

Экспериментальные доказательства роли физико-химических факторов в механизме биологического действия сверхмалых доз

И. А. Ямсков, В. П. Ямскова, А. Н. Даниленко, З. С. Клеменкова, Б. Г. Антипов, Ф. Р. Черников, М. М. Гусынина, Е. Ю. Рыбакова

ИГОРЬ АЛЕКСАНДРОВИЧ ЯМСКОВ — доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией физиологически активных биополимеров Института элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова РАН (ИНЭОС РАН). Область научных интересов: биомедицинская химия, химия высокомолекулярных соединений.

117813 Москва, ул. Вавилова 28, ИНЭОС РАН, тел. (095)135-50-37.

ВИКТОРИЯ ПЕТРОВНА ЯМСКОВА — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной дифференцировки Института биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН. Область научных интересов: молекулярная и клеточная биология, биология развития.

АНАТОЛИЙ НИКОЛАЕВИЧ ДАНИЛЕНКО — старший научный сотрудник лаборатории полисахаридных систем Института биохимической физики им. Н. М. Эмануэля РАН. Область научных интересов: термодинамические свойства биополимеров.

ЗИНАИДА СЕРГЕЕВНА КЛЕМЕНКОВА — научный сотрудник лаборатории молекулярной спектроскопии ИНЭОС РАН. Область научных интересов: молекулярная физика и биофизика.

БОРИС ГЕННАДИЕВИЧ АНТИПОВ — научный сотрудник лаборатории механизмов химических реакций ИНЭОС РАН. Область научных интересов: молекулярная физика и биофизика.

ФЕДОР РОМАНОВИЧ ЧЕРНИКОВ — кандидат медицинских наук, начальник лаборатории технических средств контроля АОЗТ «Эдас». Область научных интересов: биофизика, исследование физико-химических свойств растворов веществ в сверхмалых концентрациях.

МАРГАРИТА МИХАЙЛОВНА ГУСЫНИНА — инженер лаборатории физиологически активных биополимеров ИНЭОС РАН. Область научных интересов: химия и биохимия физиологически активных соединений.

ЕЛЕНА ЮРЬЕВНА РЫБАКОВА — старший лаборант лаборатории клеточной дифференцировки Института биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН. Область научных интересов: молекулярная и клеточная биология.

«Малый матрикс» как канал в проведении информационного сигнала

Ранее нами были сформулированы представления о механизме возникновения эффекта биологически активных веществ в сверхмалых дозах (СМД) [1, 2]. Эти представления принципиально отличаются от других объяснений феномена СМД [3—7] и главное отличие заключается в том, что отрицается необходимость физического переноса одиночных молекул биологически активных веществ для проявления ими соответствующих эффектов СМД. Мы предположили, что в основе действия физико-химических факторов в механизме биологического эффекта СМД лежит изменение пространственной организации микроокружения клетки — микрогетерогенного геля, названного малым матриксом. Малый матрикс заполняет вне- и внутриклеточное пространство, в него погружены соответственно конструкция внеклеточного матрикса, клеточные органеллы и цитоскелет. Малый матрикс межклеточного пространства объединяет все клетки, входящие в гистоструктуру соответствующего органа, в

единую функционирующую систему и обеспечивает поддержание ее целостности. Мы полагаем, что малый матрикс микроокружения клетки обеспечивает восприятие, распространение по структуре органа и затем уничтожение поступившего извне информационного сигнала [2].

Благодаря способности изменять свою пространственную организацию малый матрикс инициирует или, наоборот, блокирует развитие того или иного каскада молекулярных взаимодействий, которые являются материальной основой восприятия и распространения информационного сигнала по структуре ткани. Вариабельность пространственной организации малого матрикса обуславливает возможность соответствующих конформационных изменений молекул-участников данного каскада событий, связанных с распространением информационного сигнала.

Способность малого матрикса достаточно быстро изменять свою пространственную организацию определяется свойствами его компонентов — низкомолекулярных белков и воды, представленных в виде континуальных систем [2].

Низкомолекулярные адгезивные белки

С явлением СМД мы столкнулись в 70-х годах, исследуя адгезивные белки из тканей млекопитающих [8—11]. Тогда было установлено, что адгезивные белки из печени и легкого крыс оказывают мембранотропное действие в концентрациях 10^{-8} — 10^{-9} мг белка/мл и влияют на клеточную адгезию при содержании 10^{-11} — 10^{-12} мг белка/мл. В дальнейшем было показано, что обнаруженные нами адгезивные белки являются низкомолекулярными гликопротеинами, степень гликозилирования достигает 50—60%. По способности сохраняться в растворимом состоянии в насыщенном растворе сульфата аммония идентифицированные адгезивные гликопротеины могут быть сопоставлены с S100 белками [12—16].

