

Экспериментальное моделирование полимиозита формы Вагнера – Унферрихта: физиологические, физические и математические аспекты

¹Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

²Санкт-Петербургский государственный электротехнический университет «ЛЭТИ», Санкт-Петербург

Резюме. Представлены результаты гистологического изучения миокарда мышцей линии C₅₇Bl (black) при экспериментальном моделировании ферментозависимого полимиозита формы Вагнера – Унферрихта. Проведено сопоставление патогенетических событий у мышцей этой линии с результатами экспериментов на менее пигментированных мышцах линии DBA/2. Установлено, что мышцей линии DBA/2 более чувствительны к воздействию перорально вводимых индукторов свободных радикалов, образующихся в цепных реакциях одноэлектронного переноса (семихиноны → супероксид → пергидроль → гидроксил) в жидкой субстанции организма. Диффузное поражение всего миокарда имеет выраженную электрохимическую природу и осуществляется переносом электрона свободными радикалами через плазмалемму клеток организма. Показано, что вероятным механизмом переноса электрона является электрическое взаимодействие свободных радикалов с дипольной сетью полярных молекул интегрального белка билипидного слоя, формирующих вместе с адсорбированными ионами Na⁺ и K⁺ двойной электрический слой параллельно ориентированных электрических дипольных моментов. Разработана концепция построения теоретической модели переноса электрона через плазмалемму, основанная на изоморфности пространственных переориентаций дипольной сети клеточной мембраны переходам типа ферромагнетик – парамагнетик – антиферромагнетик в твердом теле. Предложенная модель позволяет объяснить генетически обусловленные различия в эффективности антиоксидантной системы мышцей линий C₅₇Bl и DBA/2.

Ключевые слова: полимиозит, миокард, воспалительно-дистрофические изменения, свободные радикалы, антиоксидантная система, коллективные состояния интегральных белков плазмалеммы.

Введение. Многие социально значимые заболевания человека: ишемия миокарда [1–3], диабет, инсульт [4], рак, болезнь Альцгеймера, рассеянный склероз, и др., а также патологические состояния, вызванные ионизирующей радиацией и стресс-факторами, характеризуются тем, что главную роль при формировании патогенеза играют свободные радикалы, механизмом действия которых является одноэлектронный перенос [5]. Воспалительно-дистрофические изменения в тканях, сопровождающие подобные состояния, непосредственно связаны с атакой свободных радикалов из внутренней среды организма, где в силу различных причин возникает и поддерживается их повышенная концентрация.

Эффективность антиоксидантной защиты организма во многих случаях генетически обусловлена, видную роль в ней играют ферменты и высокомолекулярные пигменты – меланины, которые являются эффективными ловушками для свободных радикалов. Эта роль меланинов отчетливо прослеживается при сравнении результатов наших экспериментов по моделированию патологий со свободно-радикальной этиологией на мышцах разных линий. Мышцы линии C₅₇Bl (black) оказались более устойчивыми к воздействию индукторов свободных радикалов по сравнению с менее пигментированными мышцами линии DBA/2, на которых впоследствии и проводились основные

опыты по разработке моделей и изучению механизмов, обуславливающих развитие патологий [5–8]. Так, при моделировании ферментозависимого полимиозита [6] от 40% до 70% мышцей линии DBA/2 имели признаки диффузно-очагового нейрополимиозита, тогда как у мышцей линии C₅₇Bl расстройств опорно-двигательного аппарата были мало заметны. У последних были замечены признаки острой сердечной недостаточности, сопровождающие повреждение миокарда.

Цель исследования. Изучить физические механизмы возникновения и развития патологических состояний, имеющих свободно-радикальную этиологию.

Материалы и методы. Полимиозит возникает у человека в разном возрасте и часто характеризуется быстрой генерализацией патологического процесса. Например, при форме Вагнера – Унферрихта, составляющей около 40% случаев типичного полимиозита и дерматополимиозита, у 75% больных помимо мышечных и неврологических симптомов имеются признаки поражения внутренних органов, иногда со значительными изменениями со стороны сердца [9].

