

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПЛАЗМЕННО ОБРАБОТАННОЙ ВОДЫ

Аннотация. Рассмотрены вопросы управления биологической активностью воды, которое возможно не только на основе химических (фармакологических) подходов, но и физических, в том числе с применением низкотемпературной плазмы. Показана возможность использования для практической медицины и биологии.

Ключевые слова: экология, плазменные технологии, биомедицина, биологическая активность воды, люминесцентный микроспектральный анализ.

УДК 577.356

Ирина Терешко,

доцент кафедры «Физика»
Белорусско-российского университета,
кандидат физико-математических наук

Тимур Горчаков,

магистрант электротехнического факультета
Белорусско-российского университета

Елена Толстая,

доцент кафедры экологической медицины
и радиобиологии Белорусского
государственного университета Международного
государственного института им. А. Д. Сахарова,
кандидат медицинских наук

Валерий Терешко,

ведущий научный сотрудник
Объединенного института
проблем информатики НАН Беларуси,
кандидат физико-математических наук

Современная медицина достигла определенных успехов в области лечения и предупреждения болезней. Однако заболеваемость населения планеты не снижается, а растет. Такому парадоксу есть объяснение. Сегодня особенно актуальны вопросы лечения так называемых системных заболеваний (в частности, аутовоспалительных), обусловленных нарушением постоянно протекающих регуляторных процессов, обеспечивающих жизнедеятельность отдельных клеток, тканей, органов и организма в целом. Это вызвано перегрузками общеадаптационных механизмов современного человека. То, что создаваемый окружающей средой «фон», – важный фактор

активного влияния на здоровье, признано в рамках экологической модели возникновения болезней. Вопрос самоорганизации биосистем и их адаптации к внешнему миру – также и фундаментальная проблема биофизики.

Успешное лечение многих заболеваний, особенно хронических, всегда представляло одну из сложнейших задач, решение которой упиралось как в методологические, так и методические разработки. Хорошо известно, что патологический процесс – биологический по своей сущности, его механизмы эволюционно выработаны и наследственно закреплены. Поэтому разумно рассматривать реакцию организма и его лечение не только как важнейший раздел патофизиологии и клинической медицины,

но и как биологическую и техническую проблему.

В биомедицине уже нашли применение различные плазменные технологии [1–4]. Биологические эффекты плазменных излучений реализуются при плотности потока мощностью значительно ниже 10 мВт/см^2 . При такой низкой интенсивности интегральный нагрев облучаемых объектов в эксперименте не превысит $0,1 \text{ }^\circ\text{C}$. Поэтому эти излучения относят к «информационным», нетепловым воздействиям или, иначе, низкоинтенсивным. В научном мире они вызывают возрастающий интерес. Суть проблемы – в парадоксальной реакции биологических систем: чем меньше интенсивность воздействия, тем больше отклик системы [5–7].

Поскольку основой всех живых организмов является вода, то ее влияние на состояние здоровья человека и экосистем в целом бесспорно. Ранее биомедицина рассматривала воду только как среду, в которой протекают биохимические реакции. Теперь же обнаружилось, что она и активный участник этих реакций, а во многих случаях даже способна определять развитие того или иного биологического процесса. Поэтому насущная задача – овладеть умением (или искусством) управлять свойствами воды.

Однако вначале необходимо разобраться с термином «активация» воды. Ранее с ним связывали только появление у воды и водных растворов аномальной реакционной способности и аномальных характеристик в результате безреагентного воздействия. Сейчас под термином «активация» предлагается понимать «процесс изменения структурно-физических, энергетических и магнитно-электрических

свойств гетерофаз связанного состояния вещества в составе жидкофазных систем, включая воду, водные растворы, жидкие кристаллы, аморфные материалы, полимеры и металлы под действием физических полей» [8, 9].

Подобные свойства, очевидно, и приводят к изменениям биологической активности воды, так как многие процессы клеточного метаболизма связаны с транспортом электронов. С учетом резонансного характера взаимодействий в системе «клетка – вода – внешняя среда» легко понять, что даже незначительные изменения в состоянии воды способны вызвать резкий отклик со стороны биологической составляющей системы.

