

УДК 614.7

## ЗАВИСИМОСТЬ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ВОДЫ ОТ КОНЦЕНТРАЦИИ СИСТЕМОГО ГОМЕОСТАТИЧЕСКОГО РЕГУЛЯТОРА-АССОЦИАТОВ ПЕРОКСИДНЫХ АНИОН-РАДИКАЛОВ

Иксанова Т.И., Каменецкая Д.Б., Стехин А.А., Яковлева Г.В.

ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Минздрава России, Москва, e-mail: Stekhin-aa@mail.ru

Исследована зависимость интенсивности люминесценции биотест-микроорганизмов «Эколюм» на основе lux-оперонов люминесцентных бактерий трансгенного штамма *Escherichia Coli* K-12 от концентрации в воде пероксидных анион-радикалов, выполняющих функции системного гомеостатического регулятора. Полученная зависимость является бимодальной, определяемой в области концентраций от 1 до 13 мкг/л стимуляцией энергетической цепи, осуществляемой за счет активации АТФ-синтазы (наномотор) и редокс-зависимых сигнальных путей, в то время как второй максимум активности в диапазоне концентраций  $\text{HO}_2^{\cdot(-)}$  18–30 мкг/л формируется вследствие критических размерных параметров пероксидных ассоциатов, инициирующих дифференцировку клеток. Падение активности в промежуточном диапазоне 13–18 мкг/л определяется перераспределением резонансных состояний фазы ассоциированной воды (резонанс подавления активности микроорганизмов «Эколюм» в диапазоне  $\Delta q_i = 0,6\text{--}0,8\%$ ) в сторону седатирования энергетических функций организма. В целом, увеличение биоэнергетической активности воды оказывает интегральное гомеостатическое действие на тест-организм, что также подтверждается увеличением продолжительности жизни и плодовитости высокоорганизованных организмов *Daphnia Magna*. Резкое снижение активности «Эколюм» в диапазоне концентраций  $\text{HO}_2^{\cdot(-)}$  более 40 мкг/л вызвано торможением биохимических процессов, связанных с подготовкой клеток к делению, управляемому пероксидными ассоциатами, достигающими своих максимальных размеров при концентрации  $\text{HO}_2^{\cdot(-)} = 45$  мкг/л. Кроме того, данный диапазон концентраций  $\text{HO}_2^{\cdot(-)}$  (порядка 45 мкг/л) чрезвычайно чувствителен к внешним воздействиям различной природы, которые способны инициировать фазовую неустойчивость в ассоциатах воды, сопровождаемую взрывной генерацией свободных радикалов.

**Ключевые слова:** фаза ассоциированной воды, пероксидные ассоциаты, люминесцентные бактерии, биоэнергетическая активность воды

## THE DEPENDENCE OF WATER BIOLOGICAL ACTIVITY WITH THE CONCENTRATION OF THE HOMEOSTATIC SYSTEM CONTROLLER – THE PEROXIDE ANION-RADICAL ASSOCIATES

Iksanova T.I., Kamenetskaya D.B., Stekhin A.A., Yakovleva G.V.

Center for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, Ministry of Health of Russia, Moscow, e-mail: Stekhin-aa@mail.ru

The dependence of biotest microorganisms «Ecolume» luminescence efficiency, based on lux-operons of transgenic strain luminescent bacteria *Escherichia Coli* K-12, with concentration in water peroxide anion-radicals, that perform the system homeostatic regulator functions. The obtained dependence is bimodal, determined in the concentration range from 1 to 13  $\mu\text{g/l}$  by energy chain stimulation, carried out by ATP synthase activation (nanomotor) and redox-dependent signaling pathways, while the second maximum activity in the  $\text{HO}_2^{\cdot(-)}$  concentration range 18-30  $\mu\text{g/l}$  is formed due to the critical size parameters of peroxide associates, initiating cell differentiation. The decrease in activity in the intermediate range 13-18  $\mu\text{g/l}$  is determined by the redistribution of the associated water phase resonance states (the suppression resonance of the «Ecolume» microorganisms activity in the range  $\Delta q_i = 0.6\text{--}0.8\%$ ) towards the body's energy functions sedation. In general, the water bioenergetic activity increase has an integral homeostatic effect on the test organism, which is also confirmed by the increase in life expectancy and fertility of highly organized organisms *Daphnia Magna*. A sharp decrease in the «Ecolume» activity in the range of  $\text{HO}_2^{\cdot(-)}$  concentrations more than 40  $\mu\text{g/l}$  is caused by inhibition of biochemical processes associated with the cells preparation for division, controlled by peroxide associates, reaching their maximum size at a concentration of  $\text{HO}_2^{\cdot(-)} = 45$   $\mu\text{g/l}$ . In addition, this  $\text{HO}_2^{\cdot(-)}$  concentrations range (about 45  $\mu\text{g/l}$ ) is extremely sensitive to external influences of different nature, which are able to initiate phase instability in water associates, accompanied by explosive free radicals generation.

