

ЮХАН КАЛАМ, ТООМАС КЕЭП, МЕЙДА МАЙЕР

РЕАКЦИЯ ЭРИТРОЦИТОВ И МИТОХОНДРИЙ
В СТРУКТУРНОЙ ВОДЕ

JUHAN KALAM, TOOMAS KÕOP, MEIDA MAYER. ERÜTROTSÜÜTIDE JA MITOKONDRIITE
REAKTSIOON STRUKTUURSEES VEES

JUHAN KALAM, TOOMAS KÕOP, MEIDA MAYER. ON THE REACTION OF ERYTHROCYTES
AND MITOCHONDRIA IN QUASI-CRYSTALLINE WATER

Большую часть живых организмов и клеток составляет вода, которая, однако, не является просто универсальным растворителем, а, по словам А. Сент-Дьердьи (1964), «белки, нуклеиновые кислоты, нуклеопротеиды и вода образуют единую систему, которую нельзя разделить на компоненты без разрушения ее сущности». В ряде экспериментальных исследований (Jacobson, 1953; Jacobson и др., 1954; Есипова и др., 1958; Odeblad, 1960; Bernal, 1965; Slatyer, 1967) показано, что биологические макромолекулы способны упорядочивать воду, создавать вокруг себя оболочку структурированной воды. Следовательно, значительная часть воды в клетках имеет квазикристаллическую структуру.

В наших предшествующих исследованиях было установлено, что структурная вода стимулирует рост и развитие ячменя и модифицирует эффекты гамма-облучения (Калам, 1971). Для более глубокого понимания характера действия структурной воды оказалось необходимым изучить некоторые явления *in vitro* на клеточном и субклеточном уровнях. Для этого мы использовали эритроциты куриной крови и митохондрии, выделенные из проростков конских бобов, как один из более самостоятельных органелл клетки.

Для установления значения структурной воды при реакции кислотного гемолиза эритроцитов они инкубировались в двух физиологических растворах NaCl, один из которых представлял собой замороженную и потом медленно оттаянную воду (структурная), а другой — раствор, содержащий плотноупакованную воду (контрольная). Эритроциты инкубировались в обоих растворах при 20 °С. Соответствующие определения реакции гемолиза проводились через 3 и 24 ч, 2 и 6 дней после инкубации эритроцитов при комнатной температуре по методу И. Гиттельсона и И. Терскова (1961), в качестве гемолитика использовалась 0,004 н. соляная кислота. Измерения проводились на термостабилизированной фотометрической установке «Анализ-1» при 24° со светофильтром 600 нм.

Митохондрии изолировали из проростков *Vicia faba* L. по методике И. Мосоловой и Н. Сисакяна (1961), приспособленной нами для конских бобов (Калам и др., 1971). Изолированные митохондрии ресуспендировали в структурной дистиллированной и контрольной дистиллированной воде. Набухание митохондрий после сжатия под действием Na-соли АТФ измеряли с помощью спектрофотометра СФ-10 при 520 нм.

Все опыты проводились в 12 повторностях и результаты подвергались статистическому анализу.

Реакция эритроцитов. Результаты определения 10- и 50%-ного гемолиза эритроцитов (T_{10} и T_{50}) показывают, что различия статистически достоверны только после трехдневной инкубации ($T_{10\text{контр.}} = 460$ сек; $T_{50\text{контр.}} = 570$ сек; $T_{10\text{структ.}} = 510$ и $T_{50\text{структ.}} = 595$ сек). Зависимость количества эритроцитов от длительности их инкубации в физиологических растворах показана на рис. 1, где на оси ординат — оптическая плотность, которая линейно связана с числом распадающихся эритроцитов (Гиттельзон, Терсков, 1959). По этим кривым видно, что начиная с третьего дня отмечается уже явное защитное влияние структурной воды на реакцию эритроцитов по сравнению с контролем ($P > 0,95$). Резкое падение численности эритроцитов в контроле наблюдается только после второго дня инкубации, а в варианте со структурной водой падение плавно и незначительно.

Реакция митохондрий. Препараты свежeweделенных митохондрий суспендировали в структурной и контрольной воде. На рис. 2 приведены результаты, показывающие, что имеет место постепенное набухание митохондрий (пунктир). В контрольной воде это происходит быстрее, чем в структурной. Когда после пятиминутного набухания добавляли 5 мМ раствор Na-соли АТФ, наблюдалось интенсивное сжатие митохондрий (сплошные линии). Интенсивность сжатия (повышение оптической плотности через 2 мин после добавления АТФ) одинакова, но сжатие в структурной воде более длительно, чем в контрольной, и набухание начинается позже. При этом максимум оптической плотности в контрольной воде ниже, чем в структурной. Набухание митохондрий в контрольном варианте начинается через 3 ч и происходит сравнительно быстро, а в структурной воде — через 5 ч и идет медленнее.

