

Чучкова Н.Н.¹, Соловьев А.А.¹, Канунникова О.М.²,
Аксенова В.В.², Кожевников В.И.²

УДК 004.9:614.254:616-084
DOI 10.25694/URMJ.2018.10.37

Исследование эффективности применения воды, пересыщенной воздухом, для снижения тяжести последствий окислительного стресса у лабораторных животных. I. Влияние воды, пересыщенной воздухом, на биоэлектрическую подвижность изолированных клеток

1 — ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России (ФГБОУ ВО ИГМА МЗ РФ), Ижевск, 2 — ФГБУН Удмуртский федеральный исследовательский центр Уральского отделения РАН (ФГБУН УдмФИЦ УрО РАН), Ижевск

Chuchkova N.N., Solovyev A.A., Kanunnikova O.M., Aksenova V.V., Kozhevnikov V.I.

Effect of use of water, supersaturated with air, to reduce the severity of the consequence of laboratory animals oxidative stress. I. The influence of water, supersaturated with air, on the bioelectrical mobility of the isolated cells

Резюме

Объектами исследования являлись эритроциты и эпителиоциты буккального эпителия человека. Исследовались гемолиз эритроцитов и микроэлектрофоретическая подвижность клеток в артезианской воде, пересыщенной азотом, кислородом, аргоном, углекислым газом и кислородом. Экспериментально установлено, что вода с нанопузырьковой газовой фазой оказывает цитопротекторное и мембранорезистентное действие в условиях осмотического и токсического воздействия как на эритроциты, так и эпителиальные клетки щечного эпителия, оказывая одновременно активирующее действие на клетку, ее компартменты (ядро) и плазмолемму. Интенсивность клеточного ответа зависит от природы газа нанопузырьковой фазы: нанопузырьковая фаза Ar активировать клетки в меньшей степени, чем фаза воздуха и O₂. Эта зависимость коррелирует с растворимостью газов. Активность обусловлена также длительностью обработки воды.

Ключевые слова: артезианская вода, нанопузырьковая газовая фаза, эпителиоциты, эритроциты, микроэлектрофорез, гемолиз.

Summary

The objects of the study were erythrocytes and buccal epithelium cells. Hemolysis of erythrocytes and microelectrophoretic mobility of cells in artesian water supersaturated with nitrogen, oxygen, argon, carbon dioxide and oxygen were investigated. It was experimentally established that water with gas nanobubbles has a cytoprotective and membrane-resistant effect in the conditions of osmotic and toxic effects on both red blood cells and epithelial cells of the buccal epithelium, while having an activating effect on the cell, its compartments (core) and plasma membrane. The intensity of cell response depends on the nature of the gas phase nanomaterialy: nanomaterialy phase Ar activates cells to a lesser extent than the phase of air and O₂. This dependence correlates with the solubility of gases. The activity is also due to the duration of water treatment.

Key words: artesian water, gas nanobubbles, epithelial cells, erythrocytes, microelectrophoresis, hemolysis

Введение

Пересыщение воды газами приводит к формированию нано- и микро-пузырьковой газовой фазы. Хотя

газовые микро/нано пузырьки привлекли внимание относительно недавно, их практическое применение резко расширяется в последние десять лет в различных

областях, включающих медицину, аквакультуру и пр. Многочисленные экспериментальные результаты свидетельствуют о повышенной активности воды с пузырьковой фазой по отношению к различным живым организмам – микроорганизмам, растениям, рыбам, животным, человеку [1-4]. Механизмы этого эффекта находятся на стадии выдвижения и обоснования гипотез, поэтому постоянно растет число публикаций, посвященных исследованию условий формирования мелких газовых пузырьков и их практическому применению. Большинство успешных применений воды с микро/нано пузырьковой фазой основаны на результатах, полученных из тысяч проб и ошибок. Следует отметить, что за исключением лишь нескольких четко понятных с научной точки зрения проявлений свойств микро/нано пузырьков, нынешние знания о базовых механизмах [5, 6], связанных с их свойствами весьма ограничены. При этом, схемы внедрения полученных результатов в области сельского хозяйства и рыбоводства достаточно просты и рассчитаны на короткое время применения, требующиеся для выращивания конечной продукции [7]. В то же время, известны лишь единичные исследования влияния микро/нано пузырьковой фазы в воде на лабораторных животных с различной патологией [8].

