

Wanda Retelewska, Abdul Kadhum Al-Aboudi

PEROKSYDACJA LIPIDÓW W BŁONACH KOMÓRKOWYCH

Błony komórkowe pełnią różnorodne funkcje w żyjących komórkach. Część lipidów błony odpowiedzialna jest za właściwości takie jak wysoki opór elektryczny, względna nieprzepuszczalność substancji polarnych i regulacja aktywności enzymów związanych z błonami. Funkcja błony jest często zależna również od typu fosfolipidów, a szczególnie od rodzaju kwasów tłuszczowych. Zaburzenia właściwości strukturalnych i funkcjonalnych błon przez czynniki fizyczne i chemiczne wydają się być decydująco ważne dla żywych komórek.

Wiadomo, że w nienasyconych lipidach błonowych promieniowanie powoduje bardzo skuteczny efekt jakim jest peroksydacja [5,22, 32, 33, 35]. Ten szkodliwy wynik jest ogólnie powiązany z autooksydacją lipidów, która może być również zainicjowana przez promieniowanie jonizujące [26]. K o n i n g s i wsp. [12] w 1979 r. opisali tworzenie się sprzężonych dienów w liposomach, jako rezultat działania promieniowania X oraz destrukcję wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFAs<sup>1</sup>) w fosfolipidach. Peroksydacja lipidów błonowych polega na łańcuchowych reakcjach wolnorodnikowych, prowadzących ostatecznie do rozpadu wielonienasyconych łańcuchów kwasów tłuszczowych na kilkuwęglowe fragmenty. Tworzenie się więc sprzężonych dienów można uznać za początkowy etap peroksydacji lipidów przed rozczerpieniem łańcucha [20]. Wykazano zależność pomiędzy tworzeniem się sprzężonych dienów i produktów peroksydacji lipidowej takich jak dialdehyd malonowy (MDA)<sup>2</sup> [4,25]. Wydaje się, że komórka nie dysponuje w zasadzie żadnym układem naprawiającym uszkodzenie wywołane przez peroksydację lipidów jej błon, sugerowano jedynie możliwość reacylacji cząsteczek fosfolipidów, posia-

<sup>1</sup>Polyunsaturated Fatty Acids (PUFAs).

<sup>2</sup>Malondialdehyde (MDA).

dających reszty kwasów tłuszczowych uszkodzone w wyniku tego procesu [29]. Istotny jest więc stopień biernego zabezpieczenia błon przed peroksydacją lipidów, uwarunkowany obecnością hydrofilowych i hydrofobowych antyoksydantów. K o n i n g s i wsp. [12] badali liposomy, składające się z fosfolipidów wyekstrahowanych z błon biologicznych z wątroby myszy w obecności lub nieobecności glutationu i witaminy E, naturalnie występujących w komórce związków mających zdolności antyoksydacyjne. Specjalną uwagę zwrócono na ich ochronne działanie przeciwko destrukcji pewnych kwasów tłuszczowych wywołanej promieniowaniem. Radioochronne działanie grup -SH występujących w glutationie w żywych organizmach świetnie udokumentował B a c q [1] i B r i d g e s [2], natomiast rolę witaminy E jako protektora in vivo w błonach biologicznych wykazano w badaniach z erytrocytami [10,24] oraz obserwując zwiększoną radiowrażliwość komórek Lymphosarcoma, posiadających niedobór witaminy E [15]. Glutation i witaminę E badano ze względu na ich zdolność ochrony wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w fosfolipidach obecnych w błonach biologicznych. Rezultaty eksperymentów K o n i n g s a i wsp. [12] wskazują, że zarówno witamina E, glutation i cysteamina mają odpowiednio ochronne właściwości przeciwko radiacyjnemu uszkodzeniu komórek in vivo. Z przedstawionych przez nich danych wynika, że rozpuszczalna w lipidach witamina E jest bardziej efektywnym protektorem niż rozpuszczalne w wodzie glutation i cysteamina. Te tiolowe związki, jak się przypuszcza, również efektywnie oddziałują z rodnikami tworzącymi się podczas radiolizy wody [11] i być może ich koncentracja blisko miejsca niezabezpieczonych kwasów tłuszczowych w dwuwarstwie lipidowej błon nie jest tak wysoka jak w przypadku witaminy E =  $\alpha$  tocopherolu. Ochronna zdolność witaminy E prawdopodobnie może być przypisywana wysokiemu stopniowi fizycznej interakcji tego czynnika z wielonienasyconymi fosfolipidami [6,17]. Witamina E może mieć podstawowe znaczenie antyoksydacyjne w przypadku nienasyconych kwasów tłuszczowych, podczas gdy czynniki tiolowe mogą brać udział w następnych systemach obrony przed procesem wywołanym oksydacją tych kwasów tłuszczowych. Wydaje się możliwe, że błony żywych komórek są chronione przed wszystkimi rodzajami oksydacyjnych stresów przez skomplikowany, połączony w jedną całość ochronny mechanizm. Wykazano również, że mniejsze, sonikowane liposomy są znacznie bardziej podatne na peroksydację ze względu na mniej upakowane lipidowe molekuly w dwuwarstwie, co ułatwia oddziaływanie wolnych rodników

