

МИНОБРНАУКИ РОССИИ



Санкт-Петербургский государственный
электротехнический университет «ЛЭТИ» им. В. И. Ульянова (Ленина)

М. В. ЛИСТОВ А. И. МАМЫКИН

СВОБОДНЫЕ РАДИКАЛЫ И ПЕРЕНОС ЭЛЕКТРОНА В БИОСИСТЕМАХ И ПОЛУПРОВОДНИКАХ

Санкт-Петербург
Издательство СПбГЭТУ «ЛЭТИ»
2021

УДК 538.935:576.32/.36

ББК 22.379/28.071

Л63

Листов М. В., Мамыкин А. И.

Л63 Свободные радикалы и перенос электрона в биосистемах и полупроводниках. СПб.: Изд-во СПбГЭТУ «ЛЭТИ», 2021. 228 с.

ISBN 978-5-7629-2879-3

Нейрогуморальное воздействие свободных радикалов на биосистему осуществляется диффузионным потоком из внутренней железосодержащей среды позвоночных животных и человека, являясь энергетическим фактором влияния на индивидуальное и историческое развитие организмов. Свободные радикалы модулируют электрические потенциалы клеточных мембран, участвуют в качестве триггера в возбуждении потенциала действия и электромагнитных полей индукции в объемах дипольной сети матрицы биосистемы.

Научный интерес авторов направлен на изучение процессов, поддерживающих баланс оксидативной системы в клетках организма позвоночных животных и человека с антиоксидантной системой и исследование последствий отклонений концентрации свободных радикалов от пределов нормального физиологического уровня в тканях и органах.

В основе монографии лежат многолетние исследования авторов в области экспериментальной биологии, магнитного резонанса и поверхностных явлений.

Предназначено для студентов, аспирантов и ученых, занимающихся вопросами экспериментального исследования влияния свободных радикалов на биосистему.

УДК 538.935:576.32/.36

ББК 22.379/28.071

Рецензенты: д-р мед. наук, проф., чл.-кор. РАН М. М. Одинак (Рос. воен.-мед. акад. им. С. М. Кирова); д-р техн. наук, проф. Г. Н. Лукьянов (университет ИТМО); канд. техн. наук, доц. Б. В. Фармаковский (НИЦ «Курчатовский институт», ЦНИИ «Прометей» им. В. И. Горынина).

ISBN 978-5-7629-2879-3

© СПбГЭТУ «ЛЭТИ», 2021

ВВЕДЕНИЕ

В монографии рассмотрены процессы, поддерживающие баланс оксидативной системы (ОС) в клетках организма позвоночных животных и человека с антиоксидантной системой (АОС) и исследованы последствия отклонений концентрации свободных радикалов от пределов нормального физиологического уровня в тканях и органах.

Методы экспериментального и математического моделирования процессов жизнеобеспечения в клетке и организме, которые происходят при действии свободных радикалов на липопротеиновую клеточную мембрану (плазмалемму), достаточно убедительно показывают, что перенос электрона радикалом кислорода из внутренней жидкой среды, крови и её производных, является источником квантованной энергии для регуляции физиологического баланса между генерацией отрицательно заряженных радикалов и нейтрализацией их заряда в биосистеме. Продолжительное нарушение баланса сопровождается развитием заболеваний со свободно-радикальной природой патогенеза и происходит как при повышении концентрации радикалов во внутренней среде и тканях, так и при их недостатке.

Авторы старались придерживаться анализа экспериментальных фактов, проводя математическое моделирование лишь в тех случаях, когда его результаты не противоречат наблюдаемым ситуациям в опытах. Оказалось, что достаточно адекватно можно использовать хорошо разработанные подходы физики твердой поверхности для математического моделирования процессов, происходящих на наружной поверхности клеточной мембраны, нервных и мышечных волокнах. В ряде случаев нами проведено прямое сравнение с процессами, происходящими на поверхности пористых полупроводниковых кристаллов.

В первых главах содержатся основные сведения о свободных радикалах, их строении, свойствах и методах исследования. Большое внимание уделяется упорядочению цепной реакции радикалов в биосистеме, поскольку именно перекисное окисление липидов, происходящее в результате переноса свободным радикалом неспаренного электрона, приводит к изменению локальных электрических потенциалов плазмалеммы клеток. При этом возникает вопрос об участии спинового магнитного момента электрона и явления электромагнитной индукции в энергетически затратном процессе на поверхности клетки, нейрона, аксона, волокон и клеток мышц, внутренней поверхности камер и волокон проводящей системы сердца, осуществляющего непрерывную работу в автоматическом режиме.

К решению поставленного вопроса подталкивает изучение формирования структур пониженной размерности в пористых полупроводниковых кристаллах кремния. Экспериментальных результатов наблюдения *in vivo* подобных структур на плазмалемме у авторов мало, и остается констатировать, что диаметр пор на поверхности, например, пористого кристалла кремния, соизмерим с размером каналов белково-липидной матрицы поверхности клетки и периодом решетки в кристаллах кремния.

Взаимодействие свободных радикалов, атомов и молекул, особенности сложения межмолекулярных сил отталкивания и притяжения, реализующих ферментативные процессы матричного синтеза внутри структурированного ядра эукариотической клетки, а также в неядерных прокариотических клетках, происходит на репликативной вилке молекулы ДНК, т. е. в условиях пространства с пониженной размерностью, с чередованием разобщенных матриц ДНК в точке *Ori* и связанных водородными связями участков двойной спирали линейной или кольцевой молекулы полимера.

Большое место уделено описанию разработанных авторами способов воспроизведения оригинальных экспериментальных моделей заболеваний человека и животных со свободно-радикальной природой патогенеза. Совместно с гемозависимым экзофтальмом [1], модель ферментзависимого полимиозита [2] формы Вагнера–Унферрихта (код заболевания по МКБ-10, М33.2) на мышцах линий *DBA/2* и *C57Bl*, использовалась авторами для экспериментального подтверждения выводов математического анализа и компьютерного моделирования ситуаций с участием диффузионного потока отрицательно заряженных, короткоживущих свободных анион-радикалов кислорода ($O_2^{\bullet-}$) из внутренней среды организма на клеточную поверхность. Наряду с описанием воспроизведения клиники заболеваний на моделях, гистологического изучения тканей мышц и сердца, используется диффузионная модель атаки отрицательно заряженных частиц радикалов на поверхность плазмалеммы и проводится прямое сравнение с процессами перфорации, происходящими при травлении поверхности кристалла образца полупроводникового материала из кремния *p*-типа проводимости [3].

Подробно рассмотрены электронные структуры основных активных форм кислорода (АФК) и приводится схема, описывающая варианты патогенеза, которые авторы наблюдали при воспроизведении моделей патологий человека на линейных животных. Взаимодействие потока свободных радикалов

с энергетически неоднородной поверхностью клеточной мембраны содержит обоснование системы феноменологических уравнений, которые позволяют проводить математическое моделирование основных процессов при воздействии диффузионного потока анион-радикалов из крови на липопротеиновую жидкокристаллическую матрицу биосистемы (плазмалемму клеток). Определенное внимание уделено рассмотрению исследований зарубежных неврологов, в которых изучается начальный сегмент аксона (*AIS*) клеток зубчатой извилины гиппокампа мозга мышей и дисфункции кортикогиппокампа у мышей линии *C57Bl/GJ* в целях раскрытия природы рассеянного склероза у человека.

Раздел «Свободные радикалы и природный мутагенез» является специальным очерком монографии «Химическая защита у членистоногих и изменчивость организмов» [4], которая в 1992 г. была защищена одним из авторов (М. В. Листов) в качестве основы докторской диссертации в Институте эволюционной физиологии и биохимии имени И. М. Сеченова. Подробно рассматривается мутагенная и канцерогенная активность генерирующих свободные радикалы соединений: хинонов, фенолов, альдегидов и некоторых других веществ, которые продуцируются в организме членистоногих животных и поступают в окружающую среду. Изложены эволюционные и экологические аспекты секреторной активности защитных желез членистоногих животных в условиях биосистем планеты. Теория природного химического мутагенеза отводит существенную роль реакциям радикалов с нуклеиновыми основаниями ДНК в связи с естественными контактами насекомых-опылителей, выделяющих вещества с генетической активностью и ферменты, взаимодействующие с субстратами, что сопровождается образованием активных частиц свободных радикалов и протонов в клетках *in vivo*.

Поверхностные состояния жидкокристаллической клеточной мембраны и нейрогуморальная регуляция функций организма, представлены с учетом концепции авторов о передаче электромагнитных сигналов, в биосистеме, где ведущая роль отводится энергии неспаренного электрона при переносе свободным радикалом через липопротеиновую матрицу. Здесь также представлена одна из возможных моделей структуры ионофильного поверхностного центра клеточной мембраны, связанного с молекулой интегрального белка матрицы. Вариации мембранного потенциала при переносе электронов диффузионным потоком анион-радикалов кислорода из внутренней среды организма через активные ионофильные центры клеточной поверхности и генерация электромагнитного поля достоверно измеряются специальной аппаратурой и просчитаны

нами для перемещения неспаренного электрона свободным радикалом на расстояние 8 нм (толщина мембраны).

Показано, что изменение зарядового состояния интегрированной в липидный бислой молекулы структурного белка совместно с поверхностными кластерами противоионов Na^+ и K^+ модулирует токи смещения на матрице, в результате чего возникает электромагнитное поле, передающееся по информационным дипольным сетям многоклеточного организма. В качестве примера приводятся результаты математического моделирования основных процессов при воздействии диффузионного потока свободных радикалов на клетки биосистемы, экспериментальную модель влияния потока свободных радикалов ($\text{O}_2^{\bullet-}$) и синглетной формы кислорода (O_2^*) на время жизни ядерных (эукариотических) клеток лимфоцитарной лейкемии *P-388* и организма мышей линии *DBA/2*. Представлены также результаты ИК-спектроскопии крови мышей при моделировании экзофтальма (сосудистой патологии), являющейся, по сути, частичной моделью инсульта.

Подробно рассматривается природа формирования матрицы дипольной сети клеточных мембран, которую авторы сопоставляют с событиями, происходящими в процессах адсорбции на энергетически неоднородной поверхности твердых тел, например, в кристаллических пористых полупроводниковых материалах с фрактальной структурой адсорбционного слоя. Кластеры, образующиеся при адсорбции на клеточную мембрану из жидкой среды организма, имеют различную морфологию в зависимости от адсорбционной способности активного центра на поверхности, а также от преобладающего типа агрегации, в свою очередь, свободные радикалы оказывают влияние как на характер агрегации частиц, так и непосредственно на топологию и энергетический рельеф поверхности адсорбента. Энергетическая неоднородность адсорбирующей подложки, а также различие типов агрегации приводят к нарушению однородности диффузионного слоя в латеральном направлении, образуя неоднородности наномасштаба, которые, в свою очередь, способны формировать фрактальные структуры.

Основные эксперименты, описанные в книге, проводились с использованием тетракалиевой соли копропорфирина III (копропорфирина), возбуждаемого светом или металлом-координатором. Фото- и химическая активация одноэлектронного переноса раскрывают физическую составляющую энергетического влияния компонентов крови на поверхность органов, омываемых жидкостями внутренней среды. Результаты позволяют развить квантовый подход

в исследованиях гемозависимых и ферментзависимых патологий и нормального состояния биосистемы позвоночных животных и человека. Представлены спектральные характеристики копропорфирина (образуется в организме как побочный продукт синтеза гема) и обосновывается его роль в качестве фотосенсибилизатора, активатора деятельности внутренних органов, генератора АФК, в конечном итоге влияющего на показатели средней продолжительности жизни эукариотических клеток и организма млекопитающих.

Свободные радикалы являются внутренним фактором деполяризации и возбуждения клеточной мембраны. Экспериментальное подтверждение построено на результатах опытов с аппликацией растворов копропорфирина на поверхность седалищного нерва и мышц задней лапы лягушки (нервно-мышечного препарата, реоскопа). Влияние диффузионного потока анион-радикалов кислорода, генерируемых в растворе активированного металлом-координатором копропорфирина, регистрировалось как изменение величины порога возбуждения мышц голени, значение которого достигало десятков, а в отдельных вариантах опытов сотен милливольт. Собственно, реоскоп используется физиологами с давних пор, в нашем случае был сконструирован и разработан специальный генератор импульсного тока, оснащенный соленоидами, в которые помещали нерв и мышцу реоскопа с дальнейшим воздействием импульсного магнитного поля индукцией около 1 мТл. Это позволило, исследовать влияние импульсного магнитного поля на проводимость мякотного нерва совместно с аппликацией на нерв и мышцу супероксид генерирующих растворов активированного металлом-координатором копропорфирина.

Баланс ОС и АОС в биосистеме поддерживается в результате цепных реакция радикалов, среди которых существуют радикалы-антагонисты. В книге подробно описано действие двух важнейших антагонистов, супероксида и оксида азота.

Большое внимание уделяется также автоматическим событиям в биосистеме, в особенности автоматии сердца и нейронов глии мозга. Приводятся результаты проведенных опытов на миокарде земноводных животных по изучению действия супероксид-генерирующих растворов с разной концентрацией активированного копропорфирина на сокращающийся миокард лягушек и параметры электроэнцефалограммы млекопитающего животного (кролика) до и после инъекций растворов активированного копропорфирина.

В заключительной части книги рассматриваются адаптации биосистем к использованию энергии электрона и внешних раздражителей. Приведены

материалы гистологических, анатомических и других исследований в свете полученных авторами экспериментальных данных о влиянии потока супероксида на реоскоп, сердце земноводного и головной мозг млекопитающих животных (крыс и кошек). Рассмотрены аспекты морфофункциональных, электрохимических и иных адаптаций наружных мембран клеток, органов и мембранных клеточных органелл к факторам внешней (шум) и внутренней среды (диффузионный поток супероксида), а также энергетическая роль неспаренного электрона радикалов в формировании и проведении потенциала действия по отдельному аксону. Заряженные частицы в жидких субстанциях внутренней среды и клеточного золя выполняют электромагнитную и обеспечивают трофическую функцию мякотного нерва на основе взаимодействия супероксида кислорода с протонами в аксоплазме, образованием молекул воды и осмосом. Обосновывается вводимое авторами понятие «электромагнитный эквивалент внешнего раздражителя» (ЭМЭ).

В заключении представлены основные выводы и перспективные направления для продолжения изучения одноэлектронного переноса и роли свободных радикалов в нейругумолярной регуляции основных функций биосистемы.

1. СВОБОДНЫЕ РАДИКАЛЫ И НЕЙРОГУМОЛЯРНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ОСНОВНЫХ ФУНКЦИЙ БИОСИСТЕМЫ

В соответствии с представлениями классической неорганической химии радикал – это группа атомов, которая при переходе от одного соединения к другому не претерпевает изменений в своей структуре. Это определение, сформулированное в начале XIX в. А. Лавуазье, способствовало активному изучению и классификации радикалов, особенно, пониманию дискретности процессов переноса электронов в окислительно-восстановительных реакциях и твердых матрицах полупроводников.

Классическое определение не полностью характеризует анион-радикал кислорода, роль которого в регуляции функций и коммуникаций частей организма будет находиться в центре внимания при изложении материала. Структура анион-радикала кислорода, или супероксида $O_2^{\bullet-}$, является своего рода исключением, поскольку представляет собой отрицательно заряженную молекулу с некомпенсированным зарядом электрона на внешней орбитали. Этим зарядом молекула отличается от другой активной формы, – синглетного кислорода O_2^* . Углубленное исследование активных форм кислорода (АФК) существенно важно, поскольку в любой биосистеме присутствует диффузионный поток активных частиц кислорода из крови и производных от нее жидких субстанций, направленный на мембранную поверхность клеток биосистемы позвоночных животных и человека. В крови постоянно происходит окисление свободного, нестабильного гема в гемин и гемоглобина в метгемоглобин с образованием супероксида. Поток супероксида, таким образом, является радикальным фактором внутренней среды, включающим в себя и другие свободные радикалы, в том числе использовавшиеся в наших экспериментах по моделированию патологий на линейных мышах *DBA/2* [1] и *C57Bl* [2].

В XX в. произошло существенное расширение научных представлений об электронной структуре атома и молекулы, что привело к выделению группы так называемых «свободных радикалов». Особенность свободных радикалов заключается в наличии у них нечетного числа электронов, один из которых (неспаренный, некомпенсированный по спиновому магнитному моменту) находится на удаленной от ядра внешней орбитали в единственном числе. Существуют стабильные радикалы, таковым является, например, стабильный радикал дифенилпикрингидразил (ДФПГ) и радикалы с малым временем жизни,

супероксид $O_2^{\bullet-}$ гидроксил OH^{\bullet} , а также радикал метила (CH_3^{\bullet}), так называемая «алкильная» группа атомов, которая существует в свободном состоянии не более нескольких наносекунд [5]. Соединение CH_3^{\bullet} -радикала с гидроксилом OH^{\bullet} дает метанол, а с последовательностью нуклеотидов ДНК импринтированное основание – цитозин. Обмен свободных радикалов в организме является основой его здорового существования, а нарушение баланса приводит к заболеваниям со свободно-радикальной природой патогенеза и заболеваниям импринтинга.

Реакция алкилирования (метиляции), присоединение метила к акцепторам электрона в клетках организма эукариот, как показывают современные исследования, имеет очень широкое распространение в биосистемах. Так, алкилирование в ядрах клеток с помощью ферментов ДНК-метилтрансфераз, транспортирующих CH_3 -группы с *S*-аденозил-метионина на специфические сайты ДНК является эпигенетическим процессом, не изменяющим, но модифицирующим последовательность нуклеотидов ДНК [6] генома конкретного вида и по причине межатомных взаимодействий изменяет расстояние между основаниями в импринтированных сайтах.

Неспаренный электрон обеспечивает наличие у свободного радикала спинового магнитного момента, поэтому либо непосредственно, либо с помощью спиновых ловушек радикалы уверенно регистрируются методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР). Наличие неспаренного электрона определяет весьма высокую реакционную способность свободных радикалов и их участие в качестве промежуточных и конечных продуктов в окислительно-восстановительных реакциях [7].

Многочисленные экспериментальные данные свидетельствуют об участии радикалов в нормальных процессах жизнедеятельности на уровне биополимеров (белков, нуклеиновых кислот), мембран, клеток, тканей и органов биосистем, а также при развитии патологических состояний и заболеваний, сопровождающихся окислительным стрессом, когда концентрация активных частиц радикалов во внутренней жидкой субстанции организма резко повышается. Установлено, что старение человека сопровождается появлением и накоплением в тканях свободных радикалов и органических перекисей. Свободные радикалы обладают выраженным мутагенным и канцерогенным действием, участвуют в повреждении ядерных хромосом и нуклеиновых оснований ДНК, что можно трактовать как спонтанные состояния клетки, предшествующие мутациям.

Среди радикалов особое место занимает анион-радикал кислорода ($O_2^{\bullet-}$), который транспортирует неспаренный электрон, способствующий началу процессов окисления в биосистемах. Электроны как окисляющие частицы являются инициаторами перекисного окисления в тканях, играют существенную роль при развитии патогенеза распространённых заболеваний, среди которых ишемия миокарда, дислокационные поражения головного мозга (ишемический и геморрагический инсульт), болезнь Альцгеймера, рак и другие патологии, особенно свойственные людям пожилого возраста. В то же время антибиотическое действие некоторых лекарственных средств объясняют их способностью к образованию *in vivo* радикалов с цитотоксическим действием в отношении клеток бактерий (супероксид) и грибков (оксид азота NO^{\bullet} , продукт, образующийся под воздействием ферментов группы NO-синтаз, например, из аминокислоты аргинин).

Молекула оксида азота не обладает зарядом, но имеет общее нечетное число электронов, поэтому её относят к свободным радикалам. Время жизни этого радикала в тканях составляет 5,6 с, а затем он как медиатор и окислитель гемоглобина в метгемоглобин превращается в нитрит или нитрат [8]. Стабильные свободные радикалы, точнее их производные, например, аддукты гидроксила, удерживаемые молекулами спиновых ловушек, используют в настоящее время в качестве меток и зондов при изучении строения молекул белков и нуклеиновых кислот, а также при исследовании механизма взаимодействия субстрата с ферментом, антигена с антителом и изучении свойств одно- и двумембранных органоидов и липопротеиновой наружной мембраны ядерных клеток.

В различных клетках ядерных организмов (эукариот) свободные радикалы образуются в результате окисления или восстановления молекул соответствующими донорами или акцепторами электрона, например, кислородом или металлами-координаторами с переменной валентностью. Радикалы образуются непосредственно под действием квантов солнечного света или ультрафиолетового (УФ) облучения естественных фотосенсибилизаторов, таких как порфирины (например, гем и копропорфирин крови), хлорофиллы растений, некоторые антибиотики. Не следует забывать также о возможном воздействии на клетки ионизирующих облучений. Степень метилирования ДНК растений варьируется под влиянием микробов и абиотических факторов внешней среды, ионизирующей и УФ-радиации, повышенной температуры, изменения рН и других воздействий. Указанные факторы способствуют изменению

экспрессии (работы) генов в онтогенезе [6]. Растения, например, используют метилирование ДНК (импринтинг) для регуляции обмена веществ на эпигенетическом уровне, реагируя на стресс-факторы [9], [10], [11] и адаптируясь к новым условиям внешней среды.

Метилирование ДНК прокариот (бактерий) обеспечивает защиту кольцевой хромосомы от встраивания вирусных нуклеотидных последовательностей. Определенные сайты ДНК бактерии распознаются ферментами эндонуклеазой и ДНК-метиلاзой и модифицируются, что способствует защите генома от фагов. ДНК фага, попавшая в бактериальную клетку, расщепляется специфическими рестриктазами, но метилированные последовательности нуклеотидов генома бактерии защищены [12] и не расщепляются собственными агрессивными ферментами.

Копропорфирин III и хлорофилл имеют тетрапиррольную структуру молекулы, их синтез *in vivo* происходит по одному и тому же пути вплоть до протопорфирина IX [5]. При наличии определенных субстратов окислительно-восстановительные реакции в биосистеме и перенос электрона с помощью специальных ферментов, таких как *NAD(P)H*-дегидрогеназа, или *DT*-диафораза (хинон-редуктаза), происходят в тканях по более безопасному двухэлектронному типу, когда в результате образуется незаряженный синглетный кислород O_2^* .

Ферменты, такие как альдегидоксидаза печени, ксантинооксидаза печени и молока, другие флавопротеиды и переносчики электронов, находящиеся в составе мембран митохондрий и хлоропластов, могут осуществлять транспорт одного электрона, что сопровождается в аэробных условиях появлением анион-радикалов кислорода. Циркулирующий с кровью гемоглобин (Fe^{+2}) частично превращается в метгемоглобин (Fe^{+3}) и также генерирует во внутренней среде позвоночных супероксид, продукт восстановления кислорода по одноэлектронному типу.

В процессе эволюции у растений и животных выработались адаптации [13] к использованию АФК, квантов света и квантованной энергии переносимого свободными радикалами электрона. В составе АОС организма в историческом развитии видов и становлении их внутренней среды появились соответствующие механизмы защиты от повреждающего действия избытка отрицательно заряженных радикалов, в том числе специальные белки-ферменты, например, Mn- и Zn-содержащие супероксиддисмутазы (СОД) [14]. В противоположность одноэлектронному переносу заряда по двухэлектронному типу

не сопровождается генерацией первичных радикалов кислорода и индукцией цепных реакций окисления биологических субстратов. Следует отметить и подчеркнуть, что превращение атомов Ca и Mg в ионы (Ca^{2+} и Mg^{2+}) происходит по двухэлектронному типу и характерно для всех элементов главной подгруппы второй группы Периодической системы.

Появление вторичных радикалов происходит под воздействием первичного радикала супероксида в процессе перекисного окисления липидов и других жироподобных соединений, входящих в структуру клеточных мембран, окисление которых обычно представляют в виде цепной последовательности реакций. На рис. 1.1 представлены фрагменты перекисного окисления липидов [15]. Иницирует реакцию («инициация» на рисунке) чаще всего гидроксильный радикал, который отнимает протон H^+ от остатка ненасыщенной (ненасыщенный липид) жирной кислоты липида, в результате чего образуется липидный радикал (липидный радикал). Развитие (на рисунке «воспроизводство») цепной реакции осуществляется присоединением кислорода с дальнейшим образованием пероксидного радикала (LOO^\bullet) или гидроперекиси липида.

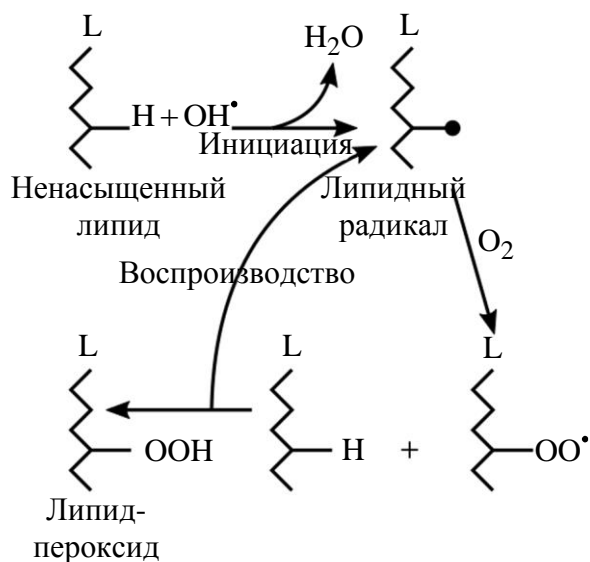


Рис. 1.1

Развитие цепи может прерваться при взаимодействии между радикалами, или реакции радикалов с антиоксидантами, например, витаминами E (токоферол) и P, а также другими биофлавоноидами [16] пищи, которые чаще всего являются донорами электронов. Флавоноиды (фенольные соединения) входят в состав большого числа видов лекарственных и пищевых растений (ландыша майского, мяты перечной, солодки, календулы, бессмертника, артишока, какао, цитрусовых, перца, ревеня и др.). На основе растительных фенольных соединений в прошлом веке был осуществлен синтез препаратов, обладающих как сосудорасширяющим, так и суживающим действием. Так, флакразид (из боярышника) расширяет коронарные сосуды, а кемпферол и кверцетин обладают сосудосуживающим и, соответственно, гипертензивным действием. В большинстве случаев фенольные соединения растительного происхождения (цитрин, пеларгонин, апиин) вызывали у кошек значительное снижение артериального давления. Желчегонная активность препарата фламина

(из бессмертника) нашла клиническое применение. Влияние многих фенолов растительного происхождения, по-видимому, происходит опосредованно, через гистамин и сопровождалось отеками у подопытных крыс.

Переокисление липидов (ПОЛ) – необратимый процесс. Появление вторичных радикалов в известных пределах является одним из биохимических механизмов управления обменом веществ и энергии *in vivo*, однако, усиление ПОЛ ведет к образованию избыточного количества свободных радикалов, следовательно, к оксидативному стрессу. Последнее нарушает структуру клеточных мембран (в них появляются сквозные поры), и состояние коллоидного раствора внутреннего содержимого клетки меняется. На гистологических препаратах двигательных мышц мышцей *DBA/2* при моделировании полимиозита можно было видеть диапедезные кровоизлияния и отеки.

Ведущую роль в активизации ПОЛ [15] в первую очередь играют заряженные отрицательно АФК, первичные свободные радикалы кислорода. При ПОЛ превращениям подвергаются полиненасыщенные жирнокислотные остатки (рис.1.1) различных фосфолипидов, сфинголипидов, нейтральных жиров и холестерин. Молекулы липидов и липоидов образуют билипидный слой клеточной оболочки, являясь вместе с молекулами белков главными компонентами липопротеиновых мембран клетки. Именно поэтому при стимуляции ПОЛ в плазмалемме снижается количество молекул липидов бислоя, изменяются локальная вязкость и электростатический заряд ее отдельных микроскопических участков. При более глубоком окислении указанных субстратов нарушается сама структура двойного слоя молекул мембраны и появляются дефектные зоны и перфорации в оболочках клеток, что серьезно изменяет их функциональную активность и электропроводность.

Функционально самой важной, универсальной и распространенной группой свободных радикалов в клетках и их мембранах являются отрицательно заряженные семихиноны и супероксид. Анион-радикал кислорода постоянно возникает при обмене веществ в организме, а именно при превращении молекул переносчиков кислорода в крови, ароматических аминокислот, катехоламинов (адреналина) и других источников супероксида в цитозоле и на поверхности клеток. Радикалы генерируются при образовании доступной, универсальной энергии аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) в митохондриях, хлоропластах, на внешней мембране бактериальных клеток и их фагоцитов при адгезии бактерий.

Незаряженная АФК синглетный кислород O_2^* образуется при фотосенсibilизации гематопорфиринов крови в сосудах кожи, глаз, вместе с супероксидом стимулирует эпифиз, или шишковидное тело (*corpus pineale*), железу внутренней секреции [16], расположенную под большими полушариями головного мозга человека и животных. Кровоснабжение микроскопического эпифиза осуществляется ветвями передней, средней и задней мозговых артерий, своими нервными путями шишковидное тело связано с соседними участками мозга и через кровь влияет на весь организм. Железа состоит из пинеалцитов и глиальных (склеивающих) клеток. Основной функцией эпифиза является регуляция циркадных, суточных ритмов организма, приспособление его к меняющимся условиям освещенности. Специфическим раздражителем, стимулирующим выброс гормонов и других биологически активных веществ из шишковидного тела в кровь, является световой сигнал (электромагнитный фактор среды). Следует отметить сезонное увеличение продолжительности дня в весенний период в северных широтах и средней полосе. После долгой зимы организм человека и животных реагирует на этот фактор. Циркадная сезонная активность в природе очень заметна, достаточно вспомнить о перелетных птицах.

Генераторами супероксида в тканях организма при участии железо- и молибденсодержащих ферментов с окислительно-восстановительными функциями могут стать альдегиды, фенолы, хиноны, а также активный участник фосфоглюконатного окисления глюкозы и фотосинтеза $NADPH_2$, формулу которого лучше изобразить здесь несколько иначе: $\{[NADPH]+H^+\}$. Генераторами, продуцирующими синглетную форму кислорода и супероксид при фотоактивации, могут оказаться такие вещества, как рубрен (тетрафенилнафтацен), который мы использовали в паре с копропорфирином, и некоторые циклические углеводы [17].

Указанная форма записи восстановленного никотинамидаденин-динуклеотидфосфата (пиридиннуклеотида) подчеркивает, что в цитозоле, например, нервной клетки в реакциях с участием $NADPH_2$ растет положительный заряд и одновременно рН, регулируемый обычно на уровне около семи буферной системой. Следует заметить, что скорость реагирования на изменения нормального показателя кислотности [18] внутри клеток тканевых комплексов сопоставима со скоростью образования свободных радикалов во внутренней среде биосистемы. В то же время $NADPH_2$ при наличии в цитозоле клетки акцепторов атома водорода способен восстанавливать молекулярный кислород по одноэлектронному типу до анион-радикала.

Перекись водорода (концентрированная 25 % пергидроль) образуется в резервуарах внутренних желез жуков-бомбардиров рода *Brachinus* вместе с гидрохиноном. При поступлении смеси в реакционную камеру, где находятся в виде кристаллов белки ферментов каталаза и пероксидаза, происходит экзотермическая реакция разложения H_2O_2 с образованием горячих паров воды, кислорода и анион-радикалов семихинона и супероксида, в результате чего происходит «выстрел», который при попадании в цель может обжечь и отпугнуть нападающего врага. Бензохиноны, модифицированные радикалами, составляют основу экссудатов желез кожного происхождения, адаптированных у членистоногих животных для самозащиты в условиях природной среды, где обитают конкуренты, враги и присутствуют возбудители заболеваний [4]. Образование алкил ($-CH_3$) и ацил ($-C_2H_5$) производных бензохинонов у насекомых происходит с использованием алкил- или ацетил-*CoA* и малонатных остатков в результате процессов конденсации, циклизации и окисления, что было показано с помощью радиоизотопов в середине XX в. [4].

Диффузионный поток супероксида из внутренней среды на клетки тканей и органов стабилизирован по плотности, но на поверхности клеточных наружных мембран, по нашим оценкам, физиологический уровень концентрации анион-радикалов кислорода варьируется у млекопитающих животных и человека в пределах 0,096–0,098 мкмоль/л. Индивидуальные колебания концентрации $O_2^{\bullet-}$ в крови и тканях мозга могут существовать и проявляться, как мы предполагаем, в форме определенных отклонений в развитии, которые отмечены у отдельных детей дошкольного возраста, а также при обучении в школе (дисграфия и дислексия), которые наблюдаются у ряда учеников.

Вариации концентрации анион-радикалов обеспечивают модуляцию локальных электрических потенциалов на клеточных поверхностях и позволяют диффузионному потоку свободных радикалов кислорода, который является триггером потенциала действия [13] клеточной мембраны, участвовать в механизме нейрогуморальной регуляции. Стабилизация pH цитозоля ионами солей фосфорной кислоты и функциональных групп аминокислот белков буферной системы активно участвует в электрохимических процессах, формирующих электрические потенциалы совместно с переносящими электрон радикалами.

Наличие в биосистеме естественного или искусственного источника свободных радикалов вызывает в липопротеиновых мембранах ПОЛ и образование новых свободных радикалов. Развиваются цепные реакции радикалов,

в которых первичный высокоэнергетический радикал, оказывая воздействие на субстраты клеточных систем, способен дополнительно продуцировать набор вторичных радикалов, усиливая тем самым свое действие. Физические процессы, связанные с релаксацией и поддержанием баланса радикалов в жидких субстанциях организма, как правило, проходят в несколько этапов, каждый из которых представляет собой окислительно-восстановительную реакцию с переносом электрона, являясь звеном в цепи образования радикалов, например, в электронтранспортной цепи (ЭТЦ) митохондрий.

Среди радикалов, участвующих в процессе одноэлектронного переноса *in vivo*, наиболее вероятны следующие: $O_2^{\bullet-}$, $NO_2^{\bullet-}$, $ClO^{\bullet-}$, $NO_3^{\bullet-}$, $OH^{\bullet-}$. Кровь и другие источники свободных радикалов представляют в совокупности ОС организма, взаимодействующую и в норме сбалансированную с АОС, ферментами, витаминами и темными пигментами (меланинами) и другими ловушками радикалов.

Первичные радикалы, а также оксид азота, радикал NO^{\bullet} и его антагонист супероксид появляются [8] в биосистеме под влиянием акустических и других стресс-факторов. В тканях млекопитающих животных их можно совместно зарегистрировать, так как некоторое время они находятся в состоянии динамического равновесия. Оксид азота, как известно, является медиатором по отношению к реакции сосудодвигательных мышц. Таким образом, пути генерации первичных радикалов в организме млекопитающих животных и человека тесно взаимосвязаны.

Гомеостаз в организме и его частях поддерживает АОС через реакции дисмутации супероксида, релаксацию вновь образующихся радикалов последующих поколений до молекулярной воды. Если баланс между ОС и АОС нарушен, конечным продуктом может стать не метаболическая вода, а пероксид водорода H_2O_2 и гидроксил. Регулярное употребление воды (около 1,5 л/сутки) лицами пожилого возраста с нормальной функцией почек выполняет доступную профилактику заболеваний со свободно-радикальной природой патогенеза.

С помощью АОС организма клетки избавляются от избыточного количества свободных радикалов путем химических реакций при участии специфических ферментов, в эритроцитах, например, с помощью содержащего селен (Se) фермента глутатион-пероксидазы; а также темных пигментов, меланинов и витаминов с антиоксидантной активностью (*A, C, E, P*). Важными в физиологическом и биохимическом отношении предшественниками витаминов группы *A*

являются каротин, растительные красно-желтые пигменты (каротиноиды) и их производные, участвующие не только в фотосинтезе у высших растений и бактерий, но и в осуществлении палочкового зрения у позвоночных животных и человека, (вспомним пурпур сетчатки глаз, родопсин и витамин A_1 , или ретинол). Энергетическую основу возникновения электромагнитных эквивалентов (рецепторного потенциала) внешних раздражителей удобно показать на примере ночного и цветного зрения человека у здоровых людей и дальтоникиков.

Спектр поглощения родопсина имеет типичный для белков максимум при длине волны 275 нм и широкую полосу поглощения в видимой области с максимумом при 500 нм. Оптические явления в зрительных рецепторах, палочках сетчатки глаз, особенно важны именно в видимой области спектра [5], [13], [16], [17]. Спектральная чувствительность трех пигментов опсинов фоточувствительных колбочек максимальна при длине волны 555 нм, что указывает на отличие пигментов цветного зрения от родопсина палочек, ответственных за черно-белое восприятие сложного белого света. При любом типе врожденной цветовой слепоты (дальтонизм может быть обусловлен несколькими аллелями мутантных генов с однозначным фенотипическим проявлением) регистрируют отсутствие или пониженное содержание одного из пигментов колбочек. Красный и зеленый опсины контролируются генами X-хромосомы (болеют мужчины), синий опсин, аутомсомными генами (дальтоники при этом типе наследования мужчины и женщины) [5]. Полная цветовая слепота встречается редко, чаще всего наблюдаются нарушения восприятия красного или зеленого цвета [16].

Восприятие внешнего оптического раздражителя у дальтоникиков связано, как считают, с аномальным сочетанием и изменением структуры белков рецепторов сетчатки глаз. Однако белки липопроотеиновой матрицы зрительного анализатора, участвующие в восприятии, проведении и оценке оптических сигналов в пределах матрицы мозга, также могут быть причастны к обсуждаемой аномалии. Энергетический уровень внешнего раздражителя рецепторов сетчатки пропорционален числу квантов света $n\hbar\omega$ ($\hbar = 1,05 \cdot 10^{-34}$ Дж·с – постоянная Планка, ω – частота излучения фотонов, достигших сетчатки). Достаточно нескольких квантов энергии, чтобы вызвать раздражение окончаний зрительного нерва. Возникает рецепторный потенциал и проведение возбуждения по нервному волокну, затем формирование ощущения и его анализ в ЦНС. Последнее происходит в зрительной зоне затылочной доли больших полушарий. Процесс восприятия сигналов из внешней и внутренней среды у дальтоникиков извращен, так как белки опсины изменены и рецепторный

потенциал не соответствует норме здорового человека. Зрительно представить знакомый образ ночного перекрестка двух улиц и работу светофоров, связать появление зеленых, жёлтых и красных огней и движение автомобилей, может, по-видимому, каждый взрослый человек, но больной дальтоник будет субъективно ошибаться. При обмене сигналами и их анализе на уровне нейроглиального комплекса ЦНС не обойдется без диффузионного потока анион-радикалов кислорода из крови на поверхность мембран отростков клеток астроглии, части жидкокристаллической матрицы зрительного анализатора. Последний представлен в биосистеме рецепторами сетчатки глаз, тканями нервных волокон, не являющихся проводниками световых квантов, и поверхностью нейронов больших полушарий затылочной доли мозга. Слой черного пигмента (меланина), подстилающий сетчатку глаз и отделяющий ее от сосудистой оболочки, препятствует рассеиванию квантов, поступающих к рецепторам глаз и электромагнитным помехам, исходящим от эндотелия капилляров с кровью и распространяющимся по дипольным сетям.

У альбиносов отсутствуют либо меланинообразующие клетки, либо фермент тирозиназа, или одновременно оба фактора. Зрение при альбинизме у животных слабое (например, лабораторные белые крысы плохо видят). Темные пигменты плохо образуются у больных фенилкетонурией, поскольку образование пигментов связано с обменом аминокислот фенилаланина и тирозина, ведущего к меланину, а через образование ДОФА (3,4-диоксифенилаланина) к норадреналину и адреналину. Меланин является ловушкой для свободных радикалов, адреналин при самоокислении, напротив, генерирует $O_2^{\bullet-}$.

Дисмутация анион-радикалов кислорода под влиянием супероксиддисмутазы [14] (подробная схема приведена на рис. 3.4, где стрелкой с надписью «*SOD*» указано направление реакции) при отсутствии активности каталазы ведет к образованию перекиси водорода H_2O_2 и гидроксильного радикала OH^{\bullet} . В опытах по моделированию полимиозита на мышцах отмечен болевой эффект в мышцах передней лапки у отдельных животных. Сильный окислитель и антисептик H_2O_2 в присутствии радикалов кислорода и ионов железа Fe^{2+} распадается на молекулу O_2 анион гидроксильной группы OH^- и вторичный гидроксильный радикал OH^{\bullet} , который является мутагеном и канцерогеном, способен накопиться в тканях и разрушить любую органическую молекулу или бактерию при фагоцитозе.

Каталаза зарегистрирована у человека почти во всех клетках и содержит четыре тетрапиррольных кольца гема. Каждое такое кольцо с чередующимися двойными и одинарными связями может быть как донором, так и акцептором электрона, и поэтому мгновенно разлагает перекись водорода с образованием супероксида, молекулярного кислорода и воды. Фермент практически не нуждается в дополнительной энергии, поэтому скорость реакции полностью определяется диффузией. Фермент фагоцитов миелопероксидаза окисляет ионы галогенов до нейтрального атома с бактерицидной активностью, глутатионпероксидаза является активным участником разложения перекиси водорода внутри эритроцитов.

Хлорофилл образуется в хлоропластах и, в отличие от гема, содержит в тетрапиррольной структуре ион магния вместо железа. Эта особенность позволяет хлорофиллу растений использовать поток фотонов солнечного света как источник энергии для синтеза органических веществ из неорганических низкомолекулярных соединений, воды и углекислого газа. Фотолиз сопровождается образованием электронов и молекулярного кислорода (через супероксид). В процессе эволюции создатели кислородной атмосферы Земли, зеленые растения, выработали мощную АОС и противомикробную защиту для сдерживания негативного влияния указанных факторов, поэтому продолжительность жизни отдельных видов деревьев (дуб, секвойя) измеряется столетиями и даже тысячелетиями, что ни в какое сравнение не идет с продолжительностью жизни животных и человека.

Цепные реакции переноса электрона при моделировании заболеваний человека со свободно радикальной природой патогенеза на животных ведут начало от супероксида, индукторы которого мы вводили *per os* в виде водных растворов линейным мышам. Радикалы NO^\bullet и $\text{O}_2^{\bullet-}$ взаимодействуют, например, при совместном появлении в тканях сердца. Это ведет к образованию пероксинитрита (ONOO^-), повреждающего ткани (например, мозга человека) [19], [20]) таким образом, что в условиях длительной ишемии в хроническом опыте приводит к некрозу участка стенки сердца у мышей линии *DBA/2* [4], [8] и миокардита у мышей линии *C57Bl*.

Последовательность цепной реакции супероксида и появление вторичных радикалов упорядочена нами на энергетической диаграмме реакций (рис. 1.2) с учетом водородных потенциалов соответствующих химических соединений. Энергетическая диаграмма составлена на основе обобщения результатов

воспроизведения моделей экзофтальма, ферментзависимого нейрополимиозита и симптомов болезни Паркинсона на мышцах линии *DBA/2* и регистрации свободных радикалов в плазме крови подопытных линейных мышей методом ЭПР [1]. При составлении энергетической диаграммы также учитывались результаты опытов по изучению влияния акустических и электромагнитных колебаний на лабораторных животных (крыс и кошек) и нервно-мышечные препараты земноводных. Во всех возможных случаях в цепи реакций, ведущих начало от анион-радикала кислорода везде наблюдается дискретный (квантованный) процесс переноса электрона к последующему в цепи радикалу.

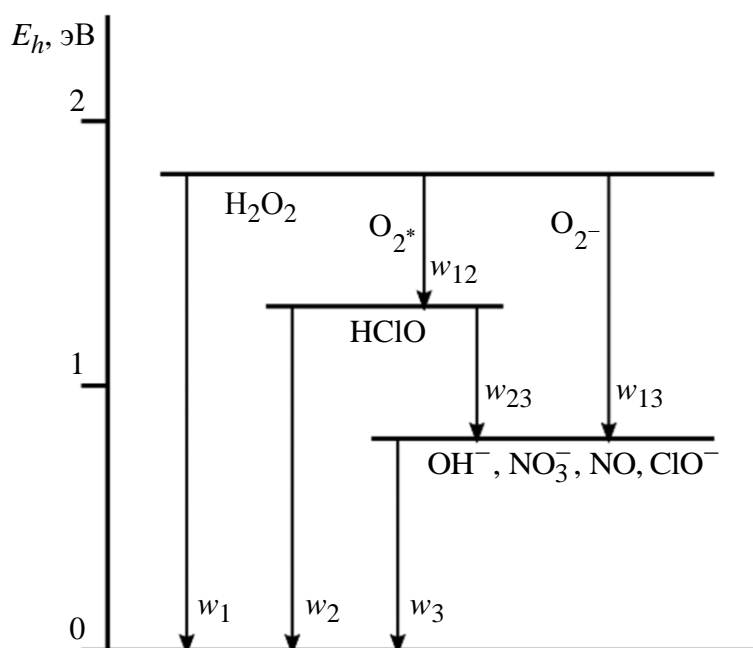


Рис. 1.2

Электрон обладает собственным спиновым магнитным моментом μ_s , поэтому основным методом для исследования строения свободных радикалов является спектроскопия электронного парамагнитного резонанса (ЭПР). Метод ЭПР достаточно чувствителен, с его помощью удастся обнаруживать радикалы в концентрациях от 10^{-9} моль/л и выявлять генерирующие супероксид растворы и свободные радикалы семихинона и кислорода в плазме крови [1] или растворах ДНК.

При моделировании нейрополимиозита и экзофтальма на линейных мышцах в хроническом опыте, можно наблюдать динамику окислительных реакций в тканях во времени, сопоставляя результаты спектроскопических опытов с клинической картиной, наблюдаемой у подопытных животных.

Применение ИК спектроскопии крови и ее плазмы позволило обосновать, а в специальных опытах с аппликацией растворов активированного

копропорфирина на нервно-мышечный препарат и сокращающийся миокард лягушки, показать роль диффузионного потока анион-радикалов кислорода в качестве фактора деполяризации клеточной мембраны, триггера процессов автоматии органов и природного электромагнитного механизма нейрогуморальной регуляции.

Факторы эволюции и выработка адаптаций [13] биосистемами разного морфофункционального уровня развития к диффузионному потоку супероксида и синглетного кислорода из внутренней среды на поверхность клеток; квантованный перенос заряда электрона радикалом через матрицу дипольной сети клеточных мембран позволили высшим позвоночным, рептилиям, птицам, млекопитающим успешно использовать энергию переноса электрона свободными радикалами и энергию постоянно присутствующего *in vivo* электромагнитного поля на жидкокристаллической белково-липидной матрице. Процессы переноса электрона радикалами и генерация электромагнитных полей начинают проявляться у эмбриона человека с появлением железосодержащей крови в каждом индивидуальном развитии на 18-е сутки, когда начинает функционировать желточный мешок, первый кроветворный орган развивающегося зародыша. Формирование индивидуальной ионофильной белково-липидной матрицы дипольной сети клеточных поверхностей происходит во внутриутробном и постнатальном развитии организма.

Гемохориальная плацента высших млекопитающих животных и человека обеспечивает функции дыхания, питания и выделения эмбриона. Выполняя иммунную защиту, плацента напоминает этим гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) мозга. В ГЭБ мозга входят эндотелий гемокapилляров, фибриллярная белковая базальная мембрана и астроглия, которые не позволяют диффузионному потоку анион-радикалов кислорода из крови непосредственно влиять на поверхность крупных нейронов, изолированных от капилляров отростками глии и межклеточным пространством [19]. Таким образом, ГЭБ обеспечивает специализацию крупных нейронов на участие в рефлекторной деятельности, а клеток глии на самовозбуждение, что обеспечивает деполяризацию и возбуждение пресинаптических мембран окончаний отростков глиальных клеток под влиянием токов смещения и электромагнитных волновых явлений на дипольной сети эндотелия капилляров.

Эндотелий капилляров мозга производит независимую от ионов Ca^{+2} изоформу синтетазы оксида азота, фермента, действие которого проявляется при

патологических состояниях мозга [19]. Диффузия метаболитов и лекарственных соединений между системой циркуляции крови и нейронами мозга обеспечивается активным транспортом по пути: эндотелий, астроглия, пространство между клетками, нейрон. Оксид азота вызывает расширение мелких артериол и капилляров, улучшает микроциркуляцию в ткани мозга, но и участвует в образовании пероксинитрита, агрессивного радикала, который повреждает клеточные мембраны и вызывает нарушение функций матрицы сердца и мозга.

Отражение и энергия – свойства материи, позволяющие человеку с различной степенью адекватности воспроизводить и изменять окружающий мир в соответствии со способностями, генетической предопределенностью индивидуальной белково-липидной матрицы к использованию квантованной энергии, обучением и материальными возможностями. Раздражимость, ощущение и восприятие как формы рефлекторно-психического отражения внешнего и внутреннего мира у индивидуума имеют электромагнитную природу. Диффузионный поток АФК (O_2^* и $O_2^{\bullet-}$) и перенос электрона свободными радикалами через дипольную сеть клеток является внутренним фактором развития, источником квантованной энергии и автоматического функционирования органов и части нейронов мозга. Радикальный фактор вызывает возбуждение, развитие и регенерацию матрицы, побуждает органы к функционированию в автоматическом режиме [13], [21], а организм – к росту, развитию и обучению. Осмысление происходящего и осознание самого себя происходит с использованием второй сигнальной системы и энергетических, электромагнитных эквивалентов внешних и внутренних раздражителей – квантованных и волновых явлений на дипольной сети организма позвоночных животных и человека, объединенного в единое целое внутренней средой и электромагнитным полем.

2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ПОЛИМИОЗИТА ВАГНЕРА–УНФЕРРИХТА

Экспериментальное моделирование патологий человека на животных имеет большое значение для медицины, в частности, для изучения патогенеза, разработки методов диагностики, лечения и профилактики заболеваний со свободно-радикальной природой. В основе патогенеза таких болезней лежит нарушение баланса между АОС и её антагонистом ОС организма [2], [21], в результате чего концентрация радикалов во внутренней среде биосистемы и плотность потока активных частиц на наружную поверхность клеточных мембран заметно меняется [3] в сторону увеличения. Патогенез большинства социально значимых заболеваний зависит, как правило, от влияния многих экзогенных факторов и генетической предрасположенности индивидуума к той или иной инфекции или совокупности причин, вызывающих болезнь. Целесообразность использования в медицине экспериментальных биологических моделей заболеваний человека, применения математического и компьютерного моделирования процессов, сопровождающих патогенез и развитие патологий у лабораторных животных в целях разработки и испытания препаратов для лечения, очевидны.

Использование лабораторных животных в целях моделирования заболеваний человека успешно продолжается уже более 150 лет. Изучение наследственных аномалий у животных показало большое сходство их развития с аналогичными отклонениями от нормы у человека. Так, пигментная дегенерация сетчатки глаза человека соответствует в своем развитии аналогичному заболеванию у собак, а сахарный диабет, осложнения которого обусловлены появлением в тканях свободных радикалов, во многом сходны у человека, хомячков и мышей, поэтому, разработанные с использованием лабораторных животных, методы антиоксидантной терапии успешно применяются при лечении людей. Частичное моделирование, или воспроизведение отдельного патологического процесса, а не всего заболевания в целом, тоже может оказаться полезным. Так, оригинальные модели гемозависимого экзофтальма и ферментзависимого нейрополимиозита на мышцах линии *DBA/2* [1], [23] являются частичными моделями сосудистых патологий (ишемии миокарда, инсульта), подтверждая свободно-радикальную природу поражений сердца, мозга, облегчая, тем самым, поиск методов антиоксидантной профилактики указанных заболеваний и расстройств, сопровождающих нарушения когнитивных способностей у человека, например, при инсульте.

В сбалансированной биосистеме концентрация активных частиц анион-радикалов во внутренней среде организма мало изменяется и колеблется у поверхности клеточных мембран эндотелия сосудов за счет плотности диффузионного потока частиц супероксида из крови на физиологическом уровне концентрации (0,096–0,098 мкмоль/л) [3]. Биосистема позвоночных животных и человека адаптирована к использованию энергии транспорта электрона свободными радикалами [13] через клеточную липопротеиновую мембрану. Диффузионный поток заряженных частиц анион-радикалов кислорода из жидкостей внутренней среды позвоночных обеспечивает модуляцию потенциала покоя на поверхности клеток, например, водителя ритма проводящей системы сердца и спонтанную диастолическую деполяризацию [2] мембран волокон миокарда. Поток супероксида из апплицируемого на поверхность раствора активированного копропорфирина влияет на его возбудимость, генерирует потенциал действия (ПД) и является триггером сокращений сердца, что показано нами в опытах с использованием земноводных.

Главные составляющие ОС крови позвоночных животных и человека – это гем, окисляющийся в гемин с образованием супероксида, и побочный продукт при синтезе гема, копропорфирин. Основной структуры этих соединений (рис. 2.1), как и хлорофилла зеленых растений, является тетрапиррол с чередующимися двойными и одинарными связями между атомами углерода. В аэробных условиях названные вещества, являющиеся фотосенсибилизаторами, при облучении квантами видимого света, или активации металлокоординатором проявляют свойства как донора, так и акцептора электрона, генерируя при этом анион-радикалы кислорода. Активные частицы радикалов вызывают цепные реакции [24] окисления тканевых субстратов с образованием вторичных радикалов, органических перекисей липидов и возрастанием риска повреждений клеточных мембран, разрушения и гибели клеток в зоне микроциркуляторного сосудистого русла животных, подвергнутых инъекции супероксид-генерирующих растворов внутрибрюшинно (*in it*) и перорально (*per os*) в эксперименте.

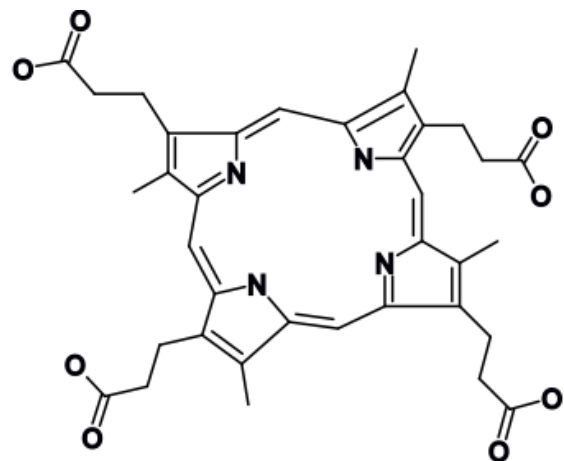


Рис. 2.1

Предложенная нами диффузионная модель взаимодействия потока свободных радикалов с активными центрами внешней поверхности клеточных мембран [3], [25], [26] позволяет сделать вывод о том, что причиной патологических состояний со свободно-радикальной природой является нарушение баланса между ОС и АОС организма, между оксидантами и антиоксидантами, в первую очередь ферментами (СОД, каталаза) и витаминами. В равновесном состоянии биосистемы диффузионный поток анион-радикалов кислорода из внутренней среды на клеточную мембрану является нормальным процессом. Энергия транспорта электрона свободными радикалами используется в механизмах нейроморальной регуляции биосистемы. Поток отрицательно заряженных частиц из крови в широких пределах модулирует вектор поляризации клеточной мембраны вплоть до генерации ПД [27]. Наличие и изменчивость потенциалов на клеточной поверхности – одно из важнейших свойств плазмалеммы.

Воздействие диффузионного потока отрицательно заряженных частиц на поверхность клеток сопровождается не только механическим смещением ионов, но также возбуждаемыми на мембране электромагнитными полями. Последние возникают при переносе неспаренного электрона свободным радикалом через мембрану в процессе окисления и восстановления активных ионофильных центров, молекул интегральных белков, адсорбирующих ионы натрия и калия (структура заряда активного центра представлена в главе 5). Изменение величины и направления вектора поляризации мембраны порождает ток смещения, магнитное поле которого распространяется вдоль плазмалеммы и взаимодействует с токами на соседних поверхностных активных центрах дипольной сети биосистемы (ткани, органа или его части).

Адреналин, пирогаллол и другие соединения с фенольной структурой, а также перекись водорода, алкоголят натрия, фермент альдегидоксидаза, другие флавопротеидные оксидазы могут способствовать появлению в тканях первичных и вторичных радикалов. Генераторы супероксида являются причиной оксидативного стресса, сопровождающегося возрастанием концентрации активных частиц радикалов во внутренней среде организма. Возраст, масса тела, степень половой зрелости и генетическая конституция подопытных животных заметно влияют на развитие патогенеза, обусловленного несбалансированным диффузионным потоком частиц свободных радикалов на клеточные поверхности.

Доминирующими радикалами в потоке заряженных частиц на клеточную поверхность из крови при моделировании полимиозита являются семихинон

(радикал дает характерный квинтетный сигнал ЭПР при тестировании сыворотки) и супероксид с последующими радикальными участниками цепной реакции, которую завершает гидроксильный радикал (его сигнал: характерный триплет дуплетов в спектре ЭПР). Оксидативная ситуация во внутренней среде и тканях подопытных мышей *DBA/2* развивается в характерную клинику. При воспроизведении модели полимиозита искусственное нарушение баланса между ОС и АОС происходит в условиях эксперимента на животных, которым регулярно вводили *per os* 1 % раствор гидрохинона и ингибитор фермента *DT*-диафороза (хинон-редуктаза). Адекватная ситуация оксидативного стресса создавалась однократным введением *in it* 1 % раствора, активированного металлом-координатором копропорфирина, при воспроизведении другой модели патологии, гемозависимого экзофтальма. Иными словами, в опытах по моделированию стресса мы использовали два разных супероксид генерирующих раствора (СГР), позволившие получить результаты по двум и даже трем патологиям, которые можно было сравнивать по разным параметрам условий воспроизведения опытов и возникающей клинической картины у линейных мышей.

Моделируемые заболевания относятся к группе синдромов, природа патогенеза которых тесно связана с повышением во внутренней среде организма концентраций семихинона, супероксида и конечных радикалов цепных реакций одноэлектронного переноса. Помимо социально значимых болезней (полимиозита, ишемии сердца, поражений головного мозга и других) к этой же группе относятся радиационные поражения (лучевая болезнь). Основными предпосылками нарушения баланса ОС и АОС в организме с последующим возникновением полимиозита считают охлаждение, травмы, переутомление и сопутствующие инфекции. Нарушение баланса ОС и АОС сопровождается усилением окислительного стресса во внутренней среде организма, а также на поверхностях сосудов, волокон, тканей и органов, омываемых жидкостями, железосодержащей кровью и её производными.

Процессы исторического становления внутренней среды у хордовых (позвоночных) и беспозвоночных животных: червей, моллюсков, жабродышащих ракообразных и других членистоногих, дышащих без помощи трахей, сопровождались поиском переносчиков кислорода и протетической группы крови (гемолимфы) в поколениях предков и существующих видов разных групп животных. Червеобразных перипатов, или онихофор (класс *Protracheata*) раньше включали в качестве отдельного класса в тип членистоногих животных (*Arthropoda*), а теперь обоснованно выделяют в самостоятельный тип *Onychophora*, немногочисленную группу, представляющую собой особую ветвь первично-трахейных,

отделившихся от общих с кольчецами и членистоногими предковых форм. Сердце перипатов представляет собой трубчатый спинной сосуд, а открытый относительно недавно переносчик кислорода в крови онихофор, гемоцианин появился вместе с белками, обслуживающими функцию дыхания беспозвоночных раньше, чем произошла дивергенция общих предков.

Бесцветные личинки асцидий повторяют общий план строения ланцетников, однако кровь асцидий содержит не железо, а ванадий, соединения которого участвуют в переносе кислорода. У хордовых и позвоночных животных, как уже отмечалось, переносчиком кислорода стал гем, простетическая группа красной крови с тетрапиррольной структурой молекулы (см. рис. 2.1).

В плазме крови беспозвоночных моллюсков и членистоногих функционируют гемоцианины, синего цвета медьсодержащие пигменты. Хорошо известные личинки мух-звонцов вырабатывают красный пигмент, способный удерживать и переносить кислород. У многих многощетинковых и малощетинковых (дождевых) кольчатых червей и разных видов моллюсков в крови содержатся гемоглобины, имеющие высокую молекулярную массу (эритрокуроины), состоящие из десятков или даже сотен субъединиц, каждая из которых содержит гем. В крови кольчатых червей содержатся зеленые пигменты, или хлорокуроины с молекулярной массой 3400 кД. Кровь морских червей содержит белок гемэретрин (105 кД), в молекуле которого шестнадцать атомов двухвалентного железа попарно связывают одну молекулу кислорода.

Тип кольчатые черви часто называют базисным, поскольку есть основания полагать, что хордовые, членистоногие и моллюски произошли именно в этой группе целомических животных (аннелид, или кольчатых червей), обладающих замкнутой кровеносной системой и вторичной полостью тела – целомом. Позвоночные, или черепные, эволюционировали от предков бесчерепных ланцетников, плазма крови которых содержит гем, но не имеет эритроцитов, до млекопитающих животных и человека в крови которых содержится до 5000000 эритроцитов/мм³.

Исследование длительного нарушения равновесия между оксидантами и антиоксидантами было осуществлено в хроническом опыте при моделировании нейрополимиозита на животных (линейные мыши *DBA/2* и *C57Bl*), у которых введением растворов-генераторов радикалов провоцировалось *in vivo* нарушение баланса свободных радикалов (баланса ОС и АОС). Эти опыты стали экспериментальной основой для разработки математической модели оксидативного стресса [28]. По завершении экспериментов проводились патоморфологические исследования гистологических препаратов скелетных мышц и миокарда мышцей.

Генерация супероксида и радикалов семихинона осуществлялась *in vivo* с помощью перорального введения животным супероксид-образующих растворов, ингибитора фермента *NAD(P)H*-дегидрогеназы, или *DT*-диафоразы (хинон-редуктазы), и 1 % водного раствора гидрохинона [2], [26], [27].

Появляющийся во внутренней среде животных семихинон определяли в плазме крови методом прямого детектирования на ЭПР спектрометре *BER418* («Bruker», ФРГ), а аддукты конечного гидроксильного радикала (*PBN-OH*) методом спиновых ловушек [29] с использованием *N*-трет-бутил-альфа-фенилнитрона (*PBN*), ловушки, которая связывает гидроксильные радикалы и позволяет их регистрировать в биологических жидкостях методом ЭПР. Введение индукторов свободных радикалов подопытным животным при воспроизведении модели нейрополимиозита производили один раз в сутки на протяжении от нескольких дней в группе «легких» мышей (начальная масса тела ~17,5 г) до нескольких месяцев в группе «тяжелых» (с начальной массой тела животных около 24,5 г). Единовременно вводимая *per os* с помощью зонда доза гидрохинона составляла 0,025 мг/г при общем объеме водных растворов 0,2 мл/особь.

Суммарная доза, вызывающая 50 %-ю смертность подопытных животных (*LD*₅₀) в группе «лёгких» мышей составила 3 единичные дозы, в группе «тяжелых» – 56 единичных доз. Посмертное исследование скелетных двигательных мышц «легких» мышей [2], [26] показало, что на пятые сутки после начала опыта в постоянных препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, а также с помощью серебрения по Кахалю и Фаворскому, регистрируется комплекс некробиотических и воспалительных изменений в сочетании с деструктивными и реактивными изменениями мягкотных (покрытых миелином) нервных волокон и их окончаний.

В мышечных волокнах наблюдались очаговое истончение, гомогенизация и контрактуры саркоплазмы с исчезновением рисунка поперечной исчерченности или их распадом на отдельные фрагменты. Перечисленные изменения в мышцах сочетались с неравномерным кровенаполнением микроциркуляторного русла, очаговыми кровоизлияниями и преимущественно лимфогистиоцитарной инфильтрацией (эндомиозия с примесью в отдельных участках мышечной ткани значительного количества полиморфноядерных лейкоцитов). Указанные воспалительно-деструктивные изменения мышечной ткани происходили на фоне деструкции и зернистого распада осевых цилиндров мягкотных нервных волокон и части нервно-мышечных синапсов при сохранности

безмякотных волокон, лишенных миелиновой оболочки. В участках с неизменными нервно-мышечными синапсами картина характерного поперечнополосатого рисунка мышечных волокон сохранялась. Нельзя также исключить возможность одновременного развития указанных патологических изменений.

Результаты нашего исследования показали, что во всех изученных препаратах реакция нервных структур развивалась однотипно, разрушались только миелиновые нервные волокна спинального происхождения, в которых наблюдался зернистый распад, но сохранялись филогенетически более древние, непокрытые миелином нервные волокна вдоль сосудов, в соединительной ткани, в составе нервно-мышечных веретен. Следует при этом подчеркнуть, что в ряде веретен миелиновые нервные волокна подвергались зернистому распаду, а непокрытые миелином сохранялись. Миелин определяет более высокую скорость распространения нервных импульсов по мякотному волокну (до 100 м/с) и, несомненно, обеспечил прогрессивное развитие нервной системы позвоночных животных.

