

ОСОБЕННОСТИ БЕЛОК-ИНДУЦИРОВАННЫХ АССОЦИАТОВ ПРИ СВЕРХВЫСОКОМ РАЗВЕДЕНИИ АНТИТЕЛ К ИНТЕРФЕРОНУ- γ

Масленникова О.М.¹, Сибирев А.Л.², Шипко М.Н.², Степович М.А.³

¹ Центральная государственная медицинская академия Управления делами Президента Российской Федерации
ул. Маршала Тимошенко, 19, стр. 1А, г. Москва, 121359, РФ; e-mail: o.m.maslennikova@gmail.com

² Ивановский государственный энергетический университет им. В.И. Ленина
ул. Рабфаковская, 34, г. Иваново, 153003, РФ; e-mail: alsibirev@mail.ru, michael-1946@mail.ru

³ Калужский государственный университет им. К.Э. Циолковского
ул. Степана Разина, 26, г. Калуга, 248023, РФ; e-mail: m.stepovich@rambler.ru

Поступила в редакцию 24.07.2022. DOI: 10.29039/rusjbpс.2022.0546

Аннотация. Изучены возможности использования каналирования низкоэнергетических (9-13 кэВ) электронов для определения характера изменений позиционного порядка в расположении молекулярных комплексов воды и белок-индуцированных ассоциатов при сверхвысоком разведении антител к интерферону- γ без и в присутствии вспомогательных веществ. Использован метод газоразрядной визуализации, позволяющий регистрировать параметры лавиностримерного разряда, вызванного полевой эмиссией электронов, проходящих через объёмную часть и поверхность капли исследованных растворов. Исследования структурной организации растворов лекарственных средств осуществляли на растворах поликлональных афинно-очищенных человеческих антител к интерферону- γ . Растворы получали путем многократного разведения антител в очищенной воде. Использовали растворы, соответствующие четырем концентрационным точкам антител. Анализ картин газоразрядного изображения растворов позволил определить стереографические проекции каналов движения электронов, сформированных молекулярными комплексами растворов, а также энергию и среднюю концентрацию электронов, их распределение по энергиям, связанных с особенностями ближнего порядка, спецификой процессов самоорганизации. Полученные результаты указывают на значительные изменения водно-дисперсной среды в процессе её разбавления человеческими антителами к интерферону- γ .

Ключевые слова: растворы лекарственных средств, каналирование электронов, газоразрядная визуализация, сверхвысокое разведение антител к интерферону.

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день в медицинской практике широкое распространение получили противовирусные препараты, действие которых основано на изменении конформации мишени при влиянии на них сверхвысоких разведениях антител к интерферону- γ [1-3].

Предполагается, что их эффект связан с наличием в растворе белок-индуцированных субмиллиметровых кластеров [4]. В результате химические свойства и терапевтические показатели лекарственного средства определяются не только параметрами основного препарата в растворе, но и особенностями других составляющих такой гетерогенной системы, в частности растворителя, и внешним воздействием. В водной системе с веществом в высоком разведении могут формироваться локальные структуры, обладающие определенной динамикой взаимных переходов, которые, в свою очередь, могут быть синхронизированы с квантовыми переходами между различными состояниями молекулярных комплексов или их наноассоциатов.

Ранее было показано, что добиваться синхронности как внутри молекулярных, так и межмолекулярных превращений в водных растворах поверхностно-активных веществ, можно в результате энергетически слабых воздействий (магнитоимпульсного, кавитационного и др.) [5-7]. Такие воздействия обеспечивают существенную активацию гидратационных фазовых превращений и способствуют формированию устойчивых полиморфных модификаций растворённого вещества, которые характеризуются различным позиционным порядком молекулярных ассоциатов, широким спектром их геометрических параметров и специфических свойств [8-10]. Управлять свойствами подобных квазиравновесных воднодисперсных систем можно, изменяя концентрацию компонентов в системе или параметры многократного механического разведения. На это указывает и работа [4], согласно данным которой в результате многократного механического разведения антител к интерферону- γ наблюдается образование гигантских гетерогенных кластеров со специфическим размерным спектром и кинетикой распада. Поэтому дисперсные системы, возникающие при разведении в водном растворе белковых наночастиц (а именно антител к интерферону- γ) являются уникальными объектами для наблюдения белок-индуцированных субмиллиметровых кластеров, а также специфики трансформации их позиционного порядка. Ввиду высокой временной стабильности кластеров, к таким растворам не вполне применимы модели поведения вещества в классическом жидком состоянии. Используемые же до настоящего времени экспериментальные методы изучения ближнего порядка (кроме ядерной гамма-резонансной спектроскопии и нейтронографии) также не применимы, так как основаны на изучении явных изменений структурно-чувствительных свойств растворов

[11]. В связи с этим нужны прямые экспериментальные «зондовые» методы оценки ближнего порядка молекулярных комплексов дисперсных водных систем при сверхвысоких разведениях.

Действительно, использование динамического рассеяния света, лазерной фазовой микроскопии для анализа дисперсного состава белковых растворов не позволяет определить не только молекулярный состав неоднородностей, но и особенности их пространственной локализации [12]. Это указывает на необходимость разработки и использования физико-химических методов, способных регистрировать коллективные эффекты, вызванные процессами трансформации структурного состояния воднодисперсной системы, водных ассоциатов, основанных на визуализации объекта и отображающих особенности межмолекулярного взаимодействия, локальной симметрии ближнего порядка молекулярных комплексов [12,13]. Такая информация может быть получена электронозондовым способом, малоугловой рентгеновской дифракцией. Однако, из-за отсутствия надёжной интерпретации результатов исследования и специфики этих методов структурные особенности водной среды остаются неоднозначными и дискуссионными [13].

