

571) przewiduje, iż wszelkie fizyczne lub poznawcze stresory mają wpływ na napięcie mięśni, w konsekwencji czego obserwuje się wzrost wartości siły odpowiedzi. Na poparcie swojej tezy badacze ci wykonali szereg doświadczeń, w których mierzyli nacisk pióra na podłóżkę w trakcie pisania. Zarówno fizyczne, jak i poznawcze stresory wywoływały wzrost siły nacisku. Ponieważ wyniki tych badaczy korespondują z wynikami uzyskanymi w badaniach tzw. siły odpowiedzi (tj. siły, z jaką osoba badana naciska ma klucz pomiarowy, gdy zadaniem jej jest jak najszybsza reakcja na prezentowany bodziec (np. Jaśkowski *et al.*, 2000, *Acta Psych.*, 105, 89-105) oraz założenia teorii szumu neuromotorycznego dają się zastosować do zagadnienia siły odpowiedzi, należy wnosić, że siła odpowiedzi powinna zależeć od poziomu stresu. W celu weryfikacji tych przewidywań zastosowaliśmy 2 typy stresorów: nacisk czasowy oraz obciążenie mentalne.

Nacisk czasowy uzyskano poprzez ograniczenie czasu danego uczestnikowi badania na udzielenie odpowiedzi, natomiast obciążenie mentalne poprzez trudność wykonywanego zadania (uczestnik wykonywał bądź łatwe, bądź trudne zadanie arytmetyczne).

Jak oczekiwano badani mieli krótsze czasy odpowiedzi (RT) i większą siłę odpowiedzi (RT) w zadaniach z naciskiem czasowym. Nie stwierdzono jednak istotnego wpływu obciążenia mentalnego. Tak więc wyniki te nie potwierdzają w pełni teorii szumu neuromotorycznego.

Badania finansowane z grantu KBN Nr HOIF 00315.

Badania oddziaływań polimerów kwasu sjałowego z monowarstwami fosfolipidowymi

K. Nowotarski¹, T. Janas², W. I. Gruszecki³,
T. Janas¹

¹Zakład Biofizyki, Wyższa Szkoła Pedagogiczna, Zielona Góra;

²Zakład Fizyki, Politechnika Zielonogórska

³Instytut Fizyki, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin

Łańcuchy kwasu sjałowego (polySia) są liniowymi polimerami złożonymi z ujemnie naładowanych monomerów. PolySia odgrywa ważną rolę w regulacji oddziaływań międzykomórkowych. Polimery te mają zdolność osłabiania sił przylegania i modulacji oddziaływań pomiędzy powierzchniami komórek, w ten sposób wpływając na zmiany kształtu i ruchu komórek. PolySia pełni również rolę antygeny związanego z rozwojem nowotworów w ludzkich nerkach i mózgu, może wzmacniać potencjał przerzutu komórek nowotworowych. Technika monowarstw lipidowych została użyta do badania wpływu polimerów kwasu sjałowego na własności modelowych błon biologicznych przygotowanych z fosfatydylocholine, dodatnio naładowanego lipidu – oktadecylaminy i ich mieszanin. Zostały zmierzone izotermie obrazujące zależności ciśnienia po-

wierzchniowego od średniej powierzchni przypadającej na jedną cząsteczkę lipidu. Wyznaczono izobary określające zależność średniej powierzchni przypadającej na jedną cząsteczkę od ułamka molowego oktadecylaminy w mieszaninie. Obliczono zależność powierzchni molekularnej lipidu od ułamka molowego oktadecylaminy w mieszaninie. Polimery kwasu sjałowego indukują w monowarstwie tworzenie agregatów lipidowych, powodują wzrost powierzchni molekularnej lipidu oraz wpływają na oddziaływania pomiędzy molekułami oktadecylaminy i fosfatydylocholine. Badania te wskazują, że ładunek powierzchniowy może pełnić znaczącą rolę w oddziaływaniach między polimerami kwasu sjałowego i molekułami lipidów w błonie.

Analiza czynności skurczowej macicy przy pomocy największego wykładnika Lapunowa

E. Oczerecko¹, T. Laudański², J. Szamatowicz³,
E. Borowik¹

¹Instytut Informatyki Uniwersytetu w Białymstoku.

²Zakład Patofizjologii Ciąży, Akademia Medyczna, Białystok

³Klinika Ginekologii Akademia Medyczna, Białystok

Zmiany aktywności skurczowej macicy często towarzyszą różnym patologiom położniczym i schorzeniom ginekologicznym. Największy wykładnik Lapunowa L to jeden z najważniejszych parametrów opisujących układy chaotyczne.

Czynność skurczową macicy badano przy pomocy czujnika ciśnieniowego firmy Gaeltec (Wielka Brytania) z sensorem ciśnieniowym umieszczonym w dnie macicy. Sygnał próbkowany z częstotliwością 5 Hz kierowano do komputera IBM PC. Czynność spontaniczną rejestrowano przez około 45 min, następnie dokonywano jednorazowej iniekcji oksytocyny w dawce 10 pmol/kg masy ciała, a po 40 minutach wstrzykiwano wazopresynę w tej samej formie i dawce. Zbadano 10 regularnie miesiączkujących kobiet w wieku od 29 do 43 lat. Największy wykładnik Lapunowa obliczano przy pomocy algorytmu Wolfa dla wymiarów zanurzenia od $D = 2$ do $D = 10$. Analizowane sygnały liczyły po 4096 próbek. Z sygnałów tych generowano także sygnały sztuczne.

We wszystkich przypadkach stwierdzono statystycznie istotne różnice ($p < 0,01$) między wykładnikami L obliczonymi dla sygnałów spontanicznych i sygnałów rejestrowanych po podaniu oksytocyny. U dziewięciu pacjentek występowały statystycznie istotne różnice między sygnałami po podaniu oksytocyny i po podaniu wazopresyny ($p < 0,05$). Podobnie było dla sygnałów spontanicznych i dla sygnałów po podaniu oksytocyny. Otrzymane wartości wykładników Lapunowa były zawsze dodatnie, a dla sygnałów sztucznych nieco większe niż dla sygnałów oryginalnych.

Otrzymane wyniki mogą sugerować istnienie składowej deterministycznej w badanych sygnałach oraz moż-

liwość stosowania największego wykładnika Lapunowa jako parametru diagnostycznego różnicującego zmiany czynności skurczowej macicy.

Elektrochromizm pigmentów w antenowych Kompleksach fotosyntetycznych

D. Olszówka, S. Krawczyk

Institut Fizyki, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin

W roślinach zielonych proces fotosyntezy zachodzi z udziałem dwu fotosystemów, których poszczególne składowe są kompleksami pigmentowo-białkowymi.

Fizyczne aspekty procesów fotosyntezy obejmują specyficzne oddziaływania pigmentów fotosyntetycznych z białkami oraz oddziaływania pigmentów między sobą, w wyniku których pojawiają się liczne formy spektralne chlorofilu *a* i *b*. Zmienność własności spektralnych pigmentów fotosyntetycznych jest odzwierciedleniem zachodzących zmian w rozkładzie ładunku wewnątrz cząsteczek pod wpływem światła. Jedną z technik umożliwiających badanie tych zmian jest spektroskopia efektu Starka, oparta na indukowanych polem elektrycznym zmianach w widmie absorpcji. Technika ta jest czuła na zmiany zachodzące w rozkładzie ładunku wskutek wzbudzenia elektronowego i pozwala określić zmiany momentu dipolowego $\Delta\mu$ oraz zmiany polaryzowalności $\Delta\alpha$, a także jest szczególnie efektywna w detekcji stanów z domieszką „charge transfer”.

Dokonano pomiarów widm absorpcji, *A*, oraz indukowanych polem elektrycznym zmian absorpcji pigmentów i antenowych kompleksów fotosyntetycznych LHCII i CP29. Kompleksy LHCII i CP29 wykazują podobieństwo pod względem budowy białek, różnią się natomiast ilością cząsteczek chlorofilu. CP29 pozabawiony jest czterech cząsteczek tych barwników, które w LHCII prawdopodobnie zlokalizowane są peryferyjnie. Zarówno dla LHCII, jak i CP29 zarejestrowano typowy „monomeryczny” sygnał Starka większości pasm absorpcji chl *a* i chl *b* w czerwieni ($15000\text{--}16000\text{ cm}^{-1}$) z wyjątkiem pasma 15250 cm^{-1} (656 nm) odpowiadającego pojedynczej cząsteczce lub dimerowi chl *b*. W niebieskiej części widma kompleksu CP29 nie zaobserwowano silnego ujemnego sygnału Starka przy 19600 cm^{-1} (510 nm), charakterystycznego dla LHCII. Stosownie do przyjętych oznaczeń spektralnych dla LHCII, to pasmo może odpowiadać cząsteczce wiołaksantyny, posiadającej duży trwały moment dipolowy. Na niekorzyść tego stwierdzenia może wpływać fakt, iż w kompleksie LHCII wiołaksantyna występuje w małych ilościach wobec czego trudno przypisać jej silny elektrochromizm. Wiele przemawia za tym, iż sygnał ten może pochodzić od neoksantyny obecnej w LHCII i oddziałującej z chl *b*, natomiast nie występującej w CP29.

Wpływ parakwatu i 2,4-dichlorofenolu na enzymy Fazy I i II oraz system antyoksydacyjny *Unio tumidus*

D. Palecz, A. Stawińska, T. Gabryelak

Katedra Biofizyki Ogólnej, Uniwersytet Łódzki

Małże (*Unio tumidus*) odcławiano z jeziora Suszek charakteryzującego się niskim stopniem zanieczyszczenia ksenobiotykami. Zwierzęta poddawano 72-godzinnej ekspozycji na parakwat (PQ) w stężeniach 1, 5 i 10 ppm oraz 2,4-dichlorofenol (DCP) w stężeniach 0,1, 0,15 i 0,2 ppm. Aktywność enzymów I fazy (reduktaza NAD(P)H-ferredoksyna, reduktaza NAD(P)H-cytochrom c) i poziom cytochromu P-450, a także aktywność transferazy S-glutationowej (GST) – enzymu II fazy, oznaczano w trzustko-wątrobie małży kontrolnych i poddanych działaniu ksenobiotyków.

Oznaczano także całkowity potencjał antyoksydacyjny (FRAP) oraz zawartość produktów peroksydacji lipidów w postaci ich barwnego kompleksu z kwasem tiobarbiturowym (TBARS).

