

РОЛЬ ВОДИ У МОРФОЛОГІЇ ФАЦІЙ МОДЕЛЬНИХ БІОЛОГІЧНИХ РІДИН

*І.М. Бордун, В.В. Пташник,
М.В. Велигорська*

Національний університет
«Львівська політехніка»,
м. Львів, вул. Ст. Бандери, 12, 79013.
E-mail: ptashnykproject@gmail.com

Показано, що в утворенні структур в дегідратованій біологічній рідині, аналіз морфологічної картини яких є новим методом діагностики та моніторингу стану біоб'єктів, важливу роль відіграє вода. Досліджено зміну структур фації при дегідратації модельних рідин, отриманих з використанням звичайної та електрохімічно активованої води. Встановлено, що на морфологічну картину фації впливає не стільки зміна хімічного складу води, скільки зміна її структури.

Вступ. Вивчення біологічних рідин, які переведені у твердий стан шляхом дегідратації, є основою нового наукового напрямку – функціональної морфології біологічних рідин. Роботи у цьому напрямку ведуться в першу чергу медиками [1-3], оскільки такі дослідження кінцевою метою мають розробку простих методик діагностики різних патологічних змін у функціонуванні організму, а саме біологічні рідини є першою важливою діагностичною субстанцією. Найчастіше використовується метод клиновидної дегідратації [1], який із краплі біологічної рідини – сироватки крові, слини, спинномозкової рідини, тощо – дозволяє отримати плівку-фацію, структура якої визначається якісними та кількісними параметрами досліджуваної рідини. Не дивлячись на те, що цей метод має застосування у практичній медичній діагностиці, багато питань щодо біофізичних та біохімічних процесів, які протікають при дегідратації, до кінця не з'ясовані. Твердо встановленим є той факт, що у фаціях біологічних рідин розчинені речовини розміщуються у певному строго визначеному порядку у вигляді концентричних зон [1], що дозволяє змодельовати процес дегідратаційної самоорганізації з використанням певних фізичних явищ, характерних, наприклад, для колоїдних розчинів [4]. Однак, на

нашу думку, фундаментальним є питання процесів, які визначають механізм формування структури біологічної рідини. А ця структура пов'язана у першу чергу зі структурою води, що і є предметом вивчення у даній роботі.

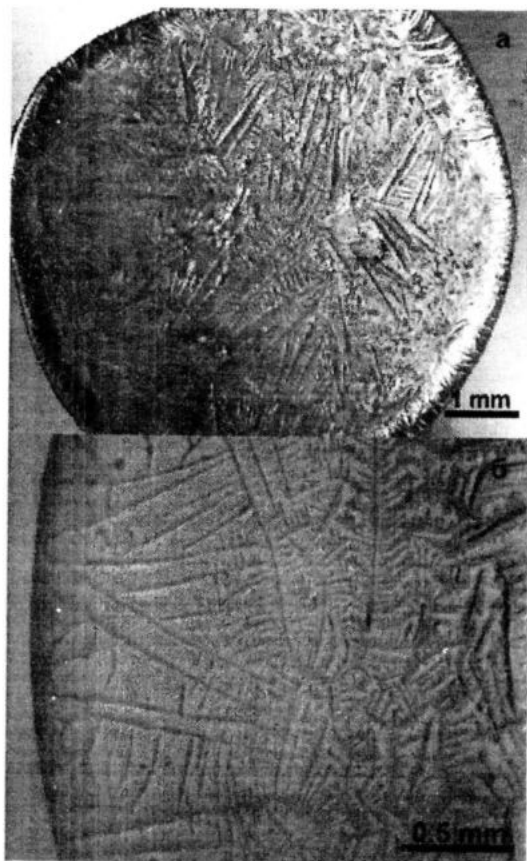
Експериментальна частина. Дослідження проводились із розчином, який моделював сироватку крові людини. У якості білка використовувався яєчний альбумін, його концентрація у розчині становила 7%. У якості солей сироватки був використаний хлорид натрію марки о.с.ч., вміст якого був 0,9%. Основою розчину була як дистильована вода, так і дистильована вода після електрохімічної обробки у непротічному електрохімічному реакторі. Напруженість поля становила 100 В/см, час активації – 30 хв. Електрохімічна активація дозволяє отримати у анодній камері воду зі збільшеними кислотними властивостями – аноліт, а у катодній – із лужними властивостями – католіт. Вихідна вода мала водневий показник рН=6,91, який вимірювався за допомогою рН-метра рН-301, отриманий аноліт мав рН=5,39, а для католіту рН=9,31. Також був приготовлений розчин з використанням суміші аноліт-католіт, для якого рН=6,90.

