

СОСТОЯНИЕ ВОДЫ В ТКАНЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА И ВЛИЯНИЕ НА НЕЕ ИНКАПСУЛИРОВАНИЯ КРЕМНЕЗЕМОМ

Т.В. Крупская^{1*}, С.В. Пакришень², А.В. Серов², А.Т. Волик³, В.В. Туров¹

¹Институт химии поверхности им. А.А. Чуйко, Национальной академии наук Украины, ул. Генерала Наумова, 17, Киев, 03164, Украина, e-mail: krupska@ukr.net

²Патологоанатомическое отделение Александровской клинической больницы, ул. Шелковичная, 39/1, Киев, 01601, Украина

³Киевский международный университет, медико-фармацевтический факультет, ул. Львовская, 49, Киев, 03179, Украина

Методом низкотемпературной ¹H ЯМР-спектроскопии изучено строение гидратных слоев воды, связанной мозговой тканью, после ишемического инсульта, а также влияние на их строение хлороформа и трифторуксусной кислоты. Практически вся вода, входящая в состав мозговой ткани, является связанной, а ее структура близка к структуре объемной воды, когда каждая молекула воды участвует в формировании 2-3 водородных связей. Показано, что хлороформ, который плохо растворяется в воде, может оказывать значительное влияние на связывание воды в тканях мозга и способствует уменьшению энергии взаимодействия воды с внутренними границами раздела фаз. Добавки 20 % трифторуксусной кислоты (ТФУК) позволяют дифференцировать внутриклеточную воду по ее способности растворять сильные кислоты. Выявлено, что часть внутриклеточной воды плохо растворяет ТФУК. В присутствии ТФУК происходит рост вклада доменов и кластеров воды меньшего радиуса. Инкапсулирование мозговой ткани гидрофильным нанокремнеземом приводит к значительному росту величины межфазной энергии связанной воды, которое происходит благодаря росту вклада от сильносвязанной воды. Вероятно, это обусловлено значительным уменьшением линейных размеров частиц ткани, вызванным процессом инкапсулирования. Ввиду большого размера нейронов, можно предположить, что происходит разделение ткани на отдельные клетки или небольшие группы смежных клеток. При этом наблюдаются значительные изменения в характеристиках межклеточных взаимодействий. Соответственно, основной максимум на кривой распределения $\Delta C(R)$ смещается в область меньших величин и отвечает кластерам с радиусом $R = 7$ нм. Среда хлороформа в инкапсулированном образце стабилизирует домены большего радиуса. Этот процесс сопровождается значительным уменьшением величины межфазной энергии.

Ключевые слова: головной мозг, сильно- и слабосвязанная вода, ¹H ЯМР-спектроскопия

Введение

Мозг человека, который является носителем всей информации, накапливаемой за время жизни, а также его чувств и подсознательных стремлений, всегда привлекал интерес многих поколений исследователей. По мере развития технологии большие успехи были достигнуты в области изучения электрофизических характеристик разных отделов мозга [1, 2], которые могут быть сопоставлены с деталями его морфологической структуры, определяемой методами магнитно-резонансной томографии (МРТ) [3, 4]. Несмотря на это механизмы хранения и обработки информации веществом головного мозга остаются мало изученными. Также неизвестно и строение водных структур, входящих как в состав нейронов и аксонов, так других клеточных образований, составляющих нейроглию.

Практически весь мозг состоит из связанных между собой нервных клеток (нейронов и аксонов) [5], погруженных в клеточную среду, обеспечивающую их жизнедеятельность. В мозге может содержаться до 84 % внутриклеточной воды [6], таким образом, мозговая ткань представляет собой желеобразную субстанцию, легко разрушаемую даже при небольших механических нагрузках. Основная часть воды в клетках головного мозга связывается белковыми молекулами, количество которых в пересчете на сухой остаток составляет всего 8 %. Липидов в головном мозге также относительно немного – около 5 % [6]. Вероятно, основная их часть входит в состав клеточных мембран. Присутствие в мозге столь значительного количества воды позволяет предположить возможность ее активного участия в работе мозга не только в качестве среды, обеспечивающей доставку к клеткам питательных веществ и вывода из них продуктов метаболизма, но и при выполнении его основной функциональной нагрузки.

Свойства воды в мозговых тканях методами ЯМР-спектроскопии изучают уже более 50 лет [7 – 10], что во многом послужило основой для создания и широкого распространения методов МРТ. Целью настоящей работы было определение структуры водных полиассоциатов в нативной мозговой ткани, влияние на них жидких гидрофобных и твердых веществ, а также кислотного агента – трифторуксусной кислоты. В качестве основного метода исследования была выбрана низкотемпературная ^1H ЯМР-спектроскопия [11 – 14], с помощью которой по изменению интенсивности сигнала ЯМР в процессе оттаивания образцов можно определять количество сильно- и слабосвязанной воды, а с использованием уравнения Гиббса – Томсона – распределение по радиусам кластеров незамерзающей воды [15, 16]. Величина химического сдвига воды позволяет рассчитать среднюю степень ассоциированности ее молекул в полиассоциатах. При этом учитывается тот факт, что протоны неассоциированной (слабоассоциированной) воды имеют химический сдвиг $\delta_{\text{H}} = 1 - 1.5$ м.д., а льдоподобные структуры, характерные для гексагонального льда – $\delta_{\text{H}} = 7$ м.д. [17].

Экспериментальная часть

Материалы: Образцы тканей мозга были получены при вскрытии мужчины 50 лет с посмертным диагнозом: церебро-васкулярная болезнь, ишемический инсульт головного мозга (смерть наступила через 10 дней после начала заболевания). Вскрытие тела умершего проводилось в ближайшие 6 ч после констатации биологической смерти. Образцы отбирали из отдаленного (от ишемического некроза) участка головного мозга (макроскопически – зона неизменной ткани).

Для изготовления гистологических препаратов фрагменты исследуемой мозговой ткани после фиксации в 10 % растворе формалина, за стандартизированной методикой обезвоживали в этаноле возрастающей концентрации, а потом заливали в парафиновые блоки. Срезы блоков толщиной 3 – 5 мкм выполняли с помощью санного микротомы, красили препараты гематоксилином и эозином по стандартной методике.