Учитывая, что терапевтическая эффективность многих лекарственных средств определяется процессами переноса зарядов ионами или электронами, динамика которых зависит от ближнего порядка молекул, а также локальных электрических полей [15,16], для изучения состояния молекулярных комплексов воды или водных ассоциатов может быть использован метод каналирования ионов или низкоэнергетических электронов [17-19]. Метод позволяет выявить особенности состояния молекулярных комплексов, формирующих стенки каналов (по которым осуществляется облегчённый транспорт ионов или электронов), а также наличие градиентов локальных электрических полей, стимулирующих кинетические процессы. Данный метод можно реализовать в условиях фиксации инициированного свечения раствора или его газоразрядной визуализации (ГРВ) [20,21]. Возможность применения ГРВ для изучения структурной организации сверхвысоких разведений лекарственных средств основывается на известном тезисе о том, что биофизические и биохимические процессы, протекающие в биологической среде, во многом определяются позиционным порядком молекулярных комплексов [22,23], параметрами локальных электромагнитных полей, создаваемых электрическими и магнитными диполями воды и белковых ассоциатов. По изменению энергии и угловому распределению электронов, проходящих через каплю растворов лекарственных препаратов, можно судить не только о характере ближнего порядка в пространственном расположении ассоциатов, но и об особенностях межмолекулярного взаимодействия, об их изменении по сравнению с аналогичными параметрами для очищенной воды, используемой в качестве растворителя [21,24].

Целью настоящей работы было выяснение возможности использования результатов каналирования низкоэнергетических электронов для определения характера изменений позиционного порядка в расположении молекулярных комплексов воды в белок-индуцированных ассоциатах при сверхвысоком разведении антител к интерферону- γ , без и в присутствии вспомогательных веществ. Для исследования особенностей каналирования низкоэнергетических электронов использовали метод ГРВ, позволяющий регистрировать параметры лавинностримерного разряда, вызванного полевой эмиссией электронов, проходящих через объёмную часть капли раствора и через её поверхность [24,25]. При этом подразумевали, что пространственная координация разрядных треков и их параметры связаны с каналами облегчённого движения электронов, с локальными неоднородностями структуры объёмной части и поверхности капли, которые изменяют локальные поляризационные и электрические свойства водной среды (диэлектрическую проницаемость и удельную электропроводность).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изготовление экспериментальных образцов. Для анализа структурной организации лекарственных средств использовали следующие группы экспериментальных образцов:

1) первая группа: водные растворы поликлональных аффиноочищенных кроличьих антител к интерферону- γ (исходная концентрация 2,5 мг/мл). Раствор антител получали путём многократного разведения в очищенной воде по стандартной технологии. Рассчитанная концентрация антител в конечных разведениях составляла $2,5 \times 10^{-24}$ мг/мл. Следует учитывать тот факт, что конечная концентрация антител в растворе может быть выше или ниже рассчитанной, т.к. в разбавленных растворах могут присутствовать агрегаты исходных антител с газовыми нанопузырьками, которые сохраняются после многократного разбавления за счёт флотаций [14,21]. Контролем растворителя выступала вода очищенная;

2) вторая группа – таблетированные формы. Таблетированные образцы получены нанесением растворов антител и фосфатно-солевого буфера (далее по тексту – таблетированное плацебо) на носитель (89 % солевой лактозы, 10 % микрокристаллической целлюлозы, 1 % стеарата магния). Растворы антител и фосфатно-солевого буфера получали аналогично образцам из первой группы. В качестве антител выступал интактный таблетированный носитель (далее по тексту – вспомогательное вещество).

Все образцы были предоставлены компанией ООО «НПФ «Материа Медика Холдинг».

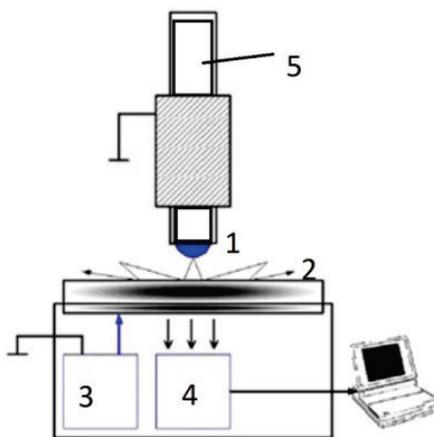


Рисунок 1. Схема портативного аппаратно-программного комплекса с прибором газоразрядной визуализации (ГРВ-камера): 1 – мениск капли раствора; 2 – кварцевый электрод с токопроводящим покрытием; 3 – генератор импульсов напряжения; 4 – оптическая система; 5 – металлический индифферентный электрод

Из таблетированных образцов были приготовлены растворы с различной концентрацией вещества с целью определить оптимальную для исследования концентрацию. Для анализа использовали растворы, соответствующие 4 концентрационным точкам. Каждая концентрационная точка соответствовала тому количеству таблетированного образца, которое было растворено в 10 мл воды. То есть концентрационной точке 1 соответствовала одна растворённая таблетка, концентрационной точке 2 – две таблетки и т.д. Затем растворы настаивали в течении 24 часов при 293К до установления равновесия. Раствор, используемый для исследования, фильтровали с помощью бумажного фильтра для удаления нерастворённой фракции.

Метод и методики исследования. Анализ состояния водных растворов осуществляли методом ГРВ, основанным на оптоэлектронной эмиссии и реализуемом в приборе «ГРВ-камера» медицинского назначения [24,25], см. также [18,19,26,27]. Блок-схема установки показана на рисунке 1.

В модифицированный инсулиновый шприц, в котором находился индифферентный металлический электрод 5, являющийся эмиттером электронов, набирали исследуемый раствор. Мениск капли жидкости объёмом 8 мкл располагали на расстоянии 2 мм над прозрачным токопроводящим покрытием кварцевого электрода 2. Между электродами 5 и 2 подавали электрические биполярные импульсы амплитудой 9 кВ и длительностью 2×10^{-6} с от генератора 3. Электрические импульсы стимулировали эмиссию электронов из металлического электрода 5, которые проходили через каплю раствора и ее поверхность. Прошедшие через каплю раствора электроны имели энергию, достаточную для ионизации воздуха, и формировали на электроде 2 скользящий газовый разряд. Его свечение регистрировали фотокамерой 4, оцифровывали видеопреобразователем и визуализировали на экране компьютера в виде светящегося диска и стримеров, представляющих картину стереографических проекций следов движения электронов через объёмную часть капли раствора и ее поверхности. Параметрический анализ картин газоразрядного изображения раствора выполнен с использованием программы GDV Scientific Laboratory, которая позволяла определить угловое распределение электронов, воспроизводящее стереографические проекции каналов движения электронов, сформированных молекулярными комплексами раствора.

