

Ф. Д. САМУИЛОВ, В. И. ФЕДОТОВ, В. И. НИКИФОРОВА,
Б. М. ОДИНЦОВ, Е. А. НИКИФОРОВ

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПАРАМАГНИТНЫХ ПРИМЕСЕЙ НА РЕЛАКСАЦИЮ ПРОТОНОВ ТКАНЕВОЙ ВОДЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЭФФЕКТА ОВЕРХАУЗЕРА

(Представлено академиком А. Л. Курсановым 4 III 1975)

Для исследования состояния воды в растительных и животных тканях в настоящее время широко используются методы ядерного магнитного резонанса. Однако вследствие ряда специфических особенностей, присущих живым клеткам и тканям, интерпретация данных ядерного резонанса встречает серьезные затруднения ⁽¹⁾.

Одним из важных условий при объяснении данных я.м.р. в биологических системах является необходимость учета возможного влияния парамагнитных примесей на релаксацию протонов воды в тканях.

Парамагнитные примеси, содержащиеся в клетках (парамагнитные ионы Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} и др., кислород, свободные радикалы) способны сокращать времена магнитной релаксации протонов воды, искажая уменьшение этих времен, вызванное снижением подвижности молекул воды в тканях и клетках. Если влияние парамагнитных примесей, растворенных в воде, можно определить по временам релаксации воды, выделенной из ткани, то значительно труднее учесть эффект примесей, связанных с молекулами неводных компонентов ткани ⁽¹⁾.

Эйзингер с соавторами ⁽²⁾, исследуя скорость протонной спин-решеточной релаксации в водном растворе ДНК, содержащем парамагнитные ионы, показали, что вклад парамагнитных ионов в релаксацию зависит не только от их концентрации, но и от химического окружения. Н. А. Мальцев с соавторами ⁽³⁾, измеряя времена релаксации в тканях, инфильтрированных растворами 0,1–0,001 М KCN, пришли к выводу, что парамагнитные примеси имеют либо небольшое влияние, либо совершенно не влияют на времена релаксации. Применение цианистого калия для опытов они объясняют тем, что «все парамагнитные металлы переходной группы дают с группой CN ковалентную связь, в результате чего их магнитная эффективность на протоны воды снижается на 95%». В дальнейшем было изучено ⁽⁴⁾ влияние недостаточного доступа кислорода к растительным тканям на протонную релаксацию в них. Хотя авторы установили увеличение времен релаксации T_1 и T_2 в этих условиях (в листьях бобов), определенных выводов о механизме этого явления сделать не смогли.

Мы поставили перед собой задачу исследовать эффект влияния парамагнитных центров (п.м.ц.) неионного характера, присутствующих в растительных тканях, на релаксацию протонов тканевой воды.

Спектры электронного парамагнитного резонанса таких свободно-радикальных центров в семенах некоторых растений изучены, например, в работе ⁽⁵⁾. Авторы этой работы показали, что спектры э.п.р. семян лука — узкие, интенсивные синглеты с $\Delta H_{\text{max}} \approx 4$ э и $g \approx 2,0036$, напоминающие линии свободного радикала дифенилпикрилгидразила (ДФПГ). Согласно их измерениям, число п.м.ц. в этих семенах около 10^{18} спин/г. По мнению авторов работы ⁽⁵⁾, «природа п.м.ц. в оболочке, семядолях и, по крайней мере, отчасти в зародышах семян, видимо, связана не столько со свободными радикалами метаболического происхождения, число которых при за-

торможенном развитии не может быть велико, сколько с наличием разных конденсированных циклических структур с сопряженными связями».