В настоящее время в мире растет интерес к функциональным водам, использование которых способствует повышению устойчивости организма к различным заболеваниям, снижению тяжести возможных осложнений, а также побочным действиям использования лекарственных препаратов. Омагниченная вода постепенно занимает свою нишу среди функциональных вод, хотя механизмы ее действия на живые организмы также непонятны. Действие воды с нанопузырьками во многом подобно действию омагниченной воды, при этом длительность сохранения ее биологической активности намного больше, вследствие большей длительности времени жизни нанопузырьков.

Целью нашей работы явилось исследование результатов воздействия воды с газовой нанопузырьковой фазой на экспериментальных животных с моделированием различной патологии. На первом этапе работы объектами исследований явились изолированные клетки.

Материалы и методы

Использовалась артезианская вода средней минерализации. Методика обработки воды заключается в барботировании газов в электромагнитных полях. Пересыщение газами составляет 1,5-4 раз в зависимости от режимов обработки. Увеличение длительности барботирования приводит к непропорциональному изменению концентрации растворенного газа: минимальные концентрации наблюдаются в области 60 ± 15 с обработки. Размеры газовых нанопузырьков определены в Институте общей физики им. Прохорова (г.Москва) под руководством проф. Н.Ф. Бункина и составляют ~250-300 нм.

Исследования действия воды с нанопузырьками на живые изолированные клетки человека (эритроциты и эпителиоциты) проводились на приборе «Цито-эксперт»

[9]. Под микроскопом при увеличении в 100 и 400 крат исследовалась подвижность клеток, помещенных в: физраствор; исходную артезианскую воду; обработанную воду (воздух, кислород, аргон) с различным временем барботирования (10-120 секунд), а также в обработанную воду с добавлением инсулина (1 ед инсулина на 1 мл воды). Активность клеток (мкм) определяли по возвратно-поступательным движениям клетки в целом, цитолеммы, кариолеммы у ядродержащих эпителиоцитов; оценивали процент гемолизированных эритроцитов. Для оценки амплитуды колебаний использовали окулярную линейку, цену деления которой определяли в зависимости от кратности увеличений объективов и окуляров.

Клетки буккального эпителия получали путем соскоба с внутренней поверхности слизистой оболочки щеки от здоровых доноров (№ 12). Манипуляция производилась с добровольного информированного согласия каждого из участвующих в эксперименте, одобрена этическим комитетом ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России.

Для изучения эритроцитов использовалась человеческая эритроцитарная масса (ЭМ). Для эксперимента 1 каплю ЭМ смешивали с 1 мл с исследуемой жидкости (физраствор, исходная вода, обработанная вода).

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета Statistica 6.1. Различия между показателями считали статистически значимыми при уровне достоверности $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Микроэлектрофоретическая подвижность изолированных клеток в воде с нанопузырьками газов разной природы. В табл.1 приведены результаты анализа микроэлектрофоретической подвижности клеток в воде с нанопузырьками разных газов. Активность эпителиоцитов в воде с нанопузырьковой фазой растет с увеличением растворимости газов. Эритроциты проявляют наименьшую активность в воде с нанопузырьковой фазой газа, имеющего высокую растворимость – аргона, а наибольшую – в воде пересыщенной малорастворимым кислородом.

В необработанной артезианской воде (гипотонический раствор для клеток) эритроциты полностью подвергаются гемолизу. В эксперименте было установлено, что по мере увеличения содержания кислорода в воде степень гемолиза уменьшается. Предельная растворимость кислорода при нормальных условиях в разбавленных водных растворах солей (к таковым относится и артезианская вода) составляет величину порядка $2,5 \cdot 10^{-4}$ моль/л. В насыщенной кислородом воде гемолиз эритроцитов составляет порядка 70%. По мере увеличения пересыщения кислородом до $4,5 \cdot 10^{-4}$ моль/л, $7,5 \cdot 10^{-4}$ моль/л, $8,7 \cdot 10^{-4}$ моль/л гемолиз уменьшается до 22, 13 и 5 %, соответственно.

В таблицах 2 и 3 приведены данные о микроэлектрофоретической активности эритроцитов и эпителиоцитов в воде, пересыщенной воздухом, в зависимости от времени барботирования.