Pod wpływem DCP nastąpił wzrost wartości potencjału antyoksydacyjnego tylko przy najwyższym zastosowanym stężeniu (0,2 ppm) oraz spadek stężenia produktów peroksydacji lipidów zachodzący proporcjonalnie do rosnącej zawartości stosowanego ksenobiotyku (DCP). W przypadku enzymów biotransformacyjnych obserwowano tendencję wzrostu ich aktywności szczególnie widoczną dla reduktazy NADPH-cytochromu c i zwiększone stężenie cytochromu P-450, już przy niskich stężeniach DCP (0,1 ppm). W obecności parakwatu (PQ), herbicydu generującego formy rodnikowe, stwierdzono wzrost wartości potencjału antyoksydacyjnego przy stężeniu 1 i 5 ppm oraz nieznaczne podwyższenie stężenia produktów peroksydacji lipidów przy najwyższym stężeniu PQ (10 ppm). W aktywności enzymów biotransformacyjnych I fazy występowały zmiany w stosunku do kontroli, szczególnie przy stężeniu 10 ppm z wyraźnie zaznaczonym spadkiem aktywności reduktazy NADPH-cytochromu c. Enzym II fazy – transferaza S-glutationowa wykazywała niezmienną aktywność w całym zakresie stosowanych stężeń parakwatu.

Uzyskane wyniki pozwalają sugerować że analizowane parametry biochemiczne mogą być stosowane jako wskaźniki zanieczyszczenia ksenobiotykami zbiorników wód jeziornych.

Rozpuszczalność w wodzie kości wołowej napromieniowanej promieniami γ

E. Pankowski, L. Kubisz

Katedra Biofizyki, Akademia Medyczna, Poznań

Wielokierunkowe badania wpływu promieniowania jonizującego na kolagen, pozwalają nam bliżej zrozumieć mechanizm zmian radiacyjnych w substancjach takich jak skóra i kości. Wiedza ta z kolei prowadzi do licznych zastosowań praktycznych, których przykładem może być stosowanie technik radiacyjnych w przemyśle skórzanym i spożywczym.

Końcowym wynikiem bezpośredniego i pośredniego oddziaływania promieniowania na kości i skóry jest degradacja i sieciowanie. Na podstawie wielu doniesień literaturowych można wnioskować, że w zakresie dawek rzędu $5 \cdot 10^3$ Gy przeważa proces sieciowania. Po przekroczeniu dawki $5 \cdot 10^4$ Gy znacznie przeważa proces degradacji, który jest powodem znacznego „pogorszenia” właściwości fizyko-chemicznych i mechanicznych. Dawka powyżej $2 \cdot 10^5$ Gy powoduje bardzo duże zmiany w strukturze kolagenu. Wskaźnikiem stopnia usieciowania kolagenu jest zmiana jego rozpuszczalności w roztworach kwasowych i wodzie. Badania nasze skupiają się na destrukcyjnym działaniu promieniowania jonizującego na kości wołowe. Napromieniowana promieniami γ dawką powyżej 100 kGy kość wołowa staje się krucha i po sproszkowaniu rozpuszcza się w wodzie, w temperaturze pokojowej (około 20°C). Podjęto próbę określenia kinetyki oraz stopnia rozpuszczalności kości w czystej wodzie. W tym celu oczyszczona i osuszona kość została pocięta wzdłuż włókien na kawałki o masie około 5 g, które zostały napromieniowane promieniami γ (Co^{60}) dawkami od 50 kGy do 1000 kGy w obecności powietrza w temperaturze pokojowej. Napromieniowany określoną dawką kawałek kości został rozbity na mniejsze kawałki i roztarty w moździerzu ceramicznym. Otrzymany proszek kostny został podzielony na 50 mg porcje, który rozpuszczano w 50 ml wody destylowanej i mieszano za pomocą mieszadła magnetycznego w temperaturze 20°C. Po upływie określonego czasu, roztwór filtrowano za pomocą bibuły filtracyjnej i wyznaczano jego stężenie metodą spektrofotometryczną. Wykonane opisaną metodą badania sproszkowanej kości wołowej napromieniowanej dawką 1000 kGy wskazują, że stopień rozpuszczalności rośnie wraz z czasem trwania procesu rozpuszczania, uzyskując wartość około 65% po upływie 35 h. Zgodnie z oczekiwaniem, największa kinetyka procesu rozpuszczania jest w okresie pierwszych kilku godzin, a następnie maleje do pewnej wartości granicznej. Obecnie prowadzone są badania kinetyki procesu rozpuszczania kości w wodzie, w zależności od wielkości dawki promieniowania oraz temperatury.

Wpływ guzów białaczki L5178Y-R na produkcję tlenu azotu przez wysiękową formę tego nowotworu

J. Pawlus, S. Lukiewicz

Instytut Biologii Molekularnej, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

Technika spektroskopii Elektronowego Rezonansu Paramagnetycznego (ERP) daje możliwość prognozowania procesu chorobowego m. in. u myszy DBA/2 z wysiękową formą białaczki L5178Y-R na podstawie natężenia amplitudy sygnału ERP tlenu azotu (NO) w wysięku. U syngenicznego gospodarza (DBA/2) białaczki L5178Y-R maksymalny sygnał pojawia się dnia 6-go, jednak jego intensywność jest nieduża, co jest wyrazem słabych reakcji obronnych organizmu. W następstwie wszystkie zwierzęta giną w krótkim czasie.

Gdy oprócz wysięku nowotworowego wszczepiono równocześnie tym samym zwierzętom lite guzy białaczki L5178Y-R nie zaobserwowano wpływu tego zabiegu na tempo wzrostu formy ascitowej ani na sygnał ERP wysięku.

Wszczepienie guzów białaczki L5178Y-R na 7 dni przed implantacją formy wysiękowej nowotworu spowodowało zwiększenie amplitudy sygnału ERP wysięku w stosunku do kontroli i przesunięcie jego maksimum na dzień 8-my (15 dzień wzrostu guzów). Nie stwierdzono wpływu obecności formy wysiękowej na tempo wzrostu guzów i sygnał ERP.

Kolejna modyfikacja w postaci pobierania wysięku nowotworowego od tych samych zwierząt co drugi dzień w trakcie rozwoju białaczki L5178Y-R spowodowała silny około 7-mio krotny wzrost sygnału ERP wysięku w stosunku do zwierząt kontrolnych. Maksymalna amplituda występowała 8-go dnia rozwoju formy wysiękowej. Wzrost natężenia sygnału ERP płynu wysiękowego u zwierząt z ascitem i guzem korelował z przeżywalnością myszy. W 13-ym dniu wzrostu formy wysiękowej występowała 100 procentowa śmiertelność w grupie kontrolnej (sam ascit), podczas gdy u zwierząt z formą litą i ascitową obniżyła się ona do zaledwie 50-ciu procent.

Nie udało się zaobserwować wpływu wysięku nowotworowego na produkcję NO w guzie białaczki L5178Y-R. Istnieją natomiast różnice w generacji NO w wysięku nowotworowym w zależności od przedziału czasowego pomiędzy momentem wszczęcia litej formy białaczki L5178Y-R a chwilą implantacji formy wysiękowej. Produkcja NO zależała również od tego, czy płyn wysiękowy pobierany był jednorazowo czy wielokrotnie.

Badania przeprowadzono w ramach grantu KBN nr 4 P05A 062 18.

Współzależność w pobieraniu i akumulacji niektórych metali w tkankach *Zea mays* L.

K. Pazurkiewicz-Kocot¹, W. Galas²

¹Katedra Fizjologii Roślin, Uniwersytet Śląski, Katowice

²Zakład Chemii Analitycznej, Uniwersytet Śląski, Katowice

Kadm i ołów są powszechnie spotykanymi w przyrodzie metalami ciężkimi i zarazem jednymi z metali najbardziej toksycznych dla organizmów żywych. Toksyczne działanie kadmu i ołowiu na rośliny wyraża się różnorodnymi zakłóceniami w przebiegu poszczególnych szlaków metabolicznych, a wynikiem tych zaburzeń jest zahamowanie wzrostu i rozwoju roślin. Wspomniane metale ciężkie w zależności od koncentracji i czasu działania obniżają akumulację niezbędnych dla roślin kationów i anionów. Interakcje zachodzące między kadmem, ołowiem, a innymi pierwiastkami przypuszczalnie są powodem zaburzeń metabolizmu, związanych z brakiem odpowiednich składników mineralnych niezbędnych do normalnego funkcjonowania organizmu. Celem pracy były badania dotyczące współzależności w pobieraniu i akumulacji kadmu, ołowiu oraz cynku w tkankach kukurydzy (korzeń, mezokotyl, liść). Doświadczenia przeprowadzono na 8-9 dniowych siewkach *Zea mays* L. var. K33xF2. Kultury badanych roślin prowadzono na płynnej pożywce Hoaglanda. W zależności od wariantu doświadczenia w trzecim dniu hodowli rośliny przenoszono na pożywkę z dodatkiem związków kadmu, ołowiu, cynku w stężeniach 10^{-6} mol·dm⁻³. Materiał roślinny suszono w temperaturze 80°C w suszarce do stałej masy. Do oznaczeń ilościowych metali zastosowano metodę spektrometrii emisyjnej ze wzbudzeniem w plazmie sprzężonej indukcyjnie (ICP-AES). Zastosowanie tej techniki w analizie materiałów pochodzenia roślinnego wymaga mineralizacji próbki. Suchą masę próbki nie przekraczającą 0,5 g mineralizowano metodą bezciśnieniową w mineralizatorze, w stężonym kwasie azotowym. W analizie oznaczano Cd, Pb, Zn stosując spektrometr ICP, używając linii analitycznych: Zn — 213,856 nm, Pb — 220,353 nm, Cd — 226,502 nm. Wyniki przeprowadzonych badań wskazują na obniżenie zawartości kadmu w tkankach roślin (szczególnie w liściach) rosnących na pożywce zawierającej cynk. W analogicznych doświadczeniach, w których do pożywki wprowadzano równocześnie cynk i ołów powyższa zależność nie była tak wyraźna. Wyniki badań wskazują na wpływ cynku na pobieranie z podłoża i akumulację kadmu i ołowiu w roślinach.

Termotolerancja w erytrocytach ludzkich

B. Przerwa, P. Duchnowicz, M. Koter

Katedra Biofizyki Skażeń Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego

Termotolerancję definiuje się jako nabytą zdolność komórek do przeżycia dawki hipertermii, powodującej śmierć w normalnych warunkach. Mechanizm powstawania termotolerancji w erytrocytach nie jest jeszcze poznany.