Даже малая пространственная разобщенность окислительных процессов в отдельном веретене на уровне волокон обусловлена отсутствием субстрата для перекисного окисления липидов, миелина, в составе которого холестерин, фосфоглицериды (доминирующее соединение фосфатидил этаноламин) и галактолипиды [5]. В зрелой миелиновой оболочке нерва холестерин находят в неэтерифицированной форме, в развивающемся миелине отмечают небольшое количество десмостерина, предшественника холестерина. Одной из причин различия динамически развивающейся клинической картины при воспроизведении нейрополимиозита у «легких» (неполовозрелых) мышей и «тяжелых» (половозрелых), является, по-видимому, именно возрастная биохимическая особенность миелина. Другая причина состоит, вероятно, в недостаточном развитии АОС у молодых животных, поскольку ежедневная нагрузка вводимых в организм генераторов свободных радикалов в опытах на «легких» и «тяжелых» животных одной и той же линии была одинаковой, и рассчитывалась на единицу массы тела.

Интенсивность сигнала ЭПР семихинона в исследованных пробах плазмы крови подопытных «легких» мышей оказалась на уровне шума (1 – 4-е сутки опыта) или несколько выше (5-е сутки). Характерный для семихинонного радикала спектр ЭПР с расщеплением 0,24 мТл и соотношением интенсивностей пяти отчетливо регистрируемых пиков 1:3:5:3:1 (квинтет) в плазме крови [1] после очередного введения растворов-индукторов радикалов быстро затухал,

но при добавлении к тестируемой пробе раствора гидрохинона становился более явным. Сигнал производных гидроксильного радикала ($PBN-OH$) в виде триплета дуплетов регистрировали в плазме как результат реакции анион-радикалов кислорода с перекисью водорода, проходящей в жидкой внутренней среде биосистемы благодаря активности СОД [26] и, вероятно, недостаточно высокого уровня активности ферментов АОС, каталазы и глутатионпероксидазы.

Поскольку зернистому распаду подвергаются мякотные нервные волокна и их окончания в виде моторных бляшек на мышцах, можно утверждать, что у подопытных животных происходит нарушение двигательной иннервации, деструкция мионевральных синапсов. Скелетные мышцы сохраняют свою поперечнополосатую структуру в тех местах, где сохраняются моторные бляшки (на участках гистологических препаратов с поперечнополосатым рисунком), и подвергаются деструкции в тех местах, где они лишены иннервации (бляшки отсутствуют), поэтому можно говорить об одновременном поражении нервов и мышечных волокон в ткани двигательных мышц. Трофическая и антиоксидантная роль нервов здесь также прослеживается. У одних животных патологическая реакция, характерная для неврита, наблюдалась в нервных стволах, у других за то же время от начала введения индукторов анион-радикалов кислорода процесс зашел значительно дальше и отмечалось разрушение нервных структур.

Вывод о различии индивидуальных показателей активности АОС, (ферментативной составляющей) организма, обусловленной генами и их экспрессией (белками), напрашивается сам собой. Именно поэтому регрессивные изменения осевых цилиндров, явления воспаления и пролиферации глии у отдельных особей имеют разную степень проявления при одних и тех же условиях содержания, питания и концентраций вводимых в организм растворов индукторов свободных радикалов.

Нервно-мышечные веретена сохраняют свою структуру, но миелинизированные нервные волокна в них подвергаются зернистому распаду. Отмечается расширение всех звеньев гемомикроциркуляторного русла, что особенно было заметно в веноулярном отделе, где отмечалась лейкоцитарная инфильтрация вокруг сосудов. В более поздние сроки хронического опыта по моделированию нейрополимиозита у мышцей *DBA/2* отмечалось разрастание адвентиции сосудов артериолярного типа, наблюдалось расширение периваскулярных пространств, в отдельных случаях кровоизлияния диапедезного характера и пропитывание элементами крови мышечной ткани; в мышцах животных увеличивалось количество тучных клеток, продуцирующих, как известно, гепарин.

Последнее говорит о снижении плотности внутренней среды, стремлении биосистемы снизить концентрацию радикалов за счет разжижения крови.

Не менее информативным, чем ЭПР, оказался метод инфракрасной (ИК) спектроскопии крови подопытных животных [29], [30] и человека. Эксперименты были проведены с целью непосредственного наблюдения за результатами нарушения баланса ОС и АОС организма. В ИК спектрах образцов крови подопытных животных отчетливо наблюдалось появление и релаксация избыточных свободных радикалов по отношению амплитуд спектральных линий 3195 см^{-1} и 1645 см^{-1} , а также их смещению.

Моделирование нейрополимиозита на легких мышцах позволило проследить развитие патогенеза и его клинического течения в зависимости от количества доз введенных растворов-индукторов свободных радикалов. После введения третьей–четвертой дозы у мышей можно было наблюдать следующую клиническую картину: отдельные животные начинали подгибать правую переднюю лапку и заваливались вправо. После введения 5-й дозы у выживших мышей этой группы наблюдалось именно такое клиническое проявление болевого эффекта. В это время сигнал от гидроксильного радикала в сыворотке крови был самым интенсивным. Если боли не было (лапка не прижата), амплитуда характерного триплет-дуплетного сигнала ЭПР в сыворотке была существенно ниже.

При гистологическом исследовании патоморфологические изменения в мышцах передних и задних конечностей у мышей, получивших четыре дозы индукторов свободных радикалов, характеризовались как очаговое истончение и гомогенизация мышечных волокон. Инфильтрация чаще была умеренной. После введения животным пятой дозы индукторов анион-радикалов в препаратах скелетных мышц наблюдали ослабление нормального поперечно-полосатого рисунка, очаговую гомогенизацию с разрушением мышечных волокон, невриты и выраженную инфильтрацию, иными словами, умеренный миозит, в том числе сопровождающийся распадом миоцитов, что также происходило в мышцах у мышей, получивших 6 и 7 доз индукторов.

Микроскопическое изучение срезов двигательных мышц шеи и спины мышей из группы с начальной массой тела выше 24 г показало картину выраженного миозита после введения 25-й и 27-й доз растворов-индукторов радикалов. У выживших к этому времени животных (в описываемом опыте три особи) развивалась кахексия и формировался горб, клинические признаки токсикоза, которые ко времени введения 54-й и 56-й доз индукторов радикалов были резко выражены, но патоморфологические изменения в мышцах мышей

линии *DBA/2* при микроскопии с увеличением от 300 до 1000 раз не наблюдались. Мышечные ткани оставались без видимых морфологических изменений [28].

Среди «тяжелых» мышей этой линии в предшествующих опытах с привлечением метода электрокардиографии (ЭКГ) были отмечены отдельные случаи (1,5–2 %) ишемии миокарда после введения 20 и более доз индукторов радикалов [23]. Вскрытие отдельных животных с признаками сердечной недостаточности показало, что передняя или задняя стенка сердца у этих особей имели участки некроза («инфаркт миокарда» линейных мышечных волокон). По результатам ЭКГ у одного из животных с признаками острой сердечной недостаточности после вскрытия была отмечена выраженная инъекция крупного V-образного сосуда стенки миокарда. Слабая двигательная активность и снижение температуры тела животных отличали клиническую картину сердечной недостаточности, которая возникала обычно на пятой неделе хронического опыта после введения мышам 21-й дозы растворов индукторов радикалов.

Гистологическое изучение повреждений миокарда при моделировании нейрополимиозита было проведено также на мышцах линии *C57Bl (black)* [31], которые получили 27 доз индукторов радикалов. Выявленные воспалительно-дистрофические изменения в миокарде имели диффузный характер и отличались тонкой структурой повреждений проникающего характера. Отдельные мышцы ко времени завершения эксперимента передвигались ползком, но лапку не поджимали. ЭКГ и пониженная температура тела животных свидетельствовали о развитии сердечной недостаточности и ишемии миокарда.

Сопоставление развития клинической картины у подопытных мышей линии *C57Bl* с результатами экспериментов на менее пигментированных мышцах линии *DBA/2* показало, что последние более чувствительны к воздействию вводимого *per os* раствора гидрохинона, который является индуктором свободных радикалов, образующихся в цепных реакциях одноэлектронного переноса в жидкой субстанции организма. В данном случае имеет место последовательность: семихинон, супероксид, пергидроль, гидроксил.

Наблюдаемое при микроскопии гистологических срезов (рис. 2.2) диффузное поражение миокарда мышцей *C57Bl* имеет выраженную электрохимическую природу и осуществляется электронно-транспортной реакцией суммы частиц

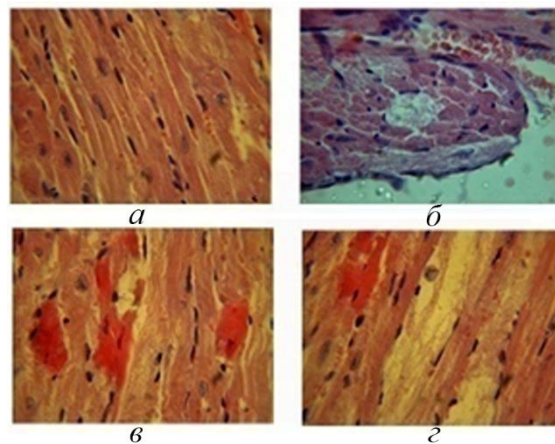


Рис. 2.2

АФК со структурными элементами липопротеиновой мембраны клеток и волокон. Наиболее вероятным механизмом такого поражения является перенос электрона радикалом через мембрану, сопровождающийся перекисным окислением и, как следствие, перфорацией клеточной оболочки в участках с нарушениями жидкокристаллической структуры липидного домена вокруг активных центров. По современным представлениям общая площадь таких участков в клетке составляет до 20 % общей площади мембраны [32].

На рис. 2.2 представлены гистологические срезы миокарда мышей *C57Bl*. Препараты окрашены гематоксилин-эозином. Увеличение от 56 до 280 (7x8; 7x40). Отдельные фотографии несут следующую информацию: а) отек части мышечных волокон и отсутствие четких контуров волокон; б) умеренная лейкоцитарная реакция; в) некроз и деструкция отдельных волокон, а также небольшой отек; г) диапедезные кровоизлияния между мышечными волокнами (правая половина фотографии).

Многие заболевания человека, а также патологические состояния, вызванные ионизирующей радиацией и стресс-факторами, характеризуются тем, что главную роль при формировании патогенеза играют здесь свободные радикалы, механизмом действия которых является одноэлектронный перенос [2], [34] и сопутствующее окисление клеточных субстратов. Воспалительно-дистрофические изменения в тканях, сопровождающие подобные патологические состояния, непосредственно связаны с атакой свободных радикалов из внутренней среды на липопротеиновые мембраны биосистемы, где в силу различных причин (в первую очередь, изменения экспрессии генов, кодирующих белки ферментов с антиоксидантной активностью) возникает и поддерживается повышенная концентрация активных частиц в жидкой субстанции организма.

Указанные и зафиксированные на фотографиях (см. рис. 2.2) изменения в скелетных мышцах [2] и миокарде у мышей были определены как диффузно-очаговый нейрополимиозит формы Вагнера–Унферрихта (встречается у человека). Условия экспериментов по моделированию заболевания позволяют связать его возникновение и развитие с ферментзависимыми нарушениями метаболизма, вызывающими активацию радикальных процессов, генерирующих ПОЛ. Ранее сотрудниками Военно-медицинской академии [2] было показано, что ПОЛ, лежащее в основе усиления катаболических процессов в скелетных мышцах при денервации и *E*-авитаминозе у кроликов, имеет своим морфологическим эквивалентом сходные с описанными выше изменениями тканей скелетных мышц у линейных мышей.

Эффективность антиоксидантной защиты организма генетически обусловлена, центральную роль в ней играют ферменты, витамины и высокомолекулярные пигменты меланины, которые являются эффективными ловушками свободных радикалов. Роль меланинов отчетливо прослеживается при сравнении обсуждаемых результатов экспериментов по моделированию патологий со свободно-радикальной природой на линейных животных. Мыши линии *C57Bl* оказались более устойчивыми к воздействию потока радикалов по сравнению с менее пигментированными мышами линии *DBA/2*, на которых и проводились основные опыты по разработке моделей и изучению механизмов, обуславливающих развитие патологий со свободно-радикальной природой (полимиозит и гемозависимый экзофтальм) [2], [23], [5], [31]. При моделировании полимиозита от 40 до 70 % мышей линии *DBA/2* имели признаки диффузно-очагового нейрополимиозита, тогда как у мышей линии *C57Bl* расстройств опорно-двигательного аппарата не наблюдалось, а поражался только миокард у отдельных особей.

Полимиозит возникает у людей разного возраста и обычно характеризуется быстрой генерализацией патологического процесса, например, при форме Вагнера–Унферрихта, составляющей около 40 % случаев типичного полимиозита (код по МКБ-10: М33.2) и дерматополимиозита (М33). У 75 % больных людей с указанной формой болезни помимо мышечных и неврологических симптомов имеются признаки поражения внутренних органов, иногда со значительными изменениями со стороны сердца [33]–[37].

В хронических опытах, длящихся от 7 до 45 суток [28], [31], у мышей линии *DBA/2* наблюдались симптомы, соответствующие именно этой форме заболевания, клинически по-разному проявляющиеся у животных разного возраста. Молодые подопытные животные с массой тела около 17 г после 4–5 суток эксперимента начинали хромать, у них наблюдался болевой синдром (рефлекс поджатой лапки); у половозрелых мышей с массой тела от 22 г и выше через несколько недель (25–27 ежесуточных доз индукторов радикалов) развивалась кахексия, искривление позвоночника с формированием горба (последствия токсикоза), разрушения в скелетных мышцах, ишемия и некроз волокон миокарда.

В целом морфологические изменения ткани в большинстве исследованных препаратов скелетных мышц [2] были определены, как диффузно-очаговый нейрополимиозит. В ряде случаев наблюдались кровоизлияния диапедезного характера (поступление в мышечную ткань форменных элементов крови

через микроперфорации сосудов). В образцах плазмы крови подопытных животных, взятых для определения свободных радикалов методом ЭПР [5], всегда в той или иной степени визуально отмечались признаки гемолиза, что определенно говорит о разрушении клеточной оболочки эритроцитов.

Ишемическая болезнь сердца наблюдалась, и была подтверждена методом ЭКГ [2] приблизительно у 5–10 % подопытных мышей разных групп двух линий. Гистологическое исследование картины срезов сердца показывает диффузное поражение всего миокарда, отсутствие рисунка поперечной исчерченности некоторых волокон (дистрофия), некроз и деструкцию отдельных мышечных волокон, сопровождающуюся небольшим отеком, и умеренно выраженную лимфоцитарную и воспалительные реакции. На препаратах были хорошо заметны венозное полнокровие, расширение капилляров и кровоизлияния.

Мыши линии *C57Bl* оказались более устойчивыми к повреждающим воздействиям радикалов на мышцы опорно-двигательного аппарата, а видимые воспалительно-дистрофические события возникали у них в миокарде. После 27 введений 0,2 мл раствора гидрохинона и ингибитора фермента *DT*-диафоразы, обычно предотвращающей появление *in vivo* свободных радикалов кислорода, изменения в миокарде имели диффузный (рассеянный) характер и тонкую структуру проникающих в ткань повреждений, что обусловлено их электрохимической природой, иными словами, атакой активных форм кислорода из внутренней среды биосистемы на границе жидкости с двойным электрическим слоем поверхности кардиомицитов [24].

DT-диафораза осуществляет восстановление субстратов (хинонов) по двухэлектронному пути сразу в двух параллельных цепях окислительно-восстановительных реакций с образованием кислорода в синглетной, т. е. незаряженной форме O_2^* .

Физико-химическая радикальная природа механизмов, вызывающих перфорацию жидкокристаллической клеточной мембраны близка к природе процессов, происходящих при формировании пористых кристаллических структур на основе кремния (подробно в главе 5).

Гидрофильные полюса интегральных молекул белков проходят через липидный слой клеточной мембраны насквозь и формируют с адсорбированными на его глобуле ионами Na^+/K^+ и аквакомплексами двойной электрический слой зарядов, параллельно ориентированных электрических дипольных моментов отдельных участков, по нашим расчетам, площадью элементарной

ячейки около 2500 нм^2 . В начальных сегментах аксонов (*AIS*) указанная площадь, судя по коллективным исследовательским работам последних лет, вероятно значительно меньше, поскольку плотность адсорбирующих ионы молекул белков на *AIS* значительно выше.

Наша концепция, лежащая в основе построения теоретической модели переноса элементарного заряда электрона свободным радикалом через клеточную мембрану, основана на морфологическом соответствии пространственных переориентаций дипольной сети клеточной поверхности переходам в сегнетоэлектриках вблизи точки Кюри с учетом жидкокристаллической структуры регенерирующей плазмалеммы клетки [39]. Модель позволяет объяснить генетически обусловленные различия в эффективности антиоксидантной системы более пигментированных мышей линии *C57Bl*, по сравнению с менее темными по окрасу мышами *DBA/2* и, соответственно, особенности клинического проявления моделируемых патологий (полимиозита и миокардита).

По сходному механизму происходит формирование неоднородной энергетической квантоворазмерной структуры поверхности в пористых полупроводниковых кристаллах в результате травления или химической полировки. Возникающие при осаждении паров SiO_2 кристаллические пористые структуры пониженной размерности [38], [40], [42] создают оптимальные условия для фазового перехода, изменяющего тип адсорбции диполей молекул воды на поверхности кристалла при переходе через капиллярную конденсацию в наноразмерных порах.

Возникает гипотеза, что такие поры могут образовываться под влиянием диффузионного потока АФК с преобладанием синглетного кислорода O_2^* из внутренней среды на поверхность глобул белков активных центров постоянно делящихся гранулярных клеток в зубчатой извилине гиппокампа (*hippocampus*), составной части старой коры (*archicortex*) головного мозга. Экспериментальное подтверждение нашей гипотезы дало бы основу по-новому оценить результаты и выводы опытов с участием делящихся клеток гиппокампа у мышей *C57Bl/GJ*.

Изучение деления и развития нейронов головного мозга и их аксонов, равно как становление афферентных и эфферентных синапсов с образованными ранее (еще у новорожденного организма) нервными клетками, является перспективным и актуальным направлением исследований когнитивных функций мозга у млекопитающих. Особенно для выяснения роли белково-липидной матрицы поверхности делящихся нейронов лимбического мозга в усвоении новой информации и памяти.

Перфорированные поверхностные структуры клетки с физической точки зрения в определенной степени адекватны матрицам полупроводников и возникают в биосистеме вероятнее всего там, где имеет место точечное взаимодействие подвижных частиц АФК на границе тканевой жидкости (электролита) и поверхности крупных молекул интегральных белков жидкокристаллической мембраны при наличии электрического поля. Упорядочение поляризации при этом происходит в момент перехода от ленгмюровского типа адсорбции к формированию дипольной сети координационно насыщенных поверхностных аквакомплексов клеточной оболочки и ее плазмалеммы, формирующейся в цистернах гранулярной ЭПС клетки в форме пузырьков (везикул). Взаимодействие потока АФК из внутренней среды организма животных и человека происходит с дипольной сетью клеточных поверхностей там, где полярные молекулы интегральных белков на расстоянии друг от друга около 50 нм (в перехватах Ранвье и начальных сегментах аксонов значительно ближе) образуют активные центры адсорбции катионов, формирующие двойной электрический слой.

Точечной атаке свободных радикалов в наших экспериментах при воспроизведении модели нейрополимиозита подвергаются интегральные глобулярные белки плазмалеммы кардиомиоцитов с адсорбированными на них ионами Na^+/K^+ и аквакомплексами координированных молекул воды. Образованная белковыми центрами дипольная сеть реагирует на повышение концентрации анион-радикалов и синглетной формы кислорода в жидкостях внутренней среды ростом скорости пространственной переориентации локальных векторов дипольных моментов в активных центрах билипидного слоя поверхности различных клеток. Это мышечные волокна и клетки, кардиомиоциты, клетки желез, нейроны и их аксоны, клетки внутренней поверхности сосудов, форменные элементы белой крови и эритроциты, любые ядерные и не имеющие ядра клетки и волокна, поверхность мембран которых омывается жидкостью, содержащей свободные радикалы.

Физические процессы взаимодействия АФК с поверхностью полупроницаемых клеточных оболочек происходят вследствие переноса электрона свободными радикалами кислорода через мембраны [2], [29], активации фотосенсибилизаторов (порфиринов) крови, флуоресценции, наконец, «прогорания» молекул липидов вблизи активных центров матрицы и «травления» поверхности молекул интегральных белков. Третичная структура белков поверхности *hurrorsampus* старой коры мозга должна стать объектом изучения новыми методами с соответствующим оснащением современными приборами,

реактивами и маркерами, в соответствии с пониманием особенностей внутренней среды и действующим фактором супероксида с неспаренным электроном на внешней орбитали.

Обоснованно можно предположить, что под влиянием диффузионного потока активных частиц кислорода и квантов возникающей флуоресценции химических компонентов капиллярной крови могут происходить изменения поверхностности глобул белков плазмалеммы подобные тем, которые происходят при процессах формирования пористых полупроводниковых кристаллов на основе кремния, без фтора, но, вероятно, с участием ионов хлора. Генерируемые в опытах процессы при воспроизведении модели полимиозита заканчиваются перфорацией и при микроскопии гистологических препаратов, приготовленных из материала скелетных мышц и миокарда мышечей, были найдены мельчайшие кровоизлияния; а в эндомизии, вне капилляров, можно было увидеть форменные элементы крови (см. рис. 2.2), как результат перфорации капилляров.

Качественно эти события, наблюдаемые при развитии патогенеза, можно описать следующим образом. Отрицательно заряженный ион-радикал (чаще всего это анион-радикал кислорода) притягивается положительным зарядом внешнего слоя клеточной мембраны и адсорбируется на молекуле интегрального белка, частично компенсируя положительный заряд диполя.

Отрицательный заряд диполя, находящийся ближе к внутренней поверхности клеточной мембраны, притягивается положительными зарядами внешнего слоя, что приводит к изменению структуры и симметрии молекулы интегрального белка с одновременным переворотом ее дипольного момента. Указанный механизм по-новому объясняет как перенос электрона через мембрану, так и встречное движение или перенос заряда ионов Na^+/K^+ , вероятно, не без участия протонов. Результатом является изменение локального вектора поляризации активного центра.

Оценка энергии переноса электрона дает значение около 0,5 ккал/моль, и его появление в клеточном матриксе инициирует работу АТФ по восстановлению упорядоченности дипольной сети за счет активного перемещения катионов Na^+ и K^+ по внутренним каналам молекул интегральных белков с АТФ активностью.

Восстановление двойного электрического слоя плазмалеммы происходит с разной эффективностью, в зависимости от соотношения между концентрацией свободных радикалов и энергетическим запасом клетки (точнее, способности клетки генерировать АТФ). В зависимости от этого развитие патологии

в тканях идет по-разному: с возникновением судорожных состояний при обратной блокаде нервного импульса [41] или/и с увеличением проницаемости сосудов [23]. Математическая модель, подробное описание которой будет дано позднее, объясняет и одновременно описывает нормальное физиологическое явление, известное как «спонтанная диастолическая деполяризация» [43]. Задерживающаяся в сердце притекающая кровь, а точнее, диффузионный поток анион-радикалов кислорода из крови на внутреннюю поверхность адаптированного к этому потоку правого ушка (*auricular dextra*), расположенного под синусно-предсердным узлом (водителем ритма) вызывает деполяризацию мембран клеток и волокон *P*-клеток миокарда и следующее за этим сокращение (систола). Поток анион-радикалов является триггером сокращений миокарда. Опыт *in vitro* на изолированном сердце лягушки с введением активированного металлом-координатором раствора копропорфирина убедительно это показывает.

С позиций представленной математической модели становится понятной разница в механизмах возникновения патологии под влиянием диффузионного потока свободных радикалов у подопытных мышей разных линий и диффузионного потока АФК с изменяющейся пропорцией супероксида и синглетной формы кислорода в крови и ликворе мозга. Фотосенсибилизаторы крови, кванты солнечного света играют существенную роль в регуляции циркадных ритмов у человека и животных. Солнечная радиация является важнейшим природным фактором как для растений, так и животных.

Шишковидное тело (пинеальная железа, эпифиз) расположено глубоко под полушариями головного мозга человека. Основной функцией железы является регуляция циркадных биоритмов и адаптации биосистемы к меняющимся условиям освещенности в течении суток и по сезонам года. Сигналом, вызывающим секрецию гормонов шишковидной железы, является свет, фотоны [16]. Активизация железы через фотосенсибилизаторы крови (гематопорфирины), которые после прохождения с током крови по сосудам глаз и кожи начинают флуоресцировать [6] и влиять гуморально на глубоко расположенный в мозге человека эпифиз, строение эндотелия капилляров в области расположения мозговых желез способствует такому влиянию.

Вернемся к особенностям релаксации свободных радикалов и клиники моделей полимиозита, экзофтальма (*DBA/2*) и модели миокардита у мышей *C57Bl*, трёх патологий со свободно-радикальной природой патогенеза [22], [24].

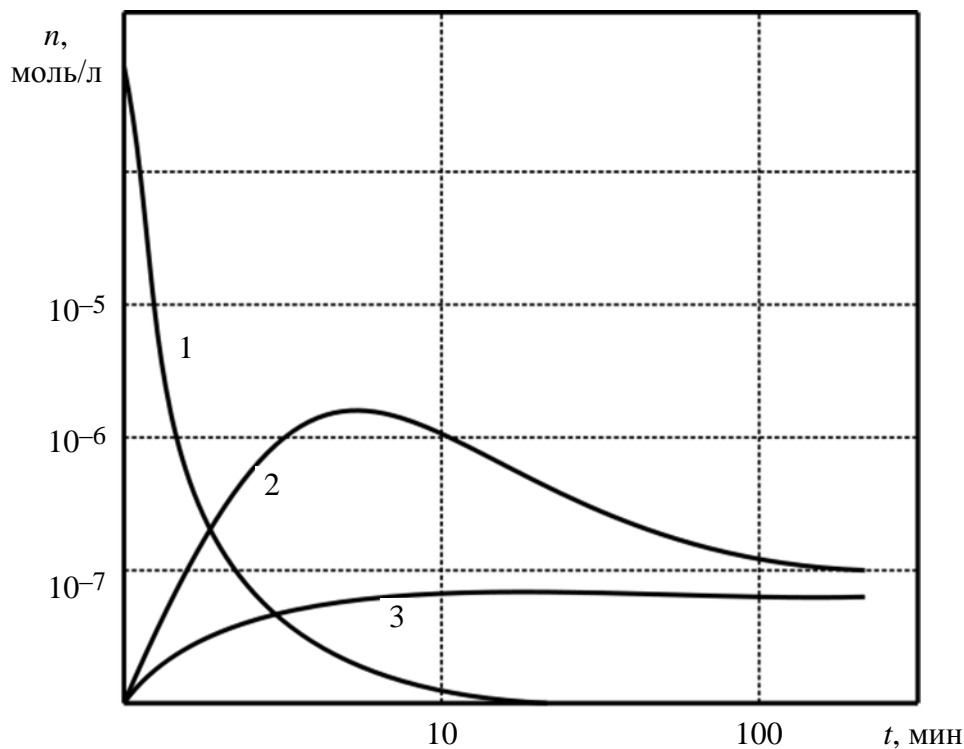


Рис. 2.3

У менее пигментированных мышей линии *DBA/2* кинетика радикалов развивается по варианту, который характеризует кривая 2 (рис. 2.3); тогда как у мышей линии *C57Bl* происходит постепенное накопление конечного продукта цепной реакции радикалов (рис. 2.3, кривая 3), в результате чего у этих мышей процессы развиваются медленнее.

Разница сопоставляемых радикальных процессов переноса электрона в сердце и мышечных волокнах скелетной мускулатуры у мышей сравниваемых линий состоит в следующем. Блокировка нервного импульса в мышцах (наблюдается при моделировании экзофтальма у *DBA/2*) происходит в области экстремума кривой 2 (рис. 2.3), является продуктом кратковременного повышения концентрации отрицательно заряженных частиц свободных радикалов и представляет собой обратимый процесс продолжительностью несколько минут, когда мыши находятся в оцепенении после введения и активации копропорфирина. Патогенетические события в волокнах миокарда более пигментированных животных *C57Bl* развиваются постепенно на фоне продолжительной повышенной концентрации свободных радикалов (рис. 2.3, кривая 3). Совокупность этих событий в миокарде отдельных животных является длительным необратимым процессом. Так как межклеточные контакты кардиомицитов обладают большим сопротивлением проведению возбуждения, рассматриваемые процессы затягиваются примерно на три недели. Мыши характеризуются

очень высоким уровнем интенсивности обмена веществ и энергии, поэтому у человека аналогичные явления продолжаются месяцы и годы.

Длительное воздействие свободных радикалов и синглетной формы кислорода на дипольную сеть миокарда мышей *C57Bl* и его волокон приводит к наблюдаемым у животных изменениям, миокард истончается, происходит дистрофия отдельных волокон с образованием микропористой структуры, через которую происходят локальные кровоизлияния и форменные элементы попадают в эндомизий миокарда. Возникающие повреждения тканей сердца со временем приобретают проникающий характер и адекватны повреждениям в скелетных мышцах *DBA/2* при развитии модели полимиозита. Модель воспроизводится в хроническом опыте, и развитие патологии во времени сопоставимо с развитием миокардита.

Патогенетический процесс одноэлектронного переноса свободными радикалами через клеточные мембраны охватывает скелетные двигательные мышцы, у отдельных особей миокард. Первыми в цепной реакции радикалов являются анионы семихинона и супероксида. Первичные радикалы и спиновые аддукты гидроксильного радикала стабильно регистрировались нами [2] в плазме крови мышей линии *DBA/2* при воспроизведении модели полимиозита.

Механизм переноса квантованной энергии по двухэлектронному типу *in vivo*, в отличие от одноэлектронного, не вызывает в тканях патологии и может трактоваться как нормальный процесс. Перенос осуществляется в двух параллельных цепях окислительно-восстановительных реакций с образованием синглетного кислорода и происходит при фотоактивации копропорфирина [17], гема или другой тетрапиррольной молекулярной структуры (например, хлорофилла) с чередующимися одинарными и двойными связями между атомами углерода. Следует заметить, что синглетный кислород менее токсичен для клеток, чем супероксидный ион с неспаренным электроном на внешней орбитали, а пропорции двух АФК во внутренней среде мозга позвоночных меняются в зависимости от времени года и освещенности.

За эффективность и скорость реакции АОС отвечает целый ансамбль белков с ферментативной активностью и витамины, функционирование и усвоение которых может быть нарушено у отдельных особей в результате генетических причин. Осуществляемый АОС контроль одноэлектронного переноса зависит от возраста и индивидуальных генетически детерминированных особенностей организмов, у которых одноэлектронный транспорт свободными радикалами через полупроницаемую клеточную мембрану участвует в модуляции

потенциалов и нейрогуморальной регуляции функций. При нарушении баланса ОС и АОС в организме могут осуществляться патогенетические изменения в тканях. Уровень балансированного гомеостаза у мышей линии *DBA/2* соответствует концентрации радикалов во внутренней среде около 10^{-7} моль/л.

Увеличение концентрации радикалов, изменения в экспрессии генов, кодирующих белки ферментов с антиоксидантной активностью, приводит к оксидативному стрессу и развитию патогенеза со свободно радикальной природой не у всех, а прежде всего у генетически предрасположенных особей. Заметную роль в возникновении и развитии патогенеза играет генотип конкретного организма.

3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ И МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНОЙ ПРИРОДЫ

В пятидесятых годах прошлого века появились первые публикации об участии свободных радикалов в старении организма человека и животных. С тех пор количество публикаций, посвященных роли радикалов в развитии патологических процессов и старения, растет. В настоящее время известно свыше ста социально значимых заболеваний человека, в том числе наблюдаемых при старении организма, в патогенезе которых свободные радикалы играют решающую роль [8]. Среди названных синдромов этой группы весьма распространенными являются заболевания сердца, ишемия и инфаркт миокарда, болезнь Альцгеймера, дислокационные поражения головного мозга, атеросклероз, рак, полимиозит, ревматоидный артрит, диабет, наконец, радиационные поражения и болезненные состояния человека и позвоночных животных, возникающие под влиянием стресс-факторов: акустических, электромагнитных, свободно-радикальных.

Значение свободных радикалов в качестве главной причины развития указанных заболеваний и патологических состояний определяется тем, что атака активных частиц диффузионного потока заряженных радикалов из внутренней среды организма (в первую очередь из крови) сопровождается развитием окислительного стресса, а также снижением продолжительности жизни клеток, их гибелью и некрозом. Так происходит, например, при инсульте и инфаркте, когда нарушен баланс между ОС и АОС организма.

Рассеянный склероз, хроническое заболевание нервной системы, обусловлен очаговым разрушением миелина преимущественно в белом веществе головного и спинного мозга. Этиология заболевания, несмотря на согласованные усилия многих исследователей, в течение последних десятилетий остается до настоящего времени не вполне понятной [46]. Причинами рассеянного склероза большинство исследователей считают длительное существование в организме больного тех или иных вирусов (например, кори, эпидемического паротита и других), что при генетической предрасположенности и неполноценности иммунной системы приводит к прогрессирующему течению множественного склероза. На поздних стадиях болезни Паркинсона почти в 100 % случаев встречается повышенный уровень гомоцистеина в крови [45], являющийся фактором риска развития сосудистых заболеваний мозга и деменции. При этом гипергомоцистеинемия положительно коррелирует со степенью кортикальной

церебральной атрофии, выраженностью атрофических изменений в гиппокампе и количеством гиперинтенсивных очагов в белом веществе головного мозга. Исследования [45] продемонстрировали снижение показателей нейропсихологических шкал, оценивающих уровень когнитивных функций у пожилых людей без деменции по мере увеличения гомоцистеина в плазме крови. Повышенный уровень гомоцистеина может быть связан с недостаточностью метионинсинтазы, *B12*-зависимого фермента, который катализирует образование метионина из накапливающегося гомоцистеина. Поражение гиппокампа, приводящее к его атрофии показывает, что специфический биохимический фактор заболевания более вероятен, чем осложнение от проводимой терапии.

Авторы работы [46] отмечают, что повреждения миелина и дисфункция поверхностного слоя клеток гиппокампа в мозге стареющих мышей при воспроизведении олигодендропатии наводят на мысль, что свойства белого вещества мозга (равно как и при моделировании нейрополимиозита нервов в мышцах) изменяются под влиянием внутренних условий, выходящих за пределы физиологической нормы. При моделировании нейрополимиозита у мышей линии *DBA/2* [31] воспалительно-деструктивные изменения скелетно-мышечной ткани развивались на фоне деструкции и зернистого распада осевых цилиндров мягкотных нервных волокон и части нервно-мышечных синапсов [2] при сохранности безмиелиновых волокон. Тканевые повреждения у больных людей и подопытных животных имеют свободно-радикальную природу и сопровождаются увеличением концентрации активных частиц радикалов во внутренней среде организма. При условии баланса ОС и АОС патологии не наблюдаются.

Гиппокамп как часть однослойной старой коры мозга располагается на корковой пластинке и омывается жидкостью только с одной стороны. Старая кора (*archicortex*) четко выражена в головном мозге, начиная с рептилий, в ее состав также входит зубчатая извилина (*gyrus dentatus*) с корковой пластинкой, содержащей густо расположенные мелкие клетки. В извилине *de novo* образуются клетки путем миотического деления (процесс нейрогенеза) [47] и дипольная сеть клеточной поверхности гиппокампа, входящего в состав круга Пейпса (гиппокампальный круг), увеличивается.

Иными словами, у здоровых людей на протяжении всей жизни, площадь жидкокристаллической матрицы мозга и, вероятно, число и площадь фрактальных кластеров на поверхности нейронов постоянно увеличиваются за счет деления и роста клеток *gyrus dentatus*. Индивидуальное развитие и рост организма позвоночных животных и человека, начиная с эмбрионального периода,

происходит при участии диффузионного потока свободных радикалов из внутренней среды на поверхность клеток, тканей и органов.

Нейрогуморальная регуляция функций организма базируется и находится в зависимости от возникающих и модулируемых потоком свободных радикалов потенциалов на поверхности мембран мышечных и железистых клеток, нейронов и их волокон в перехватах Ранвье и начальных сегментах (AIS) аксонов, корковых пирамидальных нейронов [48], нейронов Пуркинье [49], гиппокампа [47], клеток гиппокампального круга, нейронов лимбической системы, ретикулярной формации, в целом, серого вещества и участков белого, где нет миелина.

Таким образом, на поверхность липопротеиновых мембран эмбриональных, мышечных, железистых, нервных клеток и их отростков из внутренней среды устремлен диффузионный поток отрицательно заряженных частиц свободных радикалов, промежуточных продуктов фотохимических и окислительно-восстановительных реакций в крови и производных от неё жидкостей. В процессах переноса электрона участвуют многие белки-ферменты и свободные радикалы. Излучаемые кванты флуоресцирующих продуктов крови (например, копропорфирина, некоторых антибиотиков) и АФК стимулируют работу внутренних органов, в частности, эпифиза и стриатума в глубине полушарий переднего мозга.

Впервые реакции свободных радикалов как первичных и промежуточных продуктов фотобиологического процесса (реакция Красновского) отмечены при обратимом фотовосстановлении хлорофилла растений. Нами они генерировались при фото- и химической активации растворов копропорфирина с помощью гелий-неонового лазера, прямого солнечного света и раствора пероксиоксалатного рубрена, антибиотика тетрациклинового ряда [17]. Фотовосстановление сенсibilизаторов происходит в результате одноэлектронного переноса. Реакция, иллюстрирующая донорно-акцепторные свойства хлорофилла, идет по схеме (рис. 3.1), которая распространяется также и на донорно-акцепторные свойства любого тетрапиррола, координированного металлом с переменной валентностью.

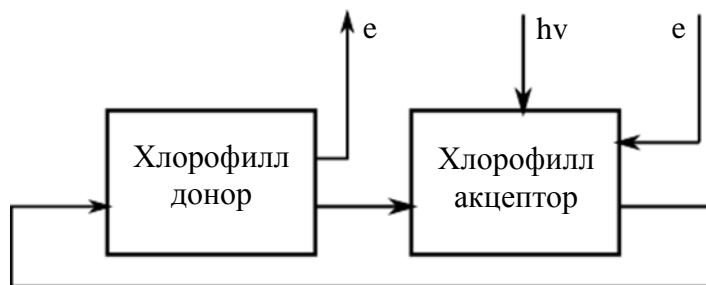


Рис. 3.1

Хлорофилл, как и другая тетрапиррольная структура (гем, например), способен как отдавать, так и получать электрон в зависимости от освещения. В темноте (в исходном состоянии, рис. 3.1) хлорофилл является донором электронов. Поглощая фотон видимого спектра солнечного излучения, он теряет электрон, окисляется и приобретает акцепторные свойства. Восстановление происходит с передачей электрона от молекул веществ сопряженного окружения, в результате чего хлорофилл восстанавливает свои донорные свойства и готов к повторению цикла «окисление – восстановление». Вследствие цикличности функционирования хлорофилл является своего рода «электронным насосом» для хлоропластов, приводимым в действие и регулируемым квантами видимого света (фотонами). Основная концепция первичных стадий фотосинтеза и других фотобиологических процессов состоит в том, что свободные радикалы образуются первыми в химической реакции, непосредственно следующей за поглощением фотона и переходом молекулы-хромофора (носителя кванта) в возбужденное состояние, далее может происходить люминесценция (холодное свечение). Более устойчивые молекулярные продукты образуются позже.

У фототрофных (фотосинтезирующих) бактерий поглощающие свет пигменты, бактериохлорофиллы, сосредоточены в полупроницаемой плазматической мембране или во внутриклеточных мелких пузырьках (везикулах) и образуют с белками липопротеиновых мембран комплексы [50]. Помимо бактериохлорофиллов, которые по химическому строению являются магнийсодержащими порфиринами, у этих анаэробных прокариот отмечены и другие вещества, участвующие в переносе электронов, например, убихиноны, цитохромы, а также каротиноиды, в том числе ликопин, содержащийся в томатах.

Действие ряда антибиотиков на бактерии основано на одноэлектронном восстановлении молекулярного кислорода в процессе отвода потока электронов от терминальных оксидаз бактериальной клетки. Образующиеся при этом АФК и гидроксильные радикалы способствуют гибели бактериальных клеток. Ионизирующее излучение, воздействуя на клеточные субстраты, также вызывает одноэлектронный перенос. В этом случае при поглощении кванта энергии происходит отрыв электрона или разрыв химической связи в субстрате с образованием свободного радикала того же хлорофилла или иной молекулы, например, семиубихинона, который совместно с железосодержащими белками цитохромами функционирует в митохондриях клеток растений, животных и грибов в составе электронно-транспортных цепей.

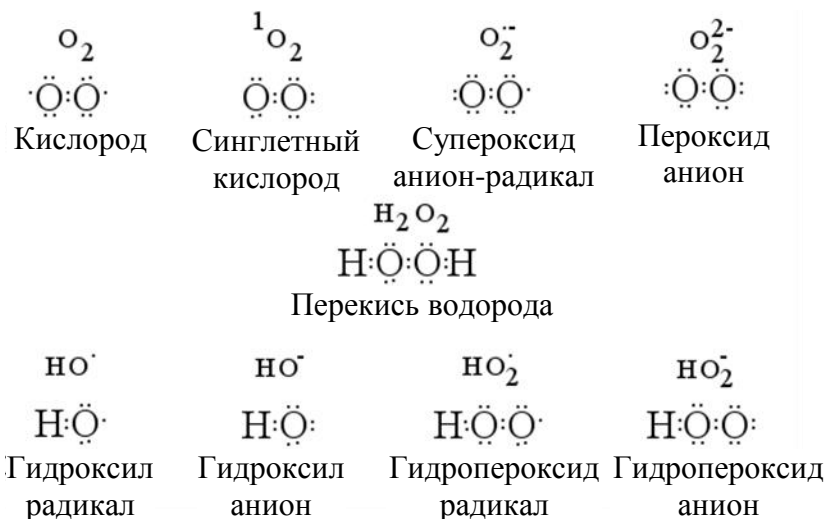


Рис. 3.2

В цитоплазме клетки образовавшаяся при реакции активная частица радикала может захватываться полярными молекулами H_2O с образованием сольватов. Цитохромы располагаются в составе мембран эндоплазматической сети, или ретикулума клеток, где происходит модификация молекул белков плазмалеммы эукариотических клеток и детоксикация чужеродных соединений (например, в печени).

Как правило, устойчивые молекулы на электронных орбиталях имеют по два парных электрона, взаимодействие магнитных моментов которых обеспечивает стабильность молекул и устойчивость таких химических соединений. У свободных радикалов на внешней электронной оболочке имеется неспаренный электрон (рис. 3.2), что делает радикалы химически активными частицами, поскольку радикал стремится вернуть себе недостающий электрон или отдать неспаренный, взаимодействуя с другими молекулами. В живых клетках эукариот в большом количестве непрерывно образуются радикалы при одноэлектронном восстановлении молекулярного кислорода.

Молекула кислорода (*диоксиген*), фактически является бирадикалом (рис. 3.2), поскольку имеет два неспаренных (отдаленных друг от друга) электрона, что придает этому самому распространенному в природе элементу высокую химическую активность. Молекулярный кислород O_2 (триплетная форма) формирует активные формы, как показано на рис. 3.3. Ионы кальция и магния образуются в результате переноса электронов только по двухэлектронному типу.

В биосистеме при одноэлектронном восстановлении кислорода из диоксигена образуется *диоксид радикал* (он же *диоксил*), отрицательно заряженный анион-радикал кислорода (O_2^-) с устоявшимся наименованием «супероксид-анион» или просто *супероксид*.

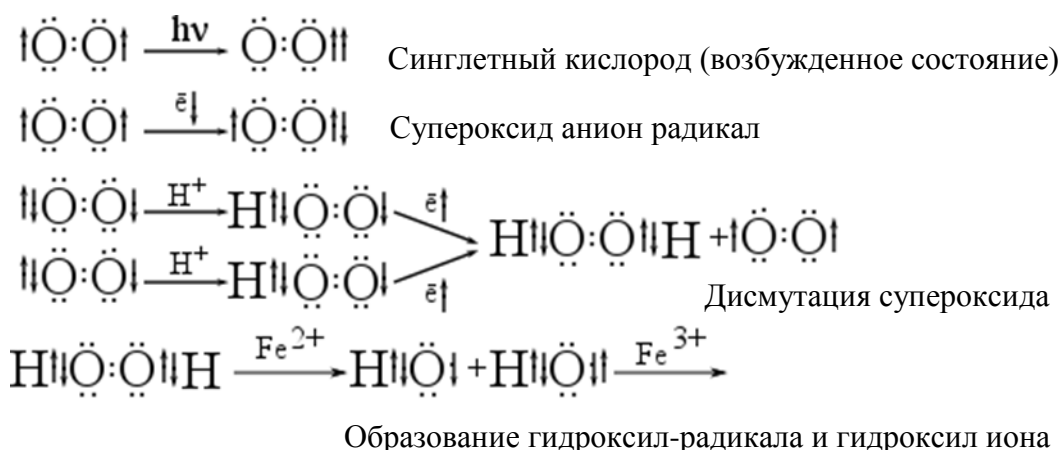
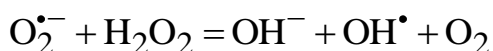


Рис. 3.3

Супероксид обладает как окислительными, так и восстановительными свойствами в зависимости от партнера (донора или акцептора электрона) по реакции. При отсутствии внешних партнеров с участием фермента СОД две молекулы супероксида (одна выступает в качестве окислителя, другая – в качестве восстановителя) в нейтральной и кислой среде присоединяют два протона, превращаясь в нейтральные молекулы перекиси водорода H_2O_2 и кислорода O_2 (рис. 3.3).

Изменяющаяся ситуация в тканях по балансу радикалов действительно разная (зависит от баланса ОС и АОС). В биологических системах, у животных, грибов и растений реакция дисмутации супероксида с участием протонов (H^+) осуществляется ферментативным путем, в котором биокатализатором является СОД. При этом промежуточным продуктом является гидропероксид-радикал, нейтральная активная частица, дальнейшее восстановление которой обеспечивает образование перекиси водорода (H_2O_2). При одноэлектронном восстановлении перекиси водорода ионами металлов переменной валентности, например, железа или меди, происходит ее распад с образованием гидроксил-иона и гидроксил-радикала OH^\bullet (см. рис. 3.3). Таким образом, каждая реакция, генерирующая супероксид, будет, благодаря действию СОД, продуцировать H_2O_2 , которая в свою очередь может реагировать с супероксидом



при наличии в среде ионов двухвалентного железа (реакция Хабера–Вайса).

Укажем еще раз на большое количество социально значимых заболеваний, в которых тканевые повреждения сопровождаются развитием окислительного стресса. Заболевания со свободно радикальной природой патогенеза в настоящее время отмечаются не только у лиц пожилого возраста.

Процессы, связанные с оксидативным влиянием внутренней среды на клеточные полупроницаемые мембраны, происходят под действием источников ионизирующего излучения, а также при бактериальных инфекциях.

Наличие внутреннего или внешнего, естественного или искусственного источника свободных радикалов вызывает в мембранах эукариот перекисное окисление липидов и перфорацию, сопровождающуюся образованием новых свободных радикалов.

Развивается цепная реакция радикалов, подробная схема образования которых представлена на рис. 3.4. В схеме использованы результаты моделирования полимиозита формы Вагнера–Унферрихта, экзофтальма и симптомов болезни Паркинсона у мышей DBA/2 (MPO – миелопероксидаза, NOS – NO-синтаза, SOD – супероксиддисмутаза, PBN – ловушка гидроксила) [8].

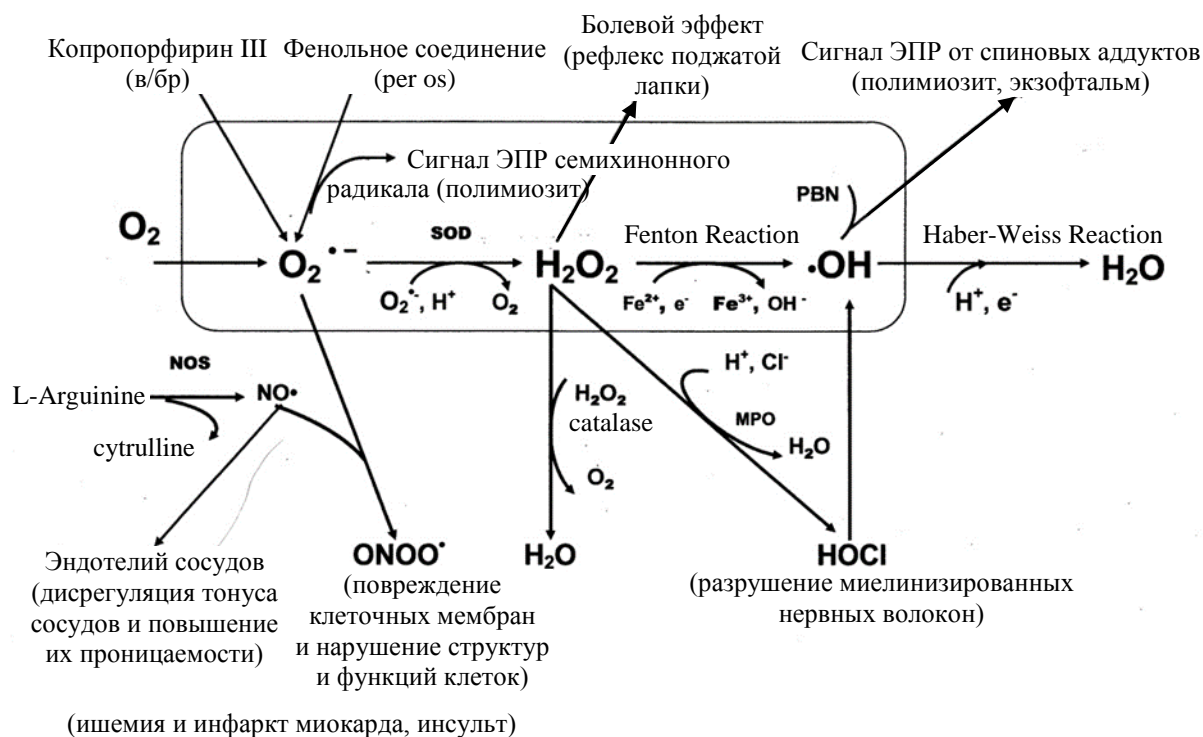


Рис. 3.4

Первичный высокоэнергетический радикал ($O_2^{\bullet -}$), оказывая непосредственное воздействие на клеточные липиды и липоиды, способен дополнительно продуцировать определенный набор вторичных радикалов, усиливая тем самым свое неблагоприятное действие при нарушении баланса ОС и АОС при интенсификации диффузионного потока заряженных частиц, переносящих неспаренный электрон.

Высокая реакционная способность радикалов, наличие оксидоредуктазных ферментных систем способствуют превращению первичных радикалов

в другие продукты, также обладающие высокой химической активностью. Физические процессы, связанные с релаксацией радикалов в жидких субстанциях организма, как правило, проходят в несколько этапов, каждый из которых представляет собой окислительно-восстановительную реакцию с переносом электрона. На каждом из этапов возможно появление вторичных радикалов, которые образуются в результате появления молекул органических пероксидов и некоторых других активных соединений (например, малонового диальдегида).

С другой стороны, первичные радикалы необходимы для нормальной жизнедеятельности как отдельных клеток, так и всего организма в целом. Это семихиноны, радикалы переносчиков электронов от флавопротеидов к кислороду в дыхательной цепи митохондрий, в частности, убисемихинон (радикал коэнзима Q, например, CoQ₉, CoQ₁₀), цитохромы, а также никотиновые и флавиновые радикалы (*NAD*- и *FAD*-дегидрогеназы). При этом *NAD* (никотинамиддинуклеотид), *NADPH* (никотинамид-динуклеотидфосфат) и *FAD* (флавинадениндинуклеотид) локализованы в матриксе митохондрий рядом с внутренней мембраной, а также в цитозоле, где образуют комплексы с белками. Так, *NAD*- и *FAD*-дегидрогеназы реагируют с субстратами (например, фенолами и другими молекулами-переносчиками электронов и протонов) в аэробной среде с образованием семихинона и супероксида [51].

Наличие соответствующих радикалов подтверждается спектрами оптического поглощения двух форм флавинового семихинона в присутствии глюкозооксидазы [5] и спектром ЭПР (рис. 3.5) окисленной (а) и восстановленной (б) форм флавожелезосеропротеида [5].

Радикал NO^{\bullet} возникает под влиянием ферментов, называемых *NO*-синтазами (рис. 3.4: *NOS*). Первичный оксид азота представляет собой естественный экстенсивный внутренний фактор позвоночных животных и человека, это медиатор расслабления гладких мышц сосудов, регулирующих кровяное давление. *In vivo* радикал NO^{\bullet} окисляет гемоглобин в метгемоглобин, а в реакциях с супероксидом при соответствующем локальном состоянии АОС в тканях дает пероксинитрит ($ONOO^{\bullet-}$), ключевой радикал, регистрируемый при нарушении структуры и функций клеток, вызывающий

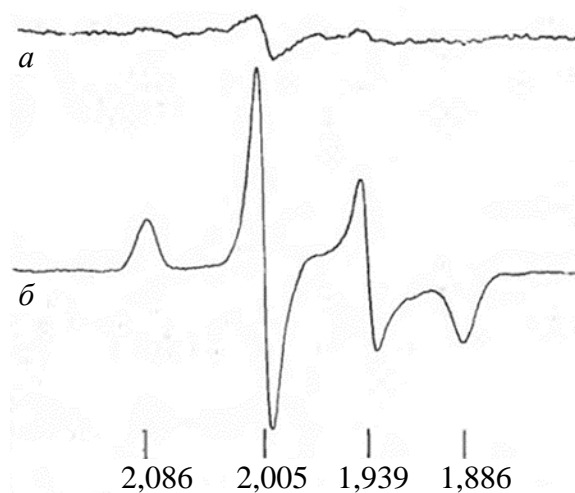


Рис. 3.5

повреждения наружных клеточных оболочек и участки некроза в тканях сердца и мозга при инсультах и инфарктах.

При участии белка-фермента *NADPH*-оксидаза наружной мембраны фагоцитирующих клеток также образуется супероксид, который, в свою очередь, индуцирует появление вторичных радикалов кислорода [8] и продуктов ПОЛ, выступая, таким образом, составной частью ОС организма и одновременно участником клеточной формы иммунитета. Мощная реакция фагоцитов (их мембрана генерирует супероксид) при остром инфицировании людей с системными хроническими синдромами радикальной природы может временно активизировать течение хронического заболевания (например, дерматополимиозита, ишемии, атеросклероза).

Патогенетическое воздействие вторичных радикалов на организм иллюстрируется схемой последовательных превращений первичного радикала в реакциях Фентона и Хабера–Вайса (см. рис. 3.4). Следует отметить, что воспроизведение гемозависимого экзофтальма у мышей линии *DBA/2* представляет собой частичную модель инсульта, или модель сосудистой патологии, сопоставимую с развитием дислокационных поражений головного мозга человека при остром нарушении кровообращения, которому предшествует разрыв или закупорка сосудов в ткани мозга.

Экспериментальная модель гемозависимого экзофтальма у мышей *DBA/2* проявляется в форме острого приступа у 5 – 20 % подопытных самцов или самок животных с массой тела от 22 г и выше. В качестве индуктора приступа использовались водные растворы (0,1–0,2 мл/особь) копропорфирина, активированного солью металла-координатора, который служит генератором супероксидного анион-радикала кислорода. Растворы вводили внутривентриально, в дозах от 0,015 до 0,050 мг/г. Через 1–2 ч после введения у отдельных мышей развивался патологический процесс, который захватывал один или оба глаза. Роговица глаза при этом мутнела, а яблоко глаза со светящимся в центре, как маленькая искра, зрачком заметно выпячивалось из глазницы вперед. Приблизительно через сутки пораженный глаз принимал форму конуса и сморщивался. Препарирование животных с экзофтальмом показало, что за глазным яблоком у них образовывалась объемная гематома в результате разрыва кровеносного сосуда. В отдельных случаях поврежденный глаз вытекал, что положительно сказывалось на продолжительности жизни особи. Мыши с экспериментальным экзофтальмом живут, как правило, недолго, так как развитие воспалительного процесса приводит их к быстрой гибели.

В хроническом опыте, когда условия воспроизведения экзофтальма и полимиозита у линейных мышей сочетались, а LD_{50} подопытных животных составила 56 единичных доз перорального (гидрохинон) и внутривнутрибрюшинного (копропорфирин) введения растворов-индукторов радикалов [24], на его завершающем этапе у животных были зарегистрированы симптомы болезни Паркинсона (тремор конечностей). Введение мышам с дрожащими конечностями препарата леводопа *per os* в терапевтической дозе сказывалось положительно (тремор прекращался).

Этиология болезни Паркинсона связана со свободно-радикальными процессами и изменением баланса ОС и АОС в клетках проводящих путей мозга (белом веществе) и приводит к разрушению миелинизированных нервных волокон. При этом важным ключевым промежуточным продуктом цепных радикальных превращений от пергидроля к гидроксилу является нестойкая *in vitro* хлорноватистая кислота HOCl (см. рис. 3.4), по мере разложения которой реакция хлора с водой смещается в сторону образования гипохлорит-аниона ClO^- (мощного окислителя) и хлористого водорода. Гипохлорит-анион не является радикалом, но входит в цепную реакцию, поскольку взаимодействует с кислородом с образованием гидроксила, а также с перекисью водорода с образованием синглетного кислорода O_2^* . Миелин нервных волокон в результате суммарного влияния АФК и весьма агрессивных кислот разрушается.

При развивающейся болезни Паркинсона у людей отмечены [45] локальные изменения в балансе химических передатчиков нервного импульса, а по сути, в нарушении равновесия между ОС и АОС, в снижении скорости синтеза миелина клетками неврилеммы экстрапирамидной системы мозга, совокупности клеточных образований головного мозга, участвующих в организации движений, мышечного тонуса и позы. У млекопитающих центральным образованием экстрапирамидной системы является полосатое тело (*corpus striatum*), скопление серого вещества в глубине полушарий переднего мозга. Полосатое тело участвует в организации памяти, эмоциональном поведении, а нарушение его функций сопровождается двигательными расстройствами и развитием синдрома паркинсонизма.

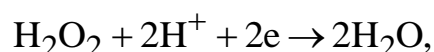
Экстрапирамидная система головного мозга эволюционно более древняя, чем пирамидные пути, исходящие от крупных пирамидных клеток Беца моторной зоны неокортекса к ядрам переднего рога спинного мозга. Нисходящая проводящая система появляется впервые у млекопитающих и наиболее развита у приматов. В норме обе системы взаимодействуют при осуществлении

двигательных актов. Движения при этом становятся плавными, устанавливается исходная поза для их выполнения. Пирамидные пути содержат в своем составе как быстропроводящие, так и медленнопроводящие (не покрытые миелином) волокна и регулируют сложные произвольные движения, нарушения которых при паркинсонизме (особенно, тремор) весьма заметны и характерны.

На основе схемы, иллюстрирующей генерацию первичных радикалов семихинона и супероксида *in vivo* при внутрибрюшинном (*in it*) и пероральном (*per os*) введении растворов-индукторов свободных радикалов, было проведено экспериментальное воспроизведение патологий. Свободно-радикальная природа экспериментальных моделей патологий [1] показана с помощью ЭПР-спектроскопии. Была разработана методика управлением концентрации первичных радикалов внутрибрюшинными инъекциями раствора копропорфина (моделирование экзофтальма), активированного хлорным железом (металл-координатор Fe^{3+}), а также введением *per os* раствора фенольного соединения (1 % водный раствор гидрохинона) и суспензии ингибитора фермента *DT*-диафораза при моделировании полимиозита.

Конечным соединением в цепи реакций с одноэлектронным переносом свободными радикалами всегда является вода, одним из исходных продуктов для которой служит радикал гидроксила. Отождествляя работу переноса электрона в каждой из реакций с нормальным электродным потенциалом соответствующего продукта, мы составили энергетическую диаграмму для основных компонентов процесса, на основе которой отчетливо прослеживается механизм цепной реакции с появлением нескольких поколений вторичных радикалов (см. рис. 1.2) через определенные временные интервалы.

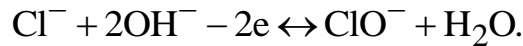
Появление супероксида в биосистеме вызывает активные процессы его дисмутации, окончательным продуктом которой является пероксид водорода, избыток которого, по нашему мнению, вызывает у мышей болевые эффекты. При наличии в цитозоле фермента каталаза перекись водорода способна восстановиться до воды по двухэлектронному типу, физиологическому (не опасному для здоровья) механизму в соответствии с реакцией



электродный потенциал воды 1,77 В. Протоны практически всегда принимают участие в реакциях свободных радикалов в цитозоле.

Путь восстановления пероксида водорода, возникающего в реакциях дисмутации супероксида, осуществляется в биосистеме через реакции Фентона и

Хабера-Вайса (см. рис. 3.4), а также с образованием гипохлоритов (солей хлорноватистой кислоты) через хлорноватистую кислоту HOCl , редокс-потенциал которой 1,33 В. Напомним, что двухэлектронный путь восстановления хинонов, лазерное облучение или экспозиция на солнце раствора копропорфирина ведут к образованию синглетной формы кислорода. Хлорноватистая кислота образуется, в свою очередь, при взаимодействии анионов хлора с водой и быстро распадается до гипохлорит-аниона с редокс-потенциалом 0,88 В и воды:



Ионы хлора внутри клеток встречаются в концентрации 4 мэкв/л, их внеклеточная концентрация около 120 мэкв/л [5].

Для биологической системы является характерным одновременный процесс образования ионов и радикалов, быстрая релаксация которых происходит благодаря наличию в организме ОС и АОС, совместно поддерживающих динамическое равновесие свободных радикалов. Примеры показывают, что фактически ОС и АОС функционируют в организме связано, это легко проследить по реакциям релаксации перекиси водорода, в процессе которых происходит генерация таких радикалов, как гидроксил- или гипохлоритный комплекс ClO^- .

Количественно функционирование АОС при импульсном нарушении гомеостаза в рассматриваемой модели сводится к решению трех связанных дифференциальных уравнений

$$\frac{dN_1}{dt} = -w_1N_1 - w_{12}N_1 - w_{13}N_1; \quad (3.1)$$

$$\frac{dN_2}{dt} = -w_2N_2 + w_{12}N_1 - w_{23}N_2; \quad (3.2)$$

$$\frac{dN_3}{dt} = -w_3N_3 + w_{23}N_1 + w_{13}N_1, \quad (3.3)$$

где N_1, N_2, N_3 – мгновенные концентрации пероксида (H_2O_2), хлорноватистой кислоты (HClO) и гидроксила (OH^- и OH^\bullet) как основного среди группы радикалов с близким редокс-потенциалом.

Первое уравнение (3.1) описывает релаксацию пероксида, его решение представляет собой простой экспоненциальный спад

$$N_1(t) = N_{10} \exp(-w_{1ef}t),$$

где n_{10} имеет смысл начальной неравновесной концентрации пероксида в организме, которая возникла в результате нарушения равновесной концентрации супероксида. Эффективная скорость релаксации (w_{1ef}) пероксида определяется, как видно из энергетической схемы, тремя составляющими, что соответствует выражению

$$w_{1ef} = w_{1ef} + w_{1ef} + w_{1ef} = \frac{1}{\tau_{1ef}},$$

где τ_{1ef} – эффективное время релаксации пероксида.

Разрушение одного из вторичных продуктов (в нашем примере это кислородсодержащая хлорноватистая кислота HClO) имеет более сложный характер, поскольку нестойкая кислота кроме диссоциации на ионы с временем τ_2 обеспечивает также генерацию гипохлорит-аниона ClO^- и гидроксил-радикала OH^\bullet . Таким образом, решение уравнения (3.2) имеет вид

$$N_2 = N_{10} K_{12} \exp(-w_{2ef} t) (1 - \exp(-(w_{1ef} - w_{2ef}) t)),$$

где K_{12} – коэффициент трансформации соответствующего комплекса,

$$K_{12} = \frac{w_{12}}{w_{1ef} - w_{2ef}},$$

а для эффективного времени релаксации хлорноватистой кислоты получим

$$w_{2ef} = w_2 + w_{23} = \frac{1}{\tau_{2ef}}.$$

Изменение концентрации гидроксила (3.3) подчиняется выражению, являющемуся линейной комбинацией трех экспонент с временами релаксации, характерными для всех трех радикалов:

$$N_3 = N_{10} [K_{13} \exp(-w_{1ef} t) - K_{23} \exp(-w_{2ef} t) + K_3 \exp(-w_3 t)].$$

Здесь следует отметить, что конечный в цепи радикал обладает собственным, не зависящим от первичных радикалов механизмом релаксации, поскольку константа w_3 в затухающем слагаемом $\exp(-w_3 t)$ определяется только собственной релаксацией радикала. Это следует учитывать при различных внешних воздействиях, так или иначе влияющих на антиоксидантную функцию биологической системы.