Таким образом, перенос действия фактора активации с воды на биологические объекты может быть обусловлен как изменением ее зарядового состояния, а соответственно, и степени структурирования, так и резонансным электромагнитным взаимодействием, осуществляемым по цепочечным структурам ассоциированной воды.

Планируя эксперимент, мы прежде всего опирались на гипотезу о ведущей роли в поведении живой клетки механизмов минимизации отношения текущих регуляторных энергетических затрат к функциональным. Такое условие необходимо для выяснения оптимальных режимов управления жизнедеятельностью клетки и способов стимуляции ее биосинтетических процессов. Под поведением живой клетки здесь понимается ее адаптация в широком смысле – к изменению не только внешних, но и внутренних факторов, то есть активный процесс самоорганизации [10].

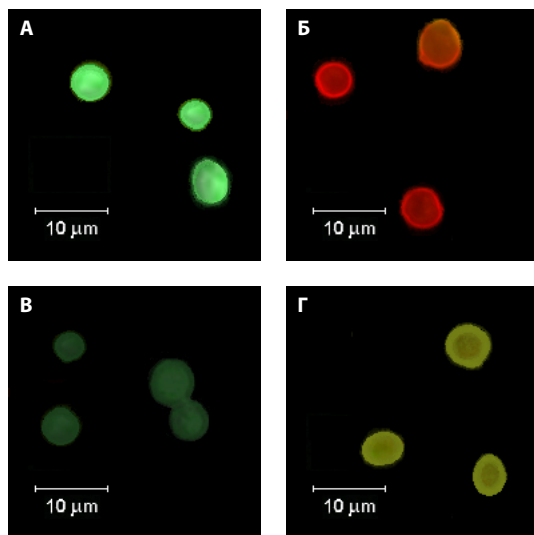
Изучение любого сложного биологического явления, как правило, начинается с разработки адекватной проблеме исследовательской модели. Наиболее доступны и удобны для различных модельных исследований в биологии и медицине сахаромицеты – одноклеточные грибы – дрожжи [11]. Они содержат почти все органоиды, характерные для клеток высших организмов. Основные метаболические функции, присущие определенному органоиду, у клеток всех организмов, в том числе дрожжевых, одинаковы. Сходны для всех также и реакции этих органоидов на физиологические изменения и экстремальные воздействия. Поэтому результаты опытов, проведенных на дрожжевых клетках, и выводы с большой степенью достоверности могут быть перенесены на клетки высших организмов, приобретая общепарабиологическое значение.

Биологический эффект воды, обработанной плазмой тлеющего разряда (ПТР), и приготовленного на ее основе 5%-ного раствора сахарозы оценивали по жизнедеятельности помещенных в них дрожжевых клеток *Sacch. cerevisiae*.

Чистая питьевая негазированная вода Вонаква в фирменной герметичной упаковке (ПЭТ-бутылки емкостью 1 л) подвергалась обработке в течение 30 мин в специально сконструированном плазмогенераторе при напряжении $0,5 \text{ кВ}$. Интенсивность облучения была 10^{16} ионов/см². Температура образцов воды после облучения осталась неизменной.

Выведенные из состояния анабиоза дрожжи культивировали в обычной воде, в воде, подвергнутой воздействию ПТР, и в приготовленных на их основе растворах

Рис. 1. Изменение характера люминесценции живых клеток *Sacch. cerevisiae* в результате инкубации в различных средах: **А** – исходное состояние; **Б** – после 5-суточной инкубации в обычной воде; **В** – после 7-суточной инкубации в обычном 5%-ном растворе сахарозы; **Г** – после 7-суточной инкубации в воде, обработанной ПТР. Представлены люминесцентные видеоизображения живых клеток. Витальное флуорохромирование акридиновым оранжевым (АО). Цифровая люминесцентная микроскопия



сахарозы. Время инкубации составляло от нескольких минут до нескольких суток. Состояние дрожжевых клеток оценивали методами люминесцентного микроспектрального анализа [12].

Результаты модельных экспериментов с дрожжами отражены на рис. 1 и 2.