Краплини розчинів об'ємом 5-7 мкл наносилися на очищені і знежирені предметні скельця, розміщені горизонтально. Дегідратація відбувалася протягом доби при кімнатній температурі і відносній вологості повітря 75-80%.

Фотографування зразків здійснювалося за допомогою мікроскопа МБС-10 із цифровим об'єктивом eTREK DCM 220. Цифровий об'єктив підключався до комп'ютера за допомогою пристрою USB 2.0 та забезпечував роздільну здатність 1600*1200 пікс.

Фотографії отриманої фації модельного розчину на основі дистильованої води показано на рис. 1, а на основі електрохімічно активованої води – на рис. 2 – рис. 4. Як видно з фотографій, було отримано типову картину фації – по краю розміщений білковий валик, а в середині білково-солева зона. Зона з переважним вмістом солі, яка спостерігається в центрі фації сироватки крові, у нас виявлена не була.

На відміну від звичайної води, фації на основі електрохімічно активованої води відрізняються якраз цією білково-сольовою областю. На рис. 2а) – 4а) видно, що у ній є значна кількість правильних кристалів солі із дендритними зародками, а на рис. 2б) – 4б) видно різницю у характері росту дендритів біля білкового валика.

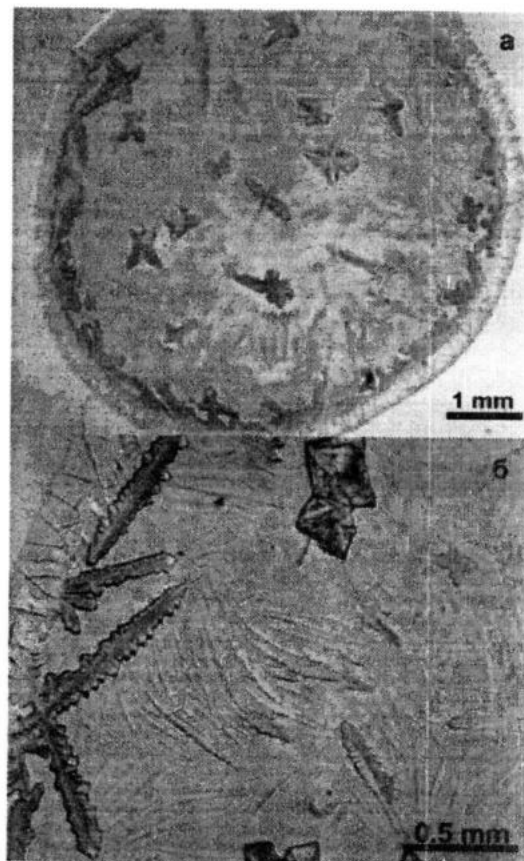


Р и с. 1. Фації модельного розчину на основі дистильованої води при збільшенні: а) $\times 21$, б) $\times 72$

Обговорення одержаних результатів. Природа кристалів у фаціях білково-сольових розчинів до кінця не з'ясована. В одних роботах вважається [5], що білок і сіль розділені, на межі кристал-розчин відбувається повне витіснення білка кристалом, що росте, у результаті чого білок накопичується поблизу поверхні кристалу. З другого боку, є роботи [6], де вказується, що розділення на окремі фази не відбувається, а кристали являють собою білково-сольові мезокомпозити, а трикутні кристали вздовж граней дендрита є кристалами солі. Аналіз роботи [7] показує, що, найімовірні-

ше, розділення на білкову і сольову фази не відбувається.

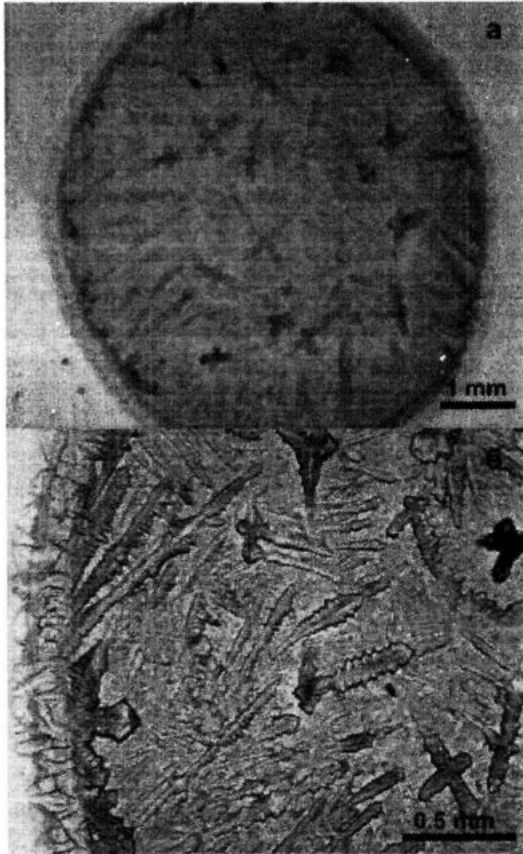
Однак, на наведених нами рис. 2 – 4 чітко видно, що поряд із дендритами утворилися кристали солі правильної форми. Тобто заміна дистильованої води на електрохімічно активовану призводить до якісно нового утворення у фації.



