

**О влиянии ядерно-спиновой изомерии воды
на перенос возбуждений при светокислородном эффекте**

С.Д. Захаров

Физический институт им.П.Н. Лебедева РАН

ПЛАН

- Светоокислородный эффект: первичный фотофизический акт и краткая характеристика.
- Свидетельства существования нехимического механизма действия синглетного кислорода ($^1\text{O}_2$) на белки и клетки и роль воды.
- Двухкластерная структура жидкой воды.
- Инвариантность орто-пара отношения воды относительно изменения её агрегатного состояния.
- О соответствии между типом водного кластера и его орто-пара составом.
- Гипотеза о магнитно-спиновых волнах в воде и водном растворе, распространяющихся по водородным связям.

В последние годы в биофизических исследованиях все шире применяются оптические методы



• Эритроциты человека – удобная модель для изучения спектрально-селективной реакции клеток к освещению слабым светом.

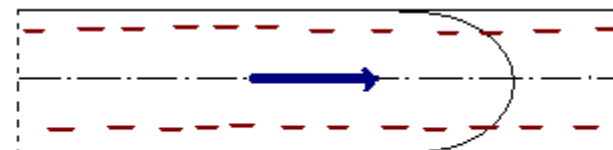
Для этих целей нами была разработана оригинальная методика оптической дифракции.

Первоначальная задача – определить молекулу-мишень для фотонов в т.н. низкоинтенсивной лазерной терапии.

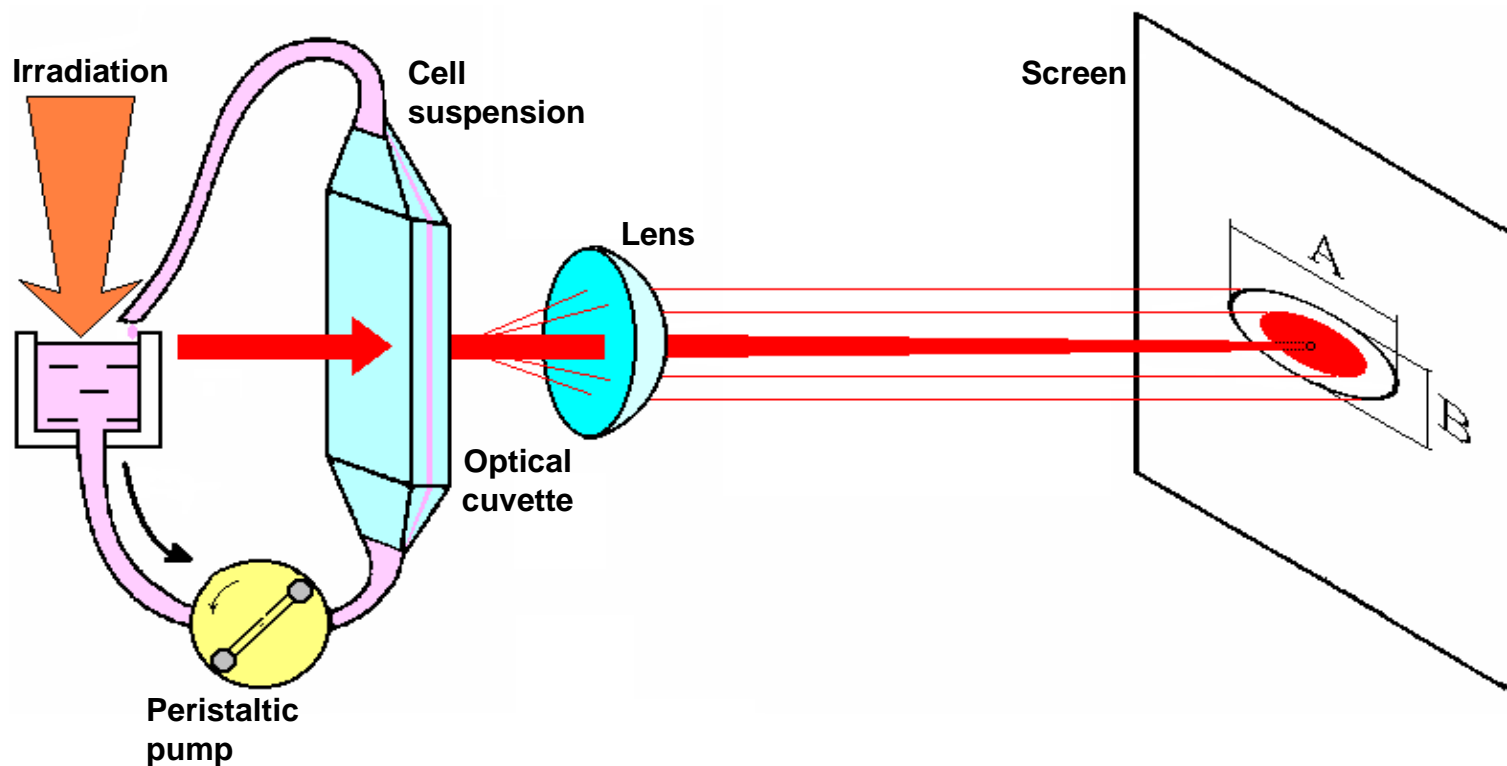
Регистрируемый параметр – деформируемость эритроцитов.

Эридифрактметр – принципиальная схема

Схема автофокусировки эритроцитов

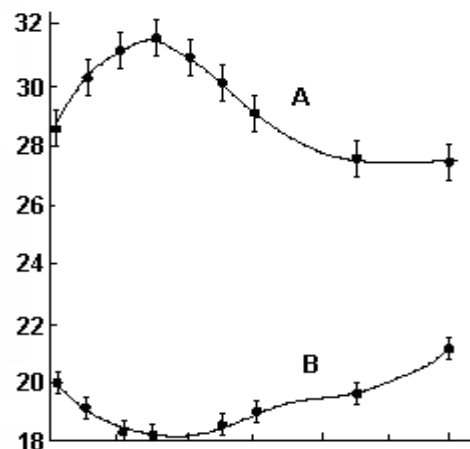


направление потока →

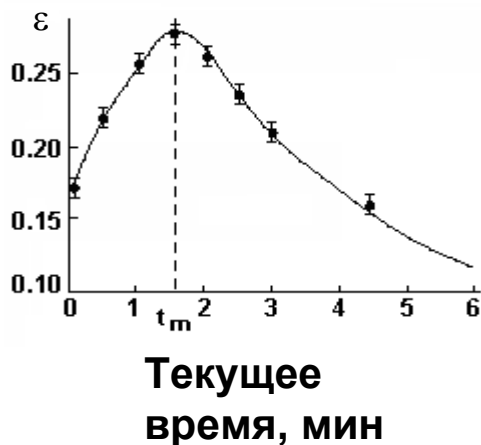


Деформируемость эритроцитов меняется под лазерным облучением, когда длина волны λ попадает в полосы поглощения кислорода

Продольный и поперечный размеры дифракционного овала (мм)



