

Bolesław Gonet

O MOŻLIWOŚCIACH ODDZIAŁYWANIA STAŁEGO POLA MAGNETYCZNEGO
NA REAKCJE BIOCHEMICZNE

1. WSTĘP

W ostatnich 20 latach obserwuje się wzrost zainteresowania wpływem stałego pola magnetycznego (spm) na organizmy żywe [2, 4, 5, 37, 51, 54, 58]. Wynika to z jednej strony z coraz szerszego stosowania odnośnych pól w nauce i technice i stąd obawy o jego możliwy szkodliwy wpływ. Z drugiej zaś strony budzi nadzieję możliwość korzystnego działania i zastosowanie m.in. w zakresie terapii. Nagromadzono liczne spostrzeżenia i dane doświadczalne, ale wyjaśnienie mechanizmów działania spm na materię żywą dalekie jest od zadowalającego. Co więcej, praktyczne skutki działania spm są nierzadko kilkunastoprocentowe, chociaż rozważania teoretyczne przewidują znikomo małe efekty. Jedna z wielu hipotez [2, 54] wskazuje na możliwość wpływu spm na reakcje biochemiczne.

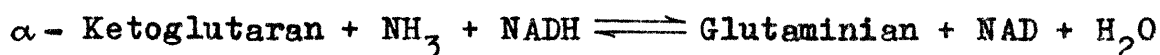
W niniejszej pracy przedstawiono dane doświadczalne w tym zakresie, a następnie teoretyczne rozważania o możliwościach ich powstawania. Uwzględnienie stanów spinowych w rekombinacji wolnych rodników i odkrycie nowych zjawisk: polaryzacja chemiczna jąder i elektronów (CIDNP) oraz magnetyczny efekt izotopowy [14, 30, 41, 42] rzucają nowe światło na możliwość oddziaływania spm na reakcje biochemiczne.

2. DANE EKSPERYMENTALNE W ZAKRESIE WPŁYWU SPM
NA REAKCJE ENZYMATYCZNE

Pierwsze, szersze badania oddziaływania spm na reakcje chemiczne nieorganiczne przeprowadzili B h a t n a g a r i i współprac. [8]. Wykazano, że szybkość reakcji w spm może ulegać przyspieszeniu, opóźnieniu lub pozostawać bez zmiany, w zależności od zmian podatności magnetycznej (χ) substancji wyjściowych i końcowych. Zmiany te w polach o natężeniu 135 kA/m były kilkuprocentowe. Badania tego typu są przedmiotem różnorodnych eksperymentów.

Szczególnie wyraźne zmiany zaznaczają się w procesach polimeryzacji i reakcjach katalitycznych zachodzących w roztworach [21, 59]. W tym względzie reakcje enzymatyczne budzą szczególne zainteresowanie z uwagi na to, że często kofaktory enzymów zawierają jony paramagnetyczne. Wyniki badań wpływu spm na reakcje enzymatyczne są jednak różnorodne, nierzadko ze sobą sprzeczne i nie dają jednoznacznego poglądu na to, czy w ogóle spm jest w stanie zmienić szybkość katalizowanych przez enzymy reakcji.

I tak, H a b e r d i t z l i M ü l l e r [28] badali wpływ niejednorodnego pola magnetycznego (npm) o natężeniu 1190–2230 kA/m (nie podano gradientu) na aktywność enzymatyczną katalazy w rozkładzie H_2O_2 . W polu tym nie stwierdzono zmian. Natomiast enzym – dehydrogenaza glutaminianowa, katalizująca reakcję:



wykazywał zmniejszenie aktywności o 12–15% w polu o takim samym natężeniu. Późniejsze badania H a b e r d i t z l a [29] wykonane w silnym spm o indukcji 7 T (30% zmiany indukcji na 4 cm szerokości próbki) wykazały, że ta sama reakcja zachodzi ze spadkiem aktywności enzymu nawet o 90%. Dla tej samej reakcji i pola jednorodnego o indukcji 7 T spadek jest znacznie mniejszy i wynosi tylko 12%. Czas działania pola wynosił 17–60 min. Katalaza natomiast w analogicznych polach wykazywała kierunek zmian przeciwny do poprzedniej reakcji. W polu niejednorodnym następowało zwiększenie aktywności o 52%, a w polu jednorodnym zwiększenie tylko o 9% (w czasie 15 min).

A k o y u n o g l o u [1] badał aktywność karboksydysmutazy (karboksylaza rybulozo-dwufosforanowa), uzyskanej ze *Spinacea oleracea*, w reakcji:

rybulozo- 1,5 dwufosforan karboksydysmutaza 3- fosfoglicerynian, stosując spm o indukcji 2 T. Wykazał on zwiększenie aktywności enzymu o 14–20% w zależności od czasu działania spm, który w jego badaniach był szczególnie długi i wynosił do 6 dni. Uwzględniono jednak w badaniach spadek aktywności enzymu w czasie, bez udziału spm, oraz wiele innych czynników mogących wpływać na błąd metody. Denaturacja karboksydysmutazy przez naświetlanie ultrafioletem przed zadziałaniem spm jest trwała i pole nie przywraca aktywności enzymu. Natomiast zmiany powodowane samym polem są odwracalne.

S m i t h oraz C o o k [wg 1, 49] wykazali, że trypsyna w spm 0,5 T zwiększa aktywność 23%. Również widmo w ultrafiolecie trypsyny poddanej działaniu spm ulega zmianie.