Р и с. 2. Фації модельного розчину на основі аноліту електрохімічно активованої води при збільшенні: а) $\times 21$, б) $\times 72$

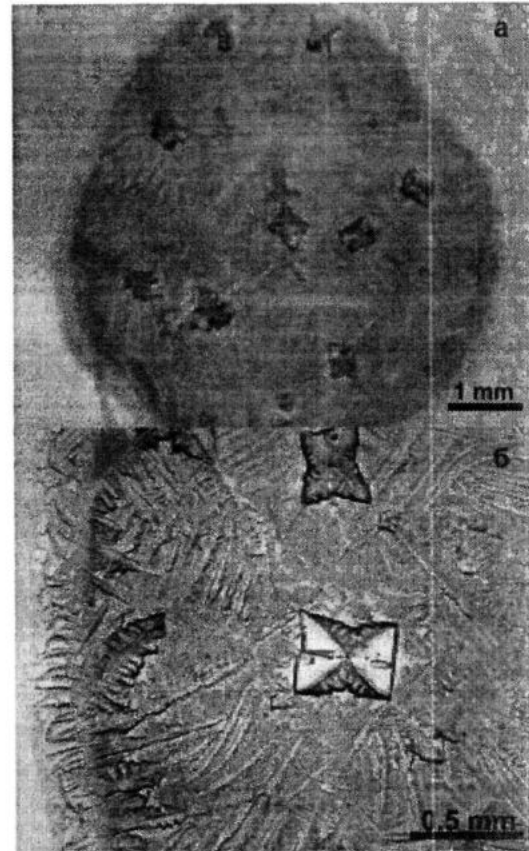
Розглянемо можливі причини цього. Процес кристалізації розділяють на два етапи: утворення зародку кристала і його подальший ріст. Зародок може утворитися тільки у перенасиченому розчині. Вважається [8], що спочатку зародок являє собою невпорядковане скупчення атомів, іонів або молекул. Поступово всередині цього скупчення частинки розміщуються у вузлах кристалічної ґратки. Отже, на процес росту впливатимуть структурні особливості перенасиченого розчину. Вплив домішок, які можуть бути додатковими центрами кристалізації і попадають у воду при активації, нами не розглядаються, оскільки ди-

стильована вода знаходилася у активаторі стільки ж часу, скільки і активована вода, а заміна електродів активатора зі склографітових на титанові не призвела до зміни картини фацій. Отже, домішки, які можуть попадати у воду з електродів при активації, не впливають на нові утворення у фаціях.



Р и с. 3. Фації модельного розчину на основі католіту електрохімічно активованої води при збільшенні: а) $\times 21$, б) $\times 72$

Структурні зміни білкової молекули можуть бути викликані зміною водневого показника розчину. З наближенням рН розчину до ізоелектричної точки, яка для альбуміну становить 4,7, багато характеристик білка досягають екстремального значення. У роботі [9] показано, що у фаціях, отриманих із розчинів із різним рН, справді спостерігаються зміни. Однак, картина фацій, показаних на рис. 2 – 4, де рН змінюється від 5,39 для аноліту до 9,31 для католіту, мають практично ідентичні кристалічні вclusions. Тобто залежні від рН конфірмаційні зміни білкових молекул не впливають на утворення цих кристалів.



Р и с. 4. Фації модельного розчину на основі суміші католіту та аноліту електрохімічно активованої води при збільшенні: а) $\times 21$, б) $\times 72$

Щодо структурних змін, які відбуваються у воді при впливі електричного поля, то у [10] показано, що водневі зв'язки між молекулами впорядковуються і у воді утворюються кластери великого розміру – порядку 10^4 нм. Розчинені у такій воді солі кристалізуються з утворенням фрактальних кристалів на відміну від анізотропних мікрокристалів, які утворюються при висиханні розчину на звичайній воді [11]. Фрактальна структура отриманих нами кристалів потребує подальшого вивчення при більших збільшеннях та у поляризованому світлі, однак можна передбачати її наявність.