Гистологические препараты (срезы) фотографировали с помощью фотоаппарата Canon Power Shot A510 (Canon, Китай), используя разделительную способность 5 мегапикселей на микроскопе Leica DM LS2, с объективами 10x, 20x, окуляр 10x и сим аут адаптер Leica DM LS2 (Leica Microsystems Wetzlar GmbH, ФРН) с помощью программы Remote Capture (Canon, Китай).

Для ЯМР-исследований использовался срез мозговой ткани толщиной около 2 см. Ткань замораживалась и хранилась в замороженном состоянии при температуре 258 К. Для приготовления исходного образца (Norm) 4 мм стеклянной трубкой, путем продавливания, проводился забор вещества из внутренней части замороженного среза мозговой ткани, которую помещали в 5 мм ЯМР-ампулу, а затем в предварительно охлажденный до 210 К датчик ЯМР-спектрометра. Измерения интенсивности сигнала воды проводили в процессе оттаивания образца до конечной температуры $T = 300$ К.

Для изучения влияния жидкой гидрофобной среды (дейтерохлороформа (CDCl_3)) 0,5 г мозговой ткани измельчали в замерзшем состоянии до кусочков размером 1 – 3 мм³, размораживали и помещали в среду CDCl_3 , где выдерживали их в течении 1 ч. Затем ткань помещали в 5 мм измерительную ампулу и охлаждали до 210 К, после чего проводили ^1H ЯМР-исследования образцов в процессе размораживания.

Влияние твердой среды изучали путем инкапсулирования мозговой ткани в матрицу нанокремнезема TS-100 (Cabot Corporation, США). Для этого к 0,5 г мозговой ткани прибавляли 100 мг кремнезема и все хорошо перемешивали. Через 5 мин после смешивания мозговая ткань и

кремнезем формировали однородную порошкообразную массу, в которой кусочки ткани, размером до 100 мкм, а возможно и небольшие группы отдельных клеток, покрывались слоем частиц кремнезема, т.е. происходило их инкапсулирование кремнеземом. Затем порошок композита помещался в 5 мм ЯМР-ампулу. На этом образце изучены состояния воды в первичном образце и в образце, содержащем добавку хлороформа и других органических веществ. Содержание воды в мозговой ткани составляло 80 мас %, что отвечает 4000 мг воды на 1 г сухого вещества.

ЯМР-спектроскопия: Спектры ЯМР снимали на ЯМР-спектрометре высокого разрешения (Varian “Mercury”) с рабочей частотой 400 МГц. Использовали восемь 60° зондирующих импульсов, длительностью 1 мкс при ширине полосы 20 кГц. Температура в датчике регулировалась термоприставкой Bruker VT-1000 с точностью ±1 град. Интенсивности сигналов определялись измерением площади пиков с использованием процедуры разложения сигнала на его составляющие в предположении гауссовской формы сигнала и оптимизации нулевой линии и фазы с точностью, которая для хорошо разрешенных сигналов, была не ниже 5 %, а для перекрывающихся сигналов ±10 %. Для предотвращения переохлаждения воды в исследуемых объектах, измерения концентрации незамерзающей воды проводили при нагревании образцов, предварительно охлажденных до температуры 210 К. Температурные зависимости интенсивности сигналов ЯМР измеряли в автоматизированном цикле, когда время выдерживания образца при постоянной температуре составляло 9, а время измерения 1 мин.

В качестве основного параметра, определяющего структуру сетки водородных связей воды использовалась величина химического сдвига протонов (δ_H). Предполагалось, что вода, в которой каждая молекула участвует в формировании четырех водородных связей (двух за счет протонов и двух за счет неподеленных электронных пар атома кислорода) имеет химический сдвиг $\delta_H = 7$ м.д. (реализуется для гексагонального льда), а слабоассоциированная вода (не участвующая в формировании водородных связей в качестве протонодонора) химический сдвиг $\delta_H = 1 - 1.5$ м.д. [11 – 14]. Для определения геометрических размеров кластеров адсорбированной воды использовалось уравнение Гиббса – Томсона, связывающее радиус сферического или цилиндрического водного кластера или домена (R) с величиной депрессии температуры замерзания [15, 16]:

$$\Delta T_m = T_m(R) - T_{m,\infty} = \frac{2\sigma_{sl}T_{m,\infty}}{\Delta H_f \rho R}, \quad (1)$$

где $T_m(R)$ – температура плавления льда, локализованного в порах радиуса R , $T_{m,\infty}$ – температура плавления объемного льда, ρ – плотность твердой фазы, σ_{sl} – энергия взаимодействия твердого тела с жидкостью, ΔH_f – объемная энтальпия плавления. Для практического использования уравнение (1) можно применять в виде $\Delta T_m = (k/R)$, в котором константа k для многих гетерогенных систем, содержащих воду, близка к 50 град·нм [16]. Методика проведения ЯМР-измерений и способов определения радиусов кластеров межфазной воды подробно описана в [11 – 14]. При этом кластерами можно считать полиассоциаты, радиус которых $R < 2$ нм, а полиассоциаты большего размера – доменами или наноклапями, поскольку они содержат несколько тысяч молекул воды [12].

Процессу замерзания (таяния) связанной воды соответствуют изменения свободной энергии Гиббса, обусловленные эффектами ограниченного пространства и природной поверхности раздела фаз. Отличия от процесса в объеме тем меньше, чем дальше от поверхности находится слой воды. При $T = 273$ К замерзает вода, свойства которой соответствуют объемной воде, а по мере понижения температуры (без учета эффекта переохлаждения) замерзают слои воды, ближе расположенные к поверхности. Для изменения свободной энергии связанной воды (льда) справедливо соотношение:

$$\Delta G_{ice} = -0,036(273,15 - T), \quad (2)$$

где численный коэффициент представляет собой параметр, связанный с температурным коэффициентом изменения свободной энергии Гиббса для льда [18]. Определяя по величине

интенсивности сигнала температурную зависимость концентрации незамерзающей воды $C_{uw}(T)$ в соответствии с методикой, подробно описанной в [11 – 14], могут быть рассчитаны количество сильно- и слабосвязанной воды и термодинамические характеристики этих слоев.

