



УДК 577.3.04

Т. Е. ЗОРИНА, М. В. САРЖЕВСКАЯ, С. Н. ЧЕРЕНКЕВИЧ

ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРОВАННОМ ГЕМОЛИЗЕ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Механизмы комбинированного действия производных порфирина и лазерного излучения на биологические системы интенсивно исследуются в связи с возможным применением сенситизаторов в фототерапии раковых заболеваний. Поскольку клеточные мембраны выступают в качестве одной из основных мишеней повреждающего действия света на клетки и ткани в присутствии порфиринов [1, 2], фотодинамическая активность этих соединений в значительной мере может определяться природой их взаимодействия с клеточными мембранами.

В данной работе проведено сравнительное исследование гемолитической активности производных порфирина — тетракарбоксибенилпорфина (ТКФП), гематопорфирина (ГП) и хлоринов — хлорина e_6 (Хл e_6), диметилового эфира хлорина e_6 (ДМЭХл e_6) и этилендиамида хлорина e_6 (ЭДАХл e_6) при облучении суспензии эритроцитов светом гелий-неонового лазера с учетом особенностей их взаимодействия с мембранными структурами и белком.

Гемолиз эритроцитов исследовали (при 37 °С) методом малоуглового светорассеяния с помощью лазерного нефелометра [3] при непрерывном облучении светом гелий-неонового лазера ЛГ-75 ($\lambda = 633$ нм, $W = 30$ мВт); концентрации пигментов в суспензии подбирали таким образом, чтобы поглощение при 633 нм в кювете толщиной 1 см было равным 0,025. Эритроциты крови практически здоровых доноров трижды отмывали (центрифугирование при 800 g в течение 5 мин) и ресуспендировали в фосфатном буфере (137 мМ NaCl, 2,7 мМ KCl, 8,1 мМ Na_2HPO_4 , 1,5 мМ KH_2PO_4). Количество эритроцитов в образцах составляло $2 \cdot 10^9$ в 1 мл.

Число мест связывания пигментов с липосомальными мембранами и белком определяли из зависимостей Скэтчарда методом [4]. Значения степени поляризации флуоресценции производных порфирина и хлоринов определяли на приборе SLM-4800 (США). Липосомы получали озвучиванием диспергированного в фосфатном буфере лецитина (10 мг/мл) в течение 3 мин в атмосфере азота с помощью ультразвукового диспергатора УЗДМ-2Т (22 кГц). Концентрация лецитина в образцах составляла $4 \cdot 10^{-4}$ М.

Хл e_6 , ДМЭХл e_6 , ЭДАХл e_6 и ТКФП синтезированы в ИФ АН БССР, ГП — в Московском институте тонкой химической технологии. В работе использован сывороточный альбумин (БСА) фирмы Serva без дополнительной очистки и яичный лецитин производства Харьковского завода бактериальных препаратов. Остальные реактивы отечественного производства квалификации не ниже «хч».

Облучение эритроцитов светом гелий-неонового лазера в присутствии пигментов ведет к нарушению структуры клеток, сопровождающемуся изменением параметров малоуглового светорассеяния. Процесс фотогомолиза включает несколько стадий: лаг периода, набухания, сферического состояния и лизиса клеток. Набухание клеток является следствием нарушения ионной проницаемости эритроцитарных мембран. Длительность временных интервалов прохождения эритроцитами отдельных стадий гемолиза зависит от условий облучения, концентрации порфиринов в эритроцитарной суспензии, числа клеток, температуры, физико-химических характеристик среды. Зависимость параметров гемолиза от времени облучения и от концентрации пигментов описывается степенной функцией.

Исследование кинетики фотосенсибилизированного гемолиза позволило сравнить гемолитическую активность пигментов. Количественной характеристикой фотогомолитической активности ТКФП, ГП, Хл e_6 , ЭДАХл e_6 , ДМЭХл e_6 являлось время, в течение которого происходит лизис 50 % общего числа клеток в суспензии (T_{50}) (см. таблицу). Установлено, что по эффективности фотосенсибилизации гемолиза пигменты располагаются в ряду: этилендиамид хлорина e_6 , димстиловый эфир хлорина e_6 > хлорин e_6 > гематопорфирин > тетракарбоксифенилпорфин. Среди исследованных пигментов наибольшую фотогомолитическую эффективность проявляют вещества, характеризующиеся большим числом мест связывания с компонентами мембран. Так, ДМЭХл e_6 характеризуется наибольшим числом мест связывания молекул пигмента в составе липосом, а по числу мест связывания с белком выделяется ЭДАХл e_6 (см. таблицу).