Соответствующие коэффициенты трансформации описывают достаточно сложные механизмы электронного транспорта в редокс-процессах, взаимосвязь которых убедительно показывает сложность и неоднозначность внешних воздействий на АОС организма. Выражения для коэффициентов трансформации имеют вид:

$$K_{13} = \frac{1}{w_{1ef} - w_3} \left(\frac{w_{12}w_{23}}{w_{1ef} - w_{2ef}} - w_{13} \right),$$

$$K_{23} = \frac{1}{w_{2ef} - w_3} \frac{w_{12}w_{23}}{w_{1ef} - w_{2ef}},$$

$$K_3 = \frac{w_{13}}{w_{2ef} - w_3} + \frac{w_{12}w_{23}}{(w_{1ef} - w_3)(w_{2ef} - w_3)}.$$

Полученные уравнения позволяют провести моделирование процессов накопления и релаксации радикалов в организме, а также осуществить анализ различных механизмов АОС. Следует вывод, что релаксация каждого радикала существенно зависит от двух факторов: скорости реакции, продуктом которой являются радикалы последующих поколений, и скорости собственной релаксации радикала, зависящей от окружения донорами и акцепторами электронов. Графики показывают типичную кинетику спада концентрации неравновесных радикалов [24], обозначенных на рис. 3.6.

Исключение составляет конечный радикал в цепи, на котором заканчивается цепная реакция. Для конечного радикала существенной особенностью является возможность его накопления при слабом механизме специфической защиты против этого радикала (рис. 3.7).

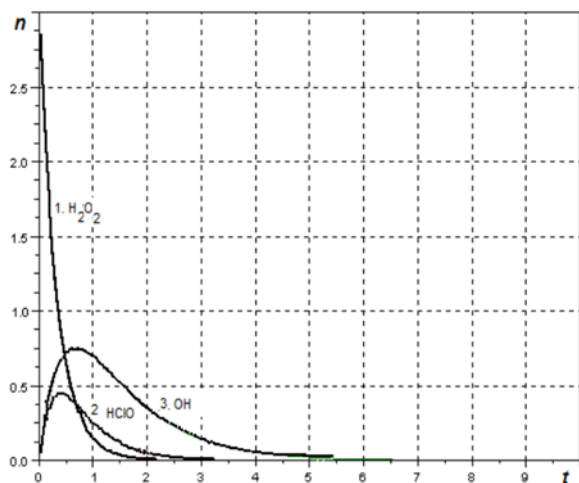


Рис. 3.6

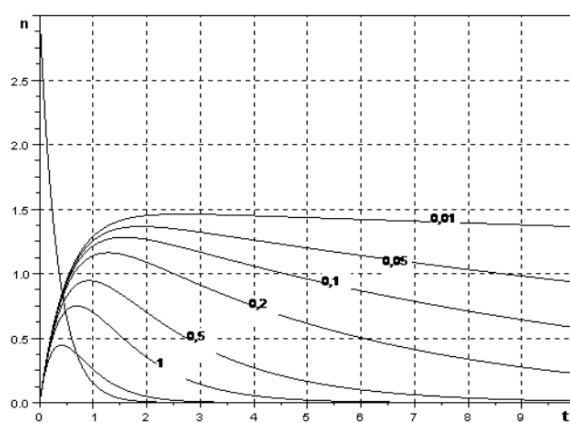


Рис. 3.7

Тотальное воздействие того или иного радикала на организм поддается учету, если ввести понятие интегральной дозы радикала, которая рассчитывается по формуле

$$D = \varepsilon_i \int_0^{\infty} N(t) dt,$$

где ε_i — энергия релаксации радикала в пересчете на перенос одного электрона, $N(t)$ — выражение, описывающее зависимость концентрации радикала от

времени. Значение энергии релаксации предположительно можно оценить по величине водородного редокс-потенциала.

Наиболее простое выражение характеризует дозу первичного радикала, зависимость концентрации которого описывается одноэкспоненциальным спадом:

$$D_1 = \varepsilon_1 N_{10} \tau_{1ef}.$$

Расчет доз следующих поколений радикалов проводится аналогичным образом. При этом доза вторичного радикала

$$D_2 = \varepsilon_2 N_{10} K_{12} \tau_{2ef},$$

а доза радикалов третьего поколения существенно зависит от их собственной релаксации:

$$D_3 = \varepsilon_3 N_{10} (K_{13} \tau_{1ef} - K_{23} \tau_{2ef} + K_3 \tau_3).$$

Если исходить из предположения, что гомеостаз биологической системы контролируется энергетическими соотношениями, представляется возможным экспериментально оценить равновесную (назовем её физиологической) концентрацию радикалов в организме. В соответствии с распределением Больцмана [52] отношение концентраций подчиняется соотношениям

$$\frac{N_{10}}{N_{20}} = \exp\left(-\frac{\varepsilon_{12}}{kT}\right), \quad \frac{N_{10}}{N_{20}} = \exp\left(-\frac{\varepsilon_{12}}{kT}\right),$$

где $k = 1,380662 \cdot 10^{-23}$ Дж/К – постоянная Больцмана, а ε_{ij} – разность между энергетическими состояниями соответствующих радикалов в пересчете на одноэлектронный перенос. Значение kT для теплокровных организмов варьируется в диапазоне 0,026 – 0,028 эВ, что существенно меньше энергетической разности между состояниями радикалов, поэтому в биосистеме наибольшая концентрация достигается у радикалов последних поколений, в частности, у гидроксила. Равновесная концентрация гидроксила была измерена методом ЭПР [1] в сыворотке крови мышей, её значение составляет около 10^{-7} моль/л. Эксперименты с использованием других методик и образцов позволяют предположить, что это значение типично и для других млекопитающих животных и человека.

Скорости релаксации радикалов также связаны аналогичными соотношениями, из которых следует, что вероятности релаксации высокоэнергетических радикалов существенно выше, т. е. время релаксации короче, чем у радикалов последних поколений. Таким образом, доза, полученная организмом в

результате действия высокоэнергетического радикала, сокращается за счет малого времени его релаксации. Например, скорости релаксации пероксида и гидроксила относятся как

$$\frac{w_3}{w_1} = \exp\left(\frac{\varepsilon_{13}}{kT}\right),$$

что после подстановки дает превышение времени релаксации гидроксила OH^\bullet над временем релаксации пероксида H_2O_2 почти в 15 000 000 раз (!). Учитывая, что экспериментально измеренное нами время релаксации гидроксила в образцах крови мышей линии *DBA/2* составляет около 20 мин, получим для пероксида время релаксации порядка $8 \cdot 10^{-5}$ с. Примерно такое же время релаксации должно наблюдаться для скорости дисмутации супероксида и релаксации синглетного кислорода. Именно поэтому в биосистемах наблюдается, в основном, эффект действия низкоэнергетических радикалов, который наступает после их накопления (кумулятивно), через часы, дни и более длительные промежутки времени.

Одноэлектронный перенос зарядов свободными радикалами через полупроницаемую плазмалемму клетки является неотъемлемой частью баланса между ОС и АОС. Рост концентрации свободных радикалов *in vivo* приводит к нарушению указанного баланса и повреждениям в структуре молекул ДНК хромосом и митохондрий, липопротеидных мембран и сопровождается изменениями локальных потенциалов клеточной поверхности. Таким образом, динамика радикальных процессов с момента их возникновения имеет по меньшей мере три существенно различных временных шкалы, на которых происходят физико-химические и биологические изменения в организме [29].

Первая временная шкала соответствует времени жизни свободного радикала во внутренней среде организма (как правило, это единицы микросекунд), когда реализуется его функция в качестве триггера энергетически ёмких событий на мембранах. Процессы, протекающие в течение столь короткого времени, практически невозможно исследовать спектроскопическими методами.

Вторая временная шкала лежит в интервале от нескольких секунд до десятков минут и отражает характерные изменения внутренней подвижности молекул жидкостей и структур тканей после увеличения концентрации свободных радикалов в организме и зависит от генетически детерминированной АОС организма. Процессы, протекающие в данном временном интервале, можно наблюдать с помощью различных методов спектроскопии биологических субстратов, в том числе в ИК-диапазоне и методами магнитного резонанса.

Третья временная шкала берет начало через несколько часов (и более), отражая нарастающие изменения в жизнедеятельности организма в результате развития окислительного стресса и разного рода изменений в тканях и органах с радикальной природой патогенеза.

Электронный парамагнитный резонанс (ЭПР) [1] и ИК-спектроскопия [30], [53] достаточно надежно выявляют существование двух, связанных радикальными эффектами физиологических механизмов инактивации свободных радикалов, дисмутации супероксида и энергоёмкое изменение жидкокристаллической структуры клеточной мембраны, скорости которых существенно различаются. Константа дисмутации супероксида составляет около 10^5 моль⁻¹ · с⁻¹, еще быстрее супероксид реагирует с некоторыми другими радикалами, например, со своим антагонистом, оксидом азота NO[•], образуя пероксинитрит ONOO⁻. Самая высокая константа реакции (10^9 моль⁻¹ · с⁻¹) имеет место в присутствии СОД [51]. Скорость этой реакции ограничена только числом столкновений молекул фермента и супероксида, что служит регулятором потока активных заряженных частиц на мембрану клетки и защищает ее от повреждающего действия радикала. С другой стороны, эффекты, проявляющиеся в изменении структуры клеточной мембраны, наблюдаемые в ИК-спектрах образцов крови [30], [53], протекают со скоростью около 10^{-3} с⁻¹. Столь сильное различие в скоростях дисмутации супероксида и изменения структуры клеточной мембраны позволяет разделить во времени описание кинетики соответствующих процессов. В частности, скорость изменения концентрации активных микрочастиц в жидкостях и тканях организма (кровь, ликвор, нервные и мышечные волокна) достаточно адекватно описывается феноменологическим уравнением

$$\frac{dN_R}{dt} = \frac{N_R}{\tau_n} + \frac{C_R}{\tau_g} - \frac{N_R}{\tau_{trans}}, \quad (3.4)$$

содержащим несколько временных констант, каждая из которых характеризует независимые процессы, имеющие следующую физическую природу.

Процесс, характеризуемый константой τ_g , – генерация радикалов внутренними источниками организма. Мощность ОС организма, таким образом, сопоставляется со скоростью генерации радикалов C_R/τ_g , где C_R – равновесная концентрация ион-радикала кислорода. Короткое время жизни супероксида не позволяет непосредственно измерить его концентрацию *in vivo*. Однако, метод ЭПР позволил при моделировании экзофтальма [1], [18] и полимиозита [17] оценить значение этой концентрации как 10^{-7} моль/л.

Исследования образцов крови и плазмы мышей, проведенные с помощью ИК-спектроскопии, показали [30], [53], [54], что указанная концентрация наблюдается как в образцах крови контрольной группы животных, так и в крови мышей спустя 1 ч после внутрибрюшинной инъекции активированного раствора. Это дает возможность считать измеренную нами концентрацию соответствующей гомеостазу у подопытных животных. Постоянная времени τ_n характеризует скорость нейтрализации активных частиц под действием АОС организма, которая включается в качестве слагаемого N_R/τ_n . N_R – мгновенное значение концентрации активных частиц. Константа τ_n является эффективным временем релаксации процессов различной природы, с разными скоростями физико-химических событий, происходящих в объемной фазе жидкой субстанции. Скорость этих процессов в основном обусловлена частотой столкновений взаимодействующих частиц. К ним, в частности, относятся спонтанная и каталитическая дисмутация супероксида, взаимодействия его с другими радикалами (цепные реакции) и протонами, взаимопревращения заряженных частиц и процессы, обусловленные наличием и концентрацией ловушек и мишеней радикалов в объемной фазе жидкой субстанции.

Слагаемое N_R/τ_{trans} , пропорциональное диффузионному потоку радикалов из внутренней среды на мембранную поверхность клетки, описывает поглощение активных частиц и перенос заряда, происходящий из жидкостей приближенного к мембране межклеточного пространства, с расстояния, равного диффузионной длине пробега частицы $\lambda_R=(D_R\tau_R)^{1/2}$, где D_R – коэффициент диффузии радикала, значения которого в жидкой среде и мышечных тканях $2,5 \cdot 10^{-5}$ см²/с и $1,8 \cdot 10^{-6}$ см²/с. Если процесс диффузии эффективно восстанавливает концентрацию активных частиц вблизи поверхности мембраны, то плотность диффузионного потока частиц на поверхность плазмалеммы определится соотношением

$$j_{\text{dif}} = N_R \sqrt{\frac{D_R}{\tau_R}}. \quad (3.5)$$

Учет размерного эффекта в проводящем жидкость канале приводит к выражению

$$\frac{N_R}{\tau_{\text{trans}}} = \frac{N_R}{r_c} \sqrt{\frac{D_R}{\tau_R}},$$

где r_c – радиус капилляра. Окончательно уравнение (3.5) для скорости изменения концентрации радикала в жидкой субстанции принимает вид

$$\frac{dN_R}{dt} = \frac{C_R}{\tau_g} - \frac{N_R}{\tau_n} \left(1 + \frac{N_R}{r_c} \sqrt{\frac{D_R}{\tau_R}} \right),$$

условие ($dN_R/dt = 0$) установления равновесной концентрации супероксида приводит к выражению

$$N_R^\infty = C_R \frac{\tau_n}{\tau_g} \left(1 + \frac{\tau_n}{r_c} \sqrt{\frac{D_R}{\tau_R}} \right)^{-1}, \quad (3.6)$$

анализ которого позволяет прогнозировать ряд ситуаций, характерных для реальной биологической системы, в которой происходят реакции с участием свободных радикалов.



Рис. 3.8

При подстановке в выражение (3.6) оценочных значений концентрации радикалов и указанных выше временных констант, становится ясным, что в условиях баланса мощности ОС и эффективности АОС ($\tau_g = \tau_n$) концентрация анион-радикала кислорода в жидкой субстанции практически не зависит от уровня активности обеих систем, колеблясь от 0,098 мкмоль/л до 0,096 мкмоль/л при изменении времени жизни радикала на два порядка (от 10^{-5} с до 10^{-7} с). Таким образом, модель, построенная на принципах молекулярной динамики, демонстрирует важное следствие, заключающееся в том, что в организме в условиях баланса ОС и АОС поддерживается постоянная концентрация активных отрицательно заряженных частиц, как в жидкостях внутренней среды, так и в тканях организма, независимо от активности указанных систем. Рис.3.8 иллюстрирует сохранение гомеостаза в сбалансированной системе (прямая 1) в широких пределах изменения активности ОС.

Еще одна особенность, которую демонстрирует модель сбалансированной системы, состоит в том, что мощность потока активных частиц на поверхность сосудов растет при увеличении активности ОС (прямая 2). Диффузия

частиц супероксида в крови может обеспечить рост градиента концентрации радикала в направлении стенок сосудов и вызвать уменьшение времени жизни радикала кислорода ввиду неизбежного увеличения активности СОД (цитозольной и митохондриальной) с целью усиления защиты клеток и органоидов от разрушающего действия супероксида. Полученный результат в определенной степени коррелирует с широко распространенными представлениями о том, что продолжительность жизни клеток находится в обратной зависимости от активности СОД, что, возможно, является следствием роста концентрации перекиси водорода и конечного радикала гидроксила.

Отсутствие или временное нарушение баланса в системе приводит к тому, что гомеостаз становится неустойчивым, а значение физиологической концентрации радикала смещается, следуя за изменениями активности составляющих системы. При этом увеличение общей концентрации активных частиц радикалов происходит практически одинаково, независимо от того, произошло ли оно в результате повышения активности ОС, т. е. усиления мощности супероксид-генерирующих систем (СГС), или за счет угнетения АОС организма. Модель демонстрирует определенные различия в поведении потока активных частиц на стенке сосудов. Различие в потоке частиц обусловлено, как показывает наша модель, различием в динамике активизации АОС. Результаты моделирования представлены на рис. 3.9.

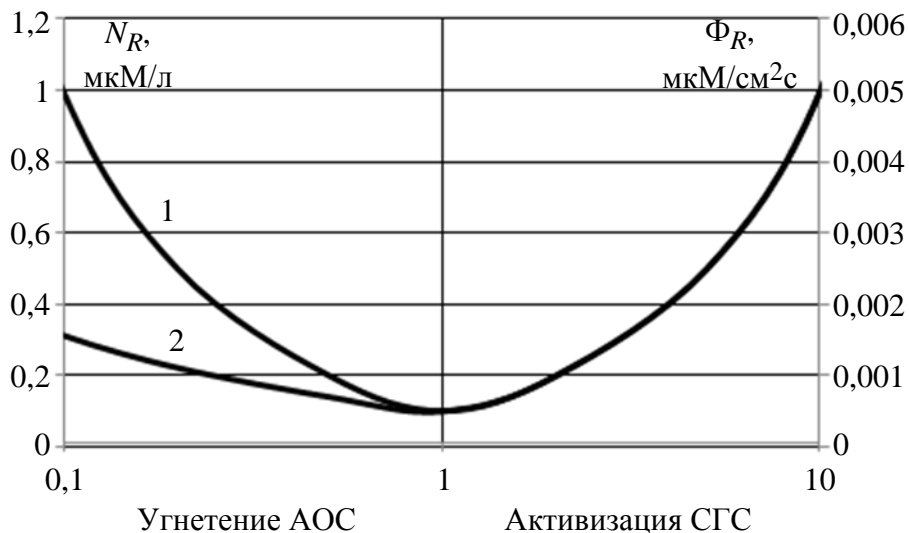


Рис. 3.9

Так, увеличение активности ОС (супероксид-генерирующей системы СГС) с одновременной задержкой активизации АОС в организме (правая область на рис. 3.9) приводит к тому, что физиологическая концентрация радикала возрастает в значительной степени, а поток активных частиц на стенке

сосудов увеличивается пропорционально увеличению концентрации радикала в объеме жидкости.

Такой механизм установления физиологической концентрации может быть обусловлен действием внутренних стресс-факторов, а также внешними воздействиями, стимулирующими процессы гемолиза, такими как, например, внешнее ионизирующее излучение. Процессы гемолиза, при которых из эритроцитов в плазму поступают одновременно СОД и гемоглобин, регулярно наблюдались во всех наших экспериментах по моделированию экзофтальма и полимиозита, причем животные, у которых гемолиз проходил достаточно активно, типичных признаков моделируемого заболевания не демонстрировали. Это дает возможность предположить, что гемолиз является одной из составляющих АОС организма, включающейся в критических ситуациях, что позволяет до некоторой степени избежать специфических повреждений свободно-радикальной природы в тканях.

Левая область рис. 3.9 моделирует ситуацию, когда при постоянной активности ОС происходит ослабление АОС. Эта ситуация скорее всего соответствует возрастным изменениям в организме, когда стенки сосудов испытывают длительное воздействие повышенной концентрации супероксида, а в объеме жидкости ускоряются окислительные цепные реакции, связанные с взаимопревращением радикалов и их аддуктов. В наших экспериментах это соответствует моделированию полимиозита в хронических опытах с поражением миокарда половозрелых мышей со средней массой тела более 22 г (мы их называем «тяжелыми»).

Наши экспериментальные исследования на линейных мышцах показали, что нарушение баланса между мощностью ОС (СГС) и эффективностью антиоксидантной системы АОС с большой вероятностью ведет к появлению широкого спектра патологий, которые моделируют многие социально значимые заболевания человека, имеющие радикальную природу. Прямое воздействие на баланс ОС и АОС в организме линейных мышечей осуществляли с помощью введения ингибитора фермента *DT*-диафоразы. Животным *per os* вводили препарат пеллентан. Эффект снижения активности фермента состоял в понижении порога деполяризации мембран, а также смещения равновесной области генерации АФК в сторону увеличения концентрации анион-радикала кислорода. Противоположный результат достигался при стимуляции процесса глюкуронизации (выведения билирубина с мочой) фенобарбиталом. По данным ИК-спектроскопии в этом случае нивелировался эффект изменения отношения

амплитуд линий поглощения ИК-спектра образцов крови подопытных животных, показатели которых приближались к таковым для образцов крови животных контрольной группы.

Копропорфирин использовался нами для вариации активности ОС и адекватен по химической структуре гему. Так же как хлорофилл растений и гем крови животных, препарат (в наших опытах микробного происхождения) имеет тетрапирольную структуру и способен при химической или фотоактивации генерировать супероксидный ион. Кровь является важнейшей составляющей ОС, одновременно обеспечивая баланс ОС и АОС в организме. Способность крови к выполнению функции балансировки может быть прослежена по содержанию билирубина, поскольку количество гемина в крови напрямую связано с уровнем концентрации свободного гема, основной путь обмена которого идет через билирубин. Концентрация последнего в крови колеблется в достаточно широких пределах: от 3,5 до 17 мкмоль/л (верхний предел нормы). При экспериментировании на мышах результат инъекции активированного копропорфина эквивалентен в биохимическом отношении превращению гемоглобина в метгемоглобин. Это сопутствует симптоматике больных детей с редким врожденным заболеванием гипербилирубинемия (синдром Криглера–Найяра). Концентрация билирубина при первом типе синдрома достигает в организме значения 855 мкмоль/л, что сопровождается выраженными неврологическими симптомами (опистотонус, нистагм, апное), связанными с блокировкой или аномальным проведением у больного нервных импульсов к мышцам. Заболевание обусловлено отсутствием у новорожденных с врожденным синдромом фермента уридиндифосфатглюкуронил-трансфераза (УДФГТ) при первом типе заболевания или значительным снижением его активности при втором типе, который поддается лечению фенобарбиталом, стимулирующим активность УДФГТ на 25 %.

Важный характер поверхностных взаимодействий диффузионного потока свободных радикалов и синглетного кислорода из крови и ликвора на обращенные к внутренней среде поверхности клеток выявляется при анализе работы миокарда. Рассматривая процесс, называемый автоматией сердца [28], следует учитывать, что в структуру миокарда входят не только предсердия и желудочки, но и ушки предсердий (*auricula dextra & sinistra*) препарирование которых после извлечения органа показывает, что внутренняя стенка их камер имеет

перекладины (трабекулы), увеличивающие площадь поверхности. В полостях между складками всегда можно найти сгустки крови, которая там задерживается. Наличие трабекул указывает на приспособленность аурикул к выполнению определенных функций, их поверхность увеличена и, как следствие, растет число контактирующих с ней активных частиц радикалов из крови. Физиологи давно отмечали, что частота импульсов в *P*-клетках проводящей системы сердца в значительной степени зависит от омывающей его крови, нервных влияний, а также воздействия биологически активных веществ. Синусно-предсердный узел (водитель ритма) расположен над ушком правого предсердия у места впадения в него поллой вены и играет роль ведущего центра автоматии сердца. Кровь находится в ушках не менее 0,4–0,5 с, и образующийся поток отрицательно заряженных частиц супероксида из жидкой среды на дипольную сеть миокарда вызывает спонтанную диастолическую деполяризацию, что ведет к систоле предсердий, а затем желудочков. Адреналин, поступивший в кровь, усиливает работу сердца по той же причине.

Образованная ионофильными белками мембраны дипольная сеть поверхности клеток, тканей и органов реагирует на местное и общее повышение концентрации свободных радикалов во внутренней среде ростом частоты пространственной переориентации дипольных моментов, интегрированных в билипидный слой плазмалеммы молекул структурных белков. Возникающие в процессе одноэлектронного переноса токи смещения приобретают синфазный характер, подобно вынужденным переходам в квантовых системах, в результате чего формируются одиночные электромагнитные импульсы солитонного типа, распространяющиеся по дипольной сети клеточных поверхностей. В нейронной сети такие импульсы передаются на большие расстояния и могут блокировать передачу управляющих сигналов.

Главным выводом, полученным на основании результатов выполненных экспериментов и компьютерного моделирования воздействия диффузионного потока свободных радикалов на поверхность плазмалеммы, следует считать то, что перенос неспаренного электрона радикалом выполняет ведущую энергетическую роль в нейрогуморальной регуляции основных функций организма, что позволяет ему в широких пределах перестраивать совместное функционирование ОС и АОС в соответствии с реакцией нервной и эндокринной систем на изменения условий внешней и внутренней среды.

Нейрогумолярная регуляция происходит в результате поверхностных взаимодействий активных частиц, в первую очередь АФК, с дипольной сетью липопротеиновых мембран матрицы биосистемы, её клеток, обращенных к внутренней среде. Так, в гипоталамо-гипофизарной области мозга гематоэнцефалический барьер снабжен специальными порами, затянутыми двумя клеточными мембранами (16–20 нм) проницаемой структурой для квантов энергии, специализированной ячейкой дипольной сети.

4. СВОБОДНЫЕ РАДИКАЛЫ И ПРИРОДНЫЙ МУТАГЕНЕЗ

Об индуцированном химическом мутагенезе стало известно в начале 30-х годов XX в., когда работами отечественных генетиков В. В. Сахарова, М. Е. Лобашева и Ф. А. Смирнова [4] было установлено, что наследственные изменения могут возникать в результате воздействия определенных веществ.

В частности, о генетически значимых воздействиях формальдегида и близких к нему карбонильных соединений на ДНК хромосомы и нуклеотиды подробно говорится в монографии Ш. Ауэрбаха «Проблемы мутагенеза» [55]. Известно, что аминокислота триптофан превращается у млекопитающих двумя путями: один путь с участием моноаминоксидазы до альдегида, а другой – с участием триптофан-2,3-диоксигеназы до формил-кинурина. Интерес генетиков к карбонильным соединениям (кетонам, альдегидам) и хинонам обусловлен тем, что указанные вещества используются в промышленности и медицине, а уксусный альдегид (ацетальдегид), или этаналь (CH_3CHO), является метаболитом этилового спирта и образуется в клетках печени человека под влиянием фермента алкогольдегидрогеназы.

Констатируя химическое взаимодействие карбонильных соединений в опытах при изучении механизма их влияния на ДНК надо понимать, что *in vivo*, т. е. на уровне весьма низких концентраций веществ во внутренней среде и тканях организма необходимы определенные локальные условия для мутации. Иными словами, на основе локального изменения баланса активности ферментов АОС и продуцирования АФК оксидативной системой (ОС) скорее всего и происходит увеличение концентрации свободных радикалов в ткани, что ведет к возникновению ион-радикальных состояний ДНК и, в конечном счёте, наследуемым мутациям ДНК в ядрах клеток эукариот и митохондриях. Недостаточная эффективность иммунной системы приводит к увеличению числа и быстрому размножению переродившихся клеток с мутациями и малигнизации – превращению клеток ткани в злокачественные.

В качестве примера успешного исследования процессов переноса электрона в биологической системе представим методику исследования методом спектроскопии ЭПР взаимодействия ДНК сальмонелл (*Escherichia coli*) с 1,4-бензохиноном и гидрохиноном в водной среде *in vitro*. В спектрах водных растворов названных веществ сигналов ЭПР не наблюдается. При добавлении ДНК к раствору гидрохинона в весовом соотношении 1:1 в ЭПР спектре наблюдается квинтет с расщеплением 0,24 мТл и отношением интенсивностей

компонент 1:3:5:3:1, что типично для семихинонного радикала [2], [4]. Это позволяет идентифицировать акцепторы электрона, которыми в данном случае являются пиримидиновые основания ДНК, характеризующиеся более сильным сродством к электрону, чем пурины. Таким образом, образование анион-радикальных состояний является начальной стадией повреждения ДНК и наблюдается, в частности, также и под действием ионизирующего γ -облучения. При добавлении ДНК к раствору 1,4-бензохинона (также в отношении 1:1) регистрируется слабый сигнал, ширина линии которого 0,13 мТл. Аналогичный спектр наблюдается при взаимодействии гидрохинона с бензохиноном при избытке последнего в растворе. Спектр ЭПР, следовательно, позволяет установить наличие комплекса с переносом заряда между гидрохиноном и бензохиноном. При взаимодействии 1,4-бензохинона с ДНК промежуточный семихинонный радикал не удается зарегистрировать в спектрах ЭПР, однако появление синглетного сигнала ЭПР свидетельствует о том, что в присутствии ДНК идет восстановление токсичного бензохинона до нетоксичного гидрохинона [4]. В этом процессе донорами электрона могут служить пуриновые основания ДНК. Таким образом, спектры ЭПР не только позволяют установить, что бензохинон и гидрохинон вступают в окислительно-восстановительные реакции с ДНК [59], но демонстрируют также, что первичными являются реакции одноэлектронного переноса, приводящие к появлению ион-радикальных состояний ДНК как начальных этапов её повреждения. Хиноны в биосистеме при определенных условиях могут стать источником супероксида и вызвать цепную реакцию переноса электрона радикалами, которая заканчивается образованием гидроксильного радикала и ведет к разрушению любой органической молекулы, появлению электронов и перекисных радикалов, реагирующих между собой и с органическими перекисями.

Повреждения ДНК и хромосом в ядре клетки могут возникнуть в результате влияния различных внешних факторов, обладающих неопластическим действием, т. е. алкилирующих соединений с мутагенной активностью, УФ и других видов радиации. Онкогенные вирусы также способствуют развитию заболеваний, объединяемых общим названием «рак» (карцинома), которые имеют свободно-радикальную природу патогенеза, такую же, как лучевая болезнь [4], [56]. Иными словами, тканевые повреждения при этих заболеваниях происходят на основе изменения баланса ОС и АОС. Мутации гена митохондрий, кодирующего *Mn*-СОД, и как следствие, общее снижение активности ферментов АОС способствуют превращению быстро делящихся клеток

неоплазм в источник свободных радикалов в тканях, где произошло локальное нарушение баланса. Установление вирусной природы некоторых видов опухолей не противоречит концепции «мутаген–канцероген», поскольку граница между индукцией мутаций в результате химических изменений гена и включения в него нуклеотидных последовательностей чужеродной ДНК представляется весьма условной.

Одним из факторов изменчивости живых существ, населяющих нашу планету, является естественная радиация, фон которой складывается из космических лучей и излучения Земли. Солнечная компонента космических лучей в основном представлена потоком протонов высоких энергий, концентрация которых около Земли при солнечных вспышках возрастает в несколько десятков раз. Кроме того, в годы активного Солнца повышается интенсивность его рентгеновского излучения. УФ-излучение, также как ионизирующая радиация, обладает высокой биологической активностью. Их мутагенное действие наиболее эффективно в пределах длины волн 240–280 нм, причем точечные мутации ДНК под влиянием УФ-лучей возникают чаще, чем хромосомные повреждения [4]. В настоящее время коротковолновая часть спектра солнечного излучения достигает поверхности Земли на уровне моря далеко не полностью. Исключение составляют высокогорные районы, где у живущих людей ввиду повышенного уровня инсоляции чаще возникают такие заболевания, как пигментная ксеродерма, часто заканчивающаяся возникновением рака кожи. Атмосфера и озоновый слой интенсивно поглощает радиацию на длинах волн короче 290 нм. Выход растений, членистоногих, а затем позвоночных животных из Мирового океана на сушу был связан с накоплением в атмосфере в результате электрических разрядов озона и снижением уровня коротковолновой радиации на поверхность планеты в позднем силуре.

Спектральный состав коротковолновой солнечной радиации в те далекие эпохи существенно отличался по интенсивности от современного состояния, поэтому в тканях древних наземных растений и членистоногих животных происходило образование большого количества *o*-хинонов и органических перекисей, токсинов. Выдержать действие агрессивных факторов внутренней среды смогли только адаптированные формы организмов. В гиподерме предков современных членистоногих [4], наиболее процветающей в настоящее время группы животных, *o*-хиноны стали конденсироваться в меланин, поступая при этом в периодически сбрасываемую кутикулу. Темные пигменты (меланины) образуются в результате превращений аминокислоты тирозин, и у

людей, населяющих территории с высоким уровнем сезонной инсоляции, исторически возникла и продолжает возникать защитная адаптация кожи. Альбиносам с нарушением образования меланина противопоказано длительное пребывание на солнце.

Избытки хинонов, карбонильных соединений и перекисей стали накапливаться в складках межсегментных мембран древних членистых животных. Складки кожных покровов со временем приняли вид резервуаров желез, высланных изнутри хитином, изолирующим токсины от живых тканей. Примечательно, что типично почвенные и пещерные виды перипатов, древних животных, произошедших от общих с кольчецами и членистоногими предков, утратили способность образовывать меланин. Выработав в глубокой древности указанные свойства кожных покровов, предки современных членистоногих стали использовать токсины в борьбе за существование с конкурирующими организмами. Когда уровень естественной радиации на поверхности планеты снизился, кожные структуры древних членистоногих, приспособленные для накопления радиотоксинов, потеряли свое первоначальное назначение, но в результате приобретения вторичной функции не исчезли, а трансформировались во внутренние защитные железы [4], которые стали секретировать близкие к радиотоксинам соединения.

В современных условиях в естественный ход изменчивости органического мира вмешивается антропогенный фактор. Потенциальная радиационная угроза для окружающей среды представляет собой опасность. Наиболее защищены от последствий радиационного загрязнения членистоногие животные, которые располагают не только множеством видов и форм с высоким потенциалом размножения, но обладают способностью накапливать и выделять карбонильные соединения. Вероятно, это может сказаться на адаптации членистоногих при увеличении на планете радиационного фона. Позвоночные животные обладают системой «тирозин–тирозилаза» и способны образовывать и отторгать во время линьки меланин, но накапливать без губительных последствий в своем организме свободные радикалы не могут.

Что касается высших растений, среди которых отмечены радиоустойчивые формы, механизм такого рода устойчивости остается не вполне ясным. На основании опытных данных о том, что у семян радиоустойчивых растений, по сравнению с чувствительными, содержится большее количество хинонов, а под влиянием γ -облучения наиболее заметное увеличение количества этих

соединений наблюдается у радиочувствительных форм, А. М. Кузин с соавторами [4] высказали в своё время предположение, что чувствительность к облучению у изученных растений связана с содержанием и обменом хинонов. Биохимические процессы образования меланина у растений локализируются в оболочках плодов и семян, а скорость их протекания у разных видов и сортов растений может, по-видимому, влиять на утилизацию образующихся токсинов и защиту собственного генома. Роль *o*-хинонов, органических перекисей и соединений типа малонового диальдегида в развитии лучевого поражения подтверждает справедливость нашей гипотезы о происхождении защитных желез членистоногих и одновременно генетическую функцию альдегидов и других карбонильных соединений, природных мутагенов, а также их продуцентов, членистоногих животных, растений и грибов, объединяемых общим понятием – мутагенофоры [4].

Мутагенная активность соединений, содержащих одну или несколько карбонильных групп, как правило, небольшая, но была выявлена тесная статистическая связь мутагенной активности веществ с канцерогенной активностью [4] для млекопитающих. Тестирование на прокариотах позволяет определить потенциальную угрозу того или иного вещества для здоровья человека, не прибегая к длительным и дорогостоящим медицинским исследованиям при скрининге на способность вызывать злокачественный рост (канцерогенную активность) веществ-кандидатов в лекарственные средства, косметику, пищевые добавки и прочие продукты потребления.

Лабораторные испытания веществ с целью выявления их мутагенной активности и тесно связанной с ней канцерогенной активности, определяемой в доклинических условиях, проводят на специальных штаммах сальмонелл. Результаты могут быть экстраполированы на организм позвоночных в связи с тем, что указанная система тестирования *in vitro* использует активацию исследуемых веществ с помощью ферментов микросом (печени крыс или кур), т. е. дает ответ не только относительно мутагенной активности конкретного вещества, но и его вероятных метаболитов в организме теплокровных животных и человека.

Среди первых природных мутагенов, которые изучались, были многочисленные пирролизидиновые алкалоиды, присутствующие приблизительно у 50 видов растений [58]. Видами растений, содержащими эти алкалоиды, являются мать-и-мачеха, крестовники, экстракты из последних используются для приготовления лекарственных препаратов, например, в Малайзии, Индонезии,

Индии. В западной Европе листья крестовника идут на приготовление лекарственного чая. Пирролизидиновый алкалоид, петазитенин содержится в цветоножках японского белокопытника, используемого как лекарственное и пищевое растение.

Пирролизидиновые алкалоиды синтезируются не только в указанных растениях, гемолимфа бабочек и ткани куколок кровавой медведицы (*Hypocrita jacobaea*) [9] также содержат эти соединения. Наиболее важным является то, что в результате рефлекса кровотечения у бабочек [40], алкалоиды могут поступать в окружающую среду, как и другие генетически активные соединения многих членистоногих, использующих экссудаты защитных желез против врагов, а их активность может проявляться при контактах с самыми разнообразными живыми объектами.

Механизм действия пирролизидиновых алкалоидов был долгое время неясен, ввиду того что химически эти соединения весьма инертны и не вызывают изменений ДНК *in vitro*, поэтому химическое объяснение их мутагенности и канцерогенности по причине алкилирующего действия алкалоидов на нуклеиновые основания ДНК трудно было принять. Так, делеции (выпадения) или дубликации отдельных нуклеотидов в молекуле ДНК, вероятнее всего могут возникать в результате разрывов в обеих цепях спирали ДНК, что чаще всего является результатом влияния какого-либо алкилирующего агента, способного вызывать разрывы хромосом.

Пирролизидиновые алкалоиды обладают канцерогенной активностью [4]. Что касается способности алкалоидов повреждать молекулу ДНК и вызывать мутации, установлено, что гелиотрин и монокроталин вызывают повреждения ДНК в присутствии микросом печени, по-видимому, в результате приобретения алкалоидами алкилирующего действия. Активация ферментами печени, вероятно, превращает алкалоиды в бифункциональные алкилирующие агенты. Данное предположение весьма вероятно, поскольку было также установлено, что пирролизидиновые алкалоиды претерпевают метаболические превращения в печени, что приводит к образованию пиррола. В молекулах алкалоидов содержится по два сопряженных кольца пиррола. Тетрапиррольное кольцо в составе гема и копропорфирина крови позвоночных животных и человека может быть как донором, так и акцептором электрона и в аэробных условиях генерировать супероксид, обеспечивая тем самым мутагенную активность пирролизидиновых алкалоидов.

У многочисленных жуков-плавунцов в секретах защитных желез выявлено вещество *n*-гидроксибензальдегид, у многих видов это соединение продуцируется совместно с гидрохиноном и бензойной кислотой. Окисление гидрохинона происходит с образованием перекиси водорода, что может вызвать образование органических перекисей с мутагенной активностью в окружающей жуков водной среде и подавление микрофлоры (водорослей и бактерий), а также простейших (жгутиконосцев, амёб). Железы крупных плавунцов секретуют стероидные соединения, которые эти жуки используют против небольших амфибий и рыб [58].

Заметим, что альдегиды цитраль и цитронеллаль входят в состав масла цитрусовых растений, а горьковатый запах цветов сливы, хризантем и черемухи обусловлен тем, что в состав летучих веществ, продуцируемых железами этих растений, входят циклические соединения бензальдегид и куминальдегид, присутствующие также в защитных секретах двупарноногих многоножек-полидесмид [4].

Защитные железы жуков семейства жужелиц располагаются на конце брюшка, они очень разнообразны по строению, но являются гомологичными органами [58], [59]. На основе химического состава секретов и морфологических особенностей строения желез семейство жужелиц разделяют на 6 групп [60], в том числе продуцирующих мета-крезол.

Адаптации системы химической защиты членистоногих от врагов и возбудителей заболеваний весьма разнообразны.

Жуки-бомбардиры в ответ на раздражение «выстреливают» секрет, направляя его точно в цель с помощью поворота брюшка [4]. Выбрасывание секрета сопровождается звуковым хлопком, что характерно также для жужелиц, обитающих в муравейниках.

Парные железы, расположенные на конце брюшка жуков-бомбардиров, хорошо известны [58]. Жуки используют в защитных железах ферментзависимый способ генерации семихиноного радикала и супероксида. Парные железы бомбардиров имеют двухкамерный резервуар, реакционная камера которого отделена от основной полупрозрачной камеры клапаном, приводимым в действие тремя группами мышц, окружающими резервуар. Реакционная камера представляет собой видоизмененный выводной канал резервуара коричневого цвета, который изнутри имеет выстилку из инертного хитина и содержит суспензию кристаллов пероксидаз и каталазы, в состав молекул которых входит тетрапиррольная структура гема. Железы открываются двумя симметричными относительно средней линии тела отверстиями [58].

Основная камера резервуара содержит концентрированный раствор гидрохинона и 25 %-ю перекись водорода [59]. Поступая в момент выстрела в реакционную камеру, эта смесь соединяется с синтезируемыми здесь же гемопротеидами, каталазой и пероксидазой. Перекись водорода в этих условиях мгновенно разрушается до воды и кислорода и окисляет гидрохинон до хинона. Окисление гидрохинона сопровождается восстановлением кислорода и происходит по одноэлектронному пути с образованием анион-радикалов семихинона и кислорода, как у мышей *DBA/2* в опытах по моделированию полимиозита. Температура выбрасываемой смеси защитных веществ у жуков-бомбардиров около +100 °С, может обжечь и отпугнуть нападающего врага.

Влияние гемолимфы жуков-синекрылов при аппликации на кожу человека изучалось Е. Н. Павловским и А. К. Штейном ещё в 1926 г. [4]. Структура молекулы содержащегося в этих жуках вещества была установлена с использованием методов спектроскопии и рентгенокристаллографии. Центральное положение в структурной формуле вторичного амина (его название «педерин» является производным от латинского наименования рода жуков-синекрылов (*Paederus*)) занимает аминогруппа, которая связывает модифицированные с помощью метоксигрупп (в сумме их четыре на одну молекулу вещества) два циклических остатка γ -пирона, один из которых в окисленной, а другой в восстановленной форме, чем и напоминает хорошо известный хингидрон, динамичный молекулярный комплекс бензохинон/гидрохинон. Одновременно с этим вторичный амин педерин напоминает дипептид [58], γ -пирон составляет ядро койевой кислоты и некоторых других циклических карбонильных соединений в токсинах грибов. Структура вторичного амина жуков-синекрылов, его локализация в гемолимфе и в гонадах жуков рода (*Paederus*) обоего пола заставляет задуматься о регуляторной функции этого биологически активного вещества, которую можно сопоставить с ролью нейропептидов у позвоночных животных и человека.

Известно, что педерин в виде экстракта из синекрылых жуков применялся в народной медицине, а препарат на основе спиртовой настойки жуков под названием «стимулин-Д», или «падерин-Д» в середине XX в. был разрешен для выпуска и медицинского использования Фармакологическим комитетом Министерства здравоохранения СССР. Курсовое применение препарата методом аппликации на определённые области головы врачи использовали для усиления иммунитета и нормализации работы нервной и эндокринной систем.

Судя по опубликованным в источниках того времени материалам об использовании спиртовой вытяжки из жуков-синекрылов, препарат повышает фагоцитарную активность нейтрофилов, снижает аллергическую реакцию у детей и лекарственную несовместимость у взрослых пациентов. Препарат использовали в терапии как биостимулятор физиологических процессов.

Защитные железы жуков-стафилинов различаются по строению и расположению относительно частей тела насекомых, но все имеют кожное происхождение [4]. Защитные железы стафилинид, по общему мнению исследователей, развивались полифилетическим путем и представляют собой конвергентно выработанные адаптации для выживания в условиях враждебного микробиоценоза [4], [58], [59].

Этилхинон в железах жуков-жужелиц найден лишь у нескольких видов, относительное содержание вещества не превышает 10 %. В то же время в секретах других видов хищных жужелиц найдены алкилированные хиноны, собственные двупарноногим многоножкам (3-метокси-2-метилхинон) и южноамериканским сенокосцам (2,3-диметилхинон). Помимо бензохинона железы отдельных видов жужелиц секретируют органические кислоты.

Показано, что хиноидные секреты членистоногих токсичны для бактерий и простейших. Так, результаты изучения бактерицидного действия экссудатов головогрудных желез сенокосцев показали [59], что смесь бензохинонов их секрета эффективна против представителей 18 родов бактерий и простейших.

Мука, подвергнутая обработке хиноидным секретом жуков рода *Tribolium*, приобретает бактерицидные свойства, а летальное действие секрета сопровождается нарушениями при делении клеток. Хиноидные секреты жуков оказывают антибиотическое действие на плесневые грибы [59] и инактивируют патогенные для хрущаков микроспоридии [4], [58]. Пары защитного секрета, повреждающего запасы продовольствия малого хрущака, при общем количестве хинонов в секрете около 60 % обладают летальным действием на культуры дизентерийных бактерий, кишечной палочки и сальмонелл [4].

При исследовании антибиотической активности хинонов показана её зависимость от строения молекулы соединения. Так, введение метоксильных групп в молекулу синтетических хинонов заметно усиливает их бактерицидное действие, а введение гидроксильной группы – снижает. Замена метоксигруппы гидроксильной всегда уменьшает антибиотическую активность хинона. Активность хинонов против клеток мицелия грибов становится более выраженной при наличии в их составе атомов галоидов, заметим, что радикал также обладает фунгицидной активностью.

Исследование закономерностей взаимодействия флавиновых дегидрогеназ (в опытах был использован фермент *NADPH*-цитохром *P*-450 редуктаза) с 2-метил-1,4-нафтохионом приводит к итоговому выводу [4], что токсичность хинонов обусловлена одноэлектронным способом их восстановления до семихинонного радикала, который в аэробных условиях генерирует появление супероксида (см. рис. 3.4). Ферментзависимые пути образования супероксида кислорода и других свободных радикалов при наличии в биосистеме доноров электронов могут быть связаны также с действием альдегидоксидазы печени животных и тканей растений.

Ксантиндегидрогеназа дает в катализируемых реакциях *in vivo* синий семихинон, возможно участвующий в пигментации покровов у насекомых, в том числе надкрылий у жуков-синекрылов и восстанавливает кислород только по одноэлектронному пути. Самоокисление адреналина [4], гидрохинона, пирогаллола, ферментативные процессы окисления в клетках эукариот, также как окисление гема крови позвоночных животных и человека [23] в гемин, сопровождаются появлением *in vivo* АФК, диффузионные потоки частиц которых из крови на клеточные мембраны являются внутренним фактором развития и регуляции функций, стимуляции эпифиза в мозге позвоночных. Железы насекомых и их секреты выполняют разные задачи. В отдельных случаях членистоногие в своей «биохимической лаборатории» предопределили те решения, которые возникли позднее, при эволюции позвоночных.

Появление АФК во внутренней среде организма животных с участием ряда ферментов является нормальным явлением и позволяет отнести флавожелезномолибденовые оксидоредуктазы к ОС. Субстратами альдегидоксидаз являются, например, ацетальдегид, салицилальдегид и другие соединения, вырабатываемые в железах членистоногих [57]. Альдегиды входят в состав экссудатов жуков-листоедов, поэтому в природных условиях контакт субстрата с ферментом является весьма вероятным, как и появление супероксида в растительных тканях и, как следствие, почковые мутации.

Основной механизм повреждения клеток ультрафиолетовым облучением связывают с локальными изменениями двойной спирали ДНК. Пиримидиновые азотистые основания тимин и цитозин характеризуются высокой фотохимической активностью в области 250–280 нм и образуют димеры на одной нити ДНК во время облучения. Образование димеров пиримидинов может происходить и опосредованно, путем фотосенсибилизированной реакции, когда энергия излучения передается на нуклеиновые основания через молекулы флуоресцирующего сенсibilизатора.

Фенол и крезолы входят в состав защитных секретов различных членистоногих, а бензойная кислота найдена в секретах многих видов жуков-плавунцов. Не исключено, что в мелких прудах и озерах в годы массового размножения жуков-плавунцов под воздействием их экссудатов могут происходить фотохимические изменения в молекулах ДНК и со временем меняться частоты встречаемости радикально измененных генов в аллелофондах популяций обитающих здесь микроорганизмов.

Под воздействием квантов ультрафиолетового облучения в реакцию присоединения с урацилом и уридином в нейтральных водных растворах вступает синильная кислота HCN. Ядовитая кислота является компонентом секретов желез многоножек из группы диплопод, и поэтому не исключено, что контакт живых объектов с защитными выделениями диплопод может иметь генетические последствия.

Исследования по токсикологии бензо- и нафтохинонов, проведенные в целях разработки мер защитной профилактики во время работы с веществами [58] в производственных условиях, показали, что раздражающее действие 1,4-бензохинона и 1,4-нафтохинона на верхние дыхательные пути кроликов начинает проявляться при концентрации паров указанных соединений в воздухе, начиная с 0.4 мг на кубический метр. Отравление проявляется в двигательном беспокойстве, сменяющемся адинамией, поверхностном дыхании, угнетении звуковых и болевых рефлексов. Смесь бензохинонов секрета жуков рода *Tribolium* при добавлении в корм вызывала злокачественный рост слюнных желез у белых мышей [4].

Экспериментальные исследования по изучению действия свободных радикалов на животных показывает, что модели заболеваний со свободно-радикальной природой патогенеза являются зависимыми от условий внутренней среды организма, гема крови, генерирующего АФК. В рамках «радикального» подхода можно рассматривать, казалось бы, далекие друг от друга события и явления: спонтанный мутагенез, канцерогенез, влияние экссудатов защитных желез членистоногих на живые объекты в биосистемах планеты и в опытах при аппликации активированного раствора копропорфирина на миокард и нервно-мышечный препарат лягушки. Во всех случаях начальная фаза процессов на клеточной поверхности происходит с участием транспорта неспаренного электрона свободным радикалом и, по крайней мере, локального нарушения баланса ОС и АОС. Длющийся во времени оксидативный стресс является причиной отклонений от нормы.

Компьютерное моделирование реакций и физических явлений с переносом одного электрона на внешней орбитали свободным радикалом позволяет прогнозировать качественный состав зарядов и частиц-участников моделируемых процессов, а также электромагнитных событий на мембранах клеток, тканей, органов в нормальных условиях при кратковременном обратимом нарушении баланса между ОС и АОС организма.

Мутагенное действие фенола изучено на дрозофиле. Результаты опытов на классическом объекте изучения генетиков основывались на учете рецессивных летальных мутаций во второй хромосоме мух-дрозофил. Используемый метод введения фенола в репродуктивную ткань создавал возможность глубокого проникновения вещества, так как заключался в обработке удаленных из личинки хирургическим путем яичников, которые затем имплантировали обратно. После завершения метаморфоза некоторые яйцеклетки попадали в яйцевод взрослой формы, а из отложенных мухами яиц появлялись личинки, которые были изучены. Анализ распределения 24 летальных мутаций у личинок показал, что три из них возникли более чем в одном яичнике, т. е. повторялись, и, следовательно, это указывало на существование у хромосом дрозофилы специфических областей поражения фенолом.

Изучение влияния моно- и полифенолов на хромосомы показано в опытах [4] с обработкой корешков лука водными растворами *n*-бензохинона, гидрохинона и крезолов. В ядрах клеток меристемы растущих корешков зарегистрирована фрагментация хромосом. Обработка корешков лука растворами гидрохинона и *n*-бензохинона в концентрации 0,00001 М раствора не вызывала фрагментации хромосом. Напротив, использование для обработки корешков 0,00001 молярного раствора хингидрона, представляющего собой динамический комплекс двух превращающихся друг в друга веществ через семихиноновый радикал с образованием супероксида в аэробной среде, приводило к фрагментации хромосом в ядрах у 9 % делящихся клеток меристемы корней. Хиноны и гидрохинон при определенных условиях являются метаболическими генераторами анион-радикалов кислорода (см. рис. 3.4), что вызывает цепные реакции переноса электрона, перекисное окисление липидов и в конечном счете повышение концентрации гидроксильного радикала, который накапливается в биосистеме, вызывая образование органических перекисей и фрагментацию хромосом.

Агрессивные органические перекиси ($R-O-O-R_1$) образуются в клетках при взаимодействии метаболической перекиси водорода и АФК с липидами

клеточных мембран и обладают выраженной мутагенной активностью. Ионизирующая радиация также ведет к образованию этих соединений в живых объектах и продуцирует генетические эффекты. Триггером образования органических перекисей является увеличение концентрации гидроксильного радикала OH^\bullet , конечного радикального продукта в цепи реакций переноса электрона в организме. Гидроксильный радикал накапливается *in vivo* и служит источником потока электронов, разрушающим практически все органические молекулы клеточной мембраны, чувствительность которой к диффузионному потоку супероксида кислорода из внутренней среды выражается в изменении её потенциала и направлении вектора поляризации.

Образование анион-радикалов кислорода в клетке, содержащей СОД, продуцирует метаболическую перекись водорода, что в соответствии с классической реакцией Хабера и Вайса (см. рис. 3.4), в присутствии атомов двухвалентного железа приводит к усилению потока электронов на органические молекулы, резкому изменению баланса ОС и АОС в организме. Отсутствие или низкий уровень активности каталазы усугубляет патогенетические процессы в тканях и органах, вызывает чувство боли в результате увеличения концентрации перекиси водорода.

Изучение взаимодействия ДНК с гидрохиноном и 1,4-бензохиноном в водной среде при комнатной температуре с помощью метода ЭПР [4], [59] показало, что указанные вещества вступают в окислительно-восстановительные реакции с пуриновыми и пиримидиновыми основаниями ДНК. Так, при добавлении ДНК к раствору гидрохинона (1:1) наблюдается характерный спектр ЭПР, позволяющий однозначно отнести его к семихинонному радикалу; это квинтетный сигнал с расщеплением $\alpha = 0,24 \text{ мТл}$ и соотношением интенсивности компонент (пиков) 1:3:5:3:1. При добавлении ДНК к раствору 1,4-бензохинона (1:1) наблюдается слабо разрешенный синглетный сигнал $\Delta H = 0,13 \text{ мТл}$, параметры которого соответствуют спектру ЭПР раствора при взаимодействии гидрохинона с 1,4-бензохиноном в условиях избытка последнего.

Регистрация синглетного сигнала показывает, что при наличии ДНК в растворах идет восстановление бензохинона до гидрохинона, донорами электрона при этом являются, скорее всего, пуриновые основания ДНК, тогда как при регистрации семихинона – пиримидиновые.

Образование ион-радикалов ДНК представляет собой первый этап её повреждения, фоновое состояние в той или иной ткани. Результаты исследований взаимодействия ДНК с гидрохиноном и 1,4-бензохиноном *in vitro* позволяют

объяснить заметное влияние 0,00001 М раствора хингидрона на хромосомы клеток лука, а также отсутствие влияния при использовании гидрохинона и *n*-бензохинона в той же концентрации, но по отдельности. Следует при этом заметить, что в хромосомах ядра белки гистоны стабилизируют и защищают материал ДНК от повреждений. Реакции одноэлектронного переноса активными частицами свободных радикалов семихинона и супероксида кислорода являются причиной возникновения анион-радикальных состояний азотистых оснований ДНК, что предшествует более грубому повреждению ее молекулы, мутациям и фрагментации хромосом.

Гидрохинон был выбран нами в качестве одного из главных компонентов источника свободных радикалов семихинона и супероксида для введения линейным мышам *DBA/2*, у которых в условиях нарушения баланса между ОС и АОС удалось воспроизвести модель ферментзависимого нейрополимиозита формы Вагнера–Унферрихта. Модель заболевания в отдельных случаях сопровождалась ишемией миокарда у мышей. В плазме крови у подопытных мышей с помощью методов ЭПР спектроскопии и спиновых ловушек были зарегистрированы [9] свободные радикалы семихинона (квинтетный сигнал) и аддукты гидроксильного радикала: *PBN–ОН* (триплет дуплетов) [2]. В мышечных тканях и миокарде при микроскопии [23] гистологических препаратов наблюдали повреждения, характерные для заболеваний с радикальной природой патогенеза.

Секрция защитных желез у разнообразных видов и групп жуков является древнейшим механизмом выживания в условиях враждебного биоценоза и одновременно биотическим фактором изменчивости организмов [57], [58], [59], попадающих в зону влияния экссудатов с мутагенной активностью. Наиболее распространенные виды членистоногих являются активными мутагенофорами [57], [60], [61]. Защитные выделения вступают в тесный контакт с живыми объектами: микроорганизмами (простейшими и прокариотами), пылью цветущих растений, их семенами при хранении, цистами и спорами, генеративными и соматическими клетками, присутствующих в биоценозе видов.

Мутагенофоры собственными химическими продуктами могут воздействовать на ДНК, хромосомы, наружную мембрану клеток биоты геоценоза, при этом в качестве механизма влияния на живые объекты используется квантованный перенос заряда неспаренного электрона свободным радикалом через липопротеиновую мембрану. Под влиянием радикального фактора внутренней среды может произойти повреждение генетического материала ядра той или

иной клетки. Значение экссудатов защитных желез членистоногих определяется не столько силой их воздействия, сколько временем влияния на ДНК контактирующих с ними живых объектов и мутационной изменчивости клеток под влиянием свободных радикалов, степенью контакта активных мутагенофоров с генофондом популяции. Случайные мутации ДНК предшествуют возникновению адаптаций у прокариот и эукариот, изменению матрицы не только в генетическом понимании термина, но и самих молекул белков, образующихся в синтетическом аппарате клетки и поступающих затем в форме мембранных пузырьков в наружную мембрану, плазмалемму клеток. Вещества секретов желез членистоногих, особенно это касается видов-опылителей растений, хиноны, фенолы, перекись водорода, альдегиды, кетоны и возникающие в реакциях с ДНК *in vivo* АФК, вторичные свободные радикалы и органические перекиси постоянно воспроизводятся в биогеоценозах и, взаимодействуя с генетическим материалом, вызывают изменения ДНК в популяциях видов. Структура молекул, обсуждаемых в этой главе веществ, имеет одну особенность: в нее входит кислород в составе карбонильной группы. Это относится к альдегидам, кетонам, хинонам и некоторым другим природным соединениям [4], [57] – [61]. Фенолы и кислоты составляют отдельную группу экссудатов членистоногих и веществ из мицелия грибов, но могут рассматриваться как предшественники карбонильных токсинов.

Бензохиноны присутствуют у фотосинтезирующих бактерий и растений, позвоночных и беспозвоночных животных. Так, листья первоцвета примулы покрыты железистыми волосками, продуцирующими ядовитое вещество примин, которое представляет собой 2-метокси-6-*n*-пентил-1,4-бензохинон. Контакт людей с примулой приводит к дерматиту и конъюнктивиту. Бензохинон примин найден у лесного растения *Miconia*, вместе с гидрохиноном и миконидином. Пары этих веществ, как отмечают исследователи, создают в лесу бактерицидную атмосферу.

Изучение химической структуры токсинов насекомых наводит на мысль, что первоначально эти вещества функционировали в организме предков современных видов членистоногих животных и растений в составе защитного механизма, охраняющего клетку от перегрузки продуктами радиационно-химического окисления в условиях радиационного фона Земли в далеком прошлом. Биосинтез отторгаемых (экссудаты) или накапливаемых в виде инертных меланинов, возникающих *in vivo* под воздействием радиации и содержащих кето- и альдегидные группы, мог существенно измениться, тем более, что

причина, породившая этот механизм, практически исчезла в позднем силуре. Сформировавшийся в атмосфере Земли под воздействием электрических разрядов слой озона изолировал поверхность планеты от влияния коротковолновой радиации.

Отдельные виды мутагенофоров, в том числе насекомые, опылители цветковых растений, существуют миллионы лет. Количество особей, плотность популяций таких видов в биоценозах волнообразно колебались на протяжении исторических эпох, а численность изменялась и «пульсировала», как сигналы на экране осциллографа, отражающие работу сердца, мозга и перенос неспаренного электрона свободным радикалом.

5. ПОВЕРХНОСТНЫЕ СОСТОЯНИЯ КЛЕТОЧНОЙ МЕМБРАНЫ И НЕЙРОГУМОРАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ФУНКЦИЙ ОРГАНИЗМА

Многие заболевания людей пожилого возраста имеют свободно-радикальную природу патогенеза, что хорошо согласуется с теорией старения, признанной в настоящее время в качестве основной. Число клеток и митохондрий в организме, активность генной экспрессии, окислительных ферментов, синтез АТФ, половых гормонов (особенно андрогенов), матричные синтезы нуклеиновых кислот и, конечно, память часто снижаются при наступлении физиологической старости человека. При этом надо отметить, что электрические свойства липопротеиновой матрицы стабильны, например, мембранный потенциал клеток с возрастом не изменяется. Исключение наблюдается при ишемическом инсульте, когда потенциал поверхности (разность потенциалов сторон мембраны) нейронов падает и происходит так называемая терминальная деполаризация. В результате церебральной ишемии нейроны больного утрачивают возбудимость по причине уменьшения притока крови к головному мозгу и наблюдается его повреждение, энцефалопатия. Разность потенциалов изменяется на поверхности нейронов только при патогенезе, иными словами, только при повреждении мозговой ткани. Процессы повреждения нейронов головного мозга и патогенез в тканях других органов под влиянием ишемии, например, сердца сопровождаются опасными для здоровья явлениями, отеком, сосудистыми кровоизлияниями, наконец, некрозом.

Свободно-радикальная теория старения полагает локальное нарушение баланса ОС и АОС главной причиной изменений в разных тканях стареющего организма, при этом соединительная ткань кровеносных сосудов затрагивается патологическими изменениями, пожалуй, чаще других. Пожилые люди и старики одного и того же возраста по состоянию физического и психического здоровья могут представлять собой очень неоднородные группы. Диффузионный поток отрицательно заряженных свободных радикалов и перенос неспаренного электрона супероксидом $O_2^{\bullet-}$ и другими свободными радикалами являются составляющими энергетического обмена в биосистеме и условием активного состояния электромагнитного поля в структурах головного мозга, трофической функции нервных волокон, покрытых миелином.

Важная роль АФК в физиологических процессах, происходящих в организме, во многих случаях обусловлена действием потока активных частиц отрицательно заряженных радикалов супероксида из жидких субстанций

организма на микроструктуры наружной поверхности клеточной мембраны [23], [54]. В структуре интенсивно исследуемого биофизиками бислоя липидов мембраны гидрофильные полярные головки молекул липидов (и холестерина) внешнего и внутреннего слоев мембраны ориентированы к водной фазе вне и внутри клетки под разными углами по причине подвижности отдельных молекул фосфолипидов в плоскости клеточной поверхности и их вращения в плоскости, перпендикулярной плазмалемме [38].

Липопротеиновые фрагменты липидов, холестерина и структурных белков с ионофильными полюсами соединены между собой межмолекулярными силами взаимодействия в кластеры и плоты, площадь которых в сумме достигает [32] до 20 % от общей клеточной поверхности, причем заряд этих участков отрицателен. Отдельные кластеры закорены с помощью белковых нитей так называемого субмембранного комплекса поверхностного аппарата клетки, другие, их называют плотами, имеют свободу латерального перемещения по поверхности.

Одна из возможных схем распределения зарядов в активном центре плазмалеммы клетки представлена на рис. 5.1 [27], [29]. Плоскостная модель активного центра в форме пентагона состоит из отрицательно заряженного ядра, молекулы структурного белка, заряд которого компенсирован зарядом ионов Na^+ , K^+ и аквакомплексов ($\text{Na} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ и $\text{K} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) на внешней и внутренней поверхностях мембраны.

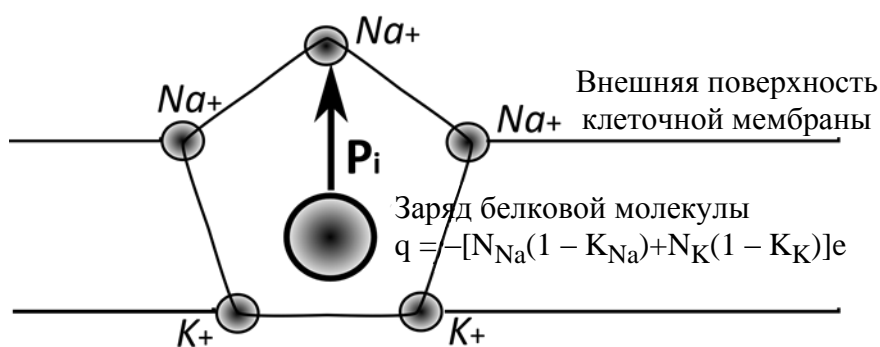


Рис. 5.1

Электрический момент каждого полярного комплекса \mathbf{P}_i создается адсорбцией ионов Na^+ и K^+ на терминальных ионофильных участках структурных молекул глобулярных белков (рис. 5.1) в составе двойного липидного слоя, где они играют роль активных положительно заряженных полярных центров наружной поверхности плазмалеммы. С другой стороны, аналогичные процессы происходят и на отрицательно заряженных участках липидных кластеров, образовавшихся в дефектах жидкокристаллической структуры клеточной матрицы.

Важным свойством внешней мембраны клетки называют самосборку полярных молекул клеточной поверхности в пленочную структуру с пониженной размерностью, толщина которой в среднем от 8 до 10 нм, и составляют её две молекулы липида или одна молекула биполярного белка, выступающая над билипидной мембраной и гликокаликсом, мукополисахаридными нитями с кальциевыми мостиками надмембранного комплекса.

Активные центры в совокупности с адсорбированными на них ионами формируют двойной электрический слой внешней мембраны клетки над клеточным матриксом и цитоплазмой. Равновесная разность потенциалов на мембране зависит от соотношения составляющих ее молекул, белков и липидов в клетках различных тканей и органов [29], а также адаптированных мембранных клеточных органелл, например, ранних и поздних эндофагосом и лизосом. Мембрана этих органелл осуществляет внутриклеточное пищеварение и содержит белки, активно регулирующие показатель рН внутреннего содержимого на варьирующем во времени уровне 6,5 и ниже, что всегда меньше физиологического уровня золя клетки, где рН=7. Число белков-ферментов кислых гидролаз в мембранах лизосом более 60, поэтому клетки разных типов (в организме у человека их насчитывают около 200) адаптированы к выполняемым функциям с помощью молекул структурных белков, закодированных в геноме.