Межфазную энергию воды на границе с твердыми частицами или в ее водных растворах определяли, как модуль суммарного понижения свободной энергии воды, обусловленного наличием границы раздела фаз [11 – 14] по формуле:

$$\gamma_s = -K \int_0^{C_{uw}^{\max}} \Delta G(C_{uw}) dC_{uw} , \quad (3)$$

где C_{uw}^{\max} – общее количество незамерзающей воды при $T = 273$ К.

Результаты и их обсуждение

Фотографии поверхности полушарий головного мозга человека приведены на рис. 1 *а*, из которого видно, что мозг имеет сложную структуру за счет чередования разнонаправленных борозд и извилин. Он состоит из серого и белого вещества (рис. 1 *б*).

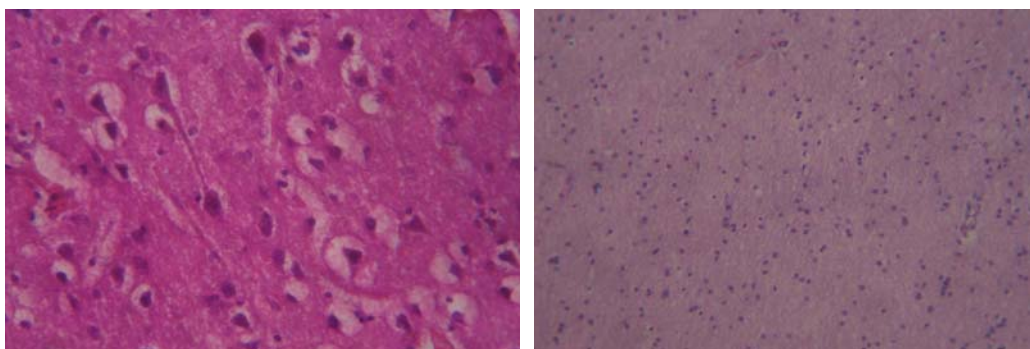


а

б

Рис. 1. Борозды и извилины (*а*); белое и серое вещество (*б*) головного мозга. Макропрепарат.

Как показано на рис. 1 *б*, кора мозга образована равномерным слоем серого вещества толщиной 1,3 – 4,5 мм, состоит из нервных клеток и глии (рис. 2 *а*). В состав белого вещества головного мозга входит большое число нервных волокон, отростков нервных клеток, имеющих миелиновую оболочку, которые заполняют пространство между мозговой корой и базальными ядрами (рис. 2 *б*).



а

б

Рис. 2. Серое вещество с клеточными телами и отростками нейронов (*а*), (увеличение $\times 10$) и белое вещество головного мозга: глиальные клетки и нервные волокна (*б*) (увеличение $\times 40$). Окраска: гематоксилин-эозин

Снятые при разных температурах и чувствительности прибора спектры ^1H ЯМР исходного образца мозговой ткани приведены на рис. 3 *а, б*. В спектрах наблюдается один широкий сигнал, химический сдвиг которого изменяется от $\delta_H = 4,5$ при $T = 300$ К до $\delta_H = 5,8$ м.д. при $T = 220$ К и может быть отнесен к сильноассоциированной воде [11 – 14]. Протоны липидных структур, как и биополимерных молекул не проявляются в спектрах ввиду малых времен их релаксации. После оттаивания образца в спектрах наблюдается расщепление сигнала на два с разной интенсивностью, что, возможно, связано как с неоднородностью образца, так и существованием двух форм сильноассоциированной воды с разной упорядоченностью, а с понижением температуры интенсивность сигнала уменьшается за счет частичного замерзания воды.

После выдерживания мозговой ткани в среде хлороформа, которая также могла заполнять зазоры и проникать в билипидный слой клеточных мембран, ширина спектров значительно уменьшается (рис. 3 *в, г*). Кроме сильноассоциированной воды в спектрах появляется группа сигналов, лежащая в области $\delta_H = 1 \div 4$ м.д. (наиболее интенсивный имеет химический сдвиг $\delta_H = 1,25$ м.д.), которые могут быть связаны с липидной составляющей. Соотношение интенсивностей сигналов воды и липидов показывает, что их количество отвечает 5–6 мас % относительно общего количества воды [6]. Следует отметить, что в той же спектральной области может располагаться и сигнал слабоассоциированной воды. Однако можно считать, что при выбранных условиях проведения экспериментов эта форма воды отсутствует или интенсивность ее ЯМР сигнала мала.

Если в измерительную ампулу, содержащую открытую с обеих сторон 4 мм трубку, заполненную мозговой тканью добавить безводную трифторуксусную кислоту (ТФУК) (рис. 3 *д*), в спектрах появляется сигнал концентрированного раствора ТФУК ($\delta_H = 10-11$ м.д.). В мозговую ткань ТФУК диффундирует медленно, так как с ней контактирует только верхний и нижний край ткани, заполняющей 4 мм трубку. При этом химический сдвиг воды в ткани практически не отличается от исходного образца. В случае, когда ТФУК добавлялась к образцу находящемуся в измельченном состоянии, экспонированной в среде CDCl_3 (рис. 3 *е*), химический сдвиг суммарного сигнала вода-ТФУК при низких температурах существенно возрастает и достигает $\delta_H = 8$ м.д.

Как показано в [19] для полиассоциатов воды, радиус которых составляет единицы нм, характерна слабая растворимость в них минеральных кислот. В нашем случае, обмен протонами между кластерами (доменами) воды с разной растворяющей способностью достаточно быстрый и в спектрах фиксируется только один широкий сигнал, химический сдвиг которого смещается с понижением температуры в область больших значений δ_H .