Низкомолекулярные адгезивные гликопротеины, согласно данным метода изоэлектрофокусирования, условно делятся на три основные группы: кислые, нейтральные и основные (рис.1). Такое распределение адгезивных белков типично для исследованных нами тканей органов: крови, печени, легкого, сердца, тимуса, мозга, сетчатки и ретиального пигментного эпителия глаза. При этом во всех тканях кислые и основные адгезивные белки доминируют по сравнению с нейтральными.

Наиболее изучен нами белок из сыворотки крови млекопитающих с изоэлектрической точкой в области рН 4,6—4,7, относящийся к группе условно нейтраль-

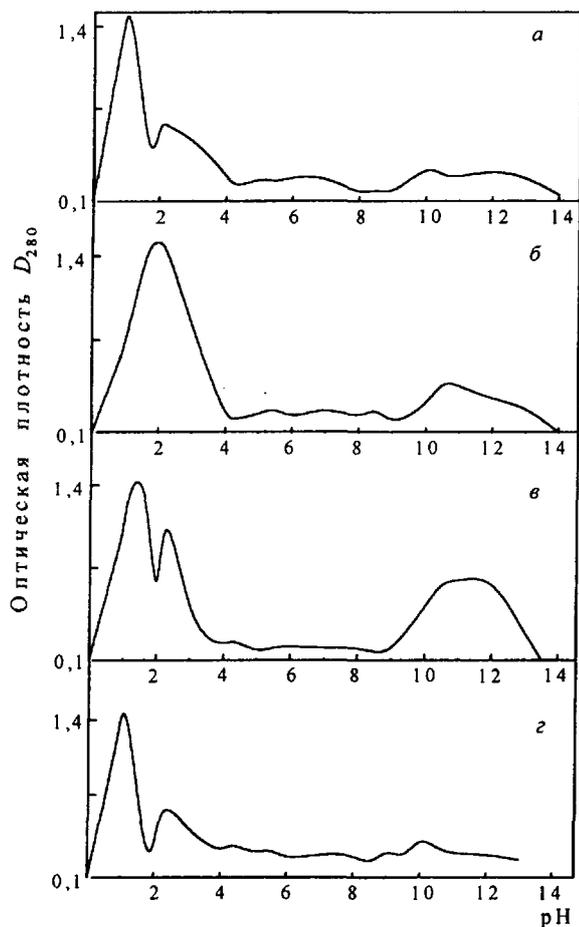


Рис. 1. Кривые изоэлектрофокусирования супернатантов экстрактов тканей млекопитающих:

а — печень; б — легкое; в — тимус; г — сыворотка крови. Детектирование по оптической плотности D_{280}

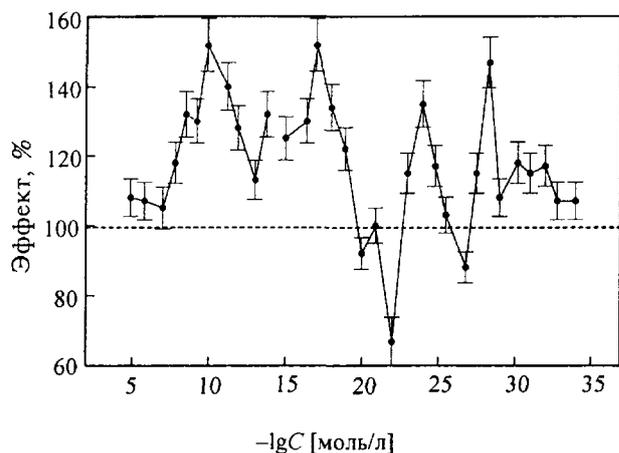


Рис. 2. Зависимость вязкоупругих свойств плазматической мембраны гепатоцитов мышей от концентрации адгезивного гликопротеина из сыворотки крови в условиях кратковременного множественного органоного культивирования *in vitro*.

Величина биологического эффекта $200 - (N_{оп} / N_k) \cdot 100$ (%), где $N_{оп}$ и N_k — соответственно количество клеточных ядер, выделившихся при деформационном стандартном воздействии из органоной культуры печени, в опыте и контроле

ных адгезивных гликопротеинов. Молекулярная масса белка составляет около 12000 Да (на долю белковой части приходится около 5500 Да, углеводной части, представленной N-олигоманнозидными цепями, — около 6500 Да), этот гликопротеин мы обозначим как ГПЯ-12.