Interesujące badania wykonał Y o u n g [60], który zajmował się oddziaływaniem pól magnetycznych na aktywność acetylocholinesterazy in vivo. Obiektem badań była żaba *Rana pipiens*. Okazało się, że aktywność enzymu w układzie nerwu błędnego serca w polu jednorodnym 215 kA/m wzrosła przeszło 5-krotnie w pięćdziesiątej minucie działania pola, przy czym przyspieszenie wzrostu obserwuje się po 25 min. Wzrost natężenia pola nie prowadzi do nasilenia efektu. Brak jednak opracowania statystycznego (odchyłeń standardowych) stanowi niepewność co do wielkości tego efektu. Zaobserwowano, że jeżeli pole cechuje znaczny gradient 37500 kA/m^2 , to wzrost aktywności wynosił średnio 250%, ale zakres rozrzutu był bardzo duży (44-870%). Autor pracy sugeruje, że badania aktywności enzymów in vivo dają większe możliwości ujawnienia oddziaływania spm, jako że układ wykazuje większy stopień organizacji i jest bardziej czuły na wpływy zewnętrzne.

K o m o l o v a i współprac. [35] uzyskali 30% wzrost aktywności dezoksyrybonukleazy w spm 0,32 T, natomiast nie stwierdzili wzrostu aktywności rybonukleazy.

Równie często można spotkać w literaturze doniesienia o braku wpływu spm na reakcje enzymatyczne. I tak, Beicher [wg 1] nie zaobserwował wpływu pola jednorodnego i niejednorodnego na aktywność dehydrogenazy alkoholowej i peroksydazy. R a b i n o v i t c h i współprac. [45] poddali działaniu silnego spm (20 T) trypsynę, a następnie badali jej reaktywność wobec syntetycznego substratu BAPA (N-benzoyl DL-arginine p-nitroanilide). Działając na sam enzym przez 220 min w temp. 299 i 309 K oraz spm o indukcji 22 T w ciągu 9 min na układ trypsyna-BAPA nie stwierdzili żadnych zmian jego reaktywności. Również ten sam autor i współprac. [44] nie stwierdzili zmian aktywności następujących enzymów: rybonukleazy, oksydazy polifenolowej, peroksydazy oraz aldolazy - ekspozując je na działanie silnych spm 17 T od 2 do 20 min. M a l i n g i współprac. [38] nie uzyskali zmian dla bursztynianowej c reduktazy w polu o indukcji 5 T.

W pracy własnej (przygotowywanej do druku) nie uzyskano zmian w aktywności arylosulfatazy oraz ureazy w spm o różnych natężeniach i czasach działania.

3. PRZEWIDYWANIA TEORETYCZNE

Obliczenia teoretyczne wpływu spm na reakcje chemiczne przeprowadzili: już w 1900 r. de H e m p t i n e [31], D e l h e z

[20] oraz niedawno C h e n [16]. Wychodząc z rozważań energetycznych w oparciu o zasady termodynamiki doszli do takiego samego równania, które określa zmianę stałej równowagi reakcji wywołaną działaniem spm [16]:

$$\ln K_H = \ln K_0 + \frac{H^2}{2RT} \sum_i V_i \chi_{mi}$$

gdzie K_H - stała równowagi w polu magnetycznym o natężeniu H , K_0 - stała równowagi bez pola magnetycznego, χ_M - molowa podatność magnetyczna substancji wyjściowych i końcowych reakcji, V_i - współczynniki stechiometryczne brane ze znakiem dodatnim dla produktów i ujemnym dla substratów. Jest to zgodne z obserwacjami B h a t n a g a r a [8], z tym jednak, że wartość różnicy $K_H - K_0$ jest bardzo mała i jej wykrycie doświadczalne jest trudne. I tak np. dla reakcji nieorganicznej z udziałem jonów paramagnetycznych (gdzie różnice te powinny być szczególnie duże) $\text{Fe}^{+2} \rightleftharpoons \text{Fe}^{+3}$ w spm o indukcji 1,2 T różnica ta wynosi zaledwie $10^{-5} K_0$, co stanowi granicę dokładności metod pomiarowych. W układzie organicznym przejście Hb w MetHb daje zmianę tego samego rzędu wielkości [26].

Każdy atom, jon lub cząsteczka posiada w polu magnetycznym moment magnetyczny μ , bądź to trwały (substancje paramagnetyczne), bądź indukowany (substancje diamagnetyczne). W polu niejednorodnym $H(x)$ działa na momenty magnetyczne siła $\mu dH/dx$, co powinno prowadzić do powstania gradientu stężeń wzdłuż gradientu natężenia pola. Wyrażenie na taki gradient stężenia przedstawił W e i g l [57]: $n/n_0 = e^{-\beta}$, gdzie $\beta = 8\pi^2 \cdot 10^{-6} \cdot \chi H^2 / kT$, $\chi = \chi_M / N$ - podatność magnetyczna cząsteczki, N - liczba Avogadro, n i n_0 - stężenie substancji odpowiednio w polu o maksymalnym natężeniu i zerowym. Dla niedużych cząsteczek diamagnetycznych, a nawet paramagnetycznych χ jest rzędu odpowiednio -10^{-28} oraz 10^{-26} i w polu 10^3 kA/m, temp. $T = 300$ K, współczynnik β zawiera się w granicach 10^{-7} - 10^{-5} . Gradient stężenia jest wtedy bardzo mały i nie może być doświadczalnie zmierzony, ani mieć praktycznego znaczenia. Jak zauważył jednak D o r f m a n [22] dla makromolekuł, których masa cząsteczkowa jest 10^6 i więcej, $\beta \approx 1$ i efekt zmiany stężenia może być znaczny. Istnieje również możliwość oddziaływania pola jednorodnego [22]. Mianowicie, diamagnetyczne i paramagnetyczne cząsteczki anizotropowe w roztworze powinny orientować się w spm.