Информация о растворах фиксировалась на газоразрядном изображении за счет воздействия раствора на характеристики лавинных актов: интенсивность, длительность, частоту следования и их пространственное распределение. Для уменьшения влияния электромагнитного поля прибора и самого разряда на состояние исследуемого раствора разработчиками прибора [24,25] экспериментально определены оптимальные значения амплитуды, длительности и частоты биполярных электрических импульсов на газоразрядном промежутке, которые обеспечили слабовозмущающий характер влияния измерения на неравновесное состояние исследуемых растворов. Для нивелирования этого влияния время измерения составляло 0,1 с, и измерения выполнялись не менее чем на 10 каплях раствора. В результате статистическая выборка каждого из параметров составляла не менее 100. Это важно, прежде всего ввиду наличия в растворах полярных молекул вспомогательных веществ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рисунке 2 в качестве примера показаны увеличенные электрограммы в энергетической палитре свечения в стереографической проекции и картины углового распределения электронов после их прохождения через капли растворов лекарственных средств.

Видно, что электрограммы стандартно очищенной (используемой для медицинских целей) воды (верхняя часть рис. 2а) представляет однородно-светящийся диск, что указывает на преимущественное изотропное движение эмитируемых электронов через поверхность капли и через неупорядоченную среду в ее объеме.

Электрограммы водных растворов антител к интерферону- γ (верхняя часть рис. 2б), и вспомогательных веществ, используемых в таблетированных образцах (верхняя часть рис. 2в), кроме деформированного диска отличаются наличием радиальных треков свечения слабой интенсивности и малой длины (2000-3500) мкм. Последний факт является следствием наличия в объеме капли каналов облегченного движения электронов. На это указывают и различия картин углового распределения электронов (нижняя часть рис. 2а, 2б, 2в) для изученных растворов.

Отличие от картины углового распределения испускаемых каплей воды электронов (нижняя часть рис. 2а) на аналогичных картинах водных растворов антител к интерферону- γ (нижняя часть рис. 2б), присутствует 3 узких максимума малой интенсивности. Их положение, соответствующее углам $70-80^\circ$, $230-240^\circ$, $300-320^\circ$, сохраняется также в растворах таблетированных образцов, содержащих антитела. Малая ширина и интенсивность максимумов обусловлена особенностями ближнего порядка белок-индуцированных водных ассоциатов на локальных участках раствора, их геометрическими параметрами и электрическим зарядом.

Для раствора вспомогательных веществ, а также таблетированных образцов, содержащих антитела, наблюдается 4 дополнительных широких максимума. Высокая степень изрезанности склонов этих максимумов указывает на интенсивное взаимодействие каналируемых электронов с молекулярными ассоциатами, образуемыми молекулярными комплексами воды в присутствии вспомогательных веществ и индуцированных белковыми молекулами антител. По угловому расстоянию между максимумами и их ширине можно оценить параметры каналов и, как результат, геометрические характеристики молекулярных ассоциатов, образующих стенки каналов. Учитывая тот факт, что направления облегченного движения электронов образованы плоскостями наиболее плотной упаковки молекулярных ассоциатов, наличие трех максимумов на картине углового распределения электронов, наблюдаемых для водного раствора антител, указывает на присутствие только трех таких плоскостей. Отсутствие эквидистантности между ними и различие в их ширине указывает на существенное различие геометрических параметров белок-индуцированных ассоциатов и на относительно низкую симметрию их ближнего порядка [28]. Это может быть причиной понижения симметрии пространственного заряда, что обеспечивает относительно большие градиенты локальных электрических полей. Такие поля способны вызвать упорядочение как отдельных, так и ассоциированных диполей воды, находящихся не только в первой координационной сфере белок-индуцированного ассоциата, но и на значительном удалении от него. В результате при растворении белковых молекул, в нашем случае – антител, в растворе создаются условия для проявления коллективных эффектов, обеспечивающих изменения системно-структурной организации растворителя [29,30]. Наличие четырех максимумов углового распределения для растворов вспомогательных веществ указывает на более высокую симметрию ближнего порядка в расположении молекулярных водных ассоциатов или гидратированных комплексов этих соединений, что оказывает ощутимое воздействие на структурное состояние раствора. Это отчетливо проявляется на параметрах картин ГРВ.

Процессы, связанные с изменением системно-структурной организации растворов, проявляются на трансформации их локальных физико-химических свойств и, как следствие, на энергетических характеристиках электронных лавин, каналирующих в водной среде. Учитывая тот факт, что энергия электронов эмиссии связана с длиной стримеров [31] по положению максимумов распределения стримеров по длине можно судить о потерях энергии каналированных электронов и, как следствие, о геометрических особенностях и о зарядовом состоянии водных ассоциатов, присутствующих в растворе. Картины распределения стримеров по длине приведены на рисунке 3.

Видно, что на картине распределения стримеров по длине для фармакологически очищенной воды (рис. 3, кривая 1) наблюдаются 2 максимума: низкоэнергетический (2700-2800) мкм и высокоэнергетический (3100-3200) мкм. Если пользоваться представлениями квазикристаллических моделей структуры воды, то наличие двух максимумов можно связать с присутствием в растворителе 2-х фаз: полимерной, содержащей водные ассоциаты, стабилизированные микропримесями (3100-3200) мкм и мономерной, содержащей водные ассоциаты, стабилизированные водородными связями (2700-2800) мкм. Это предположение подтверждается совпадением положения максимума энергетического распределения электронов, соответствующего мономерной воде с максимумом такого распределения для бидистиллированной воды (2600-2700) мкм.

