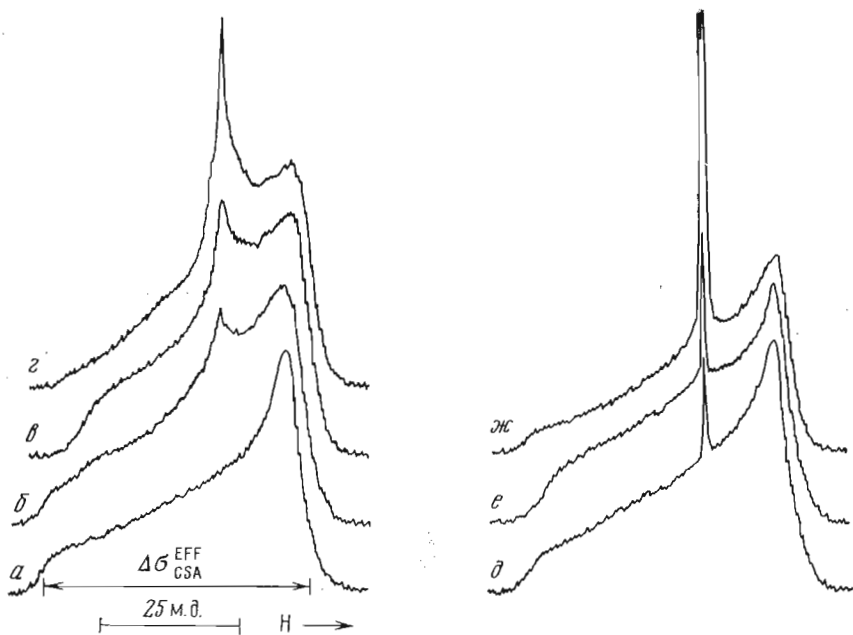




УДК 547.96:541.6

**СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ, ВОЗНИКАЮЩИЕ  
В ФОСФОЛИПИДНОЙ МЕМБРАНЕ ПРИ ПЕРЕКИСНОМ ОКИСЛЕНИИ  
ЛИПИДОВ И ПРИ ДЕЙСТВИИ ЛИЗОФОСФАТИДИЛХОЛИНА***Виктороз А. В., Василенко И. А., Евстигнеева Р. П.**Московский институт тонкой химической технологии им. М. В. Ломоносова*

Недавно было показано, что по эффективной анизотропии химического сдвига  $\Delta\sigma_{\text{CSA}}^{\text{EFF}}$  и форме сигнала  $^{31}\text{P}$ -ЯМР неозвученной водной фосфолипидной дисперсии можно определить тип упаковки фосфолипидов в агрегате [1]. С помощью этого метода нами было изучено влияние процессов перекисного окисления фосфолипидов и лизофосфатидилхолина на структуру фосфатидилхолиновой мембраны. При этом было установлено, что яичный фосфатидилхолин, не содержащий перекисей фосфолипида, при температуре 20–40° С образует ламеллярную структуру (рисунок, *а*), чему соответствует анизотропия химического сдвига  $\Delta\sigma_{\text{CSA}}^{\text{EFF}}$  около 46 м.д. и «плечо» сигнала, расположенное со стороны слабого поля. По мере развития процессов перекисного окисления липида в исходном сигнале  $^{31}\text{P}$ -ЯМР начинает появляться второй максимум в более слабом поле, свидетельствующий о возникновении нового типа упаковки фосфатидилхолина (рисунок, *б* и *в*). Этот тип характеризуется более изотропным движением молекул фосфолипида, чем в ламеллярной и гексагональной  $\text{H}_{11}$ -фазах. Структура этого типа упаковки неясна. Возможно, он отвечает образованию «укороченной» (с длиной цилиндров  $< 500 \text{ \AA}$ ) гексагональной фазы [1]. При этом основная масса молекул ФХ (~94%) сохраняет ламеллярную структуру. Иной вид имеют спектры  $^{31}\text{P}$ -ЯМР неозвученной дисперсии, приготовленной из смеси фосфатидилхолина и лизофосфатидилхолина. Как видно из рисунка, *д* и *е*, в этом случае в спектре появляется узкий минорный сигнал, причем с увеличением концентрации лизосоединения (с 7,5 до 15 мол.%) его интенсивность возрастает. Это говорит о том, что часть молекул фосфолипидов обладает способностью к быстрому изотропному движению, характерному для таких образований, как мицеллы, состоящие из одного бислоя, везикулы, или кубические структуры, в то время как подавляющее большинство ( $> 97\%$ ) молекул фосфолипидов остается в виде многослойной дисперсии. Следует отметить, что в этом случае основная масса молекул лизофосфатидилхолина находится в бислое, что следует из сравнения спектров дисперсии, приготовленной из смеси обоих фосфолипидов (рисунок, *е*), и дисперсии, состоящей из смеси отдельно приготовленных неозвученных фосфатидилхолиновых липосом и мицелл лизофосфатидилхолина (рисунок, *ж*). Узкий минорный сигнал, наблюдаемый в спектрах смеси липидов (рисунок, *д* и *е*), вероятно, происходит от незначительного количества мицелл, существующих наряду с бислоистой струк-



