

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

КРИТЕРИИ НОРМЫ В МЕТАЛЛОЛИГАНДНОМ ГОМЕОСТАЗЕ КЛЕТОК ЭПИДЕРМИСА

**В.И. Петухов^{1*}, Е.В. Дмитриев², Л.Х. Баумане³, А.В. Скальный⁴,
Ю.Н. Лобанова⁴, А.Р. Грабеклис⁴**

¹ Владимирский государственный университет им. А.Г. и Н.Г. Столетовых, Владимир, Россия

² Институт вычислительной математики им. Г.И. Марчука РАН, Москва, Россия

³ Латвийский институт органического синтеза, Рига, Латвия

⁴ Российский университет дружбы народов, Москва;

Ярославский государственный университет им. П. Г. Демидова, г. Ярославль, Россия

РЕЗЮМЕ. Представлено обсуждение проблемы нормы в количественной оценке металлолигандного гомеостаза в эпидермальных клетках (волосы).

Методом атомно-эмиссионной спектроскопии были проанализированы образцы волос, полученные от 10000 здоровых лиц (5000 мужчин и 5000 женщин в возрасте от 20 до 45 лет), на содержание цинка, меди и железа. Показано, что наблюдаемые сдвиги в гомеостазе металлов носили локальный характер и, по мнению авторов, не могли служить критерием достаточного (или недостаточного) содержания металлов во всем организме. Критерии нормы хорошо согласуются с основными положениями теории самоорганизованной критичности.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: металлолигандный гомеостаз, редокс-статус, эпидермис, самоорганизованная критичность, окислительный/нитрозативный стресс.

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на огромное число публикаций, посвящённых диагностике нарушений металлолигандного гомеостаза (МЛГ), достоверное выявление латентных форм этих нарушений остаётся нерешённой задачей для большинства эссенциальных металлов (ЭМ). Исключение составляет только железо (Fe), скрытый недостаток которого удаётся диагностировать по уровню сывороточного ферритина и по хорошо известным патогномичным клиническим признакам. Недостаток других эссенциальных металлов, в частности меди (Cu) и цинка (Zn) в скрытой (латентной) форме, не имеет надёжных клинических симптомов и достоверных сывороточных или каких-либо других маркеров.

С внедрением в исследовательскую практику высокоточного диагностического оборудования (атомно-эмиссионная спектроскопия, масс-спектрометрия) и неинвазивной методики получения биосубстрата (волосы) появились ожидания быстрого решения этой диагностической проблемы,

которые, к сожалению, не оправдались. Не удалось ответить на главный вопрос: что означают численные показатели спектроскопии металлов в том или ином субстрате (в частности, в волосах) и какова их связь с обеспеченностью всего организма жизненно важными металлами (Ca, Na, K, Fe, Zn, Cu и др.)?

Наибольшие трудности доставляет выявление скрытого недостатка эссенциальных металлов при скудных (или отсутствующих) клинических признаках, в то время как диагностика крайних форм дефицита (или переизбытка) металлов обычно не вызывает проблем.

Если говорить об эпидермисе (волосы), то нельзя признать строго доказанным, что по содержанию металлов в эпидермисе можно диагностировать их латентный дефицит. К тому же требуют понимания сами спектроскопические показатели и то, как они помогают поставленной задаче – выявлению латентного металлодефицита.

Обращает на себя внимание значительный разброс индивидуальных концентрационных зна-

* Адрес для переписки:

Петухов Валерий Иванович

E-mail: vip-val@yandex.ru

чений металлов при использовании волос в качестве субстрата: коэффициент вариации (CV), по нашим данным, колебался в пределах 34–226,5% (Petukhov et al., 2006). Кроме того, при проверке гипотезы о нормальности распределения результатов спектрометрии было обнаружено, что это распределение не подчиняется нормальному закону и носит, как стало ясно позднее, фрактальный характер (Petukhov et al., 2016).

Из-за невозможности подтвердить гипотезу нормального распределения приходится отказываться от применения стандартных методов оценки средней и использовать с этой целью альтернативные подходы: bootstrap-метод (Petukhov et al., 2011), нахождение медианы (Me) (Notova et al., 2017). Но при трактовке результатов спектрометрии волос бывает трудно противостоять иллюзии, что найденные показатели отражают «элементный статус» всего организма (Notova et al., 2017), а не особенности трансмембранного трафика металлов на уровне эпидермоцитов – динамичного и подверженного (судя по CV) резким численным колебаниям. Именно поэтому экстраполяцию данных спектрометрии волос на весь организм нельзя считать оправданной.

На наш взгляд, было бы правильнее относить наблюдаемые в эпидермисе сдвиги в МЛГ только к этой ткани, избегая не доказанных обобщений и оставляя открытой для дальнейших исследований возможную связь МЛГ эпидермиса с аналогичными процессами в других тканях.