Индекс деформируемости эритроцитов
 $\varepsilon = (A - B)/(A + B)$



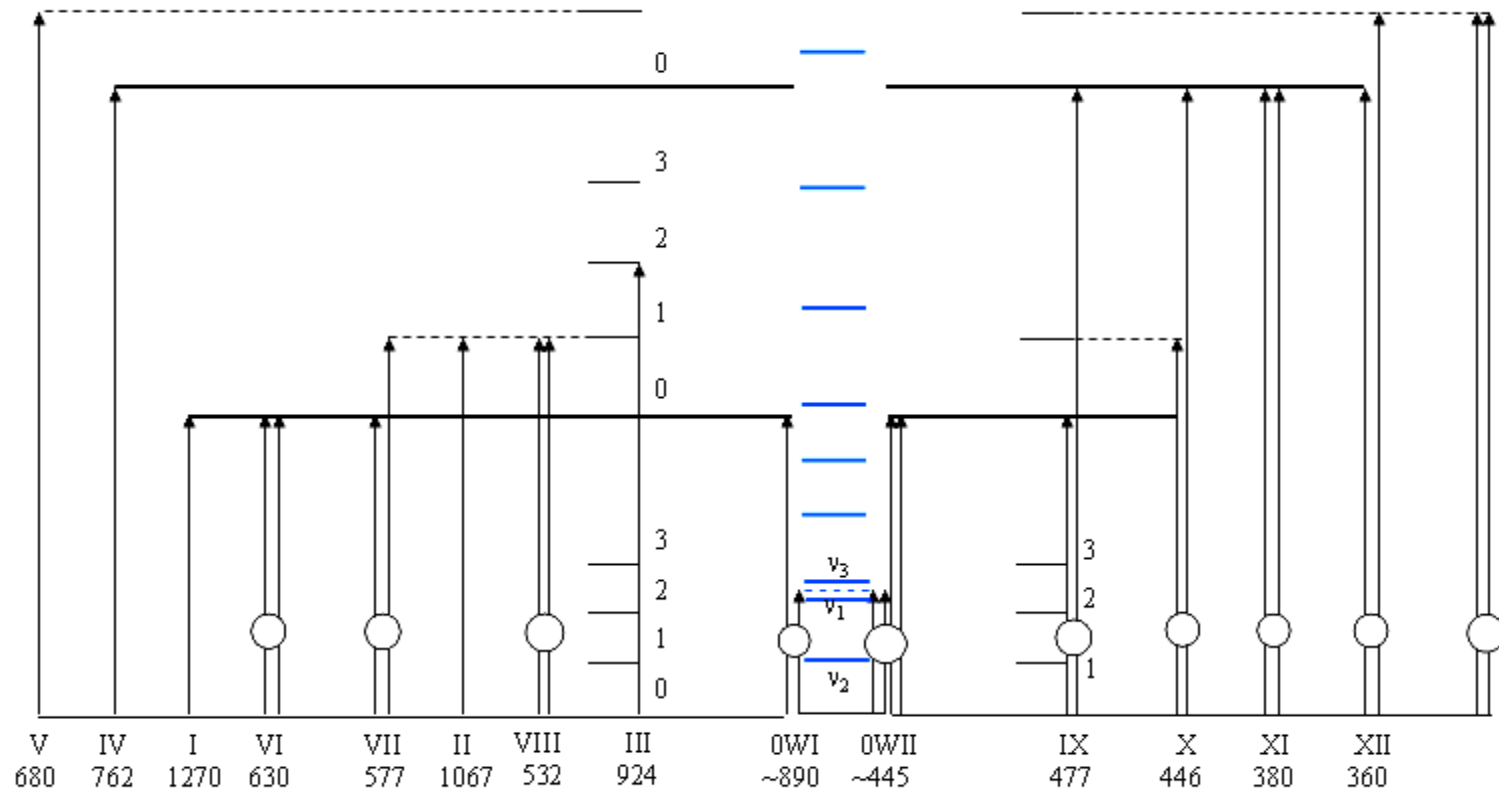
$$\lambda = 632,8 \text{ нм}$$

Активационная стадия (от момента $t = 0$ включения лазера до достижения максимальной эластичности эритроцитов t_m).

По мере продолжения облучения, она сменяется стадией клеточного угнетения — индекс деформируемости падает ниже начального значения.

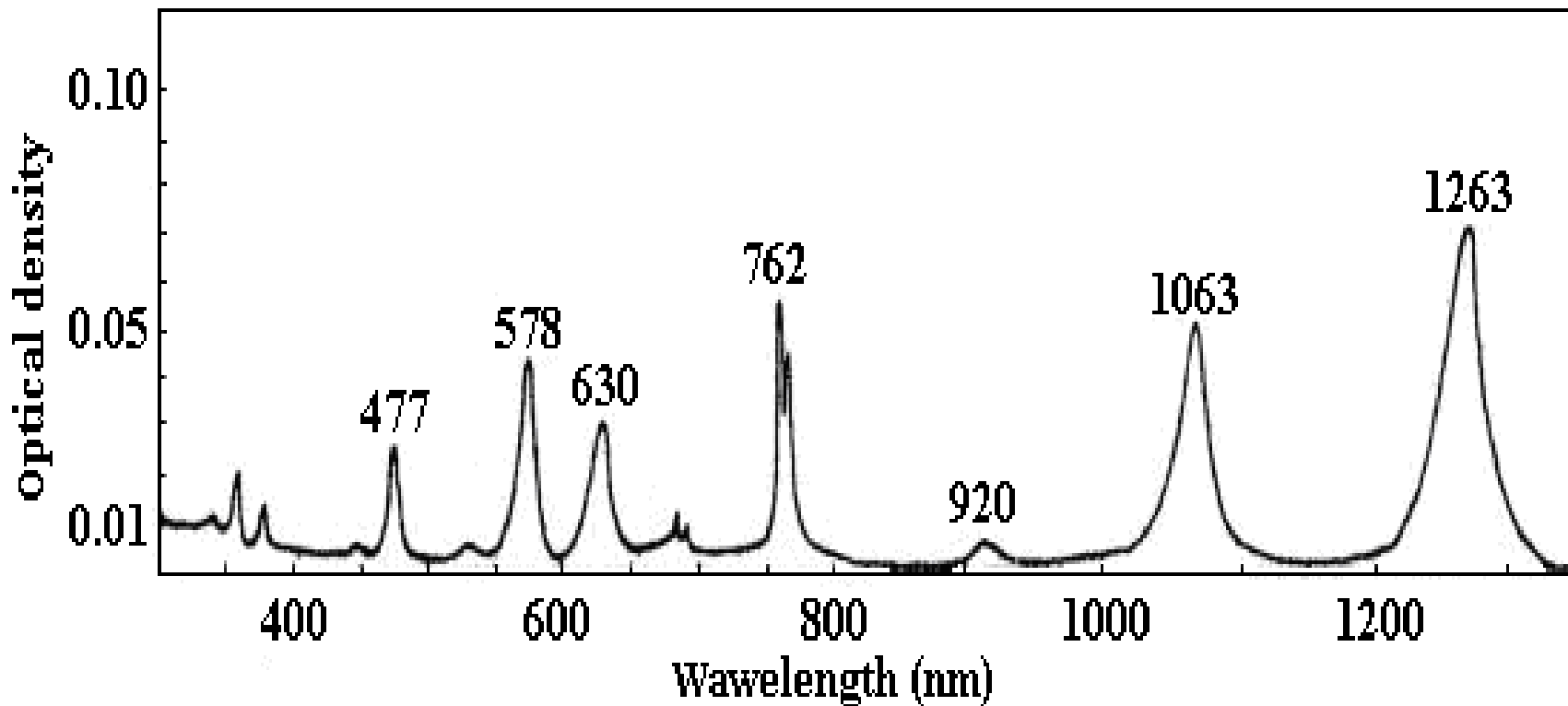
Биофизический метод — регистрация «спектра действия».