На рис. 4 приведены снятые при разной температуре спектры ^1H ЯМР образцов мозговой ткани, инкапсулированной кремнеземом TS-100 в воздушной среде (*а, б*), среде CDCl_3 (*в, г*) и среде CDCl_3 , содержащей 20 % ТФУК (*д, е*). Отличительной особенностью спектров на рис. 4 *а – г*, по сравнению с аналогичными спектрами, приведенными на рис. 3, является несколько большая ширина сигналов, что не позволяет регистрировать отдельные сигналы, относящиеся к липидной составляющей. Тем не менее, в присутствии ТФУК в спектрах наблюдаются несколько (по крайней мере, три) сигналов раствора вода-кислота с разной концентрацией компонентов. С понижением температуры происходит перераспределение между интенсивностями разных линий в спектре и их смещение в область больших значений химического сдвига. Сложный характер изменения интенсивности сигнала при низких температурах (рис. 4 *е*) может быть связан с наличием обменных процессов, которые происходят между кластерами растворов, находящихся внутри клеточной массы и адсорбированных на поверхности твердых частиц кремнезема.

Характеристики слоев разных форм воды (сильно- и слабосвязанной – C_{uw}^s и C_{uw}^w соответственно) и величины межфазной энергии (γ_s), которая характеризует суммарное понижение свободной энергии воды, обусловленное наличием границ раздела фаз, рассчитанные на основе зависимостей изменения концентрации незамерзающей воды с температурой (рис. 5 *а*) и изменения свободной энергии Гиббса от концентрации незамерзающей воды (рис. 5 *б*) приведены в таблице, а распределения по радиусам кластеров связанной воды – на рис. 5 *в*.

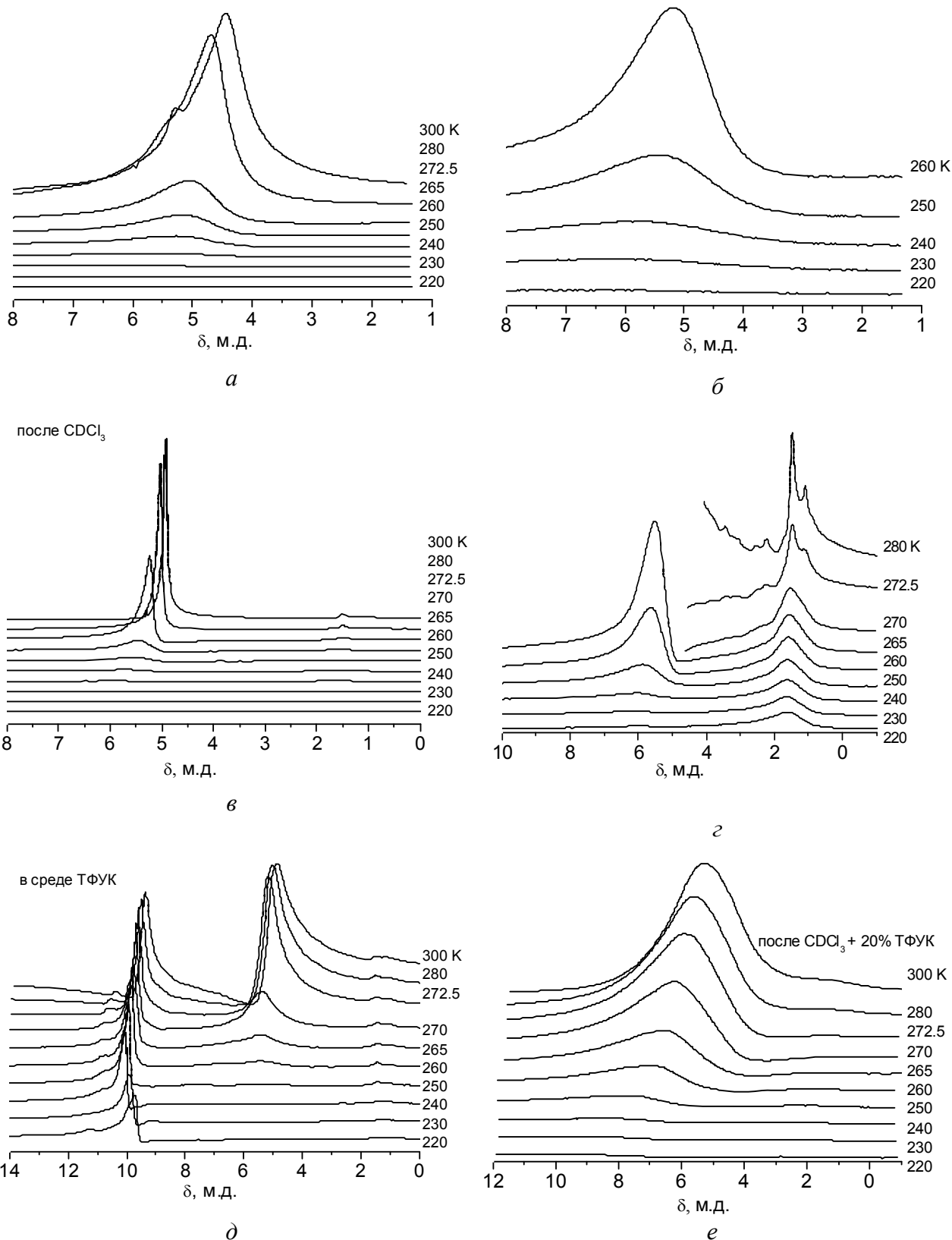


Рис. 3. Снятые при разной температуре спектры ^1H ЯМР образца нативной мозговой ткани (*a*, *б*); ткани, экспонированной в течении 1 ч в среде CDCl_3 (*в*, *з*); нативной ткани, контактирующей с ТФУК (*д*) и измельченной ткани в экспонированной в CDCl_3 , после добавки ТФУК (*е*)