При изучении МЛГ в эпидермисе представляет интерес не только и даже не столько содержание того или иного металла, сколько особенности регуляторного контроля над МЛГ на уровне клетки. Этот контроль может происходить в соответствии с открытым сравнительно недавно (Вак, 2014) универсальным природным законом *самоорганизованной критичности* (СК), поскольку живая клетка (с точки зрения биоэнергетики) представляет собой открытую динамическую систему, в которой заметное место в противодействии энтропии занимают процессы энергообмена на уровне клеточной мембраны. К таким процессам относится АТФ-зависимый трансмембранный трафик ионов металлов (в первую очередь, Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Zn^{2+} и др.), в котором принимает участие семейство АТРаз (P-type).

О фактах, указывающих на принадлежность МЛГ эпидермиса к СК-явлениям для натрия, калия и кальция, сообщалось в (Petukhov et al., 2016).

Ц е л ь р а б о т ы – представить возможные доказательства принадлежности МЛГ эпидермиса к СК-явлениям для железа, цинка и меди.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Все аналитические процедуры по определению металлов в волосах были сделаны в лаборатории Центра биотической медицины (Москва), используя с этой целью масс-спектрометрию с индуктивно связанной плазмой (ICP-MS) на спектрометре NexION 300D (Perkin Elmer Inc., Shelton, CT, США).

Результаты спектрометрии волос на содержание Zn, Cu и Fe, полученные от 10000 здоровых лиц (жители Москвы в возрасте от 20 до 45 лет), были проанализированы с использованием методов математической статистики. С целью выявления степенной зависимости между содержанием металлов в клетках эпидермиса (волосы) и числом индивидов (критерий СК-феномена) находили плотность вероятности степенного распределения с последующей линеаризацией степенного распределения на графике в двойном логарифмическом масштабе. Этот метод применялся в предыдущем исследовании (Petukhov et al., 2016).

Расчёты производили с использованием статистической программы Matlab.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что степенная зависимость принимает вид прямой в двойном логарифмическом масштабе. Поэтому для выявления степенной связи между содержанием металлов (Zn, Cu и Fe) в эпидермисе и числом испытуемых были построены соответствующие графики.

Плотность вероятности степенного распределения задается формулой

$$P_{k,m}(x) = \frac{km^k}{x^{k+1}}.$$

Для того, чтобы было легче судить о качестве подгонки, приведен «идеальный» случай подгонки по случайным числам с распределением Парето (RND) (рис. 1).

На рис. 2 представлены оценки плотности распределения по данным спектрометрии (кривая 1) и подгонка методом линеаризации степенного распределения (кривая 2) для цинка (рис. 2,а), меди (рис. 2,б) и железа (рис. 2,в).

Для получения нормализованной гистограммы границы столбиков выбирались равно-

мерно в логарифмическом масштабе (30 столбиков для 10000 измерений). Сверху указаны: название элемента, наименьшая концентрация C_{thr} , с которой начинается подгонка (данные, соответствующие концентрациям меньше C_{thr} , не учитываются), и среднеквадратическая ошибка RMSE. Расчет параметров распределения представлен в табл. 1.

На рис. 2 можно видеть отрезки разной величины, практически совпадающие с прямой линией, что, согласно теории СК, может указывать на существование (в пределах прямой) степенной связи между содержанием в эпидермисе того или иного металла и числом индивидов. Другими словами, эти участки линейной аппроксимации свидетельствуют о *критическом* состоянии МЛГ, при котором параметр ветвления σ равен 1. Участки кривых с отсутствием такой аппроксимации (до и после прямой) относятся к *докритическому* ($\sigma < 1$) и *надкритическому* ($\sigma > 1$) состояниям МЛГ (Petukhov et al., 2016). При этом у цинка (рис. 2,а) и меди (рис. 2,б) кривые, принадлежащие надкритическому состоянию, находятся слева от отрезка прямой, а докритическому – справа (по оси абсцисс). У железа (рис. 2,в) локализация указанных фрагментов кривой приобретает обратный вид: докритическое состояние слева, а надкритическое – справа от прямой по оси абсцисс.

Объяснение этому кроется в неодинаковом эффекте, который оказывал окислительный/нитрозативный стресс на содержание этих металлов в эпидермоцитах. По нашим данным, повышенная продукция активных форм кислорода (АФК) и азота (АФА), которые, как известно, способны активировать работу мембранных АТРаз за счёт окислительной модификации и/или нитрозилирования их молекул, сопровождалась достоверным снижением в клетке уровня Zn и Cu, но повышением – Fe (Petukhov et al., 2011; (Petukhov et al., 2013). Поэтому направленность (очередность) СК-периодов (докритический → критический → надкритический) по содержанию металлов и возрастанию активности АТРаз должна быть у цинка и меди – от больших концентрационных значений к меньшим, а у железа – от меньших к большим.

Полученные визуально (и потому с известным приближением) численные интервалы фрагментов, которые аппроксимировались прямой (критическое состояние), были следующие: у

цинка 200–1050 мкг/г, у меди 13–65 мкг/г и у железа 15–50 мкг/г (рис. 2).