В хронических опытах, длящихся от 7 до 45 суток [6, 7], у мышцей линии DBA/2 наблюдались клинические

проявления, соответствующие именно этой форме заболевания: развивались двигательные расстройства, 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 около 25 г через несколько недель развивалась кахексия, искривление позвоночника с формированием горба, ишемия и некроз миокарда. В целом, морфологические изменения мышечной ткани были определены как диффузно-очаговый полимиозит. Воспалительно-деструктивные изменения развивались на фоне зернистого распада мякотных нервных волокон и части нервно-мышечных синапсов [6, 10] при сохранности филогенически более древних безмякотных (безмиелиновых) волокон. Отмечалось расширение всех звеньев гемомикроциркулярного русла, особенно в веноулярном отделе с лейкоцитарной инфильтрацией вокруг сосудов. В ряде случаев наблюдались кровоизлияния диапедезного характера (пропитывание мышечной ткани форменными элементами крови). В образцах плазмы крови подопытных животных, взятых для определения свободных радикалов методом ЭПР [7], всегда в той или иной степени отмечались признаки гемолиза, что определенно говорит о разрушении клеточной оболочки эритроцитов и поступлении внутриклеточного содержимого в плазму.

Как уже отмечалось, мыши линии $C_{57}Bl$ оказались со стороны опорно-двигательного аппарата более устойчивыми к патогенерирующим воздействиям, а

основные воспалительно-дистрофические события возникали у этих мышей в миокарде. После 27 пероральных введений 0,2 мл в сутки водного раствора [6] смеси, одна из составляющих которой являлась ингибитором, а вторая (фенольное соединение) – метаболическим предшественником субстрата фермента, предотвращающего появление свободных радикалов, сердечная недостаточность наблюдалась у 10% подопытных мышей. Они с трудом передвигались ползком, температура тела заметно снижалась, электрокардиограмма свидетельствовала об ишемизации миокарда.

Гистологическое исследование выявило диффузное поражение всего миокарда, отсутствие поперечной исчерченности некоторых волокон (дистрофию), некроз и деструкцию отдельных мышечных волокон, сопровождающуюся небольшим отеком и умеренно выраженную лимфоцитарную и воспалительные реакции. На гистологических срезах миокарда (рис. 1) хорошо заметны венозное полнокровие, расширение капилляров и диффузные кровоизлияния.

В целом, воспалительно-дистрофические изменения в миокарде имели диффузный характер и отличались тонкой структурой повреждений проникающего характера. Диффузное поражение миокарда имеет выраженную электрохимическую природу, обусловленную атакой свободных радикалов из внутренней среды организма на ее границе с двойным электрическим слоем поверхности клеточных мембран [11], который формируется зарядом интегральных белков билипидного слоя плазмалеммы и ассоциирован с зарядом внутри клетки (анионами). По сходному