В наших исследованиях мы использовали эффект Оверхаузера ⁽⁶⁾, суть которого состоит в следующем. В системе, содержащей ядерные I и электронные S спины, при насыщении электронной спин-системы сильным с.в.ч. полем вследствие электронно-ядерных взаимодействий через релаксационные процессы происходит неравновесная заселенность ядерной спин-системы, т. е. динамическая поляризация ядер (д.п.я.). Это обычно вызывает заметное увеличение амплитуды сигнала ядерного резонанса. Для ядер водорода в присутствии свободных радикалов, где обычно имеет место диполь-дипольное взаимодействие, это увеличение достигает 330.

Общее уравнение поляризации было выведено Абрагамом и Соломоном ⁽⁷⁾

$$A = - \left| \frac{\gamma_s}{\gamma_I} \right| \rho f \cdot Z, \quad (1)$$

где γ_s и γ_I — гиромагнитные отношения для электрона и ядра соответственно, Z — параметр насыщения электронной спин-системы. Фактор утечки f определяет в общей релаксации долю релаксации протонов, обязанную электронно-ядерному взаимодействию, и выражается через времена ядерной релаксации

$$f = 1 - \frac{T_1}{T_{10}}. \quad (2)$$

где T_{10} — спин-решеточное время ядерной релаксации чистого растворителя, а T_1 — соответственно протонов парамагнитного раствора.

Параметр электронно-ядерного взаимодействия ρ содержит вклад как диполь-дипольного, так и скалярного взаимодействия неспаренных электронов с протонами растворителя. Присутствие скалярного вклада можно выявить из измерений в слабых полях, а также из температурных измерений. С учетом скалярного вклада выражение для ρ можно записать в виде:

$$\rho = \frac{1 - \frac{\tau_c}{\sigma \tau_c} \left(\frac{1 + \omega_s^2 \tau_c^2}{1 + \omega_s^2 \tau_c^2} \right)}{[1.4 + 0.6(1 + \omega_s^2 \tau_c^2)] + \frac{\tau_c}{\sigma \tau_c} \left(\frac{1 + \omega_s^2 \tau_c^2}{1 + \omega_s^2 \tau_c^2} \right)}, \quad (3)$$

где τ_c — время корреляции броуновского движения частиц в растворе, τ_e — время корреляции электронного обмена и ω_s — частота электронного резонанса; величина σ характеризует вклад скалярного и дипольного взаимодействий. При $\sigma \rightarrow \infty$ имеем случай чисто диполь-дипольного взаимодействия; и в слабых полях, как видно из (3), ρ должно быть равно $+1/2$.

Наши измерения проводились на установке двойного ядерно-электронного резонанса в магнитном поле 200 э. Частота э.п.р. облучения была равна 550 Мгц. Генератор я.м.р. имел диапазон перестройки от 500 кгц до 1850 кгц, что соответствует изменению электронного фактора от 0,9 до 3,2. Для создания мощного с.в.ч. поля в объеме образца использовался резонатор спирального типа. Форма витков катушки я.м.р. напоминает отклоняющую систему электронно-лучевой трубки, что позволило значительно уменьшить с.в.ч. потери в спиральной резонансной системе. Подробное описание установки приведено в работе ⁽⁸⁾.

В качестве объектов исследования нами были взяты семена лука батунна, гороха, русских бобов, подсолнечника. Перед измерениями семена замачивались. Время замачивания варьировалось в опытах от 3 до 12 час. Спектр э.п.р. семян лука, полученный нами на приборе РЭ-4301, приведен на рис. 1. Спектры э.п.р. семян гороха, русских бобов и подсолнечника по-

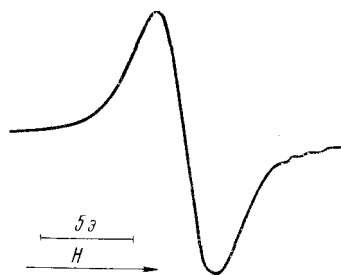


Рис. 1. Спектр э.п.р. семян лука батун (после замачивания в воде в течение 3 час.)

лучить не удалось из-за низкой концентрации п.м.ц. в этих объектах.