**Keywords:** associated water phase, peroxide associates, fluorescent bacteria, bioenergetic activity of water

Биофизические исследования воды свидетельствуют об определяющей роли ее ассоциированной фазы в управлении метаболическими процессами в живых организмах [1]. Особую биологическую значимость имеет ассоциированная фаза воды, стабилизируемая пероксидными анион-радикалами, так как последние

выполняют в организме важные метаболические функции: управление клеточным циклом, включая дифференцировку и пролиферацию клеток, гормональную регуляцию, везикулярный транспорт, активацию ферментов и др. [1–2]. Так как содержание пероксид анион-радикалов в питьевых водах сильно варьирует, то

и их биологическая активность также непостоянна. В этой связи возникает необходимость получения концентрационной зависимости биологического отклика на питьевую воду с различным содержанием пероксид анион-радикалов.

Среди биотест-систем наиболее хорошо изучены сенсорные биолюминесцентные системы «Эколюм» на основе lux-оперонов люминесцентных бактерий трансгенного штамма *Escherichia coli* K-12. Выбор данного штамма микроорганизмов для получения биологического отклика от воды с различным содержанием пероксидных анион-радикалов обусловлен тем, что данные биологические объекты обладают повышенной, по сравнению с физическими методами измерений, чувствительностью к изменению электрофизического состояния воды, в том числе при облучении культуры клеток электромагнитными и акустическими излучениями [3–5].

Кроме того, в работе [6] установлена закономерность нелокальной активации ассоциатами пероксидных анион-радикалов в питьевых водах синтеза АТФ мембранной АТФ-синтазой трансгенного штамма K-12 микроорганизмов *E. Coli*. Данная закономерность заключается в том, что вращательное движение субъединиц олигомера комплекса F<sub>0</sub> обусловлено поступлением электронов на гидратные структуры α-спиралевидных белков мембраны клетки, формирующих вращательное магнитное поле (одно из свойств СП-состояния [6, 7]), которое взаимодействует с магнитным доменом γ-субъединицы комплекса F<sub>0</sub>, вызывая его вращение. Это приводит к периодическому возбуждению процессов гидратации-дегидратации, в результате которых в системе появляются протоны, поступающие на активные центры комплекса F<sub>1</sub>, и создаются условия для вращения клеточного мотора [7].

Благодаря этой способности мембранных комплексов обеспечивается внесубстратное увеличение активности микроорганизмов, то есть обеспечивается их чувствительность к электрон-донорным структурам воды, основными из которых являются ассоциаты пероксидных анион-радикалов.

Цель исследования: установление концентрационной зависимости биологической активности воды от содержания пероксидных анион-радикалов в водной среде.

#### Материалы и методы исследования

Для исследования влияния пероксидных ассоциатов на биологическую активность воды использовались сенсорные биолюминесцентные системы

«Эколюм» на основе lux-оперонов люминесцентных бактерий трансгенного штамма *Escherichia coli* K-12 (ТУ 6-09-20-236-01), которые характеризуются не только высокой чувствительностью к воздействующим факторам среды, но и высокой стабильностью своих параметров.

Биокаталитическая активность воды, определяемая концентрацией пероксидных анион-радикалов (НО<sub>2</sub><sup>(\*)</sup>), мкг/л) оценивалась с использованием хемилюминесцентного метода (анализатор жидкостей хемилюминесцентный «ЛИК УНИВЕРСАЛ», ТУ 9443-001-42844321-03) [2, 6].

В качестве объектов исследований использовались питьевые воды 1-й и высшей категории, удовлетворяющие гигиеническим требованиям согласно (СанПиН 2.1.4.1116-02 – Вода расфасованная в емкости). Часть из использованных в исследованиях питьевых вод подвергалась дополнительной активации с использованием мембранного электролиза, в том числе неконтактной активации, а также активирующие добавки: механохимически активированный мицеллат кальция углекислого (рецептура «МицеллатАктив» и «АкваГелиос» – концентрат ги-помагнитно обработанной воды).