Установлено, что ГПЯ-12 вызывает разнообразные биологические эффекты в сверхмалых дозах вплоть до чрезвычайно больших степеней разбавления, $\sim 10^{-23}$ M и ниже («мнимые растворы»), влияет на проницаемость плазматической мембраны гепатоцитов (причем только в условиях сохранения гистоструктуры железы), клеточную пролиферацию, рост культуры фибробластов млекопитающих *in vitro*, а также оказывает ранозаживляющее, хондропротекторное и остеостимулирующее, гепатопротекторное действия [17—22].

Так, изучение влияния ГПЯ-12 на вязкоупругие свойства ткани печени при деформационном воздействии показало, что этот белок проявляет биологическую активность в состоянии «мнимых растворов». Наблюдаемая зависимость «доза—биологический эффект» имеет полимодальный характер, причем наиболее ярко выражен максимум биологической активности в областях 10^{-10} и 10^{-14} — 10^{-19} M (рис. 2). Интересно отметить, что в состоянии «мнимых растворов» (область 10^{-23} — 10^{-25} M) величина биологического эффекта ГПЯ-12 также всегда достоверно отличается от контрольных данных.

Величины биологического эффекта, производимого ГПЯ-12 в концентрациях 10^{-9} , 10^{-19} и 10^{-29} M во всем временном интервале исследования, статистически достоверно отличаются от контрольных показателей (рис. 3). Небольшие различия между опытными и контрольными данными в первые два часа инкубации органоной культуры печени, очевидно, объясняются адаптацией ткани печени на начальном этапе культивирования. Обращает на себя внимание тот факт, что характер кривых, отображающих временную зависимость величины биологического эффекта для всех исследуемых концентраций гликопротеина аналогичен. Эти данные позволяют высказать предположение о возможности того, что молекулярный механизм, лежащий в основе биологического эффекта ГПЯ-12 в

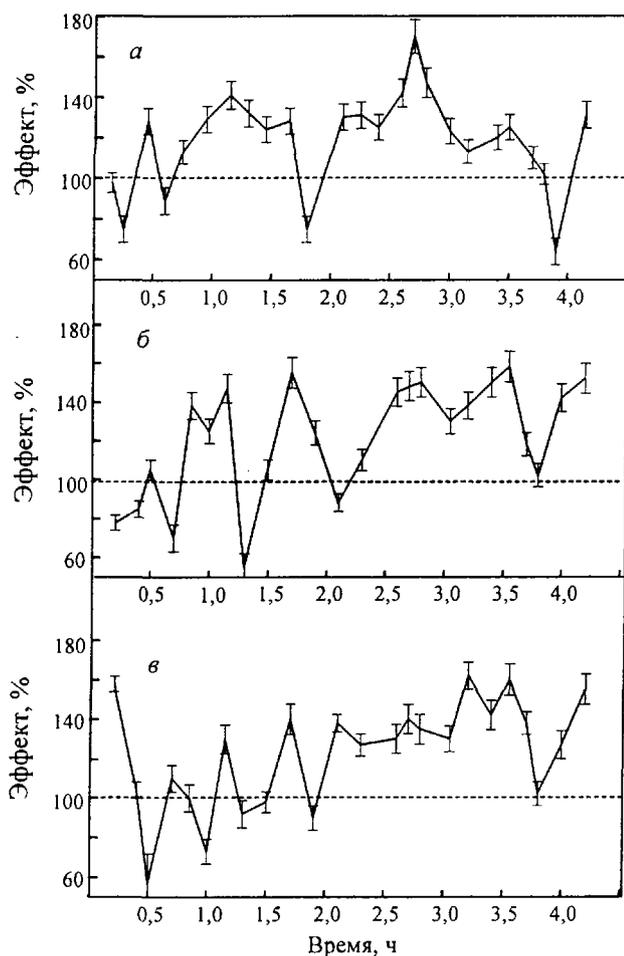


Рис. 3. Изменение во времени вязкоупругих свойств плазматической мембраны гепатоцитов мышей под воздействием адгезивного гликопротеина из сыворотки крови в условиях кратковременного множественного органического культивирования *in vitro*.

Концентрация гликопротеина (M): 10^{-9} (а), 10^{-19} (б), 10^{-29} (в).
 Величина биологического эффекта — см. рис.2

концентрациях 10^{-9} и 10^{-19} M и в условиях «много раствора» — 10^{-29} M , одинаков и, очевидно, обусловлен изменением состояния воды, вызванным воздействием гликопротеина.

Таким образом, в свете выдвинутой нами концепции о механизме феномена СМД, можно заключить, что роль низкомолекулярных адгезивных белков, относящихся к семейству S100 белков, состоит в их способности влиять на воду, содержащуюся в биологических жидкостях, и переводить ее в состояние, отвечающее стадии восприятия информационного сигнала.