Таблица 1. Микроэлектрофоретическая подвижность клеток в воде с газовыми нанопузырьками

| Среда, газ | Эритроциты | | | Эпителиоциты | | | Растворимость газа, мл/100гН ₂ O 20°C [10] |
|-----------------------|--------------------|-------------------------|---------------------------------|-------------------------|------------------------------|-----------------------------------|---|
| | Гемолиз клеток (%) | Доля активных клеток, % | Амплитуда колебаний клетки, мкм | Доля активных клеток, % | Амплитуда колебаний ядр, мкм | Амплитуда колебаний оболочки, мкм | |
| Физраствор | 0 | 55,5±1,8 | 7,3±0,4 | 31,5±1,4 | 2,1±0,3 | 2,2±0,2 | - |
| Исх. вода | 57,4±15,0* | 4,4±0,2* | 1,2±0,2* | 31,6±1,5 | 1,8±0,3 | 3,1±0,5* | - |
| Вода с Ar | 54,1±12,1* | 21,9±1,8*,** | 6,1±0,3*,** | 87,5±1,6*,** | 2,2±0,4** | 4,1±0,3*,** | 3,4 |
| Вода с O ₂ | 32,7±12,0*,* * | 84,4±1,5*,** | 10,2±0,5*,** | 28,4±1,7 | 2,2±0,2** | 2,1±0,4** | 3,1 |
| Вода с воздухом | 36,4±11,5*,* * | 82,3±1,2*,** | 10,5±0,7*,** | 36,3±1,8 | 2,1±0,3 | 2,3±0,2** | 1,9 |
| Вода с N ₂ | 32,2±12,0*,* * | 78,4±1,5*,** | 8,4±0,4** | 40,2±2,1 | 2,5±0,4** | 3,2±0,5* | 1,6 |

* – различия достоверны в сравнении с подвижностью клеток в физрастворе при $p \leq 0,05$;

** – различия достоверны в сравнении с подвижностью клеток в исходной воде при $p \leq 0,05$

Таблица 2. Микроэлектрофоретическая подвижность эритроцитов в воде с нанопузырьковой фазой воздуха

| Образец воды, время обработки (с) | Гемолиз клеток % | Доля активных клеток, % | Амплитуда колебаний клеток, мкм |
|-----------------------------------|------------------|-------------------------|---------------------------------|
| Исходная | 57,4±15,0 | 5,1±1,3 | 3,1±0,2 |
| 10с | 34,0±12,0* | 75,1±2,2* | 6,6±0,2* |
| 20с | 36,4±11,2* | 79,3±2,3* | 6,2±0,1* |
| 30с | 36,0±11,0* | 86,2±1,9* | 8,4±0,3* |
| 40с | 38,3±13,0* | 86,5±2,1* | 8,2±0,3* |
| 50с | 48,4±13,0* | 88,1±1,8* | 8,2±0,4* |
| 60с | 47,4±14,0* | 48,1±1,4* | 5,4±0,1* |
| 120с | 58,4±15,5 | 0 | 0 |

* – различия достоверны в сравнении подвижностью клеток в исходной воде при $p \leq 0,05$

Таблица 3. Микроэлектрофоретическая подвижность эпителиоцитов в воде с нанопузырьковой фазой воздуха

| Время обработки воды (с) | Доля активных клеток, % | Амплитуда колебаний, мкм | | |
|--------------------------|-------------------------|--------------------------|----------|----------|
| | | цитолемма | ядра | оболочка |
| Исходная | 31,6±1,5 | 1,2±0,2 | 1,8±0,3 | 1,2±0,2 |
| 10с | 50,2±1,5* | 2,3±0,2* | 1,2±0,2 | 2,2±0,3* |
| 20с | 68,3±1,3* | 3,2±0,4* | 1,5±0,1 | 1,2±0,3 |
| 30с | 95,5±2,0* | 3,2±0,4* | 2,1±0,3 | 1,5±0,2 |
| 40с | 90,3±2,0* | 3,4±0,2* | 2,1±0,4 | 1,7±0,3* |
| 50с | 84,0±2,0* | 3,4±0,3* | 2,7±0,2* | 1,9±0,2* |
| 60с | 68,9±2,2* | 3,1±0,2* | 1,6±0,1 | 1,9±0,3* |
| 70с | 58,2±2,2* | 2,7±0,3* | 1,7±0,3 | 1,7±0,2* |
| 100с | 34,1±2,1 | 2,3±0,3* | 0,9±0,2* | 1,7±0,3* |
| 120с | 0 | 0 | 0 | 0 |

* – различия достоверны в сравнении с данными по исходной воде при $p \leq 0,05$

Самая низкая активность эритроцитов и эпителиоцитов наблюдается в исходной, необработанной артезианской воде. Активность клеток в воде после барботирования воздуха повышается. Увеличение времени барботирования от 10с до 30с приводит к росту активности эпителиоцитов, затем уменьшается, и в воде после 100с обработки активность эпителиоцитов близка к их

активности в исходной воде. Максимальная активность эритроцитов наблюдается в воде после барботирования в течение 30-50с, затем она уменьшается, и в воде после обработки в течение 120с эритроциты становятся полностью неактивными.

