

Streszczenia komunikatów

Ocena właściwości antyoksydacyjnych w oparciu o turbidymetryczny pomiar wzrostu drożdży

R. Bał, G. Bartosz, T. Biliński

Zakład Biochemii i Biologii Komórki, Wyższa Szkoła Pedagogiczna w Rzeszowie

Mutanty drożdży defektywne w zakresie bariery antyoksydacyjnej wykazują wymagania pokarmowe podczas wzrostu w atmosferze powietrza, jakich nie mają wyjściowe szczepy drożdży. Są one spowodowane stresem oksydacyjnym inaktywującym wrażliwe enzymy odpowiedzialnych szlaków biosyntetycznych. W badaniach użyto szczep wyjściowy Sp4 drożdży *Saccharomyces cerevisiae* o fenotypie MAT α leu1 arg4 i jego mutantu DSCD1-1C (MAT α leu1 arg4 sod1) pozbawionego cytoplazmatycznej dysmutazy ponadtlenkowej (CuZn-SOD) (Biliński *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 1985, 130, 533) wymagającego lizyny i metioniny do wzrostu w atmosferze aerobowej. Wzrost drożdży na pożywkę minimalnej nie zawierającej lizyny ani metioniny lub z dodatkiem jednego bądź obu tych aminokwasów badano w naczyniach Vincenta umożliwiających hodowlę w warunkach dopływu powietrza i intensywnego wytrząsania, a także pomiar turbidancji hodowli. W przeciwieństwie do drożdży szczepu Sp4, mutant DSCD1-1C nie jest zdolny do wzrostu w tych warunkach bez dodatku lizyny i metioniny do pożywki. Dodanie do pożywki askorbinianu przywraca zdolność wzrostu mutantu sod1 w atmosferze powietrza w nieobecności jednego lub obu wymienionych aminokwasów. Analogiczny efekt daje szereg innych badanych antyoksydantów (glutation, kwas moczowy, N-acetylo-L-cysteina) w pożywkę nie zawierającej metioniny. Turbidymetryczny pomiar wzrostu mutantu sod1 w atmosferze aerobowej na pożywkę minimalnej pozbawionej lizyny i/lub metioniny pozwala zatem na identyfikację aktywności antyoksydacyjnej w badanym materiale biologicznym.

Wpływ herbicydów fenoksyoctowych na aktywność Na⁺K⁺ATPazy erytrocytów człowieka

A. Beniak, P. Duchnowicz, M. Koter

Katedra Biofizyki Skażeń Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Herbicydy fenoksyoctowe stosowane są jako rolnicze środki chwastobójcze niszczące rośliny dwuliścienne w uprawach zbożowych, na pastwiskach, trawnikach i w parkach. Związki te należą do III i IV klasy toksyczności. Toksyczność ostrą pochodnych kwasu fenoksyoctowego wyróżnia dawka LD₅₀, która mieści się w granicach 100–1200 mg/kg masy ciała dla różnych

zwierząt doświadczalnych. W związku z silną toksycznością tych związków podjęto próbę określenia ich wpływu na aktywność Na⁺/K⁺ATPazy erytrocytów ludzkich. Erytrocyty inkubowano w temperaturze 37°C przez 1 godzinę z herbicydami fenoksyoctowymi (kw. 2,4-dichlorofenoksyoctowy, kw. 4-chloro-2-metylofenoksyoctowy, kw. 2,4,5-trichlorofenoksyoctowy) oraz ich metabolitami (2,4-dichlorofenol, 2,4,5-trichlorofenol, 2,4-dimetylofenol, 4-chloro-2-metylofenol). Następnie oznaczono aktywność Na⁺/K⁺ATPazy poprzez pomiar uwolnionego ortofosforanu. Oznaczano także ilość grup –SH metodą Ellmana.

Na podstawie uzyskanych wyników zaobserwowano spadek aktywności enzymu po inkubacji erytrocytów z metabolitami herbicydów fenoksyoctowych, natomiast wzrost aktywności nastąpił pod wpływem działania produktów pierwotnych. Wzrost aktywności Na⁺/K⁺ATPazy może być wynikiem odpowiedzi obronnej erytrocytów na działanie związków toksycznych. Zaobserwowano także istotny statystycznie wzrost ilości grup –SH w białkach błonowych pod wpływem działania metabolitów herbicydów fenoksyoctowych. Bardziej toksyczne metabolity powodują znaczne uszkodzenie białek błonowych i spadek aktywności enzymu.

Powyższe wyniki świadczą o tym, iż produkty degradacji herbicydów fenoksyoctowych są bardziej toksyczne od związków podstawowych.

Wpływ jonów Cu⁺² na wiązanie leków znieczulających miejscowo do melaniny

B. Betlej, E. Buszman, D. Wrześniok

Katedra i Zakład Chemii i Analizy Leków,
Śląska Akademia Medyczna, Katowice

Ochronna rola melanin przypisywana jest m.in. ich zdolnościom do wiązania leków wykazujących niepożądane działania toksyczne. W reakcjach takich melanina uniemożliwia lub znacznie ogranicza tym związkom osiągnięcie receptorów komórkowych. Z drugiej strony fakt dużego powinowactwa wielu substancji leczniczych do melaniny wiąże się z ryzykiem reakcji toksycznych, zachodzących podczas długotrwałego stosowania tych leków. Zdolności sorpcyjne biopolimerów melaninowych, w tym ich właściwości jonowymiennie, są powodem wysokiej kumulacji jonów metali w tkankach upigmentowanych organizmu. Uwzględniając zatem ładunek jonu metalu i substancji leczniczej, można przypuszczać, że te same centra aktywne w melaninie są odpowiedzialne za wiązanie obu tych ligandów. Do substancji o dużym powinowactwie do melaniny należą m.in. leki znieczulające miejscowo, w tym prokaina, tetrakaina, bupiwakaina, stosowane w terapii schorzeń okulistycznych. Leki te wykazują szereg działań ubocznych, m. in. zaburzenia procesu widzenia.

Celem przeprowadzonych badań była ocena wpływu jonów Cu^{2+} na zdolność wiązania prokainy, tetrakainy i bupiwakainy do melaniny. Analizie poddano syntetyczną DOPA-melaninę i kompleks melanina- Cu^{2+} zawierający $0.45 \mu\text{mol Cu}^{2+}/\text{mg}$ melaniny oraz roztwory leków o stężeniach od $1 \cdot 10^{-4}$ M do $1 \cdot 10^{-3}$ M. Stwierdzono, że ilości substancji leczniczych związanych z melaniną lub kompleksem melanina- Cu^{2+} wzrasta wraz ze wzrostem stężenia początkowego leku oraz z wydłużeniem czasu inkubacji, osiągając stan równowagi po ok. 24 godz. Analiza wyników przeprowadzona metodą Scatcharda wykazała występowanie dwóch klas niezależnych miejsc wiążących w kompleksach melaniny z prokainą i tetrakainą oraz jednej klasy miejsc wiążących w kompleksach melaniny z bupiwakainą. Obecność jonów Cu^{2+} związanych z melaniną powoduje obniżenie liczby miejsc wiążących w kompleksach melanina-lek.

Badania finansowane przez Śląską Akademię Medyczną (NN-1-128/01)

Wzrost komórek ozimej pszenicy i rzepaku w obecności zearalenonu

J. Biesaga-Koscielniak

Zakład Fizjologii Roślin im. F. Górskiego PAN, Kraków

Zearalenon (ZEN) substancja otrzymana z ekstraktów grzyba *Gibberella zeae* był dotychczas sporadycznie badany jako regulator procesu zakwitania, natomiast nie testowano jego udziału w innych procesach fizjologicznych roślin. Celem badań było określenie działania ZEN w kulturach tkanek kalusowych oraz zawiesiny komórkowej ozimej pszenicy i rzepaku. Eksplantami inicjalnymi były w przypadku pszenicy niedojrzałe zarodki pobierane w 14-16 dniu po zapyleniu. Kalus rzepaku indukowano na fragmentach hypokotyli siewek hodowanych w warunkach *in vitro*. Kultura zawieszinowa komórek pszenicy i rzepaku wyprowadzona została z 3 g rozdrobnionego kalusa, który umieszczono w 60 cm^3 płynnej pożywki MS z $2.0 \text{ mg}(2,4\text{-D}) \text{ dm}^{-3}$ + 2.0 mg ZEN (pszenica) lub z $1.0 \text{ mg}(\text{BAP}) \text{ dm}^{-3}$ + $0.5 \text{ mg}(2,4\text{-D}) \text{ dm}^{-3}$ + 2.0 mg ZEN (rzepak). Efekt działania ZEN porównano z wpływem 2,4-D. Stwierdzono, że ZEN wykazał duże podobieństwo do 2,4-D w działaniu na kultury tkanek pszenicy i rzepaku. ZEN całkowicie zastąpił 2,4-D lub też wzmocnił efekty jego oddziaływania na tkanki w warunkach *in vitro*. ZEN powiększał bardziej niż 2,4-D odsetek kalusów pszenicy zdolnych do regenerowania pędów. Szczególnie zaś efektywnie indukował proces regeneracji pędów z kalusów słabiej zróżnicowanych. Ponadto ZEN umożliwiał przełamanie blokady regeneracji pędów z kalusa rzepaku ozimego odmiany Górczański. Rezultat ten daje nadzieję na efektywne wykorzystanie ZEN jako substancji do regeneracji „opornych” pod tym względem odmian rzepaku.

ZEN stymulował silniej od 2,4-D wzrost zawiesiny komórkowej pszenicy zwiększając przyrost objętości i suchej masy komórek w trakcie hodowli, zapewniając równocześnie istotne powiększenie żywotności komórek. W kulturze zawieszinowej rzepaku, dodatek ZEN do pożywki zawierającej w swoim składzie 2,4-D wywoływał nie tylko powiększenie szybkości przyrostu suchej masy komórek, ale także zwiększenie liczebności żywych komórek w hodowli.