Напомним, что *параметр ветвления* σ в системе осцилляторов (в данном случае – мембранных АТРаз) равен среднему числу ближайших соседей, которому каждый из осцилляторов может передать энергетический импульс (информацию). В критическом состоянии σ равен 1, то есть передача информации (энергии) в такой системе будет происходить практически сразу всем её членам и, что очень важно, на значительные расстояния. Это обстоятельство служит одним из главных условий критичности (синхронизации) работы осцилляторных систем. Кроме того, уже упомянутая степенная связь (как признак критичности) будучи фрактальной (не зависимой от масштабов системы) должна выявляться не только на уровне клеток, но и на уровне целых организмов.

Таблица 1. Расчётные параметры степенного распределения (PDF)

Элемент	k	m
Zn	4,9268	18,2564
Cu	3,8834	2,5106
Fe	3,4374	1,77
RND	5,0046	0,90352

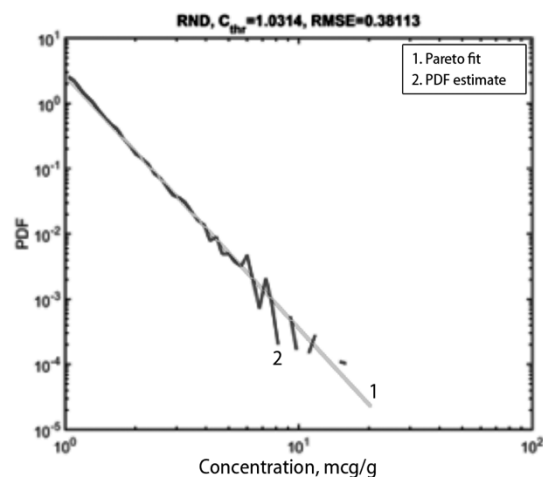


Рис. 1. «Идеальный» случай подгонки по случайным числам с распределением Парето (RND): 1 – оценка плотности по данным спектрометрии; 2 – подгонка методом линеаризации степенного распределения (RMSE – среднеквадратическая ошибка; C_{thr} – наименьшая концентрация, с которой начинается подгонка)