Прижизненные реакции клеток при взаимодействии с инсулином. В литературе имеются данные о том, что

Таблица 4. Микроэлектрофоретическая подвижность эпителиоцитов в воде с нанопузырьковой фазой воздуха и инсулином

| Образец воды, время обработки (с) | Реакция эпителиоцитов | | | | |
|-----------------------------------|-----------------------|-------------------------|--------------------------|----------------|----------|
| | Деструкция клеток, % | Доля активных клеток, % | Амплитуда колебаний, мкм | | |
| мембрана | | | ядро | Клетка в целом | |
| Физраствор + инсулин | 15,0±4,5 | 35,0±2,2 | 1,8±0,3 | 0 | 1,2±0,2 |
| Исходная вода+инсулин | 94,5±1,6* | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 10с+инсулин | 3,8±1,1* | 43,0±2,5* | 1,9±0,3 | 1,6±0,2* | 2,1±0,3* |
| 20с+инсулин | 2,9±1,1* | 66,7±2,0* | 3,4±0,3* | 1,6±0,2* | 2,5±0,2* |
| 30с+инсулин | 2,0±1,0* | 67,0±2,3* | 4,0±0,4* | 2,0±0,3* | 2,0±0,2* |
| 40с+инсулин | 3,5±1,4* | 38,0±1,5 | 2,4±0,2* | 2,0±0,2* | 2,2±0,3* |
| 50с+инсулин | 5,0±1,1* | 38,5±1,6 | 3,2±0,2* | 1,4±0,1* | 2,0±0,3* |

* – различия достоверны в сравнении с данными в физрастворе при $p \leq 0,05$

повреждение клеток органов при диабете обусловлены гиперинсулинемией, в том числе интенсивной инсулинотерапией [11-14]. Высокие (патофизиологические) концентрации инсулина, изменяя проницаемость мембраны, способствуют накоплению гликогена в гепатоцитах, эпителии почек, сердца, кишечника [13], приводят к повреждению генома и протеома [11, 12].

Инсулин вызывает гидратацию клеток, индуцируя в клетке накопление ионов K^+ и Na^+ в результате сочетанного обмена Na^+/H^+ , симпорта $Na^+/K^+/2Cl^-$ и $Na^+/K^+(+)-ATФазы$ [11, 15].

В ходе исследований было выяснено, что высокие дозы инсулина при воздействии на изолированные клетки обладают цито- и мембранодеструктивным действием. При докраске клеток щечного эпителия метиленовым синим после воздействия инсулина в ряде клеток наблюдается утолщение плазмолеммы, выраженная гиперхромия. Часть буккальных эпителиоцитов подвергалась разрушению, контуры мембраны не выявлялись, фиксировались отдельно лежащие ядра.

Добавление инсулина к необработанной воде вызывает разрушение большей части клеток (табл.4), оставшиеся клетки (5,5%) электрофоретической активности не проявляли. В пересыщенной воде с нанопузырьковой фазой воздуха и добавлением инсулина большинство эпителиоцитов имели сохранную структуру и отвечали на воздействие электрического поля активностью мембран. Наилучшие показатели (доля активных клеток, амплитуды колебаний плазмолеммы, ядра и клетки в целом) отмечаются для воды, обработанной в течение 20-30с (табл. 4).

В исходной, необработанной воде с добавлением инсулина отмечается полное разрушение эритроцитов (тогда как в исходной необработанной воде без инсулина количество разрушенных красных кровяных клеток составляет 57,4±15,0 %, табл. 2). По всей видимости, клетки испытывают не только осмотический (низкая концентрация солей в исходной воде), но и токсический шок (добавление инсулина), реагируя на это полным разрушением. В воде с нанопузырьковой фазой воздуха, в которую добавлен инсулин, количество гемолизированных клеток резко падает, причем этот эффект зависит от

времени барботирования. Однако с увеличением времени обработки количество сохранных клеток падает (табл.5).