Теплоемкость водных растворов гликопротеина, выделенного из сыворотки крови

Первым доказательством изложенных выше положений послужили результаты исследования теплоемкости воды в присутствии гликопротеина ГПЯ-12. Для понимания механизма наблюдаемых биологических эффектов представлялось необходимым, в первую очередь, изучить температурную зависимость теплоемкости растворов ГПЯ-12 как важнейшую термодина-

мическую характеристику растворов, которая даст информацию не только о состоянии вещества в растворе, но и о изменении состояния растворителя при воздействии вещества [23].

Измерение температурной зависимости избыточной теплоемкости водных растворов ГПЯ-12 (по отношению к воде) проводили на дифференциальном сканирующем микрокалориметре ДАСМ-4 (Институт биологического приборостроения РАН). Условия измерения: интервал температур 290—380 К, скорость сканирования температуры 2 град/мин, избыточное давление 0,49 МПа. Шкалу теплоемкостей калибровали по эффекту Джоуля—Ленца и дополнительно корректировали, используя в качестве калориметрического стандарта водный раствор метанола. Измеренная нами парциальная молярная теплоемкость раствора метанола при 298 К составила 153,2 Дж/(моль · К), что находится в хорошем соответствии с данными Махатадзе и Привалова — 153,3 Дж/(моль · К) [24].

Удельную теплоемкость C_p растворов ГПЯ-12 рассчитывали по формуле:

$$C_p = C_{p1} (V/V_1) - (\Delta C_p/m)$$

где C_{p1} — удельная теплоемкость воды, Дж/(г · К); V и V_1 — удельный объем водных растворов ГПЯ-12 и воды, соответственно, мл/г; ΔC_p — измеренная разность теплоемкостей между водой и водным раствором ГПЯ-12, Дж/(г · К); m — масса ГПЯ-12 в ячейке калориметра, г.

Парциальный удельный объем для ГПЯ-12 был рассчитан по аддитивной схеме, исходя из данных о его составе [18] и значений парциальных удельных объемов аминокислотных и углеводных остатков [25, 26], он составил 0,67 мл/г.

Установлено, что термограммы водных растворов ГПЯ-12 не содержат эндотермических пиков, характерных для термической денатурации биополимеров, в частности белков [27], во всем исследуемом температурном интервале, что свидетельствует, по-видимому, о развернутом состоянии молекулы ГПЯ-12. С учетом этого обстоятельства была вычислена удельная теплоемкость раствора ГПЯ-12 по аддитивной схеме с использованием данных по парциальным удельным теплоемкостям аминокислотных остатков [28] и экспериментально измеренной удельной теплоемкости гликозидной части ГПЯ-12. Это значение составило 1,8 Дж/(г · К). Экспериментальное же значение C_p (калориметрическое измерение величины ΔC_p и вычисление по приведенной выше формуле) для раствора ГПЯ-12 при концентрации 120 мкг/мл оказалось равным $0,74 \pm 0,04$ Дж/(г · К), что в 2,5 раза меньше теоретического значения. Более того, экспериментальное значение удельной теплоемкости ГПЯ-12 оказалось меньше C_p , определенной для компактных глобулярных белков, 1,3 Дж/(г · К), а также для белков с развернутой формой молекулы в растворе, 1,8—2,1 Дж/(г · К), к которым можно отнести ГПЯ-12 [28]. В чем кроется причина столь низкого значения удельной теплоемкости для растворов ГПЯ-12?

Известно, что теплоемкость растворенного в воде вещества состоит из двух составляющих: собственной теплоемкости вещества и теплоемкости его гидратации. Первая величина имеет положительное значение, теплоемкость гидратации неполярных групп вещества также положительна, а гидрофобных — отрицательна. Это относится, в частности, к белкам и другим биополимерам [23, 29]. В таком случае можно предполо-

жить, что более низкое значение экспериментальной теплоемкости C_p для ГПЯ-12 по сравнению с расчетом обусловлено необычно сильным влиянием гидрофильных групп молекул ГПЯ-12 на воду.

Хроматографическим методом было установлено, что ГПЯ-12 в растворах присутствует преимущественно в виде молекулярных ассоциатов значительной молекулярной массы [18]. Поэтому следовало ожидать, что снижение концентрации ГПЯ-12 в растворе должно привести к диссоциации крупных межмолекулярных агрегатов ГПЯ-12 на более мелкие с образованием значительных количеств мономерной формы этого белка. Как следствие должно возрасти влияние молекул ГПЯ-12 на состояние его раствора при концентрации 1,2 мкг/мл: $\Delta C_p = -3125$ Дж/(г·К). Это значение далеко выходит за рамки значений удельных теплоемкостей водорастворимых веществ и не может быть разумно объяснено никакими молекулярными особенностями ГПЯ-12: в литературе отсутствуют данные об отрицательных удельных теплоемкостях веществ [30]. Единственно возможным объяснением полученных нами экспериментальных данных является представление об изменении структуры воды в результате воздействия малых доз ГПЯ-12 (1,2 мкг/мл соответствует концентрации вещества в растворе 10^{-7} М).

