

УДК 543.422/577.3

А. И. ХМЕЛЬНИЦКИЙ, С. Н. ЧЕРЕНКЕВИЧ, А. И. КОМЯК,
А. А. МИНЬКО, М. М. СИДОРЕНКО

ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛИЕНОВЫХ АНТИБИОТИКОВ В КАЧЕСТВЕ ОПТИЧЕСКИХ ЗОНДОВ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В БИОМЕМБРАНАХ

Одной из причин повреждения клеточных мембран является перекисное окисление остатков ненасыщенных жирных кислот липидов [1—3]. Перекисное окисление обычно характеризуют путем определения количества гидроперекисей и ТБК-активных продуктов [4], однако трактовка кинетики образования и расходования ТБК-активных продуктов полностью не проведена [4, 5]. Прямое спектрофотометрическое измерение накопления гидроперекисей в клетке затруднено вследствие того, что в области поглощения диеновых конъюгатов поглощают и другие клеточные компоненты; дополнительной помехой является и рассеяние света клеточными суспензиями.

В данной работе предложен метод исследования свободнорадикальных процессов в биомембранах, в частности, перекисного окисления липидов, основанный на изучении изменений величины оптического поглощения полиеновых антибиотиков, которые используются в качестве оптических зондов.

Молекулы полиеновых антибиотиков содержат систему сопряженных связей различной длины, определяющую хромофорные свойства соединения. В ряду этих веществ от триена до гептаена (триен, тетраен-нистатин, гексаен-нипомидин, гептаен-амфотерицин В) зависимость энергии 0-0-перехода от числа сопряженных связей носит гиперболический характер (рис. 1). По мере увеличения числа двойных сопряженных связей (n) происходит сдвиг спектра в длинноволновую сторону. Это обстоятельство свидетельствует в пользу представления о том, что величина энергии электронного поглощения полиенов в значительной мере определяется длиной цепи π — π сопряжения [6].

При окислении полиенов происходит разрушение системы сопряженных связей в молекулах. Деструкция полиенов сопровождается изменением их абсорбционных характеристик [7]. Процесс окисления полиено-

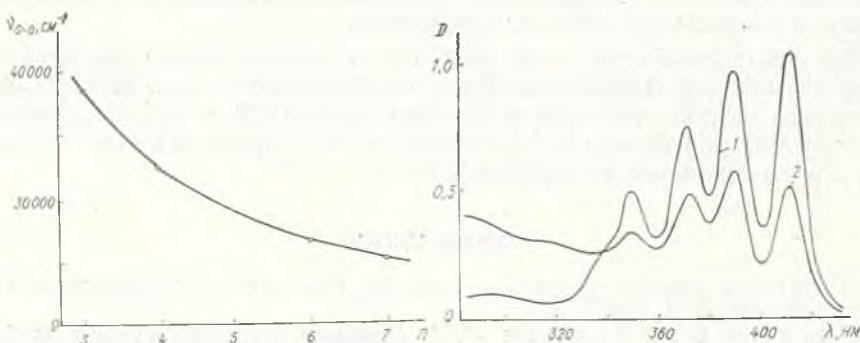


Рис. 1. Зависимость энергии электронного перехода полиеновых антибиотиков от числа сопряженных двойных связей (n)

Рис. 2. Спектры электронного поглощения амфотерицина В до окисления (1) и после него (2)

вых антибиотиков чувствителен к действию внешних факторов таких, как полярность растворителя, присутствие в растворе кислорода и свободных радикалов [7]. При окислении углеводородов, содержащих ненасыщенные связи, образуются гидроперекиси, которые быстро распадаются в физиологической среде, так как энергия разрыва перекисной связи невелика. Продукты распада могут служить эффективными инициаторами цепей окисления липидов [8, 9]. Полиены, помещенные в систему, где протекают свободнорадикальные процессы, подвергаются воздействию свободных радикалов, образующихся в результате распада гидроперекисей.

На примере гептаеновых антибиотиков (ГА) — леворина, амфотерицина В и микогептина видно, что полиены могут служить оптическими зондами поглощения для изучения свободнорадикальных процессов в биосистемах. В работе использованы как модельные системы биомембран — бислоиные липидные липосомы, так и биоструктуры — вирусы гриппа и фибробласты куриных эмбрионов. Фосфолипид яичного желтка получали по методу [10]; способ получения липосом и экспериментальная часть описаны ранее [11, 14].

Молекулы леворина, амфотерицина В, микогептина содержат семь сопряженных двойных связей и обладают характерным для гептаенов спектром электронного поглощения, который расположен в ближней ультрафиолетовой области и имеет четко выраженную колебательную структуру (рис. 2). Абсорбционные характеристики ГА в растворе при комнатной температуре с течением времени изменяются. Оптическая плотность в области поглощения ГА (360—410 нм) снижается, а в области 260—340 нм — увеличивается в результате разрушения гептаеновой системы сопряженных связей при окислении и образования продуктов окисления с числом двойных связей меньше 7. На рис. 2 в качестве примера показано изменение спектра электронного поглощения амфотерицина В в процессе окисления.