Таблица 5. Микроэлектрофоретическая подвижность эритроцитов в воде с нанопузырьковой фазой воздуха, физраствором и инсулином

* – различия достоверны в сравнении с данными в физрастворе при $p \leq 0,05$

Размеры исследуемых клеток намного больше размеров нанопузырьков: по данным различных авторов размеры зрелого эритроцита составляет 2-3 мкм, а эпителиоцита 50-80 мкм. Поэтому помещенные в воду с нанопузырьками эритроциты и эпителиоциты могут одновременно контактировать с несколькими нанопузырьками и суммарное действие дзета-потенциала нескольких нанопузырьков можно сравнить с действием слабого электрического поля на клетки. В этом случае следует ожидать протекания процессов, аналогичных известным процессам в клеточной мембране, происходящих под влиянием электрического поля.

В зависимости от интенсивности электрического поля (или величины электрических зарядов) могут происходить: электропорация, слияние, движение, деформация мембран, активация мембранных белков.

Под действием дзета-потенциала нанопузырьков в мембране образуются поры, проницаемые для ионов и сахарозы. После электропорации концентрации солей и сахарозы в клетке и среде выравниваются. Однако мембрана клетки остается непроницаемой для макромолекул цитоплазмы, которые поддерживают в клетке избыточное осмотическое давление. Благодаря этому происходит движение молекул воды в клетку, ее набухание и разрушение.

Есть предположение, что электроактивация обусловлена влиянием поля на конформацию белков. Слабые постоянные поля могут вызывать латеральные перемещения заряженных рецепторов по поверхности клеточной мембраны.

Возможно, что все эти процессы принимают участие в изменении барьерной функции мембран клеток, а следовательно, в изменении внутриклеточных механизмов регуляции процессов обмена.

Эритроциты в воде с газовыми нанопузырьками име-

Таблица 5. Микроэлектрофоретическая подвижность эритроцитов в воде с нанопузырьковой фазой воздуха, физраствором и инсулином

| Образец воды, время обработки (с) | Гемолиз клеток, % | Доля активных клеток, % | Амплитуда Колебаний клеток, мкм |
|-----------------------------------|-------------------|---|---------------------------------|
| Физраствор + инсулин | 48,0±3,3 | 22±2,6 | 5,5±1,5 |
| Исходная вода | 57,4±1,5* | 5,1±1,3* | 3,1±0,2* |
| Исходная вода +инсулин | 100±2,1* | полное разрушение эритроцитов, дезинтеграция их мембран | |
| 10с+инсулин | 10,0±1,5* | 76,4±1,8* | 12,9±1,5* |
| 20с+инсулин | 10,0±1,5* | 64,3±1,9* | 8,3±1,2* |
| 30с+инсулин | 14,0±2,1* | 52,3±2,3* | 8,4±0,8* |
| 40с+инсулин | 28,5±2,0* | 32,3±2,3* | 7,3±1,4* |
| 50с+инсулин | 42,5±3,0 | 0 | 0 |

* – различия достоверны в сравнении с данными в физрастворе при $p \leq 0,05$

ют высокий процент активации, амплитудные показатели оболочек клеток повышаются. Это свидетельствует об активации мембранных ферментов эритроцитов при взаимодействии с нанопузырьками.

Изменение барьерной функции мембраны эритроцитов в обработанной воде подтверждается тем, что в воде с нанопузырьками гемолиза клеток не наблюдалось и отмечалась высокая активность эритроцитов, в отличие от клеток, помещенных в необработанную воду без добавления физраствора, где наблюдался практически 100% гемолиз. Для эпителиоцитов, помещенных в обработанную воду, так же как для эритроцитов, не наблюдается разрушения клеток.

Механизмы, которые приводят к повышению стойкости клеточной мембраны по отношению к действию осмотически низких растворов и инсулина, требуют дальнейших исследований. Можно предположить, что изменение структуры воды, заряда молекул, приводит к нарушению проведения воды через белковые каналы клеток. В литературе имеются данные о влиянии минеральной воды на аквапориновую проницаемость [16]. Белки-аквапорины, участвующие в переносе молекул воды, в мембранах эритроцитов представлены аквапорином-1 (AQP1) [17], в эпителии рта (буккальные клетки) и других отделах пищеварительной системы – AQP3 [18]. Селективный фильтр аквапорина характеризуется тремя главными особенностями: фильтрация по размеру, электростатическое отталкивание и ориентация диполей воды. Канал образуется за счет сближения двух петель – петли В (цитоплазматической) и петли Е (внеклеточной), содержащих консервативные NPA-мотивы. Эти петли окружаются трансмембранными доменами и тем самым формируют водную пору [19]. Изменения массы в/или около NPA-мотивов в петле В или петле Е в аквапорине-1 уменьшают его способность транспортировать воду.

