

делении электронов на π -орбиталях порфирина, может повлиять на частоту соответствующих характеристических линий. Эта частота сильно меняется, например, если аксиальный лиганд, имеющий π -орбиталь, может взаимодействовать с орбиталями порфиринов через $d\pi$ -электроны атома железа. Аксиальный π -электронный донор приводит к дополнительному переходу $d\pi$ -электронов атома железа на π -орбитали порфирина и вызывает снижение частоты полос, характеризующих состояние окисления, до «нетипичных» величин.

3.7. СВЕРХСЛАБОЕ СВЕЧЕНИЕ КЛЕТОК

Живые организмы, их ткани и клетки при активном делении способны излучать УФ-фотоны, обладающие митогенетическим эффектом. Это было установлено в 1920 – 1930-е гг. русским ученым А. Г. Гурвичем и его сподвижниками, которые для обнаружения данного излучения применяли биотесты. Значительно позже в нескольких независимых лабораториях с использованием ФЭУ были обнаружены источники слабого УФ-излучения в диапазоне длин волн от 250 до 380 нм (культуры дрожжей, кишечной палочки, микроспорозиты). Трудности изучения этого эффекта связаны с тем, что УФ-излучение биологических объектов зависит от поглощения ими видимого света, а регистрация излучения с помощью ФЭУ требует помещения объекта в полную темноту. В связи с этим для большей надежности выявления слабого УФ-свечения у биологических объектов необходимы строгие требования «слепоты» ультрафиолетового ФЭУ к видимой области спектра, а такие детекторы не использовались в этих работах. В настоящее время существуют ФЭУ, не чувствительные к свету с длинами волн по крайней мере более 365 нм.

Сейчас уже нет сомнений в том, что некоторые ткани и клетки живых организмов способны излучать более длинноволновый свет, чем УФ, невидимый невооруженным глазом, но тем не менее информирующий о некоторых важных окислительно-восстановительных реакциях в клетках, обязательными участниками которых являются активные формы кислорода и другие свободные радикалы, приводящие к образованию электронно-возбужденных продуктов. Впервые достоверное сверхслабое излучение живой ткани в видимом диапазоне спектра обнаружено в 1954 г. Л. Колли с соавторами. Они зарегистрировали слабую люминесценцию (несколько сот импульсов в секунду) от экстрактов различных частей растений. Однако лишь в конце 1950-х гг. Б. Н. Гарусовым были проведены первые систематические исследования ССИ живых объектов с помощью высокочувствительных установок с применением ФЭУ. Было обнаружено ССИ широкого круга интактных органов, изолированных клеток, тканевых гомогенатов позвоночных и беспозвоночных животных, растений и ряда реакций в

пробирке. В отличие от сильной биолюминесценции, хорошо видимой, присущей некоторым представителям бактерий и животного мира, излучающим до 10^3 — 10^4 фотонов в 1 с с высоким квантовым выходом ($\phi = 0,1 - 1,0$), и хемилюминесценции некоторых химических реакций ($\phi = 0,01 - 0,50$), ССИ характеризуется в 10^3 — 10^8 раз более слабой интенсивностью. Спонтанная эмиссия света часто не превышает 1 фотона в 1 с на клетку, а в пересчете на орган составляет до 10^4 фотонов в 1 с на 1 см^2 излучающей поверхности ткани, или 20 000 фотонов в 1 с из 1 см^3 . Если клетка (например, гепатоцит) имеет радиус 20 мкм, то в 1 см^3 содержится $2,5 \cdot 10^8$ клеток, поэтому на клетку приходится $8 \cdot 10^8$ излучаемых в 1 с фотонов. Обычно реакции, ответственные за сверхслабую хемилюминесценцию, имеют максимально низкий квантовый выход (ϕ бывает в пределах 10^{-3} — 10^{-8} , а иногда 10^{-9} — 10^{-15}).

ССИ живых клеток и тканей является следствием релаксации ЭВС, возникающих в ходе свободнорадикальных окислительно-восстановительных реакций, в частности пероксидации некоторых молекулярных субстратов. В реакциях рекомбинации свободных радикалов и ферментативного и неферментативного расщепления перекисных соединений (которые в любом случае протекают по пути одноэлектронного восстановления кислорода) освобождаются порции энергии, эквивалентные квантам видимого и даже ультрафиолетового света. Реализация ЭВС может быть различной в зависимости от того, в каких условиях возникли эти продукты электронного возбуждения. Если ЭВС генерируются достаточно редко и в условиях, когда возбужденные частицы за счет броуновского движения случайно сталкиваются с невозбужденными и разнородными молекулами, энергия возбуждения почти сразу переходит в тепловую. При этом возможен, но с малой вероятностью, спонтанный переход из возбужденного состояния в основное, сопровождающийся излучением кванта света. При наличии в среде, клетках, тканях субстанций, способных поглотить этот квант, они возбуждаются, а далее либо высвечивают его, либо переводят в тепло. Энергия от возбужденной частицы к другой может передаваться безызлучательным путем. Такой перенос осуществляется практически мгновенно на большие в молекулярных масштабах расстояния и реализуется тем эффективнее, чем выше уровень структурной организации. Именно такие условия характерны для внутренней среды живых организмов, их тканей и клеток, где благодаря молекулярной и надмолекулярной организации цитоплазмы должна существенно снизиться вероятность диссипации энергии ЭВС в тепло, но повышается вероятность ее накопления в макромолекулах, надмолекулярных ансамблях и безызлучательного перераспределения между ними.