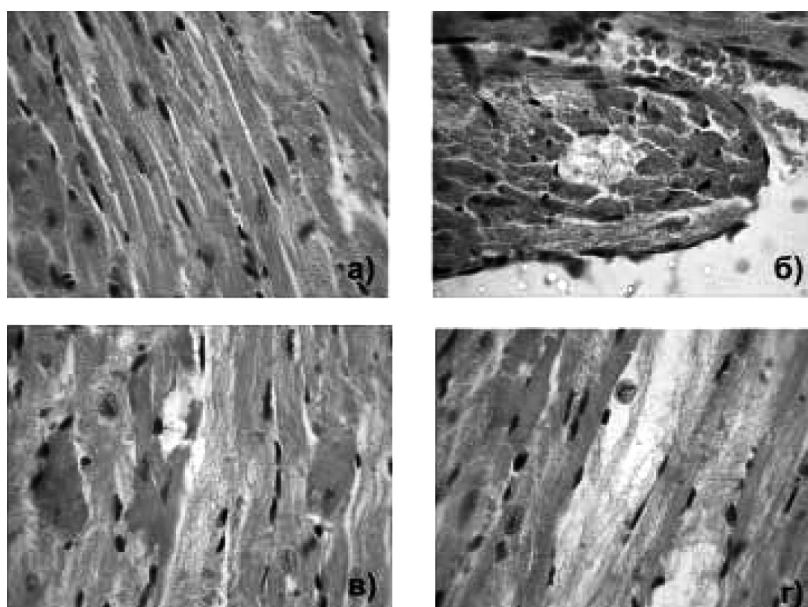


Рис. 1. Гистологические срезы миокарда мышей линии $C_{57}Bl$. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. от 56 до 280 (7×8; 7×40): а) – отек части мышечных волокон (особенно слева и справа) и смазанность контуров мышечных волокон; б) – умеренно выраженная лейкоцитарная реакция; в) – некроз и деструкция отдельных мышечных волокон, а также небольшой отек (неравномерное окрашивание волокон – метакромазия); г) – диапедезные кровоизлияния между мышечными волокнами (правая половина фотографии)

механизму подобные структуры формируются в поверхностных слоях твердых тел [12] в результате электролитического травления или полировки, то есть там, где имеет место точечное взаимодействие подвижных заряженных частиц на границе электролита и поверхности твердого тела при наличии электрического поля.

Аналогичным образом взаимодействие свободных радикалов происходит с дипольной сетью полярных молекул белка, интегрированного в билипидную структуру, по сути являющуюся наноструктурированным двойным электрическим слоем, размер элементарной ячейки которого около 50 нм [11]. Таким образом, точечной атаке свободных радикалов подвергаются интегральные белки плазмалеммы кардиомиоцитов с адсорбированными на них ионами Na^+ и K^+ и молекулами связанной воды. Образованная интегральными белками дипольная сеть тканей реагирует на повышение концентрации свободных радикалов в крови, лимфе и межклеточной жидкости ростом скорости пространственной переориентации дипольных моментов билипидного слоя поверхности кардиомиоцитов, нейронов, их отростков, клеток сосудов и форменных элементов крови. Все эти физические процессы происходят в результате переноса электрона через плазмалемму [11] и перекисного окисления липидов, сопровождающегося, по-видимому, микроперфорацией и наблюдаемыми диапедезными кровоизлияниями.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что отрицательно заряженный ион-радикал (например, ион супероксида) притягивается положительным зарядом внешнего слоя клеточной мембраны и сорбируется на молекуле белка, частично компенсируя положительный заряд диполя. Отрицательный заряд диполя, находящийся на внутренней поверхности плазмалеммы, притягивается положительными зарядами внешнего слоя, что приводит к структурной конформации молекулы интегрального белка с одновременным переворотом молекулы и ее дипольного момента. 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 аденозинтрифосфатазы (АТФазы) по восстановлению упорядоченности дипольной сети. Восстановление двойного электрического слоя плазмалеммы происходит с разной эффективностью, в зависимости от соотношения между концентрацией свободных радикалов и энергетическим запасом клетки (ее способности генерировать АТФ). В зависимости от этого развитие патологии идет по-разному: с возникновением судорожных состояний при обратимой блокировке нервного импульса [11] и увеличением проницаемости сосудов в миокарде и двигательных мышцах [10].

Математическая модель этого физиологического процесса строится в предположении изоморфности

коллективных состояний микрочастиц в кристаллической решетке твердого тела и молекул интегральных белков плазмалеммы. Это дает возможность использовать для анализа процессов в клеточной мембране распространенные теоретические подходы, например, модель Хаббарда [13] и модель Андерсона [14]. При этом фазовый переход плазмалеммы, сопровождающийся изменением ее симметрии, электрических свойств и характера прохождения нервного импульса [15], обнаруживает качественное сходство с переходами типа «антиферромагнетик – парамагнетик – ферромагнетик», которые описываются t - J моделью [16].

В плазмалемме коллективные свойства проявляет наноструктурированный двойной электрический слой полярных молекул 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 АТФ. Минимум энергии соответствует антипараллельной ориентации соседних диполей, однако, в этом состоянии мембрана не обладает активностью. Гомеостаз устанавливается, как динамическое равновесие между переворотами диполей и ориентирующим действием АТФ.

Модифицированный гамильтониан Хаббарда в терминах нашей модели имеет вид:

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

где индексы i, j нумеруют узлы решетки (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 (1) с учетом результатов [8]. Легко видеть, что перевороты диполей описываются нелинейным уравнением:

$$\frac{d(N - n^-)}{dt} = -C_{(t)} q_r (N - n^-) + (G_c + G_0) n^- - q_T (N - n^-), \quad (2)$$

где N – полное число молекул интегрального белка; 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 под действием ион-радикала; q_T – термически равновесная вероятность спонтанного переворота полярной молекулы белка.