powstających po napromieniowaniu promieniami X. Wykazano też, że kwasy:  $C_{20:4}$  i  $C_{22:6}$  są najbardziej podatnymi kwasami tłuszczowymi na wszelkie drastyczne zmiany wynikłe w procesie peroksydacji spowodowanej promieniowaniem jonizującym [12]. K o n i n g e i wsp. [12] obserwowali widoczną ochronę tych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych nawet przy względnie małej koncentracji witaminy E, wbudowanej w dwuwarstwę lipidu w liposomach. Witaminę E znajdowano przeważnie w błonach komórkowych i tylko ograniczona jej ilość jest obecna w rozpuszczalnej frakcji [16,31]. Niedobór witaminy E może więc prowadzić do uszkodzenia błony, np. przez wywołaną radiacyjnie peroksydację lipidu. Późniejsza praca K o n i n g e a i D r i j v e r [13] wykazała, że brak witaminy E powoduje wzmożenie peroksydacji lipidowej in vitro. Również myszy, które posiadały deficyt witaminy E na skutek wyeliminowania jej z diety, były bardziej wrażliwe na promieniowanie X niż myszy kontrolne.

Eksperymenty prowadzone przez Y a t v i n a [34] oraz przez R e d p a t h a i P a t t e r s o n a [27] wykazały, że radiowrażliwość kwasów tłuszczowych E. Coli auxotrofa K-1060 była zależna od składu kwasów tłuszczowych w medium wzrostu. Wzrastająca ilość podwójnych wiązań  $-C=C-$  w lipidach błon była zbieżna ze wzrostem radiowrażliwości komórek. Późniejsi autorzy [27] sugerowali, że procesy peroksydacji lipidów są fundamentalnymi reakcjami w przebiegu tego zjawiska. Wcześniejsze doniesienia, dotyczące radioochronnego efektu witaminy E w badaniach in vivo [7,9,10,28] i in vitro [21,24], są jednak kontrowersyjne.

Badanie sztucznych membran preparowanych z fosfolipidów ekstrahowanych z błon komórkowych wskazywały, że lipidy, a szczególnie wielonienasycone kwasy tłuszczowe w fosfolipidach, są łatwo uszkodzane przez promieniowanie w obecności tlenu [12]. Otrzymany wysoki współczynnik dla efektu tlenowego (o.e.r)<sup>3</sup>, szczególnie przy małych szybkościach dawkowania, sugeruje istnienie wolnopostępującego łańcucha reakcji zainicjowanego przez promieniowanie. K o n i n g e i O o s t e r l o o [14] wyraźnie wykazali, że istnieje duże podobieństwo pomiędzy wpływem ozonu i promieniowania X na wywołanie peroksydacji lipidów błonowych z wątroby myszy, które wcześniej inhalowano ozonem. Już bardzo wcześnie S t o c k i n g e r [30] sugerował, że obserwowane efekty ozonu mogą być wywo-

<sup>3</sup>Oxygen enhancement ratio (o.e.r).