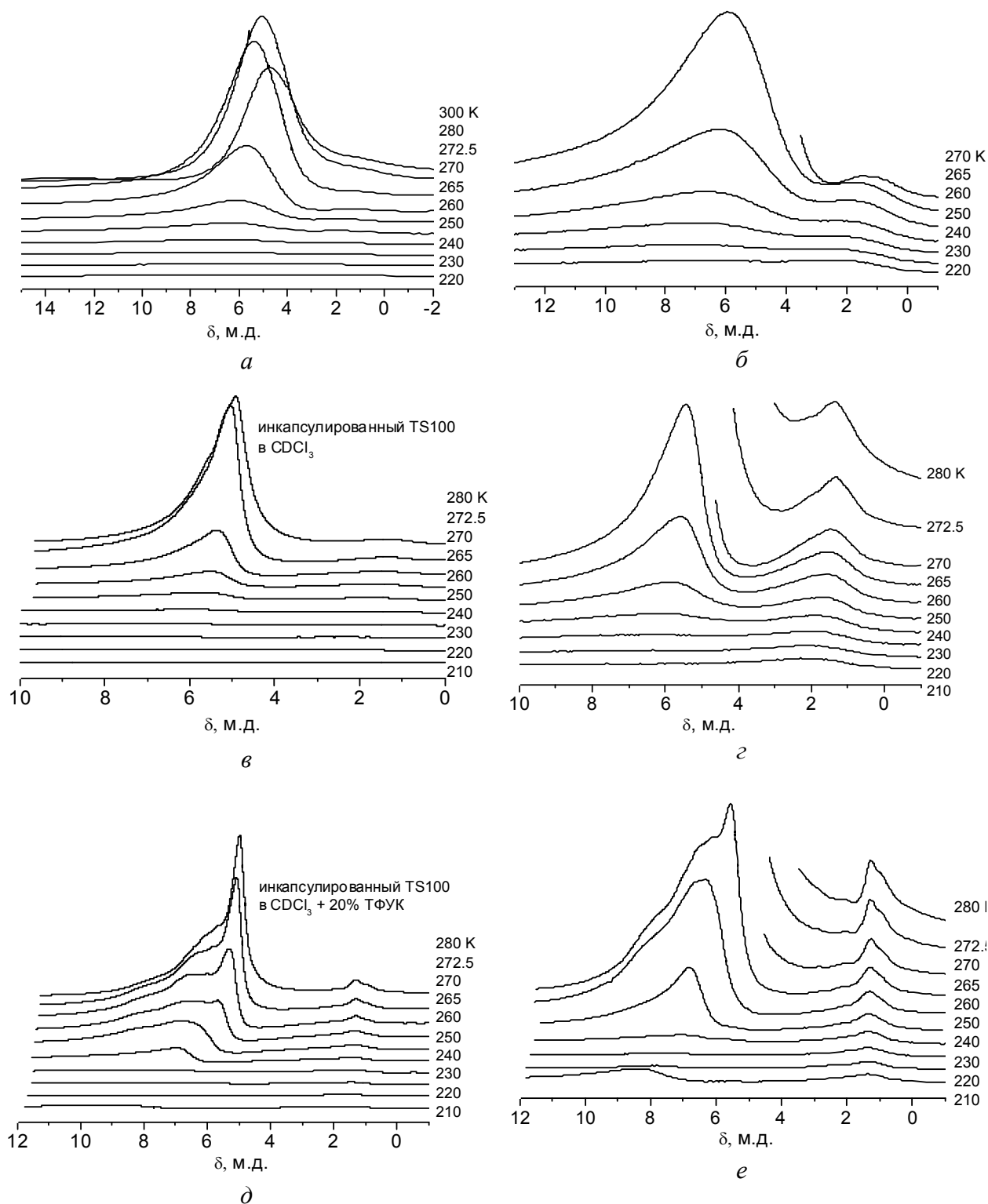


Рис. 4. Снятые при разных температурах и чувствительности спектрометра спектры ^1H ЯМР образцов мозговой ткани, инкапсулированной метилкремнеземом TS-100 в воздушной среде (а, б); среде CDCl_3 (в, г) и среде CDCl_3 с добавкой 20 % ТФУК (д, е).

Как следует из данных таблицы, величина максимального понижения свободной энергии в слое сильносвязанной воды (ΔG^s) практически не зависит от среды, в которой проводились измерения. Экспонирование в среде хлороформа приводит к некоторому уменьшению вклада от сильносвязанной воды. Соответственно величина γ_s уменьшается от 36 до 28.8 Дж/г. Добавление к органической среде ТФУК влечет за собой значительное (в два раза) увеличение γ_s . Вероятно, это

связано с сольватационным эффектом взаимодействия воды и кислоты, которое влечет за собой понижение температуры замерзания воды в водно-кислотном растворе.

Таблица. Характеристики слоев воды в образцах мозговой ткани в разных средах ($C_{H_2O} = 4$ г/г).

Образец		ΔG^s , кДж/моль	C_{uw}^s , мг/г	C_{uw}^w , мг/г	γ_s , Дж/г
Воздух		-2.25	250	3750	36.0
CDCl ₃		-2.25	225	3775	28.5
CDCl ₃ +20 % ТФУК		-2.25	900	3100	76.0
Инкапс.	Воздух	-2.25	900	3100	89.5
TS-100	CDCl ₃	-2.25	400	3600	34.0

Вода в исходном образце представлена системой кластеров и доменов, максимум которого отвечает доменам с $R = 20$ нм. Кроме него на распределении имеется небольшой максимум с $R = 2$ нм. Среда хлороформа приводит к понижению основного максимума и росту суммарного объема доменов с $R = 100$ нм. Таким образом, среда хлороформа способствует некоторому уменьшению энергии взаимодействия воды с внутренними границами раздела фаз. Введение кислоты приводит к относительному росту вклада доменов и кластеров меньшего радиуса (рис. 5 в)

