

УДК 612.397.8.015.3

Р. Г. БОРОЯН, С. Э. АКОПОВ

ФАЗОВЫЕ ПЕРЕХОДЫ В МОДЕЛЬНЫХ МЕМБРАНАХ
ПОД ДЕЙСТВИЕМ ПГЕ₁ И ПРОСТАЦИКЛИНА

С помощью флуоресцентного метода в опытах на модельных мембранах изучено влияние ПГЕ₁ и простациклина (ПГІ₂) на фосфолипидные липосомы. Установлено, что ПГЕ₁ и ПГІ₂ вызывают тушение флуоресценции АНС⁻—зонда, связывающегося в поверхностных слоях мембраны. Вместе с тем эти вещества повышают интенсивность флуоресценции пирена, локализующегося в более глубоких слоях мембраны. При воздействии ПГЕ₁ и ПГІ₂ наблюдается уменьшение эксимеризации пирена в мембране. Предполагается, что ПГЕ₁ и ПГІ₂ обладают способностью, внедряясь в глубокие слои мембраны, повышать жесткость, упорядоченность ее гидрофобной структуры.

Липиды в биологических мембранах выполняют не только барьерную функцию, но и функцию матрицы, обеспечивающей работу ферментных и рецепторных систем. Не исключено, что в основе действия многих биологически активных веществ лежат изменения, вносимые ими в липидную фазу мембран. Поэтому представляет интерес изучить влияние ПГЕ₁ и простациклина (ПГІ₂) на фосфолипидные мембраны.

Материал и методика

Липосомы формировали по методу Доусона [8]. Лецитин получали из яичных желтков [5]. Спектры флуоресценции регистрировали на спектрофлуориметре MPF-2A Hitachi, спектры поглощения—на спектрофотометре VSU-2P: В тех случаях, когда оптическая плотность превышала 0,1, учитывался эффект внутреннего фильтра [6]. Квантовый выход определяли относительным методом [9], используя в качестве стандарта АНС⁻ в этаноле ($q=0,37$) [1]. Коэффициент Хилла определяли путем построения графиков в координатах Аткинсона [1]. Незначительные сдвиги λ_{max} регистрировали двухволновым методом [7]. В работе использованы ПГЕ₁ и ПГІ₂ фирмы Upjohn Co (США).

Результаты и обсуждение

На рис. 1а в координатах Штерна-Фольмера представлены результаты изучения тушащего эффекта ПГЕ₁ и ПГІ₂ на флуоресценцию АНС⁻, связанного с липосомами. Как в случае ПГЕ₁, так и для ПГІ₂ кривые доза—эффект имеют S-образную форму, что свидетельствует о ко-

оперативном характере взаимодействия с мембраной—коэффициент Хилла равен для ПГЕ₁ 1,95, для ПГІ₂—2,3. Тушение флуоресценции АНС⁻ сопровождалось коротковолновым сдвигом λ_{max} , особенно четко выраженным для ПГІ₂. Подобный сдвиг свидетельствует о повышении гидрофобности микроокружения зонда под действием ПГЕ₁ и ПГІ₂.

Анализ данных титрации липосом зондом, представленный в обратных координатах на рис. 1 б, показывает, что ПГЕ₁ и ПГІ₂ уменьшают

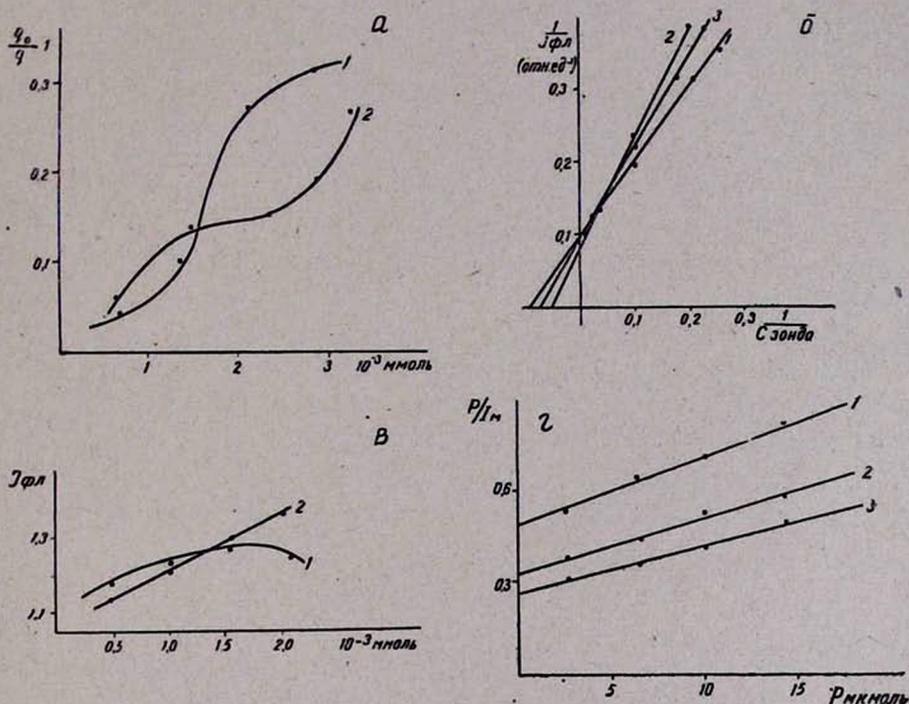


Рис. 1 а. Тушение флуоресценции АНС⁻, связанного с липосомами под воздействием ПГЕ₁ (1) и ПГІ₂ (2).