Celem pracy było zbadanie uszkodzeń białek błonowych erytrocytów. Oznaczano autohemolizę, aktywność ATPazy (Na⁺/K⁺) oraz uszkodzenie błon metodą znaczników spinowych.

Materiałem do badań była krew człowieka pobrana od zdrowych dawców – hematokryt 2%.

Erytrocyty inkubowano według schematu:

- A) 37°C (3 h)
- B) 44°C (15 min) – 37°C (3 h)
- C) 44°C (15 min) – 37°C (3 h) – 48,5°C (30 min)
- D) 37°C (3 h) – 48,5°C (30 min)

Aktywność ATP-azy została określona metodą Van Veldherena i Mannaersta – polegająca na określeniu zawartości ortofosforanu uwolnionego z ATP. Uszkodzenie białek oznaczono metodą Ellmana przez określenie ilości grup –SH w białkach błonowych, płynność błony przy użyciu znaczników spinowych 5DSA i 16DSA.

Wstępna inkubacja w 44°C (15 min) powoduje obniżenie ilości grup –SH, usztywnienie błony na głębszych rejonach dwuwarstwy lipidowej na poziomie 16-go atomu węgla łańcucha kwasu tłuszczowego. Komórki poddane wstępnemu szokowi termicznemu nabywają odporności na późniejsze działanie podwyższonych temperatur. Badanie termotolerancji w erytrocytach ludzkich wykazały występowanie tego zjawiska dla następujących parametrów: stopień autohemolizy, aktywność ATP-azy, zmian w warstwie hydrofobowej i uszkodzeń białek błonowych.

Badanie kompleksu cytochrom *c* – oksydazy cytochromu *c* metodami EPR z wykorzystaniem znaczników spinowych

J. Pyka, A. Osyczka, B. Turyna, W. Francisz

Instytut Biologii Molekularnej, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

Spektroskopię elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR) coraz częściej stosuje się do badania struktury białek. W badaniach tych wykorzystuje się znaczniki spinowe przyłączone specyficznie do reszt aminokwasowych w cząsteczce badanego białka.

W pracy wykorzystano cytochrom *c* z *Saccharomyces cerevisiae* znakowany znacznikiem spinowym specyficznym dla reszt cysteinowych (w pozycji 102) oraz monopochodną końskiego cytochromu *c* znakowaną znacznikiem spinowym specyficznym dla reszt lizynowych (w pozycji 86). Cytochromy kompleksowano z oksydazą cytochromową (izolowaną z serca wołu) w warunkach niskiej siły jonowej (bufor 5 mM MOPS, pH 7,4 0,1% Triton X100). Następnie zarejestrowano widma EPR tak uzyskanych kompleksów. Jako kontrolę stosowano 500 mM NaCl, który powodował całkowitą dysocjację kompleksu.

Widma EPR zarejestrowane dla cytochromów związanych z oksydazą cytochromową porównywano z widmami uzyskanymi dla niezwiązanych cytochromów. Przyłączenie cytochromu do oksydazy cytochromowej prowadzi do zmiany kształtu linii widma EPR. Zmiany te odzwierciedlają wydłużenie czasów korelacji rotacyjnej. Wartości czasów korelacji rotacyjnej świadczą o zmianach konformacji zachodzących w obrębie cząsteczki cytochromu *c* po przyłączeniu do oksydazy.

Porównanie produkcji tlenu azotu w mózgu 30-dniowego szczura w warunkach endotoksemii i po uszkodzeniu

J. Pyka¹, M. Ziaja², P. Płonka¹

¹Institut Biologii Molekularnej, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

²Institut Zoologii, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

Z literatury wynika, że w różnych stanach patologicznych (sepsa, niedokrwienie i reperfuzja, uszkodzenie mechaniczne) następuje w mózgu wzrost syntezy tlenu azotu, będący często skutkiem indukcji syntazy tlenu azotu (NOS-2). Celem opisanych badań było porównanie zmian poziomu NO w mózgu wywołanych endotoksemią i mechanicznym uszkodzeniem tkanki. Ponieważ spektroskopia EPR pozwala na ilościowe określenie stężenia tlenu azotu w badanej tkance, w eksperymentach zastosowano pułapowanie spinowe NO z użyciem DETC.

Do badań użyto 30-dniowych szczurów rasy Wistar. Jednej grupie eksperymentalnej wykonywano mechaniczne uszkodzenie lewej półkuli mózgu, zaś drugiej aplikowano dootrzewnowo LPS. W różnym czasie po zabiegu (2, 6, 12, 24, 48 lub 72 godz.) wszystkim zwierzętom podawano DETC i cytrynian żelaza (II) w celu spulapkowania powstałego w tkance NO. Po upływie 30 minut zwierzęta usypiano, a uzyskane mózgi zamrażano w ciekłym azocie. Pomiarów EPR dokonywano na spektrometrze Varian w zamrożeniu.

Podanie endotoksyny powoduje znaczne zwiększenie produkcji NO, dlatego po 6-24 godz. obserwowano wyraźne sygnały adduktów spinowych NO. W ciągu następnych godzin po podaniu LPS stężenie NO w

badanej tkance stopniowo obniżało się. W porównaniu do endotoksemii, mechaniczne uszkodzenie mózgu nie wywołało tak znaczących zmian w stężeniu NO w mózgu. Jedynie 24 godz. po uszkodzeniu zauważono niewielki wzrost sygnału adduktu spinowego. W pozostałych badanych okresach amplituda sygnałów była porównywalna z kontrolą. Dlatego można stwierdzić, że samo uszkodzenie mechaniczne mózgu nie wystarcza do wywołania zauważalnych zmian w nasileniu syntezy NO u 30-dniowych szczurów, które można byłoby wykryć użytą w badaniach metodą.

Wpływ cholesterolu na obszar hydrofobowy błony, badania metodą symulacji dynamiki molekularnej

T. Róg, M. Pasenkiewicz-Gierula

Institut Biologii Molekularnej, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

Przeprowadzono symulacje dynamiki molekularnej (MD) uwodnionej dwuwarstwy lipidowej zbudowanej z dimyrystynowej fosfatydylocholino i cholesterolu (DMPC-Chol) w proporcji 7:2. Symulacje prowadzono przez 15 ns z czego pierwsze 7 ns stanowiło równoważenie układu. Jako układu odniesienia użyto czystej błony DMPC (Pasenkiewicz-Gierula *et al.*, *Biophys. J.* 1999, 76, 1228-1240). Analizy 8-ns trajektorii wygenerowanej w roboczej symulacji MD miały na celu wyjaśnienie atomowych podstaw efektu porządkującego i kondensacyjnego Chol w błonie.

Wartości parametru uporządkowania łańcuchów węglowodorowych w błonie DMPC-Chol są większe niż w błonie DMPC. Wzrost tych wartości wynika głównie z mniejszego nachylenia łańcuchów względem normalnej w błonie DMPC-Chol, ponieważ średnia liczba konformacji *gauche*/łańcuch jest w obu błonach podobna. Największe uporządkowane obserwuje się dla łańcuchów cząsteczek DMPC sąsiadujących z Chol. Dla tych cząsteczek zarówno liczba konformacji *gauche*/łańcuch jak i kąt nachylenia łańcuchów względem normalnej są mniejsze niż dla pozostałych cząsteczek PC. Efekt wzrostu uporządkowania zależy również od powierzchni cząsteczki Chol, z którą sąsiadują łańcuchy DMPC, dla chropowatej powierzchni β jest on mniejszy niż dla gładkiej powierzchni α .

Obecność Chol w błonie prowadzi zarówno do wzrostu gęstości powierzchniowej jak i objętościowej błony. Wzrost gęstości objętościowej błony spowodowany jest wzrostem oddziaływań van der Waalsa (vdW) między fragmentami łańcuchów węglowodorowych DMPC zlokalizowanych w obszarze błony zajmowanym przez pierścienie sterydowe Chol. W obrębie błony poniżej pierścieni sterydowych, efekt wzrostu oddziaływań vdW jest nieznaczny. Oddziaływania vdW między DMPC i Chol są słabe.

**Wpływ antybiotyku antracyklinowego
– karminomycyny na żywotność
fibroblastów człowieka**

B. Różga, K. Nasionkowska, Z. Józwiak

Katedra Termobiologii, Uniwersytet Łódzki

Głównymi przyczynami śmierci komórki po działaniu czynników cytotoksycznych mogą być zmiany strukturalne i funkcjonalne błony komórkowej lub błon mitochondrialnych oraz nienaprawione uszkodzenia w kwasie dezoksyrybonukleinowym. Postuluje się, że jednym z mechanizmów działania antybiotyków antracyklinowych, w tym karminomycyny, jest generowanie wolnych rodników tlenowych, w tym rodników ponadtlenkowych.

Komórki posiadają system zabezpieczający przed uszkodzeniami powodowanymi przez wolne rodniki generowane w warunkach fizjologicznych. W skład tego systemu wchodzi dysmutaza ponadtlenkowa, katalaza i peroksydaza glutationowa. Jeśli cytotoksyczność antracyklin jest spowodowana przez reaktywne formy tlenu to można oczekiwać, że efekt ich działania będzie różny w przypadku komórek różniących się poziomem antyoksydacyjnych czynników. Komórki trisomiczne są naturalnym modelem umożliwiającym sprawdzenie tych założeń. Mają o 50% wyższą aktywność dysmutazy Cu/Zn ponadtlenkowej, która jest kodowana przez gen położony na chromosomie 21 oraz o około 30% podwyższoną aktywność peroksydazy glutationowej.

Żywotność trisomicznych względem chromosomu 21 i o prawidłowym kariotypie fibroblastów człowieka pochodzących z hodowli *in vitro* i inkubowanych z karminomycyną w stężeniach 2-20 μM oznaczano za pomocą spektrofotometrycznej metody z wykorzystaniem MTT i metodą fluorometryczną z dwuoctanem fluoresceiny.

Badano zmiany morfologiczne fibroblastów, jakie zaszły pod wpływem inkubacji komórek trisomicznych z karminomycyną. Zaobserwowano zmiany typowe dla zachodzenia procesu apoptozy tj. zmiany kształtu komórek, pęcherzykowanie błony plazmatycznej, kondensację i fragmentację chromatyny. Stwierdzono, że lek ten lokuje się w cytoplazmie a fluorescencję pochodzącą od antybiotyku zlokalizowanego jądrze można zaobserwować dopiero po 24 godzinie inkubacji.