С этих позиций становится понятной разница в механизмах возникновения патологии у мышей разных линий. На рисунке 2 представлены зависимости от времени концентраций радикалов, участвующих в

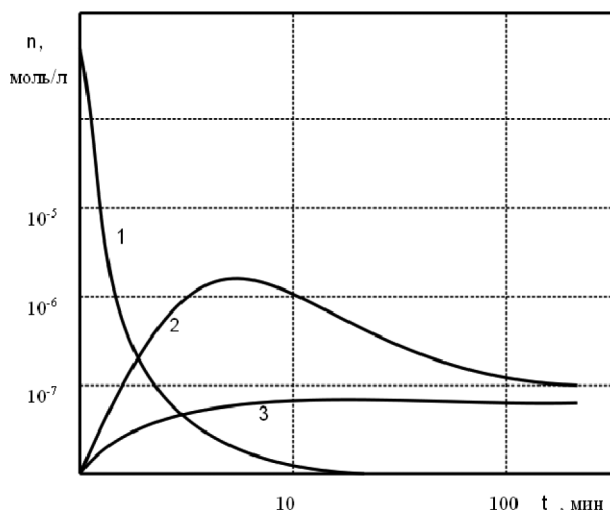


Рис. 2. Кинетика конечных продуктов цепной реакции свободных радикалов для различной эффективности антиоксидантной системы

цепной реакции, полученные из кинетических уравнений [8, 17–19]. У менее пигментированных мышей линии DBA/2 кинетика радикалов развивается по механизму, который характеризует кривая 2; тогда как у мышей линии C57Bl происходит накопление конечного продукта цепной реакции радикалов (кривая 3), в результате чего воспалительно-дистрофический процесс развивается существенно медленнее.

Разница сопоставляемых процессов в миокарде и в миомах скелетной мускулатуры состоит в следующем. Блокировка нервного импульса происходит в области экстремума кривой 2, являясь продуктом кратковременного повышения концентрации свободных радикалов, и представляет собой обратимый процесс продолжительностью несколько минут. События в мышечных волокнах миокарда развиваются постепенно на фоне продолжительной повышенной концентрации свободных радикалов (кривая 3). Совокупность этих событий является длительным необратимым процессом. Так как межклеточные контакты кардиомицитов (нексусы) обладают низким сопротивлением проведению возбуждения, то рассматриваемые процессы затягиваются у подопытных животных примерно на 3 недели (у человека на месяцы и годы). Длительное воздействие радикалов на дипольную сеть миокарда и его волокон приводит к наблюдаемым изменениям: миокард истончается, происходит дистрофия отдельных волокон с образованием «пористой структуры», через которую происходят диапедезные кровоизлияния, повреждения становятся проникающими.

Патогенетический процесс одноэлектронного переноса радикалами охватывает весь миокард. Первыми в рассматриваемой нами [5, 8, 20] цепной реакции являются семихинон и супероксид. Образующиеся семихинон и спиновые аддукты гидроксильного радикала регистрировались нами [7] в плазме мышей линии DBA/2 при воспроизведении ферментозависимой модели полимиозита.

Двухэлектронный механизм переноса, в отличие от одноэлектронного, патологии не вызывает и может трактоваться как нормальный процесс, происходящий *in vivo* в двух параллельных цепях одноэлектронного переноса с образованием синглетного кислорода, что, как показано нами [5], происходит при фотоактивации копропорфирина, гема, или другой химической структуры с чередующимися одинарными и двойными связями (например, хлорофилла растений). Примером может служить реакция Хилла. Следует отметить, что синглетный кислород менее токсичен для клеток, чем супероксидный ион с неспаренным электроном на внешней орбитали.

Нарушение функционирования (в наших опытах производилось ингибирование) одного из ферментов антиоксидантной системы, ответственного за спаривание молекулярных носителей электронов, завершается появлением в жидких субстанциях организма токсичного супероксида и последующих цепных реакций его превращений [5–8, 20]. На поверхности клеточных мембран миокарда возникают токи смещения и падение потенциала [11]. На электрокардиограмме подопытных животных появляются признаки ишемической болезни с некрозом передней или задней стенки; возникают повторные инфаркты.