На жидкокристаллической матрице внешней поверхности мембран разнообразных соматических клеток организма и нейронов ЦНС формируется интегрированная в билипидный слой сеть электрических диполей с оценочной площадью ячейки сети на поверхности клеток около 2000 нм², исходя из размеров эффективного радиуса ячейки дипольной сети $R_{ef} \approx 25$ нм [27]. Начальные сегменты аксонов (AIS) и перехваты Ранвье мягкотных нервов имеют ячейки меньших размеров и плотность молекул структурных белков («ионных каналов» с активностью АТФ) оцениваются здесь в 100 раз выше. Ионные каналы в этих функционально важных участках нервной системы находятся друг от друга на расстоянии радиуса действия межмолекулярных сил притяжения и могут сближаться.

Во всех указанных случаях формируются связанные состояния структур дипольной клеточной поверхности (дипольной сети биосистемы). Эти состояния характеризуются высокой чувствительностью к внешним электрическим и магнитным воздействиям [27], [38], [62], в том числе в условиях специальных опытов и природных явлений, так называемых магнитных бурь, кратковременных изменений магнитного поля Земли.

Трофическая функция покрытых миелиновой оболочкой нервов связана с осмосом и диффузионным потоком анион-радикалов кислорода из жидкостей внутренней среды с нормальной (физиологической) концентрацией супероксида от 0,096 до 0,098 мкмоль/л [1]. Обмен веществ в аксоплазме нервных волокон зависит от взаимодействия противоположно заряженных частиц, сопряженного с движением содержимого аксонов от тел нейронов к периферии.

Если диффузия эффективно восстанавливает концентрацию радикалов вблизи поверхности мембраны, то плотность потока супероксида j_{dif} на поверхность клетки определяется соотношением (3.3):

$$j_{\text{dif}} = N_R \sqrt{\frac{D_R}{\tau_R}}. \quad (3.5)$$

Оценка плотности потока активных частиц за время жизни радикала из выражения (3.3) дает значение $3 \cdot 10^8 \text{см}^{-2} \text{с}^{-1}$. Используя значение эффективного радиуса ячейки $R_{\text{ef}} = 25 \text{ нм}$, получим для поверхностной плотности активных центров $\sigma_{\text{ef}} = 5 \cdot 10^{10} \text{см}^{-2}$ [38]. Для средней по времени плотности тока, переносимого отрицательно заряженными радикалами кислорода через клеточную мембрану (электронно-транспортного тока)

$$j_{R_{\text{dif}}} = e N_R \sqrt{\frac{D_R}{\tau_R}},$$

где $e = 1,6 \cdot 10^{-19} \text{ Кл}$ – заряд электрона, получим $j_{D_{\text{dif}}} = 50 \text{ мкА/см}^2$, или, в пересчете на ячейку дипольной сети, $9,6 \cdot 10^{-8} \text{ мкА}$, что для потока электронов на ячейку дает $f_e = 6 \cdot 10^5 \text{ с}^{-1}$. Таким образом, при взаимодействии потока заряженных частиц с поверхностным центром плазмалеммы (см. рис. 5.1) происходит локальная деполяризация и возбуждается электромагнитное поле, которое может служить источником спонтанной электрической активности биологической матрицы, скелетных и гладких мышц, аурикул сердца, той или иной структуры головного мозга, эпифиза, других желез. Электрическая активность сердца (ЭКГ), мозга (ЭЭГ) широко используются для диагностики.

Плазмалемма исходно имеет гидрофобную поверхность, которая в результате внедрения активных белковых центров и дефектов структуры становится гидрофильной в результате уменьшения свободной поверхностной энергии [69]. Существенным для понимания механизма взаимодействия поверхности клеточной мембраны с диффузионным приповерхностным слоем является то, что поверхностные группы выступают в роли центров адсорбции, поскольку атомы водорода, принадлежащие сольватным оболочкам ионов Na^+ и

K^+ , способны образовывать водородные связи, координируя неподеленные электронные пары кислорода сорбированных из диффузионного слоя молекул воды с образованием связанных ионов гидроксония H_3O^+ , которые и формируют двойной электрический слой дипольной сети плазмалеммы [70], [71].

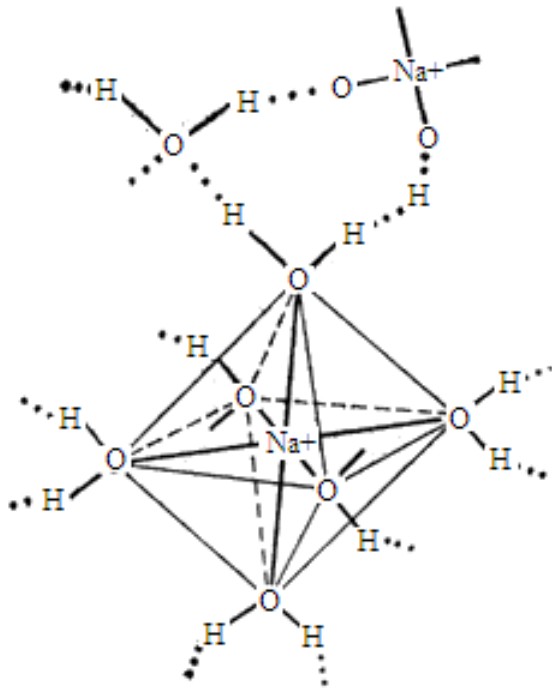


Рис. 5.2

Близкие к тетраэдрическим конфигурации координированных ионами Na^+ и K^+ молекул воды вблизи активного центра на поверхности плазмалеммы [63], [69], позволяют молекулам сорбированной воды, внедряясь в поверхность, достраивать также близкие к тетраэдрическим структуры ассоциированных аквакомплексов (рис. 5.2). Близкие по энергетике процессы происходят на поверхности пористого кремния, где роль активных центров играют $Si-H_x$ группы и наноразмерные поры [72], [73]

Характерно, что в условиях минимума свободной энергии поверхностные аквакомплексы приобретают структуру, близкую к структуре тетраэдрической ячейки льда I_h [74]. Расчет энергий связи в такой структуре, проведенный с учетом значений эффективных зарядов структурообразующих элементов в подобных системах [29], [63], показывает значение, близкое к 30 кДж/моль, характерное для связанных аквакомплексов. Как показывает расчет [72], энергия связи уменьшается от значения 175 кДж/моль, характерного для свободного адсорбционного центра до 78 кДж/моль в связанной поверхностной группе с координированным ионом гидроксония (H_3O^+). Отметим, что энергия водородной связи в аквакомплексе (30 кДж/моль), являющаяся высотой активационного барьера трансляционной диффузии, примерно составляет половину теплоты адсорбции в поверхностной группе с координированным ионом гидроксония, что вполне соответствует представлениям о формировании нелокализованных адсорбционных слоев на поверхности, позволяя сделать вывод об изоморфности формирования и динамики адсорбционных слоев на плазмалемме и на поверхности пористого кремния [29], [38], [42], [73].

Суммарный заряд структуры активного центра клеточной мембраны следует считать с учетом частичной ковалентности адсорбированных ионов,

эффективный заряд которых составляет в среднем $(0,7 \div 0,8)e$, где e заряд электрона, $e = 1,6 \cdot 10^{-19}$ Кл. Полагая отношение ионной плотности внешнего и внутреннего слоев по количеству противоионов $\text{Na}^+/\text{K}^+ = 6/4$ (структура имеет объем), получим для отрицательного (внутреннего) заряда q молекулы интегрированного белка $q_{\text{белка}} = [N_{\text{Na}}(1-K_{\text{Na}}) + N_{\text{K}}(1-K_{\text{K}})]e$, где N_{Na} , N_{K} – ионные плотности (числа ионов), а K_{Na} , K_{K} – относительные степени ковалентности для натрия и калия. В идеальном случае (при соблюдении баланса указанных ионов) это дает $q_{\text{белка}} = N_{\text{Na}}[(1-K_{\text{Na}}) + 2/3(1-K_{\text{K}})]e$.

Распределение напряженности электрического поля (E) в клеточной мембране, усредненное по поверхности, значение которой составляет $E = U_0/h$, примерно: $E = 10^7$ В/м ($U_0 = 80$ мВ – разность потенциалов на мембране в состоянии покоя; $h = 8$ нм – средняя толщина мембраны) и представляет собой самоогласованное поле, вклад в которое вносит каждый активный центр поверхности клетки. В результате изменения поляризации возникает ток смещения, плотность которого $\mathbf{j}_{\text{см}} = d/dt(\mathbf{D})$ пропорциональна скорости изменения вектора электрической индукции. Вектор индукции $\mathbf{D} = \epsilon_0 \mathbf{E} + \mathbf{P}$, где $\epsilon_0 = 8,85 \cdot 10^{-12}$ Ф/м – диэлектрическая постоянная, \mathbf{P} – вектор поляризации.

При малой интенсивности диффузионного потока свободных радикалов на поверхности клетки происходит, в основном, локальная деполяризация (за счет модуляции вектора \mathbf{P}), тогда как при большой интенсивности потока (при повышении концентрации, например, $\text{O}_2^{\bullet -}$ во внутренней среде), когда наблюдается изменение напряженности самоогласованного поля (\mathbf{E}), ток смещения распространяется на относительно большую поверхность клеточной мембраны, синхронизируя изменение поляризации в отдельных центрах. По достижении критического значения концентрации формируется так называемый потенциал действия (спайк), одиночный электромагнитный импульс солитонного типа, напряженность магнитного поля (\mathbf{H}) которого в соответствии с уравнением $\text{rot} \mathbf{H} = d/dt(\mathbf{D})$ производится изменяющимся во времени вектором электрической индукции (\mathbf{D}) и распространяется между поверхностями мембраны, усиливая эффект синхронизации.

Определенный вклад в поляризацию внешней мембраны клетки вносят нарушения жидкокристаллической структуры билипидного слоя с отрицательным зарядом, на поверхностях которого формируются кластеры противоионов Na^+ и K^+ . В условиях высоких значений напряженности электрического поля на мембране (около 10^7 В/м) становятся возможными реакции супероксида с

образованием не только оксидов, но пероксидов и супероксидов щелочных металлов, что приводит в конечном итоге к перекисному окислению липидов и их «прогоранию» с образованием мелких перфораций [3], [26], [38] в наружной мембране клетки. Именно поэтому взаимодействие потока радикалов с подобного рода формированиями измененных молекул в плазмалемме происходит необратимо, в отличие от активных центров, где нейтрализация потоком супероксида заряда противоионов внешнего слоя плазмалеммы неизбежно приводит к энергоемкому изменению конформации белковой молекулы, включению Na^+/K^+ насосов с АТФ активностью и быстрому восстановлению исходного состояния. Скорость активного транспорта частиц много выше по сравнению с их диффузионным перемещением по градиенту концентрации.

Процессы взаимодействия диффузионного потока радикалов с белковыми активными центрами (см. рис. 5.1) адсорбции катионов, как правило, обратимы. Нейтрализация внешнего противоиона (Na^+) супероксидом обеспечивает нейтральному атому натрия свободный от влияния электромагнитного поля активного центра проход через наружную мембрану клетки, осуществляя тем самым перенос свободным радикалом неспаренного электрона (одноэлектронный транспорт) внутрь клетки.

Неспаренный электрон радикала совместно с импульсным электромагнитным полем стимулирует участников транспортного процесса, катионы Na^+ , K^+ и АТФ, обеспечивая тем самым энергозатратную составляющую термодинамического цикла (работу с затратой АТФ) и обратимого переноса электрона [63], [64]. Регуляторная работа по поддержанию антиоксидантной активности в клетках и их органоидах нужна для стабилизации концентрации радикалов на физиологическом уровне [21], [26], [29], [62]. Активные частицы радикалов возникают, функционируют короткое время и исчезают, выполнив при этом некоторую работу. В спонтанно формирующихся на плазмалемме аквакомплексах координация полярных молекул воды противоионами металла (см. рис. 5.2) осуществляется взаимодействием с неподеленными электронными парами атома кислорода в молекуле воды.

Координация полярных молекул воды происходит как с образованием оксида металла, когда два иона металла связываются каждый со своей парой электронов кислорода в соответствии со структурой кристаллогидрата $\text{Me}_2\text{O}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ так и с образованием пероксида металла, когда координирующий ион располагается на биссектрисе угла, образованного неподелёнными парами электронов кислорода в соответствии со структурой $\text{MeO}\cdot\text{H}_2\text{O}$ [64]. Рис. 5.2

представляет теоретическую реконструкцию взаимодействия диполей молекул воды в наноразмерном объеме над поверхностью клетки при наличии координирующего металла.

Отрицательно заряженный свободный радикал (чаще всего супероксид) регулярного диффузионного потока из жидкостей внутренней среды на поверхность клеток, будет разрушать координацию аквакомплекса. В результате облегчается диффузионный обмен между внешними и внутренними противоионами клеточной мембраны, что приводит к изменению локального заряда и изменению конформации молекулы интегрального белка. Последнее способствует повышению вероятности возникновения потенциала действия.

Нарушение координации адсорбированных аквакомплексов прослеживается в ИК-спектрах крови, полученных на Фурье-спектрометре ФСМ-1201, и наблюдавшихся при моделировании у мышей экзофтальма. Увеличение интенсивности полосы $1550 - 1645 \text{ см}^{-1}$ показывает повышение доли молекулярной воды в тестируемом образце (ножничные колебания ОН-связей) и уменьшение интенсивности колебаний вдоль ОН-связей, характерных для координированных металлом (см. рис. 5.2) молекул H_2O . Следует при этом заметить, что полярной головкой в молекуле холестерина, своего рода клеточного антифриза и связующего звена мембраны с водной фазой биосистемы, в липидном домене плазмалеммы является именно гидроксильная ОН-группа, ориентированная к водной фазе внутри и вне клетки. Холестерин присутствует в обоих слоях липопротеиновой мембраны.

Определенный вклад в формирование потенциала действия вносят свободные, т. е. некоординированные молекулы воды, которые имеют большую свободу вращательных, и, возможно, поступательных движений, а при ассоциации диполей образуются олигомеры молекул H_2O за счет водородных связей $(\text{H}_2\text{O})_2$, $(\text{H}_2\text{O})_3$ с общей формулой $(\text{H}_2\text{O})_n$. Предполагают [76], что при 0°C вода состоит в значительной мере из молекул $(\text{H}_2\text{O})_3$, при нагревании до 4°C утроенные молекулы диссоциируют с образованием удвоенных молекул $(\text{H}_2\text{O})_2$, которые сообщают воде повышенную плотность, вероятно из-за наличия в спаренных молекулах двух водородных связей.

Принимая во внимание, что молекулы воды водородными связями могут объединяться в цепочки $(\text{H}_2\text{O})_n$ и сети (см. рис. 5.2), можно предположить значительную роль молекул воды и ее комплексов с металлами в поддержке кооперативных процессов, таких как поляризация мембран с передачей заряда

через эстафетный механизм движения протонов по системе водородных связей [63] или связывание молекулы кислорода специальными белками-переносчиками крови, зависящее от pH. Водные системы (кровь, лимфа, ликвор, межклеточная жидкость) находятся в основе жидкой внутренней среды организма, содержащей супероксид, фактор влияющий на плазмалемму и ее потенциал. Вода является основой биосистемы, воду содержат также липопротеиновые клеточные мембраны организма, а дипольная сеть биосистемы включает протяженные и координированные структуры, обладающие пониженной размерностью.

Изменение энергетической структуры поверхностных состояний отчетливо регистрируется изменением ИК-спектров образцов крови подопытных мышей DBA/2 под воздействием экспериментальных условий моделирования экзофтальма, вызванного генерирующим супероксид раствором активированного металлом-координатором копропорфирина, который инъецировали животным внутрибрюшинно (*in it*).

Типичный ИК-спектр крови состоит из серии полос поглощения, имеющих различную ширину и форму. На рис. 5.3 представлены ИК-спектры поглощения образцов крови мышей DBA/2 (1 – спектр, усредненный по контрольной группе, 2 – спектр, усредненный по группе, подвергнутой инъекции копропорфирина в количестве 0,035 мг/г).

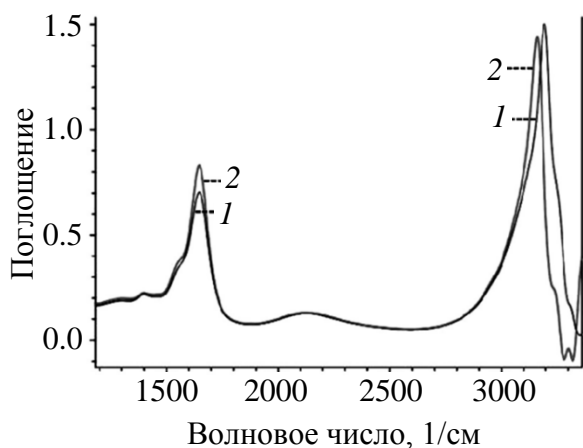


Рис. 5.3

Специальные опыты на Фурье-спектрометре показали, что в спектрах водной основы образцов крови в диапазоне основных частот от 1200 до 3400 см^{-1} отчетливо наблюдаются три характерные полосы поглощения, отмеченные как в спектрах у интактных животных, так и у мышей, подвергнутых инъекции активированного металлом-координатором копропорфирина в концен-

трации 430 $\mu\text{моль/л}$ (разовая доза составляет 0,035 мг/г массы тела).

ИК-спектры поглощения в указанном диапазоне представляют слабо разрешенные дублеты с частотами 1550 и 1645 см^{-1} , а также синглеты на частоте 3195 см^{-1} для интактных мышей (кривая 1) и на частоте 3160 см^{-1} для мышей, подвергнутых инъекциям копропорфирина (кривая 2). В спектрах наблюдается также широкая полоса поглощения на частоте 2125 см^{-1} , интенсивность

и положение которой сохраняются во всех спектрах. Поддающееся количественной оценке различие в рассматриваемых спектрах состоит в изменении отношения максимальных значений низкочастотного и высокочастотного пиков поглощения для мышей обеих групп.

Как в ИК-спектрах проб крови отдельных животных, так и в усредненных по группам спектрах отношение пиков на указанных частотах следующее:

$$\frac{A_{1645}^{(1)}}{A_{3195}^{(1)}} < \frac{A_{1645}^{(2)}}{A_{3160}^{(2)}}.$$

Для приведенного на рис. 5.3 набора из двух спектров указанные отношения неравенства имеют значения 0,467 и 0,578, соответственно. Следует подчеркнуть, что столь существенное различие отношения амплитуд характерных пиков спектра, возможно, послужит основой для разработки методик ИК-спектроскопии биологических жидкостей для диагностики и мониторинга заболеваний и радиационных поражений, патогенез которых обусловлен свободными радикалами.

Важным качеством ИК-спектров полученных образцов крови является возможность на их основе с высокой определенностью судить о характере энергетических взаимодействий аквакомплексов на основе анализа деформационных колебаний молекул воды во внутренней среде биосистемы, а также о типе кислород-водородной или оксигидрильной группировки исследуемого комплекса. Частоты деформационных колебаний молекулярной воды находятся в пределах $1590 - 1680 \text{ см}^{-1}$, а иона гидроксония (H_3O) $1680 - 1800 \text{ см}^{-1}$. В подавляющем большинстве случаев молекулярная вода поглощает в интервале $1600 - 1650 \text{ см}^{-1}$, который практически не перекрывается другими группировками. На приведенном спектре (см. рис. 5.3) отчетливо видно увеличение молекулярной (некоординированной) воды с одновременным уменьшением числа координированных молекул в области 3200 см^{-1} .

Идентификация ИК-спектров крови в высокочастотной области позволяет с большой вероятностью отнести линии 3195 и 3160 см^{-1} к валентным O–H и деформационным H–O–H колебаниям в олигомерных структурах, отождествляемых нами с белковыми молекулами, интегрированными в билипидный слой плазмалеммы. Характер изменения полосы при переходе от спектров интактных мышей к спектрам обработанных копропорфином животных соответствует ослаблению водородных связей, удерживающих интегрированную в билипидный слой полярную молекулу структурного белка. «Разрыхление»

связей облегчает переворот дипольного момента при захвате молекулой такого белка отрицательно заряженного радикала. Флип-флоп перевороты электрических моментов в дипольной сети жидкокристаллической матрицы биосистемы – обычное явление.

Слабое разрешение молекулярной полосы в спектре указывает также на достаточно высокую симметрию активного центра матрицы с пониженной размерностью, поэтому представляется возможным для моделирования процессов на жидкокристаллической липопротеиновой плазмалемме использовать методы физики поверхности, разработанные для анализа энергетически неоднородных структур.

Отрицательный заряд диполя, находящийся на внутренней поверхности плазмалеммы, притягивается положительными зарядами внешнего слоя, что приводит к изменению пространственной, объемной структуры молекулы интегрального белка. Этот механизм по-новому объясняет как перенос электрона через мембрану, так и встречный перенос ионов Na^+ и K^+ . Оценка энергии перехода дает значение около 0,5 ккал/моль. Появление электрона в клеточном матриксе инициирует работу белка с активностью по восстановлению упорядоченности дипольной сети биосистемы. Восстановление двойного электрического слоя плазмалеммы происходит с разной эффективностью, в зависимости от соотношения между концентрацией свободных радикалов и энергетическим запасом клетки, т. е. её способностью синтезировать АТФ, присутствующую в клетках в виде соли.

При нарушении баланса ОС и АОС развитие патологии в биосистеме идет несколькими путями, с возникновением судорожных состояний при обратной блокировке потенциалов действия [39] или с увеличением проницаемости капилляров в миокарде и двигательных мышцах [23]. К поверхности мышц, т. е. на дипольную сеть матрицы, поступают диффузионные потоки супероксида из внутренней среды и возникают раздражающие мембрану электромагнитные импульсы. К синапсам мембранных окончаний отростков нейронов на мышцах потенциалы поступают до тех пор, пока нервы и синапсы не подверглись деструкции под влиянием свободных радикалов, являющихся условиями экспериментального оксидативного стресса при воспроизведении модели полимиозита на линейных мышцах.

Клетка является структурной, функциональной и генетической единицей организма, её внешняя мембрана служит основой дипольной сети биосистемы.

Математическая модель физиологического процесса строится в предположении о структурном подобии (изоморфности) коллективных состояний микро-частиц в кристаллической решетке твердого тела и каналах в молекулах интегральных белков жидкокристаллической плазмалеммы. Это дает возможность использовать для анализа процессов в клеточной мембране распространенные теоретические подходы, например, модель Хаббарда [65] и модель Андерсона [66]. При этом фазовый переход липопротеиновой в своей основе клеточной оболочки, сопровождающийся изменением ее симметрии, электрических свойств и характера прохождения электромагнитного импульса [39], обнаруживает качественное сходство с переходами типа «антиферромагнетик–парамагнетик–ферромагнетик», которые описываются t - J моделью [67].

В плазмалемме коллективные свойства проявляет двойной структурированный электрический слой полярных молекул интегральных структурных белков с двумя предельными упорядоченными состояниями. В одном из них все диполи ориентированы параллельно, в другом ориентация соседних диполей антипараллельна. При параллельной ориентации энергия мембраны максимальна и поддерживается работой за счет гидролиза АТФ. Минимум энергии соответствует антипараллельной ориентации соседних диполей, однако, в этом состоянии мембрана не обладает активностью. Гомеостаз устанавливается в динамическом равновесии между переворотами диполей и ориентирующим действием АТФ. Модифицированный гамильтониан Хаббарда в терминах нашей модели имеет вид:

$$H(p_j) = \frac{1}{2} \sum_{i,j} J_{i,j} p_i p_j + U^+ \sum_i \lambda_i^+ c_i^+ p_i - U^- \sum_i \lambda_i^- c_i^- p_i, \quad (5.1)$$

где индексы i, j нумеруют узлы решётки (элементы белковой мозаики плазмалеммы); p_i – дискретная «спиновая» переменная, принимающая значения ± 1 ; J_{ij} – энергия кулоновского взаимодействия диполей, находящихся в узлах i, j ; $U^{+(-)}$ – энергия перехода «спина» в параллельное (+1), или антипараллельное (-1) положение; $\lambda^{+(-)}$ – соответствующие матричные элементы перехода; $c^{+(-)}$ – операторы повышения (понижения). Верхний предел сумм определяется выбором числа ближайших соседей. Кинетическое уравнение вытекает из гамильтониана (5.1) с учетом результатов [24]. Легко видеть, что перевороты диполей описываются нелинейным уравнением

$$\frac{d(N - n^-)}{dt} = -C(t) q_r (N - n^-) + (G_C + G_0) n^- - q_T (N - n^-), \quad (5.2)$$

где N – полное число молекул интегрального белка (см. рис. 5.1); n – число перевернутых диполей; $C(t)$ – зависящая от времени концентрация ион-радикала; G_0 – скорость генерации АТФ при гомеостазе; G_C – зависящая от концентрации радикалов скорость генерации АТФ; q_r – вероятность переворота диполя, обусловленная энергией переноса электрона анион-радикалом; q_T – термически равновесная вероятность спонтанного переворота полярной молекулы белка.

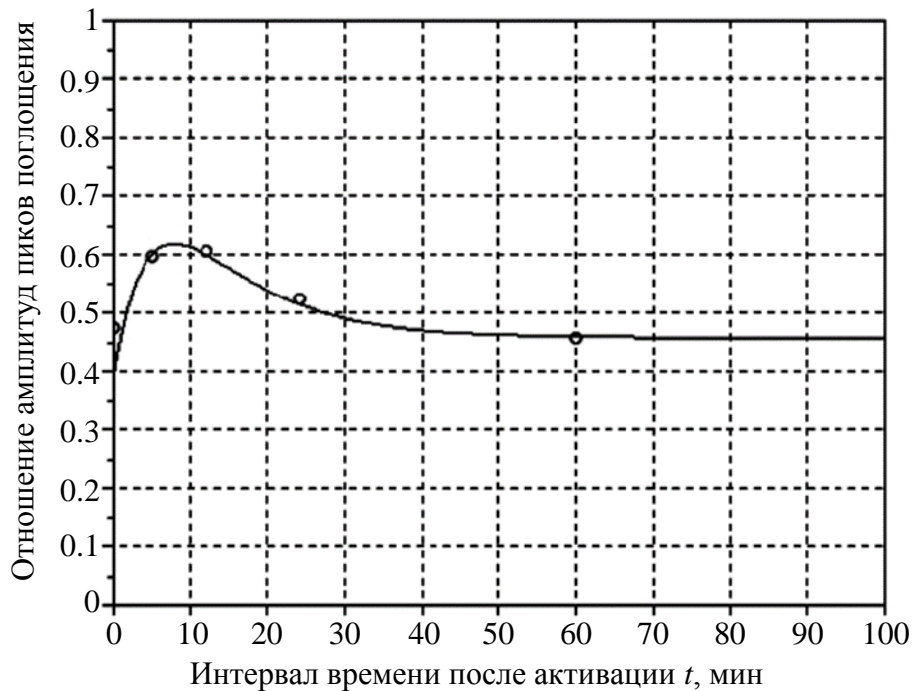


Рис. 5.4

ИК-спектры, полученные нами при моделировании экзофтальма [3], качественно согласуются с уравнением (5.2) и позволяют проследить динамику нарушения и восстановления баланса между ОС и АОС в организме подопытных животных. Динамика рассматриваемых процессов может быть прослежена по изменению отношения указанных пиков в ИК-спектрах образцов крови животных, взятых в разное время после внутрибрюшинной инъекции активированного раствором хлорного железа копропорфирина. Результаты эксперимента для усредненных по разным временным интервалам спектров проб, взятых в диапазоне от 10 мин до 1 ч после инъекции, представлены на рис. 5.4.

Следует отметить, что динамика отношений максимальных значений пиков ИК-спектра (точки на рис. 5.4) достаточно адекватно соответствует временной зависимости концентрации вторичного радикала (сплошная кривая на рис. 5.4), являющегося конечным в цепи окислительно-восстановительных реакций.

Так или иначе, нейрогуморальная регуляция ОС и АОС, других функций организма осуществляется в процессе адсорбции частиц при взаимодействии потока свободных радикалов из жидкостей организма с активными центрами поверхности плазмалеммы. В свою очередь, поверхность клеточной мембраны энергетически неоднородна, поэтому адсорбция и формирование поверхностных комплексов имеют особенности.

Энергетическая неоднородность поверхности клеточной мембраны определяется прежде всего различным строением металла-координатора, а также ассоциированных молекул воды и аквакомплексов противоионов, в зависимости от того, формируются они в виде отдельных кластеров вокруг отрицательно заряженного ядра молекулы структурного белка (см. рис. 5.1) и адсорбированных им ионов металла (см. рис. 5.2) или покрывают фрагмент плазмалеммы с дефектами билипидного слоя [32]. В первом случае аквакомплексы формируются как с внешней, так и с внутренней поверхности плазмалеммы, тогда как для компенсации отрицательного заряда дефектной структуры липидного бислоя достаточно кластера ассоциированных молекул H_2O с его внешней стороны.

Еще одно важное различие состоит в том, что аквакомплексы, образующиеся вокруг интегрированных в билипидный слой структурных белков, формируют кластеры под действием центральной силы притяжения к молекуле белка, которая убывает с увеличением расстояния медленнее сил отталкивания. Радиус действия межмолекулярных сил, напомним, не превышает 10 нм [64] и распространяется на структуры с пониженной размерностью, в том числе на вторичные и третичные структуры гетерополимеров многоклеточной биосистемы, белков и нуклеиновых кислот, а также ДНК и РНК вирусов, неклеточных паразитов растений, животных и человека.

Адсорбция противоионов дефектных участков плазмалеммы клеток ядерных организмов в свою очередь происходит под действием сил, равномерно распределенных по участку с нарушением структуры бислоя молекул липидов и липоидов, быстро спадая по мере удаления от границ дефектного участка. Подобная неоднородность поверхности приводит, как правило, к формированию фрактальных структур [42], которые обладают свойством памяти.

Характер и степень поляризации дипольной сети плазмалеммы, например, астроцита глии мозга или видоизмененного кардиомиоцита проводящей системы сердца и, как следствие, форма и интенсивность возникающих на ней

электромагнитных потенциалов под влиянием потока анион-радикалов обеспечивают автоматию в биосистемах и зависят от геометрического распределения активных центров липопротеиновой клеточной матрицы интегрированных в билипидный слой молекул структурных белков. Третичное строение и наличие пор в глобуле структурного белка, равно как форма и расположение дефектных участков липидного домена плазмалеммы, определяют характерное поведение импульсов действия, достигших поверхности клеток эффекторов, различных органов, тканей и других составляющих биосистемы.

Затронутая проблема требует отдельного подробного изучения, здесь же мы ограничимся рассмотрением влияния потока свободных радикалов на внешнюю поверхность мембраны эукариотической клетки и представлением математической модели этого процесса с учетом энергетической неоднородности поверхности клеток.

Перенос неспаренного электрона потоком свободных радикалов из жидкой среды организма через клеточную мембрану сопровождается окислительно-восстановительными процессами обратимого и необратимого характера, влияние которых на регуляцию основных жизненных функций биологической системы моделируется с учетом физико-химического взаимодействия потока радикалов с активными центрами плазмалеммы. В основу модели положен механизм динамической адсорбции отрицательно заряженных свободных радикалов на активных центрах клеточных мембран, приводящий как к локальной деполяризации двойного электрического слоя плазмалеммы, так и к точечному окислению мембраны, что существенно влияет на функционирование клетки. Транспорт неспаренного электрона свободным радикалом сопровождается индукцией электромагнитного поля, участвующего в регуляции и переносе информации в биосистеме.

Построенная нами математическая модель хорошо описывает также и окислительный стресс, нередко возникающий при динамической фототерапии опухолей с использованием в качестве сенсibilизаторов гематопорфирина и его производных, что в настоящее время широко применяется в экспериментальной и клинической онкологии [17]. Использование порфиринов, в частности, копропорфирина, обусловлено способностью фотосенсibilизатора избирательно запасаться и сохраняться в тканях злокачественных опухолей и генерировать при определённых условиях цитотоксические АФК: незаряженные молекулы синглетного кислорода и отрицательно заряженные анион-радикалы кислорода.

На основе большого числа опытов по изучению патологий, возникающих в процессе переноса неспаренного электрона свободным радикалом через наружную клеточную мембрану, достаточно надежно установлено, что нейрогуморальная регуляция функций биологической системы зависит от баланса АОС и системы генерации супероксида и других радикалов. На основе изученных оригинальных моделей нами построено математическое описание процессов взаимодействия потока свободных радикалов из внутренней среды с внешней поверхностью плазмалеммы клетки и установлена связь концентрации и интенсивности диффузионного потока радикалов в жидкой среде с продолжительностью жизни ядерной клетки.

Физической основой математической модели является механизм динамической адсорбции отрицательно заряженных радикалов кислорода на положительно заряженных активных центрах (см. рис. 5.1) энергетически неоднородной поверхности клеточной мембраны. Строение активного центра, ядром которого является заряженная молекула ионофильного структурного белка, позволяет диффузионному потоку супероксида и других отрицательно заряженных радикалов в процессе переноса электрона осуществлять модуляцию вектора поляризации активной ячейки, вызывая ток смещения, выражающийся в скачках потенциала, например, в бислое липидов мембраны [68], модели плазмалеммы в опытах биофизиков.

Физико-химическая природа механизмов взаимодействия потока свободных радикалов с энергетически неоднородной поверхностью плазмалеммы близка к природе процессов, происходящих при формировании поверхностных структур в полупроводниковых материалах, обработанных методом электролитического травления [27], [38], [42]. Изоморфность процессов, происходящих на поверхности пористого кристалла и жидкокристаллической плазмалеммы подтверждается приобретением обоими объектами, минеральным и живым, сходных структур. В плазмалемме – это активные центры в виде интегрированных белков и дефектные области билипидного слоя, в пористом кристалле – это наноразмерные поры и сеть силановых и силоксановых групп на поверхности. Первые являются центрами координационно насыщенного монослоя поверхностной адсорбции, на вторых формируется динамически координированный монослой [3], [38], [42].

Существенно, что на липопротеиновой матрице клеток происходит как локальная деполяризация, так и образование пористой структуры в результате окисления поверхностных центров отрицательно заряженными радикалами,

перенос которых на поверхность осуществляется [23] диффузионным потоком анион-радикалов кислорода плотностью j_{dif} (3.5), при этом изменение плотности потока АФК неизбежно модулирует фрактальную структуру кластеров на плазмалемме.

Если концентрация активных элементов дипольной сети на внешней поверхности плазмалеммы N_0 , то динамическая адсорбция радикалов на положительно заряженный активный центр (см. рис. 5.1) в условиях гомеостаза поддерживает медленно меняющееся детальное равновесие энергетически неоднородных структур, формирующихся на поверхности клеточной мембраны в результате окисления активных центров (молекул белков) частицами анион-радикалов. Часть активных центров, нейтрализованных адсорбированным радикалом (N_n), участвует в процессе локальной деполяризации мембраны и обеспечивает встречный транспорт ионов Na^+ и K^+ . Формирование пористых образований, не участвующих в регулируемом транспорте ионов, происходит в процессе окисления и пероксилирования активных центров и близлежащего липидного окружения (N_{ox} и N_{px} , соответственно).

Легко видеть, что работоспособность (жизнеспособность) клетки, которая определяется возможностью её реакции на возбуждение из окружающей жидкости, описывается уравнением [26]:

$$\frac{N_a}{N_0} = \frac{1}{j_{\text{dif}}} \left(\frac{N_n}{\tau_n} + \frac{N_{ox}}{\tau_{ox}} \right). \quad (5.3)$$

В уравнении (5.3) n_a – равновесная концентрация активных центров при гомеостазе. Однократное окисление активного центра, как и нейтрализация, являются обратимыми процессами с временами жизни τ_{ox} и τ_n .

Полагая многократное окисление активного центра необратимым и учитывая также необратимость перекисного окисления липидного бислоя в местах его деформации, получим систему уравнений, описывающих взаимодействие потока свободных радикалов с поверхностными центрами плазмалеммы ядерной клетки:

$$\begin{aligned} \frac{dN_a}{dt} &= j_{\text{dif}} + N_n \left(\frac{j_{\text{dif}}}{N_0} + \frac{1}{\tau_n} \right) + N_{ox} \left(\frac{j_{\text{dif}}}{N_0} + \frac{1}{\tau_{ox}} \right) + N_{px} \frac{j_{\text{dif}}}{N_0}; \\ \frac{dN_n}{dt} &= j_{\text{dif}} - N_n \left(\frac{j_{\text{dif}}}{N_0} + \frac{1}{\tau_n} \right) - N_{ox} \left(\frac{j_{\text{dif}}}{N_0} + \frac{1}{\tau_{ox}} \right) - N_{px} \frac{j_{\text{dif}}}{N_0}; \end{aligned}$$

$$\frac{dN_{ox}}{dt} = N_n \frac{j_{dif}}{N_0} - N_{ox} \left(\frac{j_{dif}}{N_0} + \frac{1}{\tau_{ox}^*} \right);$$

$$\frac{dN_{px}}{dt} = N_{ox} \frac{j_{dif}}{N_0}, \quad (5.4)$$

где τ_{ox}^* – эффективное время жизни окисленного центра, учитывающее два возможных механизма восстановления: прямое восстановление до активного состояния и внутреннее преобразование окисленного центра в нейтральное.

Достаточно значимые результаты могут быть получены прямым интегрированием системы (5.4). Моделирование жизнедеятельности клетки в условиях баланса и дисбаланса ОС и АОС подтверждает вывод опубликованной нами работы [22] о возможности эффективного функционирования клетки в широком диапазоне концентраций анион-радикала, если АОС компенсирует изменение активности ОС. Адекватно влияет также внешнее воздействие, сопряженное с генерацией радикалов, например, использование источников ионизирующего излучения или стресс-факторов (шума и др.) разной физической природы, вызывающее рост концентрации свободных радикалов в биосистеме, как например увеличение дозы инъектируемого копропорфирина в опытах на линейных мышах.

В работе [22] была проведена оценка плотности диффузионного потока активных частиц за время жизни радикала и показано, что взаимодействие неспаренного электрона супероксида с поверхностным центром матрицы клеточной мембраны возбуждает электромагнитное поле как источник энергии, побуждающей клетки (сердца и мозга) к «спонтанной» активности, а органы – к осуществлению специфической деятельности.

На рис. 5.5 представлена зависимость времени жизни эукариотической клетки в условиях баланса (кривая 1) и разбалансировки (кривая 2) ОС и АОС, когда последняя не компенсирует динамику роста концентрации радикала $O_2^{\bullet-}$. Время жизни клетки определялось по достижении равенства концентраций необратимо окисленных и действующих активных центров.

Сравнение с проведенными ранее экспериментами по моделированию заболеваний со свободно-радикальной природой патогенеза подтверждает адекватность математического описания влияния отрицательно заряженных частиц на время жизни клеток организма и существенную зависимость этих процессов от баланса ОС и АОС организма.

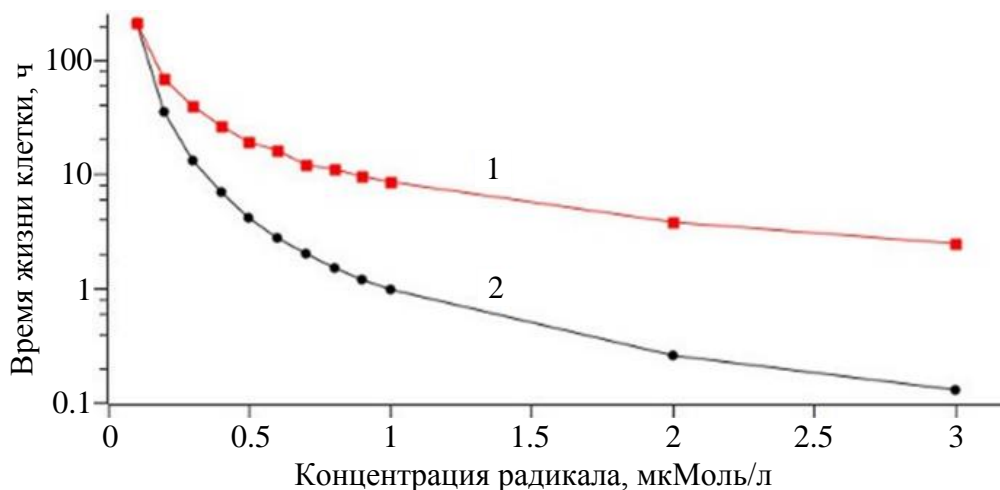


Рис. 5.5

Так, в экспериментах по моделированию патологий на мышах линии *DBA/2* нами проводилось [54] прямое воздействие на баланс ОС и АОС организма с введением подопытным животным ингибитора фермента *NADPH*-дегидрогеназы (*DT*-диафоразы) и водного раствора гидрохинона. Эффект снижения активности *DT*-диафоразы состоял в понижении порога деполяризации клеточных мембран и смещения равновесной области генерации АФК в сторону увеличения концентрации супероксида в плазме крови. Косвенно эффект подтверждался регистрацией [1] сигналов ЭПР семихинонного радикала и спиновых аддуктов цепной реакции одноэлектронного переноса с образованием пористой структуры.

Непосредственное влияние потока отрицательно заряженных частиц радикалов на время жизни клетки легко заметить также из сравнения результатов по моделированию гемозависимого экзофтальма [54] как сосудистой патологии, или частичной модели инсульта, и полимиозита формы Вагнера–Унферрихта, сопровождаемого симптомами миокардита [23]. В первом случае при повышении концентрации супероксида до 30 раз АОС не успевала приспособиться к быстрому росту концентрации радикалов и патологический эффект (разрыв сосуда за глазным яблоком и возникновение гематомы) наступал уже через полтора-два часа. Напротив, при моделировании полимиозита, когда в крови животных в течение длительного времени поддерживалась повышенная концентрация радикалов, эффект (деструкция и зернистый распад осевых цилиндров мягкотных нервных волокон, кровоизлияния диапедезного характера) наступал в хроническом опыте значительно медленнее (рис. 5.5 в этом смысле демонстрирует сходные тенденции развития событий на клеточном уровне).

На основе анализа результатов математического моделирования и сравнения этих результатов с экспериментальными данными подтверждается тезис о решающем значении отрицательно заряженных активных частиц супероксида, генерируемых в организме и участвующих через влияние на клеточную мембрану в нейрогуморальной регуляции основных функций биологической системы. В дальнейшем будут рассмотрены результаты наших экспериментов с аппликацией растворов активированного копропорфирина на поверхность нервно-мышечного препарата лягушки, дополненные результатами опытов на миокарде земноводных, которые также подтверждают приведенные здесь выводы.

6. ФРАКТАЛЬНЫЕ СТРУКТУРЫ ДИПОЛЬНОЙ МАТРИЦЫ ПЛАЗМАЛЕММЫ

Природу формирования матрицы дипольной сети клеточных мембран [38] можно сопоставить с событиями, происходящими в процессах адсорбции на энергетически неоднородной поверхности твердых тел, например, в кристаллических пористых полупроводниковых материалах с фрактальной структурой адсорбционного слоя [20].

Фрактальные структуры [77] обладают масштабной инвариантностью, когда в целом структура подобна элементам, из которых она состоит. Размерность фракталов не совпадает с размерностью пространства, в котором она формируется и существует. Устойчивое состояние возможно в том случае, когда процесс формирования структуры во времени обладает особым свойством – памятью. Структура, по мере формирования в пространстве, развивается и поддерживается как подобная себе самой, но отличающаяся отдельными элементами.

Адсорбция из жидких и газовых сред в той или иной степени сопровождается процессами агрегации сорбирующихся частиц, особенно если эти частицы заряжены в связи с наличием ионов и свободных радикалов в окружающей среде или свободных носителей заряда в объеме и на поверхности адсорбента. Присутствие ионов и радикалов в окружающей среде характерно для процессов агрегации, протекающих в коллоидных системах, в частности, при формировании противоионных кластеров на интегрированных белках плазмалеммы [29], [32] в биологических системах и биосенсорах. Кластеры, образующиеся при адсорбции на клеточную мембрану из жидкой среды организма, имеют различную морфологию в зависимости от адсорбционной способности активного центра на поверхности, а также от преобладающего типа агрегации: частица-кластер или кластер-кластер. С другой стороны, наличие свободных носителей заряда, например, в полупроводниковых сенсорах, использующих пористые кристаллы, позволяет получать высокодисперсные структуры с энергетически неоднородной поверхностью, обладающие высокой адсорбционной способностью [40].

Свободные радикалы, в свою очередь, оказывают влияние как на характер агрегации частиц, так и непосредственно на топологию и энергетический рельеф поверхности адсорбента [28], [38]. Во всех случаях поверхностная агрегация формируется в процессе диффузии из приповерхностного пограничного слоя, существенно влияя на физические свойства сенсора [22], [42], [62]. Энергетическая неоднородность адсорбирующей подложки, а также различие

типов агрегации приводят к нарушению однородности диффузионного слоя в латеральном направлении, образуя неоднородности наномасштаба, которые, в свою очередь, способны формировать фрактальные структуры.

Энергетическая неоднородность поверхности пористого кристалла проявляется в том, что на гидрофобной поверхности полупроводника формируются активные центры в виде наноразмерных пор и образовавшихся в процессе обработки силановых и силоксановых групп, вокруг которых образуются агрегаты координационно насыщенного по водородным связям и динамически координированного монослоя, соответственно [3], [22], [40].

Энергетическая неоднородность поверхности клеточной мембраны обусловлена прежде всего различным строением противоионных аквакомплексов, в зависимости от того, формируются ли они в виде кластеров вокруг отрицательно заряженных интегрированных белков или покрывают часть плазмалеммы с дефектами структуры билипидного слоя [20], [32]. Таким образом, характер поляризации плазмалеммы, а следовательно форма и интенсивность потенциала действия на ней, существенно зависят от топологии и поверхностной концентрации интегрированных белков, а также от формы и расположения дефектных участков плазмалеммы [27], [78], определяя характерное поведение импульсов действия для эукариотических клеток различных органов, тканей и других составляющих биосистемы.

В биосистемах подобные события по формированию фрактальных структур особенно отчётливо наблюдаются *in vivo* при репликации и синтезе белков с использованием матрицы ДНК и информационной (матричной) мРНК. Диплоидный набор генов кариотипа ($2n$ человека = 46 хромосом), образующийся на основе двух гаплоидных наборов родителей при оплодотворении ($n+n=2n$), хранит последовательность аминокислот в молекулах огромного числа белков организма зародыша, а в дальнейшем плода, младенца, ребенка и взрослой формы. Исключение составляют антитела (иммуноглобулины), приобретаемые или создаваемые биосистемой рецепторы поверхности клеток памяти В-лимфоцитов, которые возникают после контакта с антигеном, в том числе после профилактических прививок ребенка или взрослого человека за время жизни. Спектр белков-иммуноглобулинов на мембранах лимфоцитов человека может расширяться. В биосистемах поверхностная мембрана клеток (матрица) и молекулы структурных белков совместно участвуют в формировании информационного следа частиц-участников электромагнитного процесса, который *in vivo* служит основой памяти в широком смысле слова, в том числе

генетической, зрительной, слуховой, связанной так или иначе с восприятием раздражителей рецепторами органов чувств. Собственно, раздражителем и является диффузионный поток O_2^- из внутренней среды на поверхность активных клеточных центров.

Межмолекулярные взаимодействия (в том числе непосредственно вокруг репликационной вилки) происходят при сближении частиц и попадания в зону действия сил Ван-дер-Ваальса с радиусом действия до 10 нм. Величина сил может изменяться и зависит, например, от агрегатного состояния молекул воды. Явление сцепления молекул воды и слипание клеток при адгезии бактерий на поверхности фагоцита напоминают взаимодействия на уровне атомов и молекул. Молекулы ДНК располагаются на некотором равновесном расстоянии друг от друга, обеспечивая тем самым масштабную инвариантность и стабильность нуклеотидных последовательностей генетической памяти. Метилирование по цитозину с помощью ДНК-метилтрансфераз изменяет расстояние между нуклеотидами, что блокирует экспрессию генов сайта, укрытого под импринтом. Внутриклеточные объемы (компарменты), ограниченные липопротеиновой мембраной везикулы и цистерны мембранных органелл, также являются объектами с пониженной размерностью. Само ядро клетки, по сути, двухмембранный органоид, внешняя мембрана которого связана с плазмалеммой и внутренней жидкой средой каналами.

Самособирающийся комплекс поверхностного аппарата живой клетки, синтезируемые клеткой молекулы билипидного слоя и структурные биполярные белки образуют дипольную сеть тканей и органов. Клетки реагируют на местное и общее повышение концентрации свободных радикалов во внутренней среде организма изменением топологии фрактальных поверхностных структур, ростом частоты локальных деполяризации и осцилляций плазмалеммы [22], [25], которая на большей части поверхности клетки представлена липидным доменом с холестерином и структурными белками, пронизывающими билипидный слой. Токи смещения, возникающие в процессе одноэлектронного переноса радикалами, приобретают синфазный характер, подобно вынужденным переходам в квантовых системах, в результате чего формируются импульсы солитонного типа, которые в сетях нейронов передаются в биосистеме на большие расстояния. Свободные радикалы кислорода играют ведущую роль в регуляции основных функций многоклеточной биосистемы и позволяют организму перестраивать в широких пределах работу ОС и АОС организма в ответ на изменение факторов внешней и внутренней среды.

Фрактальная поверхностная структура на плазмалемме, например, нервной клетки формирует локальный дипольный момент интегрированной в липидный бислой мембраны терминальной части молекулы структурного белка (его полярного полюса) и дипольных моментов, создаваемых зарядами адсорбированных ионов и ассоциированных в комплекс с ними молекул воды. При этом ионы Na^+ на внешней поверхности усиливают поляризацию мембраны, тогда как ионы K^+ на внутренней оказывают обратное действие. Проницаемость мембраны для натрия значительно ниже, чем для калия, и скорее всего не изменяется в зависимости от каких-либо условий, за исключением наличия заряда у иона или его отсутствия у атома. Это замечание ставит под сомнение распространенное объяснение так называемого «овершута», по сути, мгновенного изменения знака разности потенциалов на мембране нейрона и проведения электромагнитного импульса по аксону при возникновении потенциала действия (спайка).

Процесс формирования равновесного кластера вокруг активного центра на энергетически неоднородной поверхности сенсора, или липидного бислоя эукариотической клетки, обладает определенной изоморфностью процессов, происходящих в обеих структурах [27], [71], [79]. Основным механизмом этих процессов, по сути, является поверхностным фазовым переходом в гетерогенном монослое [80], при котором достигается равновесие двух объемных фаз: адсорбент $\{\alpha\}$ и пограничная фаза диффузионного слоя $\{\beta\}$, а также двух поверхностных фаз: координационно насыщенный $\{\omega\}$ и динамически координированный $\{\varepsilon\}$ монослои.

Для внутренней энергии поверхностных фаз фундаментальное уравнение первого начала, приведенное к молярным параметрам, имеет вид

$$du = Tds + \sigma_{\omega} da_{\omega} + \sigma_{\varepsilon} da_{\varepsilon} + \chi dl, \quad (6.1)$$

где u – внутренняя энергия моля поверхностной фазы, Tds – молярная теплота адсорбции (T – абсолютная температура, s – молярная энтропия); $\sigma_i da_i$ – работа приращения поверхностной фазы (σ – поверхностное натяжение, a – молярная площадь); χdl – работа роста линии раздела фаз (χ – линейное натяжение межфазной границы, l – молярная длина линии раздела). Равновесие поверхностных фаз определяется из условия минимума свободной энергии линии межфазного натяжения и поверхности адсорбированного кластера, для которых необходимо выполнение следующих условий, непосредственно вытекающих из (6.1):

$$ld_{\chi} = -s_{\omega\chi} dT - (a_{\omega\chi} - a_{\varepsilon}^{(\chi)}) d\sigma_{\omega} - a_{\varepsilon}^{(\chi)} d\sigma_{\varepsilon} + a_{\omega\chi} mDdj = 0 \quad (6.2)$$

$$ld_{\chi} = (s_{\omega\varepsilon} - s_{\omega\chi}dT) + (a_{\omega\varepsilon} - a_{\omega\chi} + a_{\varepsilon}^{(\chi)} - a_{\varepsilon})d\sigma_{\omega} + \\ + (a_{\omega\varepsilon} - a_{\varepsilon})d\sigma_{\varepsilon} - (a_{\omega\varepsilon} - a_{\omega\chi})mDdj \quad (6.3)$$

для линии межфазного натяжения и

$$(a_{\omega\varepsilon} - a_{\varepsilon})d\sigma_{\omega} + a_{\varepsilon}d\sigma_{\varepsilon} + s_{\omega\varepsilon}dT - a_{\omega\varepsilon}mDdj = 0 \quad (6.4)$$

для поверхности адсорбированного кластера, со стороны координационно насыщенной фазы, где $s_{\omega\varepsilon}$, $a_{\omega\varepsilon}$ – энтропийный и поверхностный молярные эффекты обмена частицами между поверхностными фазами; $s_{\omega\chi}$, $a_{\omega\chi}$ – аналогичные эффекты при переходе из поверхностной фазы на линию раздела; $a_{\varepsilon}^{(\chi)}$ – молярная площадь линии разрыва со стороны динамически координированной фазы; D – коэффициент диффузии, m – масса сорбируемого агрегата, j – плотность потока диффузии из пограничного слоя. Оба уравнения записаны в переменных фазы координационно насыщенного кластера. Кривизна линии разрыва с учетом очевидного обстоятельства, что вогнутость линии располагается со стороны координационно насыщенной фазы, учитывается выражением [80]:

$$d\sigma_{\omega} = d\sigma_{\varepsilon} - \frac{d\chi}{r} + \frac{\chi}{r^2}dr, \quad (6.5)$$

где r – радиус кривизны линии раздела фаз.

Фазовый обмен между динамически координированной и координационно насыщенной фазами со стороны динамически координированной фазы описывается симметричными уравнениями для линии межфазного натяжения и поверхности кластера.

Равновесие координационно насыщенной и динамически координированной фаз с диффузионным слоем внешней для плазмалеммы среды описывается соотношениями

$$s_{\beta\omega}dT - a_{\beta\omega}mDdj + a_{\omega}d\sigma_{\omega} = 0, \quad (6.6)$$

$$s_{\beta\varepsilon}dT - a_{\beta\varepsilon}mDdj + a_{\varepsilon}d\sigma_{\varepsilon} = 0. \quad (6.7)$$

Рассматривая изотермический процесс формирования гетерогенного адсорбционного слоя на энергетически неоднородной поверхности мембраны, следует иметь в виду, что изменение площади поверхности динамически координированной фазы не влияет на интенсивность диффузионного потока из промежуточного слоя на поверхность плазмалеммы, при этом не меняется также и поверхностное натяжение динамически координированной фазы, поскольку динамическая координация осуществляется силановой группой в пористом

кристалле или дефектом билипидного слоя плазмалеммы, следовательно, приняв $d\sigma_{dl} = 0$, получим из (6.2) и (6.3) с учетом фазового обмена между динамической и насыщенной координацией для межфазной границы в параметрах координационно насыщенной фазы уравнение (6.8), определяющее равновесие линии разрыва между поверхностными фазами гетерогенного слоя:

$$ld\chi = -\left(\frac{1}{2}a_{\omega\varepsilon} - a_{\omega\chi}\right)mDdj + \left(\frac{1}{2}a_{\omega\varepsilon} - \frac{1}{2}a_{\varepsilon} + a_{\varepsilon\chi} - a_{\omega\chi}\right)d\sigma_{\omega}. \quad (6.8)$$

Из уравнений равновесия гетерогенной поверхностной фазы и граничного диффузионного слоя (6.6) и (6.7), взятых при тех же условиях, получим

$$(a_{\omega} - a_{\omega\varepsilon} + a_{\varepsilon})d\sigma_{\omega} = -(a_{\omega\beta} + a_{\omega\varepsilon} - a_{\varepsilon\beta})mDdj. \quad (6.9)$$

После подстановки в (6.5) уравнения (6.9) с учетом симметричных соотношений $a_{ik} = a_k - a_i$ получаем уравнение в полных дифференциалах состояния кластера координационно насыщенного монослоя на энергетически неоднородной поверхности плазмалеммы:

$$-\frac{1}{r}a_{\omega}d\chi + \frac{\chi}{r^2}a_{\omega}dr - (a_{\omega} - a_{\varepsilon})mDdj = 0. \quad (6.10)$$

Из (6.10) следует, что адсорбция на энергетически неоднородной поверхности неизбежно формирует кластеры пониженной размерности, соотношение между площадью и средним радиусом которых характеризуется вариацией показателя степени в пределах от 1 до 2.

Аналогичный вывод следует также из рассмотрения уравнения для свободной энергии координационно насыщенного кластера, из которого может быть получено конкретное значение его фрактальной размерности. Соответствующее уравнение (6.11) имеет вид

$$\sigma_{\omega}da_{\omega} + \chi_{\omega}dl_{\omega} = -Tds - mDjda_{\omega}. \quad (6.11)$$

Таким образом, рост координационно насыщенной фазы вокруг заряженного центра адсорбции биомембраны описывается степенной зависимостью между средним радиусом кластера и его площадью:

$$a_{\omega} = ar_o^H, \quad (6.12)$$

где H варьируется в пределах от 1 до 2, являясь по сути размерностью Хаусдорфа [81]. Выражение (6.12) вполне согласуется с экспериментально наблюдаемой закономерностью изменения интегральной интенсивности широкой компоненты спектра ЯМР в гидратированном пористом кристалле, связывающее

рост площади координационно насыщенной адсорбированной фазы с изменением влажности [42]. Соответствующее выражение в актуальных обозначениях имеет следующий вид:

$$a_{\omega} = a_{\omega/s} (h - h_s)^H, \quad (6.13)$$

где h – влажность среды; h_s – критическая влажность, соответствующая насыщению наноразмерных пор, $H=1,56\pm 0,24$ – экспериментально измеренная размерность Хаусдорфа. Тем самым демонстрируется определенная изоморфность процессов адсорбции в плазмалемме и пористой структуре, объединяющим фактором которой является энергетическая неоднородность адсорбционных центров на гидрофобной поверхности адсорбента.

Степенной закон роста координационно насыщенного кластера характерен для различных процессов и, вообще говоря, описывает диффузию возбужденных частиц из некоторой области пространства к границам, где частицы теряют свою активность. В данном случае при неизменном потоке частиц из пограничного слоя к поверхности мембраны диффузия сорбированных частиц к границе раздела поверхностных фаз относится к той же категории явлений. Предполагается, что в наблюдаемых степенных закономерностях фундаментальную роль играет геометрия среды [82].

Фаза динамически координированного слоя по сути является двумерным газом с центрами конденсации вокруг дефектов жидкокристаллической матрицы. Аналогичная структура адсорбированной фазы формируется на поверхности пористого кристалла, где основными центрами адсорбции являются наноразмерные поры, а расположенные случайным образом силановые и силоксановые группы, адсорбция на которых слабее, также играют роль центров конденсации двумерного газа. Поэтому динамически координированную поверхностную фазу можно также описывать в терминах поверхностного давления (заменой σ_{ε} на $-\pi$) в условиях изобарного процесса (ранее показано, что $d\sigma_{\varepsilon} = 0$).

Процесс роста кластера с фрактальной границей описывается обобщенным уравнением диффузии, которое в данном случае включает оператор дробной производной [83]. Для кластера достаточно больших размеров (средний радиус кластера превышает диффузионную длину пробега сорбированных частиц) в рассматриваемом случае проблема диффузии к самоподобным границам отображается следующим соотношением:

$$j_{e\chi f}(\rho, t) = \frac{\partial}{\partial t} \left[\left(D_{\varepsilon f}(t) * \frac{\partial C_{\varepsilon}(\rho, t)}{\partial \rho} \right) \right], \quad (6.14)$$

где $j_{e\chi f}(\rho, t)$ – плотность потока из двумерной газовой фазы на границу раздела; $D_{\varepsilon f}(t)$ – зависящий в общем случае от времени коэффициент диффузии; $C_{\varepsilon}(\rho, t)$ – поверхностная концентрация двумерного газа; ρ – радиальная координата, направленная к центру адсорбции. Для изобарного состояния динамически координированного слоя коэффициент диффузии (в данном случае дробный оператор диффузии) не зависит явно от времени, поэтому для плотности потока диффузии на единицу длины линии разрыва получаем:

$$j_{e\chi f}(\rho, t) = D_{\varepsilon} \frac{\partial C_{\varepsilon}(\rho, t)}{\partial \rho}, \quad (6.15)$$

где $C_{\varepsilon}(\rho, t)$ полагаем постоянным везде, кроме реактивного слоя вблизи линии разрыва между фазами. На линии разрыва, где сорбированные частицы теряют активность, получаем граничное условие $C_{\varepsilon}(\rho, t) = 0$. Соответствие между процессами диффузии на фрактальную и гладкую границу может быть выражено как

$$l j_{\varepsilon\chi f} = l_f j_{\varepsilon\chi},$$

где $j_{\varepsilon\chi}$ – диффузионный поток на гладкую границу, который выражается законом Фика; $j_{\varepsilon\chi f}$ – соответствующий поток на границу фрактального кластера; l и l_f – длины гладкой и фрактальной границ раздела фаз. Периметр l кластера с гладкой границей пропорционален его радиусу, площадь a_{ω} кластера со средним радиусом r_0 пропорциональна r_0^2 ; а площадь $a_{\omega f}$ и периметр l_f фрактального кластера подобного размера выражаются соотношениями [77]:

$$a_{\omega f} = r_0^H \xi^{2-H},$$

$$l_f = r_0^H \xi^{1-H},$$

где ξ – произвольная длина отсчета для измерения площади и периметра координационно насыщенного кластера; H – фрактальная размерность границы. Для диффузионного процесса натуральной длиной отсчета является толщина пограничного слоя диффузионного профиля (λ):

$$\lambda = k \sqrt{D_{\varepsilon} \tau},$$

где k безразмерная константа, D_ε – коэффициент поверхностной диффузии в фазе динамически координированного слоя, τ – среднее время свободного пробега. В модельных расчетах, учитывая постоянство поверхностного давления по всей площади координационно насыщенной фазы, следует положить $k = 1$.

Подстановка выражения для толщины диффузионного профиля в уравнение, описывающее периметр фрактального кластера, дает выражение для явной реактивной области фрактальной границы как функции времени:

$$l_f(t) = k^{1-H} r_o^H(t) D_\varepsilon^{\frac{1-H}{2}} \tau^{\frac{1-H}{2}}.$$

Полагая линию разрыва замкнутой, получаем для роста площади координационно насыщенного кластера:

$$\frac{\partial}{\partial t}(C_\omega a_\omega) = l_f D_\varepsilon \frac{\partial C_\varepsilon(\rho, t)}{\partial \rho},$$

или, после подстановки выражения для периметра фрактального кластера,

$$\frac{\partial}{\partial t}(C_\omega a_{\omega f}) = k^{-H} r_o^H(t) D_\varepsilon^{\frac{1-H}{2}} C_\varepsilon \tau^{\frac{H}{2}}, \quad (6.16)$$

где $D_\varepsilon^{\frac{1-H}{2}}$ следует трактовать, как дробный оператор диффузии.

Таким образом диффузия сорбированных частиц на фрактальную границу кластера удовлетворяет уравнению (6.16), в котором коэффициент диффузии в динамически координированной фазе D_ε заменяется дробным оператором диффузии $D_{\varepsilon f}$.

На основе уравнения (6.16) можно построить модель роста поверхностного кластера, которая учитывает фрактальные свойства его периметра. Для этого заменим плотность частиц в каждой области пропорциональной ей величиной, поверхностным давлением π или поверхностным натяжением σ , а также используем уравнение (6.4). Таким образом,

$$a_{\omega f} \frac{\partial \sigma_\omega}{\partial t} + \sigma_\omega \frac{\partial a_{\omega f}}{\partial t} = k^{-H} r_o^H(t) D_\varepsilon^{\frac{1-H}{2}} \sigma_\varepsilon \tau^{\frac{H}{2}},$$

или, после подстановки (6.4) с учетом изобарного характера динамически координированной фазы

$$\sigma_\omega \frac{\partial a_{\omega f}}{\partial t} = k^{-H} r_o^H(t) D_\varepsilon^{\frac{1-H}{2}} \sigma_\varepsilon \tau^{\frac{H}{2}} - a_{\omega f} \left(\frac{\chi}{r_o^H} \frac{\partial r_o}{\partial t} - \frac{1}{r_o(t)} \frac{\partial \chi}{\partial r} \frac{\partial r_o}{\partial t} \right). \quad (6.17)$$

В конечно-разностном представлении уравнение (6.17) позволяет определить скорость роста границы и площади координационно насыщенного кластера и время установления динамического равновесия. Результаты моделирования существенно зависят от геометрии расположения центров адсорбции на моделируемой поверхности и фрактального рельефа периметра, в котором неизбежно присутствуют участки с кривизной разного знака, в том числе в виде участков, вогнутых в сторону динамически координированной фазы, с которых происходит существенное испарение частиц. Тем самым неизбежно формируется рыхлый кластер, т. е. скорость роста площади координационно насыщенного кластера ограничивается путем образования в массиве координационно насыщенной фазы дефектных участков, которые одновременно увеличивают скорость роста границы кластера. Задавая распределение неоднородных по энергии адсорбционных центров, например, с гауссовым спадом энергии от центра адсорбции, следует ожидать появления подобных дефектов по изоэнергетическим линиям на поверхности сенсора.