Приведенный на рисунке спектр э.п.р. семян лука представляет собой узкую одипочную линию шириной 3,6 э. Малая ширина линии э.п.р. и достаточная ее интенсивность указывают на принципиальную возможность наблюдения эффекта Оверхаузера. Измерения времен ядерной релаксации в этих образцах показали, что фактор утечки f в формуле (2) не равен нулю, что также свидетельствует о возможности наблюдения в них д.п.я. от протонов тканевой воды.

К сожалению, укорочение времен ядерной релаксации может быть объяснено как наличием п.м.ц., так и уменьшению подвижности

воды в тканях и дисольному уширению линии я.м.р. Измерения методом д.п.я. дают непосредственные сведения о наличии связи между п.м.ц. и протонами растворителя. Однако, несмотря на то что измерения проводились в достаточно широком интервале температур (20—70°), эффекта обнаружить не удалось даже в семенах лука, имеющих наибольшее число п.м.ц. В то же время в неоткачанном растворе свободного радикала ДФПГ при той же концентрации п.м.ц. мы наблюдали пятикратное увеличение сигнала я.м.р. Как известно (⁹), при малых концентрациях п.м.ц. поляризация прямо пропорциональна числу п.м.ц. Наш эксперимент с ДФПГ показывает, что в исследованных объектах п.м.ц. достаточно для наблюдения эффекта. При насыщении электронной спин-системы эффект д.п.я. будет отсутствовать, если ρ или f в формуле (1) равны нулю. Отсутствие эффекта Оверхаузера в достаточно широком температурном интервале говорит о том, что не ρ , а f в уравнении (1) равно нулю.

Отсутствие эффекта в пределах ошибки эксперимента можно объяснить очень малой величиной электронно-ядерной связи п.м.ц. с протонами тканевой воды, дающими суммарный сигнал я.м.р. Это может быть следствием двух причин: либо п.м.ц. сильно экранированы биологическими макромолекулами, или же обмен молекул воды в гидратных оболочках, окружающих п.м.ц., сильно затруднен. Последнее, однако, мало вероятно, так как результаты ряда исследований (¹⁰⁻¹²) свидетельствуют о быстрой обмениваемости молекул гидратной воды с молекулами свободной воды.

Казанский сельскохозяйственный институт
им. М. Горького

Поступило
28 II 1975

Физико-технический институт
Казанского филиала Академии наук СССР

Казанский государственный
педагогический институт

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ О. Ф. Безруков, В сб.: Структура и роль воды в живом организме, Л., Изд-во ЛГУ, 1966.
- ² J. Eisinger, R. J. Shulman, B. M. Szumansky, J. Chem. Phys., v. 36, 1721 (1962).
- ³ Н. А. Мальцев, Ф. Г. Мифтахутдинова, В. Д. Федотов, Уч. зап. Казанск. ун-та, т. 24, кн. 7, 20 (1964).
- ⁴ Ф. Г. Мифтахутдинова, В. Д. Федотов, В сб.: Физиология и устойчивость растений, в. 2, Казань, Изд-во КГУ, 1971.
- ⁵ Е. Д. Коржиков, Л. М. Чепель и др., Биофизика, т. 19, 308 (1974).
- ⁶ A. W. Overhauser, Phys. Rev., 104, 476 (1953).
- ⁷ A. Abragam, J. Combrisson, I. Solomon, C. R., v. 245, 157 (1957).
- ⁸ Е. Н. Федотов, Г. Г. Боровиков и др., Радиоспектроскопия, № 9, Пермь, 1974.
- ⁹ W. M. Warmuth, Zs. Naturforsch., B. 15A, 927 (1960).
- ¹⁰ Н. Клотц, В сб.: Горизонты биологии, М., «Мир», 1964.
- ¹¹ К. С. Тринчер, Усп. совр. биол., т. 61, в. 3, 338 (1968).
- ¹² Ф. Д. Самуилов, Н. В. Седых, ДАН, т. 181, 489 (1969).