Заключение. Подтверждено положение более ранних работ [7, 20] о том, что за эффективность антиоксидантной системы отвечает целый ансамбль ферментов. Осуществляемый ими контроль одноэлектронного переноса зависит от вида, возраста и индивидуальных, генетически детерминированных особенностей организма, его тканей, органов и клеточных мембран, в которых квантованный процесс одноэлектронного переноса может изменять энергообмен и осуществлять разрушительные процессы, зависящие от местного уровня активности антиоксидантной системы. В конечном итоге это влияет на гомеостаз (уровень гомеостаза линейных мышей соответствует концентрации радикалов, менее 10^{-7} моль/л) и приводит к заболеваниям со свободно-радикальной этиологией, важную роль в возникновении и развитии которых играет наследственная предрасположенность организма.

Литература

1. Гордиенко, А.В. Центральная и висцеральная гемодинамика у больных с осложненным течением инфаркта миокарда / А.В. Гордиенко [и др.] // Вестн. Росс. воен.-мед. акад. – 2011. – № 1 (33). – С. 93–97.
2. Власов, С.С. Фибрилляция предсердий: эндогенные инотропные факторы у больных ишемической болезнью сердца с различными вариантами течения аритмии / С.С. Власов [и др.] // Вестн. Росс. воен.-мед. акад. – 2011. – № 2 (34). – С. 79–83.
3. Свистов, А.С. Возможности оценки симпатической активности сердца и вариабельности ритма у больных с фибрилляцией предсердий / А.С. Свистов [и др.] // Вестн. Росс. воен.-мед. акад. – 2011. – № 3 (35). – С. 116–120.
4. Богданова, Е.А. Особенности ишемии миокарда у больных сахарным диабетом 2 типа в сочетании с ишемической болезнью сердца по данным суточного мониторирования