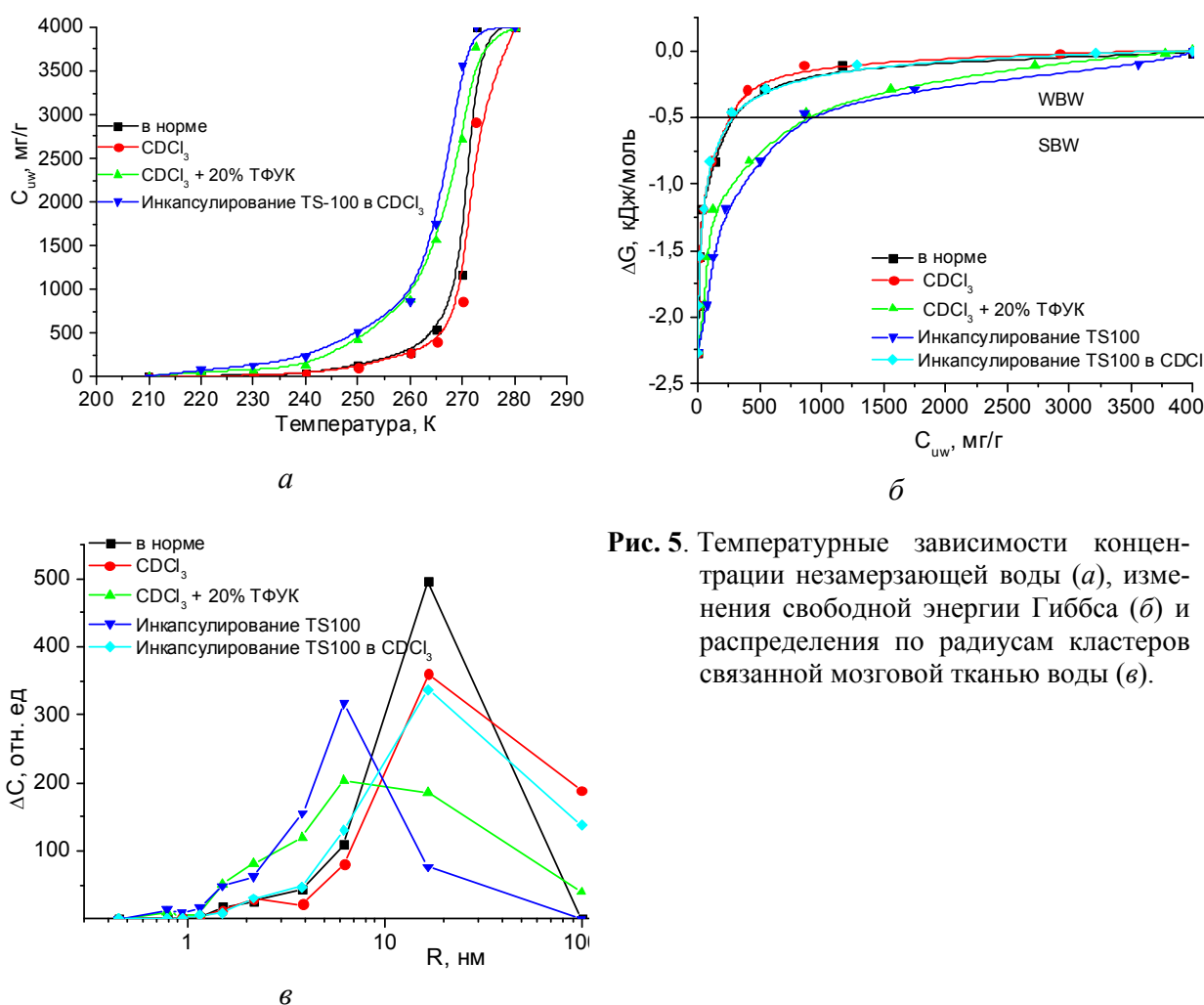


Рис. 5. Температурные зависимости концентрации незамерзающей воды (а), изменения свободной энергии Гиббса (б) и распределения по радиусам кластеров связанной мозговой тканью воды (в).

Инкапсулирование мозговой ткани нанокремнеземом приводит к значительному росту величины межфазной энергии связанной воды, который происходит благодаря увеличению вклада от сильносвязанной воды. Вероятно, это связано со значительным уменьшением линейных размеров частиц ткани, вызванным процессом инкапсулирования. Ввиду большого размера нейронов, можно предположить, что происходит разделение ткани на отдельные клетки или небольшие группы смежных клеток. При этом наблюдаются значительные изменения в характеристиках межклеточных взаимодействий. Соответственно, основной максимум на кривой распределения $\Delta C(R)$ смещается в область меньших величин и отвечает доменам с $R = 7$ нм (таблица, рис. 5 в). Среда хлороформа в инкапсулированном образце стабилизирует домены большего радиуса. Этот процесс сопровождается значительным уменьшением величины γ_s .

Выводы

Практически вся вода в мозговой ткани является связанной и входит в состав кластеров и доменов, значительная часть которых имеет радиусы $R = 2$ и 20 нм. Среда хлороформа стабилизирует водные полиассоциаты с радиусом до $R = 100$ нм, а трифторуксусная кислота с радиусами $R = 7 - 20$ нм.

Инкапсулирование мозговой ткани кремнеземом TS-100 приводит к формированию композитных систем, в которых кусочки ткани (а может и отдельные клетки) окружены частицами нанокремнезема. Этот композит имеет вид влажного порошка, что легко позволяет изучать влияние на строение водных полиассоциатов органической среды. В композитной системе мозговая ткань/кремнезем средний размер водных полиассоциатов значительно меньше, чем в исходной ткани ($R = 7$ нм). В среде $CDCl_3$ средний размер доменов возрастает до 20 нм. В присутствии ТФУК в спектрах наблюдаются по крайней мере три типа доменов, по-разному растворяющих кислоту.

