

по сравнению с гаплоидными клетками: искусственно полученные диплоидные клетки, не способные к восстановлению, вдвое более радиочувствительны, чем гаплоидные, поскольку у диплоидных клеток благодаря удвоенному числу хромосом имеется как бы вдвое больше «мишеней» и при одинаковой дозе облучения летальные повреждения возникают вдвое чаще; у гаплоидных клеток, дефектных по репарации, радиочувствительность практически не изменяется по сравнению с клетками «дикого» типа, а у диплоидных сильно возрастает.

Таким образом, наличие радиозащитного эффекта гелий-неоновое-лазерного излучения у диплоидных клеток, способных к репарации лучевых повреждений, и отсутствие таковых у гаплоидных, не способных к репарации, свидетельствуют в пользу представления о связи радиозащитного действия низкоинтенсивного лазерного излучения с активацией репарационных систем клеток.

ЛИТЕРАТУРА

1. Виссариан К. Ш., Симеони Н. В., Авакян Ц. М., Арутюнян А. Г. Радиобиология, 25, 4, 557—560, 1985.
2. Виссариан К. Ш., Симеони Н. В., Авакян Ц. М. Биолог. ж. Армении, 19, 3, 200—203, 1986.
3. Корогодик В. Н., Лю А.-Шенг. Цитология, 1, 4, 379—386, 1959.
4. Корогодик В. Н., Билуши В., Маркова Л. Н., Шедкин Я. Л. Радиобиология, 3, 1, 39—44, 1963.

Поступило 17.V 1988 г

Биол. ж. Армении, № 1, (42), 1989

УДК 578.088:547.963.4

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КОМПЛЕКСОВ МЕДЬ (II)—АЛЬБУМИН С ТИОЦИАНАТОМ НАТРИЯ

Р. А. АСАТУРЯН

Ереванский физический институт ГКАЭ СССР

Методом ЭПР изучалось взаимодействие ранее идентифицированных нами двух типов комплексов медь (II)—альбумин с тиоцианатом натрия при pH 5,5 (тип 1) с гидрофильным и при pH 9,5 (тип 2)—с гидрофобным окружениями. С ростом концентрации SCN^- для комплексов типа 1 наблюдалось большее уменьшение интенсивности и уширение сигналов ЭПР, чем для комплексов типа 2. Постулируется процесс переноса электрона SCN^- на металл в комплексе для комплексов типа 1 в виде: $Cu(II)-BCA+SCN^- \rightarrow Cu(I)-BCA-SCN$. Образовавшиеся реакционно-способные радикалы SCN должны рекомбинировать:

$2SCN \rightarrow (SCN)_2$ или $SCN + SCN^- \rightarrow (SCN)_2^{2-}$ и $SCN + SCN^- \rightarrow (SCN)_2^{2-}$ и $SCN + SCN^- \rightarrow (SCN)_2^{2-}$

Сокращения: BCA—бичий сывороточный альбумин

փոխազդեցությունը 1 տիպի կոմպլեքսը հիդրոֆիլ շրջակայքում ստացվում է $\text{pH} = 5.5$ դեպքում, իսկ 11 տիպի կոմպլեքսը հիդրոֆոբ շրջակայքում՝ $\text{pH} = 9.5$: SCN^- -ի կոնցենտրացիայի աճին զուգընթաց 1 տիպի կոմպլեքսի համար նկատվել է էՊՌ ազդանշանների ինտենսիվության ավելի մեծ նվազում և լայնացում, քան 11 տիպի կոմպլեքսի համար: Հաշվի առնելով պղնձի (II) բարձր էլեկտրաբացասականությունը և արդիացման պոտենցիալի փոքր արժեքը պոտոտիտրովում է SCN^- -ից մետաղի վրա էլեկտրոնի փոխանցման պրոցեսը հիմնականում 1 տիպի կոմպլեքսի համար՝ $\text{Cu (II)} - \text{BCA} - \text{SCN}^- - \text{Cu (I)} - \text{BCA} - \text{SCN}^-$ տեսքով: Առաջացած ռեակցիոնընդունակ SCN ռադիկալները պետք է ռեկոմբինացվեն:

The interaction of our earlier identified two types of copper (II)—albumine complexes with the sodium thiocyanate was studied by the ESR method at $\text{pH} = 5.5$ (type 1) with hydrophilic and at $\text{pH} = 9.5$ (type 2) with hydrophobic environments. For the type 1 complexes the ESR signals became weaker and wider with the growing concentration of SCN^- ions than they did in the case with the type 2 complexes. With regard to the high electronegativity and low oxidizing potential of copper (II), the electron transfer from SCN^- ions to the metal was postulated mainly for complexes of type 1 as $\text{Cu (II)} - \text{BSA} + \text{SCN}^- - \text{Cu (I)} - \text{BSA} - \text{SCN}$. The produced reactive SCN radicals must recombine.