б. Титрация липосом зондом (АНС⁻). 1—контроль; 2—ПГЕ₁ в концентрации 10^{-3} ммоль; 3—ПГІ₂ в концентрации 10^{-3} ммоль.

в. Изменение интенсивности флуоресценции пирена под воздействием ПГЕ₁ (1) и ПГІ₂ (2).

г. Изменение константы диффузии пирена в мембране. 1—контроль; 2—ПГЕ₁ в концентрации 10^{-3} ммоль; 3—ПГІ₂ в концентрации 10^{-3} ммоль.

константу связи АНС⁻ с мембраной. При этом ПГЕ₁ незначительно увеличивал концентрацию центров связывания зонда на фосфолипидной мембране.

АНС⁻, по современным представлениям, связывается в поверхностных слоях мембраны [2]. Судя по изменениям параметров флуоресценции АНС⁻, ПГЕ₁ и ПГІ₂ вызывают значительные конформационные из-

менения в поверхностных слоях мембраны. Для изучения их влияния на более глубокие, гидрофобные области мембраны нами использован нейтральный зонд пирен, который характеризует подвижность жирнокислотных цепей, расположенных в глубине мембраны [3]. Известно также, что, диффундируя в липидах, молекулы пирена сталкиваются с образованием эксимеров, флуоресцирующих в области 470 нм (мономеры флуоресцируют в области 390 нм). Соотношение интенсивностей флуоресценции при 470 и 390 нм пропорционально скорости диффузии пирена в мембране. Как следует из рис. 1в, ПГЕ₁ и ПГИ₂ вызывают рост интенсивности флуоресценции пирена, связанного с липосомами, что свидетельствует о росте жесткости микроокружения зонда в мембране. При этом отношение J_э:J_м падает на 11 и 19% соответственно. Однако поскольку ПГЕ₁ и ПГИ₂ влияют на квантовый выход пирена, это отношение не может служить параметром, адекватно характеризующим диффузию пирена. Поэтому, исходя из уравнения [4]

$$[4] \quad \frac{P}{J_m} = \frac{1}{\tau_0} + KP,$$

строили графики зависимости P/J_м от P, наклон которых пропорционален константе диффузии пирена в мембране и зависит от времени жизни мономеров и эксимеров зонда. Как следует из рис. 1г, наблюдается снижение константы диффузии пирена в мембране под действием ПГЕ₁ и ПГИ₂. Таким образом, и ПГЕ₁ и ПГИ₂ повышают жесткость, упорядоченность мембраны, внедряясь в ее глубокие слои.

Кафедра фармакологии
Ереванского медицинского института

Поступила 12/III 1979 г.

Բ. Գ. ԲՈՐՈՅԱՆ, Ս. Է. ԱԿՈՊՈՎ

ՖԱԶԱՅԻՆ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ԱՐԶԵՍՏԱԿԱՆ ԹԱՂԱՆԹՆԵՐՈՒՄ ՊԳԷ₁-Ի ԵՎ ՊՐՈՍՏԱՑԻԿԼԻՆԻ ԱԶՂԵՑՈՒԹՅԱՆ ՆԵՐՔՈ

Ֆլուորեսցենտ մեթոդների միջոցով արհեստական թաղանթների վրա (ֆոսֆոլիպիդային լիպոսոմներ) կատարված փորձերում հայտնաբերվել է, որ ՊԳԷ₁ և պրոստացիկլինը մարում են ԱՆՍ-ի ֆլուորեսցենցիան և բարձրացնում են պիրենի ֆլուորեսցենցիայի ինտենսիվությունը:

R. G. BOROYAN, S. E. AKOPOV

PHASE CHANGES IN MODEL MEMBRANAE DURING THE INFLUENCE OF PGE₁ AND PROSTACYCLIN

With the help of fluorescent method in experiments on model membranae (phospholipid liposoms) it was discovered, that PGE₁ and prostacyclin decrease the fluorescence of ANS and elevate fluorescence of pyren.

ЛИТЕРАТУРА

1. Данилов В. С., Шевченко А. С., Ребров В. Г., Орлов С. Н. Биофизика, 1975, 20, стр. 882.
2. Добрецов Г. Е. Биофизика (ВИНИТИ), 4. М., 1975.
3. Добрецов Г. Е., Векшин Н. Л., Владимиров Ю. А. ДАН СССР, 1978, 239, 1241.
4. Добрецов Г. Е., Петров В. А., Борщевская Т. А., Деев А. И., Владимиров Ю. А. Вопр. мед. химии, 1978, 6, стр. 183.
5. Новицкая Г. В. Методическое руководство по тонкослойной хроматографии фосфолипидов. М., 1972.
6. Паркер С. Фотолуминесценция растворов. М., 1972.
7. Туроверов К. К., Шеликов Б. В. Биофизика, 1970, 15, стр. 965.
8. Dawson R. Biochem. J., 88, 414, 1963.
9. Parker C. A., Rees W. T. Analyst, 85, 857, 1960.
10. Singer S. J. Ann. Rev. Biochem., 43, 805, 1974.