#### Результаты исследования и их обсуждение

Среди присутствующих на рынке питьевых бутилированных вод для исследований были отобраны 12 торговых марок, составлявших 28% от всех исследованных вод (остальные 72% марок характеризовались отсутствием в своем составе пероксидных анион-радикалов и низкими показателями активности тест-культуры «Эколюм») (I<sub>0</sub>/I<sub>к</sub> < 1, где I<sub>0</sub>(I<sub>к</sub>) – интенсивность люминесценции микроорганизмов в опытных питьевых водах и дистиллированной воде (контроль)) (таблица). Как правило, биологически инертные питьевые воды дополнительно характеризовались повышенными значениями окислительно-восстановительного потенциала (Eh > 200 мВ).

Все питьевые воды и активированные питьевые воды, включая электрохимически активированную московскую водопроводную воду, расположены в таблице в порядке увеличения концентрации пероксидных анион-радикалов.

Анализ данных таблицы показывает, что относительная активность люминесцентного теста «Эколюм» сложным образом зависит от концентрации пероксидных анион-радикалов. Однако общий вид этой зависимости имеет бимодальный характер.

Бимодальный вид зависимости биологической активности микроорганизмов «Эколюм» определяется несколькими факторами. Так в области концентрации от 1 до 13 мкг/л осуществляется стимуляция энергетической цепи синтеза АТФ, которая осуществляется за счет электронной активации Н<sup>+</sup>АТФ-синтазы (наномотор) и редокс-за-

висимых сигнальных путей, в то время как существует второй максимум активности в диапазоне концентраций  $\text{HO}_2^{(*)}$  18–30 мкг/л, формируемый, вероятно, вследствие увеличения критических размерных параметров пероксидных ассоциатов, инициирующих дифференцировку клеток [2].

Повышение концентрации  $\text{HO}_2^{(*)}$  более 13 мкг/л сопровождается одновременным увеличением значений окислительно-восстановительного потенциала воды, что запускает дополнительные механизмы внутриклеточной редокс-регуляции, от которой зависит функциональная активность клеток.

Замедление энергетической активности микроорганизмов, наблюдаемое в промежуточном диапазоне концентраций пероксидных анион-радикалов, не означает подавления других метаболических процессов, а является закономерным следствием динамики стимулирования и седатирования раз-

личных систем организма [8]. Падение активности в диапазоне 13–20 мкг/л связано с перераспределением резонансных состояний фазы ассоциированной воды (резонанс подавления активности микроорганизмов «Эколюм» в диапазоне значений доли фазы ассоциированной воды  $\Delta q_i = 0,6–0,8\%$  [6]) в сторону седатирования энергетических функций данного организма. Другие факторы влияния пероксидных ассоциатов на биологическую активность клеток определяются снижением чувствительности пероксиредоксинов к  $\text{HO}_2^{(*)}$ , коррелирующей с конформационными изменениями в этих белках [9].

В целом увеличение биоэнергетической активности воды оказывает интегральное гомеостатическое действие на тест-организм, что также подтверждается увеличением продолжительности жизни и плодовитости высокоорганизованных организмов *Daphnia Magna* [2].

Концентрация пероксидных анион-радикалов ( $[\text{HO}_2^{(*)}]$ ), окислительно-восстановительный потенциал (Eh) и относительная активность тест-микроорганизмов «Эколюм» ( $I_o/I_k$ , где  $I_o(I_k)$  – интенсивность люминесценции микроорганизмов в опытных питьевых водах и дистиллированной воде (контроль))

Образцы воды (методы активации)	$[\text{HO}_2^{(*)}]$ , мкг/л	Eh, мВ	$I_o/I_k$
Московская водопроводная вода (МВВ)*	0,0	224	1,1
образец № 1	0,1	157	1,1
образец № 2 (контроль)	1,3	184	1,3
образец № 3 (контроль)	2,7	177	1,5
«образец № 3» +ГПВ** (9 мл/л) [2]	3,5	163	1,6
«образец № 2» (фотомодуляция [7])	3,6	172	1,8
образец № 4	4,0	224	3,3
образец № 5	5,4	136	2,5
образец № 6	6,7	223	3,1
образец № 7	8,2	203	2
образец № 8	8,4	168	1,4
образец № 9	9,1	176	2,4
образец № 10	13,0	210	1,4
МВВ (электрохимическая активация)	14,0	120	0,6
МВВ (неконтактная активация)	21,1	132	0,8
образец № 3 (с добавкой 50 мкл/л «МицеллатАктив» [2])	23,0	232	3,1
образец № 11	23,1	236	2,8
МВВ (с добавкой 50 мкл/л «МицеллатАктив»)	26,0	213	2,5
МВВ (неконтактная активация)	32,2	74	0,4
образец № 12	34,0	234	1,2
МВВ (электрохимическая активация)	47,1	60	0,1

Примечания: \*Выдержка при комнатной температуре в течение 1 месяца.

\*\*ГПВ – гелиопротекторная вода [2].

Образцы № 1–12 – бутилированные питьевые воды.