Oddziaływanie zewnętrznych segmentów pręcików izolowanych z oczu krowy z retinalem

B. Bilińska¹, A. Dontsov², L. Krzyżanowski¹,
Z. Zawada¹

¹Zakład Farmacji Fizycznej,
Śląska Akademia Medyczna, Katowice
²Instytut Fizyki Biochemicznej
Rosyjska Akademia Nauk, Moskwa

Celem pracy była analiza produktów inkubowania zewnętrznych segmentów pręcików (ROS) izolowanych z oczu krowy z all-trans retinalem (aldehydem witaminy A). Dużą rolę przypisuje się udziałowi witaminy A w procesie tworzenia lipofuscyny w oku, która gromadzi się w ciągu życia człowieka w komórkach nabłonka barwnikowego siatkówki (RPE) stanowiąc przeszkodę w prawidłowym widzeniu.

Zewnętrzne segmenty pręcików izolowano z oczu krowy zmodyfikowaną metodą wg Smitha i wsp. (*Exp. Eye Res.* 1975, 20, 211-217). Otrzymano dwa preparaty wyjściowe z 31 galek ocznych (S) i 30 galek ocznych (LB). Inkubowanie ROS z retinalem przeprowadzono wg metody opisaną przez Liu i wsp. (*J. Biol. Chem.* 2000, 38, 29354-29360) w 25°C i 37°C .

Widma UV-VIS produktów oddziaływania i ich ekstraktów otrzymywano przy pomocy spektrofotometru UV-VIS Specord (C. Zeiss Jena), a widma emisyjne fluorescencyjne – spektrofluorometru Kontron SFM 25 (Szwajcaria). Chromatografię cienkowarstwową ekstraktów wykonywano na płytach DC Alufolien Kieselgel 60 N^o 5533 (E. Merck) wg Eldred i Katz (*Exp. Eye Res.* 1988, 47, 71-86). W wyniku inkubowania ROS z retinalem powstawał produkt, który po ekstrakcji w widmie UV-VIS wykazuje maksima przy ok. 380 nm i 280 nm, niezależnie od rozpuszczalnika (chloroform, DMSO). Po ekstrakcji chloroformem faza wodna wykazywała w widmie absorpcyjnym pasmo w zakresie 270-280 nm. Produkt reakcji w chloroformie był oczyszczany na kolumnie silica-gel 60, a wyciek z kolumny wykazywał obecność różnych związków, w tym retinalu. Substancja trwale zaadsorbowana na kolumnie zdesorbowana rozpuszczona w metanolu wykazywała dwa główne pasma przy 330 nm i 425 nm. Liu i wsp. wykazali, że widmo absorpcyjne A2-PE w acetonitrylu po rozdziale HPLC wykazuje pasmo 337 nm i

456 nm, przy czym dla tego związku charakterystyczne jest pasmo 337 nm. Analiza widm emisyjnych fluorescencji produktów reakcji obu preparatów z retinalem pokazała, że przy wzbudzeniu 365-370 nm obserwuje się pasma fluorescencji przy ok. 490 nm i 530 nm. Analiza TLC oraz widm fluorescencyjnych sugeruje, że powstaje więcej niż jeden fluorofor.

Zastosowanie metody ultrasonograficznej w oparciu o efekt Dopplera do oceny wybranych parametrów hemodynamicznych w grupie sportowców

A. Bogacz¹, R. Paługniok², A. Stanjek¹,
A. Bijak¹, A. Kochańska-Dziurawicz¹

¹Katedra i Zakład Diagnostyki Izotopowej i Radiofarmaceutyków ŚAM, Sosnowiec
²IV Specjalistyczny Szpital, Bytom

Nieinwazyjną metodą pomiaru parametrów hemodynamicznych serca w czasie ciągłym jest metoda ultrasonograficzna oparta na efekcie Dopplera. Metodę tę zastosowano do badania zmiany tych parametrów pod wpływem intensywnego treningu u 25 zdrowych piłkarzy — juniorów z Klubu Sportowego „Gwarek Zabrze” (średnia wieku $17,04 \pm 0,77$ lat). Test wysiłkowy wykonywano na cykloergometrze o rosnącym obciążeniu, do chwili odmowy jego wykonywania przez zawodnika. Rejestrowano parametry hemodynamiczne: rzut serca (CO) oraz wskaźnik sercowy (CI), przed wykonywanym testem (t_0), 5 minut po (t), oraz 1,5 godziny po wykonaniu testu (t_1) przy użyciu Monitora Rzutu Serca firmy Lawrence Medical System. Grupę 25 zawodników podzielono na: napastników (6), pomocników (11) oraz obrońców (8). Nie stwierdzono statystycznie znaczących różnic w zmianach CO podczas wykonywania testu między tymi podgrupami.

Uzyskane wyniki (Tabela) wykazują znaczny wzrost CI na skutek wysiłku oraz wyraźne jego obniżenie 1,5 godziny po przeprowadzonym teście. W badanej grupie juniorów stwierdzono wzrost CI o około 49%, w pod-

grupie napastników przyrost ten był najmniejszy i wynosił 36%, natomiast w podgrupie obrońców był największy i wynosił 56%. Wykazano statystycznie istotne różnice w wartościach CI pomiędzy podgrupą napastników i obrońców zarówno 5 minut jak i 1,5 godziny po przeprowadzonym teście. Nie stwierdzono zależności pomiędzy CI oraz W .

Z otrzymanych wyników można wyciągnąć wnioski: (1) Wysiłek fizyczny znacząco zmienia wartości CI . (2) W podgrupie napastników stwierdzono najmniejsze wahania CI w trakcie testu, co świadczy o najlepszym przygotowaniu kondycyjnym tych zawodników.

Oznaczanie poziomu tlenu azotu w płynie mózgowo-rdzeniowym metodą spektroskopii elektronowego rezonansu paramagnetycznego

A. Bratasz¹, S. Łukiewicz¹, P. Gałka², I. Gościński²,
M. Krupa²

¹Instytut Biologii Molekularnej, Uniwersytet Jagielloński, Kraków
²Klinika Neurotraumatologii, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

Płyn mózgowo-rdzeniowy (CSF) uzyskiwano przez nakłucie lędźwiowe podczas rutynowych badań przeprowadzanych w celach diagnostycznych lub terapeutycznych. Badania dotyczyły pacjentów z urazami czaszkowo-mózgowymi oraz z guzami mózgu.

Tlenek azotu (NO) oznaczano wykorzystując spektroskopię elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR). Jako pułapkę spinową zastosowano ludzką hemoglobinę liofilizowaną. Półmililitrowe próbki CSF zamrażano w temperaturze ciekłego azotu po dodaniu do nich hemoglobiny oraz środka redukującego (ditiouaninu sodowego). Pomiarów dokonywano przy użyciu spektrometru Bruker ESP 300e w paśmie X, przy mocy mikrofal 20 mW, w temperaturze 77 K. Amplitudę (intensywność) sygnału EPR określano jako wysokość drugiej linii struktury nadsubtelnej tlenu azotu wyrażonej w jednostkach umownych. Jako standardu używano DPPH ($g = 2,003$).

Tabela (Bogacz *et al.*) Wartości CI oraz całkowitej pracy W wykonanej przez zawodników w czasie testu.

	CI [l/min/m ²]			W [kJ]
	(t_0)	(t)	(t_1)	
napastnicy	1.98 ± 0.44	2.70 ± 0.54	1.50 ± 0.51	113 ± 38
pomocnicy	2.29 ± 0.64	3.47 ± 0.93	2.06 ± 0.53	127 ± 23
obrońcy	2.14 ± 0.28	3.34 ± 0.31	2.10 ± 0.36	126 ± 16
wszyscy zawodnicy	2.17 ± 0.50	3.24 ± 0.74	1.94 ± 0.52	123 ± 25

Znacznie wyższy poziom tlenu azotu w płynie mózgowo-rdzeniowym zaobserwowano w przypadku zakażenia bakteryjnego opon mózgowo-rdzeniowych. Dochodziło także do wysokiego nagromadzenia się tej molekuly w CSF u pacjentów z guzem mózgu, u których występował równolegle obrzęk mózgu. Z badań wynika, iż poziom NO w płynie mózgowo-rdzeniowym spada z wiekiem.

Zaobserwowano wyraźną zależność pomiędzy wartością tlenu azotu w CSF a śmiertelnością pacjentów. W przypadku, gdy zanotowano choćby tylko raz bardzo duży poziom NO w płynie mózgowo-rdzeniowym pacjenta, spadła dramatycznie szansa jego przeżycia.

Na podstawie uzyskanych wyników wydaje się, iż ilość NO w płynie mózgowo-rdzeniowym jest dobrym wskaźnikiem prognostycznym w przypadku chorych z urazami czaszkowo-mózgowymi oraz z nowotworami mózgu.

Badania wykonano w ramach grantu KBN nr 6 P05B 152 20.