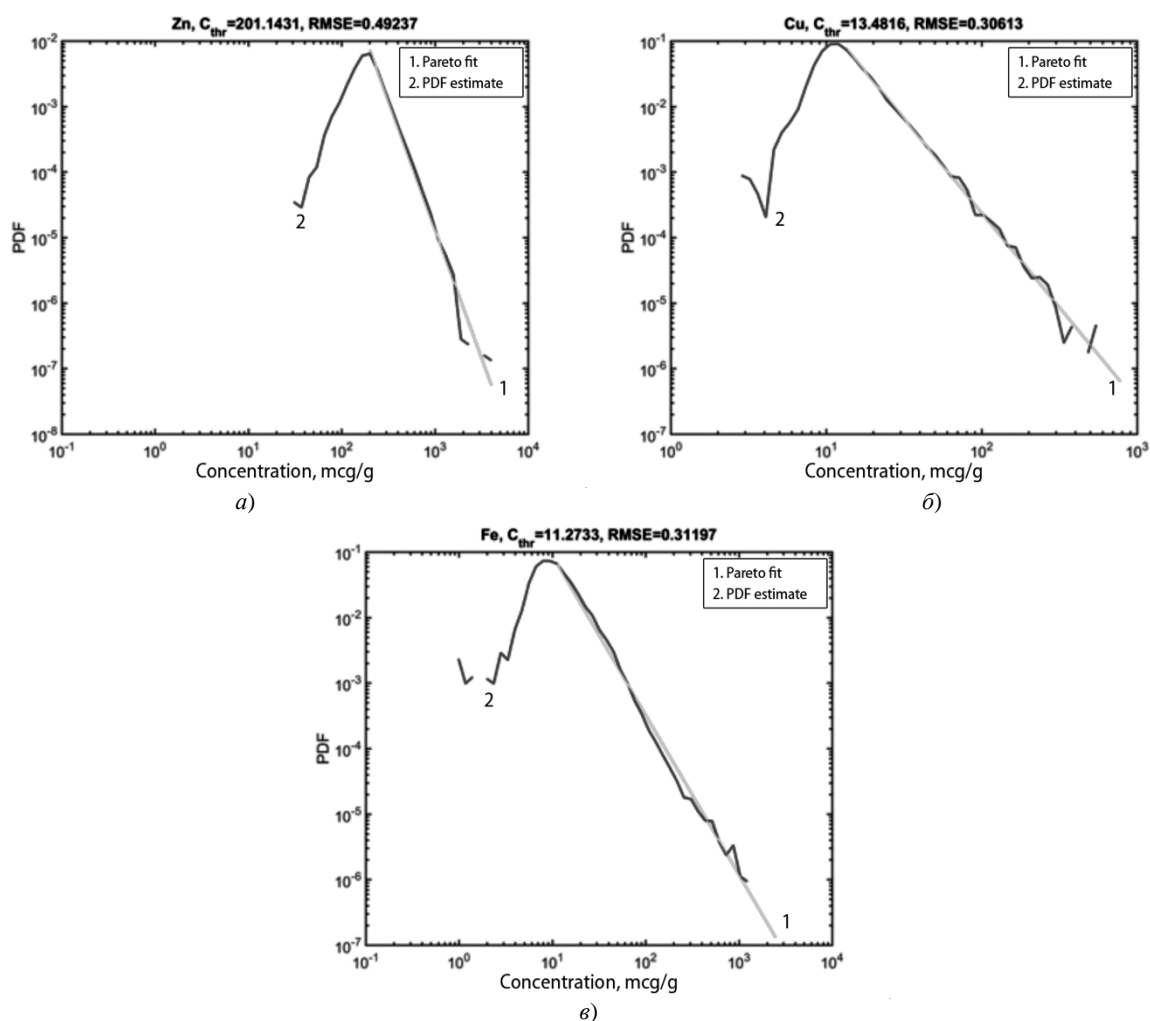


Рис. 2. Оценка плотности и линеаризация степенного распределения:

a – для Zn; *б* – для Cu; *в* – для Fe; 1 – оценка плотности по данным спектрометрии; 2 – подгонка методом линеаризации степенного распределения (RMSE – среднеквадратическая ошибка; C_{thr} – наименьшая концентрация, с которой начинается подгонка)

Наличие в эпидермисе того или иного металла в пределах критического состояния означает, что в этих границах клетка способна *контролировать (регулировать)* МЛГ данного металла. Другими словами, принадлежность МЛГ эссенциальных металлов к критическому диапазону может, очевидно, служить нормативным критерием обеспеченности клетки этими металлами. Найденные ранее по СК-критерию нормативные показатели содержания в волосах электрогенных металлов – кальция (Ca), калия (K) и натрия (Na) были следующие: $Ca_{жен}$ – 400–3000 мкг/г; $Ca_{муж}$ – 400–2000 мкг/г; K – 50–1000 мкг/г; Na – 80–1000 мкг/г (Petukhov, 2017).

Представленные численные значения уровня ЭМ в эпидермисе соответствуют критическому

состоянию, которое означает, что клетка способна контролировать (регулировать) гомеостаз ЭМ. Эта способность может служить критерием нормального функционирования клетки.

Критичность работы мембранных насосов подразумевает синхронный характер их функционирования, поскольку синхронизация является частным случаем критического состояния. Вместе с тем, если Na^+/K^+ -АТФазы наружной мембраны работают синхронно (в критическом режиме), то концентрационные значения ионов K^+ и Na^+ в клетке должны находиться в корреляционной связи. Напомним, что каждый Na^+/K^+ -насос переносит три иона Na^+ наружу и два иона K^+ внутрь клетки. Показательно, что само это утверждение, которое часто встречается в современной

литературе, представляет собой признание *a priori* существующей пропорциональности транс-мембранного трафика Na^+ и K^+ , поскольку такая пропорциональность возможна лишь при синхронной работе мембранных Na^+/K^+ -АТФаз.

Существование корреляции между $[\text{Na}]$ и $[\text{K}]$ можно обнаружить при измерении содержания этих металлов непосредственно в эпидермальных клетках, если бы не методические трудности, связанные с таким подходом.

Однако, если гомеостаз ЭМ действительно является СК-явлением, то $[\text{Na}]-[\text{K}]$ корреляция должна обладать фрактальностью (независимостью от масштаба системы) и обнаруживаться не только на уровне клеток, но и на уровне целого организма. Другими словами, корреляцию между уровнем Na и K в эпидермисе, а также степенную зависимость между результатами спектрометрии и числом индивидов (в заданном диапазоне чис-

ленных значений ЭМ) можно выявить у большинства испытуемых.

Ранее нами была найдена линейная положительная $\text{Na}-\text{K}$ связь ($r = 0,6-0,8$, $p < 0,05$) как у здоровых лиц ($n = 947$), так и у ликвидаторов аварии на Чернобыльской АЭС ($n = 954$) (Petukhov et al., 2011).

В данном исследовании достоверная $\text{Na}-\text{K}$ корреляция, свидетельствующая о синхронной работе мембранных Na^+/K^+ -АТФаз, не зависела от размера выборки, но была тесно связана с режимом их функционирования, т.е. напрямую зависела от синхронной (критический период) или асинхронной (до- и надкритический периоды) работы этих насосов. Показательно в этом отношении заметное отличие коэффициента корреляции $r_{\text{Na-K}}$ для общей группы от аналогичного показателя для концентрационных значений Na , которые соответствуют до- и надкритическому периоду (см. табл. 2).