Высказывается мнение [20-22] о создании лекарственных средств, влияющих на работу аквапоринов или их транслокацию, которое может рассматриваться как новое направление в фармакологии.

На основании работ Першина С.М. [23, 24] можно предложить еще один вариант интерпретации наблюдаемых эффектов.

Спины двух протонов молекулы воды могут быть ориентированы в одном направлении- орто-изомер, а могут навстречу друг другу - пара-изомер. Эти изомеры можно отличать по инфракрасным спектрам и спектрам ЯМР.

Орто-изомеры воды всегда вращается (первый вращательный уровень имеет энергию 23,79 см⁻¹) в отличие от пара-изомеров, которые имеют основной уровень с нулевой вращательной энергией. Пара-изомеры воды, часть из которых и при комнатной температуре в соответствии с распределением Больцмана не вращается, энергетически более выгодно образовывать простейшие молекулярные комплексы, чем орто-изомерам воды, которые всегда вращаются. В 2011г А. Вилесов экспериментально доказал, что молекулярные комплексы воды предпочтительно формируются из пара-изомеров воды. В работе [25] было показано, что для пара-изомеров воды характерно селективное взаимодействие с поверхностью.

Благодаря очень слабому взаимодействию ядерных спинов с окружением процессы взаимопревращения орто- и пара- изомеров воды медленные. Время орто-пара конверсии в жидкой воде составляет порядка часа. Орто-пара конверсия изомеров воды заметно замедляется в отсутствие катализаторов (атомов, ионов, молекул и пр.) с магнитным моментом и существенно ускоряется в их присутствии. Известно, что скорость орто-пара конверсии изомеров воды увеличивается при образовании смешанных квантовых состояний, когда энергетические уровни орто- и пара-изомеров воды практически совпадают. Так, электрическое поле напряженностью ~103 В/см увеличивает скорость конверсии почти на порядок из-за смещения энергетических уровней орто- и пара- изомеров воды (эффект Штарка). При сближении или пересечении этих уровней вероятность смешанных квантовых состояний и, следовательно, скорость орто-пара конверсии изомеров воды возрастает.

Першин С.М. впервые обратил внимание на то, в каком соотношении орто- и пара- изомеры транспортируются через мембрану и как это соотношение влияет на метаболизм, есть ли спиновая селективность в этом процессе [26, 27]. Учитывая работы Захарова им был предложен механизм разрыва мембраны эритроцита в микрока-

пилляре и скачок текучести эритроцитов при температуре 36,6°C, Захаров установил, что деформация эритроцитов и показатель преломления внеклеточной водной суспензии изменяются синхронно, достигают экстремума при некоторых значениях температур, в том числе, в области 36,6°C. Эти изменения могут отражать перестройку структурных форм гидратных слоев гемоглобина внутри эритроцита, а также плазмолеммы, которая содержит скелетообразующий белок спектрин. Было высказано предположение, что: 1) в температурных интервалах с пониженным значением показателя преломления раствора и деформируемости эритроцитов происходят фазовые переходы в биомембранах и конформационные переходы в белках; 2) существенное влияние на динамическую микроструктуру водной среды оказывает молекулярный кислород, поскольку его удаление из воды приводит к исчезновению наблюдаемых эффектов. В основе второго предположения лежит возможное магнитное взаимодействие между парамагнетиком O₂ в триплетном состоянии и ядерными моментами протонов H₂O.

Першин С.М. рассмотрел эти результаты с позиции существования орто- и пара-изомеров воды [26, 27]. Было высказано предположение, что конверсия пара-изомеров в орто-H₂O при температуре 36,6°C в льдоподобной гидратной оболочке гемоглобина (Hb) ускоряется при наличии в Hb кислорода и железа как катализаторов. Обосновано, что наблюдаемая потеря эритроцитом воды в микрокапилляре обусловлена выходом через его мембрану орто-изомеров воды, которые освобождаются при разрушении гидратной оболочки Hb. Разрушение гидратной оболочки способствует уплотнению молекул Hb и сопровождается увеличением плотности находящихся в гемоглобине кислорода и железа, которые ускоряют конверсию орто-пара изомеров воды.

Хотя обсуждаемые спин-спиновые взаимодействия относятся к сверхслабым взаимодействиям с типичной энергией 10⁻⁷ (кТ) [28], они управляют транспортом воды цитоплазмы через водные каналы клеточных мембран и, таким образом, влияют на ее свойства.