Charakterystyka cirkumnutacji u *Helianthus annuus* jako rytmu biologicznego nastawianego przez nadrzędne i podrzędne znaczniki czasu

A. Buda, M. Krupa, T. Zawadzki

Institut Biologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej,
Lublin

Cirkumnutacje są helikalnymi ruchami wzrostowymi, które przejawia większość roślin. W prezentowanych badaniach obserwowaliśmy cirkumnutacyjne ruchy wierzchołków hypokotyli słonecznika przy użyciu systemu analizy obrazu. Zamierzaliśmy zweryfikować pierwsze kryterium diagnostyczne, które pozwala uznać dany rytm za endogenne rytm biologiczny, a mianowicie pozostawianie w stałych warunkach z okresem rytmu swobodnie biegnącego (FRR), zbliżonym, ale nie dokładnie równym 24 h. Wykazaliśmy, że w warunkach LD 16/8 rytm cirkumnutacji ma zarówno składową ultradiadną (rytm pojedynczej cirkumnutacji z okresem ok. 2h) jak i dobową (dobowe zmiany intensywności tegoż rytmu). Jednak w warunkach LL nie zaobserwowaliśmy przejścia dobowego rytmu intensywności w cirkadialny rytm swobodnie biegnący. Co więcej, okazało się, że rytm ten uzyskuje charakter infradiadny (sezonowy). Samopodtrzymujące się oscylacje, takie jak cirkumnutacje, są prawdopodobnie wzmacniane przez bodźce grawitropowe. Tak więc założyliśmy, że w warunkach, kiedy zahamowana jest interferencja dobowego fotoperiodu (LL), rytm cirkumnutacji wpasuje się w cykl księżycowy. Warto wspomnieć, że wszystkie badane rośliny wyrażały ten sam lunarny rytm aktywności cirkumnutacji, co znaczy, że szczyty tej aktywności przypadały na te same fazy cyklu księżycowego. Co

więcej, nawet rośliny, które nie kielkowały równocześnie, były w identycznej fazie w odniesieniu do tego cyklu. Wyniki te wskazują, że fluktuacje aktywności cirkumnutacji w LL nie są związane z tempem wzrostu i rozwoju roślin, ale są odpowiedzią na cykl księżycowy. podrzędny „zeitgeber”, czyli znacznik czasu. Rytm ten może być związany z powstawaniem nowych pięter liści i biegunowym uwalnianiem auksyn z zawiązków liściowych. Wymaga to jednak dalszych badań, a w szczególności stwierdzenia, czy same oscylacje auksyn, jako proces o kluczowym znaczeniu w generowaniu cirkumnutacji, są związane z cyklem księżycowym. W prezentowanych badaniach stwierdziliśmy, że w warunkach LL rytm cirkumnutacji nie przechodzi w FRR, lecz w rytm lunarny. W sytuacji braku znacznika nadrzędnego (przemiany światło-ciemność), wykorzystywany jest znacznik podrzędny, czyli fluktuacje grawitacji spowodowane zmianami pozycji Ziemia-Księżyc-Słońce.

Poziom nukleotydów adeninowych w erytrocytach inkubowanych z dimetylo-, dichloro-, i trichlorofenolem

B. Bukowska, W. Duda

Institut Biofizyki, Uniwersytet Łódzki

Efekty powstającego stresu oksydacyjnego można zróżnicować tak, że jeden z nich dotyczy spadku poziomu ATP i jest rezultatem uszkodzeń reszt tiolowych, drugi zaś dotyczy spadku poziomu GSH. Wiadomo, iż grupy tiolowe glutationu reagują z wolnymi rodnikami co powoduje spadek poziomu GSH w komórce i wzrost GSSG.

W pracy stosowano następujące związki: 2,4-dichlorofenol, 2,4,5-trichlorofenol, i 2,4-dimetylofenol (wszystkie o czystości 99%), firmy Dr Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Niemcy).

Poziom nukleotydów adeninowych i ładunek energetyczny w erytrocytach człowieka inkubowanych z 2,4-DCP, 2,4,5-TCP i 2,4-DMP oznaczano metodą Millsa zmodyfikowaną przez Dudę i Leyko (1979).

W erytrocytach inkubowanych z 2,4-DCP, 2,4,5-TCP i 2,4-DMP (100 µg/ml erytrocytów o 100% hematokrycie) przez 1 godzinę, stwierdzono obniżenie poziomu ATP i wzrost poziomu ADP a także AMP. Ww. związki w dawce 100 µg/ml erytrocytów o 100% hematokrycie, obniżały, po 1 godzinnej inkubacji, poziom ładunku energetycznego adenylanów (AEC) w erytrocytach (AEC) o ok. 11%. Stwierdzono że AEC uległo zmniejszeniu o 10,13% w erytrocytach inkubowanych z DCP o 12,66%, dla TCP, a o 14,46% dla DMP.

Uzyskane wyniki świadczą o występowaniu w erytrocytach człowieka stresu oksydacyjnego jako konsekwencji ich oddziaływania z ww. związkami.

**Poziom glutationu całkowitego
i zredukowanego w krwinkach inkubowanych
z herbicydami fenoksyoctowymi
i ich metabolitami**

B. Bukowska, W. Duda, K. Goszczyńska

Instytut Biofizyki, Uniwersytet Łódzki

Podczas stresu oksydacyjnego komórek następuje podwyższenie aktywności peroksydazy glutationowej, spadek glutationu zredukowanego oraz spadek poziomu ATP. Wynikiem stresu oksydacyjnego może być również obniżenie stosunku stężeń GSH/GSSG oraz całkowitego stężenia glutationu w komórkach.

W pracy badano poziom GSH i poziom glutationu całkowitego (GSH + GSSG) w erytrocytach człowieka inkubowanych z herbicydami fenoksyloowymi i ich metabolitami. Stosowano następujące związki: kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy (2,4-D), kwas 2,4,5-trichlorofenoksyoctowy, 2-metylo-4-chlorofenoksyoctowy (MCPA) oraz ich metabolity: 2,4-dichlorofenol (2,4-DCP), 2,4,5-trichlorofenol (2,4,5-TCP), 2,4-dimetylofenol (2,4-DMP). Poziom GSH oznaczano metodą Ellmana, natomiast poziom glutationu całkowitego (GSSG + GSH) metodą Akcrbooma i Siesa. Stwierdzono, iż jednogodzinna inkubacja z ww. związkami powodowała istotny statystycznie w stosunku do kontroli (erytrocyty z PBS) spadek glutationu zredukowanego. Badane herbicydy powodowały zmiany już od stężenia 100 µg/ml MCPA, 2,4,5-T i od 250 µg/ml 2,4-D, natomiast ich metabolity 2,4-DCP, 2,4,5-TCP i 2,4-DMP już od stężenia 10 µg/ml. Najwyższa dawka ww. herbicydów 500 µg/ml powoduje spadek poziomu GSH o ok. 10%, natomiast ich metabolity już w dawce 250 µg/ml zmniejszają poziom GSH o ok. 40%.

Badając poziom glutationu całkowitego nie zaobserwowano zmniejszenia jego poziomu ani w przypadku związków wyjściowych ani metabolitów. Znaczny spadek GSH pod wpływem ww. związków oraz zmniejszający się stosunek stężeń GSH/GSSG świadczy o występowaniu stresu oksydacyjnego w erytrocytach poddanych działaniu herbicydów fenoksyoctowych a zwłaszcza ich metabolitów.

**Wpływ bupiwakainy na powstawanie
wczesnych potencjałów następczych
w zmodyfikowanym modelu Wildersa
aktywności elektrycznej komórek
węzła zatokowo-przedsionkowego serca**

J. Cieniawa, H. Gawda

Zakład Biofizyki, Akademia Medyczna, Lublin

Wczesne potencjały następcze (EAD – early afterdepolarization) są fluktuacjami potencjału błony, które po-

wstają w trakcie fazy repolaryzacji potencjału czynnościowego serca. Są łatwo generowane we włóknach Purkiniego i mogą przyczyniać się do powstawania arytmii serca. Ostatnio Matsuda i Kurata (*Gen. Pharmacol.* 1999, **33**, 115-125) pokazali, że doświadczalnie wywołane wczesne potencjały następcze w komórkach węzła zatokowo-przedsionkowego mogą być również uzyskane w ramach zmodyfikowanego przez nich modelu matematycznego DCMG (*Am. J. Physiol.* 1994, **266**, C832-C852.) opisującego aktywność elektryczną komórek węzła zatokowo-przedsionkowego królika. Z ich zarówno eksperymentalnych i teoretycznych badań wynika, że bupiwakaina, lek znieczulający miejscowo, może powodować arytmie w wyniku generacji wczesnych potencjałów następczych w komórkach węzła zatokowo-przedsionkowego.

W niniejszej pracy podjęto próbę modyfikacji mniej złożonego w porównaniu z DCMG modelu matematycznego Wildersa i wsp. (*Biophys. J.* 1991, **91**, 1202-1216) aktywności elektrycznej komórek węzła zatokowo-przedsionkowego. W tym celu zmodyfikowano formuły opisujące dokomórkowy prąd jonów wapnia płynący przez kanały jonowe typu L (i_{CaL}) oraz odkomórkowy prąd jonów potasu (i_K). Wywołanie EAD w modelu wymagało wydłużenia fazy repolaryzacji potencjału czynnościowego. W związku z tym założono występowanie obok szybkiej również wolnej składowej prądu jonów wapnia płynącego poprzez kanały wapniowe typu L.

Pokazano, że zmodyfikowany model Wildersa również poprawnie odtwarza wywołane przez bupiwakainę wczesne potencjały następcze w komórkach węzła zatokowo-przedsionkowego serca.

**Badanie *in vitro* biofizycznych efektów oddzia-
ływania słabego wolnozmiennego
pola stosowanego w magnetostymulacji**

**D. Duda¹, A. Sieron²,
S. Rzymelka¹**

¹Katedra i Zakład Biofizyki Lekarskiej,
Śląska Akademia Medyczna, Katowice

²Katedra i Oddział Kliniczny Chorób Wewnętrznych
i Medycyny Fizykalnej,
Śląska Akademia Medyczna, Katowice

W ostatnich latach nasiliło się medyczne stosowanie pól magnetycznych w celach diagnostycznych i terapeutycznych. Interesującym problemem jest wpływ pola magnetycznego na reakcje biochemiczne z udziałem cząsteczek wykazujących paramagnetyczne własności.

