

УДК 541.144.8

ФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

А. Я. ПОТАПЕНКО, Д. И. РОЩУПКИН, Е. А. КОГОН, Ю. А. ВЛАДИМИРОВ

ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ У.-Ф. СВЕТА НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕМБРАНЫ

ИЗМЕНЕНИЕ ЭЛЕКТРОПРОВОДНОСТИ БИМОЛЕКУЛЯРНЫХ ФОСФОЛИПИДНЫХ МЕМБРАН

(Представлено академиком Г. М. Франком 12 IV 1971)

В ряде исследований было показано, что под действием у.-ф. облучения в области короче 300 мμ происходит увеличение ионной проницаемости клеточных мембран эритроцитов ⁽¹⁾, дрожжей ⁽²⁾ и др. Для выяснения вопроса о том, могут ли фотохимические реакции в липидах оказывать влияние на проницаемость мембран, в настоящей работе изучали действие у.-ф. света на электропроводность бимолекулярных фосфолипидных мембран (БФМ). Полученные при этом данные сопоставляли с результатами исследования фотоллиза фосфолипидов в мембранообразующем растворе.

Фосфолипиды выделяли из мозга крыс по методу Фолча ⁽³⁾ с дополнительной отмывкой 100% ацетоном и суспендировали в гептане. БМФ формировали по методу Мюллера и др. ⁽⁴⁾ на отверстиях диаметром 1 мм в тефлоновом стаканчике, помещенном в кварцевую кювету. По обе стороны от мембраны находился раствор 0,1 М КСl, 0,01 М трис-HCl (рН 7,2—7,4). На мембрану при помощи двух хлор-серебряных электродов подавали потенциал 50 мВ. Регистрировали падение напряжения на входном сопротивлении усилителя постоянного тока У1-2, соединенном последовательно с БФМ. Облучение производили полным светом ртутно-кварцевой лампы СВД-120А или через светофильтр БС-4 (пропускание длиннее 290—300 мμ). В отсутствие облучения БФМ имели сопротивление порядка 10^8 — 10^9 ом·см и оставались целыми от 0,5 до 3 час. При облучении полным спектром лампы в одних случаях в течение 7 ± 3 мин. не происходило никаких изменений сопротивления, а затем наблюдался внезапный разрыв мембраны или же быстрое (за 1—5 сек.) уменьшение сопротивления, приводившее опять-таки к разрыву (рис. 1, кривые 1, 2). Такой характер кинетики указывает на протекание кооперативных процессов перестройки структуры мембраны под действием у.-ф. света. В других случаях вскоре после включения у.-ф. света наблюдали плавное увеличение электропроводности, продолжавшееся несколько минут и заканчивавшееся также разрывом БФМ (рис. 1, 3). Причины различий в наблюдаемых эффектах требуют дальнейшего выяснения. Изменение сопротивления мембран представляет собой фотохимический процесс: развитие эффекта прекращалось при выключении света. По-видимому, увеличение электропроводности и разрыв БФМ обусловлены фотоокислением липидов, поскольку в атмосфере аргона у.-ф. свет не оказывал никакого влияния на БФМ (рис. 3, 2).

Способность фосфолипидов вступать в реакции фотоокисления была продемонстрирована при измерении спектров поглощения у.-ф. облученного мембранообразующего раствора. В спектре поглощения образцов, облу-