Обсуждение. Литературные данные (Jacobson, 1953; Jacobson и др., 1954; Есипова и др., 1958; Odeblad, 1960; Сент-Дьердьи, 1964; Bernal, 1965; Сырников, 1966; Slatyer, 1967; Уоддингтон, 1970) и результаты наших опытов наводят на мысль, что между органеллами клетки и биомакромолекулами, с одной стороны, и структурой воды, с другой, существует двусторонняя связь. Исходя из того, что структурность внутриклеточной воды служит необходимым условием нормального

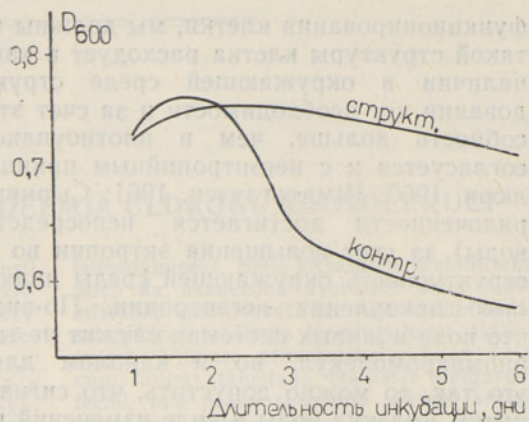


Рис. 1. Изменение оптической плотности в взвесе эритроцитов в зависимости от длительности инкубации.

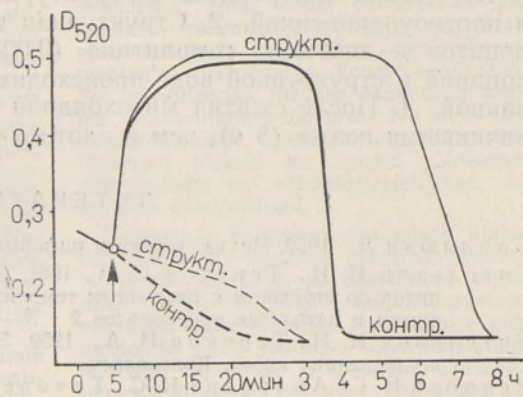


Рис. 2. Реакция митохондрий проростков кофейных бобов в контрольной и структурной воде. Стрелкой указано время добавления АТФ.

функционирования клетки, мы должны предположить, что для создания такой структуры клетка расходует в какой-то мере свои ресурсы, а при наличии в окружающей среде структурной воды в таком расходовании нет необходимости и за счет этого клетка сохраняет жизнеспособность дольше, чем в плотноупакованной воде. Такой ход мысли согласуется и с негэнтропийным принципом (Schrödinger, 1945; Бриллюэн, 1960; Шмальгаузен, 1961; Сырников, 1966), т. е. повышение упорядоченности достигается непосредственно (зачатки структурной воды) за счет повышения энтропии во внешней среде. В таком случае структурность окружающей среды является дополнительной возможностью накопления негэнтропии. По-видимому, можно предположить, что вода в живых системах служит не только средой для существования биомакромолекул, но и каналом для передачи информации. Если это так, то можно допустить, что сигналы передаются по структурным цепям молекул воды в виде изменений в структурности воды или путем изменения положения молекул в квазикристаллическом каркасе.

Выводы

1. Распад эритроцитов в структурной воде наступает позже, чем в плотноупакованной. 2. Структурная вода повышает стойкость эритроцитов к действию гемолитика (0,004 н. HCl). 3. Набухание митохондрий в структурной воде происходит медленнее, чем в плотноупакованной. 4. После сжатия митохондрий набухание в структурной воде начинается позже (5 ч), чем в плотноупакованной (3 ч).

ЛИТЕРАТУРА

- Бриллюэн Л., 1960. Наука, теория и информация. М.
- Гительзон И. И., Терсков И. А., 1961. Закономерности распределения эритроцитов по стойкости к различным гемолитикам. В сб.: Вопросы бисфизики, биохимии и патологии эритроцитов 2 : 30—61.
- Гительзон И. И., Терсков И. А., 1959. Эритрограммы как метод клинического исследования крови. Красноярск.
- Есипова Н. Г., Андреева Н. С., Гатовская Т. В., 1958. О роли воды в структуре коллагена. Биофизика 3 (5) : 529—540.
- Калам Ю., 1971. Влияние структуры воды на пострадиационные эффекты в простках ячменя. Изв. АН ЭССР. Биол. 21 (2) (в печати).
- Калам Ю., Майер М., Орав Т., 1971. О выделении митохондрий у *Vicia faba* L. Изв. АН ЭССР. Биол. 21 (1) : 47—51.
- Мосолова И. М., Сисакян Н. М., 1961. Об условиях выделения митохондрий из растительной клетки. Биохимия 26 (3) : 549—555.
- Сент-Дьердьи А., 1964. Введение в субмолекулярную биологию. М.
- Сырников Ю. П., 1966. К вопросу о термодинамических процессах в живой системе и о роли воды в этих процессах. В сб.: Структура и роль воды в живом организме. ЛГУ : 58—65.
- Уоддингтон К. Х., 1970. Основные биологические концепции. В сб.: На пути к теоретической биологии. М. : 11—38.
- Шмальгаузен И. И., 1961. Интеграция биологических систем и их саморегуляция. Булл. МОИП 66 (2) : 104—134.
- Bernal J. D., 1965. The structure of water and its biological implications. In: State and movement water living organisms. Cambridge : 17—32.
- Jacobson V., 1953. Hydration structure of deoxyribonucleic acid and its physico-chemical properties. Nature 172 (4380) : 666—667.
- Jacobson V., Anderson W. A., Arnold J. T., 1954. A proton magnetic resonance study of the hydration of deoxyribonucleic acid. Nature 173 (4408) : 772—773.
- Odeblad E., 1960. Proton magnetic resonance of the water phase of gelatin gels. Nature 188 (4750) : 579.
- Schrödinger E., 1945. What is life? The physical aspect of the living cell. London.
- Slatyer R. O., 1967. Plant-water relations. London, New York.