Таблица 2. Коэффициент корреляции $r_{\text{Na-K}}$ (Pearson) и уровень Na в эпидермисе

Исследуемая группа	n	$r_{\text{Na-K}}$
Общая группа	10012	0,61 ($p < 0,05$)
Докритический период ($\text{Na} < 80$ мкг/г)	424	0,1
Надкритический период ($\text{Na} > 1500$ мкг/г)	260	0,17

Таблица 3. Медиана (Me) и другие параметры СК-периодов у Zn , Cu , Fe

СК-период МЛГ	n	Медиана (Me) в разных СК-периодах, мкг/г	Распределение по полу	
			Мужчины	Женщины
Цинк				
Докритический ($\sigma < 1$)	34 (0,3%)	1346,8	6 (17,7%)	28 (82,3%)
Критический ($\sigma = 1$)	5090 (50,9%)	254,6	2233 (43,9%)	2857 (56,1%)
Надкритический ($\sigma > 1$)	4876 (48,8%)	162,7	2761 (56,6%)	2115 (43,4%)
Медь				
Докритический ($\sigma < 1$)	4234 (42,3%)	90,4	2651 (62,6%)	1583 (37,4%)
Критический ($\sigma = 1$)	5469 (54,7%)	18,4	2267 (43,9%)	3202 (56,1%)
Надкритический ($\sigma > 1$)	297 (3%)	10,6	82 (27,6%)	215 (72,4%)
Железо				
Докритический ($\sigma < 1$)	5952 (59,5%)	9,6	3368 (56,6%)	2584 (43,4%)
Критический ($\sigma = 1$)	3518 (35,2%)	22	1478 (42%)	2040 (58%)
Надкритический ($\sigma > 1$)	530 (5,3%)	74	154 (29,1%)	376 (70,9%)

Примечание: медианы (Me) уровней металлов в эпидермисе (общая группа): цинка – 201,9 мкг/г; меди – 14,1 мкг/г; железа – 12,8 мкг/г.

Коэффициент корреляции $r_{\text{Na-K}}$ (табл. 2), в докритическом и надкритическом периодах резко снижен по сравнению с общей группой, что, на наш взгляд, отражает асинхронную работу Na^+/K^+ -АТФаз в этих режимах.

Поскольку число активированных АТФаз (плотность распределения) на плазматической мембране эпидермоцита зависит от АФК и АФА, то для запуска синхронизации (критическое состояние) необходим достаточный уровень продуцируемых в клетке АФК/АФА. Недостаток или избыток последних приведёт, соответственно, к докритическому или надкритическому режиму (десинхронизация).

Синхронизация работы мембранных помп (критичность) в той или иной степени присуща, по-видимому, и другим мембранным насосам из суперсемейства АТФаз (P-type). Об этом свидетельствуют результаты исследования тесноты связи (Pearson) между концентрационными значениями K и Zn у здоровых лиц и ликвидаторов Чернобыльской аварии (у последних было выявлено повышение продукции АФК и АФА) (Petukhov et al., 2016).

У абсолютного большинства ликвидаторов аварии (88%) K-Zn корреляция была негативной и значимой (у 205 чел. $r = -0,62$; $p < 0,05$; у 634 чел. $r = -0,41$; $p < 0,05$). У 12% чернобыльцев (115 чел.) она не выявлялась ($r = -0,03$). K-Zn связь отсутствовала ($r = -0,01$) у 253 здоровых лиц (26,7%), у 523 чел. (55,2%) была слабо выраженной ($r = -0,22$; $p < 0,05$) и отчётливо выявлялась ($r = -0,43$; $p < 0,05$) лишь у 171 чел. (18,1%). При этом K-Zn связь при наибольшем $|r|$ (как у чернобыльцев, так и у здоровых лиц) сочеталась с достоверно более высоким уровнем K и Na и более низким Zn, чем у лиц с отсутствием K-Zn корреляции.

В табл. 3 представлены параметры СК-периодов, полученные для Zn, Cu и Fe.

Как следует из табл. 3, число индивидов с критическим состоянием МЛГ_{Zn} было наибольшим ($n=5090$), незначительно превышая тот же показатель для надкритического состояния ($n=4876$) и в значительной степени – для докритического ($n=34$).

Неодинаковым было и содержание Zn в разные СК-периоды: наибольшим в докритическом ($\text{Me}=1346,8$ мкг/г) и наименьшим ($\text{Me}=162,7$ мкг/г) в надкритическом периоде. Значения Me критической фазы занимали промежуточное положение ($\text{Me}=254,6$ мкг/г). Различий по полу не обнаружено, за исключением докритического периода,

где размер выборки ($n=34$) был недостаточным для достоверного вывода.

Существенным является сам факт отличия медианы содержания Zn критической фазы (254,6 мкг/г) от медианы в общей группе ($\text{Me}=201,9$ мкг/г). Заметим, что именно по значению последнего параметра многие исследователи судят об «элементном статусе» всего организма (Notova, 2017).

Может ли обнаруженное различие служить признаком латентного Zn-дефицита? Однозначного ответа нет. Нельзя исключить, что в надкритическом СК-периоде большее число индивидов может оказаться с повышенной продукцией АФК и АФА, что ведёт, как показали наши исследования, к снижению внутриклеточного содержания не только Zn, но и Cu (Petukhov et al., 2011; Notova, 2017). Таким образом, обнаруженные сдвиги носят, скорее, не общий (тотальный), а локальный или *перераспределительный* характер.