Zbadano wpływ słabego (270 µT i 100 µT) pola wolnozmiennego stosowanego w magnetostymulacji (aparatus „Viofor JPS”) na zachowanie się aktywności dysmutazy nadadtlenkowej (SOD) w krwinkach czer-

wonych oraz aktywności ceruloplazminy, pH i przewodności surowicy krwi ludzkiej.

Do oznaczenia aktywności dysmutazy ponadtlenkowej w krwinkach czerwonych użyto zestaw odczynników RANDSOD. Aktywność ceruloplazminy w surowicy krwi oznaczono metodą kolorymetryczną. Pomiar przewodności i pH w wodnych roztworach surowicy krwi zmierzono metodami elektrochemicznymi.

Po ekspozycji na pole magnetyczne surowicy krwi wartości pH i przewodności właściwej wodnych roztworów surowicy nie różniły się istotnie od wartości tych wielkości dla próbek nie eksponowanych.

W próbkach krwinek czerwonych otrzymano zmniejszoną aktywność enzymu SOD po ekspozycji krwi pełnej na pole magnetostymulacyjne w porównaniu z próbkami krwi nie poddanych wpływowi pola. Różnice te były statystycznie istotne. Aktywności enzymu SOD w próbkach poddanych działaniu pola o dwu różnych wartościach szczytowych 270 μ T oraz 100 μ T nie różniły się istotnie między sobą. W próbkach eksponowanych na pole magnetyczne zaobserwowano wzrost aktywności ceruloplazminy w surowicy krwi, ze statystyczną znamiennością $p < 0.05$, w porównaniu z wynikami grupy kontrolnej.

Uzyskane wyniki wskazują, że zastosowane pole magnetostymulacyjne może wpływać na aktywność badanych enzymów.

Ultraślaba luminescencja a konsumpcja tlenu w warunkach ekspozycji komórek *Nitellopsis obtusa* na działanie kwasu askorbinowego

A. Dudziak, A. Jaśkowska, R. Bore, E. Śpiewła

Institut Fizyki, Politechnika Lubelska

W metabolizmie komórkowym konsumpcja tlenu jest ważnym parametrem, tak więc monitorowanie środowiska, gdy mamy do czynienia tylko z procesem oddychania wydaje się być celowe. W naszych pomiarach ultraślabej luminescencji (UL) z komórek glonów *Characeae* zaadaptowanych do ciemności proces fotosyntezy całkowicie ustaje. Taka sytuacja nie powinna być jednak szkodliwa dla glonów, gdyż w środowisku naturalnym przebywają one kilka metrów pod wodą, gdzie dostęp światła jest ograniczony.

Przeprowadzone badania ultraślabej emisji z komórek *Nitellopsis Obtusa* obejmują sytuację kontrolną oraz stan po ekspozycji próbek na działanie kwasu askorbinowego (AsA), a także pomiary ODR (oxygen diffusion rate) dla tych próbek. W badaniach kinetyki UL wyraźnie zaznaczają się dwie fazy emisji: faza wzrostu (tym bardziej widoczna im wyższe jest stężenie AsA), oraz faza zaniku (tym szybsza im stężenie antyoksydanta jest wyższe). Analizy kinetyki zaniku wskazują, że za ultraślaba emisję po podaniu egzogennie kwasu askorbinowego do komórek najprawdopodobniej odpo-

wiedzialne są dwa procesy. Dane uzyskane dla poszczególnych struktur i frakcji komórkowych wydają się sugerować, iż jeden z procesów ma miejsce w błonach komórkowych, drugi zaś w cytoplazmie — prawdopodobnie na rybosomach (Jaśkowska *et al.*, *Luminoscience* 2001, 16, 51-56). Badania spektralne dla tych emisji uwiadcniają wzrost natężenia w obszarze widma: 450-610 nm, co można odnieść do pasm fluorescencyjnych przenośników elektronowych w łańcuchu oddechowym. Wyniki te korelują ze wzmożonym oddychaniem, co wynika z pomiarów ODR zawartości tlenu w środowisku glonów zaadaptowanych do ciemności i po ich ekspozycji na działanie AsA. Wpływ kwasu askorbinowego na wartość parametru ODR jest podobny dla roślin „na świetle” i w ciemności przede wszystkim w tym, że wartość tego parametru stabilizuje się po około 0,5 h. Wyniki te dobrze korelują z pomiarami natężenia UL, które po tym czasie osiągają również pewną ustaloną wartość.

Wpływ procesu sieciowania za pomocą aldehydu glutarowego na inkorporację znacznika spinowego do tkanki kolagenowej

L. J. Dul, B. Cwalina

Katedra i Zakład Biofizyki, Śląska Akademia Medyczna, Sosnowiec

Wykorzystywane w transplantologii tkanki kolagenowe są modyfikowane w celu polepszenia lub zachowania ich właściwości oraz przyswajalności przez organizm biocy. Modyfikacja ta jest realizowana głównie przez tzw. sieciowanie (ang. cross-linking). Ze względu na specyficzne właściwości kolagenu, w tym przewagę form dipolowych w stosunku do ilości jego form nie naładowanych w naturalnym stanie izoelektrycznym, a także zjawisko piezoelektryczności oraz udział w procesie sieciowania cząsteczek wody tworzącej warstwę spolaryzowaną na powierzchni fibryli można oczekiwać, że modyfikacja tkanek kolagenowych będzie wpływać na rozkład ładunku elektrycznego na ich powierzchni. W niniejszej pracy zastosowano metodę znaczników spinowych (ZS) w spektrometrii elektronowego rezonansu paramagnetycznego do badania wpływu sieciowania za pomocą aldehydu glutarowego (GA) na zdolność inkorporacji znacznika spinowego izotopu cyjaniano-Tempo (ITCTO) do tkanki osierdzia świni. Tkanek inkubowano w środowisku GA o stężeniach: 0,05%, 0,08% i 0,1% w czasie 0,5 h, 1,0 h, 1,5 h, 2,0 h, 2,5 h i 3,0 h, a następnie umieszczano w roztworze ZS. Analiza efektu inkorporacji ITCTO do tkanki wykazała zależność od czasu inkubacji z GA, a także od stężenia czynnika sieciującego. Po 0,5 h inkubacji przy stężeniu 0,05% GA stwierdzono istotny wzrost inkorporacji ZS w stosunku do kontroli (bez GA). Wydłużenie czasu nie powodowało wzrostu efektu inkorporacji w porównaniu

do kontroli. Także w przypadku stężenia 0,08% GA, 0,5 h inkubacja z czynnikiem sieciującym powodowała silny wzrost inkorporacji izotocyjaniano-Tempo. W przeciwieństwie do niższego stężenia, efekty zwiększenia inkorporacji znacznika spinowego do tkanki obserwowano także dla czasów 2,0 h i 3,0 h, jednak były one znacznie słabsze, niż po 0,5 h. Gdy zastosowano stężenie 0,1% GA, wzrost inkorporacji ZS zaobserwowano także już po 0,5 h. Wydłużenie czasu inkubacji do 1,5 h i 2,5 h spowodowało dalszy wzrost efektu inkorporacji ITCTO do tkanki. Zaobserwowane zależności prawdopodobnie można wiązać z wpływem sieciowania na rozkład ładunku elektrycznego na powierzchni włókien kolagenowych.

Cechy strukturalne nowych związków fosforoorganicznych a ich potencjalna aktywność biologiczna

A. Dziamska, H. Kleszczyńska, J. Sarapuk

Katedra Fizyki i Biofizyki, Akademia Rolnicza, Wrocław

Zbadano aktywność hemolityczną oraz wpływ na hemolizę błon erytrocytów (RBC) i stabilność modelowych błon lipidowych (BLM) szeregu nowych acyklicznych związków fosforoorganicznych zsyntetyzowanych z myślą o ich zastosowaniu jako pestycydy. Badania BLM miały na celu określenie stężeń związków (CC) powodujących niszczenie błon w ustalonym arbitralnie czasie (3 min). Stężenia te, nazwane krytycznymi, odpowiadają jakościowo stężeniom powodującym 100% hemolizę (C_{100}). Zgodnie z oczekiwaniami stwierdzono dobrą korelację między CC a C_{100} .

Aminofosfoniany różniły się podstawnikami na atomach węgla, azotu i fosforu. Dobór modeli błon komórkowych uzasadniają wcześniej wykonane badania szeregu związków biologicznie aktywnych, w których stwierdzono bardzo dobrą zgodność wyników uzyskanych dla obu użytych błon (Sarapuk *et al.*, *Cell. Mol. Biol. Lett.* 2000, 5, 349-356).

Stwierdzono, że efektywność działania badanych aminofosfonianów ściśle wiązała się z możliwością ich inkorporacji w strukturę błon modelowych, zależną z kolei od rodzaju i kombinacji podstawników w poszczególnych związkach. I tak, najaktywniejszymi związkami były posiadające podstawnik izo-propylowy na atomie fosforu, długi łańcuch węglowodorowy na atomie azotu lub obie te cechy jednocześnie.

Otrzymane wyniki upoważniają do stwierdzenia, że dobór właściwych podstawników umożliwi zastosowanie aminofosfonianów w charakterze herbicydów. Stwierdzenie to jest oparte na wynikach wieloletnich badań, które wykazały przydatność przeprowadzonych testów (Kleszczyńska *et al.*, *Stud. Biophys.* 1986, 116, 115-122; Sarapuk *et al.*, *Stud. Biophys.* 1986, 113, 55-60).

Badania finansowane z grantu KBN nr 6 P04G 050 17.