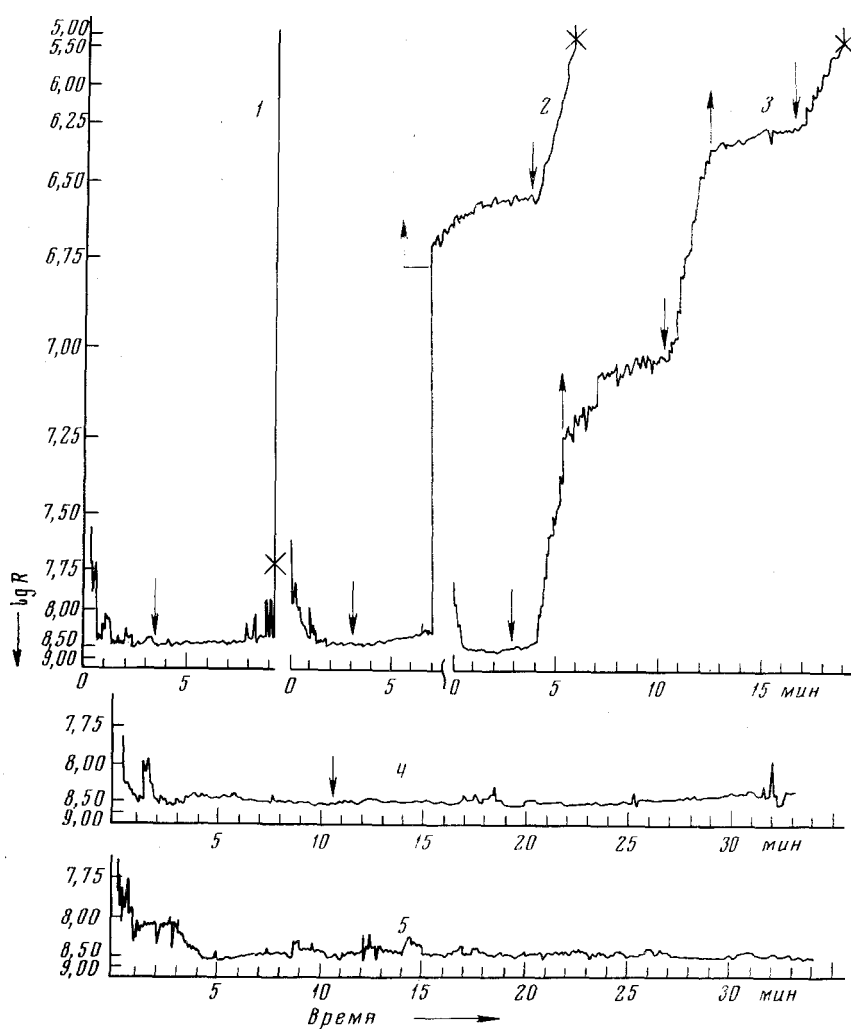


Рис. 1. Действие у.-ф. света на сопротивление БФМ в присутствии кислорода воздуха. 1, 2, 3 — облучение полным спектром; 4 — облучение через БС-4; 5 — контроль; ↓ и ↑ — включение и выключение света соответственно; × — разрыв мембраны. Наблюдаемое сразу после формирования увеличение сопротивления обусловлено почернением БФМ

ченных в присутствии кислорода, обнаруживается максимум около 235 мμ, который, согласно данным, полученным для других липидных систем⁽⁵⁾, принадлежит диеновым конъюгированным структурам, возникающим в результате образования гидроперекисей остатков ненасыщенных жирных кислот. Дальнейшие опыты показали, что кроме гидроперекисей в фосфолипидах образуются соединения с максимумом поглощения ~ 268 мμ, которые, вероятно, представляют собой продукты фотораспада гидроперекисей. На это указывает тот факт, что при облучении полным спектром небольшими дозами (или через БС-4) преимущественно увеличивается максимум при 235 мμ, а затем в ходе облучения происходит увеличение

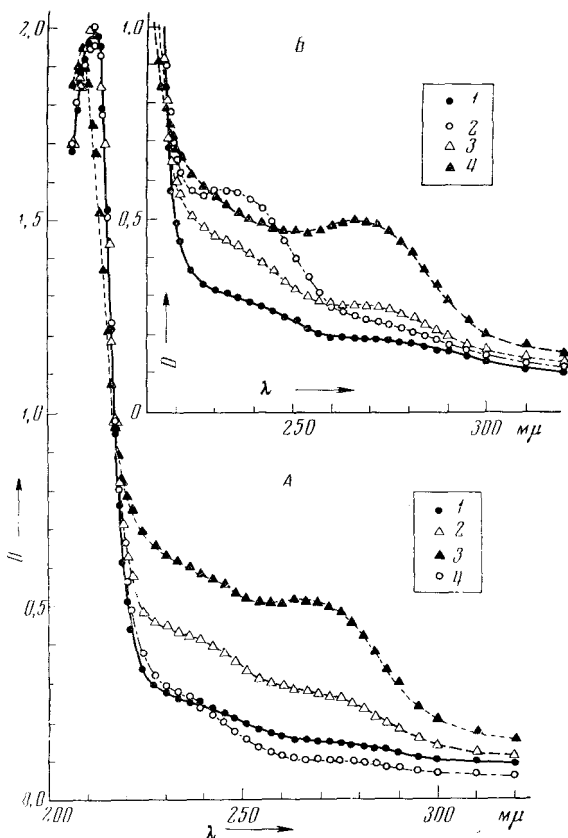


Рис. 2. Изменение спектров поглощения мембранообразующего раствора в результате у.-ф. облучения. А — облучение полным спектром: 1, 2, 3 — на воздухе 0, 1 и 4 мин. соответственно; 4 — облучение в атмосфере аргона 4 мин. Б: 1 — исходный мембранообразующий раствор, 2 — облученный на воздухе 10 мин. через БС-4; 3, 4 — тот же раствор, дополнительно облученный 4 мин. полным спектром в атмосфере аргона и на воздухе соответственно

ные продукты фотоокисления (облучение на воздухе через БС-4), приобретают чувствительность к у.-ф. свету в атмосфере аргона (рис. 3): наблюдается уменьшение электропроводности БФМ, связанное, возможно, с фотораспадом указанных веществ на конечные продукты. Интересно, что указанный эффект проявляется в результате фотопревращений каких-то нестабильных продуктов фотоокисления, так как он значительно уменьшался, если между окончанием предварительного облучения мембранообразующего раствора на воздухе и формированием мембраны в атмосфере аргона проходило более одного часа, хотя за это время происходило лишь незначительное уменьшение поглощения при 235 мμ. Вопрос о природе этих продуктов остается пока неясным. Следует отметить, что активные продукты оказывают действие на электропроводность только в том случае, если они образуются в самой мембране, поскольку исходное сопротивление БМФ не зависело от предварительного облучения мембранообразующего раствора полным спектром лампы.