$^{31}\text{P}$ -ЯМР-спектры 15%-ной неозвученной фосфолипидной дисперсии в воде (трис- $\text{HCl}$ -буфер,  $\text{D}_2\text{O}$ ): *a* – фосфатидилхолин,  $A_{233}/A_{215}=0,06$ ; *б* – фосфатидилхолин,  $A_{233}/A_{215}=0,60$ ; *в* – фосфатидилхолин,  $A_{233}/A_{215}=1,10$ ; *г* – фосфатидилхолин – 15% лизофосфатидилхолина,  $A_{233}/A_{215}=1,05$ ; *д* – фосфатидилхолин – 7,5% лизофосфатидилхолина,  $A_{233}/A_{215}=0,05$ ; *е* – фосфатидилхолин – 15% лизофосфатидилхолина,  $A_{233}/A_{215}=0,07$ ; *ж* – смесь раздельно приготовленных неозвученных фосфатидилхолиновых липосом и мицелл лизофосфатидилхолина (15% мол.),  $A_{233}/A_{215}=0,07$

турой и образованных лизофосфатидилхолином. При одновременном действии лизофосфатидилхолина и липидных перекисей было отмечено гораздо более сильное нарушение бислойной структуры мембраны (~13% молекул фосфолипидов имеет другую упаковку), чем при действии каждого из этих соединений в отдельности.

Полученные результаты позволяют предположить, что различный характер структурных изменений, вызываемых в фосфолипидном бислое липидными перекисями и лизофосфатидилхолином, может объяснить их различное влияние на скорость флип-флопа фосфолипидов [2].

### Экспериментальная часть

В работе использовались хроматографически чистые яичный фосфатидилхолин, выделенный по методу [3], и лизофосфатидилхолин, полученный ферментативным расщеплением яичного фосфатидилхолина [4]. Перекисное окисление фосфатидилхолина производилось кислородом воздуха при ультразвуковой обработке водной 15%-ной дисперсии фосфатидилхолина [2] с последующей лиофилизацией образца, растворением липида в хлороформе, упариванием органического растворителя досуха и приготовлением фосфолипидной дисперсии в трис- $\text{HCl}$ -буфере ( $\text{D}_2\text{O}$ , рD 6,8) механическим встряхиванием. По данным ТСХ, при этом содержание лизофосфатидилхолина в образце меньше 2–3%. Степень окисленности препарата определялась по отношению оптических плотностей при 233 и 215 нм ( $A_{233}/A_{215}$ ), характеризующему образование гидроперекисей – первичных продуктов перекисного окисления [5]. При этом даже для наиболее окисленного образца не наблюдалось существенного поглощения при 280 нм, по которому можно судить о накоплении в мембране вторичных

продуктов перекисного окисления [5]. УФ-спектры сняты на спектрофотометре Hitachi EPS-3T. Спектры  $^{31}\text{P}$ -ЯМР сняты на импульсном спектрометре Bruker WP-60 на частоте 24,28 МГц с преобразованием Фурье и широкополосной развязкой по протонам. Температура в датчике 40° С.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Cullis P. R., De Kruijff B. (1978) *Biochim. et biophys. acta*, 507, 207-218.
2. Викторов А. В., Василенко И. А., Барсуков Л. И., Евстигнеева Р. П., Бергelson Л. Д. (1979) *Докл. АН СССР*, 246, 479-482.
3. Dawson R. M. (1965) *Biochem. J.*, 88, 414-420.
4. Moore J. H., Williams D. L. (1964) *Biochim. et biophys. acta*, 84, 41-46.
5. Klein R. A. (1970) *Biochim. et biophys. acta*, 210, 485-489.

Поступило в редакцию  
19.IV.1979

### STRUCTURAL CHANGES IN PHOSPHOLIPID MEMBRANE INDUCED BY LIPID PEROXIDATION AND LYSOPHOSPHATIDYLCHOLINE

VICTOROV A. V., VASILENKO I. A., EVSTIGNEEVA R. P.

*M. V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technology, Moscow*

The influence of peroxidation and lysophosphatidylcholine (lyso-PC) on the structure of unsonicated phosphatidylcholine (PC) aqueous dispersion was studied by  $^{31}\text{P}$  NMR spectroscopy. Lipid peroxidation was shown to disorder the lamellar structure of PC membrane and induce the appearance of a new type of packing in which lipid molecules could move more isotropically than in lamellar and hexagonal  $\text{H}_{11}$  phases, the bulk of PC molecules forming the bilayer structure. This new phase was proposed to be a «shortened» hexagonal one. On the other hand, the presence in PC membrane of 7.5-15% mol. of lyso-PC did not disturb the bilayer. It was suggested that these differences in structural changes caused by peroxidation and lyso-PC might account for their different influence on the flip-flop rate.

---