Для раствора антител (рис. 3, кривая 2) наблюдается интенсивный максимум, положение которого соответствует длине стримеров (2150-2400) мкм и максимум малой интенсивности, положение которого (2700-2800) мкм совпадает с положением максимума для мономерной воды. Соотношение площадей максимумов составляет примерно 9:1. Сдвиг основного максимума для раствора антител относительно максимума, наблюдаемого для бидистиллированной воды, свидетельствует об усилении взаимодействия каналируемых электронов с электрическим полем белок-индуцированных водных ассоциатов. Действительно, кулоновское

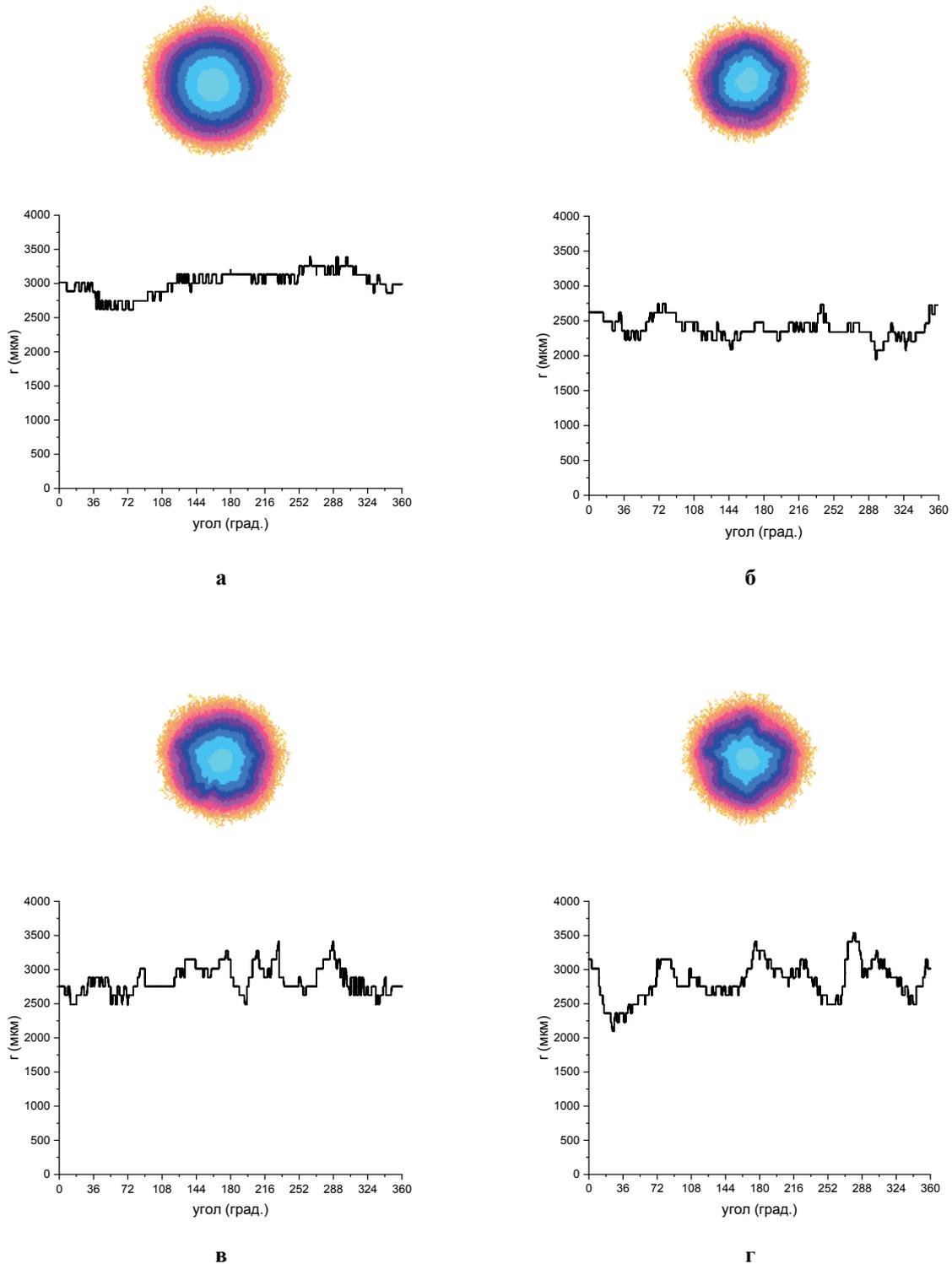


Рисунок 2. Усреднённые электрограммы для растворов (вверху каждого из рисунков а, б, в, г), увеличение 4х и угловые распределения электронов (внизу каждого из рисунков а, б, в, г), проходящих через каплю раствора: а – очищенная вода; б – раствор антител к интерферону-γ; в – раствор таблетированного образца вспомогательных веществ; г – раствор таблетированного образца антител к интерферону-γ и вспомогательных веществ

взаимодействие электронов с электрическим полем внутри микроканалов, формируемых такими ассоциатами, может вызвать существенные потери энергии электронов [32]. Так как расчет потерь энергии электронов в результате их взаимодействия с электрическим полем молекулярных комплексов из-за специфики приближенных классических и полуклассических моделей затруднен, то можно лишь качественно судить об особенностях водных ассоциатов, присутствующих в растворе. Несмотря на то, что концентрация антител в растворе составляет примерно 10^{-24} мг/мл и недостаточна для внесения существенных изменений в его материально-энергетический баланс, более 90 % молекулярных комплексов растворителя обеспечили