Формирование фрактального кластера происходит следующим образом. Для заданного распределения центров адсорбции кластер растет как плотная структура до тех пор, пока средний радиус сформировавшегося кластера не становится равным ширине λ пограничного слоя диффузионного профиля, или пока граница кластера не достигнет изоэнергетической линии. Дальнейшее развитие кластера представляет собой протекание нескольких конкурирующих процессов.

В результате формируется фрактальная структура, масса и форма которой существенным образом определяются выбором геометрии и энергетики адсорбционных центров. При этом следует отметить, что сформировавшийся равновесный кластер представляет собой динамическую структуру, которая при детальном равновесии поглощения и испарения способна изменять форму и размерность.

7. ФОТО И ХИМИЧЕСКАЯ АКТИВАЦИЯ ОДНОЭЛЕКТРОННОГО ПЕРЕНОСА

При облучении водного раствора копропорфирина светом на длине волны 630 нм энергия фотона соответствует значению около 2 эВ, при этом образуется возбужденная форма молекулы, синглетный кислород (O_2^*). Молекула копропорфирина состоит из тетрапиррольного кольца с чередующимися двойными и одинарными связями. Эта структура является основой гема крови позвоночных животных и человека, её протетической группой, с которой в гемоглобине связан ион Fe^{2+} . Тетрапиррольное кольцо может играть роль как донора, так и акцептора электрона, поэтому при активации металлом-координатором в аэробной среде образуется анион-радикал кислорода (супероксид $O_2^{\bullet-}$), что происходит при окислении свободного, нестабильного гема крови в гемин и гемоглобина в метгемоглобин регулярно. Супероксид не является сильным окислителем, тем не менее при участии ферментов в тканях он способен активировать другие радикалы с более выраженными окислительными свойствами.

Копропорфирин можно использовать в качестве генератора АФК при фотоактивации квантами длиной волны в диапазоне от 550 до 650 нм, получая при этом синглетный кислород и супероксид. Это происходит при активации флуоресцирующими веществами в специальных растворах, например, пероксиоксалатного рубрена, а также с помощью растворов соли металла-координатора для генерации анион-радикалов кислорода.

Фотоактивация копропорфирина сопровождается флуоресценцией на длине волны около 635 нм, а в спектре поглощения калиевой соли тетрапиррола отмечается пик на той же длине волны. Как видно на спектрах ядерного магнитного резонанса (ЯМР) чистого копропорфирина и копропорфирина, активированного рубреном (рис. 7.1) или раствором металла-координатора, являющихся парамагнетиками, в спектрах ЯМР отмечается существенное уширение линий, что облегчает его активацию квантами, вслед за взаимодействием с химическими реагентами.

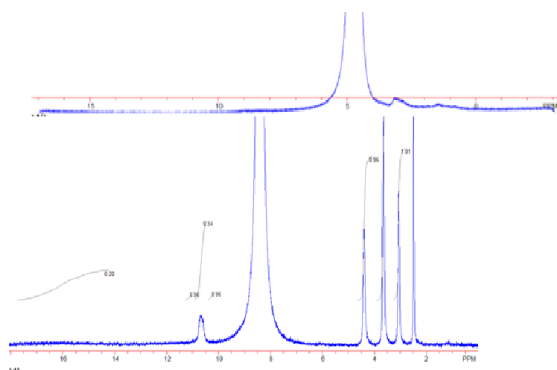


Рис. 7.1

уширение линий, что облегчает его активацию квантами, вслед за взаимодействием с химическими реагентами.

В методологическом плане флуоресценция позволяет визуализировать тот или иной изучаемый процесс. Так, в относительно недавних опытах [47], использование ретровирусов, кодирующих флуоресцирующие белки, позволило

проследить формирование начального сегмента аксона (*AIS*), морфологическое развитие и созревание афферентных и эфферентных синаптических связей вновь образованных клеток зубчатой извилины гиппокампа у молодых половозрелых линейных мышей.

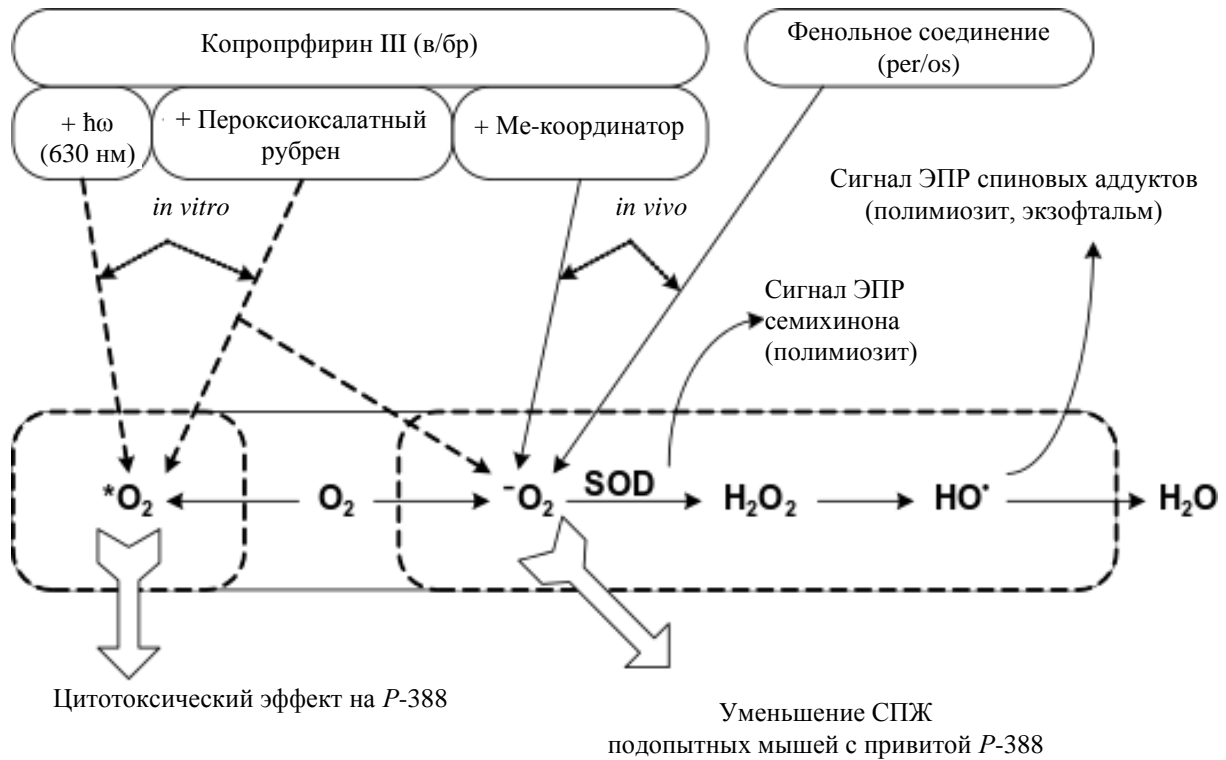


Рис. 7.2

В наших опытах [17] по фотоактивации раствора копропорфирина использовался солнечный свет или излучение лазера, мощность прибора 22 мВт, излучение в диапазоне 630 нм, экспозиция 240 Дж/см². Раствор копропорфирина с содержащимися в нём клетками P388 облучался *in vitro*. Образующийся в результате экспозиции синглетный кислород приводил к гибели находящиеся в облучаемом растворе клетки лимфоцитарной лейкемии мышей P-388 (рис. 7.2).

На рис. 7.2 представлена подробная схема образования радикалов в реакциях одноэлектронного переноса при воспроизведении моделей полимиозита, экзофтальма и лимфоцитарной лейкемии P-388 на мышах DBA/2. Эффект распространяется на клетки лимфоцитарной лейкемии P-388 и собственные клетки мышей DBA/2. Фенольное соединение при воспроизведении модели нейрополимиозита, гидрохинон; СПЖ, средняя продолжительность жизни животных с прививкой культурой P-388; SOD, супероксиддисмутаза.

Образование синглетной формы кислорода происходит в двух параллельных реакциях (цепях) одноэлектронного переноса, для примера взят *n*-хинон (рис. 7.3) при этом конечным продуктом восстановления является в нашем

случае гидрохинон. Заметим, что реакция обратима и семихинон был зарегистрирован с помощью ЭПР-спектроскопии [2] в сыворотке мышей при воспроизведении полимиозита, когда линейным животным в хроническом опыте вводили *per os* раствор гидрохинона и ингибитор фермента *DT*-диафораза, обеспечивающего *in vivo* двухэлектронный тип переноса [23].

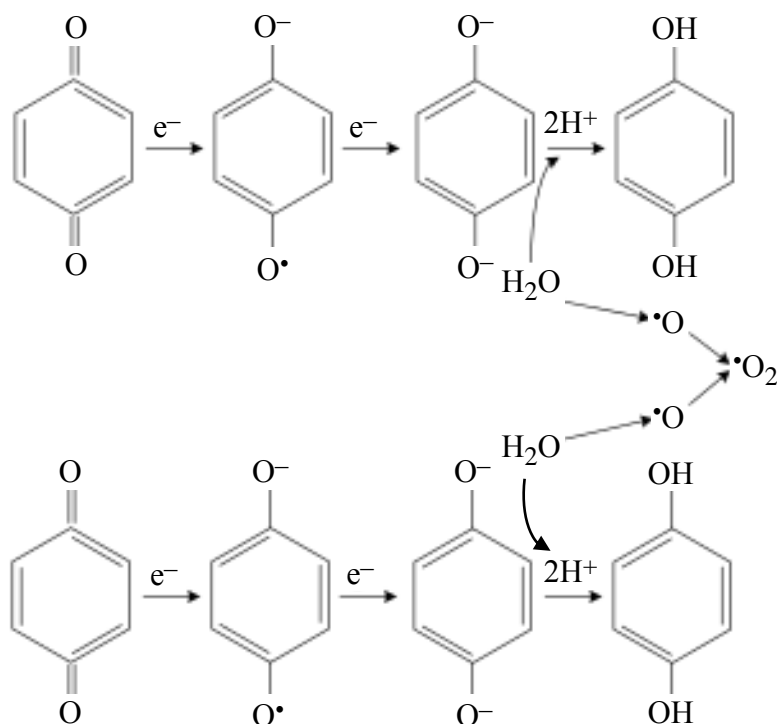


Рис. 7.3

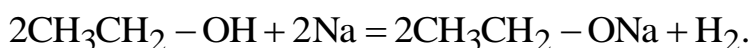
Источником активных форм кислорода копропорфирин может становиться при активации металлами-координаторами и тетрациклинами, например, рубреном. В основе строения молекулы тетрациклина, также как гематопорфиринов, лежит четырехциклическая система с чередованием одинарных и двойных связей между атомами углерода. Способность рубрена к люминесценции способствует совместному его использованию с копропорфирином в качестве генератора АФК.

Пероксиоксалатный раствор рубрена готовился на основе смеси хлористого оксалила, 5 %-го раствора карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ) и 1 %-го раствора перекиси водорода. Для приготовления исходной основы 1 мг тетрациклина растворяли в оксалиле при 0 °С, после чего полученную жидкую систему активировали добавлением 2 мл 1 %-го раствора перекиси водорода на физиологическом растворе, содержащем поверхностно активное вещество КМЦ. Приготовленная таким образом смесь реагирующих компонентов обесцвечивается и начинает флуоресцировать. АФК обладают возбуждающим, а за

верхним пределом концентрации физиологической нормы, цитотоксическим действием, что по совокупности влияний может снижать СПЖ, как эукариотической клетки (P-388), так и многоклеточного организма (мыши).

Организм эукариот является генетической, химической и одновременно физической лабораторией отдельной таксономической группы растений, грибов и животных того или иного рода, с характерными видовыми и индивидуальными особенностями. Представители конкретного рода потребляют, синтезируют и выделяют различные вещества, обитают в разных биотопах или культивируются человеком, используют одни или другие виды энергии, запаасаемые в форме АТФ, креатинфосфата, гликогена, крахмала и некоторых других соединений. Позвоночные животные адаптированы к использованию квантованной энергии переноса электрона свободными радикалами и квантов излучений *in vivo*.

Насекомые, моллюски, мыши, свиньи, пивные дрожжи или, например, картофель не являются исключением в ряду приводимых нами аллегорий и сопоставлений таксономических групп ядерных организмов и процессов, происходящих *in vivo* и используемых в биосистемах, технике, производстве, научных и медицинских целях. Так, этанол является гидроксильным производным этана $\text{CH}_3\text{—CH}_3$ (метиловый спирт CH_3OH – метана, CH_4). При воздействии на спирт щелочного металла водород гидроксильной группы, соединенный непосредственно с атомом кислорода, вытесняется (например, натрием) и получаются растворимые в спиртах алкоголяты:



Алкоголят натрия может способствовать появлению во внутренней среде организма свободных радикалов, поэтому в крови лиц, злоупотребляющих алкоголем, отмечено повышенное содержание билирубина и наблюдаются неврологические симптомы, сопутствующие заболеваниям с радикальной природой. Нарушается работа печени и ЦНС, повышается угроза инфаркта миокарда, стенки капилляров пораженного органа перфорируются и в тканях присутствуют форменные элементы крови, наблюдаются диapedезные кровоизлияния.

В экспериментальной и клинической онкологии фотодинамическая терапия осуществляется с использованием производных гематопорфирина, цитотоксический эффект которого достигается благодаря возникновению в тканях больного активных форм кислорода после внутривенной инъекции раствора фотосенсибилизатора и экспозиции светом [17], [56]. В наших экспериментах

в качестве фотосенсибилизатора использовалась тетракалиевая соль копропорфирина III (копропорфирин), которая обладает способностью избирательно накапливаться в опухолевых тканях с последующим распадом под воздействием света с длиной волны 550–650 нм.

Патологическое воздействие моделировалось на мышцах линии *DBA/2* внутрибрюшинной инъекцией раствора копропорфирина с взвесью клеток лимфоцитарной лейкемии *P-388* после предварительного облучения *in vitro* этой смеси лазером или солнечным светом. Цитотоксический эффект АФК при концентрации копропорфирина 160 мкМ соответствовал возрастанию СПЖ подопытных мышей, инъецированных предварительно облучённой взвесью клеток *P-388*, на 46 %, а в растворе с концентрацией 80 мкМ на 36 % по сравнению с контрольной группой животных, инъецированных необлучённой светом взвесью клеток лимфоцитарной лейкемии с неактивированным сенсибилизатором.

В процессе фотоактивации в растворе копропорфирина генерируется синглетный кислород в достаточно высокой концентрации, что сопровождается флюоресценцией на длине волны около 635 нм, а в спектре поглощения этого раствора отмечается слабый пик приблизительно на той же длине волны. Фотоактивация копропорфирина и следующие за этим события происходят как в известной реакции Хилла, с тем отличием, что вместо хлорофилла в этой реакции участвует другой тетрапиррол, копропорфирин. Обнаружение реакции [5] стало важным вкладом в понимание физического явления транспорта электрона. Было выяснено, что при освещении хлоропластов световыми квантами происходит восстановление искусственных акцепторов электрона (хинона, ферроцианида или метгемоглобина) и выделяется кислород, что осуществляется без участия CO_2 или пиридиннуклеотидов. Процессы восстановления CO_2 и механизм выделения кислорода, следовательно, разобщены. С ферригемоглобином (гемоглобином М) в качестве акцептора удалось показать, что на каждую выделенную молекулу кислорода восстанавливаются четыре молекулы метгемоглобина.

Наличие в облученном растворе копропорфирина синглетной формы кислорода вызывает гибель находящихся в нём клеток лимфоцитарной лейкемии мышей *P-388*. Образование синглетного кислорода происходит в параллельных реакциях одноэлектронного переноса, как представлено нами по упрощенной схеме (рис. 7.3). Конечным продуктом восстановления хинона, используемого

в качестве искусственного акцептора, является гидрохинон. Реакция одноэлектронного переноса обратима. Гидрохинон (фенольное соединение) вводили мышам с помощью зонда через рот, а в плазме крови через некоторое время методом ЭПР-спектроскопии регистрировали характерный квинтетный сигнал радикала семихинона [1].

Такие вещества, как рубрен и некоторые ароматические углеводороды, получили распространение в качестве химических ловушек синглетного кислорода. При химической активации энергия, необходимая для генерации возбужденных молекул кислорода, получается в результате хемилюминесценции при окислении арилоксалатов перекисью водорода. При этом люминофор-акцептор (в наших опытах рубрен) служит катализатором распада, воспринимая энергию реакции, а затем, отдавая её в виде излучения с другой частотой. В присутствии копропорфирина этот процесс сопровождается генерацией АФК как за счёт восстановления перекиси тетрациклина, так и за счёт активности возбуждённого поглощёнными квантами копропорфирина. В этом случае генерация синглетного кислорода сопровождается возникновением супероксидного радикала, который рассматривается нами [3], [8], [13], [17], [23] как первое звено цепной реакции переноса электрона при моделировании гемозависимого экзофтальма и нейрополимиозита, заболеваний с радикальной природой патогенеза. Радикальная природа этих двух моделей социально значимых заболеваний человека показана [1] с использованием метода спиновых ловушек и прямого ЭПР спектрометрического детектирования плазмы крови подопытных животных. Вероятные побочные эффекты фотодинамической терапии можно проследить по схеме, представленной на рис. 7.2. Внимание к онкологическим аспектам использования тетрациклинов было привлечено в середине прошлого века, когда появились работы, в которых было показано, что эти антибиотики обладают способностью задерживаться в опухолевых тканях, испуская при этом желтое свечение под воздействием УФ-облучения [56]. Хемилюминесценция сопровождает процессы гниения и может происходить в тканях, где происходит некроз.

Приготовленная жидкая основа пероксиоксалатного рубрена разводилась физиологическим раствором в отношении 1/60, 1/120, 1/240, 1/480 и смешивалась с раствором копропорфирина концентрацией 160 мкМ. Объем смеси для инъекции подбирался таким образом, что доза копропорфирина во всех вариантах составляла 1,5 мг/кг, а дозы пероксиоксалатного рубрена последовательно уменьшались в два раза от 0,165 до 0,02 мг/кг. Изучение цитотоксического

действия полученных смесей на взвесь клеток *P-388* при совместной выдержке 3 ч 45 мин *in vitro* в холодильной камере при +4 °С показало, что гибель клеток лимфоцитарной лейкемии была полной и выживаемость инъецированных мышей приготовленной смесью веществ и клеток *P-388* через 30 суток после внутрибрюшинных инъекций составила 100 %. При выдержке взвеси клеток *P-388* в тех же условиях совместно с копропорфирином на физиологическом растворе без активации рубреном, гибель мышей после внутрибрюшинной инъекции была полной на 12 сутки от асцита. Выявление соединений с противоопухолевой активностью осуществляется в опытах на лабораторных животных, в том числе на линейных мышах с привитыми культурами злокачественных клеток, моделей опухолей. В этих целях мы использовали прививаемую лимфоцитарную лейкемию *P-388* у мышей линии *DBA/2*. Модель оказалась весьма удобной для экспериментов из-за быстроты оценки эффекта и сравнительно небольшого числа требуемых животных на каждый вариант концентрации, дозы препарата или иных условий эксперимента. Модель характеризуется простотой культивирования, поскольку заболевание у мышей протекает по типу асцита, злокачественные клетки *P-388* в брюшной полости животных находятся в водной среде и могут быть легко перенесены от одного животного другому с помощью инъекции.

Для заражения мышей 0,2 мл свежего асцита, взятого из брюшной полости мыши-носителя культуры *P-388*, разводили в 10 мл стерильного физиологического раствора и вводили внутрибрюшинно (*in it*) по 0,2 мл взвеси клеток каждой подопытной мыши шприцем. Параметром лечебного эффекта служило увеличение средней продолжительности жизни (СПЖ) в процентах к контролю или выживание мышей на 30-й день опыта, при этом минимальным критерием активности препарата (композиции тестируемых веществ) являлась 25 % выживаемость животных на момент окончания опыта.

Нами было изучено влияние копропорфирина как генератора АФК при совместном применении с водными растворами соли трехвалентного железа и 3 % перекиси водорода, а также с фотооблучением приготовленной для инъекции мышам взвеси клеток *P-388*. В опытах использовали лабораторный гелий-неоновый лазер с длиной волны 630 нм [38] и солнечный свет.

Опыты по схеме 1 «*in vivo*» проводили следующим образом. Заражённым взвесью клеток *P-388* мышам за сутки до инъекций «лечебных смесей» вводили внутрибрюшинно раствор копропорфирина (0,005-0,05 мг/г), а затем через определённый интервал 1 % растворы сернокислого (Fe^{2+}) или хлористого

(Fe³⁺) железа совместно с раствором пергидроля (0,15 мг/г). Перекись водорода, как известно, источник молекулярного кислорода при наличии в системе ионов трёхвалентного железа.

Схема опытов 2 «*in vitro-in vivo*» использовалась, когда взвесь клеток P-388 в растворе с добавлением копропорфирина облучали лазером или прямым солнечным светом в полдень *in vitro*, а уже затем инъецировали мышам. В этих опытах влиянию потока активных частиц синглетного кислорода *in vitro* подвергались клетки P-388, а супероксид образовывался в брюхе животных естественным путем в крови, по-видимому, в меньшем количестве, и влиял на весь организм.

СПЖ мышей в отдельных вариантах опытов по схеме 1 резко снижалась, по сравнению с контролем, до 30–70 % и находилась в обратной зависимости от дозы копропорфирина. Причиной гибели животных в этих опытах являлись не бурно размножившиеся клетки P-388, а супероксидный радикал (его появление при фотодинамической терапии надо избегать), генерируемый в растворе копропорфирина после активации солью трехвалентного железа. Увеличение срока продолжительности жизни мышей наблюдалось в опытах при заражении взвесью клеток P-388 предварительно облучённой *in vitro* прямым солнечным светом в течение 10 мин или с помощью лазера (схема 2).

Средняя продолжительность жизни животных колебалась в зависимости от концентрации (40–320 мкМ) фотосенсибилизатора в разведенном на физиологическом растворе асците от 13,5 до 18,2 дней (в контроле не выше 11) и таким образом превышала контроль на 27–91 %.

При облучении солнечным светом взвеси клеток P-388 *in vitro* в течение 15 мин выживание инъецированных животных на 30 день опыта в вариантах с использованием в качестве фотосенсибилизатора копропорфирина (80 и 160 мкМ), активированного солью хлористого железа составило 80 %.

Иными словами, клетки лимфоцитарной лейкемии мышей в опытах были убиты потоком частиц синглетного кислорода до инъекции (*in vitro*), а генерация свободных радикалов за счёт ресурсов организма, инъецированного тестируемым раствором, и цепных реакций одноэлектронного переноса [17], [56] компенсировалась АОС. При использовании лазера тенденция воспроизводилась, но была менее выраженной, весенний солнечный свет в полдень влиял на взвесь клеток лимфоцитарной лейкемии в растворе фотосенсибилизатора сильнее, чем облучение с помощью лабораторного прибора малой мощности.

Рак у человека относят к заболеваниям со свободно-радикальной природой патогенеза. В моделируемых нами на мышах *DBA/2* патологиях (полимиозит, экзофтальм) свободные радикалы цепной реакции, начинающейся от супероксида (рис. 3.4), играют решающую роль, поскольку повреждения клеток и тканей различных органов, атакуемых свободными радикалами, и перенос электрона сопровождаются развитием окислительного стресса, вызывающего снижение продолжительности жизни эукариотических клеток (*P-388* и организма мыши).

В опытах с прививаемой мышам взвеси клеток лимфоцитарной лейкемии испытанный лечебный фактор при фотоактивации копропорфирина *in vitro* представлен потоком синглетной формы кислорода на поверхность злокачественных ядерных клеток *P-388* и сопровождался увеличением средней продолжительности жизни подопытных мышей по сравнению с контролем (без лечения).

Второй испытанный в опытах «лечебный фактор», при активации копропорфирина пероксиоксалатным рубреном *in vivo*, представлен потоками синглетного кислорода и супероксида с последующей цепной реакцией переноса электрона, что приводило к уменьшению СПЖ подопытных мышей с привитой *P-388*, по сравнению с контрольными животными, оставленными без воздействия продуктов фотохимической активации копропорфирина. Иными словами, генерация во внутренней среде биосистемы АФК и последующей цепной реакции радикалов вызывала у мышей с привитой *P-388* уменьшение СПЖ животных по причине гибели их собственных клеток.

Таким образом, рассмотренная модель и динамика гибели ядерных клеток (лейкемии мышей) позволяет сделать вывод, что основной механизм цитотоксического действия копропорфирина состоит в фото- и химической активации реакций одноэлектронного переноса свободными радикалами. При этом эффективность цитотоксического действия активированного копропорфирина остается высокой, как при непосредственной активации световыми квантами, так и при химической активации в пероксиоксалатных растворах тетрациклинов. Полученные результаты позволяют развить подход в исследовании радиационных поражений и при инфекционных заболеваниях.

Фотоактивация порфиринов крови позвоночных животных и человека квантами солнечного света происходит в капиллярах кожи и глаз, последующая люминесценция порфиринов крови активирует эпифиз мозга, другие

внутренние органы, ткани которых пронизаны сетью капилляров и активизируются квантами, излучаемыми циркулирующими с кровью порфиринами, излучающими, по сути, электромагнитный эквивалент внешнего раздражителя, в данном случае солнечного света. Окисленная форма гемоцианина, переносчика кислорода в крови многих беспозвоночных животных (моллюсков, членистоногих, насекомых и онихофор), окрашена в светло-синий цвет и также флуоресцирует [57], испускает кванты энергии.

8. СВОБОДНЫЕ РАДИКАЛЫ КАК ФАКТОР ДЕПОЛЯРИЗАЦИИ И ВОЗБУЖДЕНИЯ ЛИПОПРОТЕИНОВОЙ МЕМБРАНЫ

Эффекты взаимодействия регулируемого по интенсивности потока свободных радикалов супероксида из апплицируемых растворов активированного металлом-координатором копропорфирина с липопротеиновой поверхностью клеточных структур нервно-мышечного препарата (реоскопа) [25], [38], [44] и сокращающегося миокарда земноводных позволяют опытным путем показать электромагнитную природу возбуждения, проведения и торможения нервных импульсов [21], [25].

Регистрируемые значения порога раздражения реоскопа и частоты сокращений сердца (ЧСС) в нервах и мышцах подтверждают это. Для экспериментов по возбуждению и торможению нервных импульсов под руководством авторов настоящей монографии на кафедре физики СПб ГЭТУ «ЛЭТИ» была разработана лабораторная установка [44], позволяющая одновременное раздражение реоскопа приложением разности потенциалов к нерву и возбуждением магнитного поля вдоль нерва. В качестве электромагнитных раздражителей седалищного нерва лягушек использован импульсный переменный ток частотой 1 Гц и магнитное поле, генерируемое внутри катушек-соленоидов индукцией \mathbf{B} до 1 мТл, что приблизительно в 5 раз превышает напряженность магнитного поля Земли. Магнитное поле внутри относительно длинной катушки однородно и возникает в результате сложения полей, создаваемых отдельными витками проводника с током.

В наших опытах индуцируемое магнитное поле создавали в двух соленоидах: с согласным и встречным направлением векторов индукции. Внутри соленоидов помещали лапку (первая катушка) и препарированный седалищный нерв земноводного длиной 45–50 мм (вторая катушка), нерв подвешивали на двойные игольчатые электроды, установленные между катушками ближе к мышце. При следующих за этим аппликациях супероксид-генерирующих растворов на седалищный нерв между электродами прикладывали стандартный ватный тампон, смоченный раствором копропорфирина. Нерв раздражали импульсным током до (контроль) и после включения катушек со встречным и согласным направлением векторов магнитного поля, затем исследования повторяли после аппликации. Визуальным индикатором возбуждения нерва и проведения импульса действия являлось сокращение мышц голени нервно-мышечного препарата.

В опытах наблюдали и регистрировали следующие явления. Когда реоскоп находился в катушках со встречными и сонаправленными векторами индукции (**В**) магнитного поля возбуждение и проводимость нервно-мышечного препарата (исходя из среднего показателя порога раздражения) снижались и регистрировали повышение порога раздражения по сравнению с контролем (без влияния магнитного поля). Под влиянием магнитного поля чаще происходило снижение возбудимости мягкотного седалищного нерва лягушки (торможение) в ответ на раздражение импульсным током. Важными результатами опытов с реоскопами явились различия реакций индивидуальных препаратов, показатели порогов раздражения практически всех из них под влиянием исследованных факторов изменялись индивидуально.

Так, среди испытанных препаратов у 50 % под влиянием магнитного поля со встречными векторами **В** наблюдали достоверное сильное увеличение порога раздражения над фоновым показателем (в 3 и более раз), что соответствовало торможению; у 20 % индивидуальных препаратов возбудимость увеличивалась и их порог раздражения снижался от 1,5 до 3 раз; у 30 % изменений порога раздражения (по сравнению с контрольным измерением) под влиянием встречно направленных векторов **В** не произошло, причем у двух препаратов порог составил около 140 мВ, что находилось на уровне среднего значения показателей при согласном направлении векторов **В** в соленоидах (при встречном направлении векторов, несколько ниже). Средний фоновый показатель испытанных нервно-мышечных препаратов составил около 69 мВ (контроль). При встречном направлении векторов **В** показатель порога раздражения препарата составил в среднем 138 мВ; при согласном направлении 141 мВ.

Аппликации раствора копропорфирина на нерв влияют на него следующим образом. Диффузионный поток радикалов кислорода чаще (у девяти препаратов) вызывал заметное повышение величины порога раздражения препарата (торможение) над регистрируемыми в контроле. Диапазон превышения показателей порога раздражения составил по отдельным препаратам от 40 до 570 мВ, но на нескольких препаратах (у трех) было отмечено снижение величины порога по сравнению с фоновым показателем (возбуждение). На двух препаратах при равенстве фоновых показателей порога раздражения импульсным током и под воздействием магнитного поля со встречными векторами **В**, порог составил около 130 мВ, но после аппликации на нерв раствора копропорфирина порог раздражения вырос на 40 мВ и составил 170 мВ (торможение).

Таким образом, главным результатом серии опытов с регистрацией порога раздражения нервно-мышечных препаратов стал вывод об индивидуальности электромагнитных свойств и характеристик седалищного нерва лягушки, что объясняется уникальностью дипольной сети перехватов Ранвье и свойств миелина у отдельных особей. Поверхность начальных сегментов аксона и его матричные характеристики должны зависеть от генотипа особи, равно как молекулы интегральных белков наружных мембран нейронов и белков-ферментов синтеза миелина в клетках Шванна и олигодендроцитах определяются индивидуальными генами.

Процессы переноса электронов свободными радикалами из внутренней среды позвоночных через клеточную липопротеиновую мембрану лежат в основе регуляции основных функций биосистемы, в которой постоянно происходят окислительно-восстановительные реакции одноэлектронного типа и локальные изменения электрических потенциалов на поверхностях клеток, мышечных и нервных волокон, тканей и органов, омываемых кровью и производными от неё жидкостями. Перенос неспаренного электрона свободным радикалом осуществляется механизмом, включающим кулоновское взаимодействие частиц, несущих отрицательный заряд, с положительно заряженными центрами поляризованной матрицы клеточных мембран с последующей реакцией транспортного типа.

Заряженные частицы супероксида и другие свободные анион-радикалы могут вызвать локальную деполяризацию двойного электрического слоя мембраны, а в участках специальных межклеточных контактов, эндотелия кровеносных капилляров с мембранными пластинами окончаний отростков астроглии мозга, модуляцию разности потенциалов пресинаптической мембраны нейрона астроглии (рис. 8.1).

Модуляция потенциала, так или иначе ограничивается гематоэнцефалическим барьером (ГЭБ), который является, следовательно, электромагнитным межклеточным контактом и состоит (по обе стороны от фибриллярной базальной мембраны) из активных поверхностей клеток двух разных тканей, с одной стороны обращённой к крови эндотелия, а с другой стороны – к клеткам нейроглиального комплекса мозга. Внешняя мембрана специализированных отростков астроцитов является пресинаптической и связана химическими контактами со многими нейронами мозга. На поверхность эндотелия сосудов с кровью устремлён диффузионный поток анион-радикалов кислорода, источник электромагнитных явлений в биосистеме.

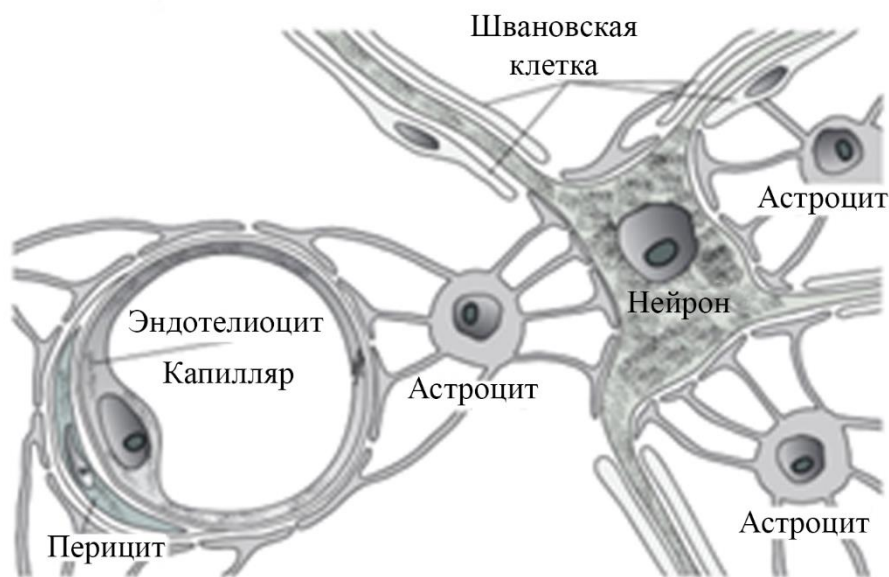


Рис. 8.1

Адсорбированные на мембранах в активных центрах ионы Na^+ , а также образующиеся при диссоциации дигидрофосфата буферной системы цитоплазмы нервных клеток и аксоплазмы отростков протоны (H^+) реагируют на электромагнитные влияния потока свободных радикалов из ликвора, межклеточной жидкости и крови. Заряженные частицы перемещаются и взаимодействуют между собой, возникают токи смещения и происходит модуляция электрических потенциалов на участках поверхности матрицы с изменением её поляризованности. При травмах и кровоизлияниях потоки радикалов на поверхность клеточных мембран в повреждённых тканях мозга усиливаются, повышается концентрация метаболической перекиси водорода, ощущается боль.

Взаимодействия заряженных частиц происходят в активных центрах на поверхности нейрона и его отростков. Начальный сегмент аксона (*AIS*) насыщен ионофильными белками и является одним из наиболее чувствительных участков клеточной мембраны, что реализуется в генерацию потенциала действия, когда вставочный нейрон принял постсинаптический потенциал достаточной силы. Преобразование постсинаптического потенциала в потенциал действия происходит, как считается в настоящее время, не на холмике тела нейрона, а именно в *AIS*.

Первый сегмент аксона расположен на некотором расстоянии (~50 мкм) от нейрона и имеет специфические характеристики поверхности; в геометрии сечения отростка и более высокой концентрации *Na*-каналов на единицу площади поверхности (по сравнению с телом нейрона). В аксонах не найдено вещество Ниссля [83], их сегменты покрыты миелином, продуктом клеток

Шванна за пределами мозга и олигодендроцитов в тканях мозга. Перехваты Ранвье, расположенные между аксональными сегментами приблизительно через один миллиметр, полностью свободны от миелина и также имеют высокую плотность Na -каналов на единицу площади поверхности, сопоставимую с плотностью на начальном сегменте аксона.

Величина и направление локальных векторов поляризации участков наружной клеточной мембраны, мышечных волокон и аксонов может согласованно изменяться. Возбуждение электромагнитных импульсов происходит в процессе переориентации электрических дипольных моментов, формирующих двойной электрический слой мембраны клеток и волокон, омываемых жидкостями внутренней среды. С увеличением потока заряженных радикалов из крови на клеточную поверхность растет число переориентаций дипольных моментов двойного, или кратного двум поляризационного слоя контактирующих клеточных мембран, что приводит к возникновению коллективных когерентных состояний поверхностной структуры, а расширение площади деполяризации мембраны может стать причиной возникновения в электрически возбудимой клетке потенциала действия (ПД).

Большое внимание в исследованиях интегрирующих систем у млекопитающих уделяется раскрытию природы электрохимических явлений в миелинизированном нерве, инициации возникновения ПД [49] в начальном сегменте аксона *in vivo* [47]; формированию и модуляции ПД [13], [28] в нервном волокне. По поводу механизмов возникновения ПД (спайка) до настоящего времени у исследователей существуют вопросы.

Принципиальные вопросы относятся к элементарным событиям так называемого «овершута» при возникновении и проведении ПД по аксону с участием положительно и отрицательно заряженных частиц [28], к возможному участию микрофиламентов нейронов [48] и начального сегмента аксона [47], [49] в электромагнитных и электрохимических событиях на белково-липидной матрице поверхности мембран клеток и волокон. Возникающие при исследованиях проблемные вопросы, по сути, имеют одну цель – выявить конкретные адаптации мембраны нервных клеток к диффузионному потоку анион-радикалов кислорода и других АФК из внутренней среды биосистемы, даже если экспериментаторы не знают о влиянии потока супероксида на клеточную мембрану, и объяснить когнитивные и другие функции мозга животных и человека.

Исследование интегрирующих систем организма на современном этапе состоит в изучении мембранных потенциалов клеток с помощью сверхчувствительной современной техники [47], [48], [49]. При этом не последнюю роль играет конструирование и последующее использование в экспериментах генераторов напряжения, оснащенных специальными соленоидами и устройствами для создания электрических и магнитных полей с возможностью оперативного переключения режимов влияния двух составляющих единого процесса (электрической и магнитной) на нервное волокно [44]. Использование такого рода аппаратуры важно в изучении морфологии синапсов, в том числе при нейрогенезе поверхностного слоя клеток гиппокампа [47] и связанных с работой нервной системы биологически активных медиаторов; рецепторов, обладающих энергией лигандов и синапсов, генерирующих ПД в *AIS*; а также при изучении передачи волновой электромагнитной информации в пределах биосистемы и её усилении в белковых активных центрах матрицы клеточных мембран с использованием квантованной энергии переноса неспаренного электрона свободными радикалами [13], [28], в первую очередь – супероксидом.

Интеграция и регуляция у позвоночных животных и человека основана на использовании нейропептидов, простагландинов, гормонов и их синтетических аналогов, предлагаемых фармакологией для регулирования функций организма, отвечающего своими эффекторами, поведением и эмоциями на внешние и внутренние раздражители (потенциалы экстеро- и интерорецепторов). С помощью новых высокоточных методов, технических средств и приемов в начале XXI в. проводились специальные исследования структур головного мозга, гиппокампа старой коры [47], пирамидальных нейронов неокортекса млекопитающих [48] и нервно-мышечных препаратов лягушки [25], [44], что в совокупности направлено на раскрытие электромагнитной природы функционирования жидкокристаллической матрицы и формирования фрактальных кластеров [77], [79] жидкокристаллической плазмалеммы (матрицы) нервных и других клеток, обеспечивающих у высших по уровню развития животных и человека память и когнитивные функции мозга.

Анализ взаимосвязи наблюдаемых физиологических явлений и результатов собственных опытов позволяют нам утверждать, что организм хордовых представляет собой [13], [28] биосистему, адаптированную к использованию квантованной энергии одноэлектронного переноса свободными радикалами, в первую очередь супероксидом, из внутренней среды на поверхность поляризованной жидкокристаллической матрицы клеточных мембран. Причем ответные реакции осциллирующей матрицы с адсорбированными ионами (Na^+/K^+),

диполями молекул H_2O и, не в последнюю очередь, переносом протонов (H^+) имеют электромагнитную природу. Использование *RNA*-ретровирусов, генетический материал которых кодирует флуоресцирующие белки, вероятно, позволит в будущем полнее изучить динамику становления начального сегмента аксона [47], включая морфологическое развитие отростков нервных и глиальных клеток и созревание их афферентных и эфферентных связей в синапсах.

Предположения [16] о роли инфекционного агента в патологии миелина и развития аутоиммунной реакции при заболевании людей рассеянным склерозом, воспалительной демиелинизирующей полиневропатии и других болезней должно добавить интерес к исследованию перечисленных вопросов экспериментальной медицины с использованием неспецифических вирусов и аппликаций растворов копропорфирина в качестве инструмента для изучения патогенеза в нервной ткани. С учетом радикального фактора внутренней среды позвоночных животных и человека математическое, компьютерное и экспериментальное моделирование патогенетических процессов при указанных болезнях будет ещё эффективнее.

Обоснования доказательств электромагнитной природы возбуждения и торможения мы связали с изучением влияния регулируемого по интенсивности потока свободных радикалов из растворов активированной металлом-координатором (Fe^{+3}) тетракальевой соли копропорфирина, в наших опытах исполнявшего роль аналога гема крови, с поверхностью нервных и мышечных волокон [21], [25], [38].

Прикладываемые водные растворы активированного копропорфирина в концентрации 0,01–0,4 % влияли на реоскоп точно (нерв) или протяженно (мышца), их влияние на поверхность нервного волокна и мышцы вызывали, соответственно, торможение и возбуждение, т. е. действовали противоположно. Следует заметить, что поверхность начального сегмента аксона по числу натриевых каналов сопоставима с перехватами Ранвье мякотного нервного волокна.

Влияние потока анион-радикалов кислорода на возбудимость седалищного нерва лягушки заметно проявляется уже при очень малых концентрациях (0,01 %) супероксид-генерирующего раствора, которым пропитывали стандартный ватный тампон на палочке для аппликации на поверхность подвешенного между электродами седалищного нерва.

Использование для аппликации на нервно-мышечный препарат минимальной концентрации копропорфирина (0,01 %) вызывает превышение порога

возбуждения нерва над фоновым значением (без аппликации растворов-индукторов супероксида) в среднем на 30 мВ. Увеличение концентрации раствора в 20 раз (до 0,2 %) показывает снижение проводимости нерва приблизительно на том же уровне: превышение порога раздражимости нерва у отдельных препаратов достигало 90 мВ (фоновый порог раздражения нерва в этой серии опытов был ниже и в среднем составил около 54 мВ).

Аппликация тампонов с раствором копропорфирина, активированного фотонами (опыты проводили в условиях нормальной освещенности) и металлокоординатором непосредственно на икроножную мышцу лягушки, приводит к обратному эффекту. Во всех случаях, практически независимо от используемой в опытах концентрации супероксид-генерирующего раствора, мышцы препарата задней лапы лягушки после аппликации раствора показывают устойчивое снижение порога возбуждения (примерно на 200 мВ) относительно фонового значения, иными словами, возбудимость и проводимость мембраны мышечных волокон под влиянием потока радикалов значительно возрастает.

Полученные результаты можно трактовать как проявление электромагнитной природы механизмов возбуждения, торможения и проведения импульса в нервном и мышечном волокне. Параметры протяженной клеточной поверхности начального сегмента аксона приближаются к таковым на поверхности мышцы, но плотность ионофильных молекул белков на поверхности аксона, конечно, намного выше, приблизительно на два порядка.

Реакция мягкотного нервного волокна представляет собой такую форму ответа, которая осуществляется путем перераспределения электрических зарядов на липопротеиновой мембране в активных центрах перехватов Ранвье (на мышцах их, разумеется, нет). Расстояние между ионофильными интегральными белками мембраны мышечного волокна приблизительно около 50 нм, на *AIS* и в перехватах Ранвье расстояние значительно меньше.

Активность мышц и желез начинается с возбуждения, или с изменения потенциала на клеточных мембранах эффекторов до уровня ПД (около +30 мВ), после чего происходит сокращение, или секреция. В нервной ткани возбуждение уравнивается торможением, активным процессом электромагнитной природы. Компьютерное моделирование процессов демиелинизации и ранней ремиелинизации при олигодендроглиопатии у линейных мышей дает частичное представление о событиях [46] на поверхности старой коры мозга. Модель позволяет исследователям изучать расстройства функций

нейронов кортикального слоя гиппокампа, констатировать зависимость генерации ПД от повреждения миелина, что может привести к снижению когнитивных функций млекопитающего животного. Напомним, что у кальмаров (их аксон активно использовали при изучении нервной проводимости), как у всех других беспозвоночных животных, миелина нет.

Различия результатов воздействия диффузионного потока анион-радикалов кислорода на дипольную сеть нервных и мышечных волокон при аппликации растворов активированного копропорфирина объясняется особенностями структуры поверхности [21], [25] тканей. Строение седалищного нерва обуславливает контакт мембран аксонов в перехватах Ранвье с внешним потоком радикалов точно, в среднем через 1 мм (средняя длина сегмента аксона от одного перехвата до другого), а возбуждение мышечных волокон происходит по всей поверхности аппликации, т. е. протяжённо.

Мякотный периферический нерв, волокна белого вещества головного и спинного мозга, следует рассматривать как замедляющую сегментированную систему проводников и изолирующего их материала, спирально расположенных вокруг нервного волокна слоев миелина с усиливающими точечными элементами в области перехватов Ранвье с высокой плотностью структурных ионофильных молекул белков [85], не закрытых миелином.

Скорость проведения возбуждения по аксону зависит от его диаметра и увеличивается у позвоночных при образовании вокруг него миелиновой оболочки, продукта жизнедеятельности неврилеммы. Так, например, при диаметре аксона 2 мкм, плазматическая мембрана одной шванновской клетки по спирали обрастает участок аксона длиной несколько сотен микрон, сегменты покрываются выделяемым этими клетками миелином и изолированы от жидкости внутренней среды мякотной оболочкой. Открытыми для диффузионного потока свободных радикалов остаются участки аксонов без миелина, перехваты Ранвье.

Деполяризация перехвата Ранвье потоком супероксида вызывает градиент поляризованности между последовательными перехватами. По отдельным сегментам аксона от начального сегмента (по сути, от тела нейрона) ток скачками протекает к соседнему перехвату. Происходит ступенчатое быстрое повышение потенциала покоя от -75 мВ до порогового уровня -50 мВ, после чего формируется спайк ($+30$ мВ). Проведение импульса по всей длине мякотного нерва осуществляется скачками и происходит значительно быстрее, чем в волокнах без миелина, эволюционно более древних. В перехватах

Ранвье на мембране аксонов происходит активная деполяризация и фазировка электрического потенциала. В условиях опыта с аппликацией растворов на тестируемую поверхность возникает гиперполяризация перехватов, когда величина заряда под мембраной становится еще более отрицательной под влиянием потока анион-радикалов кислорода. В организме *in vivo* адекватные события происходят под воздействием потока радикалов из внутренней среды, содержащей гем.

Мышечное волокно покрыто непрерывной липопротеиновой мембраной с регулярно расположенными молекулами интегральных белков (в среднем через 50 нм). Активированный раствор копропорфирина в опытах на нервно-мышечном препарате земноводных моделирует внутреннюю среду позвоночных животных и человека, поскольку гем крови и производных от нее жидкостей регулярно окисляется в гемин с образованием супероксида и содержит радикальный фактор деполяризации клеточной мембраны.

Рассматривая поверхностные структуры как жидкокристаллическую матрицу с внедренными заряженными элементами (аквакомплексами и ассоциатами молекул воды, молекулами белков, ионами Na^+ и K^+) легко представить, что вызванная потоком отрицательно заряженных радикалов кислорода одновременная деполяризация нескольких перехватов Ранвье в случае мягкотного нерва выключает из процесса передачи потенциала действия несколько сегментов аксона. Тем самым увеличивается скорость затухания импульса и происходит снижение проводимости мягкотного нервного волокна (торможение), вследствие чего порог возбуждения нервно-мышечного препарата в опыте возрастает.

В мышечном волокне локальная деполяризация способна усилить передаваемый импульс за счет фазировки отдельных переворотов диполей мембраны. Увеличение энергии электромагнитного поля вдоль поверхности мышечных волокон происходит протяженно (без скачков), что обеспечивает рост мышечной проводимости, порог раздражения мышечных волокон импульсным током с частотой 1 Гц в опытах значительно снижается (в среднем на 200 мВ). Аппликация растворов-индукторов супероксида на нерв и мышцу является моделью естественных процессов, происходящих в организме, когда свободные радикалы диффузионного потока атакуют поверхность адаптированных клеточных мембран различных тканей, волокон и органов, обращенных к жидкостям внутренней среды, энергетически влияющей абсолютно на все омываемые поверхности матрицы, включая нервную, эндокринную и опорно-двигательную ее части.

В наших экспериментах при моделировании патологий на мышцах линии *DBA/2* проводилось [1], [2], [21], [31] прямое воздействие на баланс ОС и АОС с помощью введения ингибитора фермента *NADPH*₂-дегидрогеназы (*DT*-диафоразы, хинон-редуктазы) и водного раствора гидрохинона (рис. 3.4, *фенольное соединение*). Эффект снижения активности *DT*-диафоразы, обеспечивающей двухэлектронный путь восстановления хинонов, состоит в понижении порога деполяризации клеточных мембран и смещения равновесной области генерации АФК в сторону увеличения концентрации супероксида в плазме крови.

Во взятых для спектроскопии образцах плазмы крови регистрировали сигналы ЭПР семихионного радикала и спиновых аддуктов гидроксила цепной реакции одноэлектронного переноса [1]. Реакции переноса электрона ведут начало от потока анион-радикалов кислорода, триггера автоматического изменения и модуляции электрического потенциала участков клеточной мембраны.

Электрохимические процессы, лежащие в основе проведения импульсов по миелинизированному аксону позвоночных животных и человека, требуют весьма малых затрат энергии АТФ [86]. О квантованном переносе электрона свободными радикалами и энергетическом значении диффузионного потока упоминается в литературе относительно недавно, после экспериментов на нервно-мышечном препарате с аппликацией копропорфирина. При достаточном снабжении кислородом нервные волокна практически не утомляются и могут проводить импульсы очень долго. В коллоидном растворе внутри аксона в области перехватов Ранвье, вероятно, происходит встречное диффузионное движение протонов и свободных анион-радикалов кислорода с образованием молекул H_2O , O_2 и обнулением зарядов частиц. Вода постепенно диффундирует из аксона, ее удаление (осмос) по всей длине аксона обеспечивает движение [86] аксоплазмы от тела нейрона к периферии. Результаты экспериментов с аппликацией копропорфирина на реоскоп показывают деполяризацию мембран волокон [25], [28] с эффектом возбуждения мышцы, чему сопутствует снижение порога раздражения мышц голени. На электрически непрерывной поверхности мышцы, как на отдельном перехвате Ранвье, так и по всей длине непокрытого миелином нерва (например, кальмара) происходит фазировка импульсов (возбуждение).

Результаты опытов второй половины XX в. по сдавливанию нервного волокна [86] показали, что аксоплазма движется от тела нейрона к окончанию отростка. Встречное перемещение положительно заряженных протонов и несущих отрицательный заряд анион-радикалов кислорода, их взаимная

нейтрализация в области перехватов Ранвье, образование и удаление из аксона воды приводит к движению коллоидного содержимого аксоплазмы в направлении от тела нейрона к периферии, содействует трофической функции мягкотных волокон. В теле нейрона и дендритах активно функционирует [49] гранулярная эндоплазматическая сеть, идут процессы образования белков, в том числе кластеров наружной мембраны нервной клетки.

Трофическая функция нервной системы у позвоночных животных особенно заметна в опытах по регенерации конечностей после частичного удаления аксонов, в зависимости от того, разрушены тела их нейронов или нет. Сохранение мягкотного нерва способствует регенерации удаленной у тритона лапы в полном объеме. Культия лапы земноводного отрастает и превращается в конечность только при сохранении нерва. Лечебная трансплантация в современных условиях развития медицины и применения стволовых клеток должна учитывать выводы исследований по регенерации аксонов и лап тритонов. Трофическая функция нервной системы, например, отчетливо проявляется у человека в снижении срока функционирования зубов с удаленным нервом. Последние после удаления нерва разрушаются раньше тех, в которых канал заполнен нервной тканью.

Два вида белков вещества Ниссля нейронов выполняют функцию буфера для регулирования рН. Реакция одного из белков тигроида из нейтральной может становиться кислой, а другой белок имеет щелочную реакцию [83]. Белки, это амфотерные многофункциональные биополимеры, использование которых в энергетических целях для получения АТФ происходит только в условиях голодания организма.

Наиболее тривиальные пути получения биосистемой доступной энергии связаны с катаболизмом углеводов и жиров. В ткани поперечнополосатых мышц млекопитающих расщепление глюкозы главным образом происходит через реакции гликолиза и цикла лимонной кислоты. В печени около трети молекул CO_2 образуются на основе углерода глюкозы и появляются в реакциях фосфоглюконатного окислительного пути. В семенниках, коре надпочечников, молочных железах, жировой ткани и лейкоцитах млекопитающих еще более высокая доля катаболизма глюкозы осуществляется через фосфоглюконат [5], что связано с использованием NADPH_2 в качестве восстановителя при синтезе жирных кислот и стероидов.

Прохождение нервного импульса по аксону *in vivo* объясняют с использованием термина «овершут» [5], [85]. Термин априори предполагает изменение

проницаемости клеточной мембраны для ионов натрия при достижении пороговой разности потенциалов, как сообщается в литературных источниках, за счет проникновения внутрь клетки из внеклеточной среды небольшого количества ионов Na^+ . В критический момент потенциал может резко измениться по причине, как говорят, «обрушения Na^+ », или «овершута». С позиций современных знаний о проницаемости клеточной мембраны «овершут», а по сути изменение свойств мембраны по отношению к заряженным частицам, трудно объяснить. Однако, взаимодействие положительных зарядов натрия с потоком отрицательно заряженного супероксида кислорода может нейтрализовать противоионы, после чего электрически нейтральные атомы Na будут по градиенту концентрации диффундировать внутрь.

При проведении импульса действия по аксону, заряд микроскопического участка аксоплазмы в области активного центра на перехвате Ранвье нейтрализуется, как мы полагаем, преимущественно за счет протонов, встречающихся движущийся им навстречу поток анион-радикалов кислорода и атомов Na из внеклеточного пространства внутрь. Здесь происходит реакция протонов (4H^+) и частиц анион-радикалов кислорода ($4\text{O}_2^{\bullet-}$) с образованием воды и кислорода. В конечном счете нейтральные молекулы газа и воды диффундируют из аксона. Кислород необходим клеткам неврилеммы, синтезирующим миелиновую оболочку аксона, осмос обеспечивает течение содержимого аксона к периферии: «Если перерезать аксон и отделить его от тела клетки, нервный отросток вскоре дегенерирует; пустая трубка из шванновских клеток сохраняется, но миелин вскоре исчезает» [86].

Локальное увеличение разности потенциалов на перехвате аксона при прохождении импульса достигается, по всей вероятности, с участием протонов. Электрохимический процесс сопровождается поступлением супероксида и нейтральных атомов Na внутрь аксона (некоторое число сопутствующих ионов Na^+ могут, теоретически, обмениваться на H^+), в результате вектор поляризации мембраны **P** изменяет величину и направление, возникает спайк.

Опыты на безмякотных нервных волокнах (например, кальмара) с использованием растворов солей-электролитов отчасти моделируют электрохимические процессы и события *in vivo* с участием зарядов анион-радикалов, протонов, катионов и сопровождаются изменением поляризованности в активных центрах жидкокристаллической мембраны, как позвоночных, так и беспозвоночных животных, у которых, несмотря на наличие различий морфофункциональной организации, много общего.

Деполаризация, гиперполяризация, возникновение электромагнитного поля в активных центрах клеточной мембраны под влиянием потока АФК на поверхность жидкокристаллической матрицы происходит за счет возникновения токов смещения, трансмембранного переноса зарядов неспаренного электрона свободным радикалом. Перемещение зарядов в активных центрах вызывает поле, магнитная составляющая которого лежит в плоскости клеточной мембраны, перпендикулярно току смещения. Малая концентрация свободных радикалов во внутренней среде определяет лишь отдельные хаотические переносы электрона частицами супероксида. Существенное увеличение концентрации радикалов способно обеспечить фазовую когерентность переходов соседних электрических диполей клеточной мембраны, вызывая тем самым самовозбуждение потенциала.

Постсинаптический потенциал вставочного нейрона преобразуется в ПД в начальном сегменте аксона (AIS) [6], [7], где сосредоточены активные белковые центры, адсорбирующие Na^+ , плотность которых на единицу площади превышает приблизительно в 100 раз их плотность на поверхности клеток.

Диффузионные потоки активных частиц супероксида воздействуют на мембрану нейронов, по-видимому, с двух сторон, изнутри – со стороны гранулярной эндоплазматической сети вещества Ниссля и снаружи – из жидкостей внутренней среды. Балансирование диффузионных потоков АФК из крови и АОС головного мозга посредством энергоемких изменений конформации активных центров дипольной сети наружной мембраны нервных клеток может приводить к возникновению ПД на пресинаптической мембране пластинчатых окончаний отростков (рис. 8.1) астроцитов; иными словами, к автоматическому, самостоятельному возбуждению нейронов со звездчатой формой тела и влиянию астроцитов через синапсы и возбуждаемое электромагнитное поле на крупные нейроны, в том числе циклическое возбуждение гиппокампального круга, где существует электромагнитное поле.

Принято считать, что отрицательный заряд внутри клетки формируется за счет малоподвижных анионов белков и фосфатной буферной системы $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$. Диффузионный поток супероксида из циркулирующей крови движется в направлении стенки капилляра, поэтому нетрудно представить, что астроцит или вставочный нейрон могут генерировать потенциал действия. Так может происходить при совмещении активных белковых центров пластинчатых выростов мембраны отростков астроцита с активными центрами мембраны эндотелия капилляров ГЭБ.

Поляризация липопротеиновой мембраны астроцитов подвержена модуляции в значительно большей степени, чем поляризация мембран крупных нейронов, например, пирамидных клеток, в начальном сегменте аксона которых происходит преобразование [49] постсинаптического потенциала в ПД. Заметим, что рассмотренный электромагнитный механизм самовозбуждения нейронов глии может создавать некоторые помехи для работы крупных нейронов, участвующих в рефлексах головного мозга, но последние находятся на расстоянии от капилляров и не отсылают к ним свои отростки. Нейроны мозга человека – высокоспециализированные клетки.

В структурах ЦНС медиаторы могут выполнять как возбуждающую, так и тормозную функцию. Дипольная сеть жидкокристаллической матрицы отдельной нервной клетки представляет собой автономную часть единой дипольной сети организма и в рассматриваемых примерах ограничена ЦНС.

Баланс ОС и АОС, пусть на значительно более высоком уровне концентрации свободных радикалов ($> 0,098$ мкмоль/л) во внутренней среде, является, по-видимому, своеобразной адаптацией ЦНС млекопитающих к повышенному уровню шумового раздражения акустических рецепторов, и на уровне наружной мембраны нейронов сбалансирован.

Не исключено, что другие стресс-факторы окружающей среды (яркий свет, например) вызывают подобное явление, позволяющее животному или человеку на уровне наружной мембраны клеток коры больших полушарий уходить от восприятия раздражения внешнего отрицательного фактора. Иными словами, не генерировать в ответ на внешнее раздражение соответствующих рецепторов ответные потенциалы действия и бесконечную негативную реакцию. Отметим ещё раз, что в стволе мозга, где проходит путь сигнальных импульсов слухового анализатора после воздействия шумом [8] наблюдали повышение активности ОС и АОС.

Математическое моделирование влияния диффузионного потока радикалов кислорода из внутренней среды организма на поверхность клеток и волокон биосистемы мы проводили с учетом и на основе экспериментального моделирования патологий у млекопитающих, а также аппликаций растворов копропорфирина на нервно-мышечный препарат [25] и сокращающийся миокард [21] земноводных. Опыты и математические расчёты обосновывают и показывают электромагнитную природу интегрирующей сигнализации в биосистеме, ее радикальную природу и индивидуальность реакций организма при

использовании энергии транспорта неспаренного электрона свободным радикалом. Диффузионный поток свободных радикалов из внутренней среды биосистемы является источником энергии автоматических нейропсихических процессов в первую очередь на уровне астроглии мозга, а его связь с рефлекторной деятельностью сведена до уровня синапсов глиальных клеток с крупными нейронами и относительно слабыми потоками свободных радикалов из ликвора на новую и старую кору мозга млекопитающих животных и человека.

Афферентные импульсы, идущие в ЦНС, и последующий анализ поступающих сигналов (электромагнитных эквивалентов внешних и внутренних раздражителей, а также самовозбуждаемых потенциалов на пластинчатых окончаниях отростков астроцитов [13]) происходит в биосистеме позвоночных животных и человека при участии диффузионного потока свободных радикалов из внутренней среды.

Заряженные положительно и отрицательно другие частицы (ионы) активно влияют на локальную поляризацию липопротеиновой поверхности клеточной мембраны. Дипольная сеть организма представляет собой единую жидкокристаллическую матрицу, которая формируется под влиянием диффузионного потока АФК из внутренней среды, возникает и развивается в онтогенезе постепенно, на основе растущей поверхности размножающихся клеток биосистемы, в том числе старой, новой, древней коры и ствола головного мозга.

Фрактальные кластеры липопротеиновой клеточной поверхности мантии приобретают характеристики памяти индивидуума при обучении и консолидации, адаптации, если рассматривать процесс в эволюционном аспекте и формировании врожденных безусловных рефлексов. Скорость реакции АОС организма и структура белково-липидной матрицы индивидуальны и обусловлены генотипом. Уникальность является результатом экспрессии генов, определяющих формулу и структуру молекул белков клеточной поверхности и консолидированные таким способом через структурные белки мембраны безусловные и условные реакции организма. Автоматические процессы в клетках, тканях и органах, равно как врожденные и приобретенные рефлексы, осуществляются при участии диффузионного потока радикалов из внутренней среды на матрицу и взаимодействуют с ней в активных белковых центрах клеточной поверхности [13], [21], [25], создавая электромагнитное поле.

9. РАДИКАЛЫ-АНТАГОНИСТЫ: СУПЕРОКСИД И ОКСИД АЗОТА

Диагноз заболевания «метгемоглобинемия» человеку ставят тогда, когда более 1 % от общего содержания гемоглобина ежедневно превращается в метгемоглобин. Нормальный уровень ежедневного превращения гема в гемин у здорового человека в два раза ниже. Метаболизм гема при глобинемии характеризуется очень заметными физиологическими и биохимическими изменениями, и метгемоглобин, например, регистрируется даже в моче. Что касается количественного уровня билирубина (через него проходит основной путь утилизации гема крови), высокая концентрация указанного метаболита при определенных заболеваниях человека косвенно, но вполне определенно, говорит о повышении уровня содержания супероксида во внутренней среде организма [2], [3], [8], [22].

Для примера приведём данные биохимического анализа крови больных детей с синдромом Криглера–Найяра. Концентрация неконъюгированного билирубина в крови больных при первом типе заболевания может достигать от 342 до 855 мкмоль/л. Причиной синдрома являются мутации в кодирующей последовательности гена *UGT1A1* фермента уридин-дифосфат-глюкуронилтрансферазы (УДФГТ). Мутация приводит к полному отсутствию активности УДФГТ, врожденной гипербилирубинемии, билирубин накапливается в ядрах серого вещества мозга. У больного ребёнка на 3–5 месяце жизни формируются стойкие неврологические нарушения и расстройства нервной деятельности, параличи, парезы, нистагм, атетоз; наблюдается грубое отставание в физическом и психическом развитии: ребенок не держит голову, не реагирует на голос матери и другие звуковые раздражители, не следит за игрушкой.

У здоровых людей количественный показатель билирубина в крови колеблется в широких пределах от 5 до 17 мкмоль/л. Второй тип заболевания Криглера–Найяра поддается лечению фенобарбиталом, действующее вещество которого стимулирует активность УДФГТ, повышая ее на 25 %, что превращает билирубин в растворимую форму с последующим выведением из организма с мочой. Концентрация неконъюгированного билирубина у больных со вторым типом заболевания от 102,6 до 342 мкмоль/л крови.

Инъекции копропорфирина мышам *DBA/2* в дозе 0,035 мг/г с последующей его активацией металлом-координатором (Fe^{3+}) вызывает у животных реакцию, эквивалентную по результатам неврологической симптоматике больных с врожденной гипербилирубинемией и офтальмоплегией. Симптомы

связаны с блокадой нервного импульса к мышцам диффузионным потоком анион-радикалов кислорода из внутренней среды на матрицу при первом заболевании (у больных наблюдаются опистотонус, нистагм и другие признаки), параличом мышц глаз при офтальмоплегии.