По содержанию меди в волосах (табл. 3) у большинства индивидов (54,7%) был выявлен критический СК-период МЛГ_{Cu} . При этом характер изменений уровня Cu в эпидермисе в зависимости от принадлежности СК-периоду был таким же, как и у Zn – наибольшим в докритическом ($\text{Me}=90,4$ мкг/г) и наименьшим в надкритическом ($\text{Me}=10,6$ мкг/г) периоде. Вместе с тем распределение индивидов в докритическом и надкритическом периодах резко отличалось от подобных значений для цинка. У цинка в докритическом периоде – всего 0,3% от общего числа исследованных, у меди – 42,3%. В надкритическом СК-периоде у цинка – 48,8%, у меди – только 3% (см. табл. 3). Медиана для Cu в критической фазе была 18,4 мкг/г при почти одинаковом распределении по полу в критической фазе и заметно различном в других СК-периодах.

Как и у Zn, для Cu значение медианы критической фазы (18,4 мкг/г) превышало медиану в общей группе (14,1 мкг/г). Объяснение этому, как и в случае с цинком, следует, по-видимому, искать в перераспределительном характере изменений в МЛГ_{Cu} в зависимости от уровня АФК и АФА в клетках эпидермиса.

Большинство индивидов (59,5%) по уровню железа в волосах было в докритическом ($\sigma < 1$) периоде, наименьшее (5,3%) – в надкритическом ($\sigma > 1$), в критическом СК-периоде ($\sigma = 1$) – 35,2% от общего числа исследованных. Динамика изменения содержания Fe в зависимости от СК-периода была следующей: в докритическом $\text{Me}=9,6$ мкг/г,

в критическом $Me=22$ мкг/г и в надкритическом периоде $Me=74$ мкг/г.

Показательным было распределение индивидов по полу в разные СК-периоды. Если у лиц с наибольшим содержанием железа (надкритический период) преобладали женщины (70,9%), то в критическом и докритическом СК-периодах распределение индивидов по половой принадлежности было практически одинаковым (табл. 3). Почти равное распределение по полу в докритическом периоде у лиц с наименьшим содержанием Fe ($Me = 9,6$ мкг/г) требует обсуждения.

Низкий уровень Fe, по данным спектрометрии, который с одинаковой вероятностью был зарегистрирован как у мужчин, так и у женщин, явно противоречит хорошо известному факту значительного преобладания женщин, страдающих Fe-дефицитом в возрасте 20–45 лет, по сравнению с мужчинами. По нашим данным, процент мужчин в возрасте от 20 до 43 лет с отсутствием признаков железодефицитных состояний (ЖДС) почти пятикратно превосходил аналогичный показатель у женщин (60% vs 12,2%) (Щуков и др., 2014).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что изменения $MЛГ_{Fe}$ в эпидермисе, которые регистрируются с помощью спектрометрии, являются локальными, не носят общий характер и поэтому не могут служить критерием обеспеченности организма железом. Это утверждение будет, по-видимому, справедливым и в отношении других металлов (Zn, Cu) при совершенствовании методов диагностики их латентного дефицита.

Проблема достоверной диагностики ЖДС приобретает актуальность и в связи с вероятной зависимостью биодоступности оксида азота (NO) от обеспеченности организма железом. На существование такой зависимости указывает современное представление о существующей в клетке трёхкомпонентной системе (NO + свободные тиолы + негемовое Fe) в качестве главного и постоянного источника монооксида азота, точнее, его наиболее реактогенных форм: ионов нитрозония (NO^+) и нитроксила (NO^- или HNO) (Vanin, 2016). В рамках этой системы постоянно синтезируются S-нитрозотиолы и динитрозильные комплексы железа с тиол-содержащими лигандами (ДНКЖ), причём как в моноядерной $[(RS)_2Fe(NO)_2]$ – М-ДНКЖ, так и в биядерной $[(RS)_2Fe_2(NO)_4]$ форме – Б-ДНКЖ. Одним из главных условий нормальной работы этой системы, где

в режиме автоколебаний (по типу реакции Белоусова–Жаботинского) происходит постоянная взаимотрансформация ДНКЖ и S-нитрозотиолов (RS-NO), является (при достаточном количестве в клетке свободных SH-групп) обязательное пополнение системы необходимыми компонентами взамен израсходованных (в первую очередь, NO и негемовое Fe). Поэтому в условиях Fe-дефицита мы вправе ожидать снижения численности автоколебательных систем и уменьшения плотности их распределения в цитоплазме, что ведёт к функциональной несостоятельности NO.

Как отмечалось, $RS-NO \leftrightarrow$ ДНКЖ-осцилляторы в ходе взаимопревращений RS-NO и ДНКЖ способны генерировать наиболее реактогенные формы NO: ионы нитрозония (NO^+) и нитроксила (HNO), обладающие заметно бóльшим сроком существования по сравнению с монооксидом азота (напомним, что срок жизни NO измеряется миллисекундами). В результате создаются условия для стабильного (долговременного) функционирования короткоживущей молекулы NO в качестве универсального менеджера (Vanin, 2016).

Требуют обсуждения возможные варианты существования в клетке $RS-NO \leftrightarrow$ ДНКЖ-осцилляторов. Дело в том, что, обладая способностью к автоколебаниям, эти системы при достижении определённой (пороговой) плотности в цитоплазме должны упорядочить (синхронизировать) свои колебания или, по терминологии теории самоорганизованной критичности, *критически самоорганизоваться*, перейти в *критическое состояние*.