Заключение

Экспериментально установлено, что вода с нанопузырьковой фазой оказывает цитопротекторное и мембранорезистентное действие в условиях осмотического и токсического воздействия как на эритроциты, так и эпителиальные клетки щечного эпителия, оказывая одновре-

менно активирующее действие на клетку, ее компартменты (ядро) и плазмолемму. Интенсивность клеточного ответа зависит от природы газа нанопузырьковой фазы: нанопузырьковая фаза Ar активизирует клетки в меньшей степени, чем фаза воздуха и O₂. Эта зависимость коррелирует с растворимостью газов. Активность обусловлена также длительностью обработки воды.

Учитывая вышеизложенные рассуждения, можно предположить следующее. В воде пересыщенной газами формируются нанопузырьки с двойным электрическим слоем. В присутствии электрического поля и двойного электрического слоя с магнитным моментом ускоряется орто-пара конверсия изомеров воды. В результате повышается доля пара-изомеров, для которых характерно формирование водных комплексов. Это подтверждают данные терагерцовой спектроскопии, которые говорят о росте числа водородных связей в воде с нанопузырьковой фазой. Изменение числа водородных связей может приводить к изменению проводимости водных каналов, селективный фильтр которых обеспечивается электростатическим отталкиванием и ориентацией диполей воды. Исследование аквапоринов находится в стадии интенсивного развития, поэтому перечень заболеваний, связанных с аквапоринами, а также возможного их лечения с помощью влияния на водные каналы клетки, может со временем существенно расширяться [29-31]. Эти же пара-изомеры воды селективно взаимодействуют с мембраной клетки и формируют гидратные оболочки биомолекул. В воде, пересыщенной газами с кислородом, интенсивность этого процесса выше, чем в воде, пересыщенной газами, не содержащими кислород (например, аргон). Видимо, это является причиной того, что процессы влияющие на барьерные свойства мембраны, более интенсивно идут в воде с газовой фазой, не содержащей кислород.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, проект р_а № 16-43-180106, ■

Чучкова Н.Н., Соловьев А.А., Канунникова О.М., Аксенова В.В., Кожевников В.И., ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России (ФГБОУ ВО ИГМА МЗ РФ), 426034, Ижевск, РФ. ФГБУН Удмуртский федеральный исследовательский центр Уральского отделения РАН (ФГБУН УдмФИЦ УрО РАН), 426067, Ижевск, РФ. Ответственный за переписку — Громова Вероника Львовна, umsep-veronica@yandex.ru

Литература:

1. Lee H.J., Kang M.H. Effect of the magnetized water supplementation on blood glucose, lymphocyte DNA damage, antioxidant status, and lipid profiles in STZ-induced rats. *Nutr Res Pract.* 2013; 7(1):34-42.
2. Hafizi L., Gholizadeh M., Karimi M., Hosseini G., Mostafavi-Toroghi H., Haddadi M. et al. Effects of magnetized water on ovary, pre-implantation stage endometrial and fallopian tube epithelial cells in mice. *Iran J Reprod Med.* 2014;12(4):243-8.
3. Hayakumo S., Arakawa S., Takahashi M., Kondo K., Mano Y., Izumi Y. Effects of ozone nano-bubble water on periodontopathic bacteria and oral cells - in vitro studies. *Sci Technol Adv Mater.* 2014; 15(5):055003. eCollection 2014.
4. Kugino K., Tamaru S., Hisatomi Y., Sakaguchi T. Long-duration carbon dioxide anesthesia of fish using