Oddziaływanie melaniny z nadtlendioazotynem: badania EPR

A. Dzierżęga-Lęcznar, K. Stępień

Katedra Biologii Molekularnej, Biochemii i Biofarmacji,
Śląska Akademia Medyczna, Sosnowiec

Doniesienia ostatnich lat wskazują na istotny związek postępującej degeneracji neuronów szlaku nigrostriatalnego mózgu człowieka (choroba Parkinsona) z cytotoksycznością nadtlendioazotynu (ONOO⁻/ONOOH), powstającego w reakcji tlenu azotu z anionorodnikiem ponadtlenkowym. Wydaje się, że naturalnym czynnikiem chroniącym neurony dopaminergiczne przed skutkami aktywności nadtlendioazotynu może być zawarty w cytoplazmie tych komórek pigment – neuromelanina. W badaniach *in vitro* wykazaliśmy niedawno, że syntetyczne modele neuromelaniny efektywnie hamują zależne od nadtlendioazotynu reakcje utleniania i nitrowania.

Celem prezentowanej pracy było zbadanie techniką EPR efektów oddziaływania modelowej neuromelaniny z nadtlendioazotynem oraz adduktem nadtlendioazotyn-CO₂. Modelową neuromelaninę otrzymaną w wyniku autooksydacji dopaminy (DA-melanina) inkubowano z nadtlendioazotynem (0, 1, 5 i 10 mM) w obecności i nieobecności NaHCO₃ (25 mM) w 0,2 M buforze fosforanowym, którego pH zmieniano w zakresie 4-9. Widma EPR DA-melaniny rejestrowano w pasmie X (9,3 GHz: spektrometr SE(X)2542, Radiopan) stosując częstotliwość modulacji pola magnetycznego 100 kHz. Dla badanych próbek wyznaczono koncentrację centrów paramagnetycznych, współczynnik rozszczepienia spektroskopowego *g* i szerokość linii EPR. Określono także zależność parametrów widm EPR DA-melaniny od zastosowanej mocy promieniowania mikrofalowego. Stwierdzono, że — niezależnie od pH środowiska inkubacyjnego — ekspozycja na wzrastające stężenia nadtlendioazotynu powodowała stopniowe i znaczące obniżenie koncentracji wolnych rodników typu o-senichinonowego w melaninie. Przy wyższych stężeniach nadtlendioazotynu obserwowano ponadto nieznaczne zwężenie linii EPR oraz obniżenie wartości mocy promieniowania mikrofalowego, przy której następowało nasycenie sygnałów EPR DA-melaniny.

Uzyskane wyniki sugerują, że oddziaływanie z nadtlendioazotynem powoduje rozległe, oksydacyjne modyfikacje struktury modelowej neuromelaniny. W przypadku naturalnego pigmentu takie degradacyjne zmiany mogą prowadzić do utraty jego fizjologicznej aktywności.

Oznaczanie zdolności antyoksydacyjnej osocza krwi u pacjentów z niewydolnością układu krążenia

D. Ertel¹, M. Pirek¹, K. Gwozdziński², D. Nowak³, J. Kozłowski⁴, M. Kazmierczak⁴, G. Bartosz²

¹Institut Fizyki, Politechnika Łódzka

²Katedra Biofizyki Molekularnej, Uniwersytet Łódzki

³Institutu Fizjologii i Biochemii Akademia Medyczna, Łódź

⁴Państwowy Szpital Kliniczny nr 1, Akademia Medyczna, Łódź

W pracy sprawdzano przydatność metod pomiarowych opisanych w publikacjach (Valkonen & Kuusi, *J. Lipid Res.* 1997, 38, 823-833; Cervato *et al.*, *Clin. Biochem.* 1999, 32, 171-177) do pomiaru zdolności antyoksydacyjnej osocza krwi (TRAP) jak również do pomiaru podatności lipidów osocza na utlenianie.

Zdolność antyoksydacyjna osocza jest miarą całkowitej zawartości antyoksydantów w osoczu, istotnej w obronie przed stresem oksydacyjnym prowadzącym m.in. do schorzeń układu krążenia. Powiązanie zmian tego parametru z ogólnym obrazem krwi pacjentów cierpiących na niewydolność układu krążenia stanowi cel prezentowanej pracy.

Przy wyborze metod badawczych kierowano się następującymi względami: (1) Prostą, tanią i szybką procedurą pomiarową, możliwą do wykonania w dowolnym laboratorium wyposażonym we fluorometr. (2) Obszernym opisem zbliżonych metod pomiarowych, który umożliwi porównanie otrzymanych wyników z badaniami publikowanymi w piśmiennictwie biomedycznym.

Osocze kontrolne pochodziło od niepalących wolontariuszy z przedziału wiekowego 21-30 lat, nie pobierających antyoksydantów, bez schorzeń przewlekłych (leczonych lub nieleczonych), i stanów zapalnych dowolnego pochodzenia. Próbkę krwi pacjentów pobierane były w dniu przyjęcia na OINK PSK nr I AM w Łodzi. Pomiary wykonywane były w ciągu czterech godzin od momentu pobrania; w tym czasie osocze przechowywane było w lodówce w temperaturze 0-4°C. W dniu wykonywania oznaczeń przeprowadzano również rutynowe badania biochemiczne krwi pacjentów.

W przypadku obydwu metod dobrane zostały właściwe dla wykonywanych oznaczeń parametry tj. stężenia, objętości i czasy pomiaru próbek osocza kontrolnego i osocza pacjentów. Parametrem mierzonym był czas indukcji (lag-time).

Z przeprowadzonych pomiarów wynika: (1) W przypadku oznaczania TRAP czas indukcji osocza pacjentów jest o 33% krótszy w porównaniu z osoczem kontrolnym (osocza kontrolne – 22,8 ± 3,2 min., osocza badane – 15,1 ± 2,9 min.); (2) W przypadku oznaczania podatności lipidów osocza na utlenianie czas indukcji osocza pacjentów jest o 45% krótszy w porównaniu z osoczem kontrolnym (osocza kontrolne – 136,1 ± 13,5 min., osocza badane – 75,5 ± 12,7 min.).

Wpływ kinetyny na potencjał zeta komórek kwiatostanów pszenicy w kulturach *in vitro*

M. Filek¹, M. Zembala², M. Szechyńska¹

¹Zakład Fizjologii Roślin PAN, Kraków.

²Zakład Fizykochemii Powierzchni PAN, Kraków

Pomiary potencjału elektrokinetycznego (zeta) komórek roślinnych zostały dotąd przeprowadzone jedynie dla wybranych gatunków (głównie jęczmień, kukurydza, tytoń), z uwagi na konieczność izolacji protoplastów. Rozwój hodowli *in vitro*, a szczególnie zawiesin, w których komórki charakteryzują się stosunkowo cienką ścianą, stwarza możliwość wykonania pomiarów bez trawienia enzymatycznego ściany komórkowej. Celem przeprowadzonych eksperymentów było porównanie zmian potencjału zeta wywołanych obecnością kinetyny (związku o charakterze hormonu roślinnego) u protoplastów ze zmianami występującymi w komórkach zawiesin, a także liposomach — modelowych błonach utworzonych na bazie fosfolipidów. Protoplasty oraz fosfolipidy izolowano z zawiesin komórek uzyskanych z kwiatostanów pszenicy. Pomiary potencjału zeta wykonano aparatem Zeta PLUS (f-my Brookharen) wyposażonym w komputerową rejestrację danych.

Komórki zawiesin i protoplasty uzyskane z tych zawiesin charakteryzują się zbliżonymi wartościami potencjału zeta (około -25 mV). Liposomy utworzone z fosfolipidów ekstrahowanych z protoplastów wykazują potencjały zeta około -32 mV. Reakcja kinetyny z błoną komórkową powoduje wzrost potencjału zeta zarówno komórek suspensji jak i protoplastów oraz liposomów. W komórkach suspensji bezpośrednio poddanych działaniu kinetyny następuje zmiana potencjału zeta już od najniższych stosowanych stężeń, podczas gdy inkubowane przez 24 h. w roztworach o różnych koncentracjach kinetyny, reagują podobnie jak protoplasty i liposomy, tj. dopiero przy stężeniach powyżej 15 mg/dm³. Z badań porównawczych przeprowadzonych w modelowych układach (lateks) wynika, że kinetyna przejawia słabe własności adsorbcyjne. Podobnie jak w układach biologicznych następuje wzrost potencjału cząstek lateksu.

Badania finansowane z grantu KBN Nr 5 P06A 010 18

Walinomycyna w obecności potasu wzmacnia protonoforetyczne działanie kwasów tłuszczowych

A. Fogt

Katedra Fizyki i Biofizyki, Akademia Rolnicza, Wrocław

Walinomycyna jest szeroko stosowanym w badaniach transportu membranowego, efektywnym przenośnikiem kationów potasowych. W ostatnich dziesięciu latach

wielokrotnie wskazywano na możliwość tworzenia nietrwałych kompleksów walinomycyny z innymi jonoforami, w pierwszym rzędzie jonoforami. Postulowano również możliwość tworzenia się — w obecności potasu — agregatów walinomycyny z anionowymi formami jonoforów. Jako, że te ostatnie mają — podobnie jak wolne kwasy tłuszczowe (FFA) — charakter słabych kwasów, uzasadnione wydawało się przebadanie jak obecność wolnych kwasów tłuszczowych i walinomycyny wpływa na transport protonów.

Przeprowadzono pomiary przewodności elektrycznej bimolekularnych błon lipidowych o zwiększonej zawartości kwasów tłuszczowych (od oktanowego do oktaledenowego) bez i w obecności walinomycyny i jonów potasu. Elektroneutralną składową prądu protonowego szacowano obserwując szybkość zakwaszania środowiska w niebuforowanej komorze po stronie *trans* błony. Potencjał na błonie mógł być regulowany poprzez przykładanie napięcia ze źródła zewnętrznego; w szczególności mógł być sprowadzany do zera. Dodanie walinomycyny w obecności K^+ powodowało wzrost przepuszczalności błon dla protonów.