Stopień orientacji określa czynnik Boltzmana $e^{-\beta}$, równoważny z wyrażeniem Weigla, gdzie $\beta = 8\pi^2 \cdot 10^{-6} \Delta\chi H^2 / kT$, $\Delta\chi$ – magnetyczna anizotropia cząsteczki (różnica podatności magnetycznych wzdłuż dużej osi cząsteczki i prostopadle do niej). Dla niedużych cząsteczek jest to efekt znikomy ($\beta \approx 10^{-7}$). Natomiast dla makromolekuł posiadających osiową symetrię i masę cząsteczkową rzędu 10^6 – 10^7 , składających się z n niedużych cząsteczek, anizotropia właściwości magnetycznych makromolekuły wynosi $n \cdot \Delta\chi$ i $\beta = 8\pi^2 \cdot 10^{-6} \cdot n \Delta\chi H^2 / kT$. Dla wartości $n = 10^6$, $H = 10^4$ kA/m, współczynnik $\beta \approx 1$, co daje prawie stuprocentową orientację. Może to doprowadzić, na skutek efektów sterycznych, do zmiany prawdopodobieństwa skutecznych zderzeń, a przez to do zmiany szybkości reakcji i stanu jej równowagi. Z podobną koncepcją wystąpił V a l e n t i n u z z i [53].

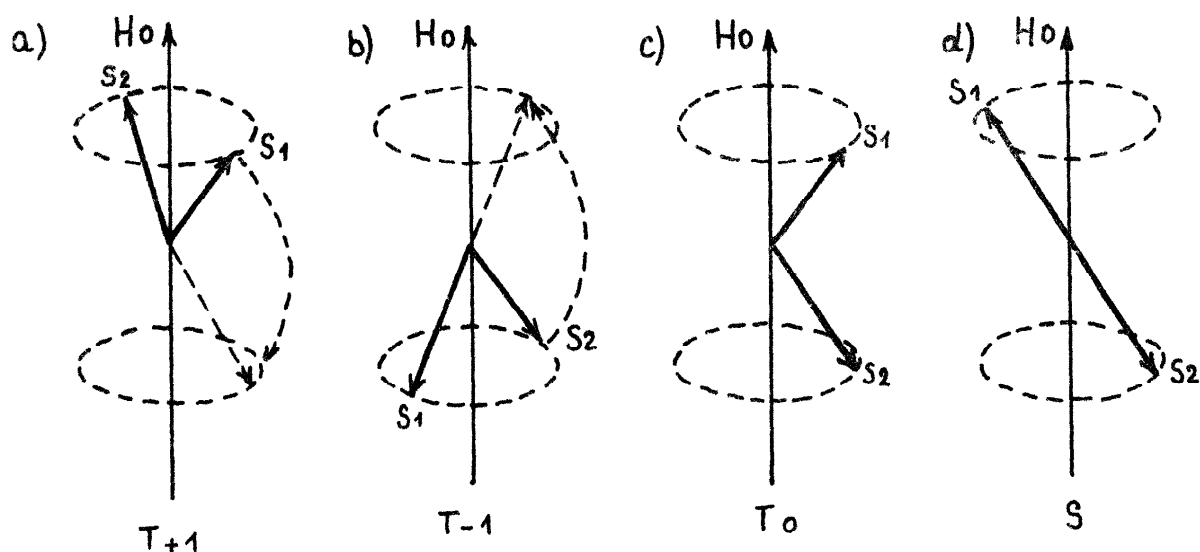
Trzeba jednak podkreślić, że mimo istnienia przewidywań teoretycznych, brak jest ich jednoznacznego doświadczalnego potwierdzenia. W ostatnim czasie pojawiły się nowe hipotezy, przewidujące efekty nawet dla słabych pól magnetycznych. Chodzi o możliwości oddziaływania spm na wolne rodniki. Obecność wolnych rodników w żywych organizmach wykazali C o m m o n e r i współprac. [19]. Obecnie jest to już szeroka dziedzina wiedzy [10, 43]. Wiadomo, że reakcje enzymatyczne przebiegają poprzez wolnorodnikowe formy przejściowe, co stwarza możliwości oddziaływania spm przez zniesienie zakazu przejść interkombinacyjnych. Przedstawimy bliżej ten mechanizm i doświadczalne potwierdzenie tej koncepcji.

4. MECHANIZM PRZEJŚĆ SINGLETOWO-TRIPLETOWYCH

Na rys. 1 przedstawiono schemat wzajemnej orientacji spinów S_1 i S_2 niesparowanych elektronów wolnorodnikowej pary (wrp) w trzech stanach tripletowych T_{+1} , T_{-1} , T_0 , odpowiadającym trzem wartościom rzutu wypadkowego spinu na kierunek pola (oś kwantowania) H_0 (+1, -1, 0) oraz stan singletowy S.

Aby nastąpiło przejście ze stanu T_{+1} lub T_{-1} do konfiguracji S musi zajść zmiana rzutu spinu na oś kwantowania. Obrazują to linie przerywane na rys. 1a i 1b. Przejście pomiędzy T_0 i S następuje przez rozfazowanie precesji spinów. Spiny w stanach T_0 i S różnią się w fazie o π radianów. W takim razie efektywnymi mechanizmami przejść interkombinacyjnych w wrp powinny być takie spinowe oddziaływania niesparowanych elektronów, które w czasie równym czasowi życia wrp są zdolne zmienić różnicę faz precesji spinów lub zmienić ich orientację. Zasadniczą rolę spełniają tu trzy me-

chanizmy: relaksacyjny, tzw. Δg (Δg) oraz izotropowe nadsubtelne oddziaływania (ino).



Rys. 1. Model konfiguracji spinów w wolnorodnikowej parze

Pierwszy mechanizm rozważał B l o c k l e h u r s t [11] i sformułował dwa ogólne wnioski: dla omawianych typów reakcji, S-T przejścia w wrp mogą wpływać na stosunki w produktach reakcji. Same przejścia mogą być spowodowane paramagnetyczną relaksacją spinów elektronowych (podłużną i poprzeczną). Ten mechanizm przejść w wolnych rodnikach organicznych ma mniejsze znaczenie, ze względu na uśrednienie oddziaływań anizotropowych, spin-spin oraz zemannowskiego z polem H_0 , spowodowane szybkimi ruchami obrotowymi wolnych rodników.