Синхронный (критический) режим функционирования $RS-NO \leftrightarrow$ ДНКЖ-систем имеет важное значение и явные преимущества перед до- и надкритическими режимами в трансмембранном трафике ионов электрогенных металлов (в первую очередь, Ca^{2+}), поскольку синхронизированная, бесперебойная продукция NO^+ и HNO в условиях критического режима обеспечивает необходимую для нормальной работы активацию АТФаз за счёт нитрозилирования SH-групп цистеина в их белковых молекулах. Кроме того, в условиях критического состояния возможен контроль над поступлением и выходом из клетки ионов электрогенных металлов, который необходим для соблюдения (в допустимых пределах) динамического баланса между данными параметрами. Это может быть вполне реальным хотя бы потому, что в роли активаторов мембранных помп (для входа

и выхода металлов), принадлежащих одному семейству АТР-аз (P-типе), оказываются продуценты автоколебательных RS-NO↔ДНКЖ-систем – ионы нитрозония и нитроксила. Единственное условие, которое должно соблюдаться в нормальной работе этих систем, – их критическое состояние. Заметим, что синхронное («залповое») появление ионов Ca^{2+} в гиалоплазме («кальциевые спарки»), которое удалось обнаружить с помощью конфокальной микроскопии (Pinsky, 1997), хорошо иллюстрирует такую возможность.

Докритический ($\sigma < 1$) режим работы RS-NO↔ДНКЖ-осцилляторов наиболее вероятен для ЖДС и ситуаций с недостаточным синтезом NO конститутивными NO-синтазами. При этом нельзя исключить, что дефицит NO^+ и HNO, который здесь вполне ожидаем, может помешать полноценной активации (нитрозилированию) мембранных АТРаз, что неминуемо приведёт к сдвигам в гомеостазе электрогенных металлов на уровне клетки и возможным клиническим проявлениям этих сдвигов. Например, нарушение кальциевого гомеостаза в миоците, независимо от «специализации» этой клетки (кардиомиоцит, гладкие мышцы сосудов и полых органов, скелетная мускулатура), может вести к «сбоям» в трансмембранном трафике Ca^{2+} : недостаточному восполнению депо Ca^{2+} в саркоплазматическом ретикулуме и связанному с этим сокращению выхода Ca^{2+} в цитозоль. Как результат – снижение сократительной способности мышечной ткани. Этот симптом в клинической картине ЖДС носит универсальный характер (не зависит от типа мускулатуры). Известно, что слабость скелетных и гладких мышц – патогномичный симптом Fe-дефицитной анемии. У таких больных можно наблюдать ухудшение не только коронарного кровотока (как следствие нарушенной перистальтики коронарных сосудов), но и сократительной функции миокарда, а также ослабление тонуса и перистальтических сокращений полых мышечных органов. Не случайно уже через 4–5 дней после начала терапии препаратами Fe (срок слишком короткий для восстановления эритропоэза, но, по-видимому, достаточный для перехода системы RS-NO↔ДНКЖ из докритического в критическое состояние) заметно уменьшается количество приступов стенокардии у больных ЖДА.

Надкритическое состояние ($\sigma > 1$), в котором могут оказаться работающие RS-NO↔ДНКЖ-осцилляторы, вероятно, связано с резким возрастанием NO-продукции при активации индуцибельной NOS (iNOS), например при сепсисе и всех видах шока.

ВЫВОДЫ

Спектрометрия волос для определения содержания металлов в клетках эпидермиса обнаружила свою несостоятельность в диагностике латентных форм ЖДС. Однако спектрометрический анализ может оказаться пригодным для выявления «критичности» (синхронизации) как нормативного критерия в работе мембранных АТРаз.

ЛИТЕРАТУРА

- Щуков А.Н., Быкова Е.Я., Петухов В.И., Баумане Л.Х. Железодефицитные состояния (ЖДС) как предиктор репродуктивных нарушений. Евразийский Союз Ученых (ЕСУ). 2014; I: 69–70. Медицинские науки.
- Bak P. Theory of self-organized criticality. Moskva. 2014.
- Notova S.V., Kiyayeva E.V., Radysh I.V., Laryushina I.E., and Blagonravov M.L. Element status of students with different levels of adaptation. Byulleten` Eksperimental`noi Biologii i Meditsiny. 2017; 163(5): 541–543.
- Petukhov V.I. () What are the limits, if any, of normal content of electrogenic metals (K, Na, Ca) in epidermis? Insights Biomed. 2017; 2(2): 13–17.
- Petukhov V.I., Baumane L.K., Reste E.D., Zvagule T, Romanova MA, Shushkevich NI, Sushkova TL, Skavronskii SV, and Shchukov AN. Diagnosis of nitrosative stress by quantitative EPR-spectroscopy of epidermal stress. Bull. Exp. Biol. Med. 2013; 154:734–736.
- Petukhov V.I., Dmitriev E.V., Baumane L.Kh., Skalny A.V., and Lobanova Yu..N. Electrogenic metals in epidermis: relationship with cell bioenergetics. Insights in Biomed. 2016; 1(2): 9–14.
- Petukhov V.I., Dmitriev E.V., Kalvinsh I., Baumane L.Kh., Reste E.D., Zvagule T., Skesters A.P., and Skalny F.V. () Metal-ligand homeostasis in epidermic cells of Chernobyl accident liquidators. Vitamins & Trace Elements. 2011; 1(2): 1–8.
- Petukhov V.I., Dmitriev E.V., Skesters A.P., and Skalny A.V. Problems of the integral evaluation of human elemental status according to the spectrometry of hair. Mikroelementy v Medicine. 2006; 7(4): 7–14.
- Pinsky, D.J., Patton, S., Mesaros, S., Brovkovich, V., Kubazewski E., Grunfeld S., Malinski T. Mechanical transduction of nitric oxide synthesis in the beating heart. Circ. Res. 1997; 81:372–379.
- Vanin A.F. Dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands as a «working forms» of endogenous nitric oxide. Nitric Oxide Biol. Chem. 2016; 54: 15–29.