Wyniki doświadczeń porównano z dwoma modelami:

1. Traktującym transport H^+ i K^+ jako dwa osobne symporty. W modelu tym czynnikiem ograniczającym szybkość transportu H^+ jest recyrkulacja zjonizowanych form kwasów tłuszczowych.
2. Traktującym transport H^+ i K^+ jako antyport. Tutaj główną rolę odgrywa tworzenie kompleksów Val-K⁺FFA⁻, które pośredniczą w recyrkulacji FFA⁻ przez błonę.

Wyniki sugerują, iż kompleksy Val-K⁺ mogą wiązać się nietrwale z anionowymi resztami kwasów tłuszczowych i w konsekwencji prowadzić do elektroneutralnego transportu kationów H^+ .

Inhibicja peroksydacji liposomów pod wpływem ekstraktów flawonoidowych z wiesiołka i głogu

J. Gabrielska¹, J. Oszmiański²,
M. Soczyńska-Kordala²

¹Katedra Fizyki i Biofizyki, Akademia Rolnicza, Wrocław

²Katedra Technologii Przetwórstwa Owoców i Warzyw,
Akademia Rolnicza, Wrocław

Rola antyoksydantów w procesach redukujących stres oksydacyjny generowany złym stylem życia (np. pośpiech, stres psychiczny, palenie papierosów, niewłaściwa dieta bogata w tłuszcze, degradacja środowiska, itp.) jest nie do przecenienia. Stres oksydacyjny jest bowiem przyczyną powstawania czynników ryzyka groźnych chorób do których należą m.in.: choroby układu krążenia, nowotwory czy choroby wieku starczego. Trwają więc intensywne badania w kierunku poszukiwania coraz to większej liczby nowych, sku-

tecznych, naturalnych i nie toksycznych antyoksydantów, pomocnych w zmniejszaniu stresu oksydacyjnego.

W prezentowanej pracy podjęto badania dotyczące określenia aktywności antyoksydacyjnej dwóch ekstraktów flawonoidowych otrzymanych z głogu i wiesiołka oraz dla porównania standardów tych ekstraktów: epikatechiny i kwasu elagowego. Właściwości te określono w stosunku do modelowych błon liposomów fosfatydylocholinowych, których utlenianie indukowano promieniowaniem UV oraz czynnikiem chemicznym AAPH. Zastosowano przy tym metodę testu TBARS. Przeprowadzono także badania (metodą spektrofotometryczną i EPR) mające na celu określenie zdolności przeciwrodnikowej wszystkich antyoksydantów, w stosunku do wolnego rodnika DPPH. Uzyskane wyniki badań wskazują na możliwości inhibicyjne procesu peroksydacji błon liposomów, indukowanego promieniowaniem UV, powodowane przez ekstrakty z głogu i wiesiołka w stopniu odpowiednio do ok. 72% i 75%. W przypadku gdy czynnikiem utleniającym błon była substancja azobis AAPH, procent inhibicji oksydacji błon był niższy i wynosił ok. 29% i 43%, odpowiednio dla ekstraktu z głogu i wiesiołka. Standardy tych preparatów wykazywały porównywalną aktywność przeciwutleniającą z ekstraktami za wyjątkiem epikatechiny. Posiada ona niższą zdolność do przeciwutleniania błon, indukowanego promieniowaniem UV, o ok. 18% od ekstraktu z głogu. Badania aktywności przeciwrodnikowej w stosunku do wolnego rodnika DPPH, wskazały na dobrą korelację pomiędzy zdolnością przeciwrodnikową i przeciwutleniającą badanych antyoksydantów. Istnieją więc przesłanki, sugerujące możliwy mechanizm działania badanych antyoksydantów, związany między innymi z wychwytywaniem wolnych rodników generowanych w układzie.

Proces asocjacji jonów metali i flawonoidów w błonach liposomów fosfatydylocholinowych

J. Gabrielska¹, M. Soczyńska-Kordala²,
A. Bąkowska², J. Oszmiański²

¹Katedra Fizyki i Biofizyki, Akademia Rolnicza, Wrocław

²Katedra Technologii Przetwórstwa Owoców i Warzyw,
Akademia Rolnicza, Wrocław

Związki flawonoidowe obecne są w produktach roślinnych codziennej diety ludzi. Wpływają one korzystnie na kondycję zdrowotną konsumentów (Packer *et al.*, *Free Rad. & Med.*, 1999, 27, 704-724). Szeroka aktywność biologiczna flawonoidów związana jest najprawdopodobniej m. in. z ich właściwościami antyoksydacyjnymi (Malolepsza & Urbanek, *Wiadom. Botanicz.*, 2000, 44, 27-37). Mechanizm przeciwutleniającego działania tych związków wynika z ich zdolności do wychwytywania wolnych rodników, pochłaniania światła UV, chelatowania jonów metali oraz gaszenia tlenu

singletowego (Sugihara *et al.* *Free Rad. Biol. Med.* 1999, 27, 1313-1323). Efektywność przeciwutleniającego działania flawonoidów w stosunku do frakcji lipidowej błon komórkowych jest przedmiotem intensywnych badań *in vitro* (Rice-Evans *et al.*, *Free Radic. Biol. Med.* 1996, 20, 933-956). Nie jest wyjaśniony do tej pory dla przykładu stopień asocjacji związków flawonoidowych z dwuwarstwą lipidową oraz ich lokalizacja w błonie. Pomimo licznych doniesień dotyczących zdolności flawonoidów do koordynacji jonów metali, także tych, które generują w błonach procesy wolnorodnikowe (Dyba *et al.*, *Polish J. Chem.* 1999, 73, 873-878), to istnieją tylko nieliczne doniesienia na temat jakości tego procesu w sytuacji gdy ma ona miejsce w fazie lipidowej błon komórkowych.

Podjęta praca ma na celu przybliżenie procesu asocjacji wybranych flawonoidów z dwuwarstwą lipidową oraz kompleksowania jonów metali przejściowych (Cu, Fe) i ciężkich (Pb, Cd) przez te związki w błonie liposomów fosfatydylocholinowych. Uzyskane wyniki dyskutowano w kontekście potencjalnych zdolności antyoksydacyjnych badanych flawonoidów.

Analiza stopnia dimeryzacji antybiotyku Amfoterycyny B w błonach lipidowych z DPPC techniką spektroskopii fluorescencyjnej

M. Gagoś¹, R. Koper¹, W. I. Gruszecki²

Katedra Fizyki, Akademia Rolnicza, Lublin
Instytut Fizyki, Uniwersytet Marii Curie Skłodowskiej, Lublin

Amfoterycyna B (AmB) jest antybiotykiem jonoforowym z grupy polienów. Stosowana jest w leczeniu pacjentów z zaawansowanymi infekcjami grzybiczymi, szczególnie u chorych z wirusem HIV. Prezentowane badania dotyczyć będą organizacji AmB w liposomach formowanych z lecytyny dwupalmitynowej (DPPC). Przedstawiono schemat poziomów energetycznych cząsteczki AmB w formie monomerycznej, dimerycznej i zagregowanej na podstawie położenia widm absorpcji, wzbudzenia oraz emisji fluorescencji. Z badań tych wynika, że emisja dla form zagregowanych pochodzi z dimerów AmB. Przejście z poziomu o symetrii 1^1B_u , z którego zachodzi emisja do poziomu 1^1A_g , jest przejściem dozwolonym o wydajności kwantowej o rząd wielkości większej niż dla monomerów. Szerokość przerwy energetycznej jest równa 4061 cm^{-1} , czyli szerokości obliczonej z teorii rozszczepienia ekscytowanego 2β dla przesunięcia hypsochromowego w widmach absorpcyjnych AmB w DPPC. W przypadku monomerów i agregatów emisja zachodzi ze stanu zabronionego ze względu na symetrię stanu 2^1A_g co tłumaczy ich małą w porównaniu z dimerami wydajność kwantową. Dla monomeru szerokość przerwy energetycznej pomiędzy poziomami 1^1B_u i 2^1A_g wynosi 5316 cm^{-1} . Zaproponowano bezpośrednią metodę ana-

lizy stopnia dimeryzacji AmB opartą na rejestracji widm fluorescencji. Poniżej głównego przejścia fazowego DPPC ($T_m = 41^\circ\text{C}$) oraz w fazie płynnej DPPC (powyżej T_m) poziom dimeryzacji AmB zmieniał się w zależności od stężenia molowego-niższy przy stężeniach powyżej 1% mol, ale rósł w przedziale temperatur bliskich T_m . Poziom dimeryzacji był maksymalny w błonach zawierających 1% mol AmB poniżej oraz powyżej głównego przejścia fazowego. Przeprowadzono także badania poziomu dimeryzacji AmB z ergosterolem i cholesterolem w różnych stężeniach molowych. Sterole powodują usztywnianie błon lipidowych tak że nawet przy małych stężeniach trudno jest zauważyć obecność przejścia fazowego w DPPC. Wyniki zostały potwierdzone także za pomocą badań spektroskopii absorpcyjnej i świadczą o tym że AmB tworzy z ergosterolem pory o średnicy $\sim 18\text{ \AA}$. Różnica selektywności AmB w stosunku do steroli błon ssaków i grzybów nie polega prawdopodobnie na poziomie agregacji jak się powszechnie uważa lecz na różnicy organizacji struktur zagregowanych i średnicy porów.