- электрокардиограммы / Е.А. Богданова [и др.] // Вестн. Росс. воен.-мед. акад. – 2011. – № 1 (37). – С. 44–48.
5. Листов, М.В. Фото- и химическая активация одноэлектронного переноса при моделировании патологий на мышцах линии DBA/2 / М.В. Листов, А.И. Мамыкин // ДАН – 2011. – Т. 439. – № 6. – С. 841–843.
 6. Листов, М.В. Ферменто-зависимая модель полимиозита у мышечной линии DBA/2 / М.В. Листов, Д.К. Торопов, Г.Г. Родионов // ДАН – 1999. – Т. 366. – № 2. – С. 269–270.
 7. Листов, М.В. Экспериментальное обоснование свободно-радикальной этиологии системных заболеваний соединительной ткани на моделях полимиозита и гемозависимого экзофтальма / М.В. Листов, Д.К. Торопов, Г.Г. Родионов // ДАН – 2008. – Т. 414. – № 5. – С. 715–717.
 8. Мамыкин, А.И. Кинетика релаксации свободных радикалов и перенос электрона в жидких субстанциях организма / А.И. Мамыкин, М.В. Листов // Известия СПб ГЭТУ «ЛЭТИ». – 2010. – № 3. – С. 55–60.
 9. Догель, Л.В. Классификация и лечение полимиозита / Л.В. Догель. – Л.: Медицина. – 1973. – 10 с.
 10. Листов, М.В. К вопросу об экспериментальном моделировании полимиозита / М.В. Листов [и др.] // Усовершенствование способов и аппаратуры, применяемых в учебном процессе, медико-биологических исследованиях и клинической практике. – СПб.: ВМА. – 2003. – № 34. – С. 38–41.
 11. Листов, М.В. Экспериментальное моделирование патологий на мышцах линии DBA/2. Проведение и блокировка нервного импульса / М.В. Листов, А.И. Мамыкин // Тр. Всеарм. научн.-практ. конф. «Инновационная деятельность в Вооруженных силах РФ». – МО РФ, ЛВО, СПб, Военная академия связи. – 2011. – С. 189–191.
 12. Мамыкин, А.И. Магнитно-резонансная спектроскопия пористых квантово-размерных структур / А.И. Мамыкин, В.А. Мошников, А.Ю. Ильин // ФТП. – 1998. – Т. 29. – № 10. – С. 356–358.
 13. Hubbard, J. Electron correlations in narrow energy bands / J. Hubbard // Proc. r. soc. a. – 1964. – Vol. 281. – P. 401–408.
 14. Anderson, P.W. The resonating valence bond state in La₂CuO₄ and superconductivity / P.W. Anderson // Science. – Vol. 235. – P. 1196–1199.
 15. Маркин, В.С. Физика нервного импульса / В.С. Маркин, В.Ф. Пастушенко, Ю.А. Чизмаджиев // УФН – 1977. – Т. 123. – № 10. – С. 289–332.
 16. Изюмов, Ю.А. Магнетизм и сверхпроводимость в сильно коррелированной системе / Ю.А. Изюмов // УФН – 1991. – Т. 161. – № 11. – С. 1–46.
 17. Листов, М.В. Воздействие избирательных механизмов антиоксидантной активности на кинетику цепной реакции свободных радикалов / М.В. Листов, А.И. Мамыкин // Тр. Всеарм. научн.-практ. конф. «Инновационная деятельность в вооруженных силах РФ». – МО РФ, ЛВО, СПб, Военная академия связи. – 2009. – С. 325–327.
 18. Листов, М.В. Энергетическая схема и кинетика релаксации свободных радикалов в условиях гомеостаза / М.В. Листов, А.И. Мамыкин // Тр. Всеарм. научн.-практ. конф. «Инновационная деятельность в вооруженных силах РФ». – МО РФ, ЛВО, СПб, Военная академия связи. – 2009. – С. 327–332.
 19. Листов, М.В. Эффективность избирательных механизмов антиоксидантной активности в условиях цепной реакции свободных радикалов / М.В. Листов, А.И. Мамыкин // Тр. Всеарм. научн.-практ. конф. «Инновационная деятельность в вооруженных силах РФ». – МО РФ, ЛВО, СПб, Военная академия связи. – 2009. – С. 332–334.
 20. Родионов, Г.Г. Экспериментальное моделирование патологических состояний со свободнорадикальной этиологией и их математическое описание / Г.Г. Родионов [и др.] // Тр. Междунар. конф. «Высокоинтенсивные физические факторы в биологии, медицине, сельском хозяйстве и экологии». ФГУП Российский федеральный ядерный центр, ВНИИЭФ. Саров. – 2009. – С. 88–97.

M.V. Listov, A.I. Mamykin, L.P. Tihonova

Experimental modeling polimiositis of Vagner – Unferriht forms: physiologic, physics and mathematics aspects

Abstract. Here the results of the histological examination of the myocardium of line C57Bl (black) mice in experimental modeling polimiositis of Vagner-Unferriht form are presented. Also the comparison of pathogenic events in mice of this line with the results of experiments on less pigmented mice line DBA/2 has been fulfilled. It is established, that line DBA/2 mice are more sensitive to the effects of orally introduced inductors of free radicals produced in the chain reaction semihyponite → superoxide → perhydrol → hydroxyl in a liquid substance of the body. Diffuse defeat of infarction has expressed electrochemical nature, where the lipid peroxidation has been produced by free radicals penetration through the cell membrane in single electron transfer process. It is shown that the probable mechanism of electron transfer is the electric interaction of free radicals with the dipole network of polar molecules of integral protein, forming together with adsorbed ions Na⁺ and K⁺ electric double layer of parallel oriented electric dipole moments. The concept of the construction of theoretical modeling of electron transfer through membrane is based on the isomorphism of spatial flipping in dipole network of cell membrane to quantum transitions of ferromagnetic – paramagnetic – antiferromagnetic type in a solid body. The proposed model allows to explain the genetically determined differences in the efficiency of the antioxidant system of lines C57Bl and DBA/2 mice.

Key words: polimyositis, myocardium, inflammatory-dystrophic changes, violation of free radicals, antioxidant system, the collective states of integrated protein molecules.

Контактный телефон: +7-904-615-0321; e-mail: alexmamykin@yandex.ru