Схема возбуждения двух нижних электронных уровней молекулы O_2



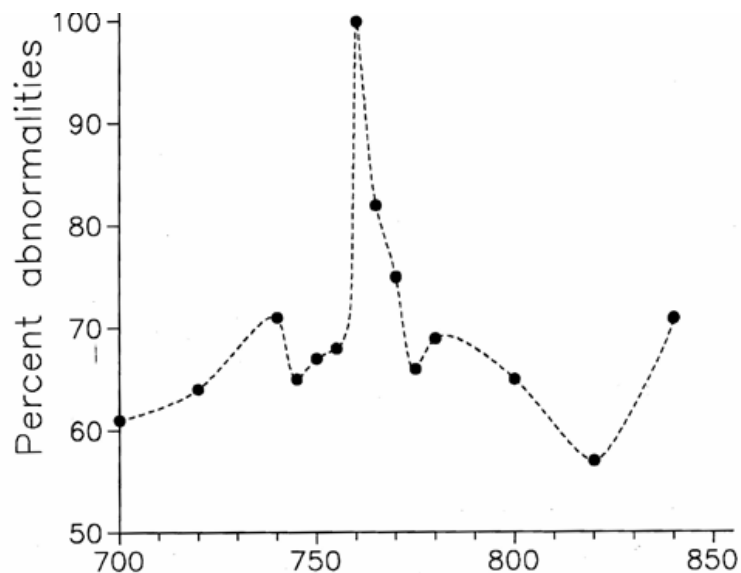
Цветом показаны уровни колебаний молекулы H_2O

Спектр поглощения кислорода в газе высокого давления (120 атм)



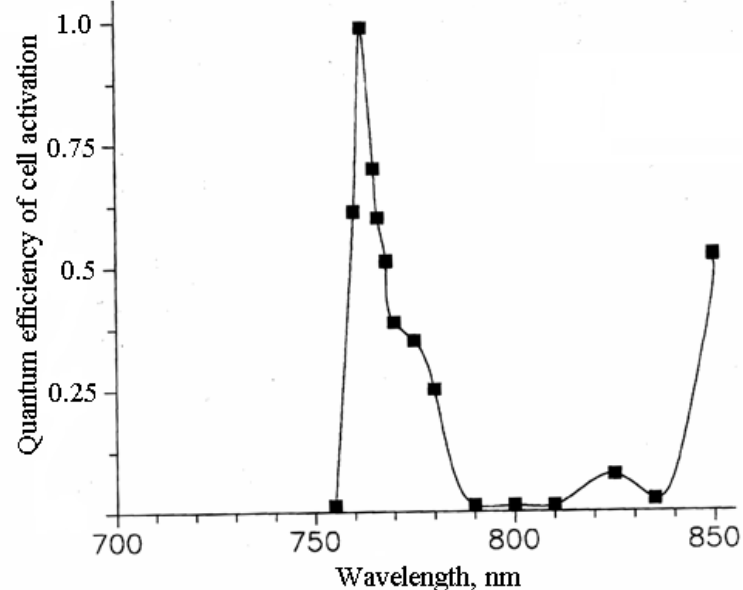
Б.М. Джагаров, Институт физики АНБ, Минск (с разрешения)

Эффект проявляется на всех исследованных типах клеток



Спектральная зависимость ДНК aberrаций при удержании одиночных клеток кенгуровой крысы (rat kangaroo) в лазерном твизере

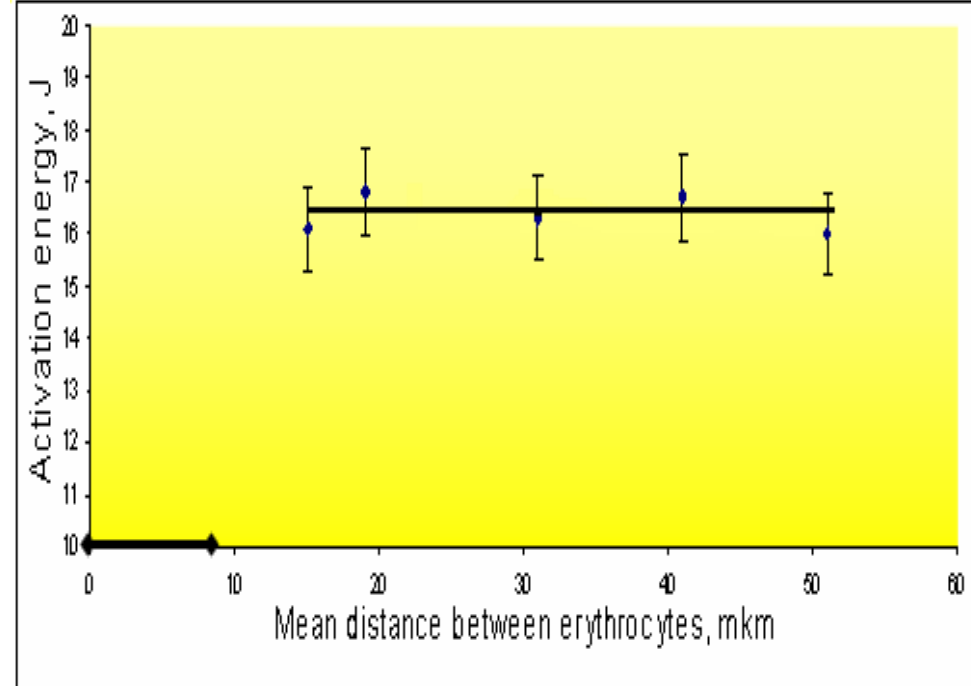
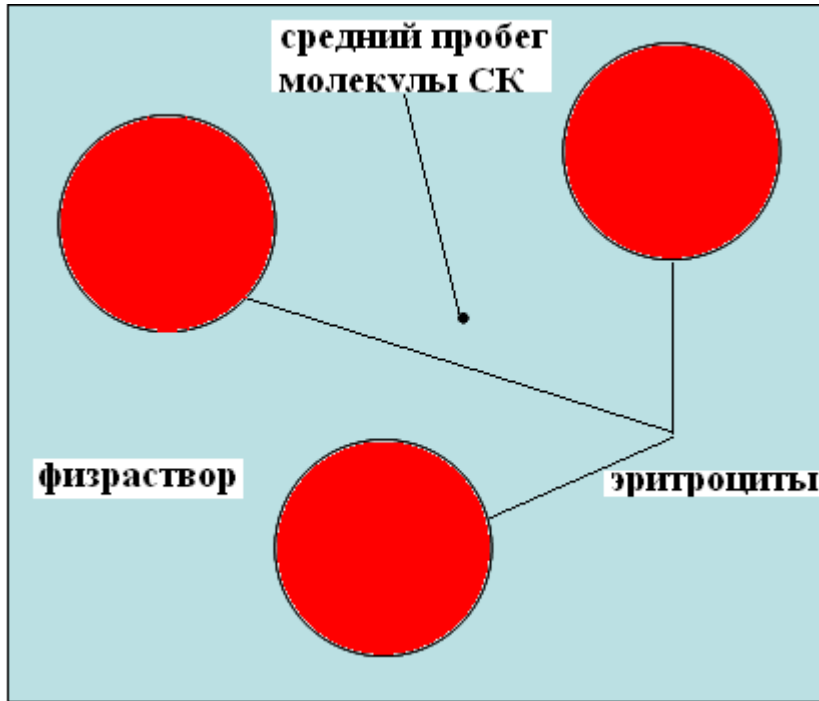
Vorobjev I.A., Liang H., Wright W.H., Berns M.W. // Optical trapping for chromosome manipulation: a wavelength dependence of induced chromosome bridges. Biophysical J. 1993. V. 64. P. 533-538.