- ultra-fine (nano-scale) bubbles. *PLoS One*. 2016; 11(4):e0153542.
5. Шаталов В.М. Дегазация биоожидкостей как механизм биологического действия слабых электромагнитных полей. *Биофизичний вісник*. 2009; 23 (2): 92–99.
 6. Ashutosh Agarwal, Wun Jern Ng, Yu Liu. Principle and applications of microbubble and nanobubble technology for water treatment. *Chemosphere*. 2011; 84:1175–1180.
 7. Oshita S., Liu S. Nanobubbles characteristics and its application to agriculture and foods. *International Symposium on Agri-Foods for Health and Wealth*. 2013:23–32.
 8. Hirose Y., Yasui T., Taguchi K., Fujii Y., Niimi K., Hamamoto S. et al. Oxygen nano-bubble water reduces calcium oxalate deposits and tubular cell injury in ethylene glycol-treated rat kidney. *Urolithiasis*. 2013; 41(4):279-94.
 9. Никитин Е.Н., Соловьев А.А., Кутявина С.В., Голдендунин А.Н. Способ микроэлектрофореза клеток крови и эпителиоцитов и устройство для его осуществления. Патент РФ №2168176, 2001.
 10. Намиот А.Ю. Растворимость газов в воде. Справочное пособие. Издание Недра, Москва; 1991.
 11. Schliess F., Häussinger D. Cell volume and insulin signaling. *Int Rev Cytol*. 2003; 225:187-228.
 12. Othman E.M., Leyh A., Stopper H. Insulin mediated DNA damage in mammalian colon cells and human lymphocytes in vitro. *Mutat Res*. 2013;745-746:34-39.
 13. Макишева Р.Т. Инсулин и клеточная смерть. *Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание*. 2015; 2: Публикация 2-4.
 14. Макишева Р.Т. Повреждение клеток при сахарном диабете вызвано избыточным действием инсулина. *Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание*. 2016; 1: Публикация 2-4.
 15. Schliess F., Häussinger D. Cell hydration and insulin signaling. *Cell Physiol Biochem*. 2000;10(5-6):403-8.
 16. Kitagawa Y., Liu C, Ding X. The influence of natural mineral water on aquaporin water permeability and human natural killer cell activity. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011; 409(1):40-45.
 17. Nielsen S., King L.S., Christensen B.M., Agre P. Aquaporins in complex tissues. II. Subcellular distribution in respiratory and glandular tissues of rat. *Am J Physiol*.1997; 273:1549–1561.
 18. Matsuzaki T., Suzuki T., Koyama H., Tanaka S., Takata K. Water channel protein AQP3 is present in epithelia exposed to the environment of possible water loss. *J Histochem Cytochem*. 1999; 47(10):1275–1286.
 19. Hirano Y., Okimoto N., Kadohira I., Suematsu M., Yasuoka K., Yasui M. Molecular mechanisms of how mercury inhibits water permeation through aquaporin-1: understanding by molecular dynamics simulation. *Biophys J*. 2010; 98(8):1512–1519.
 20. Verkman A.S., Hara-Chikuma M., Papadopoulos M.C. Aquaporins-new players in cancer biology. *J Mol Med*. 2008; 86(5): 523–529.
 21. Papadopoulos M., Verkman A. Potential utility of aquaporin modulators for therapy of brain disorders. *Prog. Brain Res*. 2008; 170: 589–601.
 22. Титовец Э.П. Аквапорины человека и животных: фундаментальные и клинические аспекты. Минск: Белорус.наука, 2007.
 23. Першин С.М. Влияние квантовых отличий орто- и пара-спин-изомеров H₂O на свойства воды: биофизический аспект. *Биофизика*. 2013; 58(5): 910-918.
 24. Першин С.М. Орто/пара конверсия H₂O в воде и скачок «текучести» эритроцитов через микрокапилляр при температуре 36.6±0.30С. Сб. трудов V Международного конгресса «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине». 2009. Available at www.biophys.ru/archive/congress2009/pro-p87.
 25. Tikhonov V.I., Volkov A.A. Separation of water into its ortho and para isomers. *Science*. 2002; 296: 2363.
 26. Bunkin A.F., Pershin S.M., Nurmatov A.A. Four-photon spectroscopy of ortho/para spin-isomer H₂O molecule in liquid water in sub-millimeter range. *Laser Phys Lett*. 2006; 3(6): 275.
 27. Бункин А.Ф., Першин С.М. Четырехфотонная лазерная спектроскопия молекул в гидратных слоях биополимеров и наночастиц в микроволновом диапазоне частот. *Квантовая электроника*. 2009; 39(7): 648-652.
 28. Салихов К.М. 10 лекций по спиновой химии. Казань: УНИИПРЕСС, 2000.
 29. Wang H., Hao X., Zhang L., Liu S., Wang Q., Liu N. Et al. Decreased expression of aquaporin-1 in lung tissue of silicotic rats. *Clin. Lab*. 2015; 61(9):1163-1169.
 30. Stiebel-Kalish H., Eyal S., Steiner I. The role of aquaporin-1 in idiopathic and drug-induced intracranial hypertension. *Med Hypotheses*. 2013; 81(6):1059-1062.
 31. Vassiliou A.G., Maniatis N.A., Orfanos S.E., Mastora Z., Jahaj E., Paparountas T et al. Induced expression and functional effects of aquaporin-1 in human leukocytes in sepsis. *Crit Care*. 2013; 17(5):R199.