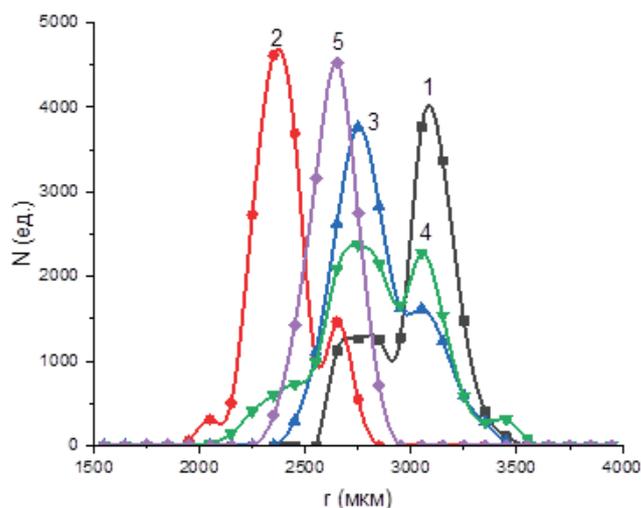


Рисунок 3. Распределение стримеров поверхностного заряда по длине, определяющее распределение электронов по энергиям для воды (кривая 1); водного раствора антител к интерферону- γ (кривая 2); раствора таблетированных форм вспомогательных веществ (кривая 3); раствора одной таблетки препарата, содержащего антитела к интерферону- γ (кривая 4); бидистиллированной воды (кривая 5)

формирование специфических водных ассоциатов. Размеры таких частиц, исходя из сдвига положения максимума распределения электронов по энергиям в сторону более низкой энергии, существенно больше размеров молекулярных комплексов в мономерной воде. Следовательно, активация растворов антител к интерферону- γ связана с интенсификацией ассоциативных процессов, сопровождающихся упорядочением белок – индуцированных молекулярных комплексов. Существенную роль в таких процессах играют гидратированные молекулы белков, обеспечивающие высокие значения градиентов локальных электрических полей и, как следствие, активирующих коллективные эффекты, связанные с формированием устойчивого позиционного порядка в расположении молекулярных комплексов среды. Действительно, даже после растворения в воде вспомогательных веществ (в основном лактозы), обладающих полярными молекулами, наблюдается незначительный сдвиг максимумов энергетического распределения эмитируемых электронов относительно максимумов такого распределения для растворителя (рис. 3, кривая 3). Однако площадь максимума, положение которого совпадает с положением мономерной воды, в 10 раз превышает площадь максимума, связанного с ассоциатами, образованными вспомогательными веществами и молекулярными комплексами воды. Количество таких ассоциатов существенно повышается в результате присутствия в растворе таблетированного образца белковых антител к интерферону- γ (рис. 3, кривая 4). На картине энергетического распределения электронов для этого образца наблюдаются уширенные максимумы, положение которых совпадает с положением максимумов, характерных для раствора вспомогательных веществ (2700-2800) мкм и (3100-3200) мкм и участок кривой малой интенсивности, положение которого совпадает с максимумом для белок – индуцированных ассоциатов (2150-2400) мкм. Из соотношения площадей максимумов для раствора таблетированного образца с антителами следует, что около 8 % молекулярных комплексов растворителя принимают участие в формировании белок – индуцированных ассоциатов, около 70-85 % образуют ассоциаты с вспомогательными веществами, а около 7-10 % – молекулярные комплексы воды, стабилизированные примесями или растворенными газами. Полученные результаты свидетельствуют о сохранении в растворах таблетированных образцов с антителами водных белок-индуцированных ассоциатов, сформированных в процессе разведения. Положение, а также большая ширина максимумов распределения электронов по энергиям, связанных с белок-индуцированными ассоциатами, свидетельствуют об их существенном отличии по размерам, ближнему порядку и зарядовому состоянию от других ассоциатов, присутствующих в растворе таблетированных образцов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методом каналирования электронов в условиях газоразрядной визуализации показано, что сверхвысокое разведение антител к интерферону- γ обеспечивает формирование белок-индуцированных водных ассоциатов, ближний порядок в расположении которых отличается низкой симметрией, в отличие от ассоциатов, образованных вспомогательными веществами. Это обеспечивает активацию коллективных эффектов, стимулируемых локальными электрическими полями, градиенты которых обеспечивают упорядочение как

отдельных, так и ассоциированных диполей воды. Интенсивность процессов самоорганизации существенно снижается из-за наличия в растворе довольно крупных ассоциатов воды и вспомогательных веществ, а также из-за высокой степени симметрии их ближнего порядка.

Список литературы / References:

1. Tarasov Sergey A., Gorbunov Evgeniy A., Don Elena S., Emelyanova Alexandra G., Kovalchuk Alexander L., Yanamala Naveena A., Schleker Sylvia S., Klein-Seetharaman Judith, Groenestein Reno, Tafani Jean-Pierre, van der Meide Peter and Epstein Oleg I. Insights into the mechanism of action of highly diluted biologics. *The Journal of Immunology*, 2020, vol. 205, iss. 5, pp. 1345-1354, doi: 10.4049/jimmunol.2000098.
2. Don E., Van der Meide N., Egorov V., Putilovskiy M., Tarasov S. The level of natural anionantibodies to IFN-gamma in varicella infection treated with antiviral drug Anaferon for children: A pilot Study. *Immunology Letters*, 2020, vol. 222, pp. 90-94, doi: 10.1016/j.imlet.2019.10.015.
3. Эпштейн О.И. *Сверхмалые дозы (история одного исследования)*. М: РАМН, 2008, 334 с. [Epshteyn O.I. *Sverkhmalyye dozy (istoriya odnogo issledovaniya)*. М: RAMN, 2008, 334 s. (In Russ.)]
4. Сыроешкин А.В., Плетнева Т.В., Морозова М.А. Успенская Е.В., Титорович О.В., Лесников Е.В., Добровольский В.И. О возможности применения лазерного метода для контроля качества высоко разведенных жидких лекарственных средств. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*, 2016, № 3, с. 31-36. [Syroyeshkin A.V., Pletneva T.V., Morozova M.A. Uspenskaya Ye.V., Titorovich O.V., Lesnikov Ye.V., Dobrovolskiy V.I. O vozmozhnosti primeneniya lazernogo metoda dlya kontrolya kachestva vysokikh razvedeniy zhidkikh lekarstvennykh sredstv. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya*, 2016, no. 3, pp. 31-36. (In Russ.)]
5. Шипко М.Н., Степович М.А., Сибирев А.Л., Усольцева Н.В., Масленникова О.М., Смирнова А.И. Магнитоимпульсное воздействие на структурное состояние растворов поверхностно-активных веществ. *Известия РАН. Серия физическая*, 2018, т. 82, № 8, с. 1058-1062. [Shipko M.N., Stepovich M.A., Sibirev A.L., Usoltseva N.V., Maslennikova O.M., Smirnova A.I. Magnitoimpul'snoye vozdeystviye na strukturnoye sostoyaniye rastvorov poverkhnostno-aktivnykh veshchestv. *Izvestiya RAN. Seriya fizicheskaya*, 2018, vol. 82, no. 8, pp. 1058-1062, doi: 10.1134/S0367676518080367 (In Russ.)]
6. Shipko M.N., Stepovich M.A., Sibirev A.L. Usoltzeva N.B., Maslennikova O.M. and Smirnova A.I. Impact of Magnetic Pulse on the Structural State of Surfactant Solutions. *Bulletin of the Russian Academy of Sciences: Physics*, 2018, vol. 82, no. 8, pp. 956-960, doi: 10.3103/S1062873818080361.
7. Горбунов А.М., Ильенко В.А., Владимирова Е.С. Фармакологическое действие водных препаратов, водных растворов лекарственных средств и воды модифицированной электромагнитным полем. *Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине: Научные труды VIII международного конгресса*, СПб, 2015, т. 7, с. 31-32. [Gorbunov A.M., Il'yenko V.A., Vladimirova Ye.S. Farmakologicheskoye deystviye vodnykh preparatov, vodnykh rastvorov lekarstvennykh sredstv i vody modifitsirovannoy elektromagnitnym polem. *Slabye i sverkhslabye polya i izlucheniya v biologii i meditsine: Nauchnyye trudy VIII mezhdunarodnogo kongressa*, SPb, 2015, vol. 7, pp. 31-32. (In Russ.)]
8. Шипко М.Н., Усольцева Н.В., Сибирев А.Л. Масленникова О.М., Смирнова А.И., Степович М.А., Габдулсадыкова Г.Ф. Влияние импульсных электромагнитных полей на позиционный и ориентационный порядок в водных растворах цетилтриметиламмония бромистого. *Жидкие кристаллы и их практическое использование*, 2018, т. 18, № 1, с. 47-54. [Shipko M.N., Usoltseva N.V., Sibirev A.L. Maslennikova O.M., Smirnova A.I., Stepovich M.A., Gabdulsadykova G.F. Vliyaniye impul'snykh elektromagnitnykh poley na pozitsionnyy i oriyentatsionnyy poryadok v vodnykh rastvorakh tsetiltrimetilammoniya bromistogo. *Zhidkiye kristally i ikh prakticheskoye ispol'zovaniye*, 2018, vol. 18, no. 1, pp. 47-54, doi: 10.18083/LCAppl.2018.1.47. (In Russ.)]
9. Шипко М.Н., Степович М. А., Сибирев А.Л., Мельникова О.С., Смирнова А.И., Усольцева Н.В. Ориентационные эффекты при каналировании киловольтных электронов в жидких средах. *Известия РАН. Серия физическая*, 2020, т. 84, № 7, с. 994-997. [Shipko M.N., Stepovich M.A., Sibirev A.L., Mel'nikova O.S., Smirnova A.I., Usoltseva N.V. Oriyentatsionnyye efekty pri kanalirovanii kilovol'tnykh elektronov v zhidkikh sredakh. *Izvestiya RAN. Seriya fizicheskaya*, 2020, vol. 84, no. 7, pp. 994-997, doi: 10.31857/S0367676520070273. (In Russ.)]
10. Shipko M.N., Stepovich M.A., Sibirev A.L., Melnikova O.S., Smirnova A.I., Usoltzeva N.B. Orientational Effects of Kilovolt Electron Channeling in Liquid Media. *Bulletin of the Russian Academy of Sciences: Physics*, 2020, vol. 84, no. 7, pp. 820-823, doi: 10.3103/S1062873820070266.
11. Успенская Е.В., Сыроешкин А.В., Смирнов А.И. Гончарук В.В., Плетнева Т.В., Лапшин В.Б. Структура воды и лазерные экспресс-методы определения подлинности. *Фармация*, 2007, № 5, с. 21-23. [Uspenskaya E.V., Syroyeshkin A.V., Smirnov A.I. Goncharuk V.V., Pletneva T.V., Lapshin V.B. Struktura vody i lazernyye ekspress-metody opredeleniya podlinnosti. *Farmatsiya*, 2007, no. 5, pp. 21-23. (In Russ.)]
12. Bunkin N., Shkirin A.V., Penkov N.V., Chirikov S., Ignatiev P.S., Kozlov V.A. The Physical Nature of Mesoscopic Inhomogeneities in Highly Diluted Aqueous Suspensions of Protein Particle. *Physical of Wave Phenomena*, 2019, vol. 27, no. 2, pp. 102-112, doi: 10.3103/S1541308X19020043.
13. Сыроешкин А.В., Смирнов А.Н., Гончарук В.В., Успенская Е.В., Николаев Г.М., Попов П.И., Кармазина Т.В., Самсонов-Тодоров А.О., Лапшин В.Б. Вода как гетерогенная структура. *Исследовано в России. Электронный журнал*, 2006, с. 843-854. [Syroyeshkin A.V., Smirnov A.N., Goncharuk V.V., Uspenskaya E.V.,