Спектр действия *in-vitro*, полученный с помощью измерения деформируемости эритроцитов, облучаемых лазером

Данилов В.П., Захаров С.Д., Иванов А.В. и др. // Спектрально-селективный фотодинамический эффект без экзогенных фотосенсибилизаторов и его возможные применения для фототерапии рака и биостимуляции. Изв. АН СССР, сер. физическая. 1990. Т.54. №8. С. 1610-1620.

Неизвестный физический канал действия СК



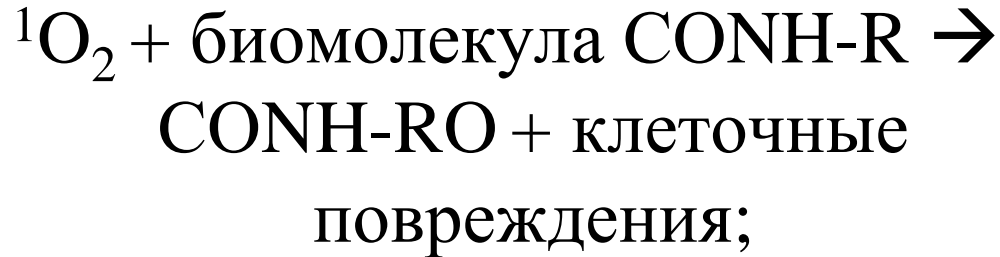
Схема, иллюстрирующая относительные размеры эритроцитов в суспензии и средней длины пробега молекулы синглетного кислорода (точка в центре, её размеры сильно преувеличены).

Истинное отношение размеров 400:1.

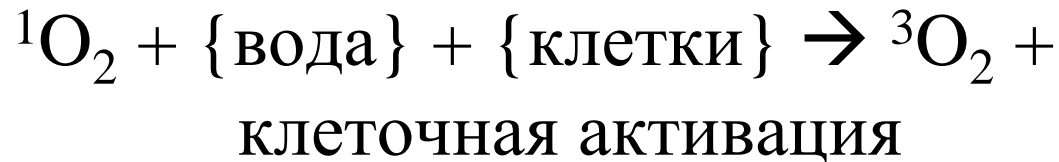
Независимость порога фотоактивации красных клеток от межклеточного расстояния. Возбуждение гелий-неоновым лазером (632,8 нм).

Два канала действия синглетного кислорода (СК)

Химическая реактивность

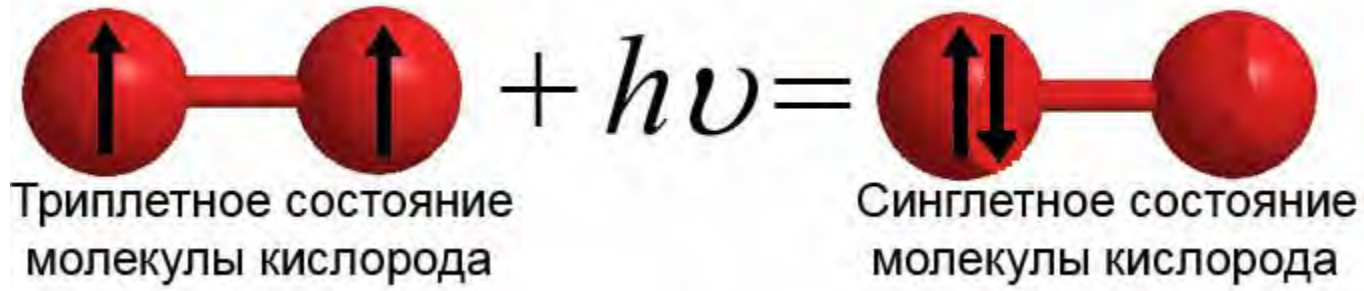


Физический канал



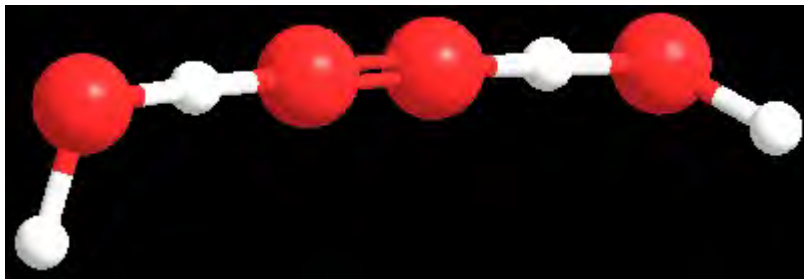
Задача – объяснить физический механизм действия СК

СКЭ



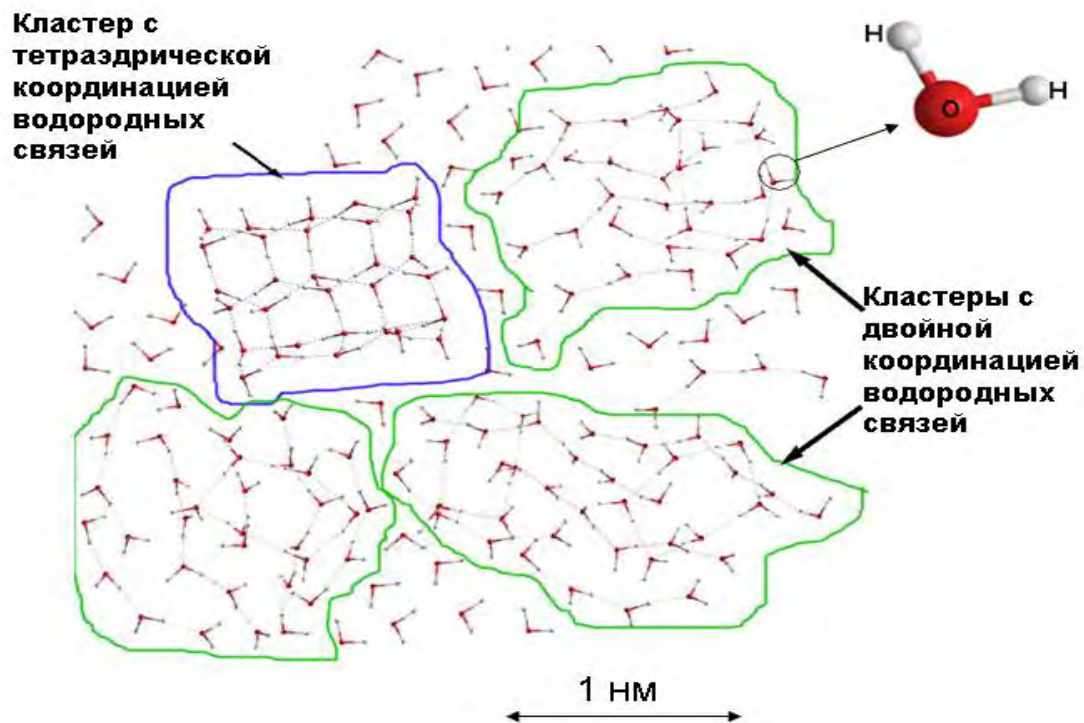
Первичный акт фотоокислородного эффекта.