Висновки. Таким чином, проаналізувавши причини утворення правильних кристалів, які виникають при висиханні білково-сольових розчинів на основі електрохімічно активованої води, вважаємо, що основною причиною цього є модифікація просторової структури асоціативних молекул води – кластерів. Така структурно-впорядкована вода, згідно [11], є

характерною для біологічних рідин, вона є біологічно активною [12] та виконує імунотропні та захисні функції на клітинному рівні [13 – 15]. Отже, дослідження модельних розчинів біологічних рідин доцільно проводити саме з використанням як основи структурно-впорядкованої води. З іншого боку, аналізуючи фації необхідно враховувати впливи, яких зазнавав організм. Оскільки вода є надзвичайно чутливою навіть до слабких впливів [16], то при аналізі недостатньо враховувати хімічний склад рідини, а потрібно знати і структурний стан води. Цей стан проявляється в певних, найвірогідніше, фрактальних утвореннях у фації, що дозволить коректно діагностувати досліджуваний організм.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Шабалин В.Н., Шатохина С.Н.* Морфология биологических жидкостей человека. – М.: Хризостом, 2001. – 304 с.
2. *Шатохина С.Н.* Функциональная морфология биологических жидкостей – новое направление в клинической лабораторной диагностике // Альманах клинической медицины. – 2008. – № 18. – С. 50 – 56.
3. *Ратис Е.* Белок и жизнь (Самоорганизация и симметрия наноструктур белка). – Иерусалим, Москва: «Милта-ПКПТИТ», 2003. – 257 с.
4. *Тарасевич Ю.Ю.* Механизмы и модели дегидратационной самоорганизации биологических жидкостей // УФН. – 2004. – Т. 174, № 7. – С. 779 – 790.
5. *Мартюшев Л.М., Селезнев В.Д., Скопинов С.А.* Компьютерное моделирование кристаллизации соли на подложке с помощью метода диффузионных потоков // Письма в ЖТФ. – 1996. – Т. 22, Вып. 4. – С. 28 – 33.
6. *Annarelli C.C., Reyes L., Fornazero J., Bert J., Cohen R., Coleman A.W.* Ion and molecular recognition effects on the crystallisation of bovine serum albumin – salt mixtures // Crystal Eng. – 2000. – V. 3, № 3. – P. 173 – 194.
7. *Тарасевич Ю.Ю., Константинов В.О., Аюпова А.К.* Моделирование дендритного роста кристаллов соли в биологических жидкостях // Изв. ВУЗов. Сев.-Кав. регион. Естественные науки. – 2001. – Спецвыпуск. Мат. моделирование. – С. 147 – 149.
8. *Шаскольская М.П.* Кристаллография. – М.: Высшая школа, 1984. – 386 с.
9. *Белова Л.М., Потехина Ю.П.* Исследование конформационных изменений молекулы альбумина в различных условиях методом клиновидной дегидратации (сообщение I) // Нижегородский медицинский журнал. – 2003. – № 3-4. – С. 8 – 12.
10. *Гончарук В.В., Маляренко В.В.* Изменение свойств воды под влиянием электрохимической обработки // Химия и технология воды. – 2001. – Т. 23, № 4. – С. 345 – 353.
11. *Курик М.В.* Мицеллярность и фрактальные кластеры биологических структур // Изв. АН СССР, сер. Физическая. – 1991. – Т. 55, № 9. – С. 1798 – 1803.
12. *Прилуцкий В.И., Бахир В.М.* Электрохимически активированная вода: аномальные свойства, механизм биологического действия. – М.: ВНИИ-ИМТ, 1997. – 228 с.
13. *Фесенко Е.Е., Новоселова Е.Г., Огай В.Б., Агафонова Т.А., Глушкова О.В., Синотова О.А., Алюшев Ф.К., Еремин С.М., Марков И.А., Тен Ю.А.* Иммуномодулирующие свойства биодистиллированной воды // Биофизика. – 2001. – Т. 46, вып. 2. – С. 353 – 358.
14. *Shirahata S., Kabayama S., Nakano M., Miura T., Kusumoto K., Gotoh M., Hayashi H., Otsubo K., Morisawa S., Katayama Y.* Electrolyzed-reduced water scavenges active oxygen species and protects from oxidative damage // Biochem. And Biophys. Research Commun. 1997. – V. 234. – P. 269 – 274.
15. *Lee K.-J., Park S.-K., Kim J.-W., Kim G.-J., Ryang Y.-S., Kim G.-H., Cho H.-C., Kim S.-K., Kim H.-W.* Anticancer effect of alkaline reduced water // J. Int. Soc. Life Inf. Sci. – 2004. – V. 22, № 2. – P.302 – 305.
16. *Лобышев В.И.* Вода как сенсор слабых воздействий физической и химической природы // Рос. Хим. Ж. – 2007. – Т. 51, № 1. – С.107 – 114.