

03;12

Экспериментальное исследование микроструктур фаций сывороточного альбумина

© М.Э. Бузоверя, Ю.П. Щербак, И.В. Шишпор

Саровский физико-технический институт — филиал Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования Национальный исследовательский ядерный университет (МИФИ), 607186 Саров, Нижегородская область, Россия
e-mail: buzoverya@expd.vniief.ru; ypshtcerbak@mail.ru; ishishpor@yandex.ru

(Поступило в Редакцию 22 ноября 2011 г.)

Представлены результаты теоретического и экспериментального исследований биожидкостей. Наблюдаемые структурные эффекты в фациях рассмотрены с учетом молекулярных особенностей альбумина и концепции надмолекулярной организации полимерного тела. Выявлена зависимость морфологии фаций сывороточного альбумина человека от концентрации и качества растворителя. Показано, что водно-солевые фации альбумина более структурированы, чем водные растворы таких же концентраций.

Введение

В последние годы повышается интерес к изучению различных биологических структур в твердом состоянии [1–3]. В первую очередь такие исследования ведутся с целью разработки новых и простых методик диагностики различных патологических состояний организма, поскольку биожидкости являются важной диагностической субстанцией. При дегидратации биожидкости образуется фация (пленка), имеющая структуру, специфика которой определяется всем комплексом количественных и качественных параметров, присутствующих в биожидкости веществ. Внешний вид фаций используется для диагностики широкого круга заболеваний.

Кроме чисто прикладного значения существует и фундаментальный аспект данной проблемы, в настоящее время усилилась тенденция углубленного изучения процессов, определяющих механизм формирования структуры биожидкости. В работах [4,5] отмечается, что в

фациях биожидкостей растворенные вещества располагаются в строго определенном порядке по площади высыхающей капли в виде концентрационных зон (рис. 1). Однако на сегодняшний день отсутствуют убедительные теоретические и экспериментальные обоснования данного факта.

Ранее в работе [6] был предложен подход к интерпретации микроструктур фаций, основанный на надмолекулярной организации систем на основе полимеров. Настоящая работа является продолжением, и ее целью являлась попытка на основе экспериментальных исследований структурообразования фаций альбумина объяснить некоторые наблюдаемые биоструктурные эффекты в терминах физики полимеров. Для упрощения понимания точки зрения авторов на процессы структурообразования фаций при изложении материала дополнительно было уделено внимание описанию основных терминов.

Теоретический анализ

Особенности растворов высокомолекулярных соединений

Биожидкости представляют собой многокомпонентные системы, основными компонентами которых являются высокомолекулярные соединения (белки, липиды и др.), вода, минеральные соли. Упрощенно биожидкость можно представить как систему „высокомолекулярное соединение–растворитель“. Высокомолекулярные соединения (ВМС), к числу которых относятся и биополимеры, отличаются сложной иерархией строения с множеством структурных подуровней, каждый из которых может быть определен собственными значениями параметров упорядоченности.

Существенная особенность структуры ВМС (далее полимеров) — разнообразие возможных конформаций макромолекул. При упаковке цепей в разных конформациях получают различные типы морфоз, образуя

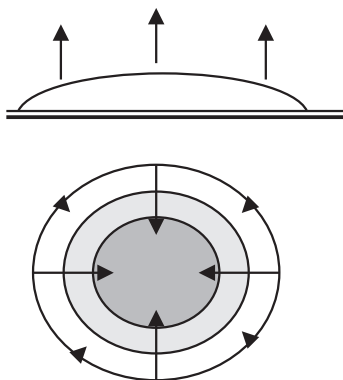


Рис. 1. Капля биологической жидкости на плоскости: в верхней части рисунка — сечение по диаметру, в нижней части — вид сверху. Белым цветом показана область, в которой при высыхании капли накапливается белок, темным — область, в которой преимущественно накапливается соль, серым — переходная зона. (По данным работы [5].)

ших структурную иерархию, заканчивающуюся объемно-конденсированной системой. Физические свойства такой системы предопределены структурой самих макромолекул и характером разных уровней надмолекулярной структурной организации. Под надмолекулярной организацией следует понимать внутреннюю структуру, взаимное расположение и характер взаимодействия между структурными элементами, образующими макроскопическую структуру полимерного тела.

Для природных биополимеров (белки, липиды и др.) также установлена связь между структурой и функциональными свойствами макромолекул, причем за биологическую функциональность белка ответственны именно высшие уровни надмолекулярной структуры [7]. Поэтому вполне логично применить к анализу фаций биожидкостей методологические и методические подходы, разработанные для полимеров.