Zajmiemy się bliżej mechanizmem Δg oraz ino. K a p t e i n i O o s t e r h o f f [32, 33] rozważali te dwa mechanizmy przejść interkombinacyjnych, które mogą doprowadzić do magnetycznych efektów w rekombinacji wolnych rodników. W zakresie mechanizmu Δg stan S może przejść jedynie w T_0 (dla silnych pól). Przypomnijmy podstawowe równanie na częstotliwość precesji Larmora $\omega = g\beta_e \hbar^{-1} H_0$, gdzie g - stała Lande, tzw. czynnik g , β_e - magneton Bohra. Jeżeli częstotliwości precesji Larmora (rys. 1c) spinów wolnych rodników pary S_1 i S_2 różnią się, to będą występować momenty czasu, w których spiny zostaną ustawione w pozycji S. Czyli różnica częstotliwości Larmora $\omega_1 - \omega_2 = \Delta\omega$ będzie stymulować przejścia S- T_0 , które będą następowały z częstotliwością ω_{ST} równą różnicy $\Delta\omega$.

$$\omega_{ST} = \Delta\omega = (g_1 - g_2) \beta_e \hbar^{-1} H_0 = \Delta g \beta_e \hbar^{-1} H_0$$

A zatem częstotliwość przejść będzie zależna od wartości Δg oraz wartości natężenia pola H_0 . Załóżmy dla przykładu, że czas życia wrp wynosi 10^{-9} s. Aby w tym czasie nastąpiło efektywne interkombinacyjne przejście $\Delta\omega = 10^9$ rad/s. Może to być zrealizowane w polach rzędu 10 T, jeżeli para wolnych rodników różni się wartością g zaledwie o 0,001.

Mechanizm ino przejść S-T w wrp dla H_0 większych od indukowanych jądrami w miejscu niesparowanego elektronu jest zbliżony do mechanizmu Δg . Wewnętrzne pole magnetyczne, wynikające z właściwości magnetycznych jąder (nadsubtelne oddziaływania), dodając się do zewnętrznego H_0 powoduje różnicę częstotliwości precesji, co prowadzi do przejść S- T_0 . W zależności od orientacji spinu jądrowego - zgodnej lub przeciwnej do pola H_0 - elektronowe spiny będą miały różne częstotliwości: $\omega + \Delta\omega$ i $\omega - \Delta\omega$ ($\Delta\omega$ - wynika z dodatkowego pola jądra). W rezultacie zbiór wrp rozdzieli się na dwa typy: w jednych wrp obydwa rodniki posiadają zorientowane spiny jądrowe w tę samą stronę, a w innych spiny jądrowe orientują się przeciwnie. W pierwszych nie będzie przejść S- T_0 (brak efektu Δg), w drugich natomiast będą następowały przejścia z częstotliwością $\Delta\omega$. W rezultacie wytworzy się niejednakowa liczba cząsteczek z równoległą i antyrównoległą orientacją spinów magnetycznych jąder reagentów. Spiny jądrowe w produktach rekombinacji rodników okazują się być tym sposobem spolaryzowane. Następuje więc w rekombinacji wolnych rodników w silnych polach magnetycznych selekcja cząsteczek wg konfiguracji spinów jądrowych. W tym zawarty jest mechanizm, tzw. chemicznej polaryzacji jąder (CIDNP - Chemically Induced Dynamic Nuclear Polarisation).

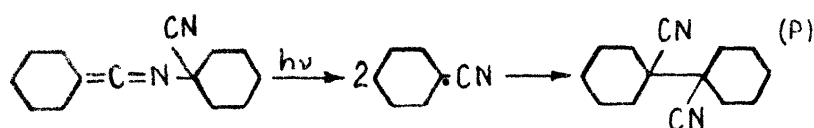
W słabych polach obserwuje się różnicę mechanizmu ino i Δg . Spinowe magnetyczne momenty niesparowanych elektronów wrp wykazują wtedy precesję wokół sumy pola zewnętrznego i pola nadsubtelnego oddziaływania, co prowadzi do wszystkich możliwych przejść interkombinacyjnych.

Wpływ pola magnetycznego na produkty wyjściowe rekombinacji rodników w ramach mechanizmu Δg będzie proporcjonalny do natężenia pola H_0 . W ramach mechanizmu ino wpływ pola będzie zależny od ilości kanałów przejść S-T. Dla silnych pól będą tylko przejścia S- T_0 , dla słabych będą jeszcze dwa kanały S- T_{+1} oraz S- T_{-1} .

Efektywność przejść interkombinacyjnych indukowanych mechanizmem ino dla izotopów z różnymi magnetycznymi momentami powinna być różna, co daje tzw. magnetyczny efekt izotopowy w rodnikowych reakcjach chemicznych [12, 13].

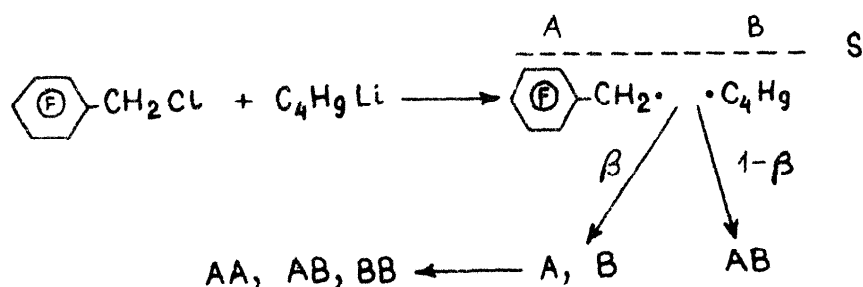
5. EFEKTY SPINOWE I MAGNETYCZNE W WOLNORODNIKOWYCH PARACH

Wpływ zmiany spinowej multipletowości w wrp na efekt końcowy reakcji został potwierdzony doświadczalnie. Fox i Hammond [24] stwierdzili, że w rekombinacji cyjanocykloheksanowych wrp poprzez stan singletowy powstaje 24% produktu (P)



natomiast drogą tripletowo-sensibilizowaną tylko 8%. Nakata i współprac. [40] wykazali, że w fotolizie nadtlenu benzoilu bezpośrednio (poprzez wzbudzony stan singletowy) powstaje 8% produktu, zaś poprzez stan tripletowy 3%.