Значения времени 50% гемолиза эритроцитов и чисел мест связывания сенсибилизаторов с липосомальными мембранами и белком

Пигмент	Хл e_6	ЭДАХл e_6	ДМЭХл e_6	ГП	ТКФП
T_{50} ($\lambda = 633$ нм), мин	42	12	17	48	84
Число мест связывания с липосомами	$2,1 \cdot 10^{-6}$	$2,4 \cdot 10^{-6}$	$6,1 \cdot 10^{-6}$	$2 \cdot 10^{-6}$	$4,2 \cdot 10^{-7}$
с белком	$3,2 \cdot 10^{-6}$	$1,2 \cdot 10^{-5}$	$3,7 \cdot 10^{-6}$	$3,5 \cdot 10^{-6}$	$2,1 \cdot 10^{-6}$

Наши данные подтверждают предположение о том, что фотодинамический эффект в клеточных системах обусловлен связанным с клеточными мембранами сенсибилизатором, сделанное на основании спектров действия [5]. Различия в сорбции производных порфирина могут быть связаны с неодинаковым зарядом молекул сенсибилизаторов [6], а также с их гидрофобностью [7]. Замена карбоксильных групп в молекуле Хл e_6 на аминную (для ЭДАХл e_6) и метильные группы (для ДМЭХл e_6) меняет заряд пигментов, их растворимость, а следовательно, и сродство к компонентам клеточной мембраны.

Таким образом, фотодинамическое действие веществ, сенсибилизирующих деструкцию опухолевых тканей, определяется условиями светового воздействия, спектральными свойствами пигментов, характеристиками связывания и природой мест локализации пигментов в клетке.

Параметры фотосенсибилизированного гемолиза эритроцитов могут быть использованы для оценки эффективности деструктивного действия различных производных порфирина.

Авторы благодарны доктору физико-математических наук А. П. Лосеву и доктору химических наук А. Ф. Миронову за любезно предоставленные препараты ТКФП и ГП.

Список литературы

1. Dubertret L., Santus R., Bazin M., Saemelo M. T. // Photochem. Photobiol. 1982. V. 35. P. 103.
2. Черницкий Е. А., Воробей А. В. // Успехи современ. биол. 1986. Т. 101. Вып. 1. С. 100.
3. Татаринов Б. Н., Цвирко В. А., Черенкевич С. Н., Комяк А. И. // Вестн. Белорусского ун-та. Сер. 1: Физ. Мат. Мех. 1980. № 1. С. 30.
4. Chein J., Weber G. // Biochem. et Biophys. Res. Commun. 1973. V. 56. № 2. P. 538.
5. Moan J., Sommer S. // Photochem. Photobiol. 1984. V. 40. № 5. P. 631.
6. Spikes J. D., Matis W., Rodgers M. A. J. // Studia biophys. 1983. V. 94. P. 19.
7. Moan J., Mc. Chie J. B., Christensen T. // Photobiochem. Photobiophys. 1982. V. 4. P. 337.

Поступила в редакцию 17.02.87.

УДК 548.5:669.76

В. Г. ШЕПЕЛЕВИЧ, Ф. ШАКЕР ХАШЕМ

СТРУКТУРА И ЭЛЕКТРОФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ФОЛЬГ ВИСМУТА И СПЛАВОВ ВИСМУТ-СУРЬМА

Литые поликристаллы и монокристаллы сплавов висмут-сурьма, используемые в качестве термоэлектрических материалов, характеризуются неравномерным распределением компонентов, которое ухудшает их свойства и технические параметры [1, 2]. В последние двадцать лет успешно развиваются методы получения фольг многих материалов скоростным охлаждением из жидкой фазы, которые приводят к более равномерному распределению компонентов. Несомненный интерес поэтому представляет исследование структуры и электрофизических свойств фольг сплавов висмут-сурьма, полученных скоростным охлаждением из жидкой фазы.

Скоростная закалка сплавов висмут-сурьма, содержащих до 20 ат. % Sb, проводилась выбрасыванием небольшой капли расплава на отполированную внутреннюю поверхность вращающегося медного цилиндра. Линейная скорость цилиндрической поверхности составляла около 70 м/с. Скорость охлаждения, как показал расчет, достигала 10^6 К/с [3].

Металлографический анализ проводился с помощью микроскопа ММУ-3. Рентгеноструктурные исследования выполнялись на установке ДРОН-3 в медном излучении. Текстура изучалась с помощью «обратных» полюсных фигур, при этом расчет полюсных плотностей дифракционных линий $\{10\bar{1}2\}$, $\{10\bar{1}4\}$, $\{10\bar{1}5\}$, $\{10\bar{1}7\}$, $\{2025\}$, $\{21\bar{3}0\}$, $\{1235\}$, $\{2022\}$ и (0009) проводился по методу Харриса [4]. Микрорентгеновские исследования выполнялись на установке РЭММА-200. Измерения удельного электросопротивления ρ , магнетосопротивления β , коэффициента Холла R и дифференциальной термо-ЭДС α проводились компенсационным методом в интервале 77—300 К.

Фольги висмута и сплавов висмут-сурьма, полученные скоростным охлаждением из жидкого состояния, поликристаллические толщиной 20—60 мкм. Размер зерен сравним с их толщиной. При этом большинство зерен ограничено внешними поверхностями фольг. Микроанализ показал, что сурьма в исследуемых материалах распределена равномерно.

Изготовление фольги висмута и сплавов висмут-сурьма характеризуется четкой текстурой $\{10\bar{1}2\}$, т. е. большинство кристаллитов ориентировано так, что их плоскость $\{10\bar{1}2\}$ параллельна внешней поверхности. Легирование висмута сурьмой усиливает текстуру. Максимальная величина полюсной плотности дифракционной линии $\{10\bar{1}2\}$ наблюдается в сплаве Bi-16 ат. % Sb и достигает 8,6. Полюсные плотности других дифракционных линий исследуемых сплавов не превышают единицы.