Молекулярный кислород в водной среде



Варианты окружения молекулы кислорода ближайшими молекулами H₂O.

Двухкластерная структура жидкой воды



Схематическое изображение кластерной организации воды

(С.Д. Захаров, И.В. Мосягина. Кластерная структура воды (обзор). Препринт ФИАН №11, 2011)

Два варианта структуры кластеров низкой плотности (тетраэдрическая координация)

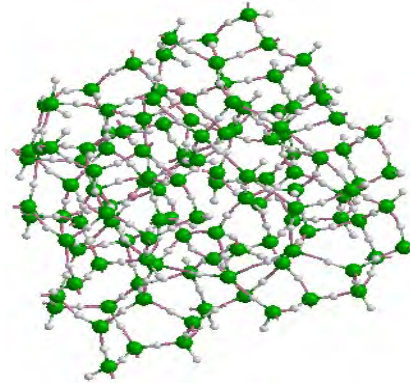
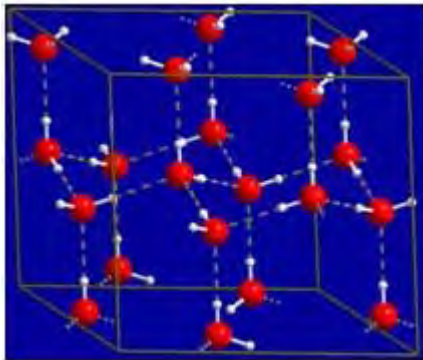
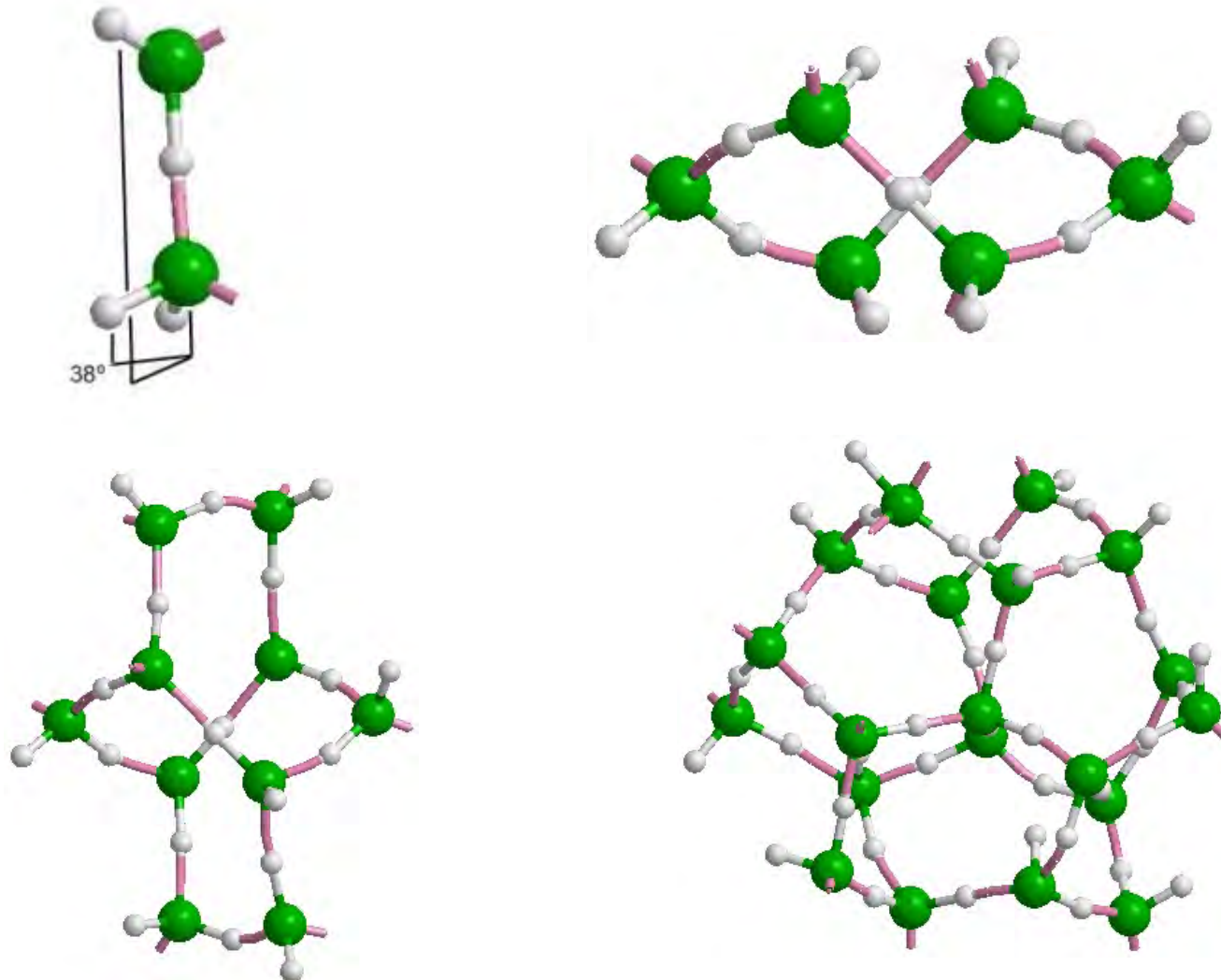
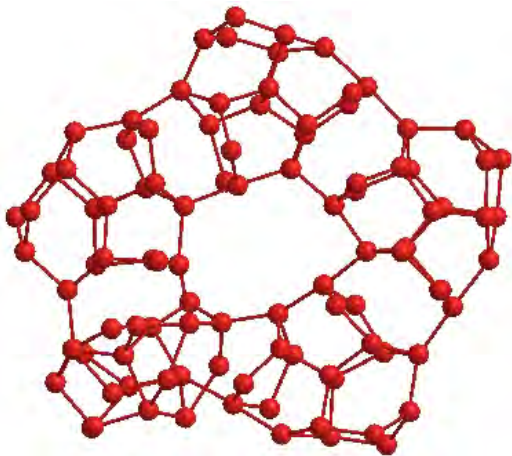
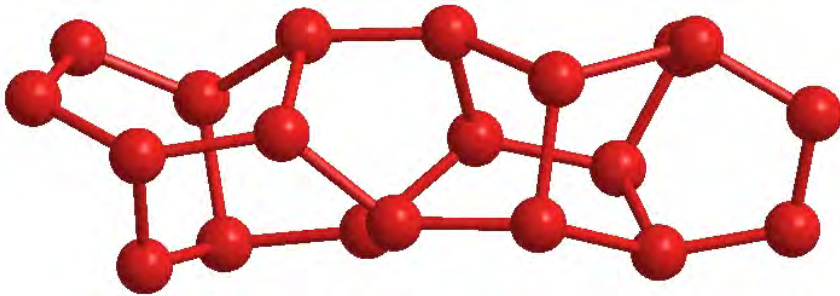


Схема наноразмерных кластеров воды, образованных по типу лед Ih (слева) или «фрактальный лед» (справа).