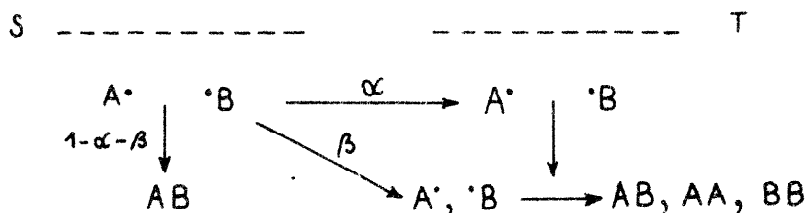
Wpływ spm na szybkość rekombinacji w wrp wykazano w reakcji $\text{C}_6\text{F}_5\text{CH}_2\text{Cl}$ z $\text{C}_4\text{H}_9\text{Li}$ [47].



Rys. 2. Schemat reakcji wrp bez udziału spm

W spm 1,5 T stosunek produktu AB/AA ulega zwiększeniu o 40%. Uzasadnienie wyniku tego doświadczenia wymaga znajomości teorii kinetyki reakcji z uwzględnieniem stanów spinowych. W stanie singletowym S, powtórne spotkanie rodników w „klatce” (rodniki znajdują się bezpośrednio obok siebie) prowadzi do powstania produktu AB z prawdopodobieństwem $1 - \beta$, natomiast przejście rodników do roztworu z prawdopodobieństwem β prowadzi do powstania trzech produktów: AA, AB, BB. Zależność stosunku AB/AA od natężenia pola

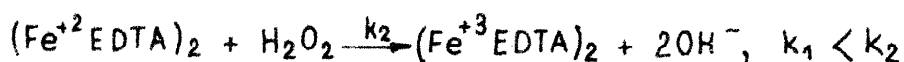
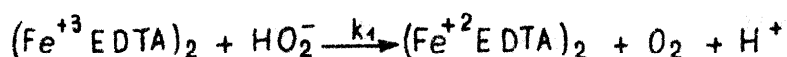
jest taka, że dla $H = 40 \text{ A/m}$ (pole ziemskie) $AB/AA = 8$, dla $H = 80 \text{ kA/m}$ wynosi ok. 12 i utrzymuje się na tej wartości aż do $H = 1200 \text{ kA/m}$. Taka zależność od natężenia pola pozwala ustalić mechanizm, który okazał się być zgodny z mechanizmem ino. Schemat zachodzących reakcji w spm przedstawiono na rys. 3.



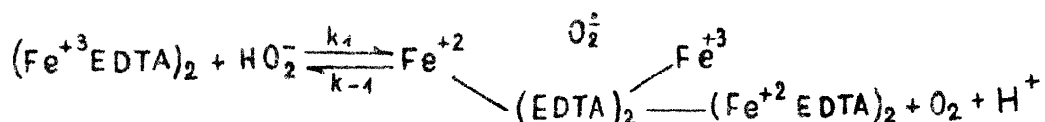
Rys. 3. Schemat reakcji wrp z udziałem spm

W spm z prawdopodobieństwem α stan S przechodzi w stan T, stąd rodniki przedostają się do roztworu, a zatem będzie teraz więcej produktu AA. Z tym, że dla słabych pól α jest większe ze względu na występowanie wszystkich kanałów przejść interkombinacyjnych. Dlatego dla słabych pól obserwuje się mniejszą wartość stosunku AB/AA . Zatem efekt oddziaływania spm jest silniejszy dla słabych natężeń.

Adekwatność rozwijanego podejścia do wpływu spm na reakcje enzymatyczne znalazła potwierdzenie w pracy [55]. Badano wpływ spm na szybkość rozkładu H_2O_2 katalazą i kompleksem EDTA z Fe^{+3} . Ustalono, że spm przyspiesza reakcję rozkładu H_2O_2 katalazą i kompleksem dimerowym EDTA. Analiza zależności efektu od natężenia pola pozwala ustalić, że reakcja zachodzi zgodnie z mechanizmem Δg . Ustalono magnetycznie czułe stadium reakcji, w którym występuje zakaz spinowy. Mechanizm reakcji katalazy z H_2O_2 nie jest całkowicie wyjaśniony [61]. Istnieje przypuszczenie, że wysoka reaktywność i wybiórczość katalazy związana jest z obecnością kilku atomów żelaza w centrum aktywnym, zabezpieczającym przeniesienie obydwu elektronów w „klatce” bez wyjścia pośrednich cząstek do roztworu. Taki mechanizm realizuje się w reakcji H_2O_2 z kompleksem $(\text{Fe}^{+3} \text{ EDTA})_2$.