EXAFS-спектроскопия—принцип неопределенности Гейзенберга—электроотрицательность—окислительный потенциал.

Комплексы $\text{Cu(II)}-\text{BCA}$ являются простой и удобной моделью большинства активных центров медьсодержащих ферментов. Результаты, полученные для нее, могут быть полезны при изучении свойств таких ферментов.

Ранее комплексы $\text{Cu(II)}-\text{BCA}$ изучались методами ЯМР [1, 2], ЭПР [2, 5—8] и EXAFS-спектроскопии [8]. Показано, что в зависимости от pH образуется два типа комплексов—один при низких значениях pH (тип 1), другой при $\text{pH} \geq 9$ (тип 2). В комплексах типа 1 медь окружена двумя атомами азота Гис-9 и Гис-18 молекулы BCA и двумя атомами кислорода молекулы воды [1]; комплексы типа 2 состоят из центрального атома меди (II), окруженного четырьмя атомами азота молекулы BCA, находящимися на расстоянии $2.04 \pm 0.01 \text{ \AA}$ от меди (II) [8].

В работе [11] изучено взаимодействие BCA с NaSCN микродилатометрическим методом и выявлены незначительные изменения объема молекулы BCA по сравнению с таковыми в присутствии Cu(II) [1, 12] или додецилсульфата натрия [2, 13].

Целью данной работы являлось изучение методом ЭПР взаимодействия комплексов $\text{Cu(II)}-\text{BCA}$ типов 1 и 2 с тиоцианатом натрия.

Материал и методика эксперимента описаны ранее [2].

Результаты и обсуждение. На рис. 1 представлены спектры ЭПР комплексов $\text{Cu(II)}-\text{BCA}$ типа 1 (спектр а) и типа 2 (спектр б) до и после добавления тиоцианата натрия. Сравнивая спектры а и б можно заметить, что интенсивность спектра б уменьшилась относительно таковой контрольного спектра а. Для спектров в и г такое уменьшение интенсивности очень незначительно. Кроме того, из спектров а и б при pH 5.5 видно как центральная линия поглощения уширяется при

добавлении анионов SCN^- , а из спектров *в* и *г* при pH 9,5 это уширение практически незначительно.

Кривые зависимости относительной интенсивности центральной компоненты спектров ЭПР от концентрации SCN^- при двух значениях pH приведены на рис. 2. Кривая при pH 5,5 (*а*) лежит ниже кривой при pH 9,5 (*б*) и ее интенсивность при 100 мМ концентрации SCN^- в два раза меньше, чем при pH 9,5.

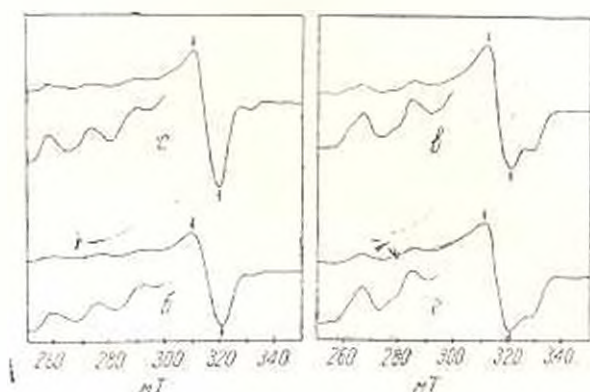


Рис. 1. Спектры ЭПР комплексов Cu(II)-BCA при -190°C и значениях pH 5,5 (*а* и *б*) и 9,5 (*в* и *г*). Спектры *а* и *в* контрольные, *б* и *г*—после добавления 100 мМ SCN^- . Стрелки указывают на точки максимального наклона, между которыми измерялась ширина линии ΔH . Под каждым спектром слева проведена повторная запись компонент СТС, при усилении в 1 раз большим.