**Oddziaływanie wybranych metaloorganicznych
związków cyny z modelowymi błonami
w obecności halogenków
dodecylotrimetyloamoniowych.**

B. Różycka-Rozsak, H. Pruchnik

Katedra Fizyki i Biofizyki, Akademia Rolnicza, Wrocław

Metaloorganiczne związki cyny powszechnie obecne są w środowisku naturalnym ze względu na ich bardzo szerokie zastosowanie w przemyśle i rolnictwie. Związki te wykazują właściwości toksyczne. Toksyczność cyanoorganicznych związków zależy m.in. od liczby i rodzaju grup organicznych znajdujących się w cząsteczce związku oraz od długości łańcuchów alkilowych.

Metaloorganiczne związki cyny, ze względu na zastosowanie, znajdują się często w środowisku wodnym i wówczas nieunikniony jest ich kontakt z surfaktantami. Zatem celowe wydawało się podjęcie badań wpływu organicznych pochodnych cyny na modelowe błony w obecności surfaktantów. Przedmiotem badań były najbardziej toksyczne i najczęściej spotykane w środowisku naturalnym butylowe (dibutylochlorocyna – DBT, tributylochlorocyna – TBT) i fenyłowe (difenylochlorocyna – DPhT, trifenylochlorocyna – TPhT) związki cyny oraz powszechnie stosowane surfaktanty (chlorek dodecylotrimetyloamoniowy – DTAC i bromek dodecylotrimetyloamoniowy – DTAB).

Badano wpływ wyżej wymienionych metaloorganicznych związków cyny w obecności surfaktantów na przejścia fazowe fosfatydylocholiny, a także widma ^1H NMR i ^{31}P NMR.

Z wcześniejszych naszych badań wynika, że DPhT wykazuje zdolność do indukowania faz grzebieniowych („interdigitated phase”), a TPhT faz heksagonalnych w dwuwarstwach lipidowych.

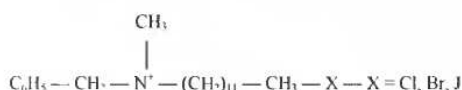
Natomiast z uzyskanych w tej pracy rezultatów wynika, że dodane surfaktanty, w szczególności DTAC, zmniejszają znacząco zdolność fenyłowych związków cyny do powodowania zmian strukturalnych w dwuwarstwie. Ponieważ toksyczność fenyłowych pochodnych cyny może być związana ze zmianami strukturalnymi, jakie te związki powodują w dwuwarstwach, można zatem przypuszczać, iż dodatek DTAC (głównie DTAC) obniża toksyczność difenylochlorocyny i trifenylochlorocyny.

Oddziaływanie halogenków benzyldimetylododecyloamoniowych z błonami modelowymi.

B. Różycka-Roszak, A. Przyczyna

Katedra Fizyki i Biofizyki, Akademia Rolnicza, Wrocław

Badano wpływ halogenków benzyldimetylododecyloamoniowych (DBcAX) na przejścia fazowe modelowych błon fosfolipidowych modyfikowanych cholesterolem.



Badane związki posiadają różne przeciwjony (Cl, Br, J), które w różny sposób mogą modyfikować strukturę wody. W celu uwypuklenia wpływu jonów na strukturę wody badane związków dodawano bądź do „fazy lipidowej” (metoda B) bądź do fazy wodnej (metoda A). Pomiar wykonywano metodą skaningowej kalorymetrii skaningowej (DSC). Wpływ jednego z badanych związków (DBcAC) na przejścia fazowe fosfatydylocholine modyfikowanej różnymi ilościami cholesterolu przedstawiono na rysunku.

Większe obniżenie temperatury głównego przejścia fazowego (T_m) obserwowano, gdy związki były dodawane do błony poprzez fazę wodną. Natomiast w przypadku błon nie modyfikowanych cholesterolem obserwowano efekt przeciwny – badane związki bardziej obniżały T_m gdy były dodawane do liposomów poprzez „fazę lipidową”. Wpływ poszczególnych związków (efekt przeciwjonu) na T_m zależał od tego w jaki sposób związek był dodawany do liposomu (metoda A bądź B) oraz od zawartości cholesterolu w błonie.

Badanie transportu protonów przez błony liposomów modyfikowanych LHCII

E. Sidor¹, A. Wardak², W. Maksymiec³, Z. Krupa³,
W. I. Gruszecki¹

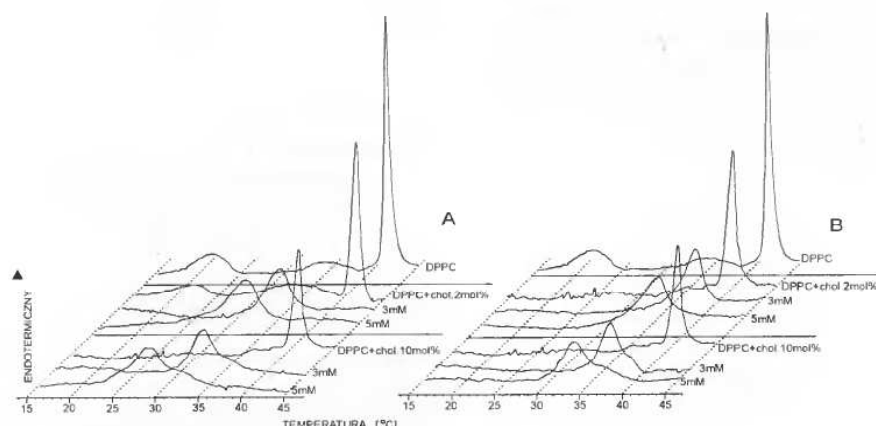
¹Instytut Fizyki, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin

²Zakład Fizyki Ogólnej, Politechnika Lubelska, Lublin

³Instytut Biologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin

Głównym zadaniem kompleksów białkowo-barwnikowych LHCII jest przechwytywanie energii świetlnej oraz przekazywanie jej do centrum reakcji fotosystemu II (PSII), ale interesujące są również badania wskazujące na udział LHCII w transporcie protonów przez błony tylakoidów.

Prezentowane badania dotyczą wpływu LHCII na transport protonów przez dwuwarstwowe błony małych liposomów (średnica ok. 100 nm) z lecytyny jajowej. Liposomy modyfikowano przez inkorporację kompleksów LHCII, a w badaniach kontrolnych fragmentów błon tylakoidów wzbogaconych PSII (BBY) lub pozostawiano bez modyfikacji. Wnętrza liposomów zawierały wskaźniki pH: fluorescencyjny – trójsiarczan piraniny (PTS) lub absorpcyjny – czerwień krezolowa (CR). Przez dodanie HCl lub KOH do zawiesiny liposomów uzyskiwano gradient pH na błonie. Badano zmiany w czasie fluorescencji PTS lub absorpcji CR dla wybranych długości światła, charakterystycznych dla danego wskaźnika. Wynikają one ze zmian pH wewnątrz liposomów spowodowanych przenikaniem protonów przez błonę. Stwierdzono wzrost przepuszczalności dla protonów błon liposomów modyfikowanych LHCII w stosunku do błon liposomów niemodyfikowanych. W badaniach obserwowano wpływ światła na kinetykę przenikania protonów przez błony liposomów modyfikowanych LHCII, wiązaną z indukowaną światłem zmianą stopnia agregacji LHCII w błonie.



Rys. (Różycka-Roszak *et al.*)

Dlaczego centra reakcji fotosystemu II są uszkodzane przy umiarkowanym oświetleniu

J. Sielewiesiuk

Instytut Fizyki, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin

Przyjmuje się, że fotouszkodzenia fotosystemu II (PSII) są inicjowane wzbudzeniem P680 w sytuacji, kiedy pierwszy chinonowy akceptor elektronu Q_A jest zredukowany. Takiego stanu Q_A należy się spodziewać przy natężeniach światła nasycających fotosyntezę. Tymczasem liczba uszkodzonych cząsteczek białka D1, wchodzącego w skład centrum reakcji PSII, jest proporcjonalna do iloczynu natężenia światła i czasu naświetlania liścia. Rezultat nie zależy przy tym od tego, czy mamy do czynienia ze światłem nasycającym fotosyntezę czy z oświetleniem umiarkowanym.

W niniejszym doniesieniu proponuję wyjaśnienie tych danych. Zakładam, że wszystkie pracujące centra reakcji PSII pracują na maksymalnych obrotach niezależnie od natężenia światła. Wraz ze wzrostem natężenia światła wzrasta natomiast liczba aktywnych centrów reakcji. Wydzielenie jednej cząsteczki O_2 wymaga zgromadzenia na klastrze manganowym kompleksu utleniającego wodę czterech równoważników utleniających. Następuje to w kolejnych czterech reakcjach fotochemicznych zachodzących na tym samym centrum reakcji PSII. Jeśli kompleks utleniający wodę może w stanach pośrednich ulegać niepożądanemu redukcji do niższych stopni utlenienia, to układ zawierający mniejszą liczbę części pobudzonych centrów aktywnych będzie miał wyższą wydajność kwantową. W miarę prosty model przemian kompleksu utleniającego wodę przewiduje, że jeśli wspomniana wyżej pasożytnicza redukcja ma szybkość porównywalną z szybkością najwolniejszego stadium w cyklu reakcji wydzielających tlen a liczba aktywnych centrów reakcji jest zmieniana tak, żeby zapewnić maksymalną wydajność kwantową procesu, to nawet przy bardzo niskich natężeniach światła częstość pobudzania aktywnych centrów reakcji jest taka sama jak w świetle nasycającym. W konsekwencji, również prawdopodobieństwo uszkodzenia takich centrów jest takie samo jak w świetle nasycającym fotosyntezę. Wraz ze wzrostem natężenia światła wzrasta jedynie liczba aktywnych i przez to narażonych na uszkodzenie centrów reakcji.

Testowanie efektywności radioterapii jodem (^{125}I) względem czerniaka zlokalizowanego w oku chomika

A. Skwara¹, M. Bac¹, S. Pająk¹,
B. Romanowska-Dixon², K. Urbańska¹

¹Instytut Biologii Molekularnej,
²Katedra i Klinika Okulistyki Collegium Medicum
Uniwersytet Jagielloński, Kraków

Weześniejsze badania pokazały, że aplikatory jodowe (^{125}I) są bardziej skuteczne niż rutenowe (^{106}Ru) w terapii eksperymentalnego czerniaka zlokalizowanego w oku chomika.