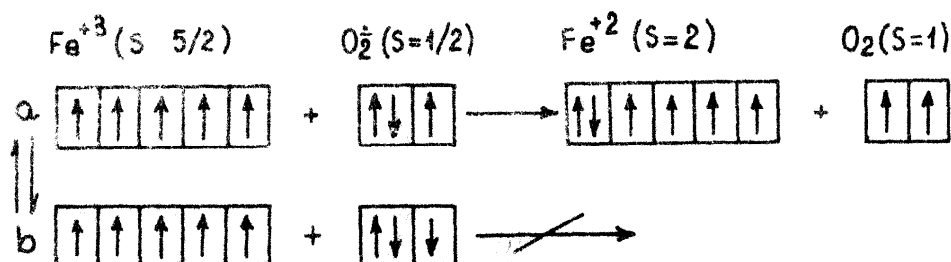


Obecność w roztworze jonorodników HO_2^- wynika z dysocjacji H_2O_2 na $\text{HO}_2^- + \text{H}^+$. Reakcja wg wzoru IV zgodna jest z sumarycznym równaniem $2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$. Dla powstania efektu magnetycznego wymagane jest, aby w pośrednich stanach reakcji powstawały wolne rodniki. Pierwsze stadium reakcji (przyjmując hipotezę o jednoelektronowym przenoszeniu) można przedstawić jako kolejność dwu jednoelektronowych stanów.



Pary magnetycznych cząsteczek (wrp), to $\text{Fe}^{+2}\text{EDTA}-\text{O}_2^{\cdot-}$ oraz $\text{O}_2^{\cdot-}-\text{Fe}^{+3}\text{EDTA}$. Duża różnica czynnika g w parze $\text{O}_2^{\cdot-}-\text{Fe}^{+3}\text{EDTA}$ ($\Delta g = 2,33$) może doprowadzić do wpływu spm wg znanego mechanizmu Δg . Szybkość wydzielania tlenu w reakcji rozkładu H_2O_2 katalazą i kompleksem $(\text{Fe}^{+3}\text{EDTA})_2$ jest dużo mniejsza od szybkości przejść interkombinacyjnych. W takim właśnie przypadku należy oczekiwać efektu magnetycznego.

Na rys. 4 przedstawiono elektronowe konfiguracje spinów pięciu niesparowanych elektronów atomu żelaza w stanie wysoko spinowym $S = 5/2$ i trzech spinów elektronów rodnika $\text{O}_2^{\cdot-}$ oraz ilustrację spinowego zakazu w wrp $\text{Fe}^{+3}-\text{O}_2^{\cdot-}$.



Rys. 4. Ilustracja zakazu przejść interkombinacyjnych

Tlen może wytwarzać się tylko poprzez drogę a, stan b natomiast ze względu na zakaz spinowy jest nieaktywny. W spm mogą następować przejścia pomiędzy konfiguracjami a i b i stąd mamy zwiększenie wydzielania tlenu. Efekt ten zwiększa się wraz ze wzrostem natężenia pola i dla pola 0,8 T wynosił $20 \pm 5\%$ dla katalazy oraz $24 \pm 5\%$ dla kompleksu $(\text{Fe}^{+3}\text{EDTA})_2$. Podobieństwo zależności efektu od natężenia pola dla katalazy i kompleksu $(\text{Fe}^{+3}\text{EDTA})_2$

pozwała sądzić, że mechanizm wpływu spm w przypadku katalazy jest taki sam, jak dla $(\text{Fe}^{+3}\text{EDTA})_2$. A zatem, efekty magnetyczne zaobserwowane przy rozkładzie wody utlenionej katalazą i kompleksem $(\text{Fe}^{+3}\text{EDTA})_2$ można uzasadnić wpływem spm na przejścia interkombinacyjne w wrp Fe^{+3} , $\text{O}_2^{\cdot -}$.

W ostatnim 10-leciu obserwuje się wzrost zainteresowań wpływem spm na zjawiska fotoelektryczne, luminescencyjne i fotochemiczne w roztworach, gdzie cząsteczki mogą występować w wzbudzonych stanach tripletowych [3]. Ustalono, że magnetoczułym stadium takich procesów jest interkombinacyjna konwersja w parach reagujących cząsteczek. Również magnetyczny efekt izotopowy [12, 46] oraz chemiczna polaryzacja jąder zostały potwierdzone doświadczalnie [17, 18, 52]. Wychodzą one jednak poza ramy możliwości ich przedstawienia w niniejszym opracowaniu. Badanie tych zjawisk wymaga znajomości teorii kinetyki reakcji chemicznych i dobrze dzisiaj znanych i szeroko stosowanych technik EPR oraz NMR [48, 56].

6. DYSKUSJA

Rozpatrując jedynie właściwości energetyczne oddziaływania spm z materią ożywioną, nie powinno obserwować się żadnych efektów tego oddziaływania. Energia oddziaływania substancji o podatności magnetycznej χ_M z polem o natężeniu H wynosi $E = 8\pi^2 \cdot 10^{-6} \cdot \chi_M H^2$. Dla pola o natężeniu $H = 10^3$ kA/m wynosi ona ok. 10^{-3} J/mol i jest o kilka rzędów wielkości mniejsza od energii termicznej kT [54]. Biorąc pod uwagę znane równanie na zmianę energii swobodnej w reakcji chemicznej $\Delta G = -RT \ln K$, nie jest możliwa pod wpływem spm zmiana stanu równowagi, ale nie przesądza to o możliwości zmiany czasu osiągnięcia stanu równowagi. I tym chyba można uzasadnić wyniki doświadczeń B h a t n a g a r a [8]. Efekty orientacyjne mogą wpływać na szybkość reakcji (D o r f m a n, V a l e n t i n u z z i), ale dopiero przy bardzo silnych polach (10 T) i dla szczególnych makrocząsteczek i dogodnym środowisku. Jest to jeszcze mało doświadczalnie udokumentowane [22, 53], a często obserwuje się brak efektów wpływu spm na reakcje enzymatyczne nawet tak silnych pól [38, 44, 45]. A k o y u n o g l o u [1] oraz S m i t h i C o o k [49] uzasadnili swoje wyniki zmianą ilości słabych wiązań (wodorowych) w spm. Daje to możliwość zmiany konformacji makrocząsteczek związanej ze stopniem spirali-

zacji. Temu służyły pomiary widma w ultrafiolecie. Trzeba jednak podkreślić, że energia wiązań słabych jest rzędu 1-3 kJ/mol i energia oddziaływania spm jest również od niej mniejsza o kilka rzędów wielkości.