lane przez wolne rodniki. Inni autorzy [3,8] donosili również o analogii pomiędzy efektami radiacji i obserwowanymi efektami po działaniu ozonu na komórki. Wolnorodnikowy mechanizm, wyjaśniający toksyczność efektów ozonu *in vivo*, nie jest jednak ogólnie akceptowany [19]. W warunkach eksperymentów *K o n i n g s a* i *O o s t e r l o o* [14] obserwuje się, że działanie tlenu na wątrobę jest bardziej efektywne w przypadku inhalowania myszy ozonem niż po wystawieniu ich na działanie promieniowania X. Po napromienianiu myszy *in vivo* dawką 30-60 Gy nie znaleziono wzrostu dialdehydu malonowego, obserwowano jednak zwiększenie poziomu tego końcowego produktu peroksydacji lipidowej po wystawieniu myszy na działanie ozonu. Próbowano to wytłumaczyć tym, że ilość MDA tworzącego się podczas napromieniania promieniami X ostatecznie jest eliminowana dzięki metabolizującym zdolnościom wątroby. W przypadku długotrwałego przebywania zwierząt w atmosferze ozonu, produkcja MDA jest jednak zbyt wysoka do usunięcia. Ekspozycja zwierząt na ozon eliminuje prawie całkowicie opóźnienie okresu przed wystąpieniem gwałtownej peroksydacji lipidów.

Znaleziono wyraźną korelację pomiędzy spadkiem poziomu antyoksydantów i zwiększeniem zdolności do peroksydacji lipidów. Antyoksydant jako cząsteczka kaskaderowa ulega autooksydacji znacznie szybciej i z większym prawdopodobieństwem niż występujące w jego otoczeniu cząsteczki kwasów tłuszczowych. Z danych wspomnianych powyżej autorów wynika, że znacznie więcej antyoksydanta musi ulec utlenieniu niż ilość utlenionych w tym czasie cząsteczek kwasów tłuszczowych. Te dane sugerują, że niebiałkowe antyoksydanty rozpuszczalne w wodzie służą w komórce jako pierwsza linia ochrony nienasyconych kwasów tłuszczowych w lipidach błon, skierowana przeciwko procesowi oksydacyjnemu spowodowanemu przez działanie promieniowania X oraz ozonu. Uszkodzenia lipidów błonowych zależą nie tylko od dawki promieniowania, ale także bardzo znacznie od szybkości dawkowania. Szybkość dawkowania promieniowania X mniejsza niż 1 Gy na minutę powoduje gwałtowny wzrost oksydacyjnego uszkodzenia w lipidach błonowych [26]. To zjawisko zostało po raz pierwszy doniesione przez *M e a d a* w 1952 r. [18] i zostało ponownie odkryte w latach 70. przez *P e t k a u a* i *C h e l a c k a* [23] w badaniach z modelowymi, stabilizowanymi błonami. Można zaobserwować, że zasięg uszkodzenia radiacyjnego przy określo-

nej dawce promieniowania wzrasta wraz ze spadkiem szybkości dawkowania. R a l e i g h i wsp. [26] próbowali określić warunki, w których efekt szybkości dawkowania mógłby być widoczny w błonach biologicznych. Wiadomo również, że stopień nasycenia fosfolipidów wpływa na konformację białek błonowych. Należy więc przypuszczać, że zarówno lipidy jak i białka odgrywają rolę w określeniu radioczułości błony. Dużo enzymów związanych z błoną posiada radioczułe grupy -SH, zaś aktywność enzymów jest często zależna od lipidów błonowych.