Wpływ podwyższonego stężenia CO₂ oraz wysokiego poziomu napromieniowania na morfogenezę i fotosyntetyczną luminescencję koniczyny białej *Trifolium repens L.*

D. Gołębiewska, B. Polońska, A. Brzostowicz,
I. Milczarek

Zakład Fizyki IIR, Akademia Rolnicza, Szczecin

Przeprowadzono badania porównawcze nad wpływem dwóch poziomów stężenia CO₂ w atmosferze (350 ppm i 700 ppm) przy dwóch napromieniowaniach (450 i $1000\text{ }\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) na rozwój morfologiczny i parametry fotosyntetycznej luminescencji koniczyny białej.

Rośliny przeznaczone do tych badań otrzymano z rozłogów roślin pobranych z matecznika. Każdy z rozłogów miał 6 międzywęźli w pełni wykształconych. Rośliny rosły przez 54 dni w hali vegetacyjnej przy 350 ppm CO_2 oraz $220\text{-}440\text{ }\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ napromieniania. Po tym czasie zostały przeniesione do minifitotronów gdzie przebywały 10 tygodni w zróżnicowanej atmosferze i napromienianiu przy zachowaniu stałej wilgotności $\sim 70\%$, temperaturze 21°C dzień/ 14°C noc, fotoperiodzie 10 h dzień/14 h noc.

Pomiary rozpoczęto po upływie 1 tygodnia przebywania roślin w minifitronach. W odstępach tygodniowych policzono ilość liści i zmierzono długość stolonów, oznaczono stężenie chlorofilu oraz wykonano pomiary natężenia fotosyntetycznej luminescencji (indukcja fluorescencji IFL oraz opóźniona luminescencja OL). Kontrolowano również liściach potencjał wodny ψ roślin utrzymując go na poziomie -0.2 do -0.3 MPa .

Stwierdzono, że wyższe wskaźniki parametrów morfologicznych uzyskiwały rośliny rosnące przy niższym poziomie napromieniowania i wyższym stężeniu CO₂ od roślin w kombinacji odwrotnej — niskie stężenie CO₂ wysokie napromieniowanie. Między tymi kombinacjami wystąpiły wysoce istotne statystycznie różnice w ilości liści i ich powierzchni, a także w długości stolonu. Na podstawie pomiarów IFL stwierdzono wysoce istotne statystycznie różnice wartości współczynników Sc/Fm między wszystkimi grupami badanych roślin. Zmiany tego współczynnika są związane ze zmianami puli plastochinonów. Współczynnik Fv/Fm związany z procesami fotoinhibicyjnymi istotnie zróżnicował rośliny o różnym napromieniowaniu przy ustalonym stężeniu CO₂ w atmosferze. Natomiast Fv/Fo wskaźnik związany z prawidłowym przebiegiem procesu fotolizy wodnej reagował zarówno na zmiany CO₂ jak i napromieniowania.

Ze statystycznej analizy OL wynika, że wyraźnie statystycznemu zróżnicowaniu uległy rośliny poddawane temu samemu poziomowi radiacji a różniące się stężeniem CO₂ w atmosferze. Ponieważ OL charakteryzuje dalsze etapy transportu elektronowego procesu fotosyntezy należy przypuszczać, że zwiększone stężenie CO₂ ma wpływ przede wszystkim na stadium biochemiczne tego procesu i zwrótnie oddziałuje na transport elektronowy.

Znaczenie wysokoczęstotliwej audiometrii w medycynie

S. Grabiński

Katedra i Zakład Biofizyki Lekarskiej,
Śląska Akademia Medyczna, Katowice

Pod pojęciem wysokoczęstotliwej audiometrii rozumie się metodę wyznaczania progu słuchu człowieka w zakresie częstotliwości od 8 do 20 kHz. Pomysł wykorzystania tej metody do celów diagnostycznych nie jest nowy, gdyż już w 1867 roku F. Galton zbudował piszczałkę wytwarzającą tony o wysokich częstotliwościach i za jej pomocą określił górną granicę słyszanych częstotliwości u ludzi i zwierząt.

Współczesna audiometria kliniczna ogranicza się do wyznaczania progu słuchu dla częstotliwości od 125 Hz do 8000 Hz. Pasma to obejmują tylko część częstotliwości słyszanych przez człowieka, ponieważ pełny zakres słyszalności sięga do 20 kHz, a u osób młodych nawet jeszcze wyżej. Zakres wyższy nie jest uwzględniany w badaniach klinicznych między innymi dlatego, że nie dopatrywano się tam uzyskania znaczących informacji o stanie słuchu człowieka, a tym bardziej o stanie zdrowia w sensie ogólnym. Tymczasem w ciągu minionych lat zwrócono uwagę na przydatność tego zakresu audiometrii do oceny wpływu wielu czynników na stan słuchu oraz w profilaktyce uszkodzeń słuchu,

gdyż zwykle początek procesu pogarszania się sprawności tego narządu zlokalizowany jest właśnie w pasmie wysokich częstotliwości.

Wysokoczęstotliwa audiometria jest stosowana do oceny ototraumatyczności różnych czynników oraz jako test diagnostyczny do wykrywania wczesnych zmian słuchu pod wpływem: (1) czynników fizycznych, takich jak różne rodzaje hałasu; ciągły, impulsowy, wibracje; (2) czynników chemicznych, takich jak antybiotyki, cytostatyki, diuretyki i inne; (3) różnych procesów chorobowych; wczesnej fazy choroby wieńcowej, arteriosklerozy; (4) chorób serca i nerek, hiperlipidemii, zapalenia opon mózgowych, schorzeń ORL, cukrzycy, rozszczepienia podniebienia i jego następstw; (5) oceny zabiegów chirurgicznych wykonywanych na uszach; (6) oceny występowania szumu w uszach.

Indukowana światłem reorganizacja kompleksu LHCII w warunkach an- i aerobowych

W. Grudziński, W. I. Gruszecki

Instytut Fizyki, Uniwersytet Marii Curie Skłodowskiej, Lublin

Kompleks barwnikowo-białkowy Fotosystemu II (LHCII) stanowi główny element układu antenowego odpowiedzialnego za zbieranie energii świetlnej i jej przekazywanie do centrów reakcji tegoż fotosystemu. Z tego powodu istotne jest jak najlepsze poznanie mechanizmów pozwalających na bezpieczną, z punktu widzenia kompleksu, dezaktywację nadmiaru wzbudzeń, które nieuchronnie pojawiają się w białku w przypadku nadmiernego oświetlenia. Interesującym zagadnieniem wydaje się też analiza wpływu tlenu na różne aspekty funkcjonowania kompleksu.

Przeprowadzone przez nas badania z użyciem technik spektroskopii absorpcyjnej, fluorescencyjnej i FT-IR nad zależnymi od światła zmianami w organizacji kompleksu wskazują, że istotną rolę odgrywa w nich wiolaksantyna, a w szczególności jej formy izomeryczne: *all-trans*, *9-cis*, *13-cis* (Grudziński *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta* 2001, **1503**, 291-302). Za pomocą absorpcji w podczerwieni wykazano, że oświetlenie kompleksu prowadzi do rozagregowywania struktur białkowych LHCII. Równocześnie obserwowane są zmiany w obszarze podczerwieni, w którym analizowano różnice między formami *cis* i *trans* wiolaksantyny. Badania eksperymentalne kinetyki absorpcji i zaniku fluorescencji kompleksu LHCII w buforach o różnej zawartości tlenu i ich szczegółowa analiza doprowadziła do postawienia hipotezy, że równie ważnym czynnikiem jest obecność tlenu cząsteczkowego.

Badania wskazują, że indukowana światłem dezagregacja kompleksów LHCII ma związek z izomerizacją wiolaksantyny z konformacji *trans* do *cis*. Reakcja ta uczulana jest przez stany trypletowe chlorofilu. W szczególności forma izomeryczna *13-cis* wiolaksantyny

powstaje na drodze fotoreakcji jedynie w obecności tlenu cząsteczkowego. Wynik taki wskazuje, że proces ten może zachodzić na drodze reakcji z tlenem singletowym.

Regulacja przekazywania wzbudzeń w aparacie fotosyntetycznym na poziomie kompleksów barwnikowo-białkowych

W. I. Gruszecki¹, W. Grudziński¹, M. Matuła¹,
Z. Krupa²

¹Institut Fizyki, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin

²Institut Biologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej,
Lublin

Bezpieczne i wydajne funkcjonowanie aparatu fotosyntetycznego roślin wymaga aktywności wielu mechanizmów regulujących poziom wzbudzeń w zależności od intensywności oświetlenia. Obecność takich mechanizmów zauważyć możemy na wszystkich poziomach organizacji roślin: począwszy od ruchów liści, poprzez indukowaną światłem translokację chloroplastów aż do mechanizmów fotofizycznych zachodzących na poziomie molekularnym w fotosyntetycznych, barwnikowo-białkowych kompleksach zbierających światło.

Przedstawiony zostanie cykl badań przeprowadzonych technikami elektronowej spektroskopii absorpcyjnej, spektroskopii fluorescencyjnej, spektroskopii FTIR oraz techniki monowarstw, których wyniki wskazują na istnienie mechanizmu protekcyjnego, aktywnego w antenowych kompleksach barwnikowo-białkowych. Mechanizm ten, uaktywniany w warunkach nadmiaru wzbudzeń polega na przełączeniu funkcji antenowej barwników ksantofilowych na funkcję gaszenia wzbudzeń elektronowych chlorofilu przez ksantofile. Wyniki badań wskazują, iż gaszenie to, objawiające się poprzez obniżanie poziomu fluorescencji chlorofilu *a*, realizowane jest na drodze przekazywania energii wzbudzenia pomiędzy stanami Q_y chlorofilu i 2^1A_6 karotenoidów. Według naszej interpretacji przełączenie takie związane jest bezpośrednio z zmianą konformacyjną białek antenowych, indukowaną zależną od światła izomeryzacją wiolaksantyny z konformacji *trans* do konformacji *13-cis* i powodującą zwiększenie dystansu chlorofilu i barwników ksantofilowych. Wzrost odległości donor-akceptor uniemożliwia krótkozasięgowy, wymienny transfer energii z karotenoidów na chlorofile, i czyni bardziej prawdopodobnym długozasięgowy, rezonansowy transfer odwrotny z chlorofilu na ksantofile. Zmiana kierunku przepływu energii wraz ze zmianą mechanizmu transferu wynika bezpośrednio z zależności wydajności rezonansowego przekazywania energii od wydajności kwantowej fluorescencji donora, która jest znacząco większa dla chlorofilu w porównaniu z karotenoidami.