Выявление у подопытных мышей [1], [21], [31] ишемии и некроза сердечной мышцы при воспроизведении нейрополимиозита формы Вагнера–Унферрихта, указывает на участие в патогенезе свободного анион-радикала кислорода и радикала NO^\bullet [8]. Одновременное появление в тканях двух радикалов-антагонистов влечет за собой генерацию радикала пероксинитрита ONOO^\bullet и некроз участка стенки органа. Радикал NO^\bullet является продуктом обмена веществ в большинстве тканей человека и вовлекается в регуляцию тонуса сосудов, сердечную сократимость и передачу нервных импульсов совместно с АФК [8]. В нейронах его появление в условиях опыта определяется насыщенностью мозговой ткани тетрагидробиоптерином. В тканях и жидкой среде организма, а также нервно-мышечных препаратах лягушки радикал NO^\bullet окисляет гемоглобин в метгемоглобин, что определяет дополнительную генерацию АФК в реоскопе [25] и взаимодействие радикалов-антагонистов на протяжении длящегося около пяти минут опыта.

Регистрация NO^\bullet говорит об усилении процессов окисления в тканях, поскольку сопровождается образованием метгемоглобина и, следовательно, супероксида кислорода $\text{O}_2^{\bullet-}$. Результаты наших экспериментов, в которых изучалось влияние шума на биохимические показатели крови крыс, показывают [8], что звуковые колебания с уровнем акустического давления порядка 150 дБ приводят к увеличению содержания метгемоглобина в периферической крови животных в 1,8–2,2 раза. Уровень нитратов в крови при этом значительно возрастает в пределах от 55,5 до 84,5 %.

Другой использованный нами метод (индуцированной люминесценции) позволил установить, что в коре больших полушарий головного мозга у кошек через час после однократного воздействия акустических колебаний (уровень звукового давления тот же, 150 дБ) происходило снижение интенсивности процессов окисления свободными радикалами и повышение активности АОС.

Опытным путем было также показано, что в стволе головного мозга кошек может наблюдаться как увеличение интенсивности процессов окисления, так и активности АОС. Эта закономерность регистрировалась в образцах ликвора, взятого из спинного мозга подопытных животных. Повышение

окислительного действия свободных радикалов сопровождалось значительным увеличением активности АОС в ликворе [8].

Влияние акустического стресс-фактора отражалось на усилении радикального окисления в тканях больших полушарий головного мозга крыс и регистрировалось на фоне увеличения активности АОС после многократного шумового воздействия в течение двух недель (уровень звукового давления прежний). Примененный в опытах для оценки обменных процессов у крыс $NADPH_2$ -диафоразный тест выявил, что после акустического воздействия интенсивность окисления $NADPH_2$ заметно увеличивалась в нейронах коры больших полушарий мозга.

В силу своей универсальности $NADPH_2$ -диафоразный тест может быть использован для характеристики активности ферментов группы NO -синтаз. Образование оксида азота в нейронах определяется главным образом присутствием тетрагидробиоптерина. Отсутствие или пониженная активность ферментов, активируемых указанным коферментом, может привести к тому, что главным продуктом катализируемой реакции *in vivo* станет не NO^* , а супероксидный радикал. Было установлено [8], что усиление $NADPH_2$ -диафоразной активности соотносится не только с повышенным накоплением нитритов в нейронах, но и с соразмерным увеличением диформазапов, о чем свидетельствует тестирование тканей мозга с помощью нитросинего тетразолия (НСТ-тест). Результат тестирования говорит о повышении в тканях концентрации супероксида. Появление *in vivo* супероксида и оксида азота взаимосвязаны, однако присутствие неспаренного электрона на внешней орбите анион радикала кислорода усиливает значение заряженного радикала супероксида, поскольку перемещение отрицательного заряда неспаренного электрона представляет собой элементарное электромагнитное явление, имеющее индукционные последствия на удалении от точки возникновения поля, дистанционно. Неспаренный электрон любого свободного радикала обладает собственным спиновым магнитным моментом и оказывает действие на движение заряженных частиц своего окружения.

Активация окисления восстановленных пиридиновых нуклеотидов ДНК сопровождается накоплением в нервных клетках продуктов реакции диазосочетания нитритов с составляющими компонентами реактива Грисса [8]. При воздействии акустических колебаний с уровнем звукового давления 120 и 150 дБ на протяжении 0,5 месяца количество продуктов указанной реакции в нейронах росло, но находилось в слабой зависимости от интенсивности шума.

Длительное влияние шума, (в течение 3 месяцев) вызывало в области перикариона нейронов (где находится большое число гранул тигроида) заметное увеличение числа слияний гранул, что регистрировалось после окрашивания и указывало на изменение специфического вещества рибонуклеопротеида нервных клеток. Результаты экспериментов и их морфометрический анализ позволяют сделать вывод о накоплении в нейронах продуктов, возникающих под влиянием супероксида и NO[•]-радикала.

Совместное появление частиц супероксида и NO[•]-радикалов, изменение числа гранул белков в области перикариона являются связанными звеньями ответа нейрона на стресс и ждут дальнейшего экспериментального изучения и теоретического осмысления.

На основе анализа расположения и состава вещества Ниссля в клетках нервной ткани удалось выявить [5] некоторые трудно дифференцируемые ядра ретикулярной формации мозга. Ретикулярная формация ствола головного мозга осуществляет неспецифическое восходящее афферентное влияние на кору больших полушарий (*neocortex*) и, наряду с лимбической системой старой (*archicortex*) и древней (*paleocortex*) коры головного мозга позвоночных животных, является тем центром, возбуждение которого вызывает положительные и отрицательные эмоции [16]. Импульсы ретикулярной формации активизируют кору мозга во время бодрствования, оказывают тормозное влияние на спинальные рефлексy, двигательные нейроны спинного мозга человека через клетки Реншоу (вставочные нейроны, медиатором которых являются γ -аминомасляная кислота и глицин). Следует заметить [5], [27], [31], что специфическая электромагнитная сигнализация от рецепторов к областям коры больших полушарий идёт через зрительные бугры таламуса. Медианальные отделы зрительного бугра оказывают особое воздействие на кору больших полушарий, передавая импульсы от гипоталамуса, других лимбических образований и ретикулярной формации ствола мозга, в чём заключается большое значение таламуса в условно-рефлекторной деятельности и поведении организма позвоночных, в разделении функций и специализации клеток нейроглиального комплекса головного мозга.

Адаптации клеток и волокон биосистемы, в числе которых морфологические, функциональные, биохимические, трофические и топические, пространственное расположение нейронов головного мозга относительно капилляров (см. рис. 8.1), основаны на специализации и дифференциации. Иллюстрируемое рисунком приспособление мозга к диффузионному потоку радикалов

кислорода из капиллярной крови обусловлено специализацией нейронов глии к использованию энергии неспаренного электрона радикалов и, как следствие, к способности нервных клеток мозга самостоятельно возбуждаться, генерировать потенциалы и электромагнитное поле, осуществляя быструю дистанционную коммуникацию нейронов мозга. Уместно вспомнить при этом аксон-рефлексы, функции вставочных нейронов, а также результаты работ неврологов за последнее десятилетие по изучению начального сегмента аксона (*AIS*), преобразующего постсинаптический потенциал в спайк.

Оксид азота и супероксид появляются в нейронах около ядра практически одновременно, регистрация радикалов в тканях неокортекса полушарий под влиянием шума может рассматриваться как проявление регуляции постсинаптического потенциала, величина которого будет зависеть не только от медиатора, поступающего в синаптическую щель, но также от степени поляризации постсинаптической мембраны под воздействием двух потоков супероксида изнутри нейрона (из области перикариона) и из окружающей клетку внутренней среды (ликвора) на внешнюю поверхность той же клетки. Иными словами, не исключено, что появление радикалов-антагонистов в тканях коры головного мозга [8] направлено против внешних раздражающих факторов в целях адаптации животного к акустическому стресс-фактору, повышающему концентрацию супероксида в ликворе.

Рассматривая особенности обмена веществ и энергии в нейронах мозга, необходимо учитывать следующее. Развитие головного мозга позвоночных животных на основе нервной трубки зародыша хордовых, появление миелина, прогресс центральной нервной системы в классах подтипа *Vertebrata* в ходе исторического развития от бесчерепных ланцетников к рыбам, древним земноводным, рептилиям и млекопитающим подготовили мозг антропоидов в качестве материальной основы рефлекторной и самовозбуждающейся нервно-психической деятельности человека.

На базе увеличившегося в размере головного мозга и замкнутой кровеносной системы с развитой сетью капилляров у позвоночных животных возникло глубокое разделение функций нейронов мозга. Волокна белого вещества центральной нервной системы позвоночных, также как сенсорные ганглии периферической нервной системы, окружены миелином, скорость проведения нервных импульсов по мякотному нервному волокну увеличена и значительно превосходит скорость проведения импульсов по более древним волокнам без миелина. У современного человека нервно-психическую автоматическую работу, снабжаемую энергией неспаренного электрона свободных радикалов, стали называть

высшей, функционирующей не только на основе сложных рефлексов и актов, но и в самовозбуждающемся режиме мышления, речи, памяти, творческих и эмоциональных переживаний.

В крупных нейронах головного мозга вещество Ниссля находится в относительно большем количестве, чем в малых клетках и дендритах, а также более равномерно распределено по цитоплазме [5]. Нервное напряжение и стресс-факторы способствуют изменению [8] и уменьшению объема зёрен тигроида. Запасы белка после израсходования пополняются и служат целям выравнивания рН и баланса радикалов в нейронах, что, соответственно, удерживает суммарный заряд клетки на нуле. Это тем более важно, что на поверхности нейронов и их отростков постоянно происходят значительные колебания разности электрических потенциалов, изменение поляризованности. При нервном переутомлении количество вещества Ниссля в нейронах резко уменьшается и может даже исчезнуть на некоторое время.

В онтогенезе вещество появляется в постнатальном периоде у растущего ребёнка, когда нейрон включается в функциональную систему, а процессы торможения становятся всё более заметными при взрослении пубертата. Свободные радикалы являются внутренними факторами процессов торможения, развития и регуляции, их участие в функционировании биосистемы генетически определено и по времени совпадает с экспрессией в онтогенезе конкретных генов.

Так, трансляция цепей белка глобина, синтез гема при индивидуальном развитии человека начинается еще в клетках зачатка эмбрионального желточного мешка, первого кроветворного органа, вторым таким органом при развитии плода становится печень, а уже затем костный мозг, что приводит к появлению гемоглобина у эмбриона человека на 18 сутки развития. С появлением главной [21], [25], [38] составляющей ОС организма, железосодержащей крови на 20-е сутки онтогенеза у зародыша человека начинает пульсировать мышечный зачаток сердца [87].

Насыщенностью тетрагидроптерином (BH_4) определяется [8] образование в нейронах оксида азота. В качестве кофермента BH_4 участвует в процессах гидроксирования на этапах промежуточного обмена аминокислот фенилаланина, тирозина и триптофана. В составе фермента дигидроптеридинредуктаза BH_4 обеспечивает превращение аминокислоты фенилаланина в тирозин; блокировка реакции гидроксирования фенилаланина вызывает очень редко встречающуюся форму заболевания, фенотип которого чаще обусловлен врождённым дефектом фенилаланин-4-гидроксилазы (заболевание 1-го

типа, классическая форма фенилкетонурии, а не дигидроптеридинредуктазы (второй тип заболевания).

При дефиците дигидроптеридин-редуктазы происходит не только накопление аминокислоты, но снижается уровень радикала NO^\bullet в нейронах мозга. При классической форме происходит накопление аминокислоты фенилаланина и продуктов его распада в клетках мозга, которого можно избежать с помощью специальной диеты без фенилаланина. Умственная отсталость, возникающая при этом заболевании, представляет собой нечто большее, чем результат накопления фенилаланина, и в отдельных случаях связана преимущественно с дефицитом радикала NO^\bullet в нейронах.

Деградация аминокислоты триптофана в организме животных и человека осуществляется по путям, один из которых связан с окислением молекулы аминокислоты до кинуренина и других продуктов, которые за исключением глутарил-*CoA*, выделяются регулярно с мочой [5].

Биохимический порок этого наследственного заболевания косвенно определяет пониженный уровень генерирования радикалов кислорода в клетках головного мозга и главный симптом заболевания – олигофрению. Взаимодействие радикалов-антагонистов NO^\bullet и супероксида, снабжение кровью клеток головного мозга влияет на его когнитивные функции, определяет умственные способности человека.

Улучшение мозгового кровообращения как стимул умственной деятельности – тривиальный факт. Что касается олигофрении больных с синдромом Дауна, то повышенная активность фермента СОД в их тканях и, как следствие, повышение уровня концентрации перекиси водорода и радикалов гидроксила в крови, а также реакция Хабера–Вэйса наводят на мысль об участии радикалов в обеспечении когнитивных функций.

Гидроксилирование кинуренина обеспечивается ферментом кинуренин-3-оксигеназой при участии молекул кислорода и восстановленной формы NADPH_2 . Фермент специфичен к кинуренину, гидроксилирование молекулы которого происходит только по атому углерода в третьем положении [5]. У насекомых фермент является предшественником зрительных пигментов, у млекопитающих является конечным метаболитом [4].

Сложные рефлекторные акты происходят у беспозвоночных животных, например, у головоногих моллюсков. Среди насекомых у представителей семейства перепончатокрылых (пчел и муравьев), наблюдается весьма сложное поведение, в основе которого лежат врожденные и даже приобретенные

рефлексы. Уникальной особенностью пчел является способность членов колонии передавать друг другу информацию о местонахождении источников пищи [86]. При ориентации в пространстве у пчел проявляются элементы высшей нервной деятельности, память и элементы второй сигнальной системы. Вернувшись в улей сборщики пищи (фуражиры) сообщают окружающим их рабочим пчелам о направлении полета к обильному взятку. Успешные сборщики быстро бегают по вертикально расположенным рамкам с сотами и выписывают полукружья штурманского танца, напоминающие цифру «8». Угол между прямой (центральной) линией пробега, разделяющей полукружья «цифры», и вектором силы тяжести соответствует углу направления полета от улья за взятком по отношению к направлению на Солнце в данное время. Сообщение о направлении полёта к корму содержит также информацию о его дальности. Получившие информацию наблюдавшие штурманский танец рабочие пчелы летят по указанному направлению [112].

Головной мозг у пчел дифференцирован на три отдела. Развитие нервной системы членистоногих происходило за счет слияния и укрупнения узлов брюшной нервной цепочки предковых форм кольчатых червей и сопровождалось уменьшением количества и специализацией узлов. Головной мозг у пчел по массе значительно больше, чем у представителей других групп насекомых и сопоставим по размеру с мозгом хорошо летающих двукрылых насекомых (мух). Заметим, что пчел можно успешно дрессировать для повышения эффективности полётов и увеличения сбора нектара и пыльцы на полях, цветущих в разное время растений.

Кровь и эритроциты позвоночных играют роль буфера и нивелируют действие избытка кислых и щелочных метаболитов. Смесь угольной кислоты с бикарбонатами натрия и калия является одной из распространенных буферных систем в лабораториях *in vitro*, а также *in vivo*, где вместе с фосфатами и гемоглобином обеспечивают эффективное поддержание pH на уровне 7. Так, pH венозной крови ниже артериальной не более чем на несколько сотых единицы показателя [18], что хорошо соотносится с постулатом, утверждающим, что очень малое абсолютное количество заряженных частиц участвуют в процессе формирования и распространения ПД по аксону кальмара. Протонный градиент является движущей силой связанного с ним транспорта других ионов [88]. Так, транспорт натрия происходит в результате вытеснения катионов Na^+ протонами, находящимися в повышенной концентрации [18], [88]. Вероятно, по

этой причине после передачи одного импульса «невозможно обнаружить изменение концентрации Na^+ в аксоне. Гигантский аксон кальмара даже при выключенном натриевом насосе может провести сотни тысяч импульсов» [86].

Система фосфатного буфера крови состоит из гидрофосфата HPO_4^{2-} (дианиона, с основными свойствами) и дигидрофосфата H_2PO_4^- (моноаниона), который слабо, но диссоциирует [34] и генерирует протоны H^+ (свойство кислоты). Полностью протонированная форма глюкозо-6-фосфата содержит два способных диссоциировать протона с константой диссоциации кислоты 0,94 и 6,11. В нервной клетке значение концентрации H^+ поддерживается на уровне $\text{pH} = 7$, т. е. значительно выше первой константы и почти на единицу больше второй [18].

В аксоне, нейроне, других клетках биосистемы, где работает фосфатный буфер и глюкоза окисляется по фосфоглюконатному пути, поддерживается концентрация ионов водорода до сотых долей единицы pH , что при наличии диффузионного потока супероксида из внеклеточной жидкости на поверхность липопротеиновой матрицы позволяет также регулировать и внутренний заряд микрообъема под мембраной (в цитозоле). Кислые моноанионы дигидрофосфата H_2PO_4^- (их 10 %) диссоциируют, дианионы гидрофосфата HPO_4^{2-} практически нет. Полностью протонированная форма глюкозо-6-фосфата в нейронах отсутствует.

События при формировании ПД происходят, как мы считаем, при участии потока супероксида, протонов и нейтральных атомов натрия. Формирование ПД идет, скорее всего, не за счет быстрого возрастания (примерно в 100 раз) проницаемости мембраны для ионов натрия, этот показатель для Na^+ составляет 1/20, по сравнению с проницаемостью для ионов K^+ и вряд ли меняется, обеспечивая концентрацию внутри клетки для первого иона 12 экв./л, а для второго иона 155 экв./л; соответственно, вне клетки 145 экв./л (Na^+) и 4 экв./л (K^+) [5].

Восстановленный NADPH_2 и дигидрофосфат, источники H^+ , концентрация которых отражается на pH микрообъемов внутри клетки и аксона. Протоны могут участвовать в «обнулении» заряда на лишенных миелина перехватах Ранвье во время скачков нервного импульса от перехвата к перехвату и изменении направления вектора поляризации. Внезапное изменение свойства проницаемости липопротеиновой мембраны по отношению к ионам Na^+ , получившее название «овершут», трудно объяснить. Овершут, не более, чем

термин, обозначающий изменение знака разности потенциалов на мембране, что касается физических событий, обеспечивающих возникновение спайка, трактовка термина содержит ошибку, так как проницаемость липопротеиновой клеточной мембраны для ионов не меняется. Электролитическая диссоциация водных растворов веществ и генерация радикалов, например, при окислении гема крови в гемин подчиняются закону действия масс.

Свободные радикалы и ионы возникают в жидкостях биосистемы одинаково часто, их заряды формируют и модулируют вектор поляризации **P** в активных центрах наружной клеточной мембраны. Концентрация заряженных частиц микрообъёма зависит от уровня метаболизма и сбалансированности систем организма, в том числе: ОС, АОС, буферной и энергетической, связанными с перемещениями отрицательных и положительных электрических зарядов в жидкой фазе и матрице биосистемы.

Электростатические взаимодействия заряженных частиц в цитозоле нервной клетки и отростках – это часть комплексного физико-химического механизма, исторически выработанного биосистемами высших животных и связанного с интенсификацией и регуляцией обмена веществ, энергии и потока информации. Значительное увеличение скорости передачи информации произошло в связи с появлением гема, миелина и эволюцией внутренней среды позвоночных животных, где радикальный фактор особенно заметен в мозге, сердце и крови даже без учета патологических состояний организма со свободно-радикальной природой патогенеза. В результате увеличилась скорость проведения потенциала действия по нервному волокну, произошло усиление трофической функции нервной системы и специализация клеток нейроглиального комплекса мозга, направленная на использование энергии транспорта неспаренного электрона свободными радикалами.

В поддержании буферной способности и рН внутренней среды у человека и позвоночных животных ведущая роль отводится гемоглобину, эритроцитам, белкам и фосфатам. Процессы проведения нервного импульса начали изучать с XVIII в. на животных класса земноводных и класса млекопитающих, а в середине XX в. продолжили с успехом на аксоне беспозвоночных кальмаров.

Диффузионный поток супероксида из внутренней «безгемовой» среды беспозвоночных животных, не имеющих также целома и замкнутой кровеносной системы, конечно, значительно слабее, чем у позвоночных, которые бурно эволюционировали путем ароморфозов в условиях разнообразных сред обитания на Земле [29] и адаптированных к широкому спектру факторов внешней и внутренней среды, содержащей АФК.

Гемоцианин, переносящий кислород пигмент крови кальмара, представляет собой металлопротеиновый комплекс, декамер с очень большой молекулярной массой. Его мономер содержит два иона меди, которые обратимо связывают одну молекулу кислорода. В отличие от железосодержащего гемоглобина хордовых одновалентные ионы меди гемоцианина окисленной крови моллюсков связаны с аминокислотой белка, а не с тетрапирролом. Восстановленная форма пигмента крови моллюсков (название дано по аналогии с кровью позвоночных) бесцветная, окисленная, синего или голубоватого цвета, флуоресцирует. Представители разных типов животных не являются родственными в генетическом смысле. Конвергентное сходство у неродственных организмов (позвоночных и беспозвоночных) происходило на основе разных генов, но под влиянием сходных условий среды обитания и внутренней среды.

Мозг млекопитающих представляет собой нейроглиальную систему. В нормальных условиях энергетические потребности зрелого мозга человека обеспечиваются почти полностью за счёт глюкозы. Этот центральный по значению углевод поступает в мозг через кровь из печени, и более 90 % молекул глюкозы распадаются в цитоплазме клеток мозга по гликолитическому пути с образованием АТФ и пирувата, поступающего затем в митохондрии, где происходит его окислительное декарбоксилирование, а затем происходит фосфорилирование АДФ до АТФ. На кристах митохондрий происходит окисление, протонирование атомов водорода в составе молекул-переносчиков $NADH_2$ и $FADH_2$, а затем образование АТФ с участием комплекса белков АТФ-синтетазы оксисом.

По каналам грибовидных тел поток протонов движется под действием разности потенциалов на внутренней мембране митохондрий 200мВ, что обусловлено концентрацией протонов в резервуаре между мембранами и электронов и анионов гидроксила в матриксе органелл. Разность потенциалов на кристах митохондрий приблизительно в два раза превышает средний показатель разности потенциалов в перехватах Ранвье аксона и сопоставима со средними показателями порогов раздражения реоскопов в наших опытах при воздействии на них магнитных полей в катушках с согласным и встречным направлением векторов магнитного поля.

Усреднённое значение порога раздражения мягкотного нерва земноводного в наших опытах при аппликации активированного копропорфирина составило от 90 до 120 мВ, но в сочетании с воздействием магнитного поля со встречным направлением векторов напряжения могло вырастать до 170 мВ,

порог увеличивался на 40 мВ (происходило торможение проведения импульсов). Максимальный порог раздражения отдельных препаратов после аппликации на нерв составил 470 мВ.

Влияние клеток глии на кору больших полушарий мозга осуществляется через электромагнитное поле на мембранных пластинах астроцитов и химические связи (синапсы) с крупными нейронами, отвечающими за рефлексы. При наличии возбудителей инфекционных заболеваний в ликворе повышается уровень концентрации первичных и вторичных радикалов, результат участия NADPH-оксидазы глиальных фагоцитов, клеток так называемой микроглии.

В нейронах и окончаниях аксонов имеются митохондрии. Снабжение молекулами АТФ тканей мозга происходит в большой степени за счет реакций гликолиза. В целом к анаэробным процессам клетки мозга более способны, чем к окислительному метаболизму. Фосфоглюконатный окислительный путь глюкозы происходит во всех клетках мозга, но, по-видимому, в здоровом организме не участвует в синтезе жирных кислот и стероидов в митохондриях, так как образующийся в цитоплазме нейронов $NADPH_2$ лишь с трудом [28] может здесь окисляться. В цикле лимонной кислоты в матриксе митохондрий образуются переносчики атомов водорода $NADH_2$ и $FADH_2$, а протоны H^+ накапливаются в протонном резервуаре. Заряженные частицы в митохондриях создают высокую разность потенциалов на внутренней складчатой мембране, обеспечивают синтез АТФ и воды. $NADH_2$ в цитозоле нервных клеток может использоваться для синтеза $NADPH_2$.

10. АВТОМАТИЯ СЕРДЦА И НЕЙРОНОВ ГЛИИ МОЗГА

Выявление роли одноэлектронного переноса свободными радикалами в механизмах нейрогуморальной регуляции функций у хордовых побудило нас исследовать воздействие АФК на миокард земноводных. Результаты экспериментов показали, что перенос неспаренного электрона супероксидом через клеточную мембрану, во-первых, является источником квантованной энергии, используемой для модуляции поверхностного потенциала клетки, и, во-вторых, обеспечивает защиту мембраны от окисляющего влияния радикалов, поскольку ее энергетические изменения обратимы. Иными словами, энергоемкие реактивные изменения третичной структуры молекул интегральных белков и осцилляции активных центров плазмалеммы выполняют функцию АОС, вероятно, в самом первом и древнем виде самозащиты липопротеиновой мембраны клетки от квантованной энергии неспаренного электрона свободных радикалов.

Патогенетическое действие свободных радикалов определяется не столько повышенной концентрацией анион-радикалов кислорода во внутренней среде (по сравнению с нормой), сколько нарушением баланса между генерацией супероксида и многокомпонентной АОС организма, включающей специализированные белки-ферменты, витамины, другие биологически активные соединения и процессы с антиоксидантной направленностью. Так, нормальный уровень билирубина в плазме крови свидетельствует, например, о том, что утилизация гемоглобина идет по пути, который не сопровождается резким повышением содержания гемоглобина М и риском критического повышения во внутренней среде концентрации свободных радикалов.

Изучение влияния активности ОС на фоне угнетения АОС при воспроизведении экспериментальной модели полимиозита [1], [2], [8], [22], [31] позволило заключить, что в основе патогенетического процесса, приводящего подопытных линейных мышей к ишемии и инфаркту миокарда, лежит перекисное окисление липидов и появление продуктов цепных реакций радикалов [8], [24] различного атомарного состава. В экспериментальных исследованиях ингибиторов ферментов комплекса NO-синтаз в лечении ишемического повреждения головного мозга было показано, что низкие дозы веществ-ингибиторов синтаз оксида азота существенно уменьшали область повреждения тканей головного мозга при инсульте, а высокие дозы увеличивали площадь патологических изменений [18]. Баланс радикалов-антагонистов супероксида и

оксида азота по отношению к кровеносным сосудам в зоне локального ишемического поражения нейроглиального комплекса ЦНС человека поддерживает необходимое для выздоровления равновесие.

Увеличение в крови, притекающей к сердцу, концентрации супероксида или ослабление действия АОС сопровождаются изменениями, в том числе патологическими, в тканях млекопитающих животных и человека. Локальные ферментозависимые процессы окисления и перекисного окисления липидов, которым сопутствует появление в микроциркуляторном русле тканей антагониста анион-радикала кислорода, медиатора оксида азота, играют определяющую роль в организме. Баланс радикалов в биосистеме, равно как баланс ОС и АОС [8], может поддерживать гомеостаз на уровне концентрации супероксида кислорода во внутренней среде, который даже превышает 0,098 мкмоль/л, что позволяет организму определенной генетической конституции функционировать в условиях повышенной концентрации супероксида некоторое время. Активность целого ансамбля ферментов, так или иначе участвующих в сдерживании реакций с переносом электрона радикалом, зависит от возраста достижения половой зрелости и индивидуальных генетически детерминированных особенностей организма, органа или ткани, в которых могут быть запущены цепные процессы [24], приводящие к патогенезу. Именно такие события в биосистеме значительно влияют на возникновение и последующее развитие патогенеза в ту или иную сторону. Результаты хронических опытов (более двух месяцев) на линейных животных по воспроизведению полимиозита формы Вагнера–Унферрихта и отсутствие манифестации характерных симптомов заболевания у отдельных мышей с начальной массой 20 г предполагают именно такое объяснение фактов устойчивости к патогенетическому действию свободных радикалов.

На клеточном уровне дисбаланс ОС и АОС в организме проявляется в значительном сокращении средней продолжительности жизни клетки [26]. Последнее приводит к уменьшению массы тканей, в том числе соединительной. Так, при воспроизведении модели полимиозита у отдельных животных возникали кахексия, токсикоз, у некоторых развивался горб. Построенная нами математическая модель средней продолжительности жизни клетки под действием потока свободных радикалов вполне адекватно отражает полученные в экспериментах по моделированию патологий результаты.

Проведенные исследования с использованием нервно-мышечных препаратов земноводных и аппликацией растворов активированного копропорфина показывают, что диффузионный поток анион-радикалов кислорода из внутренней, а также из внешней среды является фактором деполяризации клеточной мембраны.

Процессы переноса неспаренного электрона свободным радикалом изменяют величину мембранного потенциала (вектора поляризации), влияют и регулируют процессы с участием протонов в аксоплазме и событий на поверхности мембран в перехватах Ранвье. Активность потенциалзависимых канальных белков (Na^+ каналов) плазмалеммы, а также связанных с ней мембран эндоплазматической сети клеток находится под влиянием радикального фактора внутренней среды биосистемы.

Диффузионный поток АФК из внутренней среды на клеточную поверхность и модуляция вектора поляризации на мембране позволяют в широких пределах перестраивать совместное функционирование ОС и АОС организма в соответствии с реакцией нервной и эндокринной систем на изменение внешних факторов. Поток отрицательно заряженных частиц анион-радикалов из внутренней среды, модулируя разность потенциалов на активных центрах клеточной мембраны, непосредственно участвует в нейрогуморальной регуляции [13], [28], объединяет организм *Homo sapiens* электромагнитным полем в биосистему.

Источники импульсного магнитного поля применяются в медицине для лечения разных заболеваний, сосудов головного мозга, опорно-двигательного аппарата, желудочно-кишечного тракта, неврологических и других за счет стимуляции трофической функции мягкотных нервных волокон.

Исследование реакции сокращающегося сердца земноводного животного в ответ на аппликацию растворов копропорфина и выявление причины спонтанной диастолической деполяризации миокарда и явления, известного, как автоматия сердца, было проведено нами вслед за опытами на нервно-мышечном препарате лягушки с целью выявления электромагнитной природы регуляции сокращений миокарда и значения диффузионного потока свободных радикалов из внутренней среды на матрицу органа с компрессионной функцией. Диастола позволяет сердцу отдыхать, поток супероксида из механически притекающей по сосудам крови воздействует на адаптированную внутреннюю поверхность аурикул сердца млекопитающих животных и человека и вызывает диастолическую деполяризацию клеточной мембраны и сокращение мышечных стенок органа, систолу.

Строение сердца земноводных проще, чем у млекопитающих, и состоит из трех сокращающихся камер. Единственный желудочек сердца лягушки порционно посылает артериальную, венозную и смешанную кровь (эти порции крови значительно различаются по насыщению кислородом) в разные части тела и органы животного благодаря особому строению так называемого артериального конуса. Сердце обездвиженной лягушки после вскрытия сердечной сумки продолжает биться, и частота сокращений уверенно фиксируется при визуальном наблюдении. После удаления париетального листка перикарда земноводного хорошо видны желудочек, вентральные участки предсердий, луковица и две дуги аорты (левая дуга сохраняется и функционирует у млекопитающих животных и человека, а правая – у птиц). Лягушки (класс земноводные) очень своеобразные животные, не вдаваясь в излишние подробности, заметим, что они «похожи сразу на всех» позвоночных, водных и наземных; имеется также в виду сходство отдельных особенностей строения черепа и функциональных возможностей иммунной системы лягушки с млекопитающими и птицами.

В опытах на лягушках-самцах для контроля был использован раствор Рингера для земноводных. Источниками супероксида в вариантах опытов на миокарде служили 0,01 и 0,1 % водные растворы тетракалиевой соли копропорфирина, активированные видимым светом и 0,1 % раствором соли металлокоординатора [21]. Тестируемые супероксид-генерирующие растворы (0,5 мл) заливали во вскрытый перикард с помощью шприца, после чего подсчитывали число сокращений сердца (ЧСС) за минуту.

В первой из двух подопытных групп животных (самцы) при среднем показателе частоты сердечных сокращений 32,7 удара/мин (фон), после добавления в перикард 0,01 % раствора, ЧСС снизилось в среднем на 7 ударов в минуту и составило в среднем 25,4 удара. Повторное добавление в перикард лягушки раствора в концентрации 0,1 % через несколько минут практически возвращало ЧСС к контрольному уровню (32 уд./мин). Для второй группы животных (самцы) при среднем показателе ЧСС в контроле (раствор Рингера для земноводных) 55,4 уд./мин, добавление в сердечную сумку 0,1 % раствора, ЧСС снизилось в среднем на 15,8 уд./мин и составило 39,6 уд./мин.

Следует заметить, что зафиксированное таким образом раздражающее действие супероксида на миокард, также как эффекты, наблюдавшиеся на изолированном нервно-мышечном препарате лягушки, были получены на уровне концентраций растворов-индукторов супероксида в 10 и 100 раз ниже, чем при воспроизведении патологий на мышах. При использовании 1 % растворов

копропорфирина, соли металла-координатора и 1 % раствора перекиси водорода у подопытных линейных животных на вторые и третьи сутки с начала опыта были отмечены ишемия миокарда (по результатам ЭКГ) [1], [31] и другие признаки острой сердечной недостаточности.

Сравнение результатов, полученных при испытании низких и высоких концентраций супероксид-генерирующих растворов на биологические препараты и сокращающийся миокард земноводных, позволяет сделать вывод, что раствор активированного копропорфирина и кровь близки по результатам влияния, обусловленного генерацией супероксидного анион-радикала кислорода. Диффузионный поток супероксида из крови служит триггером «спонтанных» сокращений миокарда. Активацию раствора копропорфирина металлом-координатором можно сопоставить с окислением протетической группы гема крови позвоночных животных и человека в гемин в соответствии с реакцией: $Fe^{2+} = Fe^{3+} + e^-$.

Именно баланс, а не уровень активности ОС и АОС в биосистеме определяет индивидуальную физиологическую концентрацию анион-радикала кислорода в организме млекопитающих животных и человека, поддерживая её в пределах 0,096–0,098 мкмоль/л [22] при значительном изменении активности обеих систем. Применяемые нами в эксперименте низкие концентрации супероксид-генерирующих растворов (0,1 и 0,01 %) не вызывают патологического эффекта. При этом верхняя (0,1 %) из использованных в аппликациях на миокард концентраций копропорфирина в растворе соответствует равновесному уровню супероксида.

Раздражающее (стимулирующее и тормозное) действие супероксида в опытах на сердце земноводных сводится к следующим результатам: ЧСС на минимальной концентрации (0,01 %) раствора-индуктора $O_2^{\bullet-}$ в опыте по сравнению с контролем снижается и дисбаланс смещается в сторону ослабления действия ОС. На верхнем значении концентрации, при повторном добавлении раствора-индуктора $O_2^{\bullet-}$ во вскрытый перикард, частота повышается и стабилизируется, что означает восстановление баланса. Следовательно, верхняя концентрация (0,1 %) вполне адекватна физиологическому уровню концентрации супероксида, определяемому уравнением (3.5).

Сходные результаты получены при аппликации растворов активированного копропорфирина в диапазоне от 0,01 до 0,4 %, что приводило к раздражению седалищного нерва, возбудимость которого снижалась, и росту возбудимости икроножной мышцы, независимо от концентрации приложенного

раствора-индуктора супероксида. Величину минимальной концентрации следует подчеркнуть, понимая, что концентрация гематопорфиринов в производных от крови жидкостях (межклеточная тканевая жидкость, ликвор, плазма) внутренней среды организма тоже снижена по сравнению с кровью.

На сердце земноводного воздействие аппликаций супероксид-генерирующих растворов в опытах осуществляется через поверхность органа, обращенный к нему вскрытый перикард и нервные окончания на его внутренней и наружной сторонах. Околосердечная сумка обездвиженного животного вскрыта. Структуры указанных поверхностей соответствуют икроножной мышце, поэтому влияние диффузионного потока частиц анион-радикалов кислорода на них следует оценить как протяженное.

Проводящая система сердца состоит из атипической мышечной ткани, богатых гликогеном волокон Пуркинье, и обеспечивает автоматию, иными словами, координированные сокращения всех отделов и одновременно с этим насосную функцию органа. Система представляет собой совокупность узлов, пучков и волокон мускулатуры миокарда, основой которой являются так называемые *P*-клетки. Клетки, задающие ритм сокращений миокарда, *пейсмейкер* (англ. *pacemaker*), видоизмененные малодифференцированные кардиомиоциты, имеющие ряд морфологических и функциональных характерных особенностей, в частности, способность к самовозбуждению и автоматии.

Благодаря этой функциональной особенности в структурах мембран проводящей системы миокарда регулярно происходит деполяризация и возникает потенциал действия, отделы органа последовательно ритмично сокращаются и гонят кровь по большому и малому кругу. Главным механизмом возбуждения сердца при завершении общего покоя (диастолы) принято считать *спонтанную диастолическую деполяризацию*. Сердце снабжено симпатическими и парасимпатическими нервными волокнами, которые с чувствительными нервами формируют внутрисердечную нервную систему. Аfferентная сигнализация от сердца имеет существенное значение для рефлекторной приспособляемости периферического сосудистого сопротивления, участвует в регуляции объема циркулирующей крови.

Диффузионный поток активных частиц радикалов из крови омывает поверхность клеток эндотелия сосудов, камер сердца. Из ликвора и межклеточной жидкости, мембраны нервных клеток, волокон и начальных сегментов аксонов, за исключением тех сторон нейронов мозга, которые лежат на корковых пластинках. Например, клетки обонятельной извилины в старой коре мозга

млекопитающих лежат на сильно редуцированной пластинке, являющейся продолжением корковой пластинки гиппокампа [46], [87].

Физические процессы в жидкокристаллических структурах матрицы организма млекопитающих и человека определяются коллективом близко расположенных, связанных молекул, которые формируют обусловленные влиянием друг на друга состояния кластеров (в том числе аквакомплексов) молекул и атомов поляризованной поверхности, возбуждающейся от суммы электромагнитных влияний в биосистеме или в полупроводниках [3], [42], [79].

При протекании крови по сосудам и сердцу возникают поверхностные взаимодействия волокон кардиомиоцитов и клеток проводящей системы сердца с диффузионным потоком активных частиц супероксида. Потоки анион-радикалов кислорода инициируют встречные движения ионов (Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , H^+) в плоскости перпендикулярной к поверхности клеток, что являет собой ток смещения, сопровождаемый индукцией магнитного поля. Гуморальные носители информации (гормоны) влияют на поверхностные рецепторы клеток или, как липофильный тестостерон, проникают через билипидный слой клеточной наружной мембраны и влияют на внутриклеточные рецепторы. Вторичные носители информации, мессенджеры, образующиеся, или появляющиеся из депо в клетках, определяют ответные, в том числе биохимические реакции тканей.

Ионы кальция, циклические нуклеотиды: аденозин-3',5'-монофосфат (*cAMP*) или альтернативный ему циклический гуанозин-3',5'-монофосфат (*cGMP*), инозитол-трифосфат и некоторые другие носители информации являются внутриклеточными посредниками, мессенджерами и определяют тот или иной вариант обмена в клетках тканей. Так, аденилат- и гуанилатциклазные механизмы внутриклеточных биохимических преобразований веществ взаимно исключают друг друга. Медиатором *cGMP* является ацетилхолин, медиатором аденозин-3',5'-монофосфата (*cAMP*), адреналин. Противоположный характер влияния указанных медиаторов на миокард хорошо известен, адреналин усиливает и учащает сокращения сердца, ацетилхолин и соли калия замедляют и ослабляют его, это соответствует влиянию импульсов со стороны симпатического и парасимпатического отделов вегетативной (автономной) нервной системы и влиянию гормона надпочечников, солей кальция и других веществ, усиливающих и учащающих ЧСС. Во время сна ЧСС уменьшается, артериальное давление крови снижается. Нервная и гуморальная регуляции совместно

обеспечивают деятельность сердца в соответствии с условиями внешней и внутренней среды. Гормоны, уровень и характер импульсов со стороны ретикулярной формации ствола мозга контролируют состояние сна и бодрствования, регулируют ЧСС, определяют реакции обмена веществ.

Потоки ионов Ca^{2+} из межклеточного пространства в клетку и обратно, из коллоидного раствора цитозоля в митохондрии, на гладкую эндоплазматическую сеть и обратно, а также активируемые кальцием белки кальмодулины функционируют в качестве внутриклеточных сигналов, управляющих обменом веществ, эмоциями и поведением индивидуума, адаптациями, очень важными для человека в условиях социума. Эмоция представляет собой быстрое отражение мозгом человека или животного какой-либо актуальной потребности и вероятности ее удовлетворения в конкретных условиях. Прогнозирование возможности достижения цели может осуществляться как на основе сознания, с использованием и анализом в ЦНС электромагнитных эквивалентов внешних и внутренних раздражителей, так и на неосознаваемом уровне нервной деятельности.

Транспорт атомов и ионов кальция в клетках животных и человека не зависит от градиента pH и осуществляется за счет диффузии, разности потенциалов и электростатических сил без обратного потока других ионов через мембрану, последнее надо подчеркнуть. Транспорт Ca^{2+} происходит по направлению к отрицательным зарядам внутренних поверхностей мембран [29]. Направление движения Ca^{2+} и супероксида ориентированы на противоположный им заряд поляризованного участка клеточной поверхности и сопровождаются генерацией электромагнитных полей и потенциалов действия, которые могут быть не вполне согласованы с анализирующими центрами коры больших полушарий головного мозга при аффекте. Сдерживать сильную эмоциональную реакцию на раздражение могут далеко не все. Приступ сильного нервного напряжения у человека сопровождается соматовегетативными проявлениями, но это, как и эмоция, представляет собой отражение мозгом потребности и степени возможности ее удовлетворения. Физиологический аффект не сопровождается помрачением сознания, амнезией и другими психическими расстройствами.

Продолжая рассматривать автоматию сердца, следует учитывать, что в структуру миокарда млекопитающих животных и человека входят не только предсердия и желудочки. Число сокращающихся камер сердца, например, у человека, свиньи и многих других млекопитающих составляет не четыре, а

шесть. Ушки предсердий, аурикулы [87], препарирование которых показывает, что внутренние стенки указанных камер имеют складки (трабекулы), увеличивающие площадь поверхности соприкосновения с кровью, которая здесь задерживается после очередного сердечного цикла. Наличие складок указывает на адаптацию *auricular atrii* к выполнению определенных функций, которые в связи с выявленной способностью потока супероксида влиять на потенциал покоя клеточной мембраны, становятся более понятными.

Физиологи давно отмечали, что частота импульсов в клетках водителя ритма (*P*-клетках) проводящей системы сердца в значительной степени зависит от омывающей его крови, нервных влияний и биологически активных веществ, например, адреналина и лекарственных средств. Важную роль при этом играет расположение синусно-предсердного узла, или водителя ритма. Узел расположен над ушком правого предсердия у места впадения в него поллой вены и выполняет ведущую роль в ритмичных автоматических сокращениях сердца, узел находится в начале каскада последовательных элементов проводящей системы сердца.

Сердце человека и животных адаптировано к диффузионному потоку радикалов кислорода из крови на внутреннюю поверхность органа и проводящих элементов (узлов и пучков волокон), регулирующих ритм сокращений. Элементы автономной проводящей системы сердца человека характеризуются разной скоростью проведения (функциональными адаптациями): от 0,05–0,2 м/с в водителе ритма и 0,02–0,05 м/с в атриовентрикулярном узле; в проводящих волокнах желудочков миокарда до 2–4 м/с. Конечные разветвления проводящей системы сердца представлены мышечными волокнами Пуркинье, образующими анастомозы с сократительными волокнами сердечной мышцы [85], [87]. Роль АФК в процессах возбуждения миокарда обусловлена взаимодействием активных частиц свободных радикалов крови с полярными молекулами белков в микроструктурах клеточной поверхности кардиомиоцитов и *P*-клеток.

Жидкокристаллическая структура клеточных мембран обуславливает формирование и функционирование дипольной сети матрицы биосистемы с фиксированным расположением генетически программируемых белков, адсорбирующих ионы натрия и калия и образующих активные центры (каналы Na^+). Протоионы клеточной поверхности подвижны и создают двойной электрический слой с варьирующейся разностью потенциалов. Квантованная энергия потока отрицательно заряженных радикалов кислорода из крови циклически изменяет разность потенциалов на мембранах *P*-клеток миокарда, периодически возбуждает

потенциал действия и автоматические последовательные сокращения аурикул, предсердий и желудочков, автоматический ритм работы сердца.

Проводящая система сердца регулирует ритмические сокращения изолированного сердца [85]. В специально созданных условиях можно длительное время поддерживать ритмические сокращения отдельных миоцитов сердца человека. Сердечная мышца сокращается как единое целое. Миокард и проводящая система сердца представляют собой функциональный синцитий, что находит подтверждение в электрофизиологических экспериментах. При воспроизведении модели полимиозита форма Вагнера–Унферрихта на мышцах *DBA/2* методом ЭКГ диагностики нам несколько раз удавалось регистрировать ишемию и даже инфаркт миокарда [1] у подопытных животных, что однозначно указывало на свободно радикальную природу патогенеза (оксидативный стресс).

Биосистема способна защищать себя от оксидативного воздействия свободных радикалов путем поддержания баланса ОС и АОС, перестраивая в широких пределах их совместное функционирование в соответствии с реакцией нервной и эндокринной систем на изменение условий внешней и внутренней среды. Одноэлектронный перенос свободными радикалами через клеточную мембрану является механизмом и энергетической компонентой в осуществлении нейрогуморальной регуляции функций биосистемы.

Электромагнитные сигналы, возбуждение нерцепторной природы, появляются в ЦНС в результате взаимодействий заряженных частиц свободных радикалов внутренней среды, спровоцированных инъекцией активированного металлом-координатором копропорфирина на поверхность клеточной матрицы головного мозга.

Возбуждение, возникающее в клетках гиппокампального круга [46], [47]: древней матрицы ЦНС, которое влияет на нейроны зон слуха и зрения, других зон чувствительности в новой коре и стволе головного мозга, обеспечивает формирование электромагнитных эквивалентов раздражителей рецепторов в зоне, где происходит нейрогенез. При этом могут образовываться новые молекулы структурных белков, создающие вместе с липидами жидкокристаллическую мембрану везикул и обновляющие в дальнейшем плазмалемму делящихся клеток памяти с определенной топологией фрактальных кластеров поверхности.

В центре функциональной лимбической системы мозга формируется реакция организма с участием большого числа нейронов ЦНС, ориентировочный

рефлекс «что такое?», в ответ на какой-либо внешний раздражитель, не являющийся строго специфическим и понятным, анализируемый поэтому не сразу, сопровождаемый усилением внимания со стороны всего организма и торможением по отношению к другим раздражителям, не актуальным для биосистемы в данный момент именно по причине своей определенности. Загадочный раздражитель в целях безопасности биосистемы является приоритетным для животных и человека.

Под воздействием факторов среды у позвоночных животных выработались морфофункциональные адаптации для поддержания баланса между свободными радикалами ОС и системой их нейтрализации, АОС организма. Взаимодействие указанных систем обеспечило вариации мощности диффузионного потока свободных радикалов из внутренней среды на клеточную поверхность и определило появление адаптаций в омываемом кровью эндотелии капилляров. Так, для регуляции поступления АФК и питательных веществ из крови к клеткам мозга у высших позвоночных животных и человека сформировался гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), представляющий собой адаптацию на уровне капилляров и клеток нейроглиального комплекса мозга. Барьер изолирует крупные нейроны коры от интенсивного потока супероксида из крови и направляет энергию токов смещения на пластинчатые мембранные окончания адаптированных отростков астроглии.

Автоматия нейронов астроглии, морфологически приспособленной к восприятию электромагнитных влияний из крови, ликвора и других жидкостей внутренней среды создает основу самовозбуждения в структурах коры мозга. Пресинаптическая мембрана астроцитов в составе ГЭБ (см. рис. 8.1) активно контактирует через синапсы на дендритах с нейронами мантии, серым веществом большого мозга. Древняя кора головного мозга, обонятельная луковица, тракт и бугорок, старая кора, все это является частью лимбической системы. Новая кора занимает около 95 % общей площади поверхности серого вещества и только 4–5 % приходится на долю древней и старой коры мозга млекопитающих животных и человека.

Активность головного мозга изучают с помощью приборов-электроэнцефалографов, которые снабжены усилительно-регистрирующими блоками, позволяющими по отдельным каналам одновременно фиксировать электрические потенциалы от определенного числа пар электродов, которые крепятся на голове с помощью специальных приспособлений симметрично относительно

срединной сагиттальной линии головы обследуемого животного или человека по общепринятым схемам отведений потенциалов.

Название электродов включает латинскую букву названия области головы, на которую ставится электрод: *PZ* – центрально-теменной электрод; *FZ* – среднелобный электрод; *A1* – ушной электрод левый; *A2* – ушной правый; *CZ* – центральный теменной электрод. Номер *1* рядом с буквой указывает на левое полушарие, четная цифра *2* – на правое. Анализ ЭЭГ человека производят по Международной системе 10-20, предусматривающей деление поверхности головы на большее число областей.

В норме при исследовании ЭЭГ человека или млекопитающего животного (собаки, кролика) выделяют два основных ритма электрической активности: α - и β -ритм. Для бодрствующего человека (взрослого индивидуума) регистрируемые δ - и θ -ритмы над полушариями мозга являются признаками патологических процессов. Характерные изменения ЭЭГ наблюдаются при психических заболеваниях, например, при хронически протекающей эпилепсии, судорожных припадках, возникающих чаще в детском и подростковом возрасте, в редких случаях в зрелом и позднем возрасте [16]. Регистрируемые кривые ЭЭГ позволяют фиксировать доминирующие электрические ритмы и локализацию патологического процесса при развитии заболевания. Припадки при эпилепсии связывают с возбуждением подкорковых образований на фоне торможения корковых структур мозга человека.

Запись электрической активности головного мозга самки кролика с массой тела 4,5 кг была выполнена нами до (фон) и после введения в организм нарастающих доз активированного копропорфирина. Животное получило за время опыта суммарно 11,55 мг/кг тетракалиевой соли копропорфирина и 15,5 мг/кг соли металла-координатора FeCl_3 (в виде водных растворов *in it*). Фоновую запись ЭЭГ головного мозга кролика произвели спустя 5 мин после фиксации животного в станке (контроль). Затем записывали ЭЭГ после инъекций. Первая запись, через 15 мин с начала опыта после второй инъекции, суммарная доза копропорфирина к моменту записи составила 6 мг/особь; следующая запись была сделана через 3 мин вслед за третьей инъекцией (суммарная доза введенного кролику копропорфирина к этому времени составила 12 мг/особь). После четвертой инъекции единовременная доза составила при этом 40 мг/особь, а суммарная за время опыта – 11,55 мг/кг.

Запись ЭЭГ на завершающем этапе опыта произвели три раза: через 3, 10 и 60 мин после четвертой инъекции супероксидом генерирующих растворов. Последняя запись ЭЭГ произведена спустя 1 ч 20 мин от начала эксперимента.

Запись ритмов ЭЭГ головного мозга кролика осуществили в очередности α , β , δ θ до и после инъекций растворов копропорфирина.

1. Над обоими полушариями регистрируется α -ритм частотой 8–14 Гц. Максимальная амплитуда α -ритма над левым полушарием, или потенциал отведения на тест-электродах, составил 0 мкВ (среднее значение 0 мкВ). Максимальная амплитуда α -ритма над правым полушарием 0 мкВ (среднее значение 0 мкВ). Межполушарная асимметрия α -ритма отсутствовала. Доминирующая частота α -ритма 8,1 Гц; индекс α -ритма 2 %; α -ритм преобладал в *PZ-AA*, *FZ-AA*, модулировался умеренно.

Максимальная амплитуда альфа-ритма возросла над левым полушарием до 570 мкВ (среднее значение 7 мкВ), что наблюдалось после получения самкой кролика третьей дозы раствора копропорфирина. После введения четвертой (последней) дозы раствора, амплитуда снизилась и составила 45 мкВ (третья минута после четвертой инъекции), при этом α -ритм преобладал в *PZ-A1* (левое полушарие), индекс ритма 5 %;

Через 10 мин была зарегистрирована приближающаяся к максимальному значению амплитуда α -ритма над левым полушарием 361 мкВ, преобладающая в *PZ-A1*, и через 1 ч 57 мкВ с преобладанием в *CZ-A1*. Индекс α -ритма с 3 % вырос за указанное время до 6 %.

Максимальная амплитуда α -ритма над правым полушарием оставалась без изменений по сравнению с фоном, т. е. отсутствовала в течение всего времени проведения опыта. Межполушарная асимметрия α -ритма после инъекции трех доз составила таким образом 100 % и не менялась вплоть до окончания наблюдений. В контроле (фон) асимметрия между левым и правым полушариями отсутствовала (отведенные потенциалы слева и справа нулевые).

2. При регистрации низкочастотного (14–20 Гц) и высокочастотного (20–35 Гц) β -ритмов их средние показатели амплитуды менялись в пределах от 5 до 7 мкВ после инъекций, в контроле (фон) составили, соответственно, 7 и 10 мкВ. Низкочастотный ритм преобладает в *PZ-AA*, *FZ-AA*, высокочастотный – в *PZ-AA*; после инъекций локализация преобладания β -ритмов изменяется.

3. Средняя амплитуда фонового показателя δ -ритма 51 мкВ (контроль); максимальная амплитуда 362 мкВ; частота от 1 до 4 Гц; доминирующая частота 0,5 Гц, δ -ритм преобладает в зонах отведения *PZ-AA*, *CZ-AA*, *FZ-AA*, по мере нарастания числа инъекций и, соответственно, полученных доз индукторов супероксида амплитуда δ -ритма менялась следующим образом.

После двух инъекций среднее значение амплитуды 26 мкВ, максимальная амплитуда 103 мкВ, доминирующая частота δ -ритма 1,3 Гц; δ -ритм преобладает в *FZ-AA*.

После трёх инъекций среднее значение амплитуды 28 мкВ, максимальная амплитуда δ -ритма 1567 мкВ, доминирующая частота δ -ритма 1,8 Гц; преобладает δ -ритм в *CZ-A1*.

Спустя три минуты после четырёх инъекций среднее значение амплитуды 1,8 мкВ, максимальная амплитуда 125 мкВ, доминирующая частота 1,0 Гц, δ -ритм преобладает в *FZ-A1*; далее по истечении 10 мин, среднее значение амплитуды 32 мкВ, максимальная амплитуда 1776 мкВ, доминирующая частота 0,8 Гц, δ -ритм преобладает в *PZ-A1*.

Через 60 мин среднее значение амплитуды 19 мкВ, максимальная амплитуда 78 мкВ (снизилась ниже фонового показателя), доминирующая частота 1,3 Гц, δ -ритм преобладает в *FZ-A1*. Локализация преобладания дельта-ритма менялась после инъекций, что проявлялось также во времени.

4. Фоновый показатель θ -ритма характеризовался 5 % индексом (контроль) и преобладал в зонах отведения *PZ-AA*, *CZ-AA*, *FZ-AA*; доминирующая частота 4,0 Гц. По мере получения доз копропорфирина самкой кролика в указанном выше порядке индекс θ -ритм мозга менялся, проследим изменения по мере нарастания введенной дозы.

Доза введенного копропорфирина 6 мг/особь, индекс θ -ритма 18 % при этом, θ ритм преобладает в *FZ-AA*.

Доза введенного копропорфирина 12 мг/особь, индекс θ -ритма 10 % при этом, θ ритм преобладает в *CZ-AA*.

Доза введенного копропорфирина 52 мг/особь (после четвертой инъекции), индекс θ -ритма 14 % при этом, θ ритм преобладает в *PZ-AA*, максимально θ -ритм усваивается при стимуляции частотой 3 Гц.

Через 3 и 10 мин после четвертой инъекции индекс θ -ритма менялся следующим образом: 10 % с преобладанием в *PZ-A1* и 13 % с преобладанием в *PZ-A1* и *CZ-A1*, и по окончании опыта через 1 ч 20 мин продолжал оставаться высоким. Стимуляция θ -ритма была отмечена на частоте 3 Гц в *PZ-A1* через 3, 10, 60 мин после четвертой (последней) инъекции в левом полушарии.

Межполушарная асимметрия отсутствовала в контроле (фон) и продолжала оставаться на нуле вплоть до получения двух первых доз (суммарная доза копропорфирина 6 мг/особь), после третьей инъекции (суммарная доза 12 мг/особь) асимметрия достигла 100 % и оставалась на этом уровне до конца

опыта. Возбужденное состояние животного, наблюдавшееся сразу вслед за фиксацией в станке, на протяжении опыта можно характеризовать как умеренное, к концу опыта возбуждение снизилось, подопытное животное было утомлено, но катастрофа не наступила.

Регистрация межполушарной асимметрии α -ритма головного мозга над левым полушарием животного в условиях опыта с введением *in it* копропорфирина закономерна, поскольку у млекопитающих общая сонная артерия находится слева, а левое полушарие снабжается артериальной кровью в большем объеме, по сравнению с правым. Особенно очевидно это у особей с преобладающим развитием правой передней конечности. Левое полушарие головного мозга человека иннервирует правую, функционально наиболее развитую, трудовую руку. Вторая сигнальная система при становлении *Homo sapiens* развивалась на базе уже адаптированного к трудовым нагрузкам рук именно левого полушария большого мозга.

Полученные во время записи ЭЭГ данные показывают связь усиления диффузионного потока супероксида кислорода из внутренней среды на серое вещество головного мозга и переноса электрона радикалами, в первую очередь супероксида из крови через ГЭБ, липопротеиновые мембраны клеток эндотелия капилляров, базальную мембрану и пресинаптическую мембрану многочисленных окончаний отростков астроглии, что сопровождается изменением электрической активности в нейроглиальном комплексе ЦНС, в данном случае по материалам ЭЭГ. Суммарная доза копропорфирина, введенная подопытному кролику, составила третью часть от патогенетической дозы, вводимой, например, мышам *DBA/2* на единицу массы тела при моделировании [54] экзофтальма (35 мг/кг) и исследовании ИК спектров крови инъекцированных мышей, по сравнению с контрольными, на Фурье-спектрометре [30], [53].

Следует напомнить, что при моделировании полимиозита у мышей в хроническом опыте наблюдался эффект поджатой правой лапки значительно чаще, чем левой. Введение активированного копропорфирина при моделировании экзофтальма в отдельных случаях приводило к острой сердечной недостаточности и ишемии миокарда, подтверждаемой ЭКГ [1]. При воспроизведении сосудистой патологии на «тяжелых» мышях *DBA/2* через 1–2,5 ч после введения индукторов супероксида у отдельных мышей с массой тела более 22 г развивался патологический процесс, который затрагивал чаще один глаз, реже оба [1], [54].

Экспериментальная часть монографии систематически выполнялась почти три десятилетия. Концентрации и дозы копропорфирина, использованные

при постановке острых опытов на животных при воспроизведении экзотальма как сосудистой патологии у «тяжелых» мышей *DBA/2* оказались подобраны более чем удачно, и связь индукторов АФК, радикалов семихинона и супероксида в хронических опытах по воспроизведению полимиозита (единовременно вводимая доза гидрохинона мышам *DBA/2* составляла 25 мг/кг) хорошо соотносились и дополняли друг друга при теоретическом осмыслении результатов моделирования двух патологий с радикальной природой патогенеза с привлечением методов математики и учетом времени жизни и превращений свободных радикалов.

Опыты проводились в разные годы на мышах линий *DBA/2* и *C57Bl*, белых крысах, кошках, нервно-мышечных препаратах, в том числе с использованием специального генератора магнитных полей [44]; на сердце лягушек, в экспериментах *in vivo* и *in vitro*, равно как исследования крови и плазмы крови мышей *in vitro* ЭПР и ИК спектроскопическими методами. Исследования продолжительности жизни клеток по результатам выживания зараженных лимфоцитарной лейкемией мышей *DBA/2*. Фото и химическая активация одноэлектронного переноса, опыты с тетрациклином, рубреном и копропорфирином. Все это показывает роль АФК в биосистеме и дополняется исследованиями методом ЯМР поверхности образцов пористых кристаллов кремния. Изучение биологического действия соли копропорфирина и выявление влияний диффузионного потока анион-радикалов кислорода из внутренней среды организма на плазмалемму клетки позволили авторам монографии обосновать значение электромагнитных, оптических и механических явлений на матрице, иными словами, реактивных осцилляций жидкокристаллической клеточной мембраны в широком диапазоне частот для осуществления внутренней сигнализации с использованием электромагнитных эквивалентов внешних и внутренних раздражителей рецепторов биосистемы.

11. АДАПТАЦИИ БИОСИСТЕМ К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ЭНЕРГИИ ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНА И ВНЕШНИХ РАЗДРАЖИТЕЛЕЙ. КРОВЬ И ГЕМОЦИРКУЛЯТОРНОЕ РУСЛО

Внутренняя среда позвоночных животных и человека, многочисленные клетки организма с фагоцитарной активностью и митохондрии генерируют анион-радикалы кислорода. Образование супероксида в органоидах клеток и тканях обеспечивают специальные белки и их комплексы, ферменты одно-электронного переноса, молекулы-переносчики атомов водорода, а также белки наружной мембраны клеток с фагоцитарной активностью и нейроны глиии мозга. К активным центрам клеточной поверхности, воспринимающим энергию неспаренного электрона радикала, следует отнести интегральные белки плазмалеммы и зависимые от изменяющейся разности потенциалов ионные каналы, в том числе на внутриклеточных мембранах и активных поверхностях нейронов (*AIS*) и перехватах Ранвье по длине аксонов.

Наряду с использованием энергии неспаренного электрона свободного радикала и квантов энергии, излучаемых люминофорами крови, клетки используют АТФ, креатинфосфат и другие химические энергоносители, например, продукты диссоциации воды ($H^+ + OH^-$). В биосистеме животных, растений, грибов и клетках прокариот постоянно используются электроны и фотоны в окислительно-восстановительных реакциях обмена веществ и энергии.

Кровь и производные жидкости внутренней среды содержат билирубин, ферменты и витамины, нейтрализующие свободные радикалы, и выполняют функцию АОС. Источником нарушения равновесия ОС и АОС, который связан с усилением ОС, в наших опытах чаще всего являлся раствор копропорфирина, активированный световыми квантами или металлом-координатором. Диффузионный поток частиц анион-радикала кислорода на поверхность клеток из жидкостей внутренней среды является фактором деполяризации, раздражения и возбуждения жидкокристаллической мембраны-матрицы. Хордовые адаптировались к радикальному фактору внутренней среды на протяжении миллионов лет. Морфофункциональные приспособления на уровне клеток и специальные модификации молекул структурных белков плазмалеммы служат адаптациями для консолидации электромагнитных эквивалентов внешних раздражителей животных и человека, позволяют использовать энергию одноэлектронного транспорта супероксидом и модулируют электрические потенциалы на матрице. Величина поляризуемости постоянно следует за изменением разности потенциалов между внешней и внутренней сторонами мембраны, что вызывает

ток смещения, который, в свою очередь, индуцирует магнитное поле. Электромагнитные явления особенно заметны в сердце и головном мозге, показатели электрокардиограммы и электроэнцефалограммы используются для диагностики заболеваний сердца и головного мозга.

Ион-радикальные повреждения нуклеиновых оснований, фиксируемые в опытах с ЭПР спектроскопией растворов ДНК при соединении их с растворами *n*-бензохинона и гидрохинона, мы расцениваем как состояния наследственного материала, предшествующие мутации и становлению множественного аллелизма в популяции. Поток супероксида, как показали наши эксперименты, выступает в качестве фактора деполяризации клеточной мембраны, участвует в механизмах раздражения, возбуждения и торможения [21], [25], регулирует ритм сокращений миокарда [21].

Иными словами, диффузионный поток свободных радикалов играет роль энергетического модулятора поляризованности клеточной липопротеиновой мембраны, является триггером [28] потенциала действия, а также потенциалов, регулирующих работу АТФ-зависимых ионных каналов клеточных мембран («ионных насосов»). Поток радикалов участвует, по-видимому, в трансформации постсинаптических потенциалов на мембране нейронов в потенциалы, генерируемые в начальном сегменте аксона и проведение ПД по нервным волокнам на большие расстояния. Электрические импульсы в дипольной сети шестислойного неокортекса ЦНС сопровождаются индукцией магнитного поля.

Влияние диффузионного потока супероксида кислорода в качестве фактора внутренней среды и источника квантованной энергии, выявленное и показанное в наших опытах, позволяет по-новому оценить морфологические особенности строения сердца и большого мозга, расположения клеток нейроглиального комплекса относительно друг друга и относительно гемокapилляров. Адаптации к потоку свободных радикалов можно увидеть при микроскопическом изучении эндотелия и базальной мембраны всей совокупности гемокapилляров мозга, гистологическом исследовании особенностей строения и пространственного расположения клеток коры больших полушарий относительно капилляров и астроцитов глии, волокон кардиомиоцитов и проводящей системы сердца.