Установлено, что формирование структуры полимера имеет место уже в растворе. При этом образуемые надмолекулярные структуры в полимерных растворах морфологически сходны со структурами, наблюдаемыми в твердых полимерных телах [8,9]. Структура пленок, получаемых из растворов полимеров, и их свойства определяются самой структурой раствора. В настоящее время под структурой растворов полимеров понимают конформации макромолекул и взаимное расположение молекул растворителя и самого полимера. В зависимости от степени сродства между компонентами наблюдаются явления преимущественного взаимодействия между разнородными молекулами (сольватация) или однородными молекулами (ассоциация). Образующиеся в результате таких взаимодействий сольваты и ассоциаты являются основными элементами структуры раствора [10].

Особенности структурообразования фаций альбумина

Известно, что структура полимерных пленок, полученных из растворов полимеров, во многом определяется его химическими особенностями, концентрацией основного пленкообразующего полимера, составом раствора, качеством растворителя [11]. Поэтому целесообразно в общих чертах рассмотреть влияние этих факторов на структуру пленок фаций биожидкостей. Для изучения структурных эффектов, наблюдаемых при переходе различных видов биожидкостей в твердотельное состояние, в качестве базового объекта исследования был выбран основной белок сыворотки крови — альбумин.

Итак, структурные превращения в растворах полимеров связаны с образованием/распадом локальных связей между наиболее активными группами цепных молекул. В зависимости от концентрации раствора возникновение локальных связей приводит к образованию глобулярных структур (глобулизация) или сетчатой структуры гелей. Глобулизация наблюдается в разбавленных растворах, где вероятность образования межмолекулярных локаль-

ных связей мала и реализуется главным образом внутримолекулярное взаимодействие. Растворимые в воде белки, молекулы которых дифильны, при определенной концентрации образуют в водной среде мицеллы. При этом взаимодействие макромолекул идет по гидрофобным фрагментам, в то время как гидрофильные фрагменты обращены к воде и сильно гидратированы. Вследствие сродства поверхности лиофильных мицелл к дисперсионной среде они хорошо сольватированы и поэтому устойчивы. Для молекул биополимеров характерно образование геля с участием водной среды, так как их цепи содержат много полярных групп и имеют большую молекулярную массу. В этом случае сетчатые структуры образованы из сольватированных макромолекул и их агрегатов, в которых распределены молекулы растворителя.

Особенности структурной организации белков

Белки относятся к классу природных полимеров. Структурную организацию белков можно представить в виде совокупности различающихся по сложности иерархических уровней: химический, молекулярный (нативный), топологический, надмолекулярный.

Остов белковой цепи построен из аминокислотных фрагментов, соединенных пептидной связью, и окружен разнообразными по химической природе заместителями (первичная структура). Каждый белок имеет свой неповторимый аминокислотный состав и уникальный порядок. В природных белках широко варьируются длина и состав цепи, что позволяет их молекулам принимать многообразные конформации, особенно в растворе. Когда имеет дело с пространственной структурой отдельных участков белка, говорят о вторичной структуре белковой молекулы. Конформациями называются формы молекул, образующиеся без разрыва химической связи за счет свободного поворота звеньев. Благодаря вращению отдельных звеньев макромолекула изгибается и может принимать различные конформации. Вероятность существования выпрямленных и свернутых конформаций различна. Предельно вытянутое — только одно, а свернутое (конформация клубка) — очень большое. Клубок представляет собой сильно флуктуирующую и очень неоднородную систему [12].

Альбумины и глобулины относятся к белкам глобулярной природы, существенным элементом которых является образование неполярного ядра (глобулы) за счет гидрофобных взаимодействий боковых цепей аминокислот. Гидрофобные взаимодействия в водных растворах выступают как фактор стабилизации нативных конформаций; любое изменение конформации влечет за собой изменение физиологических свойств белков. Особенности строения макромолекул глобулярных белков не позволяют молекуле иметь вытянутую — спиральную и β -конформацию цепи. Только короткие сегменты цепи могут иметь такие конформации [13].

При образовании общей пространственной структуры полипептидной цепи (третичной структуры белка) особое значение имеют боковые цепи аминокислот — неполярные гидрофобные группы (*R*-группы). В растворе происходит ассоциирование неполярных групп молекул друг с другом, которое приводит к возникновению агрегатов с максимально сокращенным числом контактов молекул воды с неполярными группами.

