Биофизика.** 2003.Т.48, №6, с.1022-11029.
6. Черников А.В., Брусков В.И. Фиксация атмосферного азота под действием тепла и света в воде с образованием оксидов азота. **Доклады РАН** 2005, т. 400, №2, с.279-282.
7. Смирнова В.С., Гудков С.В., Черников А.В., Брусков В.И. Образование 8-оксогуанина и его окисленных продуктов в ДНК *in vitro* под действием температуры при 37°C. **Биофизика.** 2005.Т.50, №2, С. 243-252.
8. Смирнова В.С., Гудков С.В., Штаркман И.Н., Черников А.В., Брусков В.И. Генотоксическое действие ионов уранила на ДНК *in vitro*, обусловленное генерацией активных форм кислорода. **Биофизика** 2005.Т.50, №3, С.456-463.
9. Гудкова О.Ю., Гудков С.В., Гапеев А.Б., Брусков В.И., Рубаник А.В., Чемерис Н.К. Исследование механизмов образования активных форм кислорода в водных растворах под действием импульсного электромагнитного излучения крайне высоких частот с большой пиковой мощностью. **Биофизика** 2005. Т.50, №5, С.773-779.
10. Черников А.В., Гудков С.В., Штаркман И.Н., Брусков В.И. Кислородный эффект при тепловых повреждениях ДНК. **Биофизика.** 2007. Т.52, вып 2, с.244-251.
11. Штаркман И.Н., Гудков С.В., Черников А.В., Брусков В.И. Образование перекиси водорода и гидроксильных радикалов в водных растворах L-аминокислот при воздействии рентгеновского излучения и тепла. // **Биофизика.** 2008. Т. 53, № 1, с. 5-13.
12. В.И.Брусков, С.В.Гудков, С.Ф.Чалкин, Е.Г.Смирнова, Л.С.Ягужинский Автоколебательный процесс люминесценции воды, индуцированный лазерным облучением. // **Доклады РАН.** 2009. Т. 425, №6. С. 827-829.