Если отнести измеренное при концентрации 1,2 мкг/мл значение C_p не к ГПЯ-12, а к воде, находящейся в ячейке калориметра, то в таком случае разность теплоемкостей между обычной водой и водой в растворе ГПЯ-12 будет равна 0,071 Дж/(моль·К) (при 298 К). Полученный результат показывает, что «новое» состояние воды не особенно отличается по теплоемкости от обычной воды, 75,161 Дж/(моль·К), а наблюдаемая разность теплоемкостей значительно меньше, чем, например, таковая при переходе «жидкая вода—лед», где различия достигают двукратной величины. На этом основании можно полагать, что наблюдаемое снижение теплоемкости воды в присутствии ГПЯ-12 по сравнению с обычной водой можно отнести к переходу ее межмолекулярных ассоциатов в более упорядоченное состояние.

Влияние сверхмалых доз гликопротеинов на структуру воды

ИК-спектроскопические исследования. Прежде всего нами было изучено изменение характера водородных связей между молекулами воды в присутствии гликопротеинов. Для этого измеряли ИК-спектры воды, входящей в состав растворов сверхмалых концентраций ГПЯ-12, от 10^{-9} до 10^{-22} М. Измерения проводили на фурье-спектрометре «Magna 720» (фирма «Николет») в области 4000—1200 см^{-1} с разрешением 2 см^{-1} .

Предварительно рассмотрим ИК-спектр воды как индивидуального соединения. К внутренним колебаниям мономерной молекулы воды относят интенсивную несимметричную ИК-полосу в области 3400 см^{-1} (симметричное и антисимметричное валентные колебания ОН) и симметричную полосу при 1645 см^{-1} (деформационное колебание НОН) [31]. В рассматриваемой области спектра присутствует также довольно широкая полоса с максимумом около 2120 см^{-1} , которая обычно интерпретируется как составной тон деформационного колебания с одним или несколькими межмолекулярными колебаниями. Широкую интенсивную полосу в спектре воды около 680 см^{-1} обычно

относят к либрационной моде осцилляции мономера H_2O в поле соседних молекул, более слабую полосу 200 см^{-1} соответственно относят к затрудненному трансляционному колебанию решетки воды [32]. Обнаружено, что структура воды в жидкой фазе представляет собой сетку сильно деформированных случайных водородных связей, слегка напоминающую существующую в кристалле льда. Диффузия в такой системе представляет собой не прыжковый процесс, а является скорее следствием непрерывного коллективного движения [33, 34].

На наш взгляд, более корректно интерпретировать полосу 200 см^{-1} в спектре воды как полосу, связанную со скоррелированным туннелированием протона в многоминимумном потенциале ν_T . Это предположение подтверждается заметным различием нормированных полуширин полос в спектре воды: для внутренних колебаний величина $\Delta\nu_{1/2}/\nu$ в области 3400 и 1645 см^{-1} составляет соответственно 10 и 5%, в то время как для полосы 200 см^{-1} эта величина равна 60%.

Для лучшего понимания характера влияния ГПЯ-12 в сверхмалых дозах на структурное состояние воды нами были изучены ИК-спектры воды бытовой и дважды перегнанной, с добавлением ГПЯ-12, 1%-ного водного раствора бычьего сывороточного альбумина (БСА) (основной компонент крови), насыщающих концентраций NaCl (для оценки влияния заряда), а также смеси вода—этанол в соотношении объемов 6:4.

При добавлении NaCl к дважды перегнанной воде максимум 3400 см^{-1} смещается к 3408 см^{-1} . Увеличение частоты на 8 см^{-1} свидетельствует об усилении внутримолекулярной связи. В то же время значение максимума полосы поглощения 2100 см^{-1} уменьшается на 18 см^{-1} , что позволяет предположить ослабление межмолекулярных связей. Добавление NaCl в чистый этанол не вызывает изменений в спектре. Повидимому, это связано с тем, что в силу своего химического строения молекулы этанола не способны образовывать макроструктуры, подобные существующим в воде [НОН]_n.

Влияние ГПЯ-12 на воду нельзя объяснить электростатическим воздействием, так как если при добавлении NaCl в воду наблюдаются сдвиги полос в области 3400 и 2100 см^{-1} , то в случае ГПЯ-12 подобных спектральных изменений не обнаружено.