- Nikolayev G.M., Popov P.I., Karmazina T.V., Samsoni-Todorov A.O., Lapshin V.B. Voda kak geterogennaya struktura, *Issledovano v Rossii. Elektronnyy zhurnal*, 2006, pp. 843-854. (In Russ.)]
14. Ульянцев А.С., Успенская Е.В., Плетнева Т.В., Попов П.И., Самсоны-Тодоров А.О., Гончарук В.В., Сыроешкин А.В. Экспресс-метод определения подлинности водных растворов лекарственных средств. *Химико-терапевтический журнал*, 2009, т. 43, № 12, с. 47-51. [Ul'yantsev A.S., Uspenskaya E.V., Pletneva T.V., Popov P.I., Samsoni-Todorov A.O., Goncharuk V.V., Syroyeshkin A.V. Ekspress-metod opredeleniya podlinnosti vodnykh rastvorov lekarstvennykh sredstv. *Khimiko-terapevticheskiy zhurnal*, 2009, vol. 43, no. 12, pp. 47-51. (In Russ.)]
15. Высоцкий В.И., Карлаш А.Ю. Особенности селективного транспорта и каналирования ионов в водной среде в каналах биологических мембран. *Поверхность. Рентгеновские, синхротронные и нейтронные исследования*, 2010, № 12, с. 64-71. [Vysotskiy V.I., Karlash A.YU. Osobennosti selektivnogo transporta i kanalirovaniya ionov v vodnoy srede v kanalah biologicheskikh membran. *Poverkhnost'. Rentgenovskiy, sinkhrotronnyye i neytronnyye issledovaniya*, 2010, no. 12, pp. 64-71. (In Russ.)]
16. Мельникова К.Н., Вислобоков А.И., Колпакова М.Э., Борисова В.А., Игнатов Ю.Д. Калиевые ионные каналы клеточных мембран. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*, 2009, т. 7, № 1, с. 3-27. [Mel'nikova K.N., Vislobokov A.I., Kolpakova M.E., Borisova V.A., Ignatov Yu.D. Kaliyevyye ionnyye kanaly kletochnykh membran. *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii*, 2009, vol. 7, no. 1, pp. 3-27. (In Russ.)]
17. Рябов В.А. *Эффект каналирования*. М.: Энергоатомиздат, 1994, 239 с. [Ryabov V.A. *Effekt kanalirovaniya*. М.: Energoatomizdat, 1994, 239 p. (In Russ.)]
18. Масленникова О.М., Шипко М.Н., Сибирев А.Л., Степович М.А., Никонорова В.Г. О диагностическом потенциале метода газоразрядной визуализации в оценке эффективности препаратов для лечения сердечно-сосудистой патологии. *Кремлевская медицина. Клинический вестник*, 2021, № 4, с. 91-96. [Maslennikova O.M., Shipko M.N., Sibirev A.L., Stepovich M.A., Nikonorova V.G. O diagnosticheskom potentsiale metoda gazorazryadnoy vizualizatsii v otsenke effektivnosti preparatov dlya lecheniya serdechno-sosudistoy patologii. *Kremlevskaya meditsina. Klinicheskiy vestnik*, 2021, no. 4, pp. 91-96. (In Russ.)]
19. Шипко М.Н., Сибирев А.Л., Масленникова О.М., Степович М.А. Использование каналирования киловольтных электронов для изучения структуры жидких объектов. *Сб. научных трудов VI съезда биофизиков России*, 2019, т. 1, с. 395-396. [Shipko M.N., Sibirev A.L., Maslennikova O.M., Stepovich M.A. Ispol'zovaniye kanalirovaniya kilovol'tnykh elektronov dlya izucheniya struktury zhidkikh ob'yektov. *Sb. nauchnykh trudov VI s"yezda biofizikov Rossii*, 2019, vol. 1, pp. 395-396. (In Russ.)]
20. Шеин А.А., Хлебный Е.С., Кершенгольц Б.М. Газоразрядная визуализация – перспективы количественного и качественного определения веществ в жидкофазных растворах и смесях. *Успехи современного естествознания*, 2004, № 7, с. 43. [Shein A.A., Khlebnyy Ye.S., Kershengol'ts B.M. Gazorazryadnaya vizualizatsiya - perspektivy kolichestvennogo i kachestvennogo opredeleniya veshchestv v zhidkofaznykh rastvorakh i smesyakh, *Uspekhi sovremennoye yestestvoznaniya*, 2004, no. 7, pp. 43. (In Russ.)]
21. Яковлева Е.Г. Диагностические возможности метода ГРВ-биоэлектрографии (обзор литературы). *Вестник новых медицинских технологий*, 2013, № 1, с. 8. [Yakovleva E.G. Diagnosticheskiye vozmozhnosti metoda GRV-bioelektrografii (obzor literatury). *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy*, 2013, no. 1, p. 8. (In Russ.)]
22. Клеман М., Лаврентович О.Д. *Основы физики частично упорядоченных сред: жидкие кристаллы, коллоиды, фрактальные структуры, полимерные биологические объекты*: пер. с англ. Физматлит, 2007, 680 с. [Kleman M., Lavrentovich O.D. *Osnovy fiziki chastichno uporyadochennykh sred: zhidkiye kristally kolloidy, fraktal'nyye struktury, polimernyye biologicheskiye ob'yekty*: per. s angl. Fizmatlit, 2007, 680 p. (In Russ.)]
23. Zhou Y.F., Morais-Cabral J., Kaufman A., MacKinnon R. Chemistry of ion coordination and hydration revealed by a K⁺ channel-Fab complex at 2.0 Å resolution. *Nature*, 2001, vol. 414, no. 6859, pp. 43-48, doi: 10.1038/35102009.
24. Коротков К.Г., Орлов Д.В., Величко Е.Н. Применение метода газоразрядной визуализации для анализа различных жидкостей. *Изв. вузов, Приборостроение*, 2011, т. 54, № 12, с. 40-46. [Korotkov K.G., Orlov D.V., Velichko E.N. Primeneniye metoda gazorazryadnoy vizualizatsii dlya analiza razlichnykh zhidkostey. *Izv. vuzov, Priborostroyeniye*, 2011, vol. 54, no. 12, pp. 40-46. (In Russ.)]
25. Коротков К.Г. *Принципы анализа ГРВ биоэлектрографии*. Санкт-Петербург: Реноме, 2007, 286 с. [Korotkov K.G. *Printsipy analiza GRV bioelektrografii*. Sankt-Peterburg: Renome, 2007, 286 p. (In Russ.)]
26. Stepovich M.A., Maslennikova O.M., Shipko M.N., Sibirev A.L., Chrishtop V.V. The Use of Gas Discharge Visualization for Identifying Structured Peculiarities of Blood Components: Plasma, Platelets, and Erythrocytes. *Journal of Cardiology and Cardiovascular Therapy*, 2018, vol. 9, iss. 4, art. no. 555770.
27. Масленникова О.М., Сибирев А.Л., Криштоп В.В., Шипко М.Н., Степович М.А., Ленчер О.С. Исследование эффективности транспорта ионов K⁺ по каналам ионных обменников в присутствии лекарственных средств – активаторов калиевых каналов. *Актуальные вопросы биологической физики и химии*, 2021, т. 6, № 2, с. 269-274. [Maslennikova O.M., Sibirev A.L., Krishtop V.V., Shipko M.N., Stepovich M.A., Lencher O.S. Issledovaniye effektivnosti transporta ionov K⁺ po kanalam ionnykh obmennikov v prisutstvii lekarstvennykh sredstv – aktivatorov kaliyevykh kanalov. *Russian Journal of Biological Physics and Chemistry*, 2021, vol. 6, no. 2, pp. 269-274. (In Russ.)]
28. Шаскольская М.П. *Кристаллография*. М.: Высшая школа, 1976, 390 с. [Shaskol'skaya M.P. *Kristallografiya*. М.: Vysshaya shkola, 1976, 390 p. (In Russ.)]