Таким образом, фотохимические реакции фосфолипидов можно разделить на две последовательные стадии: зависимую от кислорода (фотоокисление) и независимую от кислорода (дальнейшие фотохимические прев-

оптической плотности около 268 мμ и одновременное ослабление поглощения в коротковолновом максимуме. В отличие от процесса образования гидроперекисей, их фотораспад, приводящий к накоплению продуктов, поглощающих при 268 мμ, может протекать и в отсутствие кислорода — в атмосфере аргона (рис. 2). Эти продукты, вероятно, являются осколками жирных кислот с карбонильными и альдегидными группами.

Какие же продукты фотолитиза липидов обуславливают увеличение электропроводности БФМ при у.-ф. облучении? Образование гидроперекисей, вероятно, не является непосредственной причиной этого эффекта. Действительно, при облучении мембран через светофильтр БС-4 не происходило изменений их электропроводности (рис. 1), хотя освещение мембранообразующего раствора через БС-4 приводило к появлению гидроперекисей (рис. 2Б, 2).

Мембраны, которые были сформированы из мембранообразующего раствора, содержащего первич-

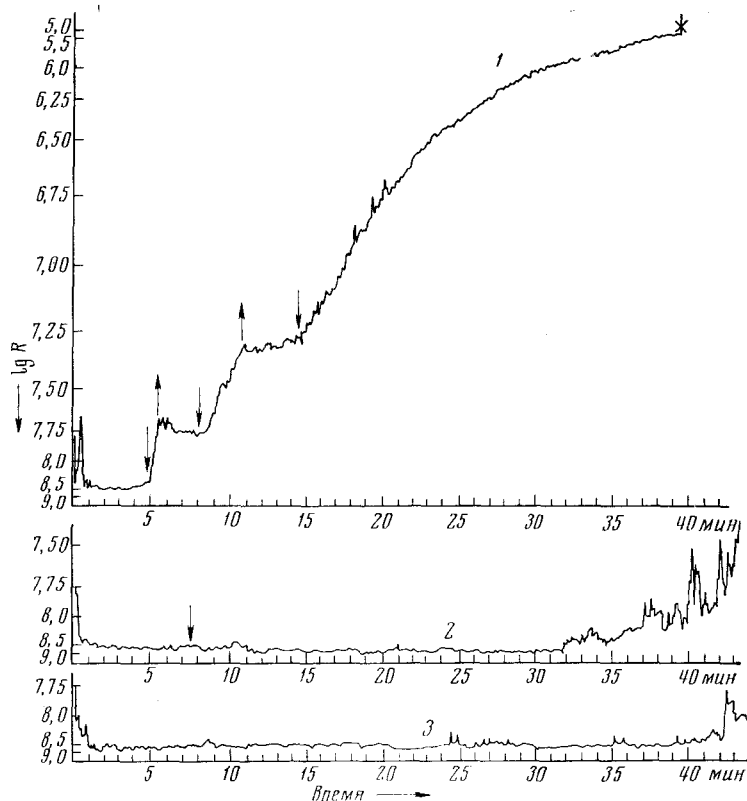


Рис. 3. Действие полного у.-ф. света на сопротивление БФМ в атмосфере аргона. 1 — мембранообразующий раствор предварительно облучен на воздухе через БС-4; 2 — раствор не облучался; 3 — БМФ не облучалась; обозначения те же, что на рис. 1

ращения первичных продуктов). По-видимому, именно последний процесс играет решающую роль в увеличении электропроводности БФМ.

Второй Московский государственный
медицинский институт
им. Н. И. Пирогова

Поступило
12 IV 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ J. S. Cook, H. F. Blum, J. Cell. and Comp. Physiol., 53, № 1, 41 (1959). ² R. T. Sanders, A. C. Giese, J. Gen. Physiol., 42, № 3, 589 (1959). ³ J. Folch, M. Lees, G. H. S. Stanley, J. Biol. Chem., 226, 497 (1957). ⁴ P. Mueller, D. O. Rudin et al., J. Phys. Chem., 67, № 2, 534 (1963). ⁵ W. R. Brode, J. W. Patterson et al., Ind. and Eng. Chem., Anal. Ed., 16, № 1, 77 (1944).