Для подтверждения высказанной гипотезы были измерены ИК-спектры поглощения в области трансляционных колебаний ν_T (600—50 см^{-1}) для всех взятых образцов. Спектры в этой области получены с разрешением 4 см^{-1} . Результаты измерений таковы:

	Максимум ν_T воды в присутствии различных соединений
вода—этанол (60:40 об.)	176
водный раствор ГПЯ-12 (10^{-9} — 10^{-22} М)	186
вода, дважды перегнанная	196
вода бытовая	200
раствор БСА ($\sim 10^{-5}$ М)	208

Оказалось, что полоса в области 200 см^{-1} , характеризующая наличие водородных связей в структуре воды, в спектрах растворов ГПЯ-12 в малых и сверхмалых дозах (10^{-9} — 10^{-22} М) смещается по сравнению

со спектром «чистой» воды ($\nu_T = 196 \text{ см}^{-1}$ для дважды перегнанной воды, $\nu_T = 200 \text{ см}^{-1}$ для бытовой воды) в область более низких частот до 186 см^{-1} , т. е. приближается к полосе, характерной для 40%-ного раствора этанола ($\nu_T = 176 \text{ см}^{-1}$). Низкое значение ν_T для спиртового раствора объясняется отсутствием поперечных сшивок молекул воды, образованию которых препятствуют C_2H_5 -группы этанола. Напротив, молекулы альбумина, благодаря своей разветвленной структуре, инициируют как продольное, так и поперечное сшивание молекул воды, что выражается в закономерном повышении ν_T до 208 см^{-1} .

Поскольку спектр вещества, в данном случае воды, зависит от наличия примесей, то разброс максимумов полос ν_T от 176 см^{-1} (вода—этанол) до 208 см^{-1} (раствор БСА) подтверждает предположение об образовании различных молекулярных структур воды в присутствии примесей.

Таким образом, в данной работе впервые продемонстрировано доказательство изменения состояния воды под влиянием сверхмалых доз вещества — низкомолекулярного гликопротеина ГПЯ-12.

Исследования методом лазерной спектроскопии. Измерены спектры серии разбавленных растворов гликопротеина ГПЯ-12 методом молекулярного флукуационного светорассеяния [35]. Условия измерения: флукуационный спектрометр АГЛС ЭДАС-1, регистрация рассеянного света в режиме гомодинирования (смещение пучков рассеянного на образце света от двух точек кюветы) под углом 90° , наложение на образец постоянного магнитного поля напряженностью 280 А/м , предварительное освещение образца когерентным ИК-излучением с $\lambda = 890 \text{ нм}$, накопление интенсивности рассеянного света в течение 3 мин с шагом интегрирования 5 мс.

По временным рядам зарегистрированных значений интенсивности рассеянного света методом фурье-преобразования вычисляли спектральные характеристики: спектральную плотность мощности и спектральную дисперсию в частотном диапазоне $0,35\text{--}5 \text{ Гц}$. Для полученных спектральных характеристик рассчитывали их производные и интегралы.

Установлено, что по мере разбавления раствора ГПЯ-12 наблюдается увеличение отклонения интегралов обеих характеристик — плотности спектральной мощности и спектральной дисперсии — от значений интегралов для чистого растворителя (дистиллированной воды) (рис. 4). Представленные зависимости имеют три экстремума, равные или превышающие значения интегралов спектральных характеристик для чистого растворителя и соответствующие растворам ГПЯ-12 с концентрациями $10^{-8}\text{--}10^{-10} \text{ М}$; 10^{-18} М и 10^{-26} М .

По спектральным характеристикам исследованные растворы ГПЯ-12 в интервале концентраций $10^{-4}\text{--}10^{-28} \text{ М}$ четко разделяются на две группы (рис. 5). В первую группу входят растворы, для которых значения интегралов превосходят или равны интегралам для чистой воды, это растворы с концентрациями 10^{-4} , 10^{-6} , 10^{-8} , 10^{-10} , 10^{-18} и 10^{-26} М . Они имеют высокие начальные значения производной в широкой области частот, что свидетельствует о быстрой релаксации спектра с узкой областью низких частот. Для второй группы растворов ГПЯ-12 с концентрациями 10^{-12} , 10^{-14} , 10^{-16} , 10^{-20} , 10^{-22} , 10^{-24} и 10^{-28} М характерны низкие значения производной с узкой начальной зоной и широкой областью плавного снижения ее вели-