29. Bunkin N.F., Shkirin A.V., Ninham B.W., Chirikov S.N., Chaikov L.L., Penkov N.V., Kozlov V.A., Gudkov S.V. Shaking-Induced Aggregation and Flotation in Immunoglobulin Dispersions: Difference between Water and Water-Ethanol Mixtures. *Amer. Chem. Soc.*, 2020, vol. 5, no. 24, pp. 14689-14701, doi: 10.1021/acsomega.0c01444.

30. Бадеников А.В., Власов В.А., Волокитин Г.Г., Горленко Н.П., Клопотов А.А., Саркисов Ю.С. *Активированная вода и модифицированные водные растворы в технологических процессах*. Томск: ТГАСУ, 2017, 276 с. [Badenikov A.V., Vlasov V.A., Volokitin G.G., Gorlenko N.P., Klopotov A.A., Sarkisov Yu.S. *Aktivirovannaya voda i modifitsirovannyye vodnyye rastvory v tekhnologicheskikh protsessakh*. Tomsk: TGASU, 2017, 276 p. (In Russ.)]

31. Эфендиев А.З., Эфендиев К.А. Каналирование газовых разрядов. *Прикладная физика*, 2007, № 1, с. 78-84. [Efendiyev A.Z., Efendiyev K.A. Kanalirovaniye gazovykh razryadov. *Prikladnaya fizika*, 2007, no. 1, pp. 78-84. (In Russ.)]

32. Кощеев В.П., Штанов Ю.Н., Моргун Д.А. Правило распределения электронных и ядерных потерь энергии каналированных частиц. *Известия РАН. Серия физическая*, 2018, т. 82, № 2, с. 205-209. [Koshcheyev V.P., Shtanov Yu.N., Morgun D.A. Pravilo raspredeleniya elektronnykh i yadernykh poter' energii kanalirovannykh chastits. *Izvestiya RAN. Seriya fizicheskaya*, 2018, vol. 82, no. 2, pp. 205-209, doi: 10.7868/S036767651802014X. (In Russ.)]

FEATURES OF PROTEIN-INDUCED ASSOCIATES AT SUPERHIGH DILUTION OF ANTIBODIES TO INTERFERON- γ

Maslennikova O.M.¹, Sibirev A.L.², Shipko M.N.², Stepovich M.A.³

¹Central State Medical Academy of Department of Presidential Affairs,
st. Marshal Timoshenko, 19, bld. 1A, Moscow, 121359, Russia; e-mail: o.m.maslennikova@gmail.com

²Lenin Ivanovo State Power Engineering University,
Rabfakovskaya st. 34, Ivanovo, 153025 Russia; e-mail: alsibirev@mail.ru, michael-1946@mail.ru

³Tsiolkovsky Kaluga State University,
Stepan Razin st. 26, Kaluga, 248023, Russia; e-mail: m.stepovich@rambler.ru

Received 24.07.2022. DOI: 10.29039/rusjbpbc.2022.0546

Abstract. The possibilities of using the channeling of low-energy (9-13 keV) electrons to determine the nature of changes in the positional order in the arrangement of molecular complexes of water and protein-induced associates at ultrahigh dilution of antibodies to interferon- γ without and in the presence of excipients were studied. We used the method of gas-discharge visualization, which makes it possible to record the parameters of the avalanche-streamer discharge caused by the field emission of electrons passing through the bulk and surface of the drop of the studied solutions. Studies of the structural organization of drug solutions were carried out on solutions of polyclonal affinity-purified human antibodies to interferon- γ . Solutions were obtained by repeated dilution of antibodies in purified water. Used solutions corresponding to four concentration points of antibodies. An analysis of the patterns of the gas-discharge image of solutions made it possible to determine the stereographic projections of the channels of electron motion formed by molecular complexes of solutions, as well as the energy and average concentration of electrons, their energy distribution associated with the features of the short-range order, the specifics of self-organization processes. The results obtained indicate significant changes in the water-dispersed medium during its dilution with human antibodies to interferon- γ .

Key words: drug solutions, electron channeling, gas discharge imaging, ultrahigh dilution of antibodies to interferon- γ .