Pojawiające się w literaturze doniesienia o wpływie spm, o słabych i umiarkowanych natężeniach pola na reakcje enzymatyczne [28, 29, 55, 60] można uzasadnić zjawiskami znoszenia zakazu przejść interkombinacyjnych w wolnorodnikowych parach, jakkolwiek jest jeszcze mało doświadczeń potwierdzających ten mechanizm. Co więcej, dotychczasowe badania wpływu spm na reakcje chemiczne uwzględniały jedynie zmiany stanu równowagi lub częściej czasu dojścia do stanu równowagi. Zniesienie zakazu przejść interkombinacyjnych w wrp może prowadzić natomiast do zmiany proporcji pomiędzy produktami. Badania w polach zerowych (ekranowanie pola magnetycznego ziemskiego) dałyby bardziej przekonujące potwierdzenie proponowanego mechanizmu. Takim mechanizmem można by uzasadnić niektóre obserwacje odnośnie do możliwości oddziaływania spm na procesy nowotworowe [6, 39, 50]. Wiadomo, że wtedy stwierdza się podwyższony poziom wolnych rodników i stąd możliwość oddziaływania spm. Trzeba z naciskiem podkreślić, że nie ma ogólnych reguł na uzasadnienie oddziaływania spm na reakcje enzymatyczne. Zjawiska są złożone i muszą być indywidualnie rozpatrywane, zwłaszcza istnieje potrzeba rozróżnienia oddziaływania spm na enzymy *in vitro* i *in vivo*.

Oczywiście efekty oddziaływania spm na organizmy żywe uzasadnia się nie tylko poprzez możliwości wpływu na reakcje enzymatyczne. Istnieją możliwości wpływu spm na właściwości fizykochemiczne wody [25], na ciekłe kryształy biologiczne [36], na właściwości półprzewodnikowe, bioprądy i inne.

Liczba prac w zakresie biomagnetyzmu wzrasta obecnie lawinowo [2, 5, 4, 37, 51, 54, 58] i nie sposób dzisiaj negować możliwości oddziaływania spm na organizmy żywe. Niektóre jednak obserwacje są zbyt fragmentaryczne, bez właściwego opracowania statystycznego, czasem wyniki są niepowtarzalne, a nierzadko sprzeczne. I tak np. nie potwierdziły się zmiany hematologiczne i inne u myszek [9] obserwowane wcześniej przez innych autorów [4, 7]. Również eliminując możliwości występowania reakcji fotochemicznych i zmian temperatury [34] nie potwierdzono wyników B h a t n a g a r a [8]. Nie brak i dzisiaj głosów sceptycznych co do wielu wy-

ników w zakresie oddziaływania pola magnetycznego na organizmy żywe [15, 23, 27].

Artykuł wpłynął do Redakcji 4 II 1983

LITERATURA

- [1] A k o y u n o g l o u G., Nature, 202, 452-454 (1964).
- [2] A.N. SSSR, Reakcji biologicznych sistem na magnitnyje polja, Nauka, Moskwa 1978.
- [3] A t k i n s P., E v a n s G. T., Mol. Phys., 29, 921-935 (1975).
- [4] B a r n o t h y M. F., Biological Effects of Magnetic Fields, vol. 1, Plenum Press, New York 1964.
- [5] B a r n o t h y M. F., Biological Effects of Magnetic Fields, vol. 2, Plenum Press, New York-London 1969.
- [6] B a r n o t h y J. M., [w:] Biological Effects of Magnetic Fields, ed. M. F. Barnothy, vol. 1, Plenum Press, New York 1964, s. 100.
- [7] B a r n o t h y M. F., B a r n o t h y J. M., Nature, 225, 1146-1147 (1970).
- [8] B h a t n a g a r S. S., M a t h u r R. N., Phil. Mag., 8, 457-473 (1929).
- [9] B i g g s M. W., [w:] Magnetic Field Effects on Biological Systems, ed. T. S. Tenforde, Plenum Press, New York-London 1978, s. 40-41.
- [10] B l o i s M. S., B r o w n J. R. H. W., Free Radicals in Biological Systems, Academic Press, New York-London 1961.
- [11] B r o c k l e h u r s t B., Nature, 221, 921-923 (1969).
- [12] B u Ź a ċ e n k o A. L., G a l i m o w E. M., E r s z o v W. W., DAN SSSR, 379-382 (1976).
- [13] B u Ź a ċ e n k o A. L., [w:] Chemiczeskaja poljarizacja elektronow i jader, Nauka, Moskwa 1974, s. 246.
- [14] B u Ź a ċ e n k o A. L., Chemiczeskaja poljarizacja elektronow i jader, Nauka, Moskwa 1974.
- [15] C a b a n e s J., Revue Generale de l'Electricite, (special issue), 81, 19-49 (1976).
- [16] C h e n C., H e i n s o h n R. J., M u l a y L. N., J. Phys. Soc. Japan, 25, 319-322 (1968).
- [17] C l o s s G. L., C l o s s L. E., J. Amer. Chem. Soc., 91, 4549-4556 (1969).
- [18] C o c i v e r a M., F y f e C. A., V a i s h S h. P., C h e n H. E., J. Amer. Chem. Soc., 96, 1611-1613 (1974).
- [19] C o m m o n e r B., T o w n s e n d J., P a k e G. E., Nature, 174, 689-691 (1954).
- [20] D e l h e z R., Bull. Soc. Roy. Sci., Liege, 26, 83-86, oraz 26, 161-164 (1957).
- [21] D o m k a F., M a r c i n i e c B., Ann. Soc. Chim. Polonorum, 46, 1092-1100 (1972).
- [22] D o r f m a n J. G., Biofizika, 6, 733-734 (1962).
- [23] E i s e l e i n B. S., B o u t e l l H. M., B i g g s M. W., Aerosp. Med., 32, 383-386 (1961).
- [24] F o x J. R., H a m m o n d G. S., J. Amer. Chem. Soc., 86, 4031-4035 (1964).
- [25] G o n e t B., Post. Fiz. Med., 4, 205-211 (1981).
- [26] G o n e t B., XIII Congress of the Polish Physiological Society, Gdańsk, 1, 99 (1975).