Литература

1. Лечебная электростимуляция мозга и нервов человека. /Под общ. ред. Н.П. Бехтеревой. М.: АСТ, СПб: Сова, Владимир: ВКТ 2008. – 464 с.
2. Азин А.Л., Груздев Д.В., Кубланов В.С. Динамика межклеточного транспорта в ткани головного мозга (радиофизический подход к исследованию) // Вестник новых медицинских технологий. – 2002. – 9, № 4. – С. 74-79.
3. Wiegell M., Larsson H., Wedeen V. Fiber crossing in human brain depicted with diffusion tensor MR imaging. // Radiology. – 2000. – V.217. – P. 897-903.
4. Bronge L. Magnetic resonance imaging in dementia. A study of brain white matter changes // Acta. Radiol, Suppl. – 2002. – V.428. – P. 1-32.
5. Гайворонский И.В. Функциональная анатомия центральной нервной системы: учеб.пособие / И.В. Гайворонский, А.И. Гайворонский. СПб.: СпецЛит. 2007. – 254 с.
6. Березов Т.П., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. М: Медицина. 1998. – 704 с.
7. Block. R. E. Factors Affecting Proton Magnetic Resonance Line-widths of Water in Several Rat Tissues. // Federation European Bio-chem. Soc. Letters. – 1973. –V.34. – P. 109–112.
8. Carr, H.Y., Purcell. E.M. Effects of Diffusion on Free Precession in NMR Experiments. // Phys. Rev. – 1954. – V.84. – P. 630–638.
9. Clifford J. Pethica B.A., Smith E.G.A Nuclear Magnetic Resonance Investigation of Molecular Motion in Erythrocyte Membranes. In: L. Bolis and B. A. Pethica (eds.). Membrane Models and the Formation of Biological Membranes, Amsterdam: North Holland Publishing Co. – 1968. – P. 19–42.
10. Damadian R. Tumor Detection by Nuclear Magnetic Resonance. Science. 171: 1151 1153, 1971 widths of Water in Several Rat Tissues. // Federation European Bio-chem. Soc. Letters. – 1973. –V. 34. – P.109–112.
11. Гунько В.М., Туров В.В., Горбик П.П. Вода на межфазной границе. Киев: Наукова думка. 2009. – с. 694.
12. Gun'ko V.M., Turov V.V. Nuclear Magnetic Resonance Studies of Interfacial Phenomena. New York: Taylor & Francis, 2013. – p. 1070.
13. Туров В.В., Гунько В.М. Кластеризованная вода и пути ее использования. Киев: Наукова думка. 2011. – с. 316.
14. Gun'ko V.M., Turov V.V., Bogatyrev V.M. et. al Unusual Properties of Water at Hydrophilic/Hydrophobic Interfaces // Adv. Colloid Interface Sci. – 2005 – V. 118. – P. 125–172.
15. Aksnes D.W., Kimtys L. Characterization of mesoporous solids by 1H NMR // Solid State Nuclear Magnetic Resonance – 2004. – V. 25. – P.146–163.
16. Petrov O.V., Furo I. NMR cryoporometry: Principles, application and potential // Progr. NMR. – 2009. – V.54. – P. 97–122.

17. Kinney, D.R., Chaung I-S., Maciel G.E. Water and the Silica Surface as Studied by Variable Temperature High Resolution ^1H NMR. // *J. Am. Chem. Soc.* – 1993. – V. 115. – P. 6786–6794.
18. Термодинамические свойства индивидуальных веществ / Под ред. В.П. Глушко – Москва: Наука. – 1978. – 495 с.
19. Turov V.V., Gun'ko V.M., Turova A.A. *et al.* Interfacial behavior of concentrated HCl solution and water clustered at a surface of nanosilica in weakly polar solvents media // *Colloids Surf. A: Physicochem. Engin. Aspects.* – 2011. – P. 48–55.

References

1. N.P. Bechterov. Therapeutic electrical stimulation of the human brain and nerves. M.: ACT, SPb: Sova, Vladymyr: VKT. 2008: 464. [in Russian].
2. Azin A.L., Gruzdev D.V., Kublanov V.S. Dynamics of intercellular transport in brain tissue (radiophysical approach to research). *Bulletin of new medical technologies.* 2002. **9**(4): 74. [in Ukrainian]
3. Wiegell M., Larsson H., Wedeen V. Fiber crossing in human brain depicted with diffusion tensor MR imaging. *Radiology.* 2000. **217**: 897.
4. Bronge L. Magnetic resonance imaging in dementia. A study of brain white matter changes. *Acta. Radiol, Suppl.* 2002. **428**: 1.
5. Gaivoronsky I.V., Gaivoronsky A.I Functional anatomy of the central nervous system: textbook. SPb.: *SpecialLit.* 2007. 254. [in Russian].
6. Berezov T.P., Korovkin B.F. Biological chemistry. M: *Medicine.* 1998: 704. [in Russian].
7. Block. R. E. Factors Affecting Proton Magnetic Resonance Line-widths of Water in Several Rat Tissues. // *Federation European Bio-chem. Soc. Letters.* 1973. **34**: 109.
8. Carr, H.Y., Purcell. E.M. Effects of Diffusion on Free Precession in NMR Experiments. *Phys. Rev.* 1954. **84**: 630.
9. Clifford J. Pethica B.A., Smith E.G.A Nuclear Magnetic Resonance Investigation of Molecular Motion in Erythrocyte Membranes. In: L. Bolis and B. A. Pethica (eds.). *Membrane Models and the Formation of Biological Membranes, Amsterdam: North Holland Publishing Co.* 1968: 19.
10. Damadian R. Tumor Detection by Nuclear Magnetic Resonance. *Science.* 171: 1151–1153, 1971 widths of Water in Several Rat Tissues. *Federation European Bio-chem. Soc. Letters.* 1973. **34**: 109. [in Russian].
11. Gun'ko V.M., Turov V.V., Gorbik P.P. Water at the interface. Kyiv: Naukova dumka. 2009: 694. [in Ukrainian].
12. Gun'ko V.M., Turov V.V. Nuclear Magnetic Resonance Studies of Interfacial Phenomena. New York: Taylor & Francis, 2013: 1070.
13. Turov V.V., Gun'ko V.M. Clustered water and its application. Kyiv: Naukova dumka. 2011: 316. [in Ukrainian].
14. Gun'ko V.M., Turov V.V., Bogatyrev V.M. *et al.* Unusual Properties of Water at Hydrophilic/Hydrophobic Interfaces. *Adv. Colloid Interface Sci.* 2005. **118**: 125.
15. Aksnes D.W., Kimtys L. Characterization of mesoporous solids by ^1H NMR. *Solid State Nuclear Magnetic Resonance.* 2004. **25**:146.
16. Petrov O.V., Furo I. NMR cryoporometry: Principles, application and potential. *Progr. NMR.* 2009. **54**: 97.
17. Kinney, D.R., Chaung I-S., Maciel G.E. Water and the Silica Surfaces Studied by Variable Temperature High Resolution ^1H NMR. *J. Am. Chem. Soc.* 1993. **115**: 6786.
18. V.P. Glushko. Thermodynamic Properties of Individual Substances. *Moscow: Science.* 1978: 495. [in Russian].
19. Turov V.V., Gun'ko V.M., Turova A.A. *et al.* Interfacial behavior of concentrated HCl solution and water clustered at a surface of nanosilica in weakly polar solvents media. *Colloids Surf. A: Physicochem. Engin. Aspects.* 2011: 48.