Такие взаимодействия называют гидрофобными взаимодействиями, одним из следствий которых является ярко выраженная поверхностная активность белков и способность связывать молекулы различной природы: углеводов, жирных кислот, ПАВ и др. Развитие представлений о гидрофобных взаимодействиях привело к стремлению многих авторов количественно связать степень гидрофобности молекул белка со структурой и свойствами белковых молекул. Так, Фишер ввел фактор полярности p (отношение объемов полярной и неполярной частей глобулы). Им было показано, что соотношение суммарных объемов полярных и неполярных аминокислотных остатков может обуславливать форму белковой молекулы (сферическая/вытянутая), а также способность образовывать четвертичные структуры — объединение из нескольких полипептидных цепей [14]. Образование четвертичной структуры определяется наличием в молекулах биополимеров групп различной природы, взаимодействие которых также играет немалую роль в поддержании пространственной структуры (конформации) белка и объясняет склонность к самоорганизации в водном окружении, повышенную чувствительность к примесям, изменению pH среды и другим факторам. К ним относятся: гидрофобные, электростатические взаимодействия, водородные связи, солевые и дисульфидные мостики и др. Четвертичная структура представляет собой высший (надмолекулярный) уровень организации белковой молекулы и выполняет биологическую функцию, несвойственную отдельным субъединицам.

Итак, конформационные изменения и процессы взаимодействия макромолекул белков, а также характер структур, образующихся при таком взаимодействии, определяются двумя основными факторами:

— специфическими свойствами самих макромолекул, определяемыми первичной, вторичной, третичной и четвертичной структурами;

— условиями, которые могут вызвать изменения взаимодействий, возможных при данной внутренней структуре макромолекул.

Таким образом, помимо специфических свойств самих макромолекул, определяемых линейной последовательностью аминокислотных остатков, типом спирализации и пространственной укладкой цепей, конформационные изменения и процессы взаимодействия макромолекул белков определяются внешними факторами — свойствами растворителя и растворенных в нем веществ.

Поскольку белки — это полимеры, звенья которых содержат как кислотные, так и основные группы, способные к электролитической диссоциации, их относят

к амфотерным полиэлектролитам (полиамфолитам). Наличие в полиэлектролитах групп различной природы определяет возможность возникновения различных видов взаимодействий и повышенную по сравнению с нейтральными полимерами склонность цепей к конформационным переходам при изменении pH среды, природы растворителя и др. Растворы полиэлектролитов, как и растворы неионогенных полимеров, обладают высокой вязкостью. В то же время их гидродинамическое поведение характеризуется рядом особенностей, отличающих их от растворов незаряженных полимеров. Все специфические свойства полиэлектролита проявляются в условиях, когда их молекулы несут локально некомпенсированные заряды. Эти свойства в основном определяются взаимодействием заряженных групп полиионов между собой и с окружающими их низкомолекулярными ионами. Например, в случае полиэлектролитов из-за высокого электростатического потенциала полиионов сильна ассоциация низкомолекулярных противоионов с заряженными звеньями цепи. Связывание может быть обусловлено как чисто электростатическим притяжением, так и другими более специфическими взаимодействиями. Степень связывания низкомолекулярных ионов зависит от степени ионизации и химической природы полииона. Вследствие наличия в молекулах белков различных функциональных групп они образуют комплексные соединения разной устойчивости в зависимости от поляризуемости иона комплексообразователя. К примеру, с катионами K^+ и Na^+ белки образуют малоустойчивые комплексы. Особенно прочные комплексы (металлопротеины) они образуют с металлами-токсикантами: свинец, кадмий, ртуть и др. [12].

Отличительной особенностью полиэлектролитных систем является эффективная конкуренция кулоновских и гидрофобных взаимодействий. В последнее время интерес к этим системам связан с тем, что конкуренция этих типов взаимодействий приводит к самоорганизации с образованием регулярных наноструктур, т.е. упорядоченных микронеоднородностей масштаба от 1 до 100 nm. Считается, что для водных растворов полиэлектролитов с гидрофобными взаимодействиями наличие таких регулярных микронеоднородностей является скорее правилом, чем исключением. Образующиеся наноструктуры могут иметь самые различные морфологии: гидрофобные сферические мицеллы, цилиндры, ламели и т.д.

Большинство полиэлектролитов биологического происхождения относится к слабозаряженным полиэлектролитным системам. В таких системах полимерная специфика не затеняется сильным электростатическим взаимодействием и проявляется наиболее ярко [15]. Специфика макромолекул высокомолекулярных соединений состоит в том, что они построены из большого числа звеньев ($N \approx$ от 10^3 до 10^5), которые из-за ковалентной связанности не могут двигаться независимо друг от друга. Данное обстоятельство служит главной причиной повышенной способности полимеров к структурообразованию.

Известно, что два различных полимера A и B с достаточно большими длинами цепей N_A и N_B в большинстве случаев не смешиваются друг с другом ни при каких температурах. Даже очень малых отличий в величине ван-дер-ваальсовых взаимодействий звеньев в таких полимерах порой достаточно для расслоения (сегрегации) компонентов. В то же время, если цепи N_A и N_B химически соединены в одну макромолекулу (блочный сополимер), растворы таких макромолекул не могут полностью расслоиться на две макроскопические фазы. В этом случае стремление к сегрегации блоков N_A и N_B цепей способно приводить к микрофазному разделению [16].