- [27] Greene A. E., Halpern M. H., *Aerosp. Med.*, 37, 251-253 (1966).
- [28] Haberditzl W., Müller K., *Z. Naturforsch.*, 20b, 517-520 (1965).
- [29] Haberditzl W., *Nature*, 213, 72-73 (1967).
- [30] Haussner K. H., Stehlik D., *Advan. Magnetic Resonance*, 3, 79-139 (1968).
- [31] De Hempfing A., *Z. Phys. Chem.*, 34, 669 (1900).
- [32] Kaptein R., Oosterhoff J. L., *Chem. Phys. Lett.*, 4, 195-197 (1969).
- [33] Kaptein R., Oosterhoff J. L., *Chem. Phys. Lett.*, 4, 214-216 (1969).
- [34] Kazakov W. P., *Z. Fiz. Chim.*, 39, 1798-1799 (1965).
- [35] Komolova G. S., Erygin G. D., Wasileva T. B., Egorov I. A., *Dokl. An SSSR, Ser. Biol.*, 204, 995-997 (1972).
- [36] Labes M. M., *Nature*, 211, 968 (1966).
- [37] Lang G., *JAP*, 38, 915-922 (1967).
- [38] Malin J. E., Weissbluth E. M., Jacobs E. E., *Biophys. J.*, 5, 767-776 (1965).
- [39] Mulay I. L., Mulay L. N., *Nature*, 190, 1019 (1961).
- [40] Nakata T., Tokumaru K., *Bull. Chem. Soc. Japan*, 43, 3315 (1970).
- [41] Pedersen J. B., Freed J. H., *J. Chem. Phys.*, 61, 1517-1525 (1974).
- [42] Pedersen J. B., Freed J. H., *J. Chem. Phys.*, 58, 2746-2762 i 59, 2869-2885 (1973).
- [43] Pryor A. W., *Free Radicals in Biology*, vol. 1, 2, Academic Press, New York-San Francisco-London 1976.
- [44] Rabinovitch B., Malin J. E., Weissbluth M., *Biophys. J.*, 7, 187-204 (1967).
- [45] Rabinovitch B., Malin J. E., Weissbluth M., *Biophys. J.*, 7, 319-327 (1967).
- [46] Sagdeev R. Z., Leshina T. V., Kamha M. A., *Chem. Phys. Lett.*, 48, 89-90 (1977).
- [47] Sagdeev R. Z., Molin Yu. N., Salikhov K. M., *Org. Magn. Res.*, 5, 599-605 (1973).
- [48] Sawaryn A., *Post. Biochem.*, 21, 21-56 (1975).
- [49] Smith M. J., Cook E. S., [w:] *Biological Effects of Magnetic Fields*, ed. M. F. Barnothy, vol. 1, Plenum Press, New York 1964, s. 245.
- [50] D'Souza L., Reno V. R., Nutini L. G., Cook S. E., [w:] *Biological Effects of Magnetic Fields*, ed. M. F. Barnothy, vol. 2, New York-London 1969, s. 53-59.
- [51] Tenforde T. S., *Magnetic Field Effects on Biological Systems*, Plenum Press, New York-London 1978.
- [52] Triffunac A. D., Johnson K., Lawer R., *J. Amer. Chem. Soc.*, 98, 6067-6072 (1976).
- [53] Valentiniuzzi M., [w:] *Biological Effects of Magnetic Fields*, ed. M. F. Barnothy, vol. 1, Plenum Press, New York 1964, s. 63-73.
- [54] Wadas R., *Biomagnetyzm*, PWN, Warszawa 1978.
- [55] Wajner L. M., Podoplelow A. W., Lesina R. Z., Sagdeev R. Z., Molin Ju. N., *Biofizika*, 23, 234-241 (1978).
- [56] Waugh J. S., *Advances in Magnetic Resonance*, Academic Press, New York-London 1968.
- [57] Weigl J. J., *Phys. Rev.*, 31, 676-679 (1928).
- [58] Wojtczak J., *Chemia stos.*, 4, 387-399 (1958).

- [59] W i l e n c z i k M. M., Us. Sow. Biol., 63, 54-72 (1967).
[60] Y o u n g W., [w:] Biological Effects of Magnetic Fields,
ed. M. F. Barnothy, vol. 2, Plenum Press, New York-London
1969, s. 79-102.
[61] Z i d o n i E., K r a m e r M. L., Arch. Biochem. Biophys.,
161, 658-664 (1974).

Bolesław Gonet

ON POSSIBILITIES OF STATIC MAGNETIC FIELD INFLUENCES
ON BIOCHEMICAL REACTIONS

S u m m a r y

There has been a growing interest during last 20 years in the area of constant magnetic field (cmf) effect on the living organisms. The mechanisms proposed for cmf action postulate, among others, that cmf may influence the enzymatic reactions. The present work includes experimental data in this respect followed by theoretical considerations. The paper deals also with the spin states in free radicals recombination, and with two phenomena: CIDNP and magnetic isotopic effects. These latter phenomena shed a new light on the mechanisms by which cmf may influence biochemical reactions.

Dr BOLESŁAW GONET
Zakład Patofizjologii
Instytut Patologii i Farmakologii
Pomorskiej Akademii Medycznej
ul. Powstańców 72
70-111 Szczecin