Wpływ szybkości ogrzewania na właściwości termiczne przeszczepów kostnych

S. Grzegorzczyn, B. Turczyński, J. Młynarski

Katedra i Zakład Biofizyki,
Śląska Akademia Medyczna, Zabrze

Właściwości termiczne kości mogą odgrywać bardzo dużą rolę przy ich obróbce mechanicznej. Dotychczas problem ten był niezwykle rzadko badany. Jego znaczenie jest tym wyższe jeśli zważyć, że tkanka kostna jest materiałem anizotropowym nie tylko pod względem mechanicznym ale również prawdopodobnie i cieplnym.

Celem pracy było określenie wpływu szybkości ogrzewania próbek na ubytek masy kostnej, związany z utratą wody oraz na szybkość pochłaniania ciepła w trakcie ogrzewania próbki.

Badania przeprowadzono na 10 przeszczepach kostnych mrożonych napromienionych w zakresie temperatur od 25°C do 140°C. Stosowano następujące stałe szybkości ogrzewania: 5°C/min, 10°C/min i 20°C/min. Przeszczepy pochodziły ze zwłok ludzi zdrowych, zmarłych w wyniku nagłej śmierci lub samobójstwa. Wiek dawców mieścił się w granicach 38-44 lata. Kości pochodziły z Banku Tkanek Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Katowicach, gdzie poddawane były mrożeniu oraz wyjaławianiu promieniami gamma o dawce 30 kGy. Badania zmian stopnia uwodnienia tkanki zbitnej kości wykonano za pomocą Termogravimetru firmy Polymer Laboratories. Błąd względny pojedynczego pomiaru masy próbki nie przekraczał 0,5%. Z kolei, szybkość przekazywania ciepła do próbki mierzono za pomocą Różnicowego Kalorymetru Skaningowego firmy Polymer Laboratories. Błąd względny pomiaru w tej metodzie nie przekraczał 1%.

Stwierdzono, że zarówno ubytek masy próbki jak i szybkość pochłaniania ciepła zależą od temperatury, przy czym charakter obu zależności był podobny dla różnych szybkości ogrzewania próbki. Średni ubytek masy próbki w zakresie temperatur od 25°C do 80°C zależał od szybkości ogrzewania. Przy stosowanych szybkościach ogrzewania 20°C/min 10°C/min i 5°C/min wynosił odpowiednio: $2,1 \pm 0,6\%$; $3,3 \pm 0,7\%$ oraz $4,5 \pm 0,7\%$. Wzrost szybkości ogrzewania w badanym zakresie temperatur powodował stopniowe zmniejszanie się ubytku masy tkanki kostnej, związanego z utratą wody. Jeśli chodzi o drugi parametr, to jest szybkość pochłaniania ciepła przez tkankę kostną, to przedstawiało się ono następująco: podwyższenie temperatury powodowało początkowo wzrost szybkości pochłaniania ciepła w próbce, a następnie jego zmniejszenie, przy czym temperatura przy której występowało maksimum szybkości pochłaniania była zależna od szybkości ogrzewania. Przy stosowanych szybkościach ogrzewania 20°C/min 10°C/min i 5°C/min maksima szybkości pochłaniania występowały odpowiednio w temperaturach: $87 \pm 10^\circ\text{C}$; $78 \pm 11^\circ\text{C}$ i $61 \pm 12^\circ\text{C}$. A zatem temperatura maksimum pochłaniania ciepła zależy od wzrost

szybkości ogrzewania. W miarę wzrostu szybkości ogrzewania temperatura maksimum pochłaniania podwyższa się.

Interakcja dehydrogenazy mleczanowej z fosfolipidami. Charakterystyki temperaturowe

J. Gutowicz¹, G. Terlecki²

¹Institut Mikrobiologii, Uniwersytet Wrocławski

²Katedra i Zakład Biofizyki, Katedra i Zakład Biochemii Lekarskiej, Akademia Medyczna, Wrocław

Prezentowana praca jest kolejną częścią naszych badań nad oddziaływaniem różnych form dehydrogenazy mleczanowej (LDH) z fosfolipidami. Badania te prowadzone są w aspekcie możliwego udziału lipidów w mechanizmach regulacji tego enzymu *in vivo*. Możliwe są tu dwa typy mechanizmów: 1) niespecyficzna adsorpcja na dwuwarstwowych strukturach (domenach) lipidowych, 2) tworzenie specyficznych kompleksów lipid-enzym. Przybliżone lokalizacje *in vivo* oraz zdolność wiązania się *in vitro* niektórych enzymów szlaku glikolizy, a wśród nich LDH, do niektórych preparatów błonowych, jak i struktur fosfolipidowych, dokumentowano w literaturze wielokrotnie, w tym przez nasz zespół. W poprzednich badaniach, wykazaliśmy, że oddziaływanie z fosfolipidami anionowymi, powoduje częściową lub całkowitą inaktywację enzymu w zależności od rodzaju fosfolipidu i warunków środowiska oraz występowanie zmian konformacji w cząsteczkach enzymu indukowane obecnością anionowych fosfolipidów: fosfatydyloseryn (PS), fosfatydyloinozytoli (PI) co pociąga za sobą zmiany charakterystyk temperaturowych parametrów fluorescencji enzymu. W tej pracy kontynuowano i rozwinięto badania wpływu oddziaływania mięśniowych form LDH z wybranymi fosfolipidami na zmiany konformacji indukowane wzrostem temperatury oraz na denaturację cieplną enzymu. Do badań użyto handlowych, oczyszczonych preparatów LDH firmy Boehringer Mannheim: M₄ z mięśni szkieletowych wołu i świni. Zmiany konformacji enzymu monitorowano wykorzystując widma tryptofanowej fluorescencji enzymu i metodę wygaszania fluorescencji znacznikami ekspozycji fluoroforów. Pomiarów parametrów fluorescencji wykonywano za pomocą spektrofлуorymetru Perkin-Elmer LS-50B w Zakładzie Biofizyki AM we Wrocławiu. Aktywność enzymu mierzono metodą spektrofotometrycznego śledzenia zmian stężenia NADH (zmiana A₃₄₀). Lipidy stosowano w postaci zawiesin, dyspergowanych za pomocą sonikatora ultradźwiękowego. Wykazano niespodziewanie silny wpływ obecności anionowych fosfolipidów (PI, PS) na temperaturowe charakterystyki fluorescencji, zwłaszcza ekspozycji fluoroforów oraz na stabilność temperaturową

enzymu (wzrost). Przedyskutowano możliwe mechanizmy obserwowanych efektów.

Różnice i podobieństwa we wpływie trifluoperazyny na przejścia fazowe fosfatydylocholin i fosfatydylo-etanoloaminy

A. B. Hendrich, O. Wesółowska, K. Michalak

Katedra Biofizyki, Akademia Medyczna, Wrocław

Trifluoperazyna (TFP) należy do grupy pochodnych fenotiazyny i podobnie jak inne związki z tej grupy (na przykład chlorpromazyne — CPZ) stosowana jest jako lek psychiatryczny. W ostatnich latach wykryto, że TFP posiada również zdolność do modulacji oporności wielolekowej (MDR) komórek nowotworowych. Korelacja jaka istnieje pomiędzy hydrofobowością TFP i CPZ oraz zdolnością tych związków do odwracania MDR sugeruje, że czynnikiem istotnym dla mechanizmu ich działania jako chemouczulaczy może być oddziaływanie z lipidową fazą błon komórkowych. Celem tej pracy jest porównanie oddziaływania TFP z dwoma rodzajami lipidów: fosfatydylocholiną i fosfatydyloetanolo-aminą, posiadającymi łańcuchy węglowodorowe o jednakowej długości (DMPC i DMPE). Badania prowadzone były przy zastosowaniu techniki mikrokalorymetrii.

Trifluoperazyna oddziaływała z oboma rodzajami lipidów powodując zmianę w charakterze obserwowanych przejść fazowych. W przypadku DMPC obecność leku powodowała zanik przed-przejścia i w miarę wzrostu stężenia obniżanie zarówno temperatury jak i entalpii głównej przemiany fazowej (żel-ciekły kryształ). Zmniejszeniu ulegała też kooperatywność przemiany. Przy stosunkach molowych TFP:DMPC przekraczających 0.06 obserwowano pojawianie się dodatkowego pików w termogramach, co świadczy o występowaniu separacji faz. W mieszaninach TFP z DMPE w miarę wzrostu stężenia leku obserwowano spadek temperatury i entalpii głównej przemiany fazowej oraz spadek kooperatywności przemiany. Nie stwierdzono występowania separacji faz w tych układach.

Obserwowane mikrokalorymetrycznie efekty oddziaływania TFP z DMPC i DMPE świadczą o wbudowywaniu się cząsteczek leku w dwuwarstwy lipidowe. Pojawienie się separacji faz w układach TFP:DMPC związane jest najprawdopodobniej z dwoma typami oddziaływania leku z cząsteczkami fosfatydylocholin. Ponieważ zjawisko to nie występuje dla DMPE wnioskować należy, że TFP w różny sposób może oddziaływać z polarnymi główkami DMPC. Jest możliwe, że odpowiedzialny za to jest różny stopień uprotanowania cząsteczek TFP.