Добавление ГА к липосомам вызывает резкое увеличение скорости реакции окисления полиенов. Попадая в липидную фазу, ГА взаимодействуют со свободнорадикальными продуктами, образующимися в реакциях перекисного окисления фосфолипидов. Введение в липосомы холестерина замедляет скорость реакции окисления ГА. Известно [12, 13], что холестерин изменяет структуру бислоиной мембраны, следовательно, модификация структурного состояния бислоиной мембраны холестерина вызывает резкое изменение скорости перекисного окисления фосфолипидов (рис. 3). В липидной матрице клеточных мембран и оболочек

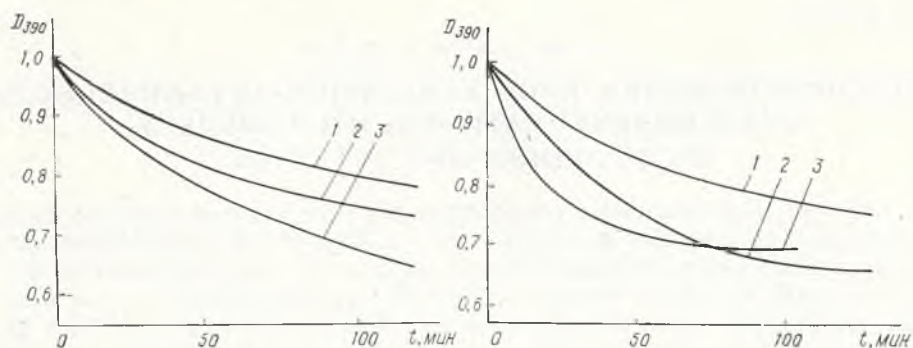


Рис. 3. Кинетические изменения оптической плотности амфотерицина В в растворе ДМФА:Н₂О (1) и при связывании липосомами, содержащими холестерин (2) и без него (3)

Рис. 4. Кинетические изменения оптической плотности амфотерицина В в растворе ДМФА:0,15N NaCl (1), в суспензиях фибробластов куриных эмбрионов (2) и вирусов гриппа (3)

вирусных частиц ГА также подвергаются воздействию свободных радикалов и окисляются [14]. Из рис. 4, на котором приведены кинетические зависимости окисления ГА, полученные для препаратов с одинаковой суммарной площадью поверхности клеток и вирусов в суспензиях, следует, что скорость изменения величины оптической плотности для вирусов выше, чем для клеток, причем скорость окисления гептаенов в обеих суспензиях больше, чем для ГА в растворе. Характер изменения спектров электронного поглощения для липосом, клеток и вирусов аналогичен изменениям поглощения при окислении в растворе.

Таким образом, в растворе и в липидной фазе искусственных и естественных мембран происходит деструкция полиеновых антибиотиков. На примере ГА ясно, что полиены могут служить оптическими зондами для изучения свободнорадикальных процессов, протекающих в мембранах. Кинетические изменения величины оптической плотности полиенов отражают различие скоростей реакции перекисного окисления липидов в мембранах неодинакового происхождения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах.— М., 1972.
2. Владимиров Ю. А., Оленев В. И., Суслова Т. Б., Потапенко А. Я.— Итоги науки и техники. Сер. биофизика, 1975, т. 5.
3. Tappel A. L.— *Federat. Proc.*, 1973, v. 32, p. 1870.
4. Tap В. К., McCay P. B.— *Biol. Chem.*, 1968, v. 243, p. 2288.
5. May H. E., McCay P. B.— *Biol. Chem.*, 1970, v. 245, p. 2295.
6. Sondheimer F., Ben-Ephraim D. A., Wolofsky R.— *J. Amer. Chem. Soc.*, 1961, v. 83, p. 1675.
7. Хмельницкий А. И., Черенкевич С. Н., Шнейдер М. А.— Тез. докладов Всесоюз. симпозиума «Окисление физиологически активных соединений в биологических мембранах». Одесса, 1979, с. 51.
8. Bateman L., Gee G.— *Proc. Roy. Soc.*, 1948, v. 195A, p. 376.
9. Попов Г. А., Тарусов Б. Н.— *Биофизика*, 1963, т. 8, с. 317.
10. Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G. A.— *J. Biol. Chem.*, 1957, v. 226, p. 497.
11. Володько Л. В., Хмельницкий А. И., Черенкевич С. Н.— *ЖПС*, 1979, т. 31, № 1, с. 70.
12. Newman G. C., Huang C.— *Biochemistry*, 1975, v. 14, p. 3363.
13. De Kruijff B., Cullis P. R., Radda G. K.— *Biochem., Biophys. Acta*, 1976, v. 436, p. 729.
14. Судник Ю. М., Хмельницкий А. И., Черенкевич С. Н. и др.— В сб.: Материалы по экспериментальной химиотерапии вирусных инфекций. Итоги и перспективы. Минск, 1979, с. 26.

Поступила в редакцию
11.11.80.

Кафедра биофизики

УДК 53.083.72

А. М. БЕЛЬСКИЙ, М. ПАТЕК

О РАСПРОСТРАНЕНИИ ПРОСТРАНСТВЕННО-ОГРАНИЧЕННОГО КВАЗИМОНОХРОМАТИЧЕСКОГО ИМПУЛЬСА В СВОБОДНОМ ПРОСТРАНСТВЕ

В работе [1] рассмотрено распространение двумерного ограниченного в пространстве и во времени импульса и показано, что ограничение импульса в поперечном направлении приводит к его расплыванию во времени. Однако из общей теории уравнений гиперболического типа известно, что распространение волн в пространствах четного и нечетного чисел измерений имеет различные закономерности [2]. Поэтому остался невыясненным вопрос: связано ли временное расплывание импульсов только с его пространственным ограничением в поперечном направлении или же этот эффект обусловлен двумерным характером поля импульса.

В настоящей работе исследуется распространение трехмерного импульса в свободном пространстве.