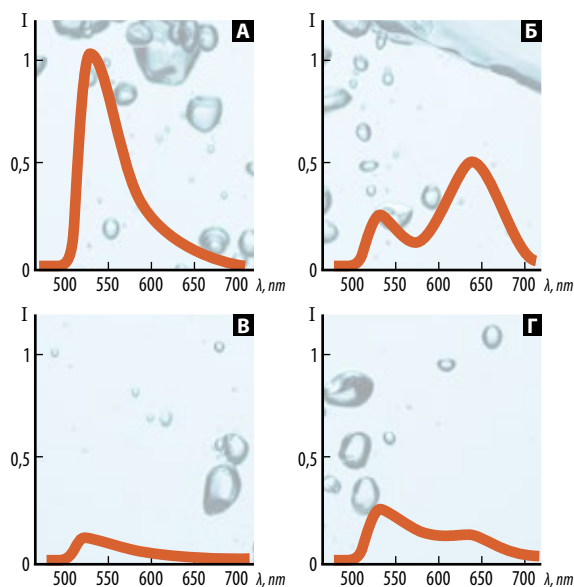
При реактивации из анабиотического состояния в дрожжевых клетках быстро происходит структурная перестройка хроматина в активную матрицу и интенсификация различных синтетических

процессов с восстановлением всех их структур. На это указывает интенсивная зеленая люминесценция реактивированных дрожжей (рис. 1А и 2А). Как известно, при пластической реадaptации основную роль играет интенсификация синтеза нуклеиновых кислот (НК) и белков. Этот процесс может быть количественно оценен в клетках *in situ* при флуорохромировании акридиновым оранжевым (АО) с помощью люминесцентного микроспектрального анализа. Его возможности

обусловлены двумя обстоятельствами: высокой чувствительностью метода и тем, что некоторые важные молекулы, входящие в состав функциональных механизмов клетки, либо обладают характерными спектрами люминесценции, либо способны специфически связываться с определенными флуоресцентными зондами.

Ценность АО как флуоресцентного зонда связана с его физико-химическими свойствами, которые выражаются в способности существовать в растворе и связываться с субстратом как в мономерной, так и в димерной (полимерной) формах. Этим и объясняется его ярко выраженная способность к метахромазии. Поэтому при обработке клеток АО может возникать люминесценция различных клеточных структур – от зеленой до красной. Зеленая люминесценция ($\lambda_{max} = 530$ нм) характерна для комплексов мономеров с двухспиральными НК (ДНК, двухспиральные участки РНК), в то время как красная люминесценция ($\lambda_{max} = 640$ нм) обязана своим происхождением комплексам димеров (полимеров) с односпиральными НК (РНК, деполимеризованные участки ДНК). В низких концентрациях АО будет связываться в живой клетке преимущественно с 2-спиральными НК ($НК_2$), поскольку константа связывания флуорохрома с ними значительно выше, чем у 1-спиральных НК ($НК_1$) ($2,6 \cdot 10^5$ и $0,29 \cdot 10^5$ л/моль⁻¹ соответственно) [13]. Молекулы АО в этих условиях интеркалируют между парами оснований $НК_2$, находясь на значительном расстоянии друг от друга (в форме мономеров), и поэтому не способны взаимодействовать между собой. При возбуждении

Рис. 2. Характерные изменения спектров люминесценции живых клеток *Sacch. cerevisiae* в результате инкубации в различных средах: **А** – исходное состояние; **Б** – после 5-суточной инкубации в обычной воде; **В** – после 7-суточной инкубации в обычном 5%-ном растворе сахарозы; **Г** – после 7-суточной инкубации в воде, обработанной ПТР. Поклеточный анализ. Спектры нормированы. Витальное флуорохромирование акридиновым оранжевым (АО). По оси ординат – интенсивность люминесценции (I); по оси абсцисс – длина волны (λ , нм)



такие молекулы люминесцируют в зеленой области спектра.