При обычных условиях вода может образовывать модульные структуры, из которых формируются гидратные оболочки биополимеров. (Н.А. Бульенков. Биофизика, 1991, т. 36, № 2, с.181-242).



Примеры водных конструкций из универсальных блоков (модулей)



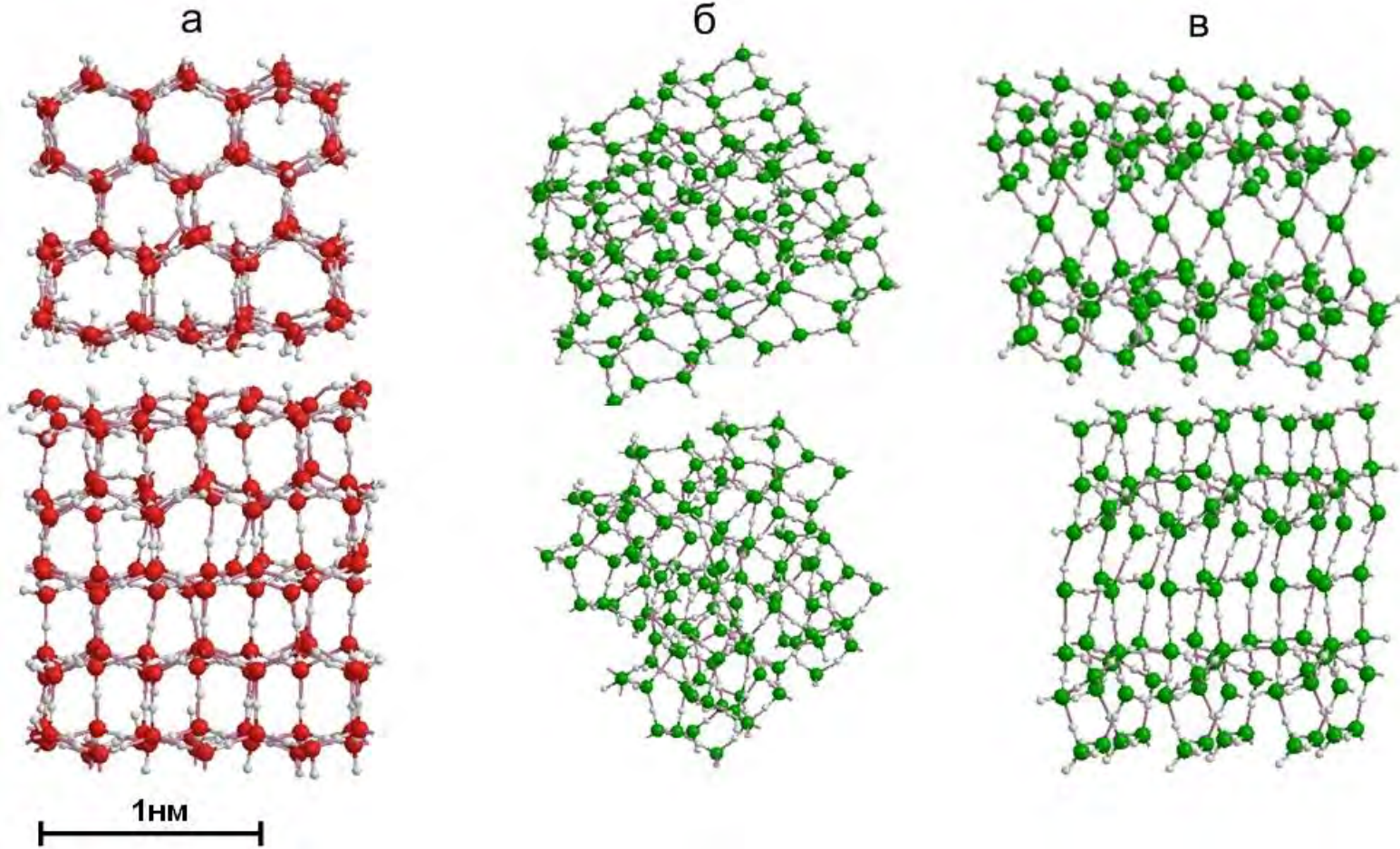
- На фигурах показано только положение атомов кислорода, соединенных водородными связями (водородные атомы не показаны)

Организация водных кластеров

- **Совместный анализ данных** Ph. Wernet et al. The Structure of the First Coordination Shell in Liquid Water, Science, 304,995 (2004) **и** C. Huang et al. The inhomogeneous structure of water at ambient conditions. PNAS, 106, 15214 (2009) **позволяет заключить, что НПК состоят преимущественно из тетраэдрически связанных молекул H_2O , тогда как ВПК – из молекул, имеющих только две сильные водородные связи – одной донорной и одной акцепторной.**

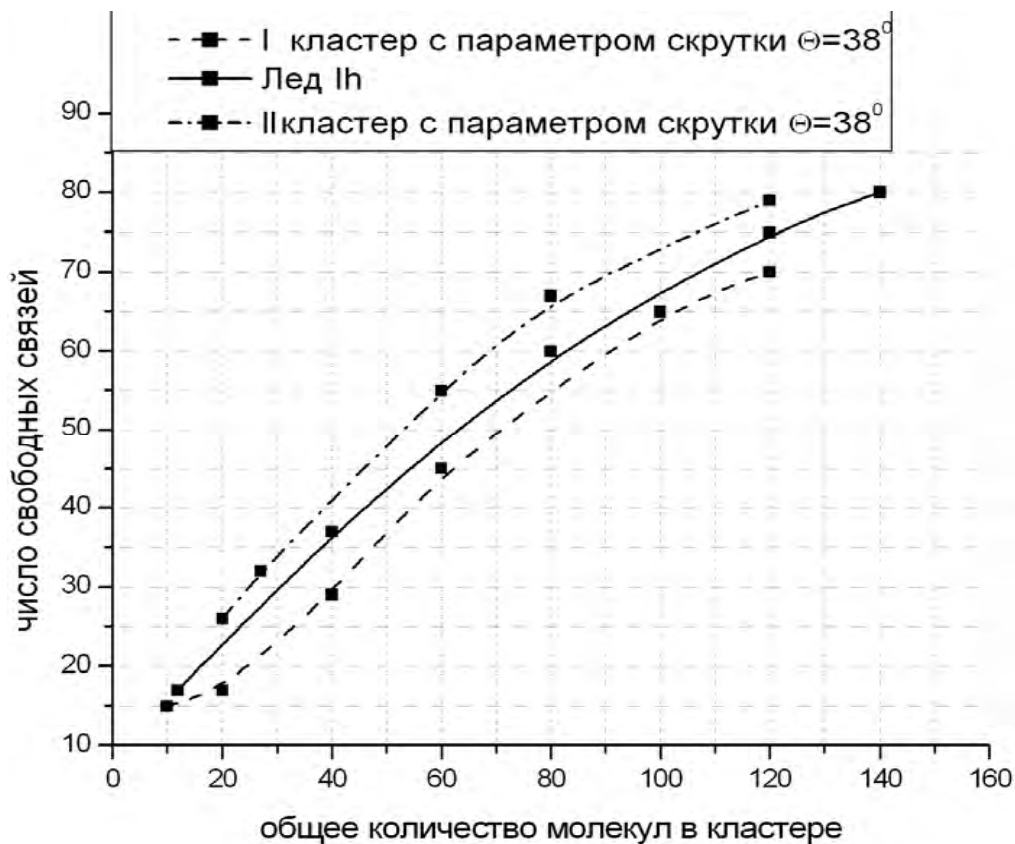
Модели низко-плотных кластеров (НПК) в двух