Так, если звенья N_B объединены в блоки, сегрегация носит конденсационный характер, и внутри клубка образуются компактизованные области, состоящие из нерастворимых звеньев N_B . Обычно макромолекула приобретает при этом форму сферической молекулярной мицеллы с конденсированным нерастворимым ядром, удерживаемым в растворе звеньями цепи N_A [8].

Для полимерных систем характерно структурное разнообразие — полиморфизм. Рост концентрации сдвигает равновесие в сторону образования более крупных мицелл. В зависимости от концентрации структурная организация таких систем может быть достаточно сложной, например, представлять собой мицеллярные агрегаты или кластеры различной формы: цилиндрическая, ламеллярная, гексагональная, кубическая фаза, континуальные структуры и др.

Все эти классические типы структур возможны, как для расплавов блочных сополимерных систем, так и слабозаряженных полиэлектролитов в водных растворах, к которым относятся белки, липиды и другие биополимеры [16]. Причем при микрофазном разделении в мире полимеров встречаются фрактальные объекты, имеющие определенную внутреннюю организацию, но не обладающие периодичностью (рис. 2).

Особый интерес среди полиэлектролитных систем вызывают полиэлектролитные гели. Связано это с их специфическими свойствами: суперабсорбцией по отношению к воде (сверхнабухание) и скачкообразного коллапса. Коллапс геля — интересный физический эффект, происходит путем резкого изменения объема геля, иногда в сотни раз. Если гель находится вблизи порога коллапса, то он становится сильно восприимчивым к изменению внешних факторов (состав растворителя, изменение температуры, добавление соли, ПАВ и т.д.). Резкий скачкообразный коллапс — это универсальное свойство полиэлектролитных гелей. Это свойство связано с расширяющим осмотическим давлением противоионов. Именно за счет этого давления разница между набухшим и коллапсированным состояниями геля оказывается столь значительной, а переход между этими состояниями столь резким. Благодаря этому эффекту полиэлектролитные гели получили название „восприимчивые гели“ (responsive gels). Явление коллапса было сначала предсказано теоретически, а затем обнаружено

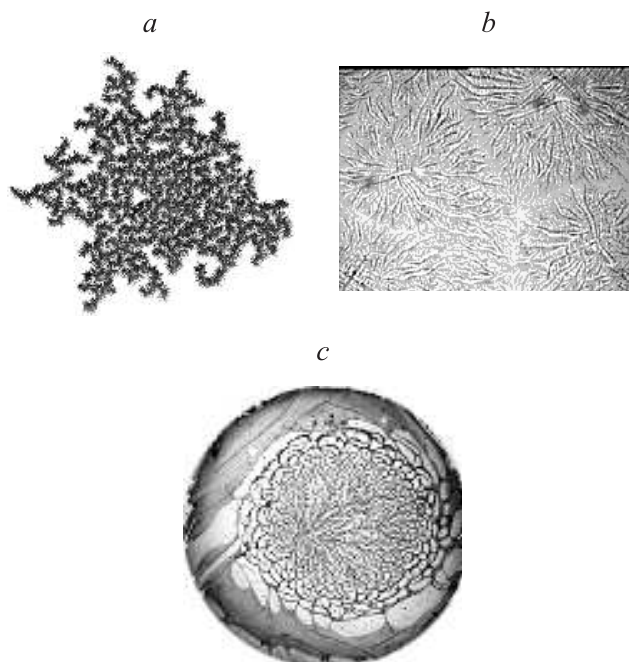


Рис. 2. Фрактальные структуры: a — фрактальный объект [16], b — фрактальный объект в фазии альбумина (собственные результаты), c — фрактальный объект в фазии сыворотки крови, $\times 25$ (собственные результаты).

экспериментально — микрофазное расслоение слабозаряженных гелей с образованием микродоменной структуры геля в набухшем состоянии [17,18].

Отмечено, что при ухудшении качества растворителя (снижение его активности) гель стремится сколлапсировать. Однако резкое уменьшение объема областей с контрионами (и/или уменьшение объема самого образца) энтропийно невыгодно и альтернативой в данном случае является образование микроструктуры с чередующимися агрегатами гидрофобных звеньев и сильно набухшими областями, в которых находятся большинство заряженных звеньев и контрионов. При этом число невыгодных контактов звеньев с водой существенно уменьшится без значительного изменения объема геля [17].