Поскольку доля кислорода, восстанавливаемого в организме животного по одноэлектронному пути, весьма значительна, то и интенсивность генерации ЭВС должна быть высока. За последние несколько десятилетий появился громадный массив данных, свидетельствующих о

том, что все без исключения живые системы и даже их фрагменты, в которых сохраняется хотя бы какой-то уровень метаболизма, излучают свет, причем способность к его испусканию строго зависит от присутствия кислорода. В подавляющем большинстве случаев свет испускается в области сверхнизких интенсивностей. Целый ряд организмов биолюминесцирует, т. е. испускает свет, видимый невооруженным глазом, за счет наличия особых белков с громадным квантовым выходом, которые преобразуют в видимый свет энергию, освобождаемую при одноэлектронном восстановлении кислорода.

ССИ может также объясняться флуоресценцией синглетного кислорода и его димеров и фосфоресценцией возбужденных карбонильных соединений, получающихся в результате распада диоксиэтанов и тетраоксидов. В определенных условиях такие реакции, сопровождающиеся ССИ, могут протекать по механизму так называемых вырожденно-разветвленных цепных процессов. Физико-химическая система, в которой происходят такого рода процессы, переходит из квазиравновесного состояния в неравновесное, причем в определенных условиях неравновесность системы может поддерживаться в течение длительного времени за счет постоянной продукции в ней активных частиц.

Большинство авторов считают, что ССИ — это побочное явление, не играющее функционально значимой роли. Однако еще Гурвич на основании громадного фактического материала, полученного им и другими авторами, работавшими в этой области, утверждал, что электронное возбуждение в живых клетках возникает закономерно в ходе обмена веществ и необходимо для нормальной жизнедеятельности. В последнее время появилось много свидетельств того, что в живых системах постоянно протекают процессы, приводящие к непрерывному возникновению электронно-возбужденных частиц. За счет их энергии в клетке могут осуществляться энергоемкие процессы, фотомодулироваться активность ферментов и т. д. Существует мнение, что излучения в разных областях спектра могут иметь функциональное значение, причем их регуляторная функция реализуется, как правило, в области очень низких интенсивностей. Кроме того, возможно, что создаваемое возбужденными частицами электромагнитное поле и излучения, сопутствующие его осцилляциям, играют информационную роль.

Основной массив данных в области исследований ССИ биообъектов был накоплен при изучении хемилюминесценции, сопровождающей генерацию АФК, или так называемый окислительный взрыв, в препаратах очищенных суспензий нейтрофилов или на сильно разведенной крови. Однако неразведенная кровь также может быть источником излучения, происходящего в результате вторичных процессов, обусловленных трансформацией ЭВС в системе. Интенсивность и некоторые другие параметры ССИ могут меняться в зависимости от состояния живого объекта, его физиологических и биохимических особенностей, от силы и характера воздействий, влияющих на разные уровни биоло-

гической организации. В разные периоды жизнедеятельности меняются метаболическая активность живых организмов и соответственно эффективность ССИ, причем существенно. При усилении потребления кислорода световой сигнал повышается от 2 до 10 раз в зависимости от ткани. Например, в логарифмической фазе роста культуры дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* ССИ более интенсивно, чем в стационарной фазе. Максимум световой эмиссии от 10^{10} клеток примерно $5 \cdot 10^5$ фотонов в 1 с, что эквивалентно 1 фотону на каждые 20 000 клеток. Однако при пересчете числа фотонов только на делящиеся клетки обнаруживается многократное относительное усиление их образования: 0,1 — 1 фотон на 1 клетку.

Чтобы увеличить квантовый выход ССИ, можно использовать люминесцентные зонды, или люминофоры, такие, например, как широко применяемые люминол и люцигенин. Хорошо известно, что люцигенин является специфическим индикатором O_2^- , а люминол — менее специфичный люминофор и информирует об образовании различных АФК (O_2^- , H_2O_2 , OH^\cdot , OSl^-). Например, добавление люминола к активированным изолированным нейтрофилам в концентрации 10 мкмоль может вызвать образование 1 — 100 фотонов в 1 с на 1 клетку. В присутствии же люцигенина интенсивность хемилюминесценции оказывается значительно ниже (максимальное усиление эмиссии по сравнению со спонтанным излучением достигается с люминолом в 10^3 — 10^4 раз, а с люцигенином — в 10^2 — 10^3).

Важно, что и люцигенин, и люминол являются не инертными индикаторами и усилителями ССИ биологических систем. Они могут взаимодействовать с ними, каким-то образом модифицируя их. Указанные люминофоры могут не только вступать в реакции окисления с АФК с образованием продуктов в электронно-возбужденных состояниях, но и выступать в роли транзиттеров энергии таких состояний, переходя в возбужденное состояние с последующим высвечиванием квантов света.