W celu dalszej poprawy efektów leczenia jodem przetestowano: (1) większe dawki promieniowania (10 i 14 Gy); (2) dwa różne sposoby frakcjonowania dla dawki 10 Gy (2,5-2,5-2,5-2,5 – frakcjonowanie równymi dawkami oraz 4,0-2,0-2,0-2,0 – frakcjonowanie z tzw. „dawką uderzeniową”); (3) różną wielkość guzów w momencie rozpoczęcia terapii (od 0,25 do 1,0 mm – średnia średnica guza). Kryterium oceny skuteczności leczenia był czas wzrostu guzów w przedniej komorze oka (wczesne efekty) oraz występowanie i masa przerzutów w płucach (późne efekty).

Zaobserwowano wyraźny wpływ: (1) wielkości dawki promieniowania na czas wzrostu guzów i masę przerzutów: im większa dawka tym wolniejszy wzrost guzów i mniejsza masa przerzutów w stosunku do guzów nietraktowanych promieniowaniem; (2) frakcjonowanie z tzw. „dawką uderzeniową” powoduje całkowitą regresję guzów i brak przerzutów do 70 dnia po implantacji (w kontroli występują przerzuty u 100% zwierząt w 40 dniu od implantacji); (3) efekt działania napromieniania z tzw. „dawką uderzeniową” zależy od wielkości guza w momencie rozpoczęcia terapii: dla guzów nieprzekraczających 0,4 mm (małe guzy) obserwowana jest całkowita regresja i zahamowanie wzrostu przerzutów do 70 dnia po implantacji, natomiast dla guzów większych niż 0,4 mm obserwuje się jedynie zahamowanie wzrostu trwające 9 dni, po czym następuje dalszy wzrost guzów w tempie porównywalnym z guzami kontrolnymi.

Struktura dimeru FMN otrzymana metodami modelowania molekularnego

B. Smyk, H. Grajek

Katedra Fizyki i Biofizyki,
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Olsztyn

Flavomononukleotyd (FMN) jest fotoreceptorem i koenzymem w wielu reakcjach biologicznych. Badanie procesu dimeryzacji jest ważne ze względu na zjawiska przekazywania energii w których flaviny biorą udział. W pracy Grajek i wsp. (*Biophys. Acta* 1986. 881, 241-

247 została zaproponowana struktura dimeru FMN wyznaczona doświadczalnie. W obecnej pracy otrzymano strukturę dimeru za pomocą obliczeń metodami modelowania molekularnego. Korzystano z programu komputerowego HyperChem w wersji 5.02. Zastosowano zarówno metody obliczeniowe oparte na mechanice klasycznej jak i kwantowej. Zoptymalizowano geometrię cząsteczki FMN stosując metodę klasycznego pola silowego MM+, jak i półempiryczną, kwantową PM3. Następnie obliczono strukturę dimeru FMN zbliżając do siebie dwie cząsteczki ułożone jedna nad drugą i pozwolono działać siłom odpychającym stosując pole klasyczne MM+, a następnie PM3. W wyniku tego uzyskano strukturę dimeru w którym pierścienie izoalokszynowe usytuowane są równolegle względem siebie wykazując lekkie skręcenie wzdłuż długiej osi i lekkie przesunięcie wzdłuż osi krótkiej. Odległości pomiędzy poszczególnymi atomami w angstrmach wynoszą odpowiednio:

N5, N10 – 3.46 1 para, N5, N10 – 3.45 2 para
C4, N1 – 3.59 1 para, C4, N1 – 3.54 2 para
C6, C9 – 3.70 1 para, C6, C9 – 3.70 2 para

Powyższe dane dobrze zgadzają się z wcześniejszymi wynikami badań spektroskopii absorpcyjnej z zastosowaniem teorii Kasy (Grajek *et al.*, 1986) oraz spektroskopii NMR (Kainosho *et al.*, *Biochemistry* 1972, 11, 741-752)

Po uzyskaniu struktury dimeru w próżni przystąpiono do dalszych obliczeń w otoczeniu 302 cząsteczek wody. Struktura dimeru zasadniczo się nie zmieniła. Zwiększyła się jedynie nieznacznie odległość pomiędzy poszczególnymi atomami pierścienia izoalokszynowego. Metoda ta ujawniła niewielkie przesunięcia pierścieni względem siebie i niejednakowe odległości pomiędzy poszczególnymi atomami leżącymi naprzeciw siebie.

Wpływ światła długofalowego na utlenianie oleju rzepakowego

B. Smyk, M. Socha

Katedra Fizyki i Biofizyki,
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Olsztyn

W oleju rzepakowym obok innych składników występują karotenoidy i chlorofile. Wiadomo, że barwniki te wpływają na proces utleniania kwasów tłuszczowych. Karotenoidom na ogół przypisuje się rolę hamującą a chlorofilom przyspieszającą ten proces. Czynniki wpływającymi na szybkość utleniania są tlen i światło. W niniejszej pracy zbadano wpływ światła długofalowego z zakresu 610-700 nm na szybkość procesu utleniania.

W celu przeprowadzenia badań zbudowano układ do naświetlenia, w którym źródłem światła była bezozonowa lampa ksenonowa 150 W. Próbkę mieszano mieszanym magnetycznym i termostatowano z dokładnością do

$\pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Zmiany natężenia światła oraz zmiany temperatury rejestrowano sposobem ciągłym. Cały proces naświetlania trwał 12-15 godzin.

Olej rzepakowy tłoczono „na zimno” w prasie ślimakowej i sączono przez bibułę filtracyjną. Tak przygotowany olej umieszczano w zlewce i naświetlano stosując filtry typu cut-off. Jeden z nich nie przepuszczał promieniowania do 610 nm, a drugi do 700 nm. Jako odnośnik mierzono zmiany w próbce oleju przy włączonej ale zasłoniętej lampie ksenonowej. W ten sposób sprawdzono wpływ światła na utlenianie oleju naświetlając próbki w zakresie absorpcji chlorofili i feofityn. Do detekcji zmian stosowano pomiar absorbancji próbek oleju rozpuszczonych w n-heksanie w zakresie widmowym od 220 do 750 nm oraz mierzono liczbę nadtlenkową POV.

Uzyskane wyniki pozwalają twierdzić, że naświetlanie próbek oleju światłem o długości fali większej niż 600 nm akceleroje proces utleniania, zaś o długości fali większej niż 700 nm nie wpływa na ten proces.

Można więc sądzić, że proces utleniania zachodzi poprzez stan wzbudzony feofityny, która prawdopodobnie aktywuje cząsteczkę tlenu do stanu singletowego, a ten z kolei inicjuje proces utleniania kwasów tłuszczowych w oleju rzepakowym.

Fluorescencyjne badania oddziaływania izoform białka eIF4E z analogami 5'-końca mRNA

A. Stachelska¹, Z. Wiczcerek¹, M. Pietrzak¹,
M. Jankowska-Anyska², E. Darżynkiewicz³

¹Katedra Fizyki i Biofizyki,

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Olsztyn

²Wydział Chemii, Uniwersytet Warszawski,

³Zakład Biofizyki, Uniwersytet Warszawski

Etapem limitującym wypadkową szybkość procesu translacji jest przyłączenie kompleksu rybosomalnego 43S do mRNA. Jest ono regulowane przez eukariotyczny czynnik inicjujący eIF4E, będący kompleksem białek o wysoko wyspecjalizowanych funkcjach. W skład tego kompleksu wchodzi: eIF4G – pełniące rolę łącznika mRNA, eIF4A – spełniające funkcję helikazy rozplatającej 5'-koniec mRNA oraz podjednostki eIF4E – rozpoznające strukturę kapu 5'-końca mRNA. W odróżnieniu od innych organizmów eukariotycznych, w komórkach nicienia *Caenorhabditis elegans* ponad 70% mRNA posiada w strukturze kapu 2.2.7-trimetyloguanozynę (TMG).

Metodą wygaszania fluorescencji białka zbadano zdolność wiązania analogów 7-metyloguanozyny (MMG) i 2.2.7-trimetyloguanozyny oraz guanozyny przez trzy z pięciu znanych izoform eIF4E z *C. elegans* (Jankowska-Anyska *et al.*, *Cell* 1997, 89, 951-961; Keiper *et al.*, *J. Biol. Chem.* 1998, 273, 10538-10542), tj.

IFE-3, IFE-4 i IFE-5. W celu wyznaczenia stałych asocjacji białek z ligandami zastosowano podejście uwzględniające efekt filtru wewnętrznego (Wieczorek *et al.*, *Z. Naturforsch* 1999, **54c**, 278-284; Niedźwiczka-Kornaś *et al.*, *Collection Symp. Ser* 1999, **2**, 214-218) i numeryczne nieliniowe dopasowanie krzywej do punktów pomiarowych. Jedynie IFE-5 wykazywało podobne powinowactwo do analogów TMG i MMG. Pozostałe przebadane izoformy eIF4E silnie wiązały się z analogami MMG, natomiast oddziaływania z TMG były słabe. Stałe wiązania TMG kapu przez IFE-5 były około 100 razy większe niż w przypadku IFE-3 i IFE-4. Uzyskane wyniki są zgodne z danymi otrzymanymi metodą chromatograficzną (Keiper *et al.*, *J. Biol. Chem.* 2000, **275**, 10590-10596). W granicach błędów metody nie stwierdzono oddziaływań z niemetylowanymi analogami kapu.

Możliwość wiązania obu kapów przez IFE-5 skłania do rozważań nad specyficznością rozpoznawania mRNA kapu znajdującego się na 5'-końcu mRNA przez białko inicjujące proces translacji. Wyjaśnienie roli poszczególnych izoform białka eIF4E oraz ich udziału w inicjacji translacji wymaga dalszych intensywnych badań.

Badania wspierane przez KBN 6 P04A 055 17 oraz BS 070 600. 0802.

Wpływ wysiłku fizycznego na zmiany parametrów krwinkowych u 16-18 letnich piłkarzy oceniany różnymi testami sprawnościowymi

A. Stanjek¹, A. Kochańska-Dziurawicz¹,
A. Bijak¹, A. Bogacz¹, P. Wylęzek²,
U. Szmatlan-Gabrys³

¹Katedra i Zakład Diagnostyki Izotopowej i Radiofarmaceutyków.

Śląska Akademia Medyczna, Sosnowiec.

²Instytut Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego.