Как было ранее нами показано методом ЯМР [1] по уширению компонент спектра от протонов молекул воды в комплексе типа 1 центральный атом металла имеет доступ к растворителю через две связанные с ним молекулы воды. Данные, полученные ранее методами ЭПР и EXAFS спектроскопии для комплексов типа 2, свидетельствуют о связывании Cu(II) с четырьмя атомами азота молекулы BCA [7, 8]. Гидрофильное окружение в комплексе типа 1 при pH 5,5 и малые размеры аниона SCN^- на наш взгляд, позволяют им сблизиться, чего нельзя сказать относительно комплексов типа 2, которые находятся в гидрофобном окружении. Такие стерические условия, по-видимому, создают необходимые предпосылки для контакта между комплексами типа 1 и анионами SCN^- при pH 5,5, в результате которого можно было ожидать связывания комплексов типа 1 с этими анионами, так как координационное число у Cu(II) может быть ≥ 4 .

Для проверки этого предположения были проведены специальные эксперименты при комнатной температуре. Были изучены спектры ЭПР гидратированной меди (II) с концентрацией 5 мМ в растворе с анионами SCN^- с концентрацией 120 мМ. Спектры ЭПР до и после добавления SCN^- не меняли свою форму, и, кроме того, в таком спектре ЭПР не наблюдалась сверхтонкая структура от взаимодействия неспаренного электрона меди (II) со своим ядром со спином $3/2$, как это наблюдалось, к примеру, при взаимодействии меди (II) с гидрокси-

дом изоникотиновой кислоты [10] или меди (II) с триглицидом [9]. Кроме того, прогрев или хранение такого раствора приводят к его обесцвечиванию и исчезновению сигнала ЭПР.

Таким образом, проведенные эксперименты показали, что медь (II) при контакте с анионами SCN^- не связывается с ними в комплекс, т. е. протекает реакция, в результате которой константа диссоциации гораздо больше константы связывания меди (II) с SCN^- .

На рис. 3 показана зависимость ширины линии спектров ЭПР между точками максимального наклона ΔH при pH 5,5 (а) и pH 9,5 (б). Видно, что при pH 5,5 кривая уширения резко возрастает даже при концентрации SCN^- 20 мМ, а затем, при 60 мМ, она начинает вы-

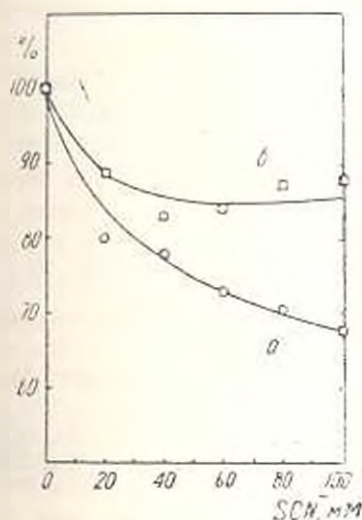


Рис. 2.

Рис. 2. Зависимость относительной интенсивности спектров ЭПР от концентрации анионов SCN^- при значениях pH 5,5 (а) и 9,5 (б).

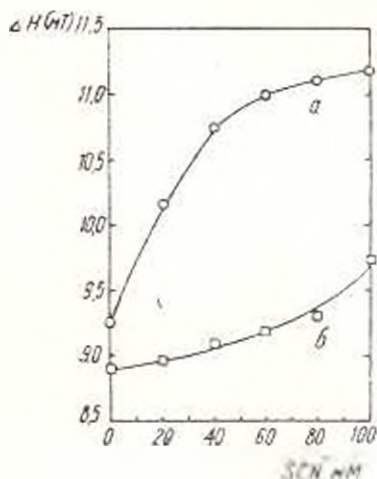


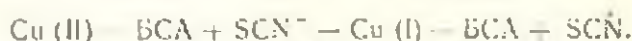
Рис. 3.

Рис. 3. Зависимость ширины линии (ΔH) спектров ЭПР от концентрации анионов SCN^- при значениях pH 5,5 (а) и 9,5 (б).