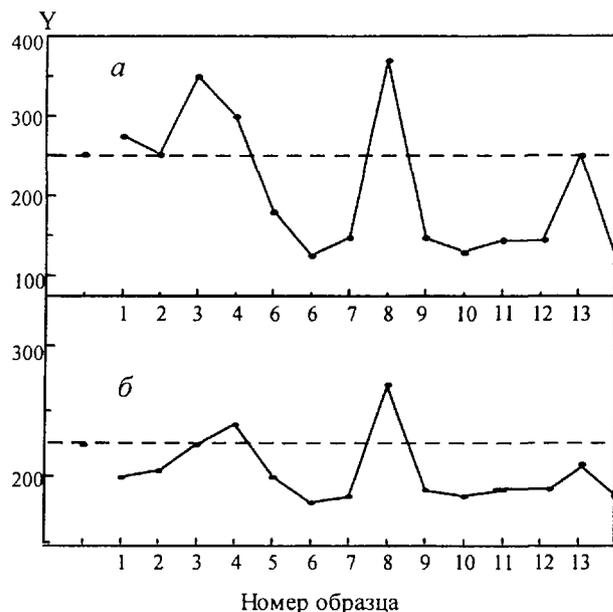


Рис. 4. Интегралы Y производных плотности спектральной мощности флукуаций (a) и спектральной дисперсии (b) светорассеяния растворов гликопротеинов в воде.

Образцы: 1 — вода (пунктир); 2—14 — растворы ГПЯ-12 в концентрации (M) соответственно: 10^{-4} , 10^{-6} , 10^{-8} , 10^{-10} , 10^{-12} , 10^{-14} , 10^{-16} , 10^{-18} , 10^{-20} , 10^{-22} , 10^{-24} , 10^{-26} , 10^{-28}

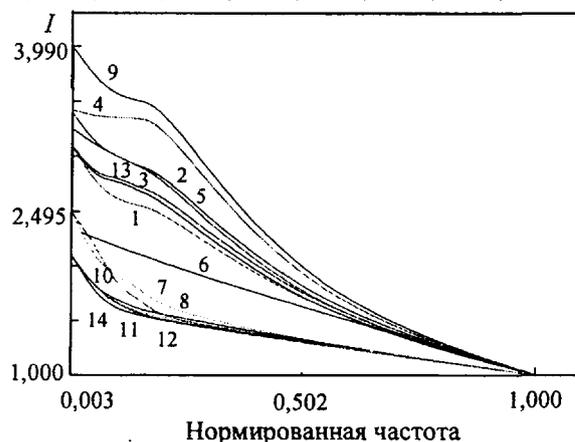


Рис. 5. Производные плотности спектральной мощности флукуаций светорассеяния I растворов гликопротеинов в воде.

На кривых указаны номера образцов 1—14, см. рис. 4

чины, что свидетельствует о большом наборе частот с мало различающимся уровнем плотности спектральной мощности.

Полученные результаты показывают, что процедура разбавления раствора ГПЯ-12 до сверхмалых концентраций вещества вплоть до получения «мнимых растворов» приводит к существенному изменению физических свойств растворителя вследствие значительного изменения структурного состояния воды. Причем разбавление дает нелинейную зависимость параметров состояния воды от концентрации.

Характеристики для второй группы значений концентраций растворов свидетельствуют о более высокой по сравнению с первой группой растворов скорости процессов ассоциирования—диссоциирования оптических неоднородностей (водных ассоциатов). Эти результаты подтверждают ранее полученные данные о том [40], что многократное разбавление приводит к

увеличению времен жизни свободных ОН-групп в воде, т. е. к росту скоростей процессов ассоциирования—диссоциирования.

Рассмотренные зоны значений концентраций с пониженным уровнем ассоциирования чередуются с зонами, характеризующимися повышенным уровнем ассоциирования (первая группа значений концентраций растворов). Если сопоставить данные, приведенные на рис. 4, 5 и рис. 2, то можно выявить, что как изменение величины биологического эффекта, так и значения интегралов параметров светорассеяния имеют колебательный характер в зависимости от концентраций растворов ГПЯ-12.

На наш взгляд, наблюдаемый вид дозовой зависимости связан с явлением постоянного изменения состояния молекул воды, которое описывается не только в терминах ассоциация—диссоциация. И, наверное, с этим обстоятельством связано отсутствие прямой корреляции между величинами биологического эффекта растворов гликопротеинов и параметрами их светорассеяния.