Давно было замечено, что гибнущие или мертвые клетки при флуорохромировании АО в аналогичных условиях имеют желтую или оранжевую люминесценцию. Если абсолютно жизнеспособные клетки зафиксировать (убить) перед флуорохромированием АО, то и они приобретут подобную люминесценцию. Именно это мы наблюдаем (рис. 1Б и 2Б) у дрожжей, инкубированных в течение 5 суток в обычной воде без какого-либо питательного субстрата. Известно, что при воздействии на дрожжи неблагоприятных физических или химических факторов (или при дефиците элементов питательной среды) в их структурах происходят обратимые или необратимые изменения, иногда приводящие клетки к гибели [11]. Показано, что АО в определенных условиях сам может денатурировать ДНК и РНК *in situ* (в ДНП- и РНП-комплексе), переводя их 2-спиральные участки в 1-спиральный клубок [14]. Очевидно, нарастающая деградация дрожжевых клеток при отсутствии питательного субстрата (возможно, в этом процессе участвуют собственные лизосомные гидролазы) дестабилизирует содержащиеся в них НК₂ и облегчает их денатурацию с соответствующим изменением спектра люминесценции. Соотношение интенсивностей красной и зеленой полос излучения флуорохромированных АО клеток может быть представлено параметром

$$\alpha \operatorname{tg} \alpha = \frac{I_{640}}{I_{530}} \approx A \frac{HK_1}{HK_2},$$

где A – коэффициент пропорциональности, связанный с доступностью для флуорохромирования

нуклеиновых кислот. Таким образом, параметр α может количественно характеризовать разнородные стороны жизнедеятельности клеток, в частности их жизнеспособность.

Поместив реактивированные дрожжи в раствор сахарозы (независимо от того, на какой воде он приготовлен), можно наблюдать явное изменение типа их метаболизма. Иницируется броодильный процесс. Уже через 5–10 минут такой инкубации дрожжевые клетки при флуорохромировании АО демонстрируют совершенно другую люминесценцию, точнее, практически полное ее отсутствие, если сравнивать с предыдущими случаями. При регулярном пересеве на свежую среду дрожжи, по-видимому, способны достаточно долго сохранять такое состояние и соответствующий характер люминесценции даже при отсутствии других элементов питания (рис. 1В, 2В). Поскольку основной вклад в люминесценцию клетки при флуорохромировании АО вносит ядерная ДНК, то это лишь еще одно подтверждение того, что все метаболические процессы в клетке находятся под контролем ядра. Мы предполагаем, что резкое снижение интенсивности люминесценции бродящих дрожжей вызвано структурными перестройками в хроматине (ДНП-комплексе), препятствующими связыванию АО. Аналогичную тусклую люминесценцию продемонстрировали и дрожжи, культивируемые в растворе сахарозы, приготовленном на активированной воде.

Их длительная инкубация в такой воде, даже без питательного субстрата (рис. 1Г, 2Г), не приводит к деградации и последующей гибели. Дрожжи

переходят в некое необычное состояние типа анабиоза или парабиоза, но, похоже, не идентичное им. При регулярной смене этой инкубационной среды на такую же свежую, они в подобном состоянии, вероятно, могут существовать значительное время. По-видимому, происходит определенная энергетическая подпитка клеток, обеспечивающая им условия для того, чтобы пережить неблагоприятный период. Возможно, в этом феномене задействованы именно механизмы транспорта электронов из внешней среды. Отсутствие каких-то различий между контролем и опытом (в предыдущих экспериментах с растворами сахарозы), вероятно, объясняется трофическим преимуществом естественного характера питания сахаромикетов, которое перекрывает другие возможные эффекты.

Допустимо предположить, что суть эффектов стимулирования биологических процессов активированными (электромагнитным излучением) растворами сводится к созданию условий для поступления в живую клетку энергии электронов из внешней среды. Это теоретически возможно при условии, что все последовательности транспортных цепочек в системе «внешняя среда – вода – клетка» должны находиться в определенных резонансных состояниях.

На основании изложенного приходим к заключению, что управление биологической активностью воды возможно не только на основе химических (фармакологических) подходов, но и физических, в том числе с применением низкотемпературной плазмы, что немаловажно для научной и практической медицины и биологии. ■