ортогональных проекциях



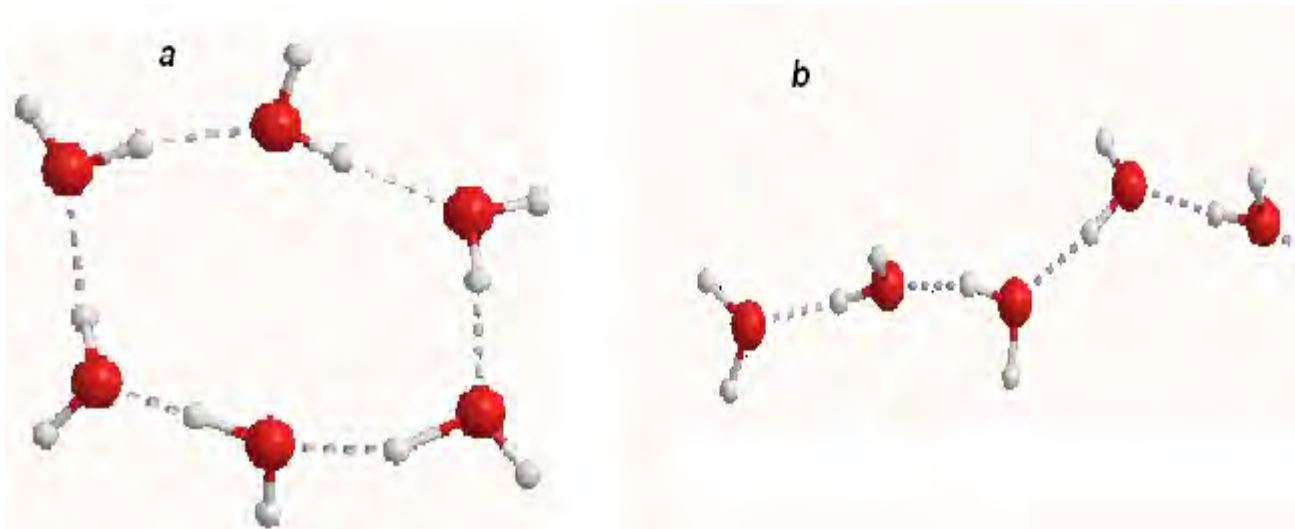
- а) на основе решетки льда Ih, количество молекул $N=140$;
б) из $(H_2O)_{20}$ модулей, $N=120$ (кластер I);
в) из $(H_2O)_{10}$ модулей, $N=120$ (кластер II).

Оценка относительной устойчивости НП кластеров



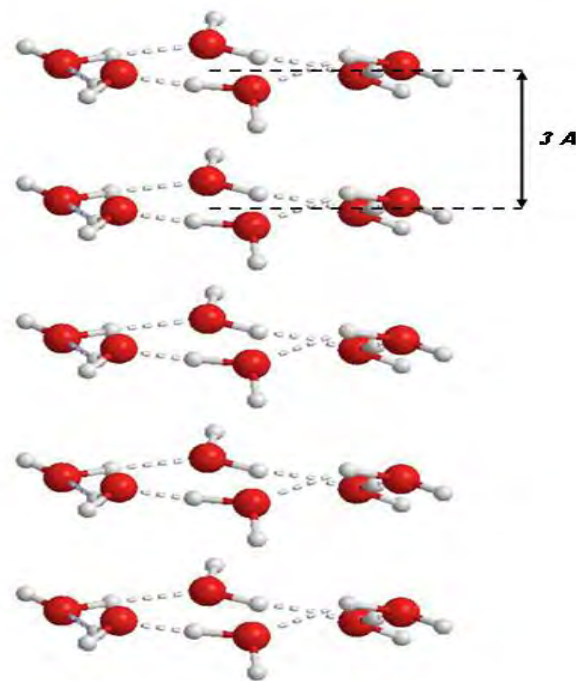
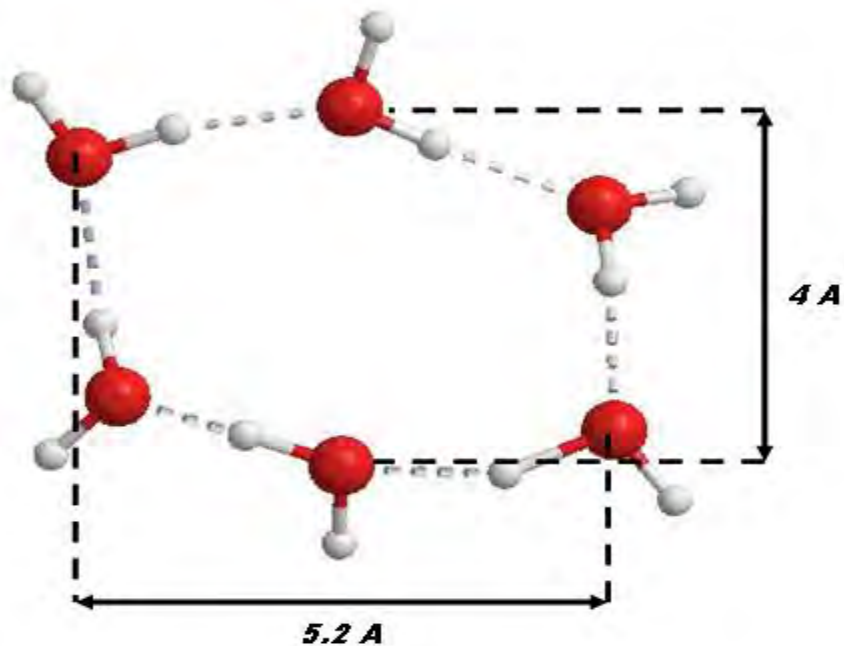
Зависимость числа свободных связей от числа молекул по мере увеличения размера кластеров в конфигурациях, приведенных на предыдущей схеме.