Эти специфические особенности белков и других биополимеров приводят к повышенной склонности их растворов к расслоению на две несмешиваемые фазы, одна из которых представляет собой концентрированный раствор полимера (коацерват), а другая — разбавленный раствор полимера. Это явление называется коацервацией. Коацервация является процессом самоорганизации и структурирования ВМС в водной среде в самостоятельную фазу. Процессу коацервации способствуют факторы, вызывающие самопроизвольную агрегацию мицелл или макромолекул: введение в раствор электролитов или неполярных веществ, температура и т.д. Действие связано с их гидратацией, которая может происходить за счет молекул воды гидратных оболочек белков. В результате оголенных фрагментов у макромолекул происходит их дополнительная агрегация [12].

Исходя из особенностей молекулярного строения макромолекул глобулярных белков, следует выделить такие их специфические свойства, как макромолекулярность и полиэлектролитность, которые вносят существенный вклад в особенности структурообразования фазий биожидкостей.

Влияние концентрации

С точки зрения физикохимии полимеров, структуры, возникающие в растворах полимеров и покрытиях на их основе, могут быть флуктуационного и нефлуктуационного характера. Характер структурных превращений в растворах полимеров определяет структуру и свойства покрытий. В разбавленных растворах молекулы практически не взаимодействуют друг с другом. В концентрированных растворах, наоборот, происходит взаимодействие молекул. В результате образуются лабильные ассоциаты, состав которых может меняться. При определенных условиях возможно взаимодействие между ассоциатами или соединение их проходными макромолекулами, входящими одновременно в состав разных ассоциатов. В этом случае в концентрированном растворе образуется сетка из взаимосвязанных ассоциатов, так называемая пространственная флуктуационная сетка. Для концентрированных растворов флуктуационная сетка может меняться под действием теплового движения. При возникновении связнодисперсной системы — сплошной пространственной сетки, в ячейках которой заключен растворитель, раствор переходит в гель или студень. Основное отличие геля от концентрированных растворов заключается в том, что в растворах сетки непрерывно разрушаются и вновь образуются под влиянием теплового движения, т.е. имеют флуктуационную природу, а в гелях при тех же условиях — устойчивы и не разрушаются под действием теплового движения. Узлы сетки могут быть как химической, так и физической природы — водородные или гидрофобные связи, сегрегированные группы и т.п. [8,10].

Таким образом, в зависимости от концентрации белков их растворы могут быть:

- истинными растворами — молекулярный раствор;
- коллоидными растворами — мицеллярный раствор;
- связнодисперсными системами — гель.

Влияние растворителя

Известно, что на структуру растворов и пленок из них существенное влияние оказывают природа и качество используемого растворителя. Критерием качества растворителя являются его термодинамические характеристики по отношению к пленкообразователю. По величине термодинамического сродства в системе „полимер-растворитель“ растворители принято качественно оценивать как „хорошие“ и „плохие“ [8,10]. Более прочные и долго живущие ассоциаты образуются в присутствии

термодинамически плохих растворителей, когда контакты полимер-полимер становятся более вероятными, чем контакты полимер-растворитель. По мере ухудшения качества растворителя возрастает степень ассоциации, и в среде очень плохих растворителей образуются гетерофазные необратимые агрегаты.

Экспериментальная часть

В качестве объекта исследования в работе использовались растворы сывороточного альбумина человека (САЧ) с разным содержанием белка. Растворы разных концентраций приготавливались из 10%-ного водного раствора альбумина путем разбавления:

- а) дистиллированной водой — водный раствор альбумина, состав 1 (САЧ + H₂O);
- б) 0.9%-ным раствором NaCl — водный раствор альбумина, состав 2 (САЧ + NaCl).

В работе были исследованы растворы альбумина состава 1 и состава 2 с содержанием белка от 0.2 до 10%. Микроструктурный анализ проводился на программно-аппаратном комплексе „Морфо“ на базе оптического микроскопа „Полам“.

На рис. 3–6 представлены характерные микроструктуры фазий водных и водно-солевых растворов сывороточ-

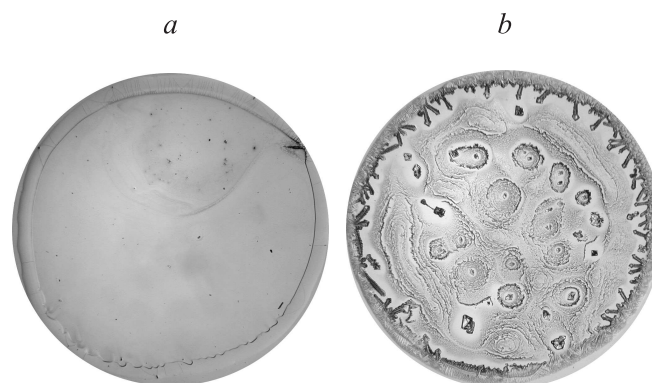


Рис. 3. Микроструктуры фазий водного (а) и водно-солевого растворов (б) альбумина с концентрацией белка 0.2%.