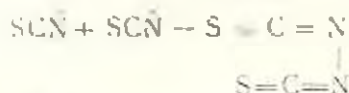
ходить на начальный участок плато; дальнейшее добавление SCN^- не приводит к существенному уширению сигнала ЭПР. При pH 9,5 ширина линии проявляет очень слабую тенденцию к увеличению даже при максимальной концентрации SCN^- . При 100 мМ концентрации SCN^- и pH 5,5 увеличение ширины линии в 2 раза больше, чем при pH 9,5. Такие зависимости уширения сигналов ЭПР при различных значениях pH могут быть обусловлены тем обстоятельством, что в соответствии с принципом неопределенности Гейзенберга $\Delta W \cdot T_1 \geq \hbar/2$, где ΔW — ширина линии спектра ЭПР, T_1 — время спин-решеточной релаксации, уширение должно быть обусловлено укорочением времени T_1 . При pH 5,5 значение T_1 с ростом концентрации SCN^- должно укорачиваться быстрее, чем при pH 9,5, так как при pH 5,5 имеет место большее уширение сигнала, чем при pH 9,5.

Таким образом, существует однозначная корреляция между относительным уменьшением интенсивности сигнала ЭПР и его уширением при pH 5,5 в зависимости от добавления SCN^- . Это позволяет, на наш

взгляд, утверждать, что происходит перенос электрона с SCN^- на металл в основном для комплексов типа I по схеме:



Образовавшиеся радикалы SCN как реакционноспособные должны рекомбинировать. Возможно, что схема их рекомбинации такова:



Данные о высокой электроотрицательности меди (II) ($\chi=2.1$) [3] и малой величине ее окислительного потенциала ($E^\circ=153$ мВ) [4] подтверждают, что процесс переноса электрона должен иметь место.

ЛИТЕРАТУРА

1. Асатуриян Р. А. Биол. ж. Армении 36, 570—574 (1983).
2. Асатуриян Р. А., Лусиарян К. С. Биол. ж. Армении, 39, 208—212, 1986.
3. Бацаков С. С. Экспериментальные основы структурной химии. М., 1986.
4. Коттон Ф., Уилкинсон Д. Основы неорганической химии. М., 1979.
5. Asaturian R. A. Preprint Yerevan Phys. Inst., 716 (31)—84.
6. Asaturian R. A. Preprint Yerevan Phys. Inst., 717 (32)—84.
7. Asaturian R. A. Gen. Physiol. Biophys., 5, 105—118, 1986.
8. Asaturian R. A., Avakian Ts. M., Ershov A. V., Azev A. L., Kozlov M. A. J. Physique, 47, C5—1205—1209, 1986.
9. Falk R.—E., Freeman H. C., Jansson T., Mainstream B. G., Vanngard T. J. Amer. Chem. Soc., 89, 6071—6077, 1967.
10. Hiltnerbrand M., Lohmann W., Penka V., Ehling U. Z. Naturforsch., 30C, 33—36, 1975.
11. Katz S., Crissman J. K., Roberson J. C. J. Biol. Chem., 249, 7892—7895, 1974.
12. Katz S., Shinaberry R. G., Heck E. L., Square W. Biochemistry, 19, 3805—3813, 1980.
13. Katz S., Shaw M. E., Chittag S., Miller J. E. J. Biol. Chem., 247, 5228—5233, 1972.

Поступило 22.VII 1987 г.

Биол. ж. Армении, № 1, (42), 1989

УДК 547.992:547.392.52:547.475.53:577.171.5

ГАНГЛИОЗИД GD_3 —МОДУЛЯТОР БИОСИНТЕЗА ЭИКОЗАНОИДОВ И ИНГИБИТОР ДЕЙСТВИЯ ИОНОФОРА A-23187 В ПОЛИМОРФНОЯДЕРНЫХ ЛЕЙКОЦИТАХ ЧЕЛОВЕКА*

А. Г. ПАНОСЯН, М. Л. БАРИКЯН

Институт медицинской радиологии МЗ АрмССР, Ереван

Показано, что предварительная обработка гранулоцитов ганглиозидом GD_3 резко снижает влияние ионофора A 23187 на эйкозаноидный каскад (высвобождение из клеточных липидов [$1-^{14}\text{C}$] арахидоновой кислоты и ее трансформацию в продукты липоксигеназы) путей окисления 5-HETE, 12-HETE, 15-HETE, 8-HETE, LTB $_4$, 20-OH-LTB $_4$.

* Часть материалов статьи была представлена на Всесоюзной конференции по биохимии липидов, ИБ, Алма-Ата, 1987.

Сокращения: НК—натуральные киллеры, ПМЯЛЧ—полиморфноядерные лейкоциты человека, GD_3 — 11β (NauAc) $_2$ LacCer, GM_3 — 11β NeuAcLacCer, АК—арахидоновая