Два варианта элементарных модулей для кластеров высокой плотности (ВПК)



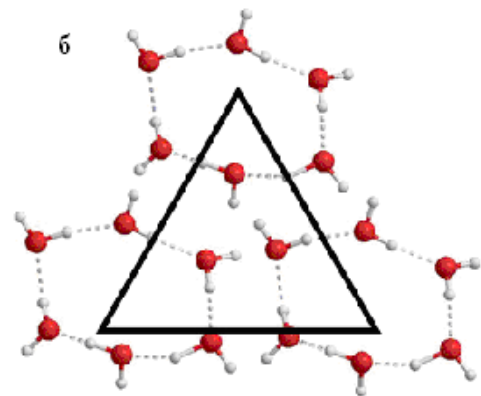
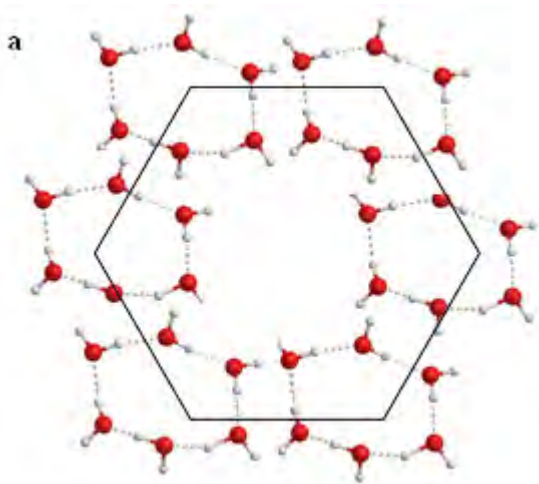
Возможные конфигурации, из которых слагаются ВПК (схема). Построено с использованием данных: Ph. Wernet et al. The Structure of the First Coordination Shell in Liquid Water, Science, pp. 995-999, 2004

Возможная схема упаковки колец в «стопки» внутри ВПК



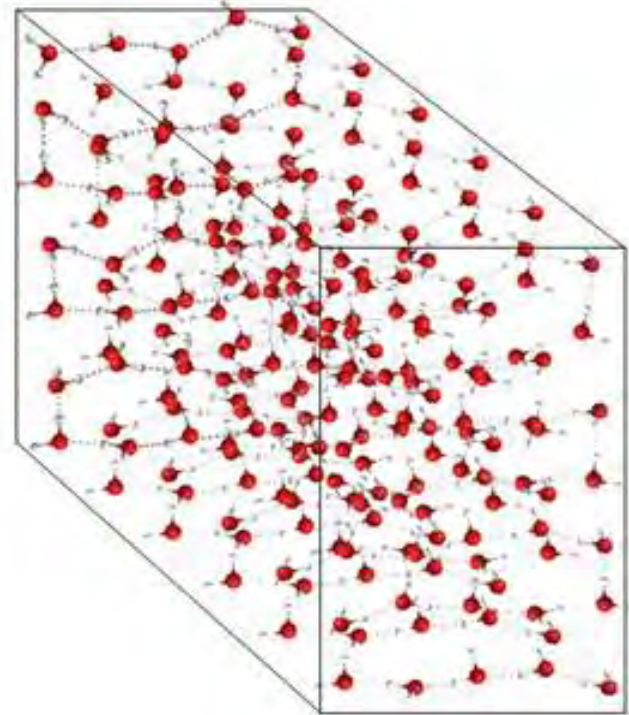
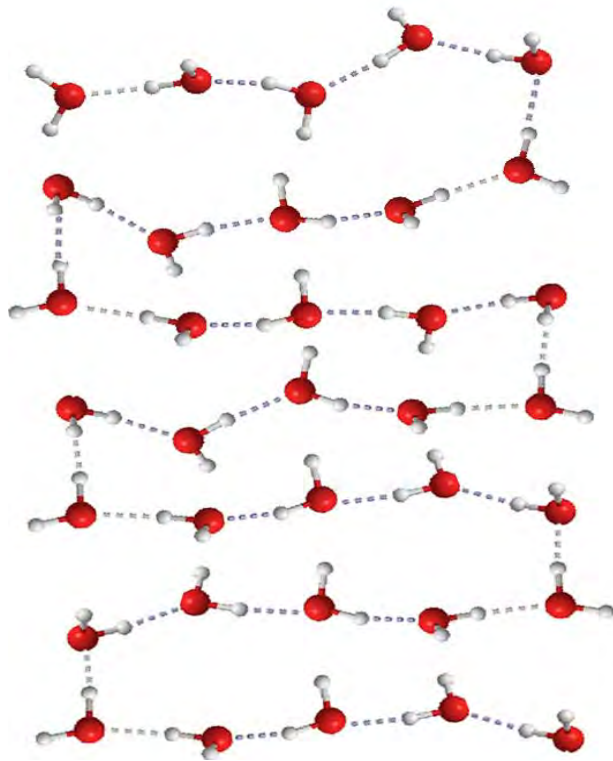
Кольцевая структура с двойной координацией Н-связей (гексамер) и стопка из пяти водных колец.

Упаковка стопок в кластерах высокой плотности



Варианты упаковки стопок гексамеров в гипотетической структуре акваита (вид в сечении).

Кластеры высокой плотности цепочечного типа



Простейший вариант элементарной цепочечной структуры с двойной координацией Н-связей (слева) и пример их упаковки в альтернативном варианте аквита.

Орто/пара инвариантность по отношению к фазовым переходам I рода

Анализ экспериментов В. Тихонова, А. Волкова (2001):

- Орто-пара отношение (R) не изменяется в результате конденсации обогащенного образца из пара в лед;
- R остается неизменной после оттаивания (переход лёд-жидкость);
- R сохраняется при переходе из жидкой фазы в газ.

Вывод: принадлежность молекулы H_2O к одному из спин-изомеров не изменяется при переходах воды из одного агрегатного состояния в другое. В противном случае, пришлось бы допустить, что молекулы, например, при конденсации теряют память о своей спиновой идентичности, но она необъяснимым образом восстанавливается при последующем испарении.

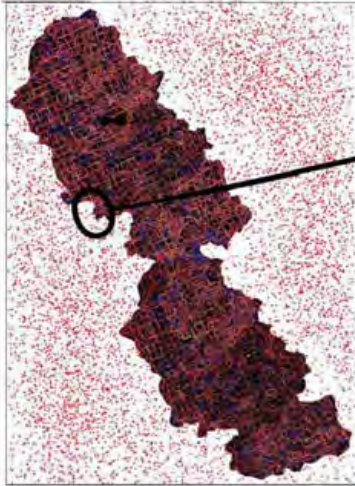
Схема распространения индуцированной волны орто-пара конверсии



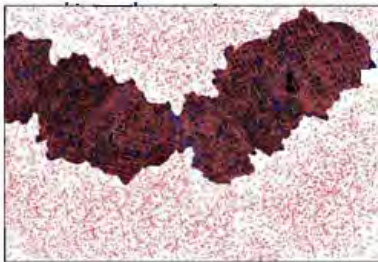
↑ - Электронный спин ↑ - Ядерный спин

Механизм переноса магнитно-спиновых возмущений

Гидратированный биополимер
в водном растворе



Фрагмент гидратной
оболочки
биополимера



Изменение конформации

Схема изменения структуры биополимера,
индуцированного волной орто-пара конверсии.

Заключение

В ходе исследований выяснилось, что при СКЭ наряду с химическим каналом действия, существует делокализованное воздействие, в котором возбуждение молекул O₂, сопровождающееся переворотом электронных спинов, переносится на клетки через водную среду.

Предложено возможное объяснение, заключающееся в переносе спиновых возмущений посредством солитоноподобных волн переворота ядерных спинов, на биополимеры, приводя к изменению структуры их гидратных оболочек и, как следствие, к изменению конформации и химической активности.

Благодарности

Благодарю В.И. Денисова, М.В. Зюзина, И.В. Мосягину за активное участие в выполнении данной работы.

Признателен моим коллегам А.Ф. Бункину, Н.Ф. Бункину, А.А. Волкову, А.В. Дроздову, С.М. Першину, В.И. Тихонову за дружескую помощь и конструктивные обсуждения.

Спасибо за внимание!