Manuskrypt wpłynął do Redakcji 24 VI 1985

#### LITERATURA

- [1] B a c q Z. M., Chemical Protection Against Ionizing Radiation (Springfield, Illinois: Charles C. Thomas), 1965.
- [2] B r i d g e s B. A., Adv. Radiat. Biol., 19, 651 (1969).
- [3] B r i n k m a n R., L a m b e r t s H. B., Nature, 181, 1201 (1958).
- [4] D a h l e L. K., H i l l E. G., H o l m a n R. T., Archs Biochem. Biophys., 98, 253 (1962).
- [5] D e s a i I. D., S a w a n t P. L., T a p p e l A. L., Biochim. Biophys. Acta, 86, 277 (1964).
- [6] D i p l o c k A. T., L u c y J. A., FEBS Lett., 29, 205 (1973).
- [7] E r s h o f f B. H., S t e e r s C. W., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 104, 274 (1960).
- [8] F e t n e r R. H., Nature, 181, 504 (1958).
- [9] H a l e y T. J., M c C u l l i o h E. F., M c C o r m i c k W. G., Science, 119, 126 (1954).
- [10] H o f f e r A., R o y R. M., Radiat. Res., 61, 439 (1975).
- [11] J a y s o n G. G., O w e n T. C., W i l b r a h a m A. C., J. Chem. Soc. B, 944 1967, cyt. w: K o n i n g s A. W. T., D a m e n J., T r i e l i n g W. B., Int. J. Radiat. Biol., 35, 343 (1979).
- [12] K o n i n g s A. W. T., D a m e n J., T r i e l i n g W. B., Int. J. Radiat. Biol., 35, 343 (1979).
- [13] K o n i n g s A. W. T., D r i j v e r E. B., Radiat. Res., 80, 494 (1979).
- [14] K o n i n g s A. W. T., O o s t e r l o o S., Radiat. Res., 81, 200 (1980).
- [15] K o n i n g s A. W. T., T r i e l i n g W. B., Int. J. Radiat. Biol., 31, 397 (1977).
- [16] L u s s i e r D. M., R o y R. M., Radiat. Res., 70 236 (1977).
- [17] M a g g i o B., D i p l o c k A. T., L u c y J. A., Biochem. J., 161, 111 (1977).
- [18] M e a d J. F., Science, NY., 115, 470 (1952).
- [19] M e n z e l D. B., Free Radicals in Biology (Pryor W.A., Ed.) 2, 181, Academic Press., New York 1976.
- [20] M i l c h R. A., K l a s s e G. A., Nature Lond., 205 1106 (1965).

- [21] Myer s D. K., B i d e R. W., Radiat. Res., 27, 250 (1966).  
 [22] Nakazawa T., Nagatsuka S., Int. J. Radiat. Biol., 38, 537 (1980).  
 [23] Petkøu A., Chelack W. S., Biochim. Biophys. Acta, 433, 445 (1976).  
 [24] Prince E. W., Little J. B., Radiat. Res., 53, 49 (1973).  
 [25] Pryor W. W., Free Radicals in Biology (New York: Academic Press) (1976).  
 [26] Raleigh J. A., Kremers W., Gaboury B., Int. J. Radiat. Biol., 31, 203 (1977).  
 [27] Redpath J. L., Patterson L. K., Radiat., Res., 75, 443 (1978).  
 [28] Sakamoto K., Sakka M., Br. J. Radiol., 46, 538 (1973).  
 [29] Shohet S. B., J. Clin. Invest., 49, 1668 (1970).  
 [30] Stockinger H. E., Arch. Ind. Health, 15, 181 (1957), cyt. [w:] Konings A. W. T., Oosterloo S. K., Radiat. Res., 81, 200 (1980).  
 [31] Taylor S. L., Landen M. P., Tappel A. L., Lipids, 11, 530 (1976).  
 [32] Willis E. D., Biochem. J., 113, 333 (1969).  
 [33] Willis E. D., Wilkison A. E., Int. J. Radiat. Biol., 17, 229 (1970).  
 [34] Yativin M. B., Int. J. Radiat. Biol., 30, 571 (1976).  
 [35] Yukawa O., Nakazawa T., Int. J. Radiat. Biol., 37, 621 (1980).

Wanda Retelewska, Abdul Kadhum Al-Aboudi

#### LIPID PEROXIDATION IN CELL MEMBRANES

##### S u m m a r y

In this article, passive protection of membranes against the peroxidation of unsaturated fatty acids by hydrophilic and hydrophobic antioxidants is reviewed. Also it is presented the protective role of antioxidants. Factors and conditions affecting the process of peroxidation in biological membranes are discussed.

Dr WANDA RETELEWSKA  
 Dr ABDUL K. AL-ABOUDI  
 Zakład Biofizyki  
 Uniwersytetu Łódzkiego  
 ul. Banacha 12/16  
 90-237 Łódź