STATE OF THE WATER IN BRAIN TISSUE AND ITS IMPACT ON SILICA ENCAPSULATION

T.V. Krupskaya^{1*}, V.V. Turov¹, S.V. Pakrishen², O.V. Sierov², O.T. Volik³

¹Chuiko Institute of Surface Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine 17 General Naumov Str., Kyiv, 03164, Ukraine, e-mail: krupaska@ukr.net

²Pathological department of the Alexander Clinical Hospital, st. Shovkovychna, 39/1, Kyiv, 01601, Ukraine

³Kyiv International University, Faculty of Medicine and Pharmacy, st. Lviv, 49, Kyiv, 03179, Ukraine

The low-temperature ^1H NMR spectroscopy was used to study the structure of hydrated water layers bound by brain tissue after ischemic stroke, as well as the effect of chloroform and trifluoroacetic acid on their structure. Almost all the water that is part of the brain tissue is bound, and its structure is close to the structure of bulk water,

when each water molecule is involved in the formation of 2-3 hydrogen bonds. It is shown that chloroform, which is poorly soluble in water, can have a significant effect on the binding of water in the brain tissues and helps to reduce the energy of interaction of water with the internal phase boundaries. Additives of 20% trifluoroacetic acid (TFA) make it possible to differentiate intracellular water by its ability to dissolve strong acids. It was revealed that part of intracellular water does not dissolve TFAs well. In the presence of TFA, the contribution of domains and clusters of water of a smaller radius increases. Encapsulation of brain tissue with hydrophilic nanosilica leads to a significant increase in the value of interfacial energy of bound water, which occurs due to an increase in the contribution from strongly bound water. This is probably due to a significant decrease in the linear dimensions of tissue particles caused by the encapsulation process. Due to the large size of neurons, it can be assumed that tissue is divided into separate cells or small groups of adjacent cells. At the same time, significant changes in the characteristics of intercellular interactions are observed. Accordingly, the main maximum on the distribution curve $\Delta C(R)$ shifts to the region of smaller values and corresponds to clusters with a radius of $R = 7$ nm. The chloroform medium in the encapsulated sample stabilizes larger radius domains. This process is accompanied by a significant decrease in interfacial energy.

Key words: brain, low-temperature 1H NMR spectroscopy, strongly and weakly bound water, nanosilica

СТАН ВОДИ В ТКАНИНАХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ТА ВПЛИВ НА НЕЇ ІНКАПСУЛЮВАННЯ КРЕМНЕЗЕМОМ

Т.В. Крупська^{1*}, С.В. Пакришень², О.В. Сєров², А.Т. Волик³, В.В. Туров¹

¹Інститут хімії поверхні ім. А.А. Чуйко, Національної академії наук України, вул. Генерала Наумова, 17, Київ, 03164, Україна, e-mail: krupska@ukr.net

²Паталогоанатомічне відділення Олександрівської клінічної лікарні, вул. Шовковична, 39/1, Київ, 01601, Україна

³Київський міжнародний університет, медико-фармацевтичний факультет, вул. Львівська, 49, Київ, 03179, Україна

Методом низькотемпературної 1H ЯМР-спектроскопії вивчено будову гідратних шарів води, зв'язаної мозковою тканиною після ішемічного інсульту, а також вплив на його будову хлороформу і трифтороцетової кислоти. Практично вся вода, що входить до складу мозкової тканини є зв'язаною, а її структура близька до структури об'ємної води, коли кожна молекула води бере участь у формуванні 2-3 водневих зв'язків. Показано, що хлороформ, який погано розчиняється у воді, може мати значний вплив на зв'язування води в тканинах мозку і сприяє зменшенню енергії взаємодії води з внутрішніми межами розділу фаз. Додатки 20% трифтороцетової кислоти (ТФОК) дозволяють диференціювати внутрішньоклітинну воду за її здатністю розчиняти сильні кислоти. Виявлено, що частина внутрішньоклітинної води погано розчиняє ТФОК. У присутності ТФОК відбувається зростання вкладу доменів і кластерів води меншого радіуса. Інкапсулювання мозкової тканини гідрофільним нанокремнеземом призводить до значного зростання величини міжфазної енергії зв'язаної води, яке відбувається завдяки зростанню вкладу від сильнозв'язаної води. Ймовірно, це обумовлено значним зменшенням лінійних розмірів частинок тканини, викликаним процесом інкапсулювання. Зважаючи на велику розміру нейронів, можна припустити, що відбувається поділ тканини на окремі клітини або невеликі групи суміжних клітин. При цьому спостерігаються значні зміни в характеристиках міжклітинних взаємодій. Відповідно, основний максимум на кривій розподілу $\Delta C(R)$ зміщується в область менших величин і відповідає кластерам з радіусом $R = 7$ нм. Середовище хлороформу в інкапсульованому зразку стабілізує домени більшого радіусу. Цей процес супроводжується значним зменшенням величини міжфазної енергії.

Ключові слова: головний мозок, низькотемпературна 1H ЯМР-спектроскопія, сильно- і слабозв'язана вода, нанокремнезем