³Akademia Wychowania Fizycznego Katowice

Celem naszych badań była ocena zmian parametrów krwinkowych w czasie wykonywania dwóch rodzajów testów sprawnościowych 30-sekundowego i długotrwałego (17±2 min) przez 16-18 letnich piłkarzy.

Badaniami objęto 36 piłkarzy klubu sportowego. 26 zawodników (średnia wieku 17,0±0,8 lat, średnia wzrostu 178,3±6,8 cm, średnia masa ciała 68,3±8,0 kg) poddanych zostało próbie ze stopniowo wzrastającym obciążeniem (dobieranym indywidualnie) do odmowy dalszego wykonywania. Test ten wykonywany był na cykloergometrze rowerowym. Średni czas trwania testu to 17±2 minuty. Próba ta służy do określenia wielkości max mocy tlenowej, efektywności tlenowej oraz pozwala ocenić pojemność beztlenową. 10 piłkarzy (średnia wieku 17,1±0,9 lat, średnia wzrostu 175,7±6,2 cm, średnia masa ciała 65,6±7,4 kg) poddanych zostało 30

sekundowemu testowi Wingate w czasie którego zawodnik wykonuje max liczbę obrotów przy indywidualnie dobranym obciążeniu. Liczbę obrotów rejestruje się w pięciosekundowych okresach. Test Wingate pozwala określić max moc i wydolność beztlenową. Krew do oznaczeń pobierano na antykoagulant przed i po ukończeniu testów z ułucia żyły łokciowej. Uzyskane wyniki zamieszczono w tabeli:

Niezależnie od rodzaju wysiłku fizycznego u młodocianych zawodników uprawiających piłkę nożną wykazano istotny statystycznie wzrost ocenianych parametrów krwinkowych.

Stwierdzono, że zarówno czas jak i odmienny charakter przemian biochemicznych zachodzących w organizmie pod wpływem wykonywanych różnych testów wpływa podobnie na zmiany i odpowiedź układu krwionośnego na wysiłek fizyczny.

Badania statutowe NN-4-047/00 i NN-1-047/01. Zgoda Komisji Bioetycznej NN-013-260/1/01.

Amfifilowe właściwości lipidów fenolowych

M. Stasiuk, A. Kozubek

Instytut Biochemii i Biologii Molekularnej,
Uniwersytet Wrocławski

Lipidy fenolowe, związki o charakterze amfifilowym, występujące w materiale roślinnym (Wenkert *et al.*, *J. Org. Chem.* 1964, **29**, 435-439) oraz bakteryjnym (Bitkov *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta* 1992, **1108**, 224-232), są alkilowymi lub alkenyłowymi pochodnymi fenolu, rezorcyny lub pirokatechiny. Wykazano, że przejawiają one silne powinowactwo do dwuwarstwy fosfolipidowej, co jest wynikiem niewielkiej rozpuszczalności tych związków w roztworach wodnych. Miarą tego zjawiska jest wartość współczynnika podziału oktanol/woda, który dla 1,3-dihydroksy-5-n-pentacylobenzenu jest wysoki i wynosi $\log p_{ow}$ 7,4 (Kozubek, *Acta Biochim. Polon.* 1995, **42**, 247-255). W niniejszym doniesieniu przedstawiono metodę wyznaczania CMC szeregu homologicznego lipidów rezorcynolowych wykorzystującą zmiany ciśnienia powierzchniowego (Kozubek *et al.*, 1995; Devinsky *et al.*, *J. Colloid Interf. Sci.* 1985, **105**, 235-239) oraz wyniki badań nad głębokością wbudowywania wybranych homologów lipidów fenolowych w dwuwarstwę fosfolipidową. Wykazano, że wartości CMC wyznaczone dla szeregu homologicznego lipidów rezorcynolowych zawierają się w stosunkowo wąskim zakresie stężeń (0,52-2,65 mM) i są zależne od długości łańcucha węglowodorowego obecnego w cząsteczce związku. Badania nad lokalizacją błonową cząsteczek lipidów fenolowych prowadzone metodą pomiaru zmian polaryzacji fluorescencji znaczników fluorescencyjnych preinkorporowanych w dwuwarstwę fosfolipidową (NBD-PE oraz

TMA-DPH) wykazały, że cząsteczki badanych związków lokują się w dwuwarstwie na poziomie ugrupowania estrowego występującego w cząsteczkach fosfolipidów.

Badanie organizacji kantaksantyny w błonach lipidowych

A. Sujak¹, W. I. Gruszecki²

¹Katedra Fizyki, Akademia Rolnicza, Lublin,

²Instytut Fizyki, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin

Spośród wielu barwników karotenoidowych natura „wybrała” tylko dwa ksantofile o podobnej budowie cząsteczek: luteinę i zeaksantynę umieszczając w siatkówce i płamce żółtej oka ich mieszaninę. Zauważono, iż w przypadku długotrwałego spożywania pokarmów bogatych w inny karotenoid – kantaksantynę – istnieje możliwość jego odłożenia się w siatkówce oka w postaci dwójłomnych, dość dużych kryształów, których obecność może spowodować czasową bądź trwałą retinopatię. Zagadnienie wydaje się być interesującym z uwagi na fakt powszechnego użycia kantaksantyny w przemyśle spożywczym i kosmetycznym.

Przedstawione wyniki badań wstępnych nad kantaksantyną mają na celu porównanie właściwości fizycznych modelowych błon lipidowych w obecności luteiny, zeaksantyny oraz kantaksantyny. Z analizy porównawczej kąta nachylenia cząsteczki luteiny, zeaksantyny, oraz kantaksantyny do osi normalnej do płaszczyzny dwuwarstwy (LUT w EYPC – 67°, w DPPC – 57°; ZEA w EYPC – 36°, w DPPC – 44°; KAN w EYPC – 29°, w DPPC – 44°) wynika, iż luteina przyjmuje najprawdopodobniej dwa położenia, z których jedno to położenie równoległe względem płaszczyzny dwuwarstwy; kantaksantyna w przypadku błon lipidowych z DPPC zorientowana jest jak zeaksantyna. Analiza widm absorpcyjnych liposomów z ksantofilami wykazała, iż agregacja luteiny i zeaksantyny w błonach ściśle zależy od stanu fizycznego lipidu oraz od zawartości molowej

ksantofilu w stosunku do lipidu. W przypadku kantaksantyny wpływ temperatury na stopień agregacji barwnika nie zaznacza się, istotna jest raczej jej molowa koncentracja w stosunku do lipidu. Badania wskazują na istnienie stężenia progowego kantaksantyny (~0,5 mol%), przy którym chętnie formuje ona agregaty odkładane w postaci kryształków w siatkówce oka.

Jak wynika z analizy badań dyfraktometrycznych nad periodycznością (grubością) dwuwarstw lipidowych luteina i kantaksantyna wywołują większy wpływ porządkujący na strukturę lipidu. Kantaksantyna przy tym zachowuje się odmiennie w przypadku temperatur bliskich temperaturze przejścia fazowego w DPPC (ok. 41°C) zmniejszając znacznie grubość dwuwarstwy (o ok. 3 Å). Planowane są badania monowarstw, kalorymetryczne i FTIR kantaksantyny w błonach lipidowych w celu wyjaśnienia cech fizycznych odpowiedzialnych za jej odkładanie się w błonach lipidowych siatkówki oka.

Oddziaływania pochodnych zasad pirymidynowych z BSA

A. Sulkowska¹, M. Kłoczko¹, L. Sulkowski²

¹Katedra i Zakład Farmacji Fizycznej,

Śląska Akademia Medyczna, Sosnowiec

²Studium Doktoranckie, Śląska Akademia Medyczna, Zabrze

Albumina surowicy krwi pełni ważną rolę w wiązaniu i transporcie leków. Obecności słabym wiązań chemicznych między lekami a białkiem powoduje, że substancja lecznicza uwalnia się stopniowo z powstałego kompleksu wykazując działanie terapeutyczne. Badanie charakteru oddziaływań pomiędzy substancjami leczniczymi i białkami surowicy krwi pozwala na ocenę skuteczności działania farmakologicznego.

W ostatnich latach wzrosło zainteresowanie pochodnymi zasad pirymidynowych jako substancjami stosowanymi w infekcjach wirusowych. Leki te, podane drogą iniekcji, transportowane przez albuminę surowicy

Tabela (Stanjek *et al.*)

	Test z wzrastającym obciążeniem			Test Wingate		
	przed	po	p	przed	po	p
Eryocyty x 10 ⁶ /mm ³	4,53±0,29	4,757±0,28	0,001	5,214±0,25	5,461±0,24	0,001
Hemoglobina (g/dl)	14,09±1,01	14,54±0,89	0,001	14,18±0,75	14,75±0,71	0,001
Hematokryt (%)	43,2±2,8	45,3±2,7	0,001	43,6±2,3	45,7±2,2	0,001
Leukocyty x 10 ³ /mm ³	5,57±0,95	8,6±1,85	0,001	7,57±0,87	11,19±1,14	0,001

p – istotność statystyczna dla testu t-Studenta

krwi, wykazując działanie lecznicze. W celu oceny wpływu budowy pochodnych uracylu na oddziaływanie albuminy surowicy krwi wołowej (BSA) wybrano kilka modelowych związków: uracyl, 5-jodouracyl i urydynomonofosforan.

Zastosowana metoda wygaszania oparta jest na analizie stopnia zaniku fluorescencji BSA w obecności czynników gaszących, ułatwiających przejście cząsteczki BSA z wzbudzonego stanu singletowego do poziomu tripletowego, z którego emisja już nie następuje. Stwierdzono, że uracyl i jego pochodne wygaszają fluorescencję BSA. Podobne zjawisko zaobserwowano dla pochodnych adeniny (Sulkowska *et al.*, *J. Mol. Structure* 2001, 565-566, 209-212).

Roztwór białka wzbudzano promieniowaniem 280 nm lub 295 nm, otrzymując widma emisyjne w zakresie odpowiednio 290-400 nm i 305-400 nm. Promieniowanie o długości 295 nm wzbudza reszty tryptofanu, podczas gdy promieniowanie o długości 280 nm wzbudza oprócz grup tryptofanowych także reszty tyrozyny (Zhang *et al.*, *A. Biochem. Biophys.* 1999, 364, 195-202).

Cząsteczka BSA wzbudzona promieniowaniem o długości 295 nm wykazuje silny pik emisyjny przy 343 nm. Oddziaływanie 5-jodouracylu z BSA powoduje zmniejszenie fluorescencji białka o 98% bez zmiany położenia sygnału.