Резкое снижение активности «Эко-люм» в диапазоне концентраций  $\text{HO}_2^{-(*)}$  более 40 мкг/л вызвано торможением биохимических процессов, связанных с подготовкой клеток к делению, управляемому пероксидными ассоциатами, достигающими своих максимальных размеров при концентрации  $\text{HO}_2^{-(*)} = 45$  мкг/л [2]. Кроме того, данный диапазон концентраций  $\text{HO}_2^{-(*)}$  (порядка 45 мкг/л) чрезвычайно чувствителен к внешним воздействиям различной природы, которые способны инициировать фазовую неустойчивость в ассоциатах воды, сопровождаемую взрывной генерацией свободных радикалов. Этот же процесс фазовой трансформации фазы ассоциированной воды служит побудительным мотивом для клетки на запуск программы апоптоза.

### Заключение

Таким образом, биологически активный диапазон концентраций пероксидных анион-радикалов в воде, обеспечивающий поддержание системного гомеостаза клеток, составляет 0,1–40 мкг/л. В отсутствие в воде пероксидных анион-радикалов (так называемые электрон-дефицитные состояния воды при  $[\text{HO}_2^{-(*)}] \leq 0,1$  мкг/л) клетки испытывают системные диспропорции в метаболических процессах (низкая активность), а при концентрациях выше 40 мкг/л – ускорение клеточного цикла и повреждающее действие свободных радикалов.

В соответствии с численными значениями показателей биологической активности воды, зависящими от концентрации пероксидных анион-радикалов, активность питьевой воды целесообразно дифференцировать на 4 поддиапазона – менее 0,1 мкг/л (электрон-дефицитное состояние), 0,1–1,0 мкг/л (средний уровень активности); 1,0–13 мкг/л (высокая активность); 13–40 мкг/л (экстремально высокая активность).

Необходимость подобного деления биокаталитической активности питьевой воды на поддиапазоны определяется различиями в системных показателях направленности биологического действия и гомеостатиче-

ских эффектов. Выделение поддиапазона экстремально высокой биокаталитической активности воды связано с внесением ограничений на водопотребление или принятием дополнительного риска для продолжительности жизни (ускорение клеточного цикла и накопление структурных дефектов) при ее постоянном потреблении. При более высоких концентрациях  $\text{HO}_2^{-(*)}$  одновременно с анион-радикальным состоянием стабильно существует молекулярная перекись водорода, которая оказывает разрушающее действие на клеточные структуры организма. Следовательно концентрацию  $\text{HO}_2^{-(*)}$  выше 40 мкг/л следует рассматривать как биологически небезопасную.

*Статья подготовлена в рамках Государственного задания № АААА-А18-118020590087-5 Министерства здравоохранения.*

### Список литературы

1. Stekhin A., Yakovleva G., Pronko K., Zemskov V. Water as the main regulator of intracellular processes. Clin. Pract. 2018. № 15. Vol. 5. P. 841–855. DOI: 10.4172/clinical-practice.1000418.
2. Stekhin A., Yakovleva G., Pronko K., Zemskov V. Quantum biophysics of water. Clin. Pract., 2018. № 15. Vol. 3. P. 579–586. DOI: 10.4172/clinical-practice.1000393.
3. Shaw J.R., Colbourne J.K., Davey J.C., Glaholt S.P. Gene response profiles for *Daphnia pulex* exposed to the environmental stressor cadmium reveals novel crustacean metallothioneins. BMC Genomics. 2007. № 8. P. 477.
4. Чернилевский В.Е. Проблемы гипобиоза и продолжения жизни. М.: Сборник МОИП № 41. Секция геронтологии, 2008. 203 с.
5. Олькова А.С., Фокина А.И., Лялина Е.И., Ашихмина Т.Я. Исследование протекторных свойств восстановленного глутатиона для тест-организмов в растворах, содержащих медь // Вода: химия и экология. 2016. № 02. С. 64–70.
6. Стехин А.А., Яковлева Г.В. Квантовое поведение воды: Свойства электронной подсистемы ассоциатов воды. Электронный дефицит как фактор риска здоровью. М.: ЛЕ-НАНД, 2019. 300 с.
7. Романовский Ю.М., Тихонов А.Н. Молекулярные преобразователи энергии живой клетки. Протонная АТФ-синтаза – вращающийся молекулярный мотор // УФН. 2010. № 180. С. 931–956.
8. Селье Г. Стресс без дистресса. М.: Прогресс, 1979. 246 с.
9. Best R.B., Miller C., Mittal J. Role of solvation in pressure-induced helix stabilization. Journal of Chemical Physics. 2014. № 141. C.22D522.