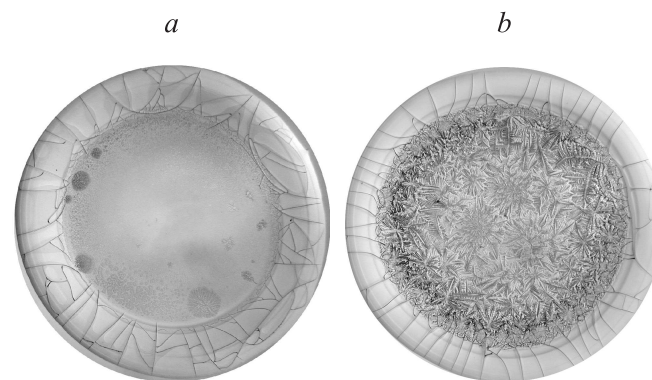


Рис. 4. Микроструктуры фазий водного (а) и водно-солевого растворов (б) альбумина с концентрацией белка 2.0%.

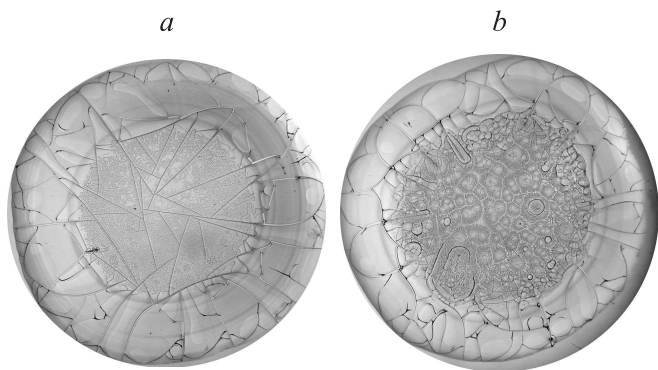


Рис. 5. Микроструктуры фазий водного (а) и водно-солевого растворов (б) альбумина с концентрацией белка 6.0%

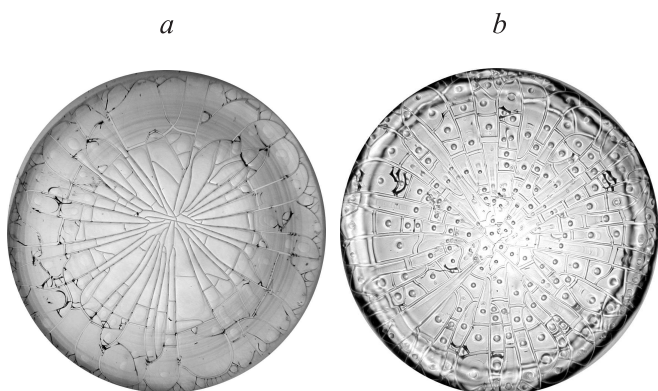


Рис. 6. Микроструктуры фазий водного (а) и водно-солевого растворов (б) альбумина с концентрацией белка 10.0%

ного альбумина человека разных концентраций (от 0.2 до 10.0%).

Микроскопические исследования позволили выявить существенную разницу в структурах фазий в зависимости от качества растворителя и концентрации. Как показал эксперимент, во всем исследованном диапазоне концентрации водные растворы альбумина являются менее структурированными системами, чем водно-солевые растворы САЧ.

Замена растворителя „воды“ на физиологический раствор (0.9%-ный раствор NaCl) в системе „белок–растворитель“ способствует структурированию раствора. Повышение склонности к агрегированию в водно-солевых растворах свидетельствует о влиянии соли на качество растворителя. Более выраженные структурные эффекты в водно-солевых фазиях могут быть связаны с известным влиянием электролитов на структурирование белковых растворов. Считается, что электролиты способствуют частичной дегидратации макромолекул. Оголенные участки макромолекул активно взаимодействуют с подобными участками других макромолекул, что способствует агрегированию и гелеобразованию [10].

В области низких концентраций (от 0.2 до 2.0%) разница в структурах фазий альбумина значительна (рис. 3, 4). Для водных растворов САЧ в этом интер-

вале концентраций структура фазии слабо выражена и плохо разрешима при данном увеличении. Для фазий водно-солевого раствора САЧ характерно наличие ярко выраженных зон из структур различной сложности и плотности упаковки. При достижении 10%-ной концентрации различие в микроструктурах фазий водных и водно-солевых растворов альбумина сглаживается и их можно отнести к одному морфологическому типу, но разной степени упорядоченности. Быстрее всего, при достижении этой концентрации влияние концентрационного эффекта на структуру значительно больше, чем влияние качества растворителя.