Po naświetleniu BSA promieniowaniem 280 nm, wzbudzającym tryptofan i tyrozinę, uzyskano widmo emisyjne o maksimum 336 nm lecz o 2-krotnie większej intensywności. Nie zaobserwowano wpływu długości fali promieniowania wzbudzającego na efekt wygaszania. Sugeruje to, że oddziaływanie między pochodnymi uracylu, a albuminą surowicy krwi wołowej ma miejsce w hydrofobowej subdomenie IIA, gdzie umiejscowiona jest grupa Trp214. Nie ma na niego prawdopodobnie wpływu obecność reszt tyrozyny w białku.

Wieloparametrowa klasyfikacja krzywych klirensowych za pomocą sieci neuropodobnych

S. Szczepny, B. Turczyński

Katedra i Zakład Biofizyki, Śląska Akademia Medyczna, Zabrze

Prezentowane wyniki badań dotyczą modelowania zjawisk związanych z transportem znacznika izotopowego w tkankach – z uwzględnieniem klirensu, dyfuzji wewnątrztkankowej oraz wpływu geometrii układu pomiarowego na krzywe zaniku aktywności. Parametry tych modeli pozwalają m.in. na ocenę mikrokrażenia krwi w mięśniach na podstawie doświadczalnie wyznaczonych krzywych zmian aktywności inkorporowanego znacznika izotopowego.

Wieloparametrowe modele uwzględniające zarówno klirens, jak również dyfuzję w ośrodkach anizotropowych i niejednorodnych cechują się wysokim stopniem złożoności, zaś aproksymacja ich parametrów w oparciu o klasyczne metody regresji jest bardzo trudna.

Sztuczne sieci neuronowe mogą być zastosowane zarówno do aproksymacji parametrów krzywych klirensowych, jak też do klasyfikacji tych krzywych, tj. do wykrywania ukrytych powiązań i cech pozwalających podzielić badane krzywe na grupy.

W pracy przedstawiono wyniki badań dotyczące doświadczalnych krzywych klirensowych oraz krzywych wygenerowanych teoretycznie, na podstawie odpowiednich modeli.

Zastosowano sieci jednokierunkowe, wielowarstwowe, zbudowane z neuronów o sigmoidalnej funkcji aktywacji i uczone metodą wstecznego przenoszenia błędów oraz sieci o radialnych funkcjach bazowych (RBF).

Uzyskane wyniki wskazują na dużą przydatność sztucznych sieci neuronowych do badań klirensowych. Szczególnie zdolności klasyfikacyjne sieci neuronowych otwierają nowe możliwości zastosowań, także w tych przypadkach, gdy nie dysponujemy odpowiednim modelem matematycznym badanego procesu.

Wpływ trifluoperazyny na aktywność kanałów potasowych typu Kv1.3 w limfocytach T

A. Teisseyre, K. Michalak

Katedra Biofizyki, Akademia Medyczna, Wrocław

Badania elektrofizjologiczne z użyciem techniki „patch-clamp” dowiodły istnienia w limfocytach T (LT) szeregu różnych typów kanałów jonowych, do najważniejszych z których zalicza się kanały potasowe napięciowozależne typu Kv1.3. Kanały te odgrywają istotną rolę w funkcjonowaniu LT zarówno w stanie fizjologii, jak i patologii (Teisseyre, *Post. Hig. Med. Dośw.* 1999, 53, 383-397).

Do tej pory niewiele wiadomo na temat wpływu fenotiazyn na aktywność tych kanałów. Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu najczęściej stosowanej fenotiazyny – trifluoperazyny (TFP) na aktywność kanałów potasowych typu Kv1.3 w LT. Badania przeprowadzono na LT wyizolowanych z krwi dawców zdrowych z użyciem techniki „patch-clamp” w konfiguracji „whole-cell” (Hamill *et al.*, *Pflügers Arch.* 1981, 391, 85-100).

Wyniki badań potwierdziły, że TFP użyte w stężeniach 10-300 μM , blokuje badane kanały. Wielkość efektu blokującego jest zależna od stężenia TFP. Przy stężeniu wynoszącym 10 μM , zablokowaniu ulega ok. 20% kanałów, przy stężeniu równym 50 μM , blokadzie ulega połowa kanałów, zaś całkowity blok występuje przy stężeniu równym 300 μM . Efekt TFP jest odwracalny.

calny. Blokujący efekt TFP na badane kanały nie wiąże się ze zmianą napięciowej zależności aktywacji i inaktywacji prądów potasowych. Zmianie nie ulega również kinetyka aktywacji prądów potasowych. Natomiast kinetyka inaktywacji badanych prądów ulega istotnemu przyspieszeniu – stała czasowa inaktywacji maleje z ok. 200 ms w warunkach kontrolnych do ok. 10 ms po aplikacji 50 μ M. TFP. Blokujący efekt TFP jest zależny od potencjału błonowego – jest znacznie bardziej widoczny przy potencjale +60 mV niż przy –20 mV. Otrzymane wyniki wskazują na to, że TFP blokuje kanały potasowe typu Kv1.3 w LT na drodze bezpośredniego oddziaływania na badane kanały w oparciu o mechanizm „bloku kanału otwartego”. Sugeruje się, że blokujące działanie TFP odbywa się i jest niezależne od inhibicji kalmoduliny przez TFP.

Interakcja dehydrogenazy mleczanowej z fosfolipidami.

Wpływ struktury fazy lipidowej.

G. Terlecki¹, E. Czapińska¹, J. Gutowicz²

¹Katedra i Zakład Biochemii Lekarskiej,
Akademia Medyczna, Wrocław

²Instytut Mikrobiologii, Uniwersytet Wrocławski

Nasze wcześniejsze badania wykazały wiązanie się dehydrogenazy mleczanowej (LDH) z fosfolipidowymi strukturami. Jako wyjaśnienie tego zjawiska proponowaliśmy niespecyficzną lub mało specyficzną adsorpcję tego białka na dwuwarstwowych strukturach (domenach) lipidowych. Użycie do badań niejonowego detergentu (Tween 20), w stężeniach, przy których nie obserwuje się zmian stanu konformacyjnego i zmian aktywności katalitycznej LDH, a jednocześnie zmieniła strukturę fazy lipidowej, dawało możliwość zweryfikowania powyższej hipotezy. Ponieważ fosfolipidy kwasne (anionowe) np. fosfatydyloseryna (PS), fosfatydyloinozytol (PI), kardiolipina (CL) znacznie silniej wpływają na aktywność formy mięśniowej LDH (M_4) niż formy sercowej (H_4), stąd też ta pierwsza została wybrana do doświadczeń (LDH- M_4 z mięśni świni). Aktywność enzymu mierzono metodą spektrofotometrycznego śledzenia zmian stężenia NADH (zmiana A_{340}). Pomiarów parametrów fluorescencji wykonywano za pomocą spektrofluorymetru Perkin-Elmer LS-50B w Zakładzie Biofizyki AM we Wrocławiu. Poprzez systematyczną zmianę proporcji molowych fosfolipid/detergent osiągnęto stopniowe przesuwanie stanu równowagi od struktury dwuwarstw lipidowych (liposomy) do micelli mieszanych fosfolipid-detergent. Stwierdzono, że: a) stopniowe niszczenie dwuwarstwowych struktur fosfolipidowych (PS, CL) stopniowo znosi hamujące działanie badanych fosfolipidów na LDH, aż do jego zaniku; b) znoszenie hamującego działania nie jest zależne od wielkości ładunku czą-

steczki fosfolipidu; c) wygaszanie natywnej fluorescencji tryptofanowej LDH powodowane obecnością dwuwarstwowych struktur fosfolipidowych (PS) jest stopniowo zmniejszane, aż do zupełnego zniesienia, wraz ze wzrostem stężenia detergentu tj. wraz z przesuwaniem równowagi między strukturami dwuwarstwowymi a micellami w kierunku micelli. Powyżej opisane zjawisko silnie zależy od pH środowiska. Uzyskane wyniki potwierdzają naszą hipotezę o kluczowej roli dwuwarstwowych raczej struktur fosfolipidowych niż innych w oddziaływaniu (wiązaniu) białko–fosfolipid. Wskazują również, że zmiany w oddziaływaniu w zależności od pH są głównie wynikiem indukowanych zmian w cząsteczkach enzymu.

Wpływ fosfolipidów na zmianę ruchliwości łańcucha kwasu polisjalowego.

A. Timoszyk, T. Janas

Zakład Biofizyki, Wyższa Szkoła Pedagogiczna, Zielona Góra

Kwas polisjalowy składa się z monomerów kwasu sjałowego połączonych liniowo wiązaniem α -2.8. Obecność kwasu sjałowego na powierzchni błony zmniejsza siły przylegania wpływając na zmiany kształtu komórek. Polimery kwasu sjałowego łącząc się z białkiem tworzą cząsteczkę N-CAM modulując oddziaływania między komórkami nerwowymi. Wpływ modelowych błon biologicznych w postaci liposomów fosfolipidowych na ruchliwość łańcucha kwasu polisjalowego był badany techniką ¹H-NMR. Modelowe błony biologiczne były modyfikowane ujemnie naładowanym kwasem fosfatydowym lub dodatnio naładowaną octadecylaminą. Obecność jednowarstwowych liposomów fosfolipidowych powodowała powstanie wzdłuż łańcuchów kwasu polisjalowego regionów sztywnych i bardziej ruchliwych. Powstanie sztywnych regionów łańcucha polySia jest wynikiem ich oddziaływania z modelowymi błonami fosfolipidowymi. Ruchliwość łańcucha polySia była obserwowana na widmie ¹H-NMR w postaci szerokości połówkowej pików ($\Delta v_{1/2}$) pochodzącego od trzech protonów z grupy metylowej znajdującej się w grupie acetylowej (-CO-CH₃) kwasu polisjalowego. Liposomy modyfikowane kwasem fosfatydowym powodowały wzrost ruchliwości łańcuchów kwasu sjałowego, czyli zmniejszenie ilości regionów sztywnych na łańcuchu polySia. Podobny efekt zaobserwowano w przypadku liposomów modyfikowanych octadecylaminą. Octadecylamina także zmniejszała sztywność łańcucha polySia. Efekt zwiększania się liczby regionów o większej ruchliwości łańcucha polySia był jednak mniejszy niż w przypadku liposomów modyfikowanych kwasem fosfatydowym. Powstanie takiej zależności jest związane z pojawieniem się dodatniego ładunku powierzchniowego na modyfikowanych błonach fosfolipidowych.