Автоматия сердца хорошо известное явление, ему предшествует диастолическая деполяризация. Земноводные, рептилии могут быть объектами для экспериментального изучения этого явления: извлеченное сердце лягушки или черепахи, помещенное в физраствор на часовое стекло, долго продолжает

биться. Опыты, проведённые на сердце и седалищном нерве нервно-мышечного препарата лягушки с использованием аппликаций и прямого введения в правое предсердие активированного металлом-координатором копропорфина, позволяют моделировать естественные механизмы нейрогуморальной регуляции в организме [21], [25]. Эксперименты убедительно показывают энергетическую роль переноса электрона анион-радикалами кислорода и участие электромагнитного поля в раздражении липопротеиновой мембраны клеток и волокон *in vivo*.

Морфофункциональные преобразования органов при историческом становлении классов современных позвоночных животных сопровождались увеличением площади физиологически активной поверхности большого мозга, легких, кишечника, ушек (аурикул) сердца, дренажных извитых трубочек и капилляров почек, максимально развитых и протяженных у млекопитающих животных и человека [28]. Увеличение клеточной массы и специализация привели в целом к усилению функционирования головного мозга, других органов позвоночных, морфологическим и топическим адаптациям тканевых клеток к условиям внутренней среды, повышению уровня обмена веществ и энергии в прогрессивно развивавшихся группах животных. Прослеживается закономерное повышение морфофункциональной организации представителей классов типа *Chordata* от ланцетников до хрящевых и костистых рыб, земноводных, рептилий, птиц и млекопитающих [89], [90], [91], [92].

Появление, дифференциация и взаимные адаптации органов разных систем хордовых животных теснейшим образом связаны с изменениями условий внешней и внутренней среды. Процессы становления внутренней среды и поиск протетической группы крови на основе ферропротопорфина (гема) у хордовых животных сопровождались выработкой различных приспособлений к потоку анион-радикалов кислорода из внутренней среды на клеточные поверхности и совершенствованием органов кровеносной, нервной, других систем, повышением морфофункционального уровня групп позвоночных. Эволюция хордовых животных сопровождалась сменой сред обитания и ароморфозами, появлением многочисленных классов типа хордовых [89] на основе общего плана строения тела и увеличения площади и контактов липопротеиновых мембран клеток организма с жидкостями внутренней среды и между собой. Число типов клеток у многоклеточных организмов в ряду видов от ланцетников до млекопитающих многократно возросло.

Кровь (гемолимфа) видов моллюсков и членистоногих животных содержит гемоцианины, пигменты, содержащие медь (Cu^+), которые способны связывать и переносить кислород. Восстановленная форма этих металлопротеинов бесцветна, а окисленная (оксигемоцианин) имеет синий цвет. Хорошо известные личинки двукрылых насекомых мух-звонцов («мотыли») вырабатывают красный пигмент, способный удерживать кислород, но супероксид в тканях мотылей с помощью ЭПР спектроскопии нами не был зарегистрирован. У многих видов многощетинковых и малощетинковых (дождевых) кольчатых червей, а также у моллюсков в крови содержатся гемоглобины, имеющие очень высокую (от 400 кД до 6700 кД) молекулярную массу. В крови кольчатых червей присутствуют зеленые пигменты хлорокруорины с молекулярной массой ~3400 кД. Эти пигменты весьма отличаются от протопорфирина [5].

Гемоцианины [93], [94], переносчики кислорода у беспозвоночных, характеризуются общим генезисом происхождения, обусловленного родством таксономических групп внутри единого типа животных. Гемоцианин древних онихофор, животных, не имеющих наружного скелета и вышедших на сушу около 540 млн лет тому назад, подробно исследован [95]. По мнению авторов этой работы, пигмент крови онихофор отделился от общей эволюционной ветви членистоногих раньше, чем началась дивергенция внутри единого типа членистоногих, животных с наружным скелетом и первоначально водных, т. е. жабродышащих.

Молекулярная масса циркулирующих белков-переносчиков кислорода, содержащих железо, выражается относительно малой величиной и колеблется от 17,5 до 120 кД. Так, в гемолимфе морских червей и многощетинковых червей содержится белок гемэретрин (105 кД), в составе молекулы которого шестнадцать атомов двухвалентного железа (Fe^{2+}). Белок гемэретрин, изучение которого, проводили с помощью ЭПР спектроскопии [11], связывает одну молекулу кислорода на два атома железа кооперативно, по принципу механизма переноса кислорода медьсодержащим гемоцианином моллюсков и членистоногих [95].

Организм насекомых содержит резервный питательный белок, утративший атомы меди и способность связывать кислород [95]. Гемоцианин, как исключение из правила, найден у представителя очень древней группы насекомых, веснянок, известных по пермским отложениям как веснянки *Perla marginata*. Субъединица переносчика кислорода [96] веснянок содержит два центра связывания кислорода и, соответственно, четыре атома меди.

Гем крови млекопитающих связывает одну молекулу кислорода. Глобин взрослого человека образован двумя α - и двумя β -цепями, которые у *Homo sapiens* кодируются генами, расположенными в разных хромосомах. Выбор металла в составе простетической группы крови (у низших хордовых, ванадия, у позвоночных животных и человека, железа) оказался неравнозначным. В результате эволюция внутренней среды позвоночных животных осуществлялась на основе гема, способного генерировать супероксид на уровне физиологически выверенной концентрации, и сопровождалась поиском оптимального режима функционирования простетической группы крови совместно с белковыми апоферментами, определенными сочетаниями полипептидных цепей α , β , γ , и ζ -глобинов в разные периоды онтогенеза и, соответственно, условий парциального давления кислорода в утробе матери и после рождения. Адаптации гемоглобина крови в периоды индивидуального развития человека происходят в различающихся условиях кислородного окружения. У плода дыхание осуществляется через плаценту, после рождения кислород поступает в легкие ребенка из атмосферы, содержащей 21 % O_2 .

Уместно напомнить, что биосинтез гема [5] и хлорофилла растений происходит по общему пути до протопорфирина IX, но в зеленых растениях в центр тетрапиррольного кольца порфирина встраивается Mg^{2+} и образуется магний-протопорфирин, превращающийся в хлоропластах в хлорофилл листьев. Что касается внедрения в кольцо протопорфирина IX железа (Fe^{2+}) и образования гема, то у млекопитающих этот процесс катализируется специальным ферментом феррохелатазой. Гемоглобин считают наиболее распространенным и древним белково-пигментным комплексом для осуществления дыхания одноклеточных, беспозвоночных и позвоночных животных [97], который локализуется у них в различных клетках и жидкостях тела. Гемоглобин в двояковогнутых дисковидных эритроцитах эффективнее переносит кислород, чем кровь с диффузно рассеянными пигментами-переносчиками кислорода. Наличие заряда на поверхности мембран, их полупроницаемость, возможность избирательного транспорта тех или иных частиц и веществ через клеточную оболочку, важнейшие свойства жидкокристаллической липопротеиновой мембраны, к числу которых следует отнести способность к деполяризации под влиянием диффузионного потока супероксида.

Принципиальным отличием гемоцианинов беспозвоночных животных от гемоглобина является отсутствие у переносчика кислорода простетической

группы [94], когда атомы металла (Cu^+) активного центра связывания кислорода непосредственно соединяются с полипептидом через остатки аминокислоты гистидин. Подчеркнем, что гемоцианин не содержит порфиринового кольца, у этого переносчика кислорода нет простетической группы. Общий вид транспортера кислорода у моллюсков по форме напоминает полый цилиндр [98], декамер или дидекамер, которые часто соединяются в более крупные металлопротеидные комплексы.

Эволюция внутренней среды, особенно молекул-переносчиков кислорода, представляет интерес не только для систематики беспозвоночных животных. Адапциогенез (эволюция) крови в прямом и фигуральном смысле красной линией проходит в стволе хордовых, позвоночных животных и человека. Диффузионный поток анион-радикалов кислорода из крови следует рассматривать как фактор развития беспозвоночных и позвоночных животных.

Белки-носители кислорода во внутренней среде, особенно гемоглобин, изучены намного глубже, чем структурные белки плазмалеммы. Адсорбционная поверхность полярных интегральных молекул белков плазмалеммы имеет гидро- и ионофильный характер, что же касается изменений третичной структуры (пространственной конформации) белковых молекул активных центров и возникновения в молекулах внутренних наноразмерных каналов и пор, об этом в настоящее время можно только рассуждать.

На связывание кислорода белковыми носителями типа гемоцианина, содержащего Cu^+ , существенное влияние оказывает концентрация ионов и рН крови. Установлено, что изменение температуры тела у членистоногих ведет к изменению рН внутренней среды организма [99], [100]. Модулируя величину рН гемолимфы и оказывая таким образом влияние на кооперативные свойства транспортера кислорода, членистоногие (раки) регулируют и адаптируют способность гемоцианина к переносу кислорода в зависимости от температуры окружающей среды.

Пауки и скорпионы могут катализировать синтез меланина с помощью гемоцианина, обладающего тирозиназной активностью [101]. Дивергенция медьсодержащих переносчиков кислорода и фермента тирозиназы произошла, как считают, около 700 миллионов лет тому назад, и хелицеровые членистоногие при использовании модифицированного гемоцианина осуществляют конденсацию фенолов в меланин. Нерастворимые в воде черные и темно-коричневые пигменты служат как эффективная ловушка для свободных радикалов и радиотоксинов [4], [23].

У некоторых паукообразных имеются две формы гемоцианина: одна участвует в транспорте кислорода, а другая катализирует окисление тирозина [5], метаболического предшественника темных пигментов и катехоламинов, в том числе адреналина. Меланин содержится в перьях, волосах, коже и в глазах за сетчаткой. Меланин образуется у членистоногих, например, у жуков [4], некоторых морских беспозвоночных, а также у растений. Периодические линьки у млекопитающих, сбрасывание покровов тела при метаморфозе насекомыми представляют собой защитные механизмы от радиотоксинов и радикалов, продуктов, возникающих *in vivo* в результате γ -облучения живых объектов.

Классы позвоночных [90] эволюционировали от предковых форм бесчерепных животных по восходящей линии, их уровень морфофункциональной организации повышался [89]. Дивергенция древних млекопитающих от зверозубых пресмыкающихся в палеозойскую эру и птиц от крылатых рептилий мезозоя произошла по оценкам палеонтологов с интервалом, оцениваемым приблизительно в 80 миллионов лет. Птицы [89], [91] – самый молодой класс среди позвоночных животных, появились на Земле в юрском периоде около 150 миллионов лет тому назад, о чем свидетельствуют хорошо сохранившиеся окаменевшие отпечатки переходной формы между пресмыкающимися и птицами, археоптерикса. Палеонтология, эмбриология и сравнительная анатомия создали обширную доказательную базу эволюции животного и растительного мира Земли. В XX в. эти доказательства очень существенно дополнила генетика.

В морях в настоящее время обитают около десятка видов бесчерепных и ланцетников. О ланцетнике впервые сообщил Паллас, приняв это животное за моллюска, почему и назвал его «ланцетовидным слизнем», однако, после изучения внутреннего строения животного, выяснили, что оно принадлежит к типу хордовых. Ветвящиеся капилляры у ланцетника имеются только в печеночном выросте кишки, тогда как в перегородках стенки глотки, между многочисленными щелями примитивных жабр ветвления кровеносных сосудов не происходит. Число жаберных волосовидных сосудов может достигать 100–150 пар. В крови, циркулирующей у ланцетников по замкнутому кругу благодаря сокращениям участка брюшной аорты, образуется оксигемоглобин. Генетических предпосылок ветвления сосудов в жабрах у ланцетников нет, они появились позже, у кембрийских бесчелюстных круглоротых и древних рыб силура, число жабр при этом сократилось. Образование капилляров и разрастание их сети в тканях и органах у рыб представляет собой важное направление развития кровеносной системы и максимально проявляется у

млекопитающих животных и человека. У хрящевых и костистых рыб число пар жаберных щелей по сравнению с ланцетниками резко снизилось, а сами органы дыхания дифференцировались и численно сократились.

Гипоксия и сопутствующее этому состоянию повышение концентрации в тканях и внутренней среде супероксида, триггера ангиогенеза, стимулирует образование и ветвление капилляров [102]. Через кровь и производные от нее жидкости осуществляется гуморальная регуляция функций и происходит иммунный надзор, выявление объектов с признаками генетической чужеродности, последующий фагоцитоз и выработка антител, иммуноглобулинов. Одновременно с этим нарушение баланса ОС и АОС в отдельных тканях может явиться причиной перерождения клеток в результате мутаций и возникновения злокачественных неоплазм в результате локального повышения концентрации АФК во внутренней среде и их влияния на генетический материал той или иной ткани. Хинон и гидрохинон при определенных условиях продуцируют супероксид и могут вызывать ион-радикальные состояния оснований ДНК, начальные этапы повреждения генетического материала.

С увеличением возраста и старением человека кровь меняет вязкость, просвет сосудов уменьшается за счет бляшек холестерина, а в капиллярах, сеть которых пронизывает почти все ткани, образуются тромбы; нарастают предпосылки ишемии органов, в том числе сердца и мозга. Как у широко используемой модели теплокровного всеядного организма млекопитающего с большим набором ферментов (домашней свиньи), сердце *Homo sapiens* 6-камерное [21], [43], [87]. Его сокращающиеся камеры: парные аурикулы (ушки), предсердия и желудочки. Миокард, по сравнению со скелетной мышцей, характеризуется наличием большого числа митохондрий, густой сети гемокapилляров, а также коллагеновых волокон. Сердечная мышца, также как скелетная, имеет поперечнополосатое строение, но более упругая и вязкая. Способность сердца ритмически сокращаться под влиянием импульсов, возникающих в нем самом, давно известна как «автоматия сердца» [43], [85].

Длительность потенциала действия и одиночного сокращения сердечной мышцы уравнивает ее по указанным характеристикам с гладкой мышцей. Гладкие мышцы, в отличие от скелетных мышц, сокращаются произвольно, автоматически, и обладают свойством пластичности, т. е. способностью сохранять измененную форму. Указанные свойства [85] и высокая чувствительность к воздействию гормонов и медиаторов обеспечивают высокую надежность и адекватность работы гладких мышц при изменении условий внутренней и

внешней среды. Автоматизм висцеральных (гладких) мышц органов является основой ритмических сокращений желудка, кишечника, протоков желез. Скорость волны сокращения различается, например, в гладких мышцах матки 10–20 см/с, в мочеточниках до 1 м/с. Средняя скорость распространения волны сокращения в скелетной мышце существенно выше: 4–5 м/с [7].

Скелетная мышца при определенных условиях опыта не реагирует на дополнительный раздражитель, регистрируется так называемый рефрактерный период, что препятствует возникновению тетануса, это также адаптация сокращающейся мышцы, обеспечивающей создание условий для кратковременного расслабления [85] и отдыха. Так называемый «зубчатый тетанус» (в отличие от гладкого) проявляется в длительном сокращении с неполным расслаблением мышцы перед очередным стимулом и может поддерживать работу органа при гипоксии и развивающемся оксидативном стрессе.

Очередной цикл электромагнитных событий под влиянием диффузионного потока активных частиц свободных радикалов из крови [21] на внутреннюю поверхность аурикул сердца и сокращение органа (систола) обусловлен фактором диастолической деполяризации [43], [85], [87]. Иными словами, деполяризации под влиянием потока отрицательно заряженных частиц супероксида и переноса неспаренного электрона через дипольную сеть жидкокристаллической матрицы миокарда [21], что, по-видимому, и оставляет на ней след, влияющий на последующие сокращения, подготавливающий миокард к восприятию энергии электрона при наступлении очередной диастолы.

В норме у человека около 0,5 % гемоглобина от общего его количества ежедневно превращается в гемоглобин М, продукт окислительной активности радикала NO^{\bullet} , который играет роль медиатора. Кровь и её производные жидкости генерируют и переносят активные частицы свободных радикалов, концентрация которых регулируется биосистемой. Главный метаболит гема (билирубин) определяет антиоксидантную функцию плазмы крови. Растворение билирубина в водной фазе плазмы как результат ферментативной глюкуронизации и фильтрация жидкости в клубочке многочисленных капилляров нефронов почек с последующим выведением с мочой представляют собой важнейший этап завершения основного пути распада гемоглобина. Второй путь распада через метгемоглобин с образованием супероксида является главным в получении энергии, которую организм активно использует для обеспечения автоматической работы внутренних органов и устной речевой коммуникации людей при участии мускулатуры и, разумеется, клеток сенсорных и управляющих зон нейроглиальной системы мозга.

Сатурация венозной крови кислородом и пропорции фракций оксигенированного гемоглобина и метгемоглобина имеют у людей индивидуальный характер. Так, у 79 % наблюдавшихся нами молодых мужчин-добровольцев ($n = 24$) изменения двух показателей сатурации на протяжении суток (утром и вечером) были связаны между собой обратной зависимостью. В меньшей части выборки связь прямая, а у двух из обследованных волонтеров количественные показатели фракции метгемоглобина в венозной крови утром и вечером не менялись, оставаясь у одного волонтера на нормальном (0,3 %), у другого на более высоком уровне – 1,6 %. Показатель кислородсодержащей фракции у последнего из двух волонтеров (25 %) был значительно ниже среднего значения этого показателя в группе и соответствовал состоянию гипоксии.

Нормальная концентрация гемоглобина М в венозной крови человека 0,2–0,6 % от общего количества гемоглобина (14 – 16 г/100 мл крови), а при заболевании метгемоглобинемией >1 %. В основе определения фракций венозной крови, содержащих кислород и гемоглобин М, положен метод газовой хроматографии. Интенсивность потока активных частиц радикалов кислорода косвенно можно оценить по содержанию в крови метгемоглобина и кислорода, а изменения количественного соотношения указанных двух фракций характеризуют вариации концентрации супероксида в потоке из внутренней среды на поверхность клеток конкретного человека. Нормальный уровень сатурации венозной крови кислородом приблизительно 75 %. Гипоксия способствует повышению концентрации супероксида в жидкостях организма, что со временем может вызвать оксидативный стресс и при генетической предрасположенности привести к заболеваниям со свободно-радикальной природой патогенеза, в том числе нейропатиям.

В целом, рассмотрение количественных показателей содержания метгемоглобина и кислорода в крови показывает их широкую вариабельность, распределенную близко к кривой Гаусса, что указывает на большие адаптационные возможности организма к условиям среды и модуляции концентрации супероксида в потоке заряженных частиц на дипольную сеть жидкокристаллической матрицы клеток биосистемы.

Моделью ОС крови, как уже отмечалось, в наших опытах служили водные растворы тетракалиевой соли копропорфирина, активированные световыми квантами и металлом-координатором Fe^{3+} [1], [13], [21], [22], [23], [25]. Воспроизводимая таким образом экспериментальная супероксид-генерирующая система способна создавать достаточно интенсивный поток активных

частиц анион-радикала кислорода, который является фактором деполяризации и раздражения клеточной мембраны.

Во внутренней среде организма, если на некоторое время (около 2 ч) регулярно в течение нескольких дней нарушен баланс ОС и АОС, супероксид-генерирующий раствор может иметь патогенетическое значение, вызывая снижение продолжительности жизни и гибель эукариотических клеток [26], а также повреждение тканей в зоне микроциркуляции при моделировании полимиозита (хроническое заболевание). У мышей линии *DBA/2* воспроизводилась также модель гемозависимого экзофтальма, частичная модель инсульта. Дислокация разрыва стенки сосуда в головном мозге и образование гематомы происходит за глазным яблоком, что приводит к манифестации внутреннего повреждения сосуда, яблоко заметно выпячивается наружу. Таким образом, после активации копропорфирина раствором соли Fe^{3+} при инъекции и дополнительной фотоактивации сенсibiliзатора в капиллярах сосудистой оболочки глаз, резко увеличившийся поток АФК и реакции перекисного окисления липидов вызывают перфорацию сосудов (их стенка «прогорает»). Происходит кровоизлияние и формируется весьма объемная гематома за глазным яблоком, глаз выпячивается (экзофтальм).

В структуру миокарда млекопитающих животных и человека входят парные ушки предсердий, внутренние стенки камер которых имеют складки (трабекулы), увеличивающие площадь поверхности соприкосновения с кровью, задерживающейся здесь во время диастолы. Наличие морфологических адаптаций (складок) указывает на приспособленность ушек предсердий к потоку супероксида из крови, а их топография [87] совпадает с расположением синусно-предсердного узла (водителя ритма), одного из компонент проводящей системы миокарда. Система реагирует на деполяризацию мембран кардиомиоцитов и «атипических» *P*-клеток водителя ритма, что и обеспечивает автоматию сердца [21], [43]. Диастолическая деполяризация миокарда происходит под влиянием фактора внутренней среды, переноса электрона радикалами кислорода, через наружные мембраны волокон перекачивающего кровь самовозбуждающегося сердца.

Диффузионный поток АФК из крови влияет на потенциал клеточной поверхности и вызывает реакцию эффектора, липопротеиновой мембраны, поэтому мы называем супероксид первичным триггером автоматических процессов *in vivo*: в сердце, в головном мозге, мышцах и других органах биосистемы.

Выявленная нами роль [13], [21], [25], [28] анион-радикалов кислорода в деполяризации клеточной мембраны позволяет рассмотреть особенности строения клеток и волокон, пространственное положение аурикул сердца и нейронов коры больших полушарий мозга относительно приносящих кровь сосудов и капилляров с учетом возникновения электромагнитного поля и электрических потенциалов действия в активных центрах мембран.

Морфофункциональные особенности организма, мембран клеток и оргanelл являются результатом эволюции, адаптациями к диффузионному потоку активных частиц кислорода на жидкокристаллическую матрицу, суммарную внутреннюю поверхность биосистемы и её взаимодействие с заряженными частицами (катионами, протонами, свободными радикалами и анионами). Интенсивность потока АФК из внутренней среды в разных тканях и органах различается и находится в согласии с потреблением кислорода. Адаптации к дифференциальному распределению веществ и заряженных частиц наиболее заметны на уровне приносящих капилляров микроциркуляторного русла в тканях. Так, например, наличие фенестр в гематоэнцефалическом барьере мозга отмечено только в гипоталамо-гипофизарной области, где базальная мембрана имеет перикапиллярные пространства [84].

Использование энергии неспаренного электрона при переносе его свободным радикалом через мембрану обусловлено адаптациями, которые происходят на уровне третичной структуры интегральных белков липопротеиновой мембраны и обеспечивают полярное строение их молекул. Полярные молекулы белков плазмалеммы способны формировать центры адсорбции Na^+ и K^+ и возникающие вокруг них аквакомплексы, физическую основу дипольной сети жидкокристаллической матрицы организма.

Морфологические особенности строения капилляров являют собой морфофункциональные адаптации конечного звена кровеносной системы в разных тканях и органах позвоночных животных и человека. Диаметр капилляров, длина и их количество в тканях находятся в тесной зависимости от функции. В тканях со сниженным уровнем метаболизма (дентине зубов, роговице глаз) капилляры не найдены. Адаптации кровеносной системы становятся понятнее в связи с выявленной нами ролью диффузионного потока супероксида в качестве фактора деполяризации клеточной мембраны, её раздражения и возбуждения. Поток анион-радикалов кислорода из крови выполняет функцию модулятора потенциала покоя клеточных мембран и пускового механизма потенциала действия.

Сосуды микроциркуляторного русла подразделяются на три типа [84].

Первый тип, соматический, наиболее распространен. Капилляры при этом имеют непрерывную эндотелиальную выстилку и подстилающую её непрерывную базальную мембрану.

Второй тип – капилляры с округлыми микроскопическими порами (так называемыми «фенестрами»), расположенными по периферии уплощенных участков эндотелиоцитов. Ядро и основная масса цитоплазмы такой клетки находятся ближе к ее центру. Фенестры представляют собой многочисленные оконца из мембраны двух сближенных противоположных поверхностей уплощенной клетки эндотелия, плазмалеммы эндотелиоцита, в центральной части которого фенестр нет.

Третий тип – капилляры со щелевидными сквозными отверстиями в эндотелии и базальной мембране.

Проницаемость стенок каждого из трех типов капилляров для плазмы крови и содержащихся в ней продуктах различается, что обусловлено наличием указанных морфологических адаптаций в строении стенки капилляров и липопротеиновой мембраны эндотелиоцитов, генетически обусловленной и закономерно развивающейся в онтогенезе. Строение стенки капилляров того или иного типа в том или ином органе или ткани соответствует выполнению функций гуморальной регуляции, питания, снабжения кислородом и его АФК, энергией неспаренного электрона свободных радикалов, а также особенностями процессов жизнедеятельности, например, ткани мозга, в которой происходит фосфоглюконатное окисление глюкозы.

Стенка соматического капилляра имеет три тонких слоя. Внутренний состоит из вытянутых клеток эндотелия длиной 75–175 мкм, толщиной от 0,2 до 2 мкм на периферии и 3–5 мкм в области расположения ядра, в центре эндотелиоцита [84]. Средний слой является производной структурой эндотелия и представляет собой пористую фибриллярную базальную мембрану, в ее состав входят нитчатые молекулы белков, протеогликанов и перициты, проницаемая структура для электромагнитных волн.

Между эндотелиальными клетками и перицитами находится формирующая третий слой соединительная ткань. Базальная мембрана в отдельных участках истончается, образуя между клетками специальные контакты. На перицитах капилляров найдены эфферентные нервные окончания. Перициты гематоэнцефалического барьера, являясь аналогами волокон гладких мышц, обеспечивают сократительную функцию просвета кровеносных сосудов и

поддерживают тонус фибриллярной базальной мембраны, толщина которой от 30 до 35 нм [84].

Внутренняя поверхность эндотелиоцитов капилляра может увеличивать свою площадь за счёт образования выростов цитоплазмы, микроворсинок. Эндотелий обладает сосудообразующей функцией [102], может продуцировать оксид азота NO^\bullet [104], выполняющий важную роль в передаче нервного импульса и, что очень важно, регуляции кровяного давления. Радикал NO^\bullet является антагонистом отрицательно заряженного супероксида и расширяет сосуды ($\text{O}_2^{\bullet-}$ сужает их). Через эндотелиоциты капилляров и заполненное жидкостью межклеточное пространство происходит регулируемый в обоих направлениях обмен веществ между тканями и кровью, на мембранах происходят энергоёмкие события, механические и электромагнитные явления, осцилляции, связанные с переносом электрона свободными радикалами и движением ионов. Неповрежденный ГЭБ ограничивает диффузию в ткань мозга веществ, размер молекул которых приблизительно в два раза может превышать диаметр эритроцита (7–8 мкм).

Капилляры ЦНС млекопитающих имеют в норме непрерывный слой эндотелия на непрерывной базальной мембране ГЭБ [16], [84]. Здесь происходит значительное ослабление потока активных частиц супероксида из крови на нервные клетки, особенно на крупные нейроны, которые изолированы от сосудистой стенки отростками клеток астроглии, нейронов со звездчатой формой тела и увеличенной площадью поверхности наружной ветвящейся пресинаптической мембраны отростков.

В эндотелии капилляров почек и тонкого кишечника имеются многочисленные фенестры, мельчайшие поры диаметром от 50 до 100 нм на периферии клеток. В кровеносных капиллярах селезенки, печени, костного мозга плоские клетки эндотелия и базальная мембрана насквозь пронизаны щелевидными порами [84], именно поэтому такие участки эндотелия внутридольковых капилляров печени называют ситовидными. Сети ветвящихся капилляров располагаются под эпителием слизистой оболочки, вокруг желез, внутри сосочков языка, в мышечных слоях пищеварительной системы и желудочных ямочках.

В эндотелии капилляров ворсинок кишечника с помощью электронной микроскопии показано наличие пор, облегчающих доступ жидкости, и, соответственно, супероксида к натриевым и другим потенциалзависимым каналам и порам мембран клеток, где происходят фильтрация и всасывание. Строение

стенки гемокapилляров обеспечивает регулируемый диффузионный поток активных частиц супероксида из жидкой субстанции организма на поверхность клеток различных тканей, а наличие морфологических особенностей капилляров трех типов указывает на адаптационный характер особенностей клеточных поверхностей разных тканей в связи с требованиями к потоку частиц из жидкой внутренней среды.

Электромагнитные и механические процессы на мембранах можно рассматривать с точки зрения антиоксидантных явлений клеточной самозащиты. Энергоемкие колебания адсорбированных ионов и генерация электромагнитных полей используют энергию переноса электрона радикалами и защищают билипидный слой мембраны от разрушающего воздействия ОС крови, диффузионного потока отрицательно заряженных частиц радикалов из внутренней среды. Связь потоков частиц из жидкостей в сосудах и тканях происходит через эндотелий сосудов, периваскулярное и межклеточное пространство, где жидкость течет вдоль волокнистых структур базальных мембран и по окружности капилляров. С током крови и других гемсодержащих жидкостей происходит транспорт генерируемых радикалов по сосудам и межклеточным пространствам биосистемы. Эндотелий [84] активно участвует в обмене веществ и совместно с жидкостями внутренней среды осуществляет регуляцию, на что и указывают морфологические особенности капилляров. Обращает на себя внимание иннервация перicyтов, бляшек окончаний эфферентных нервных отростков.

Стенка капилляра выполняет барьерную функцию, ограничивает, а точнее сказать, регулирует поступление жидкости и присутствующих в ней ионов, свободных радикалов и молекул к тканям. Количество жидкости и частиц супероксида, поступающих к клеткам разных тканей и органов различается, что особенно заметно на гистологических препаратах при изучении развития хронической патологии со свободно-радикальной природой патогенеза. Так, при моделировании полимиозита на гистологических препаратах срезов двигательных мышц и сердца отмечались изменения, связанные с отеками и кровоизлияниями. В клеточной мембране появлялись микроперфорации [23], в тканях диапедезные кровоизлияния. Наблюдаемые явления мы трактуем как результат повреждений фосфолипидов мембраны, наиболее многочисленных по числу структурных молекул клеточной оболочки, которые окисляются и «прогорают» в результате перекисного окисления. Картина на препаратах скелетных мышц контрольных животных не содержала патологических изменений, равно как у отдельных устойчивых к воздействию атак свободных

радикалов подопытных мышей *DBA/2* после получения 54–56 доз индукторов супероксида. Последнее, как мы отмечали выше, вызывало удивление, поскольку гистологическая картина на препаратах мышц отдельных животных, состарившихся к концу опыта, была нормальная [28], как в контроле.

Гипоксия обуславливает появление свободных радикалов кислорода в тканях, является стимулом ветвления сосудов в тканях после ранения совместно с ионами кальция, которые способствуют делению клеток и заживлению раны. Ядерный генетический аппарат клетки отвечает за синтез РНК и белков, необходимых для деления и роста эндотелия, за развитие коллатерального кровообращения при ишемии [102].

Автоматия миокарда, нейронов и гладких мышечных волокон, иными словами, проявление воздействия диффузионного потока супероксида на клеточную поверхность из внутренней среды, приводящее к деполяризации активных центров мембраны, позволяет назвать супероксид первичным пусковым механизмом (триггером) потенциала действия в эмбриональном и постэмбриональном периодах онтогенеза. У зародыша человека на 18-е сутки онтогенеза начинается образование первого кроветворного органа – желточного мешка. На 20-е сутки развития эмбриона, когда мышечная ткань едва различима, начинает пульсировать зачаток сердца, две симметричные пластинки, которые позже объединяются и образуют трубочку [87]. Благодаря нарастающему влиянию потока супероксида сосуд быстро растет в длину и образует S-образную петлю, затем ее часть делится на две первичные аорты и заднюю предсердную, в которую впадают желточно-брыжеечные вены. На этой стадии сердце является однополостным, деление на правую и левую половины начинается позже с образования перегородки предсердий. Деление и специализация эмбриональных клеток приводят к появлению кардиомиоцитов и *P*-клеток проводящей системы сердца. В дифференцированном миокарде млекопитающих животных и человека водитель ритма располагается [43], [87] рядом с полым отростком правого предсердия (правым ушком, *auricular dextra*), адаптированным с помощью вертикальных складок трабекул внутренней поверхности к восприятию потока супероксида из притекающей крови во время диастолы.

Функция кровообращения у зверей и птиц интенсифицирована за счет полного разделения венозного и артериального потоков крови в сердце. В норме у животных с постоянной температурой тела сохраняется только одна дуга аорты, правая у птиц и левая – у млекопитающих животных и человека. В желудочке сердца с неполной перегородкой у большинства видов рептилий,

ящериц, черепах, змей (у крокодилов полная перегородка) артериальная и венозная кровь разобщены не полностью. Поэтому, в связи с морфологическими особенностями строения сердца и сохранением двух дуг аорты, у пресмыкающихся артериальной кровью снабжается только голова и передние конечности, а большинство органов – смешанной кровью с пониженным содержанием кислорода и его активных форм. Полное разделение артериального и венозного потоков крови на уровне сердца произошло, как считают, у вымерших зверозубых рептилий пермского периода палеозойской эры, предков древних млекопитающих. Совершенствование кровообращения и усиление обмена веществ вместе с другими признаками зверозубых рептилий и млекопитающих явилось основой для становления постоянной температуры тела и стабилизации диффузионного потока АФК, факторов внутренней среды, к которым адаптировались виды позвоночных, в том числе на уровне липопротеиновых мембран клеток.

Энергетическое обеспечение работы мышц и нервных клеток осуществляется на основе распада глюкозы и АТФ, происходит с использованием диффузионного потока анион-радикалов кислорода из крови, источника энергии переноса электрона и энергии электромагнитных полей, распространяющихся в объёмной дипольной сети организма с развитой ЦНС. Митохондрии отсутствуют в эритроцитах, которые вырабатывают АТФ за счет гликолиза. Особенности обмена веществ и энергии в крови и нейронах ранее рассмотрены, и нам остается здесь добавить, что митохондрий нет в сегментах аксонов, имеются только в окончаниях аксонов, телах нейронов и дендритах. Структура митохондрий адаптирована к условиям биосистемы и представляет собой весьма продуктивный и экономичный генератор АТФ, в котором электрические токи электронов и протонов на кристах взаимно перпендикулярны, и магнитный вектор органоида равен нулю. Автоматия сердца была бы вряд ли возможна, не будь сердце, как интенсивно работающий мышечный орган, богат самыми мощными митохондриями, в частности, кардиолипин для диагностических целей получают из тканей сердца быков.

Примечательной особенностью организма высших хордовых и человека к поддержанию баланса ОС и АОС является способность отдельных органов (кожи, глаз, эпифиза) поддерживать концентрацию АФК во внутренней среде поглощением световых квантов внешнего облучения (весенний солнечный свет влияет положительно на все живое) и его электромагнитных квантовых эквивалентов. Функция так называемого «теменного глаза» реликтовой ящерицы гаттерии, древние предки которой известны с раннего триаса и некоторых

других видов ящериц [90], [91], адекватна названным выше органам. Ящерицы, типично наземные, распространенные в пустынях животные, поведение которых и морфофизиологические адаптации организма направлены на использование энергии внешнего электромагнитного излучения в широком диапазоне длин волн, в том числе инфракрасного и видимого спектра. На верхней стороне головы гаттерии позади глаз под кожей находится пузыревидный орган, имеющий слой светочувствительных клеток и линзу, похожую на хрусталик. Примитивный теменной глаз у рыбообразных миног еще проще, линза в их теменном органе отсутствует.

Уровень морфофункциональной организации бесчелюстных круглоротых, среди которых наиболее известны миноги, много ниже по сравнению с хрящевыми и костистыми рыбами. Снижение уровня организации круглоротых усиливается их паразитическим образом жизни и возникшими, например, у миног упрощениями пищеварительной системы. У круглоротых, питающихся соками рыб, нет челюстей, а в желудке не образуется желчь. Паразиты обвивают рыб-хозяев своим телом и присасываются беззубым ртом для питания.

Класс круглоротых имеет еще одну особенность внутреннего строения и связанную с ней морфологическую адаптацию: движение крови у миксин происходит не только по сосудам, но и по объемистым пространствам без собственных стенок между органами. Затрудненное в связи с этим движение жидкостей внутренней среды у миксин обеспечивается работой нескольких органов с компрессионной функцией. Наряду с сердцем, прогоняющим кровь через жабры, имеются еще три мышечных компрессора, обеспечивающие движение крови, дополнительные сердца расположены в области головы, печени и хвостовой части тела.

Сходная анатомическая адаптация (несколько внутренних органов с компрессионной функцией) у животных с незамкнутой кровеносной системой появилась у представителей типа мягкотелых (*Mollusca*). Сердца этих древнейших животных могут быть двух- и трехкамерными. Конвергентное сходство [89] представителей генетически отдаленных друг от друга групп, в нашем примере представителей типов хордовых и моллюсков, обусловлено адаптациями к одинаковым условиям среды, в том числе внутренней. Особенности полости тела и различные способы образования третьего листка у зародыша не помешали отнюдь не родственным видам животных выработать сходные анатомические особенности на основе разных генов, но под влиянием сходных условий.

Головоногие моллюски (осьминоги, кальмары и каракатицы) обладают весьма развитой в морфофункциональном отношении нервной системой и сложным поведением на основе безусловных и условных рефлексов. Их кровеносная система почти что замкнутая, артерии во многих органах, например, в коже через мелкие сосуды и капилляры переходят в вены. Предки головоногих моллюсков, наутилусы, обитают на юго-западе Тихого океана и составляют подкласс четырехжаберных головоногих моллюсков. Соответственно числу жабр у наутилусов имеются четыре жаберных сердца. Головоногих моллюсков по числу жабр относят к подклассу двужаберных, общее число их сердец три, в том числе одно главное, которое состоит из желудочка и двух предсердий, а два других гонят светлую венозную кровь к жабрам. Частота сокращений главного сердца у головоногих от 30 до 36 раз в минуту. Местом синтеза транспортера супероксида, флуоресцирующего гемоцианина, у головоногих моллюсков являются мышечные стенки жаберных сердец.

Циркуляция крови у млекопитающих в направлении от сердца и обратно по двум кругам кровообращения и разветвленной сети капилляров подвержена системной регуляции и зависит от состояния сосудов, клапанов, наличия феностр, частоты сокращений миокарда, работы скелетных и гладких мышц, волокон перицитов и способных к сокращению клеток эндотелия капилляров. Кровоснабжение – это механический процесс, но его нейрогуморальная регуляция у позвоночных животных и человека приобрела первостепенное значение в интенсификации функций головного мозга, всех функций организма, обеспечила тесную связь внешней и внутренней среды.

Объемный с крупными слившимися узлами мозг головоногих моллюсков [90], [91], происходящий из передних ганглиев брюшной нервной цепочки, включает пищевод в окологлоточное «мозговое кольцо», что позволяет называть этих мягкотелых беспозвоночных хищников приматами моря с весьма сложным поведением и способностью к обучению.

Головной мозг млекопитающих животных и осьминога не являются гомологичными органами: у них разное происхождение и генетическая основа. Изучая процессы торможения и выработки условных рефлексов (осьминоги дрессируются не хуже собак), физиологи усматривают много общего у головоногих с млекопитающими. Однако кровь моллюсков содержит не железо, а медь и гемоцианин, аналог гемоглобина. В отличие от гемоглобина, молекулы гемоцианина растворены в плазме, эритроцитов в крови у мягкотелых

нет, а концентрация носителя кислорода в крови, например у осьминога, может достигать до 11 %, что соизмеримо с количеством гемоглобина в крови у человека (14–16 г/100 мл).

Развитие внутренней среды и систем органов у моллюсков не привело к ароморфозам, напротив, хордовые животные меняли и осваивали разные среды обитания, уровень их морфофункциональной организации в процессе эволюции повышался [89]. Формирование групп хордовых началось с протерозоя, когда появились предковые формы ланцетников, затем ланцетники, рыбы, ихтиостеги, стегоцефалы и другие земноводные. В юрском периоде и первой трети мезозойской эры высокая численность у многообразных представителей класса пресмыкающихся, во второй трети мезозоя на Земле доминируют млекопитающие и птицы.

Сочетания генов, их баланс и локализация в хромосомах образуют индивидуальную систему, генотип. Локусы взаимодействуют друг с другом, многие из них обладают множественным действием. Гены и определяемые ими устойчивые, передаваемые из поколения в поколение морфологические, физиологические, биохимические, поведенческие и другие признаки и особенности, групповые и индивидуальные, помогают виду приспособиться к условиям существования, развития и размножения. Выработка адаптаций к условиям среды, в том числе становление безусловных рефлексов, у особей популяций того или другого вида происходила на основе мутаций ДНК и накопления определенных аллелей как следствие произошедших в далеком прошлом наследственных изменений признаков и свойств, которые проверены временем и закреплены в аллелофонде естественным отбором.

Примитивный теменной глаз, сенсорный орган миног, дополняет картину более низкого уровня организации класса круглоротых, по сравнению с пресмыкающимися и другими классами наземных и водных позвоночных. Что касается ящерицы гаттерии, теменной глаз у взрослой формы внешне не заметен, но у недавно вышедших из яиц молодых особей глаз не покрыт чешуями и выглядит как белое пятно. У ящериц из рода круглоголовок теменной глаз развит лучше, чем у других представителей отряда. Признаком адаптации непарного теменного глаза к внешнему электромагнитному излучению является специальное отверстие в теменной кости черепа ящериц над органом, который воспринимает энергию квантов.

Кванты света активируют фотосенсибилизаторы крови [17], [104] в сосудах глаз и кожи человека, их последующая люминесценция приводит к генерации

квантов во внутренней среде биосистемы. В основании больших полушарий мозга в области расположения подкорковых ядер эндотелий капилляров обильно фенестрирован, адаптирован к восприятию квантов энергии и потока частиц радикалов из крови.

Последовательность импульсов и величина потенциалов, возникающих в рецепторах теменного органа и клеток эпифиза, иными словами, раздражение энергетическими квантами рецепторов извне (так называемый «рецепторный потенциал», или электромагнитный эквивалент внешнего раздражителя (ЭМЭ) – *наше определение*) передается по специальному нерву через подкорковые ядра железистых клеток гипофиза на дипольную сеть нейронов специализированной зоны мозга.

Гормоны гипофиза регулируют через внутреннюю среду половую функцию и водный баланс, что особенно актуально в засушливых условиях наземного существования животных. Указанные функции пресмыкающихся подвержены сезонным ритмам и адаптируют этих и других амниот к смене времен года, условиям, где электромагнитный фактор (солнечный свет) является определяющим и более значимым, чем в водной среде, активно поглощающей фотоны [4].

На поверхностях пористых кристаллов полупроводников и липопротеиновой матрицы плазмалеммы образование пористой структуры и локальная деполяризация происходят в результате одноэлектронного окисления материала диффузионным потоком. Поэтому структуры поверхности кристалла, например, пористого кремния и жидкокристаллической клеточной мембраны изоморфны. Электромагнитные явления протекают в живом и минеральном объектах принципиально одинаково. В силу особенностей и адаптаций биосистем, молекулы структурных белков плазмалеммы могут дорабатываться при синтезе в эндоплазматической сети и внутриклеточном аппарате Гольджи и более соответствовать, например, по размерам пор потоку супероксида. Аффинитет структурных молекул белков к энергетическому потоку излучений и частиц может повышаться за счёт формирования новых фрактальных кластеров плазмалеммы клеток.

Потоки веществ, энергии и информации, которая зашифрована в локусах ДНК и на РНК, в биосистеме изначально объединяет матричный принцип организации, генетическая конституция, память вида. Структура молекул белков, ферментов, антител, интегральных и других белков клеточной мембраны зашифрована в генах, но может варьироваться, выходя за пределы нормы реакции

генотипа под влиянием мутаций. Перенос информации в биосистеме не ограничен процессами молекулярной транскрипции и трансляции и рассматривается нами шире, в аспекте явлений электромагнитной, оптической природы и механических событий на уровне третичной структуры полярных белков, формирующих дипольную сеть матрицы, ее информативную сущность и содержание.

Пространственная структура молекулы белка, как показано на рис. 5.1, в объеме пентагональный додекаэдр, достаточно широко варьируется. В объемной структуре молекулы белка в форме двенадцатигранника теоретически могут появляться поры и каналы в соответствии с распределением сил, в том числе ковалентных и водородных связей первичной, вторичной и третичной структуры белка. Внутренние углы между связями в глобуле белка могут меняться.

ЭПР- и ИК-спектроскопия [22] выявили существование по крайней мере двух механизмов инактивации анион-радикала, связанных радикальными эффектами химической и физической природы, ферментативной дисмутации супероксида и энергоемкого изменения жидкокристаллической структуры матрицы под влиянием диффузионного потока АФК. Вариации третичной структуры молекул белка при этом проявляются как механические высокочастотные осцилляции на уровне интегральной белковой глобулы. Скорости указанных процессов существенно различаются. Константа дисмутации супероксида кислорода составляет около $10^5 \text{ моль}^{-1} \text{ с}^{-1}$ и определяется временем жизни анион-радикала. Ещё быстрее анион-радикал кислорода реагирует с некоторыми другими радикалами, например, с оксидом азота с образованием пероксинитрита. Самая высокая константа реакции дисмутации ($10^9 \text{ моль}^{-1} \text{ с}^{-1}$) выявлена в присутствии СОД, что служит *in vivo* защитой от повреждения мембраны радикалами кислорода, например, в эритроците. Генетически обусловленные различия активности СОД имеют место внутри вида, а также в различных органах и тканях конкретного организма, меняясь, например, у человека в процессе индивидуального развития [105]. В ряду от мыши до человека активность СОД увеличивается почти в три раза [106].

Светочувствительные глазки ланцетников, теменной глаз миног и ящериц [107], [108], наконец, эпифиз головного мозга [16] стимулируются квантами. Эволюция видов хордовых животных расширила связи потоков энергии, веществ и информации в биосистемах позвоночных.

Присутствие фотосенсибилизаторов проявилось у ланцетников протерозоя, филогенетический ствол которых привёл к бесчелюстным позвоночным

кембрия и силура. Розоватого цвета кровь ланцетников циркулирует по сосудам и капиллярам, перегоняемая сокращающимся участком брюшной аорты с развитым в стенке мышечным компонентом. Настоящего сердца у этих древнейших животных, также как мозгового пузыря и черепа, нет. В передней части нервного жёлоба, который у ланцетника не образует трубку, имеется небольшое расширение со светочувствительными глазками. Кванты света раздражают и возбуждают животных. От внезапного яркого освещения ланцетники, «когда их заставляют покинуть убежище, принимаются с быстротой стрелы шмыгать, извиваясь в воде, и минуту спустя опять забираются в песок», – так описывает поведение этих хордовых животных А. Брем [92]. Патологии, редко отмечаемые у человека, расщепление позвоночника (*spina bifida cystica*) [38], трактуются в целом как атавистические, повторяющие нормальное для ланцетников состояние примитивной нервной системы в виде жёлоба, ещё не смыкающегося в нервную трубку, которую мы видим на стадии нейрулы у всех зародышей позвоночных животных и человека.

Динамика вызванных свободными радикалами процессов *in vivo* в первую очередь определяется балансом (или его нарушением) между мощностью ОС (т. е. скоростью генерации радикалов) и эффективностью АОС (индивидуальной скоростью защитной реакции организма против радикалов), местным балансом между супероксидом и оксидом азота в той или иной части биосистемы.

Комплекс автоматических явлений и событий в саморегулируемой многоклеточной биосистеме на уровне липопротеиновых мембран кардиомиоцитов, нейронов, клеток желёз, волокон мышц происходит постоянно. Энергию для работы поставляет АТФ, одноэлектронный перенос свободными радикалами в активных центрах мембраны и токи смещения адсорбированных ионов Na^+/K^+ , сопровождаемые изменением поляризованности мембраны и векторами сил отталкивания и притяжения в глобулах интегральных белков. Радиус действия межатомных сил, задающих объем глобул молекул белков и размер углов между химическими связями атомов в додекаэдрах не превышает 10 нм, причем силы отталкивания уменьшаются при увеличении расстояния между атомами быстрее сил притяжения, кристаллическая структура не распадается.

ОС млекопитающих и пресмыкающихся является важной частью клеточного иммунитета и дополняет его гуморальную форму, которая у рептилий менее разнообразна по числу классов образующихся белков иммуноглобулинов [109] и характеризуется более длительным сроком проявления первичного и

вторичного ответов на антиген по сравнению с реакцией организма млекопитающих животных и человека. Конституция рептилий компенсирует указанные особенности защитной иммунной системы. Так, активация *in vivo* присутствующих в крови молекул сенсibilизаторов может происходить у ящериц с помощью теменного глаза под влиянием световых квантов непосредственно в непарном теменном органе и сосудах парных глаз, когда рептилии отдыхают, греются на солнце.

Кровь, главная составляющая часть ОС позвоночных животных и человека постоянно воздействует на все внутренние органы и кожу посредством диффузионного потока АФК при участии адаптированного эндотелия сосудов мозга, парных глаз и теменного сенсорного органа, компенсирующего, по-видимому, у пресмыкающихся отсутствие фотосенсибилизации компонентов крови в наружных покровах тела. Кожа рептилий покрыта защитной роговой чешуей, щитками или панцирем, препятствием для прохождения электромагнитного излучения в кровеносные сосуды кожи.

К ОС животных и растений относятся многочисленные митохондрии и хлоропласты клеток. Во внутреннюю мембрану митохондрий в порядке возрастания окислительно-восстановительного потенциала встроены молекулы-переносчики электрона: $NADH_2$ - и $FADH_2$ -дегидрогеназы, убихинон (радикал переносчика неспаренного электрона, семиубихинон) и белки-цитохромы, содержащие гем. Количество элементарных электронно-транспортных цепей (ЭТЦ) длиной по 22 нм каждая [104] в митохондриях разных клеток зависит от интенсивности функционирования ткани и органа (объёма выполняемой органом работы за единицу времени). Так, одна митохондрия клетки печени содержит около 5000 единичных ЭТЦ, а в митохондрии кардиомиоцита число ЭТЦ в 4 раза больше (митохондрии сердца обладают высокой мощностью). Адаптационная направленность и связь численного распределения цепей транспорта электронов в митохондриях клеток разных органов просматриваются в данных примерах вполне определенно [85].

Перемещения электрона по ЭТЦ внутренней мембраны митохондрии и протонов, по каналам оксисом из перимитохондриального пространства в матрикс митохондрии являются источником энергии для преобразования АДФ в АТФ с участием комплекса АТФ-синтетаз оксисом. В матриксе митохондрий происходит диссоциация молекул воды и появление иона гидроксила. Рабочая разность потенциалов на складчатых кристах митохондрий составляет 200 мВ.

Строение внутренней мембраны митохондрий соответствует по своим свойствам модели «липипротейнового коврика», масса белков в такой мембране относительно массы липидов значительно больше, чем в наружной жидкокристаллической мембране. Перенос электронов по ЭТЦ происходит в плоскости складок, т. е. перпендикулярно к движению протонов (H^+) в сквозных каналах грибовидных тел, окисом. Перенос электронов в митохондриях происходит таким образом, что суммарный магнитный момент участков складчатой внутренней мембраны, содержащей специальный непроницаемый для протонов фосфатид кардиолипид, равен нулю. Образование АТФ в «энергетических станциях» животных и растительных клеток характеризуется высоким коэффициентом полезного действия и теоретически не сопровождается генерацией электромагнитных полей (излучение, если есть, минимальное). Окислительное фосфорилирование в митохондриях создает значительно большее число молекул АТФ по сравнению с субстратным фосфорилированием и гликолизом.

На белковых активных центрах плазмалеммы (см. рис. 5.1) направление переноса некомпенсированного электрона радикалом перпендикулярно поверхности клетки, при этом разность потенциалов на мембране варьируется в среднем от потенциала покоя до потенциала действия, т. е. от -75 мВ до $+35$ мВ. Энергия транспорта электрона свободным радикалом расходуется в организме уникальным образом и ее использование в электромагнитном энергетическом механизме на плазмалемме является, по сути, частью АОС и средством связи отдельных частей матрицы биосистемы в единое целое электромагнитным полем. В наружной клеточной мембране, физико-химические характеристики и свойства которой наиболее полно отражает жидкокристаллическая модель строения, число молекул липидов значительно превышает число молекул белков, а по массе указанных компонентов наблюдается равенство.

Перенос неспаренных электронов диффузионным потоком свободных радикалов из внутренней среды биосистемы осуществляется вдоль молекул интегральных белков, адсорбирующих катионы, т. е. в плоскости перпендикулярной оболочке клетки [28], и мембраны аксона нейрона (в перехватах Ранвье и начальном сегменте *AIS*).

Диффузионный поток свободных анион-радикалов из крови и перенос электрона свободными радикалами из внутренней среды через жидкокристаллическую матрицу является постоянным фактором, энергетическим механизмом биосистемы позвоночных животных и человека. Фактор используется в качестве источника энергии быстро распространяющихся биоэлектрических

потенциалов по дипольной сети мембраны отростков астроглии по пресинаптической мембране к нейронам мантии мозга.

Радикальный фактор внутренней среды определяет автоматическую работу сердца, нейронов, участвует в перемещении потенциала действия по волокну мякотного нерва, создает электромагнитное поле, основу ЭМЭ внешних раздражителей рецепторов органов чувств. Эффекты управляемого торможения во взаимосвязанных нервными волокнами структурах ЦНС с эффекторами и трофическая функция аксонов определяются влиянием радикального фактора (энергии неспаренного электрона) и зависят от объема притекающей к поверхности крови и производных жидкостей.

В опытах с аппликацией активированного металлом-координатором копропорфирина на миелинизированный седалищный нерв земноводного увеличение концентрации супероксид-генерирующего раствора в 20 и 40 раз, по сравнению с минимальной из испытанных концентраций (0,01 %) показало снижение порога возбудимости мякотного нерва без существенного превышения абсолютного значения порога, достигнутого при минимальной концентрации источника супероксида. Заметим, что миелинизация сегментов аксона и мякотных нервов представляет собой адаптацию дипольной сети поверхности матрицы позвоночных животных, позволившую резко увеличить скорость проведения потенциала действия по нервным волокнам.

Матрица высших животных и человека адаптирована к потоку АФК и взаимодействует с диффузионным потоком супероксида в процессе обучения индивидуума, у которого формируются и оставляют след ЭМЭ внешних раздражителей при обучении и последующей модификации молекул белков фрактальных кластеров матрицы, т. е. консолидации полученной информации на плазмалемме нейронов головного мозга.

Системы органов и их отдельные части взаимно связаны благодаря сформированной в онтогенезе уникальной дипольной сети липопротеиновой мембраны клеток и ее фрактальных кластеров консолидации, оптической, слуховой, осязательной, мышечной и других видов памяти на основе обучения и жизненного опыта. Поверхности клеток позвоночных животных и человека ориентированы к внутренней среде, содержащей радикальный фактор, триггер потенциала действия и электромагнитных полей на поверхности осциллирующей матрицы. Взаимодействие потока радикалов с матрицей воспроизводит ЭМЭ внешних раздражителей в сером веществе мозга, вызывает чувства и психические переживания минувших событий и сопровождавших их эмоций.

Сокращение ушек сердца, опережающие систолу предсердий, играют ту же роль, что и сокращения предсердий для желудочков. Сердце млекопитающих исследователи и раньше рассматривали как мышечный насос с шестью камерами (концепция В. А. Шидловского). Показательны результаты нашего опыта на извлеченном сердце лягушки, которое продолжает сокращения в часовом стекле, куда сердце помещали в изотонический раствор Рингера для земноводных. Через один час наблюдалась усталость сокращений изолированного органа: ЧСС снижалась, в среднем с 17 до 8,2 уд./мин.

Последующее введение в правое предсердие через зонд раствора активированного копропорфирина увеличивало частоту сокращений в среднем до 32 уд./мин. В отдельных вариантах опыта частота возрастала по сравнению с исходным показателем в 2, 3, 7 и максимально, в одном из вариантов опыта, с 1 до 21 уд./мин.

Реакция миокарда на введение растворов генератора супероксида непосредственно внутрь органа, а не на поверхность вскрытого перикарда [21] подтверждает роль анион-радикалов кислорода в качестве триггера сокращений сердца и переноса неспаренного электрона супероксидом в качестве энергетической причины автоматии сокращений органа. Неспаренный электрон свободных радикалов или его транспортная цепь на поверхности биметаллических белков-ферментов являются источниками квантованной энергии в реакциях биосистемы. Индивидуальный результат ответа каждого отдельного сердца земноводного на введение супероксид-генерирующего раствора заставляет задуматься о генетически детерминированных особенностях, например, поровых характеристиках глобул белков, топологии фрактальных кластеров поверхности, строения жидкокристаллической матрицы органа, обращенной к протекающей через него крови или ее имитатора.

Способность к сокращению эндотелиоцитов, выстилающих стенку капилляра, слоистое строение стенки и наличие в пре- и посткапиллярах отдельных сокращающихся волокон позволяют биосистеме регулировать площадь поперечного сечения периферического кровяного русла и, соответственно, объём жидкости, поступающей к тканям. Значение тренировок для развития двигательной мускулатуры общеизвестно, однако, управлять кровотоком, ритмом сокращений сердца и психическим состоянием, иными словами, быть уравновешенным и не терять самоконтроль может далеко не каждый человек.

В любой ткани в зависимости от интенсивности работы органа может находиться до 50 процентов капилляров со значительно меньшим просветом,

движение форменных элементов в них отсутствует, движется только плазма. Специальные адаптации, перфорированные участки эндотелия, затянутые двойной клеточной мембраной, фенестры и сквозные отверстия в стенке капилляров [84] обеспечивают дифференцированный диффузионный поток супероксида из крови и одноэлектронный перенос свободными радикалами в активных центрах клеточных мембран разных тканей. Через сквозные отверстия идет мощное поступление частиц АФК, гормонов и элементов питания в потоках жидкости к тканям и клеткам, это важно подчеркнуть, заметив при этом, что липопротеиновые мембраны клеток в ответ на атаку свободных радикалов отвечают, поляризация мембраны изменяется, матрица автоматически реагирует на раздражение.

12. АДАПТАЦИИ БИОСИСТЕМ К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ЭНЕРГИИ ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНА И ВНЕШНИХ РАЗДРАЖИТЕЛЕЙ. ЦЕНТРАЛЬНАЯ НЕРВНАЯ СИСТЕМА И ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКИЙ БАРЬЕР

Внутренняя среда позвоночных животных и человека хорошо изучена, однако, генерация анион-радикалов кислорода и других АФК, их совместное влияние на центральную нервную систему (ЦНС), её липопротеиновую мембрану, а также цитоплазматическую область тигроида нейронов, гранулярную эндоплазматическую сеть (ЭПС) делящихся клеток старой коры, РНК и синтезируемые белки мантии лимбического мозга предстоит изучать. Старая кора мозга растет и обновляется на протяжении всей жизни у млекопитающих животных и человека. Заметим, что остальные нейроны мозга перестают делиться митозом после пятых суток онтогенеза человека.

Электромагнитные сигналы возникают в нервной системе в результате взаимодействий заряженных частиц свободных радикалов внутренней среды с активной поверхностью матрицы мозга, специализированной астроглии (см. рис. 8.1). Возбуждение, устойчиво возникающее по связям нейронов гиппокампального круга [43], [87], и влияние силового поля на нейроны слуховой и зрительной памяти анализаторов электромагнитных эквивалентов (ЭМЭ) внешних раздражителей в неокортексе и стволе головного мозга обеспечивают, по-видимому, формирование новых ЭМЭ раздражителей, прежде всего в старой коре мозга. В зубчатой извилине происходят митозы (деление клеток) и, соответственно, во вновь появляющихся нейронах синтезируются структурные белки, основа фрактальных кластеров плазмалеммы клеток (память), ответственные за восприятие внешних раздражителей, в том числе идентифицируемые в ЦНС не сразу, но требующие торможения ЭМЭ других раздражителей, не актуальных на данный момент помех.

Белки плазмалеммы либо удерживают гидратированные ионы Na^+ и K^+ и пропускают их в относительно небольшом количестве через мембрану клетки в соответствии с градиентом концентрации, либо пропускают Ca^{2+} в относительно большем количестве в соответствии с разностью потенциалов поверхностей мембран. Кальций поступает внутрь клеток по направлению к отрицательно заряженной внутренней поверхности мембраны [88] и транспортируется из клетки с затратой энергии АТФ.

Ионы Ca^{2+} внутри клеток запасает гладкая ЭПС (в мышцах ее называют саркоплазматической) и митохондрии в виде зёрен кальция с магнием, а вне клеток – межклеточное пространство, где ионов кальция и натрия относительно много, а калия мало. Внутри клетки (в цитозоле) поступившие ионы кальция долго не задерживаются и служат стимулом, запускающим определённые биохимические реакции совместно со специальными белками. Из жидкой фазы внутри клетки кальций активно транспортируется в депо.

Ионы Ca^{2+} в водной фазе клетки кратковременно появляются и быстро исчезают, они играют роль вторичных мессенджеров (носителей информации), участвуют в регуляции эмоционального поведения человека. Эмоции человека и животных имеют выраженный адаптивный характер и являются результатом отражения мозгом потребностей организма и возможности их удовлетворения в конкретных условиях. Для сильного эмоционального возбуждения и напряжения (аффекта), характерна высокая работоспособность, повышенное внимание, мобилизация всех систем органов и психических качеств личности, готовность биосистемы к действию в стрессовых условиях за выживание, за роль личности в обществе.

Не каждый человек в состоянии аффекта способен управлять своими эмоциями, а трагический исход и невротические расстройства от влияния сильных отрицательных эмоций более вероятны, чем в результате положительных. Отрицательные последствия для организма могут иметь место и от сильных положительных эмоций при условии индивидуальной генетической предрасположенности к психическим отклонениям от нормы. Патологический аффект в отличие от физиологического может закончиться ретроградной амнезией, потерей памяти на события, предшествовавшие чрезвычайному воздействию обстоятельств, явившихся причиной приступа сильного нервного возбуждения человека.

Степень выраженности и проявления эмоций [85] у человека находится под волевым контролем коры больших полушарий и зависит от темперамента, а точнее, от генотипа, определяющего проницаемость индивидуальной липопротеиновой матрицы для ионов элементов второй группы Периодической системы, содержащих в наружном слое атома два электрона и способных отдавать только их. Распространённые в клетках элементы второй группы Периодической системы Ca^{2+} и Mg^{2+} имеют ярко выраженные металлические свойства. В отношении химической активности оба элемента несколько уступают натрию и калию, но могут вытеснять водород из воды, магний это делает очень медленно, его гидроксид мало растворим в воде и замедляет процесс.

Содержание кальция и магния в клетках эукариот сопоставимо с железом, фосфором, натрием и калием, это микроэлементы, в сумме их число в живых организмах восемь.

Эмоции – это выражение реакции возбуждения, они присущи высшим млекопитающим животным, человеку и также проявляются у птиц. У представителей пернатых головной мозг содержит обширную сеть нейронов с очень большим числом связей, химических (синапсы) и электромагнитных. Отдельные группы птиц, попугаи и представители семейства врановых достигли заметного уровня развития когнитивных способностей и хорошо поддаются дрессировке.

Нервные импульсы от рецепторов через таламус поступают по нервам к ячейкам дипольной сети основания полушарий мозга птиц, полосатым телам, где происходит анализ поступающих сигналов. Из класса пернатых, обладающих выраженными когнитивными способностями, дрессировщики выделяют представителей семейства врановых. У этих птиц можно выработать условные рефлексы, они хорошо обучаются, и отдельных ворон удавалось, например, обучить счету в пределах десяти. Мембрана нейронов мозга птиц развита намного лучше, чем у рептилий, а их мозг характеризуется большим числом слоев нейронов в полосатых телах, ячейки дипольной сети матрицы головного мозга птиц имеют выраженный объем.

Кору головного мозга подразделяют на древнюю, старую и новую, состоящую из шести слоев нейронов. Функции новой коры многообразны в зависимости от цитоархитектонических зон. На дипольной матрице старой коры мозга в круге гиппокампа импульсы возбуждения перемещаются по замкнутому пути [43]. Гиппокамп участвует в организации ориентировочного рефлекса, внимания, регуляции вегетативных реакций и эмоций, управлении произвольными движениями, что имеет решающее значение для обучения и памяти. Одноэлектронный перенос отрицательно заряженными радикалами кислорода является источником электромагнитных полей и потенциалов в дипольной сети поверхности нейронов астроглии, пресинаптической мембране нейронов со звездчатой формой тела.

Под мозолистым телом головного мозга, соединяющим большие полушария, располагается свод, состоящий из тела, парного столба и парных ножек, которые, срастаются с гиппокампом старой коры и образуют бахромку. Крупные, продолговатой формы нейроны черного вещества, содержащие меланин, расположены между ножками. Меланин занимает большую часть цитоплазмы нейронов в виде зернистости, иногда пигмент находят в дендритах. Черная

субстанция прорезана корешками глазодвигательного нерва. Вместе с красными ядрами ножек черное тело относят к экстрапирамидной системе.