Данные, полученные на примере исследования физико-химических и биологических свойств низкомолекулярного адгезивного гликопротеина из сыворотки крови, свидетельствуют в пользу сформулированной нами концепции о механизме, лежащем в основе феномена СМД. Эти результаты представляют собой не только еще одно доказательство способности биологически активных веществ производить эффекты в сверхмалых дозах, но и демонстрируют уникальное влияние таких веществ на состояние воды. На наш взгляд, роль низкомолекулярных адгезивных белков — структурных компонентов малого матрикса микроокружения клеток заключается в поддержании такого состояния воды в биологических системах, которое обеспечивает распространение в них информационного сигнала.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов Российского фонда фундаментальных исследований N96-04-48890 и N97-03777/-33025.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ямсков И.А., Ямскова В.П. Росс. хим. ж. (ЖРХО им. Д.И. Менделеева), 1998, т. 42, № 3, с. 85—90.
2. Ямскова В.П., Ямсков И.А. Там же, 1999, т. 43, № 2, с. 74—79.
3. Бурлакова Е.Б. Вестн. РАН, 1994, т. 64, № 5, с. 425—431.
4. Сазанов Л.А., Зайцев С.В. Биохимия, 1992, т. 57, вып. 10, с. 1443—1459.
5. Бурлакова Е.Б., Конрадов А.А., Худяков И.В. Изв. АН. Сер. биол., 1990, № 2, с. 184—193.
6. Блюменфельд Л.А. Биофизика, 1993, № 1, с. 129—132.
7. Zaitsev S.V., Sazanov L.A. J. of Chem. and Biochem. Kinet., 1991, v. 1, № 3, p. 21—26.
8. Ямскова В.П., Модянова Е.А., Левенталь В.И. и др. Биофизика, 1977, т. 22, с. 168—174.
9. Маленков А.Г., Модянова Е.А., Ямскова В.П. Там же, т. 22, с. 156—157.
10. Ямскова В.П., Модянова Е.А., Резникова М.М., Маленков А.Г. Молекуляр. биология, 1977, т. 11, № 5, с. 1147—1154.
11. Ямскова В.П., Резникова М.М. Успехи биол. химии, 1979, т. 20, с. 95—112.
12. Moore V.W. Biochem. and Biophys. Res. Commun., 1965, v. 19, p. 739—744.
13. Donato R. Cell Calcium, 1986, v. 7, p. 123—145.
14. Berchtold M. J. Mol. Evol., 1993, v. 36, p. 489—496.
15. Santella L. Biochem. and Biophys. Res. Commun., 1998, v. 244, p. 317—324.
16. van Eldik L., Zimmer D.B. J. Dairy Sci., 1988, v. 71, p. 2028—2034.
17. Ямскова В.П., Резникова М.М. Журнал общей биологии, 1984, т. 45, № 3, с. 373—382.
18. Ямскова В.П., Резникова М.М. Там же, 1991, т. 52, № 2, с. 181—191.
19. Буеверова Э.И., Брагина Е.В., Резникова М.М. и др. Докл. АН СССР, 1985, т. 281, № 1, с. 158—160.
20. Ямскова В.П., Нечаева Н.В., Туманова Н.Б. и др. Изв. АН. серия биол., 1994, № 2, с. 190—196.
21. Туманова Н.Б., Попова Н.В., Ямскова В.П. Там же, 1996, № 6, с. 653—657.
22. Гундорова Р.А., Хорошилова-Маслова И.П., Ченцова Е.В. и др. Вopr. офтальмологии, 1997, т. 113, № 2, с. 12—15.
23. Makhatadze G.I., Privalov P.L. Adv. Protein Chem., 1995, v. 7, p. 307—417.
24. Makhatadze G.I., Privalov P.L. J. Mol. Biol., 1990, v. 213, p. 375—384.
25. Zamyatnin A.A. Ann. Rev. Biophys. and Bioeng., 1984, v. 13, p. 145—163.
26. Hiland H. In: Thermodynamic data for Biochemistry and Biotechnology. Ed. H.-J. Hinz, Springer-Verlag, Berlin, 1986, p. 17—45.
27. Privalov P.L. Adv. Protein Chem., 1979, v. 35, p. 1—104.
28. Privalov P.L., Makhatadze G.I. J. Mol. Biol., 1990, v. 213, p. 385—391.
29. Privalov P.L., Makhatadze G.I. Ibid., 1992, v. 224, p. 715—723.
30. Cabani S., Gianni P., Mollica V., Lepori L. J. Sol. Chem., 1981, v. 10, № 8, p. 563—595.
31. Юхневич Г.В. Инфракрасная спектроскопия воды, М.: Наука, 1973, 209 с.
32. Roberison C.W., Curmutte B., Williams D. Mol. Phys., 1973, v. 26, p. 1.
33. Крокстон К. Физика жидкого состояния. Статическое введение. М.: Мир, 1978, 400 с.
34. Rahman A., Stilling F.H. J. Chem. Phys., 1971, v. 55, p. 3336; 1972, v. 57, p. 1281.
35. Патент РФ RU № 2112976 C1, 1997.