THE REGULATORY CRITERIA FOR METAL-LIGAND HOMEOSTASIS IN EPIDERMAL CELLS

**V.I. Petukhov¹, E.V. Dmitriev², L.Kh. Baumane³, A.V. Skalny⁴,
Yu.N. Lobanova⁴, A.R. Grabeklis⁴**

¹ Vladimir State University, Gorky str., 87, Vladimir, 600000, Russia

² Marchuk Institute of Numerical Mathematics of the Russian Academy of Sciences, Gubkina str., 8, 119333, Moscow, Russia

³ Latvian Institute of Organic Synthesis, Aizkraukles str., 21, Riga LV 1006, Latvia

⁴ Peoples' Friendship University of Russia, Miklukho-Maklaya str. 6, Moscow, 117198;
Yaroslavl State University, Sovetskaya str., 14, Yaroslavl, 150000, Russia

ABSTRACT. The work is dedicated to the problem of the norm in the quantitative evaluation of metal content in the epidermal cells (hair) obtained by the method of spectrometry. Authors have analyzed the hair samples for Zn, Cu, and Fe content, which were obtained from 10000 healthy subjects (5000 males and 5000 females aged 20 to 45). The definition of the norm, in the authors' opinion, is closely related to the basic positions of the theory of self-organized criticality (SC). The observed shifts in the homeostasis of essential metals are local and therefore cannot serve as a criterion of sufficient (or insufficient) metal content throughout the body.

KEYWORDS: metal-ligand homeostasis, redox status, epidermis, self-organized criticality, oxidative/ nitrosative stress.

REFERENCES

Shchukov A.N., Bykova E.YA., Petuhov V.I., Baumane L.H. Zhelezodeficitnye sostoyaniya (ZHDS) kak prediktor reproduktivnyh narushenij. *Evrzizjskij Soyuz Uchenyh (ESU)*. 2014; I: 69–70. *Medicinskie nauki* [In Russ.].

Bak P. *Theory of self-organized criticality*. Moskva. 2014.

Notova S.V., Kiyayeva E.V., Radysh I.V., Laryushina I.E., and Blagonravov M.L. Element status of students with different levels of adaptation. *Byulleten` Eksperimental`noi Biologii i Meditsiny*. 2017; 163(5): 541–543.

Petukhov V.I. () What are the limits, if any, of normal content of electrogenic metals (K, Na, Ca) in epidermis? *Insights Biomed*. 2017; 2(2): 13–17.

Petukhov V.I., Baumane L.K., Reste E.D., Zvagule T, Romanova MA, Shushkevich NI, Sushkova TL, Skavronskii SV, and Shchukov AN. Diagnosis of nitrosative stress by quantitative EPR-spectroscopy of epidermal stress. *Bull. Exp. Biol. Med*. 2013; 154:734–736.

Petukhov V.I., Dmitriev E.V., Baumane L.Kh., Skalny A.V., and Lobanova Yu..N. Electrogenic metals in epidermis: relationship with cell bioenergetics. *Insights in Biomed*. 2016; 1(2): 9–14.

Petukhov V.I., Dmitriev E.V., Kalvinsh I., Baumane L.Kh., Reste E.D., Zvagule T., Skesters A.P., and Skalny F.V. () Metal-ligand homeostasis in epidermic cells of Chernobyl accident liquidators. *Vitamins & Trace Elements*. 2011; 1(2): 1–8.

Petukhov V.I., Dmitriev E.V., Skesters A.P., and Skalny A.V. Problems of the integral evaluation of human elemental status according to the spectrometry of hair. *Mikroelementy v Medicine*. 2006; 7(4): 7–14.

Pinsky, D.J., Patton, S., Mesaros, S., Brovkovich, V., Kubazewski E., Grunfeld S., Malinski T. Mechanical transduction of nitric oxide synthesis in the beating heart. *Circ. Res*. 1997; 81:372–379.

Vanin A.F. Dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands as a «working forms» of endogenous nitric oxide. *Nitric Oxide Biol. Chem*. 2016; 54: 15–29.