Переход временных условно рефлекторных связей (по сути, кратковременной памяти) в долговременную память, когда нейроны зоны зрения, слуха или осязания приобретают своего рода аффинитет определенных фрактальных кластеров матрицы к соответствующим ЭМЭ внешних раздражителей. Такими являются буквы, слова, научные термины и другие зримые, слышимые или осязаемые внешние раздражители, смысл которых постигается и запоминается во время обучения и сразу после него в период поэтапной консолидации электромагнитных символов внешних раздражителей. Долговременная память формируется, по-видимому, за счёт структурных (интегральных) белков и фрактальных кластеров плазмалеммы. Изменения первичной структуры белка могут произойти в результате альтернативного сплайсинга или реформатирования первичного транскрипта РНК с использованием другого промотора на том же гене. Так или иначе, последовательность аминокислот меняется, возникают новые измененные молекулы белков, кодируемые одним и тем же геном. Экзонинтронная структура организации гена эукариот и альтернативный сплайсинг определяют огромное число белков (по сути, адаптаций) у ядерных организмов, превышающее приблизительно на порядок число кодирующих их генов: 28–30 тысяч (по результатам проекта «Геном человека»). Наука о белках (протеомика) в настоящее время активно развивается.

Древняя кора головного мозга, обонятельная луковица, тракт и бугорок, старая кора – это часть лимбической системы. Новая кора занимает около 95 % общей площади поверхности мантии и только 4–5 % приходится на долю древней и старой коры. В структуру лимбической системы мозга *Homo sapiens* [43], [85] входит парный гиппокамп с очень тесными связями с неспецифическими ядрами таламуса, гипоталамуса и стволовой ретикулярной формацией, а также зона среднего мозга с подкорковыми структурами, в числе которых миндалевидный комплекс и объемная область перегородки.

Дипольная сеть поверхности нейронов и отростков нервных клеток старой коры гиппокампального круга (миндалевидный комплекс и другие составляющие) формирует специфическую матрицу старой коры мозга для электромагнитных и, вероятно, синтетических процессов запоминания и долговременной памяти. Циркулирующая импульсов возбуждения в гиппокампальном круге, его связи с ретикулярной формацией и возбуждаемое и изменяющееся, существующее в круге силовое поле, обеспечивает активное состояние коры

больших полушарий. Исследования физиологов позволяют считать круговой путь возбуждения в гиппокампе регулятором активности ЦНС, генерируемое и существующее в круге электромагнитное поле взаимодействует с матрицей большого мозга.

Возбуждение нейронов гиппокампального круга происходит, скорее всего, в режиме импульсов самовозбуждающихся нейронов астроглии. Астроциты отсылают пресинаптические мембраны окончаний отростков (см. рис. 8.1) к капиллярам с кровью и связаны с постсинаптической мембраной нейронов новой коры и полей старой, покрытой слоем мелких делящихся клеток. Электромагнитное поле взаимодействует с активными центрами мембран клеток на расстоянии, которое определяется эффективным радиусом ячейки дипольной сети, около 25 нм [22].

Эмоциональное возбуждение, аффект [43], как известно, не сопровождается психическими и двигательными расстройствами. Любой эмоции сопутствуют память и нервные процессы, которые создают в головном мозге условия для сохранения и активации следов впечатлений прошлого опыта и связаны с необходимостью торможения в нервной системе. Последнее мы фиксировали в опытах при аппликации супероксид генерирующих растворов активированного копропорфирина на нерв реоскопа [21], превышение порога раздражения препарата, по сравнению с фоновым показателем, составило около 30 мВ. Патологический аффект, недолговременное расстройство психики, в ответ на неожиданную, сильную душевную травму, сопровождаемую переживаниями, которые человеку трудно прервать; состояние может закончиться полной или частичной потерей памяти.

Организм поддерживает характерный для конкретного органа и ткани баланс ОС и АОС и функционирование своих подсистем, модулируя уровень потенциала покоя клеточной мембраны и механические колебания адсорбированных белком катионов Na^+/K^+ , создающих токи смещения. Вектор поляризации мембраны зависит от токов смещения, в частности, переноса неспаренного электрона радикалом супероксида. Возбуждение центра лимбического мозга по замкнутому кругу воспроизводит поле, дистанционно взаимодействующее с матрицей, площадь которой постоянно увеличивается, поскольку клетки зубчатой извилины на корковой пластинке способны к делению.

Микроциркуляторное русло в отдельных тканях и органах имеет особенности. Приспособления кровеносного русла для регуляции потребления тканями кислорода можно показать, не только сосчитав число капилляров, в сером

веществе мозга их сеть более густая, чем в белом веществе [84], но и различиями в строении базальной мембраны эндотелия сосудов. Внутренний диаметр капилляров (в разных тканях от 2 до 20 мкм) связан с дыхательными потребностями тканей [97]. Энергетическая сторона взаимодействий эндотелия гемокapилляров мозга и клеток астроглии, разделенных между собой базальной мембраной ГЭБ (см. рис. 8.1), составляет их совместную функцию и определяет значение глии в качестве источника энергии, питающей нейрорпсихическую деятельность.

Диффузионный поток анион-радикалов кислорода из крови на пресинаптические мембранные окончания отростков глиальных клеток, других клеток мозга, через ГЭБ влияет на дипольную сеть мантии большого мозга и является источником возбуждения ионофильных центров жидкокристаллической матрицы.

Активные белковые центры мембраны реагируют на поток радикалов обратимым изменением молекулярной структуры и генерируют электромагнитное поле, интегрирующий компонент волновой природы и средство коммуникации нейронов и других клеток биосистемы. Взаимодействия диффузионного потока свободных радикалов с дипольной сетью матрицы лежат в основе регистрируемой электрической активности нейронов центральной нервной системы и, косвенно, проявляются в психических процессах и памяти у высших животных и человека.

Крупные пирамидальные клетки новой шестислойной коры мозга у человека изолированы через ГЭБ от непосредственного контакта с кровью [16], [84] отростками клеток глии и межклеточным пространством (см. рис. 8.1). Диффузионный поток анион-радикалов кислорода из внутренней среды на поверхность пирамидных нейронов минимальный, и в норме не вызывает заметных электромагнитных помех при восприятии потенциалов от рецепторов органов чувств и ответных реакций организма при осуществлении рефлексов. Особенности строения митохондрий (там окислительные процессы наиболее интенсивные) таковы, что названные помехи просто отсутствуют и не мешают осуществлению специфических функций нервных клеток в составе рефлекторных дуг и волокон проводящей системы сердца, ткань которого содержит большое число митохондрий с увеличенным числом единичных электронно-транспортных цепей на кристах.

В отсутствие сенсорных влияний способностью к самовозбуждению обладают по меньшей мере около 3 % нейронов коры головного мозга, так оценивают фоновую активность клеток мозга [85], [104]. Наружная пресинаптическая мембрана отростков звездчатых нейронов глии, астроцитов [84]

окружает капилляры с кровью оболочкой, которая соприкасается с базальной фибриллярной мембраной сосуда и располагается поверх неё. Под воздействием диффузионного потока супероксида из крови на эндотелий, реакция клеток эндотелия может индукционно влиять на вектор поляризации активного центра мембраны окончания отростка. Заметим, что расстояние между мембранами окончаний отростков нейронов глии и клеток эндотелия по обе стороны от базальной мембраны практически равно эффективному радиусу ячейки дипольной сети в плоскости сечения стенки капилляра [22]. Одна из поверхностей клеток эндотелия омывается кровью, а противоположная лежит на базальной мембране стенки, к которой плотно примыкает пластинчатая мембрана окончания отростка нейрона глии. Расстояние между соседними, ближайшими друг к другу поверхностями электрически возбудимых клеток двух разных тканей приблизительно равно увеличенной в 3–4 раза толщине плазмалеммы, т. е. 20–30 нм. Мантия мозга млекопитающих животных и человека функционирует на 96 % в объёме пространства складчатой поверхности неокортекса и однослойной гетерогенетической древней, старой и промежуточной коры. Клетки ЦНС объединены синапсами и электромагнитными взаимодействиями (индукцией) в объёме нейроглиального комплекса мозга и подкорковых центров гипоталамо-гипофизарной области. Функционирующие трёхмерные ячейки дипольной сети возникают не только на мембранах электрически возбудимых клеток и волокон, но также в объёмных образованиях мантии головного мозга млекопитающих и полосатых телах основания мозга птиц (пять слоев нейронов) и рептилий (три слоя).

Старая кора животных, покрывающая мозолистое тело, коленчатую извилину и медианальную обонятельную извилину на сильно редуцированной корковой пластинке, продолжается вперед к пластинке гиппокампа. Явления электромагнитной и синаптической связи в одном слое нервных клеток головного мозга у земноводных и рептилий качественно мало отличаются от тех, которые происходят в объёме неокортекса мозга млекопитающих, но в количественном отношении процессы в мозге зверей имеют значительно больше вариантов, т. е. путей электромагнитной связи и контактов (синапсов) между нейронами. Неокортекс в зачаточном состоянии формируется впервые у рептилий, но врождённые рефлексy, например, у самок крокодилов, их общение с потомством с помощью звуков хорошо известны зоологам, изучающим поведение животных, подсчитавшим, например, что число используемых звуков

самками рептилий адекватно числу звуков, издаваемых самками млекопитающих животных при общении со своими детенышами.

Древняя кора мозга селахий и их великолепное обоняние управляют поведением акулы и определяют обонятельную память кровожадного хищника. Мантия мозга акул характеризуется примитивной структурой корковой пластинки, слабо разграниченной от подкорковых клеточных скоплений у взрослого животного. В филогенезе она появляется особенно рано в виде обонятельной коры мозга селахий.

Историческое и индивидуальное развитие нейроглиальной системы мозга приводит к морфологическим различиям нервных клеток и разделению функций, например, нейронов старой коры, принадлежащих к разным областям и полям коры, лежащих на корковых пластинах. У млекопитающих животных и человека морфофункциональное деление нейронов продолжилось в связи с развитием нейроглиального комплекса мозга. Ячейки дипольной сети новой коры расположены в шести слоях объема серого вещества мозга.

По характеру и количеству в нейронах вещества Ниссля [83], или тигроида, можно судить о его принадлежности к ядрам ретикулярной формации ствола мозга, а также функциональном состоянии самих нейронов. Участие нейронов глии в фоновой, а лучше сказать, самостоятельной биоэлектрической активности мозга определяется их местоположением относительно капилляров с кровью и контактами пресинаптических мембран окончаний отростков астроглии со стенкой кровеносных сосудов. Синапсы между клетками глии, а с другой стороны нейронами старой и новой коры, мантии больших полушарий создают условия для обеспечения энергией большого мозга млекопитающих и автоматической, самовозбуждающейся деятельности нейроглиального комплекса под влиянием диффузионного потока и энергии неспаренного электрона свободных радикалов из крови.

Учитывая, что на плазмалемме нейронов отсутствует $NADPH_2$ -оксидаза, продукция супероксида в больших полушариях мозга крыс, связанная с формалин-резистентной $NADPH_2$ -диафоразной активностью [8], является, вероятно, результатом диссоциации ферментов комплекса NO-синтаз и появлением соответствующей функции при акустических нагрузках на слуховой анализатор. Заметное увеличение интенсивности окисления $NADPH_2$ в нейронах неокортекса крыс было установлено [8] после многократного воздействия акустических колебаний и одновременного появления в тканях мозга радикалов NO• и супероксида.

Патологические состояния мозга сопровождаются биохимическими изменениями, отражающимися на ЭЭГ, а при наличии генетической предрасположенности, также расстройствами психики. Наследуемость психических заболеваний у человека весьма высокая. Так, на основе данных близнецового метода изучения популяций людей подсчитано, что наследуемость шизофрении составляет около 66 %; маниакально-депрессивного психоза – 95 %. Вероятность рождения детей с врожденным заболеванием психики от больных родителей очень высокая.

При вирусных инфекционных заболеваниях ЦНС человека, клещевом и комарином энцефалитах [16], а также при ранениях мозга и сопутствующих бактериальных инфекциях изменения ЭЭГ больного косвенно указывают на электромагнитную природу последствий указанных заболеваний.

Помутнение сознания, зрительные и слуховые галлюцинации, бред, нарушения памяти, мышления и некоторые другие проявления болезни у человека говорят не столько о влиянии возрастающего потока свободных радикалов из внутренней среды организма на клеточную поверхность, сколько об аномалии ЭМЭ внешнего раздражителя, возникающего на изменённой поверхности матрицы инфицированных вирусами нейронов при взаимодействии с потоком радикалов. Встраивание генетического материала ДНК вируса-возбудителя в клетку можно рассматривать как обратимую мутацию. ГЭБ не предотвращает заражения ЦНС человека нейровирусами.

Совершенствование мантии головного мозга млекопитающих, разделение функций и увеличение числа нейронов в больших полушариях, магистральный путь эволюции большого мозга зверей и человека [89], сопряженный с адаптационными изменениями сосудистой и нейроглиальной системы ЦНС позвоночных к диффузионному потоку АФК из артериальной крови. Заметим, что новая кора впервые появилась у рептилий, а многослойное строение получила у млекопитающих.

Развитие рук и мозга сыграли первостепенную роль в появлении среди древних людей *Homo habilis* (человек умелый), а затем *Homo ergaster* (работающий) и *Homo erectus* (человек прямоходящий) с массой головного мозга от 800 до 1000 грамм, что превышает минимальную массу (750 г), при которой возможна речь [104]. В результате осуществления проекта «Геном человека» в конце XX, начале XXI веков. были установлены последовательности нуклеотидов всех молекул ДНК клеток и митохондрий у *Homo sapiens*. Увеличение размеров головного мозга и качественное изменение нервной деятельности на

основе перераспределения и усиления функций между основанием переднего мозга и ядер новой коры больших полушарий, где разделение рефлекторного и самовозбуждающегося функционирования нейронов, составляют основу совершенствования мозга и высшей нервно-психической деятельности у человека разумного.

Внутренняя речь, помимо главного центра в коре левого полушария переднего мозга, контролирующего правую руку, функционально должна опираться, по нашему мнению, на дипольную сеть гиппокампального круга, матрица которого хранит следы электромагнитных влияний, вероятно, на активных белковых центрах поверхности нейронов зубчатой извилины. Поверхность липопротеиновой матрицы именно здесь на протяжении жизни человека может увеличиваться (клетки зубчатой извилины делятся митозом), а третичная структура молекул белковых глобул, их пор и каналов, модифицироваться при консолидации. Гиппокамп, как отмечают многие исследователи, предположительно участвует в механизмах обучения, памяти и консолидации, а также в процессах торможения [43], [83], [85], что особенно важно при формировании сложного поведения на уровне рефлексов и высшей нервной деятельности.

Устная речь, помимо указанных структур неокортекса и старой коры, опирается на матрицу волокон двигательных мышц и нервов, языка, гортани, межреберных, диафрагмы, мимических, связанных с образованием звуков. Перенос электрона диффузионным потоком свободных анион-радикалов кислорода из крови на эндотелий капилляров через жидкокристаллическую мембрану клеток и волокон является энергетической составляющей автоматии сердца и специализированных нейронов глии, связанной синапсами с клетками мантии, по сути, погруженными в глию. Электромагнитные автоматические явления в активных центрах дипольной сети мембран нейронов с отростками и поверхности соответствующих мышц биосистемы обеспечивают устную речевую коммуникацию у людей. У глухонемых сходную функцию при коммуникации выполняют руки с движущимися пальцами и губы, сурдоперевод внутренней речи. Колониальные насекомые выработали варианты коммуникации друг с другом с помощью феромонов и сложного поведения.

В структуру головного мозга акул входит древняя кора. Эволюция селхий, обладающих отличным обонянием и боковой сейсмодативной линией тела, шла независимо от костистых рыб и насчитывает сотни миллионов лет. Экскурсия в океанариум Санкт-Петербурга или другого города, где можно увидеть хищных дрессированных акул, заставляет задуматься о значении мантии

мозга, поверхности, обращенной к внутренней среде, откуда идёт диффузионный поток АФК на матрицу дипольной сети ЦНС. На боковую сенсорную линию селахий идут потоки окружающей воды, ориентирующие животное в пространстве и определяющие высокую степень маневренности кровожадного хищника. Крупные обонятельные доли переднего мозга и развитое обоняние усиливают реакцию на кровь, акулы издалека приплывают на такую приманку. Водная среда определила многие адаптации, в том числе боковую линию рыб, форму тела, плавников и поведение селахий. У акул отсутствует воздушный пузырь, поэтому, чтобы не тонуть, животные постоянно находятся в движении, детёныши акул развиваются в брюхе у матери, у этих древнейших хищников своя эволюционная история, среди рыб они по многим позициям уникальные.

Фрагменты липопротеиновой мембраны подвергаются обновлению, плазмалемма клеток регенерирует, в нейронах это способ поддержания долгой жизни и активного функционирования клеток ЦНС. Подсчитано, что в мозгу у человека около 10^{10} – 10^{11} нейронов [83] и все они разные. Клетки микроглии способны к фагоцитозу и поглощают фрагменты погибших нейронов. Абсолютное число межклеточных контактов на уровне липопротеиновой матрицы большого мозга, в том числе между астроцитами и крупными нейронами шестислойного неокортекса левого и правого полушарий и серого вещества основания головного мозга млекопитающих, стриатума, характеризуется огромной цифрой.

Человек и животные с развитой нервной системой формируют на поверхности белково-липидной матрицы ЭМЭ внешних раздражителей, которые определяют ощущения и внутренние образы в мозгу индивидуума на основе восприятия внешних раздражителей рецепторами органов чувств и соответствующих им анализаторов, являются отражением внешнего объективного мира, свойств и особенностей предметов окружающей среды и формируют внутренний мир личности в символах с электромагнитной природой. ЭМЭ внешних раздражителей используются при анализе в центрах коры большого мозга, формируют переживания человека и мысли, а по сути, выполняют функции внутренних, психических раздражителей ЦНС, становясь ими в результате консолидации и формирования фрактальных кластеров плазмалеммы клеток матрицы биосистемы.

Электромагнитные эквиваленты внешних раздражителей второй сигнальной системы, слов, терминов, нот, математических знаков и других развиты у человека и проявляются в умственных, когнитивных способностях индивидуума. Количество ЭМЭ индивидуума приблизительно соответствует словарному,

знаковому запасу и пополняется на основе личного опыта и знаний, при чтении, слушании лекций, просмотре фильмов и прочее. У животных ЭМЭ внешних раздражителей первой сигнальной системы обеспечивают весьма непростое поведение, которое представляется нам следствием более тонкого развития сенсорных органов зрения, слуха и обоняния. Первая сигнальная система у животных обострена и обеспечивает объём доступной информации, значительно превышающий получаемый человеком в тех же условиях в диапазоне частот, воспринимаемых рецепторами зрения, слуха и обоняния. Труд человека расширил спектр восприятия внешнего мира за счет осязания и вкуса.

Внутренняя речь (*endophasia*) человека (немая речь) развивает сознание и мышление. Звуковая форма слов и нот (устная речь, вокал) не связаны с сознанием и происходят автоматически. Этому способствует диффузионный поток анион-радикалов кислорода из крови и его взаимодействие с белково-липидной матрицей дипольной сети, воспроизводящее ЭМЭ внешних раздражителей с небольшим опережением со звуковым сопровождением в диапазоне колебаний голосовых связок гортани. Слова, музыкальные звуки человек может представлять в электромагнитных символах, эквивалентах слова, музыкального звука, не используя при этом самого слова или звука.

При обдумывании и во время письменного изложения мыслей, отдельные ЭМЭ слов могут отсутствовать, при этом внутренняя речь становится фрагментарной, вместо слов возникают внеязыковые символы, например, математические знаки или иные, художественные, например, образы и символы. Электромагнитные и оптические квантовые явления возникают при взаимодействии диффузионного потока анион-радикалов и переноса электронов из внутренней среды организма с жидкокристаллической матрицей дипольной сети мозга и особенно его сенсорных зон, имеющих конкретную локализацию и функцию. Возникающие при этом электромагнитные и оптические эквиваленты раздражителей осознаны и понятны автору даже при отсутствии отдельных фрагментов внутренней речи или вокала, зримых образов. Человек может слышать, хотя стоит тишина, и видеть с закрытыми глазами. Во время обдумывания матрица дипольной сети центров устной речи мозга задействована, но матрица мышц, обеспечивающих звук, как правило нет, правда, отдельные люди «включают» звук, чтобы лучше запомнить. Мысли через некоторое время, если у человека хорошая память, могут быть изложены в устной или в письменной форме более полно и четко. Фразы можно отредактировать, мысль уточнить, доклад сделать

логичнее и эмоциональнее. Высшая нервная деятельность – уникальное достижение человека разумного и результат формирования уникальных фрактальных кластеров на нейронах жидкокристаллической матрицы.

Вернемся к функциям лимбического мозга. В его центре расположен гиппокампальный круг, где в замкнутом пространстве связанных друг с другом нейронов возбуждение циркулирует по замкнутому пути и перемещения неспаренного электрона радикалами, ионов Na^+/K^+ воспроизводят электромагнитное поле в ограниченном объеме дипольной сети клеток мозга. При обдумывании и мышлении нейропсихические процессы как правило длительные, и назвать их автоматическими нет желания. Однако *in vivo* постоянный диффузионный поток радикалов из внутренней среды снабжает импульсами энергии нейроны астроглии и заставляет кору больших полушарий функционировать особенно интенсивно и осознанно при активирующем влиянии со стороны *formatio reticularis*, расположенной на всем протяжении продолговатого, среднего, промежуточного мозга с захватом верхних отделов таламуса. Ретикулярная формация мозга – это система нервных клеток с густо переплетенными отростками (волоконками) образующими сеть (*ретикулюм*). Формация влияет восходящими (афферентными) импульсами потенциалов на неокортекс. Импульсы *formatio reticularis* поддерживают бодрствующее состояние ЦНС [43], [83], [85].

Процесс произнесения слов и фраз часто совершается с использованием искусственных матриц, записанных, например, на бумаге, при этом подключаются зрительный и слуховой анализаторы. Для устной речи человека свойственна автоматия. Характерные особенности устной речи косвенно подкрепляет метод воспроизведения модели экзофтальма на мышцах *DBA/2* под влиянием усиленного потока АФК и его активации фотонами с длиной волны, соответствующей по крайней мере одному из пиков поглощения сенсбилизатора, который активируясь фотонами флуоресцирует, излучает кванты энергии в сосудах за глазным яблоком, там, где происходит механическое повреждение кровяного русла и образуется гематома – причина экзофтальма.

Гемозависимый экзофтальм [23] трактуется нами как упрощенная модель дислокационных поражений мозга, поскольку гематома после разрыва стенки сосуда располагается за яблоком глаза. В капиллярах оболочки глаз происходит при этом дополнительная фотоактивация введенного мышам *in it* копропорфирина и нативных порфиринов циркулирующей крови животного, сопровождаемая генерацией синглетной формы кислорода. Поток синглетного

кислорода, как и супероксид, выполняет роль стимула мозговых процессов, которые оказались за гранью нормы в условиях проводимого эксперимента, и провоцирует внутреннее кровоизлияние через механическое повреждение стенки капилляра и повреждение ГЭБ. Инсульт у человека сопровождается нарушением кровообращения и снабжения головного мозга кислородом и его активными формами, а при определенной локализации гематомы – невозможностью осуществления устной речи [16], [43].

В лимбическую долю, внутреннюю поверхность основания больших полушарий мозга, входят поясная извилина и парагиппокампальная извилина, занимающие соответственно дорсальную (верхнюю) и вентральную (нижнюю) половины доли, образуя почти полный круг, открытый вперед и вниз кругом мозолистого тела и подкорковых образований. В числе последних – более трех десятков ядер гипоталамуса. Представленное здесь описание позволяет показать расположение лимбического мозга относительно пласта нервных волокон мозолистого тела, соединяющих левое и правое полушария мозга. Мозолистое тело находится в глубине продольной щели большого мозга. Основание больших полушарий филогенетически и морфологически связано с комплексом нейронов лимбической системы, что прослеживается также при эмбриологических исследованиях.

Однослойная кора лимбического мозга участвует в обеспечении постоянно возникающих токов смещения и распространяющихся электромагнитных полей в круге гиппокампа и за его пределами. Замкнутый путь возбуждения распространяется по следующим связям: гиппокамп, неспецифические ядра зрительного бугра и перегородки, мамиллярные тела, гипоталамус.

Нарушения устной речи отмечаются при дислокационных поражениях височной зоны в левом полушарии (моторная афазия). Понимание смыслового содержания сигналов экспрессивной речи, слов, звуков, интонаций, наконец, жестов и мимики является функцией коры головного мозга, получающего через таламус в форме ЭМЭ внешних раздражителей информацию от слуховых и зрительных рецепторов.

Экспрессивная речь – продукт деятельности мозга и двигательных мышц, её матричная основа – обширная площадь поверхности дипольной сети биосистемы. Активную площадь матрицы внутренней речи человек может варьировать во время обдумывания (речь для себя), привлекая, например, зрительные, слуховые, обонятельные и другие анализаторы для использования ЭМЭ внешних раздражителей, электромагнитных образов, ощущаемых рецепторами организма.

Система чтения по Брайлю использует осязание. Незрячие люди могут научиться и читают с помощью рецепторов кончиков пальцев рук и нейронов зоны мозга, отвечающей за восприятие и анализ тактильных ощущений. Функциональные возможности матрицы обучаемых, по сравнению с людьми, необученными с помощью данной методики, намного расширяются.

Мозговой придаток (эпифиз) у эмбриона человека образуется как выпячивание зачатка головного мозга. Эпифиз является железой внутренней секреции позвоночных, рыб и представителей высшестоящих классов. Железа секретует вещества, серотонин, мелатонин, норадреналин, гистамин, а также различные нейропептиды, регулирующие у млекопитающих лактацию [16], [87]. Мозговой придаток у человека расположен под большими полушариями мозга. Сигналом, вызывающим секрецию железы, является свет, действующий на эпифиз через фотосенсибилизаторы крови, генерирующие АФК и кванты энергии. Гематопорфирины люминесцируют и излучают кванты энергии, внутренние ЭМЭ внешних фотонов.

Феноменологически процесс перехода введенной в мозг информации в конце XX в. [43] объясняли постепенным повышением устойчивости вновь образованной временной связи к чрезвычайным воздействиям, например, к электросудорожному шоку и подавлению синтеза белка, последнее из двух указанных воздействий, по нашему мнению, раскрывает реальный механизм консолидации, синтез новых молекул белков. Остается добавить, что возбуждающие поверхность зон памяти матрицы мозга потенциалы возникают рефлекторно и под влиянием самовозбуждающихся клеток астроглии мозга.

Участие нейронов старой коры, которые делятся митозом и образуют, скорее всего, уникальные кластеры на поверхности появляющихся *de novo* клеток серого вещества определяет важнейшее свойство личности – память, мнестическую функцию ЦНС. Нам следует в качестве рабочей гипотезы предложить авторскую схему запоминания в головном мозге высших млекопитающих животных и человека. Память у *Homo sapiens* реализуется через сопоставление возникающего раздражения в анализаторах ЦНС с электромагнитным эквивалентом внешнего, условно рефлекторного раздражителя, который возникал ранее и был консолидирован на матрице зубчатой извилины гиппокампа индивидуума. Безусловные рефлексы генетически детерминированы, они осуществляются на основе дипольной сети белков, синтезированных на основе врожденной матрицы видовой ДНК ядра и митохондрий индивидуума.

Взаимодействие токов смещения с участками индивидуальной матрицы лежит в основе нейропсихических процессов человека и его аффектов, приступов сильных эмоций. Концентрация сознания на травмирующих переживаниях, возникающих и повторяющихся на матрице мозга в виде ЭМЭ раздражителей, вызывающих нервное возбуждение от боли, страха, наконец, ярости, ужаса и отчаяния приводит к психическим расстройствам, разрушает личность, больные с конкретным психиатрическим синдромом становятся похожими.

Автоматические явления участвуют в выполнении мнестических функций, обеспечивают целостность и одновременно автономность частей биосистемы, в том числе вегетативной нервной системы, нейронов глии, лимбической системы, ретикулярной формации (*formation reticularis*) и стриатума мозга (*corpus striatum*) [43], [87], волокон поперечнополосатых и гладких мышц внутренних органов, проводящей системы сердца и его мышцы, миокарда. Так, введение адреналина повышает тонус *formation reticularis* и усиливает ее активирующее влияние на кору больших полушарий [83], [85], регулирует чередование периодов бодрствования и сна. Введение активированного копропорфирина вызывает автоматические сокращения почти переставшего сокращаться извлеченного миокарда земноводного на часовом стекле.

Головной мозг, используя ГЭБ и сокращающиеся стенки сосудов для регуляции транспорта веществ [83], [85], [87], активно поддерживает разность потенциалов на мембранах нейронов и аксонов, что радикально сказывается на многих функциях ЦНС. По сравнению с другими органами, мозг занимает уникальное положение именно благодаря наличию развитого ГЭБ, который сдерживает попадание многих веществ и частиц радикалов из крови в цереброспинальную жидкость и к крупным нейронам коры, участвующим в рефлекторной деятельности, независимо от нейронов астроглии, тесно примыкающей к стенке капилляров. Кровь и ГЭБ являются комплексным механизмом регулирования электромагнитного влияния на глию мозга из внутренней среды. Эндотелий и фибриллярный компонент ГЭБ разграничивают морфологически и функционально две разные среды: кровь и нервную ткань.

ГЭБ обеспечивает специализацию и функционирование крупных нейронов коры головного мозга, не соприкасающихся благодаря барьеру с сосудистой стенкой, т. е. находящихся вне прямого действия потока супероксида и электромагнитного влияния непосредственно из крови. Иными словами, вне значимых электромагнитных помех, энергетических влияний внутренней

среды живого организма, адресованной в первую очередь нейронам макроглии, но не крупным пирамидальным клеткам коры больших полушарий, участвующим в рефлекторной деятельности.

Астроциты глии адаптированы к восприятию потока АФК из крови и квантованной энергии переноса неспаренного электрона супероксидом через липопротеиновые пресинаптические мембраны. Клетки астроглии с увеличенной площадью поверхности, звездчатой формы нейроны, имеют прямой электромагнитный контакт с капиллярами, доставляющими кровь, а с нейронами коры мозга связаны через синапсы и с помощью генерируемого электромагнитного поля по дипольной сети матрицы. ГЭБ является одной из важнейших морфофункциональных адаптаций поверхности нейронов, серого вещества ЦНС, а точнее, дипольной сети матрицы мозга и капилляров конечного звена циркуляции крови в тканях мозга. Обсуждаемая адаптация является полифункциональной и обеспечивает, в частности, использование энергии одноэлектронного переноса в электромагнитной сигнализации, что и предопределяет самостоятельную, самовозбуждающуюся, иными словами, нерфлекторную автоматическую деятельность астроглии мозга и в целом нейроглиального комплекса. Самовозбуждающаяся активность клеток у человека, факт, принимаемый за аксиому [85], а термины «автоматия нейрона», «автоматия сердца», «автоматия гладких мышц» в физиологии давно распространены и широко используются [43], [85].

Влияние самовозбуждающихся клеток больших полушарий мозга на рефлекторную функцию соседних, погруженных в глию крупных нейронов неокортекса, не контактирующих в норме с кровеносными капиллярами, имеет в первую очередь электромагнитную, реализуемую через дипольную сеть поверхности, а также химическую природу взаимодействия клеток биосистемы, через синапсы. Кооперативное влияние нейронов мозга на эффекторы осуществляется в биосистеме постоянно посредством электромагнитных полей, потенциалов действия и событий в специальных межклеточных контактах, в том числе синапсах окончаний аксонов на поверхности мышц и на дендритах нервных клеток. Постсинаптический потенциал возникает, как недавно установлено, не в аксональном бугорке тела нервной клетки, а в начальном сегменте её аксона *AIS*, на поверхности которого концентрация канальных белков для натрия выше на два порядка [47], [49] по сравнению с поверхностью тела клетки. Значения адаптаций нейрона физиологам ЦНС еще предстоит понять и оценить.

Отдельные клетки лимбического мозга, вероятно, являются генераторами электрических потенциалов и эквивалентов внешних раздражителей в круге гиппокампа, что поддерживает там циркулирующее возбуждение, механизм памяти, как считают многие физиологи. На матрице в объеме старой коры существует электромагнитное поле, взаимодействующее с активными центрами поверхности размножающихся здесь на корковой пластинке нервных клеток, мелких клеток зубчатой извилины. Можно предположить, что при нейрогенезе в клетках извилины могут образовываться *de novo* специфические молекулы интегральных белков, формирующие на поверхности вновь возникающих мелких клеток фрактальные кластеры [77], [79] жидкокристаллической мембраны в составе матрицы мозга. Интегральные белки плазмалеммы являются структурными элементами липопротеиновой мембраны всех клеток организма.

Выработка специфического иммуноглобулина в ответ на новый антиген в принципе создаёт прецедент процесса запоминания адекватного ЭМЭ внешнего раздражителя новой информации, но уже в ЦНС. Аффинитет белковых антител (иммуноглобулинов) к антигену растёт в процессе выработки иммунитета в специальных клеточных центрах красного костного мозга млекопитающих, функционально идентичного бурсе птиц, которая располагается над клоакой в теле пернатых. По образному выражению иммунологов [109], специфический рецептор иммуноглобулин и антиген в результате длительной трехзвенной кооперации клеток иммунной системы подходят друг к другу, как «ключ к замку».

Нечто подобное теоретически можно предположить для оптимизации взаимодействия, узнавания биосистемой ЭМЭ нового внешнего раздражителя с поверхностью молекулы белка. В основе событий, вероятно, участвуют диффузионный поток АФК, оксид азота и синтез молекул структурного ионофильного белка на гранулярной эндоплазматической сети делящихся клеток зубчатой извилины.

Токи смещения в активных центрах мембраны отростков нервных клеток, начальных сегментов аксонов и перехватов Ранвье с высокой плотностью белков, адсорбирующих Na^+/K^+ , других, ориентированных к внутренней среде кластеров матрицы организма, модулируют и генерируют локальные потенциалы. Дипольная сеть поверхности клеток и волокон взаимодействует с электромагнитным полем и отвечает изменениями локальной поляризации на поверхности нейронов мантии мозга.

Физиологические и психические реакции организма обусловлены механическими, оптическими и электромагнитными явлениями на плазмалемме и консолидирующими связями нейронов, а также электромагнитными контактами мембран эндотелия капилляров с пресинаптической мембраной отростков астроглии. Состояние межтканевых ячеек дипольной сети белково-липидной матрицы мозга в пределах биохимической и физиологической нормы определяется конкретным набором генов в ядрах клеток, унаследованным от родителей генотипом, и совершенствуется при развитии фенотипа и обучении ребенка, усилении процессов торможения в нервной системе растущего организма.

Влияние на автоматическую активность клеток происходит так же через фильтрующуюся и поступающую в мозговую ткань жидкость и осуществляется с использованием энергии переноса электрона свободными радикалами и квантов излучения люминесцирующих сенсбилизаторов крови. ГЭБ является кооперативной морфофизиологической адаптацией нервной ткани и кровеносных сосудов, служит для разобщения электромагнитных раздражений клеток астроглии, связанных через синапсы с другими нейронами серого вещества большого мозга. Барьер разделяет сигналы, передаваемые к нейронам коры по нервам через таламус и диффузионные потоки анион-радикалов кислорода из крови на пресинаптические мембранные окончания отростков астроглии, обеспечивающие самовозбуждение и влияние глии на постсинаптические мембраны головного мозга и нейроны спинного, ответственные за спинальные рефлекссы.

Иными словами, ГЭБ обеспечивает раздельное функционирование нейронов ЦНС, обеспечивающих рефлекссы, и клеток астроглии, которые воспринимают энергию неспаренных электронов радикалов, источника электромагнитного возбуждения, влияющего на пресинаптическую мембрану астроцитов и через их синапсы на нейроны коры и спинной мозг, обеспечивая возбуждение и функциональную активность эффекторов. Автономное возбуждение по замкнутому кругу – прерогатива лимбического мозга, в центре которого находится гиппокамп и присутствует электромагнитное поле.

Память, функция серого вещества старой и новой коры специализированных зон больших полушарий, а также стриатума, серое вещество *corpus striatum* располагается на дне переднего мозга. Память, важнейшее свойство матрицы, в том числе поверхности полупроводниковых кристаллов, осуществляемое при взаимодействии энергии переноса электрона с поверхностью кристаллов или нейронов зрительной, слуховой и других форм памяти, находящихся изначально под влиянием условно рефлекторных раздражителей и консолидации их

ЭМЭ на фрактальных кластерах плазмалеммы. Иными словами, переходом введенной в мозг информации из кратковременной памяти в долговременную.

Энергетическое влияние на рефлекторную и самовозбуждающуюся деятельность нейронов новой и старой коры может возникать при взаимодействии электромагнитных явлений с дипольной сетью клеточной поверхности, которая сохраняет следы памяти в результате взаимодействий полей с поверхностью белково-липидной матрицы и возбуждении ЭМЭ внешних раздражителей. Нейроны коры больших полушарий влияют на деятельность спинного мозга, наиболее древнего отдела ЦНС позвоночных животных и человека, через вентральные корешки сегментов которого проходят рефлекторные дуги к скелетным мышцам и осуществляется регуляция внутренних органов.

Главный центр интеграции функций у млекопитающих, где происходит анализ ЭМЭ, поступающих от рецепторов органов чувств, располагается в неокортексе больших полушарий, поэтому мозг этих животных и человека относят к «мамалийному» типу [83], [87]. У рептилий и птиц [108], [110] мозг «зауропсидного» типа, центр интеграции находится в основании переднего мозга, так называемых полосатых, слоистых телах. «Ихтиопсидный» тип мозга [83] у первично водных животных, рыб и земноводных [107], [108], высший центр интеграции функций находится у них в среднем отделе мозга. С промежуточным отделом головного мозга у позвоночных связаны железы эпифиз и гипофиз, здесь же расположен гипоталамус.

Строение ГЭБ с отдельными вариациями сохраняется во всех отделах головного мозга, кроме гипоталамо-гипофизарной области, здесь базальная мембрана снабжена перикапиллярными пространствами (вероятно, резонаторами), а барьер обильно фенестрирован. Значение ГЭБ для прогрессивной эволюции ЦНС млекопитающих можно сравнить со значением разделения артериального и венозного кровотока на уровне сердца у зверей и птиц для усиления работы кровеносной системы и нейроглиального комплекса мозга. Приведенное сравнение правомерно, если рассматривать обе группы адаптаций в мозге и сердце с позиций возрастающего влияния диффузионного потока АФК из крови позвоночных, содержащей гемоглобин, а не медьсодержащий переносчик кислорода [49] на поверхность матрицы. Дипольная сеть биосистемы развивается за счёт растущих мембран делящихся клеток старой коры мозга, складчатой внутренней поверхности аурикул сердца, наружных мембран волокон поперечнополосатой и гладкой мускулатуры и далее.

Одноэлектронный перенос является одним из главных источников энергии электромагнитных, оптических и механических колебательных явлений *in vivo* во внутренней среде и жидкокристаллической матрице хордовых животных, поддерживает и регулирует потенциалы на клеточных мембранах и определяет многие автоматические физиологические и психические акты у человека. Отдаленные от кровеносных капилляров и артериол нейроны ЦНС обеспечивают рефлекс, их участие в высшей нервно-психической деятельности носит, можно сказать, вторичный характер и проявляется наиболее полно у *Homo sapiens* с увеличенным объёмом нейроглиального комплекса головного мозга с огромным количеством синапсов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диффузионный поток анион-радикалов кислорода из внутренней железосодержащей среды позвоночных животных и человека является энергетическим фактором влияния на индивидуальное и историческое развитие ядерных организмов, модулирует электрические потенциалы клеточных мембран, участвует в качестве триггера в возбуждении потенциала действия и электромагнитных полей индукции в объемах дипольной сети матрицы биосистемы.

Колебательные явления на уровне третичной структуры белков плазмалеммы клеток в широком диапазоне частот представляют собой реакцию на перенос неспаренного электрона радикалом и являются составляющей частью самозащиты организма от разрушительного действия радикалов при нарушении баланса между ОС и АОС

Перенос неспаренного электрона радикалом в потоке отрицательно заряженных частиц из внутренней среды через активные центры плазмалеммы определил выработку морфофункциональных адаптаций на уровне различных мембран с пониженной размерностью, клеток, тканей и органов биосистемы, обеспечил автоматию сокращений сердца и самовозбуждение нейронов астроглии ГЭБ мозга, важнейшей адаптации ЦНС высших позвоночных животных и человека.

Одноэлектронный перенос радикалом является по сути постоянным фактором внутренней среды и механизмом нейрогуморальной регуляции и коммуникации клеток биосистемы за счет энергетических квантов электромагнитных, оптических и механических осцилляций при взаимодействии диффузионного потока частиц из крови и производных жидкостей с белково-липидной матрицей организма.

Процессы формирования поверхностных образований и локальная деполаризация энергетически неоднородных структур имеют много общего. Упорядоченность и системная устойчивость поверхностных формирований пористого кристалла и дипольной сети плазмалеммы клеток на основе билипидного слоя возможна только в том случае, когда процесс образования изоморфных структур минерала и жидкокристаллической мембраны клеток во времени обладают свойством памяти.

Электромагнитные эквиваленты внешних раздражителей возникают на консолидированной поверхности жидкокристаллической матрицы нервных и других клеток под влиянием потока анион-радикалов из внутренней среды и переноса электрона через липопротеиновые мембраны клеток.

Энергетическая неоднородность поверхности электровозбудимых клеток позволяет организму запоминать и различать электромагнитные эквиваленты внешних раздражителей и обеспечивает автоматический режим включения ряда функций у человека и животных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Листов М. В., Торопов Д. К., Родионов Г. Г. Экспериментальное обоснование свободнорадикальной этиологии системных заболеваний соединительной ткани на моделях полимиозита и гемозависимого экзофтальма // ДАН. 2007. Т. 414. №5. С. 715–717.
2. Ферментзависимая модель полимиозита у мышей линии DBA/2 / М. В. Листов, М. М. Одинак, Н. Д. Клочков, Л. П. Тихонова // ДАН. 1999. Т. 366. №2. С. 269–270.
3. Мамыкин А. И., Мошников В. А, Ильин А. Ю. Магнитно-резонансная спектроскопия пористых квантово-размерных структур // ФТП. 1998. Т. 29. № 10. С. 356–358.
4. Листов М. В. Химическая защита у членистоногих и изменчивость организмов. Л.: Наука. 1989. 157 с.
5. Основы биохимии / А. Уайт, Ф. Хендлер, Э. Смит и др.; пер. с англ. М.: Мир. 1981. Т.2. 619 с.
6. Берестеная А. Н. Метилирование как важнейший механизм эпигенетической регуляции у эукариот // Успехи соврем. биол. 2014. Т.134. № 4. С.363–376.
7. Абрагам А., Блини Б. Электронный парамагнитный резонанс переходных ионов. М.: Мир. 1972. Т. 1.651 с.
8. Экспериментальное моделирование патологических состояний со свободно-радикальной этиологией и их математическое описание / Г. Г. Родионов, Н. Н. Плужников, М. В. Листов, А. И. Мамыкин // Высокоинтенсивные физические факторы в биологии, медицине, сельском хозяйстве и экологии: труды международной конференции. ФГУП Российский федеральный ядерный центр, ВНИИЭФ. Саров, 2009. С. 88–97.
9. DNA methylation and genetic analysis of genus *Cycas* in Thailand / C. Eung, T. Kanchanaketu, N. Sangduen, et al. // African J. of Biotechnol. 2012. Vol. 11. № 4. P. 743–751.
10. Msogoya T. J., Grout B. W. Cytosine DNA methylation changes stress responses in tissue culture derived banana plants // J. of Applied Biosciences. 2012. Vol. 49. P. 3383–3387.
11. Kapazoglou A., Tsiftaris A. Epigenetic chromatin regulators as mediators of abiotic responses in Cereals // Agricultural and Biological Sciences. Abiotic Stress in Plants – Mechanisms and adaptations. 2011. 428 p.
12. Iyer L. M., Abhiman S., Aravind L. Natural history of eukaryotic DNA methylation systems // Prog. Mol. Biol. Transl. Sci. 2011. Vol. 101. P. 25–104.

13. Листов М. В., Мамыкин А. И. Организм как биосистема, адаптированная к использованию квантованной энергии транспорта электрона свободными радикалами // Вестн. Рос. воен.-мед. акад. 2016. Вып.4 (56). С. 200–204.
14. Fridovich I. Superoxide dismutases // Ann. Rev. Biochem. USA. 1975. Vol. 44. P. 147–159.
15. Young I. S., McEneaney J. Lipoprotein oxidation and atherosclerosis // Biochem. Soc. Trans. 2001. Vol. 29. №2. P. 358–362.
16. Краткая медицинская энциклопедия. В 3 т. М.: Советская энциклопедия, 1989.
17. Листов М. В., Мамыкин А. И. Фото- и химическая активация одноэлектронного переноса при моделировании патологий на мышцах линии *DBA/2* // ДАН. Физиология. 2011. Т. 439. №6. С. 841–843.
18. Бохински Р. Современные воззрения в биохимии. М.: Мир. 1987. 544 с.
19. Одинак М. М., Вознюк И. А. Нарушения кровообращения головного мозга. Медикаментозная коррекция повреждений сосудистого русла. СПб.: Изд-во ВМедА. 2002. 80 с.
20. Одинак М. М., Вознюк И. А., Янишевский С. Н. Ишемия мозга. Нейропротекторная терапия. Дифференцированный подход. СПб.: Изд-во ВМедА, 2002. 77 с.
21. Листов М. В. Мамыкин А. И. Роль анион-радикала кислорода в механизмах возбуждения миокарда и его патогенетическое воздействие в несбалансированных биологических системах // Клиническая патофизиология. 2015. № 2. С. 48–52.
22. Листов М. В. Мамыкин А. И. Концентрация свободных радикалов в организме млекопитающих в условиях изменения активности супероксид-генерирующей и антиоксидантной систем // Вестн. Рос. воен.-мед. акад. 2014. № 1 (45). С. 121–126.
23. Листов М. В., Мамыкин А. И., Тихонова Л. П. Экспериментальное моделирование полимиозита формы Вагнера–Унферрихта: физиологические, физические и математические аспекты // Вестн. Рос. воен.-мед. акад. 2012. № 4 (40). С. 153–159.
24. Мамыкин А. И., Листов М. В. Кинетика релаксации свободных радикалов и перенос электрона в жидких субстанциях организма // Изв. СПб ГЭТУ «ЛЭТИ». 2010. № 3. С. 55–59.
25. Листов М. В., Мамыкин А. И. Анион-радикал кислорода, как фактор деполяризации и возбуждения клеточных мембран // Клиническая патофизиология. 2014. № 3. С. 34–39.

26. Листов М. В., Мамыкин А. И. Продолжительность жизни эукариотической клетки под действием потока свободных радикалов из жидкостей организма // Клиническая патофизиология. 2014. № 4. С. 56–61.

27. Mamykin A., Listov M., Rassadina A. Sensor Properties of Cellular Membrane // Sensorica 2017. IEEE WORKSHOP Industrial and Medical Measurement and Sensor Technology. June, 2017. Mulheim an der Ruhr. P. 60–61.

28. Листов М. В., Мамыкин А. И. Экспериментальная модель оксидативного стресса при хроническом нарушении баланса радикалов в биосистеме: полимиозит формы Вагнера–Унферрихта // Вестн. Рос. воен.-мед. акад. 2018. №4 (64). С. 117–122.

29. Мамыкин А. И. Листов М. В., Рассадина А. А. Спектроскопия особенностей переноса электрона свободными радикалами в норме и патологии // Вестник нов. мед. технол. 2017. Т. 11. № 2. С. 259–266.

30. ИК-спектроскопия биологических жидкостей при моделировании патологий со свободно-радикальной этиологией / М. В. Листов, А. И. Мамыкин, А. Ю. Кондаков, А. Б. Селезнев // Инновационная деятельность в Вооруженных силах РФ: Тр. Всеармейской научно-практ. конф. СПб: Изд-во Военной академии связи, 2012. С. 188–192.

31. К вопросу об экспериментальном моделировании полимиозита / М. В. Листов, И. В. Гайворонский, Л. П. Тихонова и др. // Усовершенствование способов и аппаратуры, применяемых в учебном процессе, медико-биологических исследованиях и клинической практике: сб. науч. тр. СПб.: Изд-во ВМА. 2003. № 34. С. 38–41.

32. Геннис Р. Биомембраны. Молекулярная структура и функции; пер. с англ. М.: Мир, 1997. 624 с.

33. Догель Л. В. Классификация и лечение полимиозита // Л.: Медицина, 1973. 104 с.

34. Центральная и висцеральная гемодинамика у больных с осложненным течением инфаркта миокарда / А. В. Гордиенко, А. И. Сердюков, М. В. Сергеев и др. // Вестн. Рос. воен.-мед. акад. 2011. №1 (33). С. 93–97.

35. Фибрилляция предсердий: эндогенные ионотропные факторы у больных ишемической болезнью сердца с различными вариантами течения аритмии / С. С. Власов, А. Н. Морозов, А. Н. Куликов и др. // Вестн. Рос. воен.-мед. акад., 2011. №.2 (34). С. 79–83.

36. Возможности оценки симпатической активности сердца и вариабельности ритма у больных с фибрилляцией предсердий / А. С. Свистов, С. Л. Гришаев, К. Н. Ткаченко и др. // Вестн. Рос. воен.-мед. акад., 2011. № 3 (35). С. 116–120.

37. Особенности ишемии миокарда у больных сахарным диабетом 2 типа в сочетании с ишемической болезнью сердца по данным суточного мониторинга электрокардиограммы / Е. А. Богданова, С. Б. Шустов, А. С. Свистов и др. // Вестн. Рос. воен.-мед. акад., 2011. №1(37). С. 44–48.

38. Листов М. В., Мамыкин А. И. Формирование пористой структуры в жидкокристаллической матрице клеточной оболочки в процессе одноэлектронного переноса свободными радикалами // Клиническая патофизиология. 2014. №1. С. 74–76.

39. Мамыкин А. И., Листов М. В. Одноэлектронный механизм проведения и блокировки нервного импульса. Опиостотонус как неврологический симптом // На стыке наук: матер. I Межд. науч. Интернет-конф. Физ.-хим. сер. Казань, 24 – 25 января 2013 г. Т. 1. С. 185–191.

40. Механизмы роста и структура адсорбционного слоя воды на поверхности пористого кремния / Д. П. Власюк, А. И. Мамыкин, В. А. Мошников, Е. Н. Муратова // Физика и химия стекла. 2015. Т. 41. № 5. С. 745–752.

41. Листов М. В., Мамыкин А.И. Экспериментальное моделирование патологий на мышцах линии *DBA/2*. Проведение и блокировка нервного импульса // Инновационная деятельность в вооруженных силах РФ: тр. всеармейской науч.-практ. конф. СПб.: Изд-во Военной академии связи, 2011. С. 189–191.

42. Исследование поверхностных аквакомплексов в пористых кристаллах методом ядерного магнитного резонанса / А. И. Мамыкин, Н. М. Малышев, В. И. Марголин, В. А. Тупик // Нанотехника. 2009. № 1 (17). С. 99–103.

43. Словарь физиологических терминов / Н. А. Агаджанян и др.; отв. ред. О. Г. Газенко. М.: Наука. 1987. 446 с.

44. Новиков О. В., Проценко И. М. Изучение процессов торможения в нервном волокне под действие электромагнитного поля // Изв. Рос. воен.-мед. акад. 2018. № 1 S1-2 (37). С. 89–92.

45. Гипергомоцистемия при болезни Паркинсона – новый вариант осложнений проводимой терапии или специфический биохимический фактор заболевания? / И. В. Литвиненко, М. М. Одинак, О. С. Сологуб, В. И. Могильная и др. // Анналы клин. и экспер. неврологии. 2008. Т. 2. №2. С. 13–17.

46. Corticohippocampal Dysfunction in The Ovdn Mouse Model of Primary Oligodendrogliopathy/ D. Z. Radecki, E. L. Johnson, A. K. Brown at al. // Sci. Rep. 2018. 31 oct, 8 (1): 16116.

47. Mutaration Dynamics of the Axon Initial Segment (AIS) of Newborn Granula Cells in Young Adult C₅₇Bl/6J Mice/ M. Bolos, J. Terreros-Roncal, J. R. Perea at al. // J. Neurosci. 2019. V. 39. No9. P.1605–1620.

48. Action potential generations requires a high sodium channel density in the axon initial segment / M. H. Kole, S. U. IIschneaner, B. M. Kampa at al. // Nat Neurosis. 2008. V.11. No2. P.178–186.

49. Action potentials initiate in the axon initial segment and propagate through axon collaterals reliably in cerebellar Purkinje neurons / A. Foust, M. Popovic, D. Zecevic at al. // J. Neurosci. 2010. V.30. No20. P.6891–6902.

50. Хоулт Дж. Краткий определитель бактерий Берги / пер. с англ.; под ред. Г. А. Заварзина // М.: Мир. 1997. 495 с.

51. Lind C., Hochstein P., Ernster L. DT-diaphorase as quinine reductase: a cellular control device against semiquinone and superoxide radical formation // Arch. Biochem. Biophys. 1982. Vol. 216. No1. P. 178–185.

52. Ландау Л. Д., Лифшиц Е. М. Теоретическая физика. Статистическая физика. Т. 5. // М.: Наука. 1976. 584 с.

53. Динамика формирования патогенерирующей дозы свободных радикалов при моделировании гемозависимого экзофтальма по данным ИК-спектроскопии / М. В. Листов, А. И. Мамыкин, А. Ю. Кондаков, А. Ю. Селезнев // Усовершенствование способов и аппаратуры, применяемых в учебном процессе, медико-биологических исследованиях и клинической практике. СПб.: Изд-во ВМА, 2013. Вып. 44. С. 108–110.

54. Листов М. В., Мамыкин А. И. Экспериментальное моделирование гемозависимого экзофтальма // Вестн. Рос. воен.-мед. акад. 2013. № 2 (42). С. 120–125.

55. Ауэрбахт Ш. Проблемы мутагенеза. М.: 1978. 464 с.

56. Листов М. В., Мамыкин А. И. Онкологические аспекты одноэлектронного переноса в митохондриальных и клеточных мембранах и матриксе // Медицина в XXI веке: тенденции и перспективы. II Межд. научная Интернет-конф. Казань, 19–20 апреля 2013 г. Т. 2. С. 43–46.

57. Листов М. В. Секреция защитных желез у жуков как саногенетический механизм выживаемости в условиях враждебного микробиоценоза // Изв. Рос. воен.-мед. акад. 2018. № 1. С. 41–49.

58. Листов М. В. Эволюционные и экологические аспекты секреторной активности защитных желез членистоногих животных: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук / Инст. эволюц. физиол. и биохим. им. И. М. Сеченова РАН. СПб. 1992.

59. Листов М. В. Микроспоридиоз и кокцидиоз – протозойные заболевания малых хрущаков (Coleoptera, Tenebrionidae) // Паразитология. 1976. Т. 10. № 3. С. 268–273.

60. Listov M. V. Chemical defense in arthropoda and its probable role in evolution. I. Structure and function of defense glands. Entomological review. Silver Spring: 1982. Vol. 61. N 4. P.126–140.

61. Listov M. V. Chemical defense in arthropoda and its probable role in evolution. II. Genetic activity of some component of defensive exudates of arthropods. Entomological review. English. Silver Spring: 1983. Vol. 62. N 4. P. 166–189.

62. Листов М. В., Мамыкин А. И. Интенсивность потока свободных радикалов на плазмалемму при меняющейся концентрации свободных радикалов в биологической системе / М. В. Листов, А. И. Мамыкин // Инновационная деятельность в Вооруженных силах РФ: Тр. всеармейской научно-практ. конф. СПб: Изд-во Военной академии связи.: 2013. С. 209–213.

63. Макагун В. Н. Химия неорганических гидратов // Минск.: Изд-во НАН Белоруссии, 1985. 246 с.

64. Кухлинг Х. Справочник по физике / пер. с нем.; под ред. Е. М. Лейкина. М.: Мир. 1982. 520 с.

65. Hubbard J. Electron correlation in narrow energy bands // Proc. R. Soc. A. 1964. Vol. 281. P. 401–407.

66. Anderson P.W. The resonating valence bond state in La_2CuO_4 and superconductivity // Science. 1997. Vol. 235. P. 1196–1199.

67. Изюмов Ю. А. Магнетизм и сверхпроводимость в сильно коррелированной системе // УФН. 1991. Т. 161. Вып 11. С.1–46.

68. Соколов В. С. Электрические потенциалы, возникающие при адсорбции фрагментов мембран с *Na*, *K*, *АТФ*-азой на липидных бислоях // Биол. мембраны. 2007. №24. С.333–347.

69. Габуда С. П., Ржавин А. Ф. Ядерный магнитный резонанс в кристаллогидратах и гидратированных белках. Новосибирск.: Изд-во Новосиб. ун-та. 1978. 160 с.

70. Mamykin A. I., Moshnikov V. A., Iljin A. J. Surface diffusion and double electric layer of sorbed water molecules in porous silicon // Abstr. of MRS Meeting. Boston. USA. 1994. P. 358–362.

71. Мамыкин А. И., Вяткин В. М., Сердюк А. С. Радиоспектроскопия двойного электрического слоя на поверхности пористого кремния // 54-я науч.-техн. конф. НТОРЭС им. А. С. Попова. СПб. 1999. С. 25–30.

72. Oxidation of porous silicon under water vapor environment/ Y. Ogata, N. Hiroyuki, T. Sakka, M. Iwasaki // J. Electrochem. Soc. 1995. Vol. 142. N 5. P. 1595–1601.

73. Исследование структуры поверхности пористого кремния методом ЯМР / А. И. Мамыкин, В. А. Мошников, А. Ю. Ильин и др. // ФТП, 1995. Т. 29. № 10. С. 1874–1877.

74. Влияние межфазной границы на плавление льда в гетерогенных системах / В. И. Квливидзе, А. А. Ананян, А. В. Краснушкин, А. Б. Курзаев // Связанная вода в дисперсных системах. Вып. 3. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1974. С. 120–126.

75. Мамыкин А. И. Магнитная диполь-дипольная релаксация протонов монослоя воды, сорбированной в пористом кремнии // Изв. ГЭТУ. Сер. физ., хим., мат. 2000. № 1. С. 9–13.

76. Зацепина Г. Н. Свойства и структура воды. М.: Наука, 1974. 167 с.

77. Смирнов Б. М. Физика фрактальных кластеров. М.: Наука, 1991. 136 с.

78. Моррисон С. Химическая физика поверхности твердого тела. М.: Мир, 1980. 488 с.

79. Мамыкин А. И., Шишкина М. Н. Формирование структур пониженной размерности на энергетически неоднородной поверхности полупроницаемых мембран // Изв. СПбГЭТУ «ЛЭТИ», 2020. №2. С. 46–51.

80. Мамыкин А. И. Ядерный магнитный резонанс в гидратных слоях пористых кристаллов: дис. ... д-ра физ.-мат. наук: 01.04.03 / СПб гос. ун-т. СПб, 2001. 265 с.

81. Соколов И. М. Размерности и другие геометрические критические показатели в теории протекания // УФН, 1986. Т. 150. № 2. С. 221–255.

82. Зельдович Я. Б. Соколов Д. Д. Фракталы, подобие, промежуточная асимптотика // УФН, 1985. Т. 146. № 3. С. 493–506.

83. Псеунок А. А. Анатомия мозга. Майкоп.: Аякс. 2003. 110 с.

84. Афанасьев Ю. И. Гистология, эмбриология, цитология: учеб. 6-е изд. М.: ГЭОТАР Медиа. 2013. 448 с.

85. Апчел В. Я. Голубев В. Н. Физиология человека: учеб. СПб.: Изд-во ВМедА, 2015. 476 с.
86. Вилли К., Детье В. Биология. М.: Мир. 1974. 822 с.
87. Анатомия человека / М. Г. Привес, Н. К. Лысенков, В. И. Бушкович; под ред. М. Г. Привеса // Л.: Медицина. 1974. 671с.
88. Мусил Я., Новакова О., Кунц К. Современная биохимия в схемах М.: Мир, 1984. 216 с.
89. Шмальгаузен И. И. Проблемы дарвинизма. Л: Наука. 1969. 493 с.
90. Константинов В. М., Наумов С. П., Шаталова С. П. Зоология позвоночных: учеб. М: Академия. 2000. 496 с.
91. Левушкин С. И., Шилов И. А. Общая зоология: учеб. М.: Высш. шк.,1994. 432 с.
92. Брем А. Жизнь животных. Л.: Лениздат. 2012. 1120 с.
93. Kusche K., Ruhberg H., Burmester T. A hemocyanin from the Onychophora and the emergence of respiratory proteins // Proc Natl Acad Sci USA. 2002. Vol. 99, N 16. P. 10545–10548.
94. Ghiretti-Magaldi A., Ginette F. The pre-history of hemocyanin. The discovery of copper in the blood of mollusks // Cellular and Molecular Life Sciences. 1992. Vol. 48, N 10. P. 971–72.
95. Burmester T., Scheller K. Common Origin of Arthropod Tyrosinase, Arthropod Hemocyanin, Insect Hexamerin, and Dipteran Arylphorin Receptor // Journal of Molecular Evolution. 1996. Vol. 42, N 6. P. 713– 28.
96. Hagner-Holler S. A respiratory hemocyanin from an insect // Proc Natl Acad Sci. 2004. Vol. 101, N. 3. P. 871–74.
97. Житенева Л. Д., Макаров Э. В., Рудницкая О. В. Эволюция крови / Азовский НИИ рыб. хоз. Ростов н/Д, 2001. 104 с.
98. Minireview: Recent progress in hemocyanin research / Decker H., Hell N., Jaenicke E. at al. // Integr. and Compar. Biology. 2007. Vol. 47, N 4. P. 631–644.
99. Monod J., Wyman J., Changeux J. On the nature of allosteric transitions: a plausible model // J. Mol Biol. 1965. N 12. P. 88–118.
100. Robert C. Nesting: haerarchies of allosteric inerractions // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1987. N 84. P. 1891–1895.
101. Decker H., Rimke T. Tarantula Hemocyanin Shoaws Phenoloxidase Activity // J. Biol. Chem. 1998. Vol. 273, N 40. P. 25889–25892.
102. Pugh Ch. W., Ratcliffe P. G. Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system // Nature Medicine. 2003. Vol. 9. N 6. P.677–684.

103. Нельсон Д. Кокс М. Основы биохимии Лененджера. В 3-х т. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011.

104. Ярыгин В. Н. Биология: учеб. в 2 т. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. Т. 2. 560 с.

105. Колесникова Л. И. Динамика изменения некоторых компонентов системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты у военнослужащих первого года службы // Вестн. Рос. воен.-мед. акад. 2013. № 2 (42). С. 116–119.

106. Гусев В. А. Свободнорадикальная теория в парадигме геронтологии // Успехи геронтологии. 2000. № 4. С. 271–272.

107. Жизнь животных. Рыбы. Т. 4, ч. 1 / под ред. Т. С. Расса. М.: Просвещение, 1971. 655 с.

108. Жизнь животных. Земноводные, пресмыкающиеся. Т. 4, ч. 2 / под ред. А. Г. Банникова. М.: Просвещение, 1969. 485 с.

109. Купер Э. Сравнительная иммунология; пер. с англ. / под ред. Н. Г. Хрущева // М.: Мир. 1980. 424 с.

110. Жизнь животных. Птицы. Т. 5 / под ред. Н. А. Гладкова, А. В. Михеева. М.: Просвещение. 1970. 612 с.

111. Pilson M.E.Q. Variation of hemocyanin concentration in the blood of four species of *Haliotis* // The Biological Bulletin. 1965. Vol. 128. P. 459–72.

112. Свидерский В. Л. Основы нейрофизиологии насекомых. М.: Наука. 1980. 279 с.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	3
1. Свободные радикалы и нейрогумолярная регуляция основных функций биосистемы.....	9
2. Экспериментальная модель полимиозита Вагнера–Унферрихта.....	24
3. Экспериментальное и математическое моделирование патологических состояний свободно-радикальной природы.....	44
4. Свободные радикалы и природный мутагенез.....	68
5. Поверхностные состояния клеточной мембраны и нейрогуморальная регуляция функций организма.....	84
6. Фрактальные структуры дипольной матрицы плазмалеммы.....	104
7. Фото и химическая активация одноэлектронного переноса.....	114
8. Свободные радикалы как фактор деполяризации и возбуждения липопротеиновой мембраны	124
9. Радикалы-антагонисты: супероксид и оксид азота.....	140
10. Автоматия сердца и нейронов глии мозга.....	152
11. Адаптации биосистем к использованию энергии переноса электрона и внешних раздражителей. Кровь и гемоциркуляторное русло.....	168
12. Адаптации биосистем к использованию энергии переноса электрона и внешних раздражителей. Центральная нервная система и гематоэнцефалический барьер.....	196
Заключение.....	217
Список литературы.....	218

Научное издание

Листов Михаил Владимирович
Мамыкин Александр Иванович

**Свободные радикалы и перенос электрона
в биосистемах и полупроводниках**

Компьютерная верстка О. А. Маткеримовой

Редактор М. Б. Шишкова

Подписано в печать 08.10.21. Формат 60×84 1/16. Бумага офсетная.

Печать цифровая. Гарнитура «Times New Roman». Печ. л. 14,25.

Тираж 500 экз. (1-й завод 1–50 экз.) Заказ .

Издательство СПбГЭТУ «ЛЭТИ»
197376, С.-Петербург, ул. Проф. Попова, 5