Морфологически структура фазий 10%-ных растворов альбумина близка к структуре сыворотки крови „норма“. Поэтому, приняв ее за эталонную (исходную) фазию и меняя концентрацию растворителя в системе, удалось наблюдать сложно-ступенчатый механизм распада надмолекулярной структуры водно-солевых фазий альбумина.

Литературные данные и выполненные авторами экспериментальные исследования показали, что варьирование концентрацией в системе „белок–растворитель“ позволяет получать большой набор состояний. Повышение концентрации растворителя в системе делает видимыми структурные образования на оптическом уровне. Так как наблюдаемые структурные образования являются ассоциатами более мелких структур типа глобул и пластин, роль растворителя сводится к разделению этих ассоциатов по межассоциативным связям, частичному или полному их разрушению, перегруппировке и образованию новых структур из фрагментов предыдущих.

Анализ микроструктуры фазий показал, что в первую очередь при повышении концентрации растворителя в системе „альбумин–растворитель“ выявляются структурные образования в центральной зоне. Сначала проявляются границы раздела крупных „доменов“ как наиболее дефектных мест, затем становятся видимыми структурные элементы периферийных слоев домена, далее проявляется структура центра домена. Структура краевой зоны становится наблюдаемой только в области малых концентраций. Таким образом, одной из причин возникновения разнообразных структурных форм и селективного характера распределения структур по диаметру фазии может служить различная степень иммобилизации растворителя отдельными объемами фазии.

Отличительной морфологической особенностью фазий альбумина во всем исследованном диапазоне концентраций является образование мицеллярных структур с центром из ассоциатов с более плотноупакованной структурой (ядро) и периферийных слоев с рыхлой структурой и границами раздела. На уровне надмолекулярной организации самой фазии эта тенденция сохраняется: только периферия фазии представлена плотной, а центральная зона (ядро) более рыхлой упаковкой структур. Причем структурными элементами краевой зоны являются структуры, характерные для центральной зоны фазий более высоких концентраций. Таким

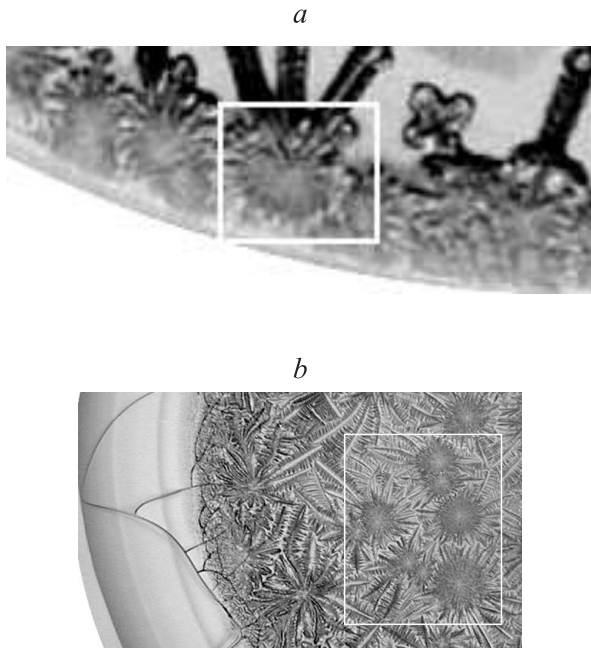


Рис. 7. Структурные элементы краевой и центральной зон в растворах разных концентраций альбумина: *a* — 0.2% САЧ + NaCl; *b* — 2.0% САЧ + NaCl.

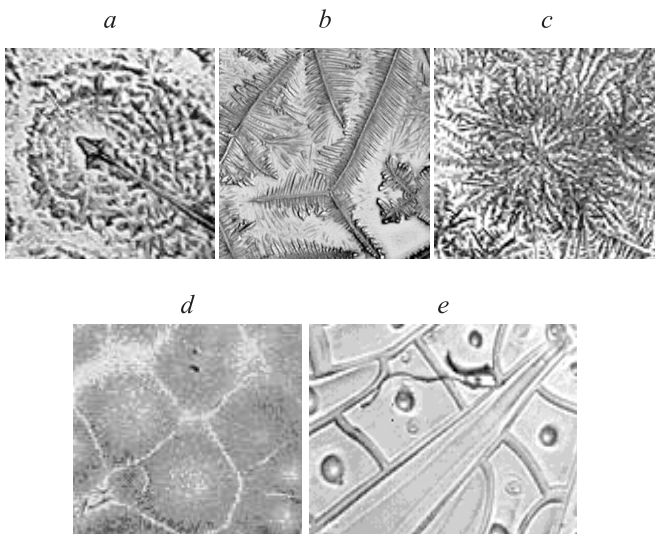


Рис. 8. Изменение основного структурного мотива центральной зоны фаций водно-солевого раствора при увеличении концентрации САЧ: *a* — в диапазоне 0.2–0.6%; *b* — в диапазоне 1.0–2.0%; *c* — в диапазоне 4.0–6.0%; *d* — в диапазоне 8.0–9.5%; *e* — 10%.

образом, при дегидратации в фациях идет фракционированное осаждение белка по растворимости агрегатов/ассоциатов, что и обуславливает наличие морфологически различных зон (рис. 7).

Такой характер распределения структурных образований может свидетельствовать о жидкостном расслоении в системе. Именно специфические особенности молекулярной организации белков приводят к повы-

шенной склонности их растворов к расслоению на две несмешиваемые фазы, одна из которых представляет собой концентрированный раствор (краевая зона), а другая — разбавленный раствор полимера (центральная зона). В работе [19] процесс образования зон в фациях биожидкостей мы назвали феноменом концентрационной дифференциации среды (неоднородность состава по толщине и диаметру фации).

Повышение концентрации белка сопровождается структурными превращениями: от слоистых рыхлых мицелл (рис. 8, *a*) через стадию образования структур дендритного типа (рис. 8, *b*), переходящих в структуры фрактального (рис. 8, *c*), затем сферолитного типа (рис. 8, *d*). При концентрации белка 10% происходит резкое изменение фации с образованием однородной микроструктуры в виде равномерно распределенных сферических включений в стеклообразной матрице и единой системы трещин, разделяющей матрицу на фрагменты — отдельности (рис. 8, *e*). Такая эволюция структурных элементов фаций позволяет предположить, что образованию 10% однородного макрогеля предшествуют промежуточные стадии формирования микрогелевых частиц с последующим объединением их в общую пространственную сетку.

Заключение

Предложен подход к интерпретации микроструктур фаций, основанный на особенностях молекулярной и надмолекулярной организации белков. Выявлена зависимость морфологии фаций САЧ от концентрации и качества растворителя. Получено экспериментальное подтверждение и обоснование наличия концентрационных зон в фациях. Показано, что водно-солевые фации САЧ более структурированы, чем водные растворы таких же концентраций.

По мере накопления экспериментального материала предложенный методический подход будет углубляться и конкретизироваться в зависимости от особенностей исследуемых объектов.

Список литературы

- [1] Кистович А.В., Чашечкин Ю.Д., Шабалин В.В. // ЖТФ. 2010. Т. 80. Вып. 4. С. 41–46.
- [2] Тарасевич Ю.Ю. // УФН. 2004. Т. 174. Вып. 7. С. 779–790.
- [3] Яхно Т.А., Яхно В.Г. // ЖТФ. 2009. Т. 79. Вып. 8. С. 133–141.
- [4] Шабалин В.Н., Шатохина С.Н. // Морфология биологических жидкостей человека. М.: Хризостом, 2001. 304 с.
- [5] Тарасевич Ю.Ю., Аюпова А.К. // ЖТФ. 2003. Т. 73. Вып. 5. С. 13–18.
- [6] Бузовера М.Э., Щербак Ю.П., Шишпор И.В., Потехина Ю.П. // ЖТФ. 2012. Т. 82. Вып. 7. С. 123–128.
- [7] Волькенштейн М.В. Физика ферментов. М.: Наука, 1967. 200 с.
- [8] Бартенев Г.М., Френкель С.Я. Физика полимеров. Л.: Химия, 1990. 432 с.
- [9] Эдсол Дж. Сб. трудов „Вода в полимере“ / Под ред. С. Роулэнд. М.: Мир, 1984. С. 81–91.

- [10] Тагер А.А. Физикохимия полимеров. М.: Химия, 1978. 544 с.
- [11] Карякина М.И. Физико-химические основы процессов формирования и старения покрытий. М.: Химия, 1980. 216 с.
- [12] Слесарев В.И. Химия: Основы химии живого. Учебник для вузов. СПб.: Химиздат, 2005. 784 с.
- [13] Вундерлих Б. Физика макромолекул. М.: Мир, 1976. 623 с.
- [14] Измайлова В.Н., Ребиндер П.А. Структурообразование в белковых системах. М.: Наука, 1974. 268 с.
- [15] Борю В.Ю., Ерухович И.Я. // ДАН. 1986. Т. 286. № 6. С. 1373–1376.
- [16] Халатур П.Г. // Соросовский образовательный журнал. 2001. Т. 7. № 4. С. 36–43.
- [17] Хохлов А.Р., Дормидонтова Е.Е. // УФН. 1997. Т. 167. Вып. 2. С. 113–128.
- [18] Хохлов А.Р. // Соросовский образовательный журнал. 1998. № 11. С. 138–142.
- [19] Бузоверя М.Э., Воробьев А.В. // Медицинская физика. 2006. № 4. С. 50–53.