Termiczne właściwości tkanki kostnej w badaniach mikrokalorymetrycznych

II. Trębacz, K. Wójtowicz

Międzywydziałowy Zakład Biofizyki, Akademia Medyczna,
Lublin

Kolagen w tkankach zmineralizowanych jest zdecydowanie bardziej stabilny niż w tkankach miękkich, zarówno mechanicznie jak i termicznie. Metodą kalorymetrii różnicowej stwierdzono, że temperatura denaturacji kolagenu w kości była o ok. 90° wyższa niż dla kolagenu w skórze i wynosiła 155°C (Kronick & Cooke, *Connective Tissue Res* 1996, **33**, 275-282).

Dekompozycja kolagenu i spalanie produktów rozpadu zachodzi w temperaturach 250-450°C. Zmiany w minerałach kości zachodzą dopiero po ogrzewaniu powyżej 700°C (Bigi *et al.*, *J Inorg Biochem* 1997, **68**, 45-51).

W prezentowanej pracy zastosowano różnicową kalorymetrię skaningową do badania termodynamicznych procesów zachodzących w tkance kostnej w temperaturach wyższych niż temperatura denaturacji czystego kolagenu. Celem pracy jest ocena stabilności termicznej kolagenu oraz zbadanie procesów jego rozpadu w ogrzewanej tkance kostnej, jak i określenie wpływu jaki na procesy te wywiera obecność minerału.

Badania przeprowadzono na sproszkowanych próbkach tkanki korowej z kości udowej szczurów oraz tkanki gąbczastej z wołowej kości udowej. Kości pochodziły od zwierząt o różnym stopniu dojrzałości tkanki kostnej. próbki umieszczano w stalowym zamkniętym naczyniu i grzano w przedziale temperatur 50°C – 330°C. W każdej z badanych próbek stwierdzono istnienie dwóch endotermicznych przejść: T1 w temperaturze 150-160°C i T2 – 250-310°C. Przejście T2 jest wysoce kooperatywne i jego entalpia jest kilkukrotnie większa niż przejścia T1. Duże różnice entalpii pomiędzy badanymi próbkami mogą wskazywać, że obserwowane przejście fazowe pochodzi z rozpadu wiązań poprzecznych między niemi tropokolagenu, gdyż ilość tych wiązań zależy od stopnia rozwoju tkanki kostnej.

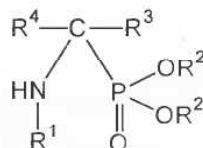
Aktywność elektrofizjologiczna niektórych związków fosforoorganicznych i mechanizm ich działania na błony plazmatyczne *Nitellopsis obtusa*

Z. Treła, A. Dziamska, J. Sarapuk

Katedra Fizyki i Biofizyki, Akademia Rolnicza, Wrocław

Zbadano wpływ nowych związków organofosforowych na potencjał membranowy i konduktancję komórek

internodalnych glonu *Nitellopsis obtusa* oraz na stabilność płaskich modelowych błon lipidowych (BLM). Badania BLM miały na celu określenie stężeń aminofosfonianów (CC) powodujących niszczenie błon w ustalonym arbitralnie czasie (3 min). Badane związki należą do tzw. aminofosfonianów cyklicznych i różniły się podstawnikami na atomach węgla (R³), fosforu (R²) i azotu (R¹):



Zgodnie z oczekiwaniami stwierdzono dobrą korelację między CC a wpływem aminofosfonianów na parametry elektrofizjologiczne. Najmniejszy wpływ na stabilność BLM oraz parametry błon glonów miał związek posiadający podstawnik R¹ = C₁₄H₂₉. Zgadza się to z wnioskami dotyczącymi zanikania aktywności biologicznej związków posiadających długie łańcuchy alkiłowe (Sarapuk & Kubica, *Cell Mol. Biol. Lett* 1998, **3**, 261-269). Zmniejszenie długości podstawnika R¹ oraz wzrost lipofilowości związku ze wzrostem długości podstawnika R³ dało w wyniku wzrost efektywności działania na wykorzystane błony biologiczne i modelowe.

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

Badania wykonano w ramach grantu Komitetu Badań Naukowych nr 6 P04G 050 17

Nauczanie biofizyki dla studentów anglojęzycznych Wydziału Lekarskiego II Akademii Medycznej w Poznaniu

M. Tuliszka, L. Kubisz, F. Jaroszyk

Katedra Biofizyki, Akademia Medyczna, Poznań

Rozwój gałęzi wiedzy związanych z medycyną powoduje nieustanny wzrost wymagań naukowo-technicznych, stawianych przyszłym lekarzom. Biofizyka i biofizyka medyczna nauczane obecnie na Wydziale Lekarskim II ma na celu wyposażenie studentów w wiedzę adekwatną do obecnych i przyszłych wymagań nowoczesnej diagnostyki opieki medycznej.

Zajęcia z biofizyki prowadzone są dla studentów z państw europejskich – cykl 6-letni i studentów z USA i Kanady – cykl 4-letni.

Program nauczania dla studentów cyklu 6-letniego obejmuje *podstawy biofizyki* realizowane w pierwszym semestrze na pierwszym roku studiów. Zajęcia obejmują 30 godzin wykładów i 45 godzin ćwiczeń laboratoryjnych i kończą się egzaminem. W drugim semestrze studenci biorą udział w dziewięciu 2-godzinnych seminariach z *biofizyki medycznej*. Program realizowany w ciągu I semestru obejmuje klasyczne zagadnienia wykładowe takie jak: wybrane zagadnienia dotyczące biofizyki komórki, biotermodynamiki, biofizyki układów krążenia, oddechowego, tkanki mięśniowej, zmysłu słuchu, zmysłu wzroku, podstawami biocybernetyki oraz zagadnienia dotyczące aktywności elektrycznej organizmów żywych. Biofizyka medyczna została podzielona na dwa obszary tematyczne. Pierwszy dotyczący podstaw fizycznych metod obrazowania, drugi związany z ekobiofizyką rozumianą jako wpływ czynników fizycznych na organizm człowieka.

Program kształcenia z zakresu biofizyki dla studentów z USA i Kanady, odbywających studia w cyklu 4-letnim, jest istotnie ograniczony. Obejmuje on tematy wykładowe ściśle powiązane z nauczaniem fizjologii. Są to dwa wykłady poświęcone układowi krążenia, wykład dotyczący procesów transportu oraz procesu wymiany ciepła w kontekście termoregulacji. Ponadto studenci tej grupy biorą udział w trzech seminariach poświęconych zmysłowi słuchu, zmysłowi wzroku oraz dynamice mięśnia.

Należy nieustannie podkreślać znaczenie, jakie ma nauczanie szeroko rozumianej biofizyki dla jakości kształcenia studentów na wydziałach lekarskich dla jakości przyszłej opieki medycznej. Przygotowanie przyszłych lekarzy do aktywności naukowo-technicznej jest niezbędne, aby sprostać wymaganiom stawianym przez rewolucję naukowo-techniczną obserwowaną w naukach medycznych.

Pochodna fenotiazyny powoduje separację faz w układach modelowych utworzonych z fosfatydyloetanoloaminy

O. Wesolowska¹, A. B. Hendrich¹,
N. Motohashi², K. Michalak¹

¹Katedra i Zakład Biofizyki, Akademia Medyczna, Wrocław

²Meiji Pharmaceutical University, Noshio, Kiyoose,
Tokio, Japonia

Pochodne fenotiazyn – popularne leki psychiatryczne – wykazują również aktywność jako modulatory oporności wielolekowej (MDR). Zjawisko MDR, polegające na jednoczesnej oporności komórek na wiele strukturalnie niepodobnych leków, jest obecnie jedną z największych przeszkód w skutecznej chemioterapii nowotworów. Mechanizm modulacji oporności przez fenotiazyny nie jest dotąd poznany, jednakże amfifilowy charakter tych związków sugeruje, że ich oddziaływanie z fazą lipido-

wą błony komórkowej może mieć kluczowe znaczenie w tym procesie. Za pomocą skaningowej kalorymetrii różnicowej (DSC) przebadaliśmy oddziaływanie nowo zsyntetyzowanej pochodnej: 2-trifluorometyl-10-(4-[metylosulfonylamido]butyl)-fenotiazyny z modelowymi układami lipidowymi utworzonymi z dimirystylofosfatydyloetanoloaminy (DMPE). W DMPE już przy stosunku molowym lek/lipid 0,02 temperatura głównego przejścia fazowego (T_M) ulega obniżeniu. Przy stosunku 0,04 w termogramie pojawia się dodatkowy pik o T_{max} niższej niż poprzedni, którego wysokość rośnie wraz ze wzrostem stężenia fenotiazyny. Przy stężeniach leku powyżej 0,08 oba piki wysoko- i niskotemperaturowy zaczynają zbliżać się do siebie i przy stosunku 0,12 obserwujemy ponownie jedno przejście o pośredniej wartości T_M . Wprowadzenie pochodnej fenotiazyny do układu obniża nieco entalpię przejścia (ΔH) w porównaniu z czystą DMPE. W zakresie stężeń leku, w którym współistnieją dwie fazy, ΔH nie zmienia się. Dopiero po zaniku separacji faz obserwujemy wyraźne obniżenie ΔH . Przyczyny powstawania separacji faz w DMPE, wywołanej przez pochodną fenotiazyny, nie są do końca wyjaśnione. Prawdopodobnie mogą istnieć dwa różne rodzaje oddziaływań leku z błoną lipidową. W niskich stężeniach leku dominuje jedno z nich, następnie ulega ono stężeniowemu wysyceniu, zaś drugie zaczyna manifestować się coraz silniej, co owocuje pojawieniem się nowego piku w termogramie. Chemiczna struktura leku wskazuje, że wspomniane dwa rodzaje oddziaływań mogą mieć związek z różnym układaniem się jego cząsteczek w sieci wiązań wodorowych spinającej główki polarnie DMPE.

Kompleksy melaniny z upigmentowanych grzybów glebowych z jonami Cd^{2+}

T. Witoszyńska¹, E. Buszman¹, B. Sosak-Świdarska²

¹Katedra i Zakład Chemii i Analizy Leków,

Śląska Akademia Medyczna, Sosnowiec

²Instytut Ekologii PAN, Dziekanów Lesny

Niektóre rodzaje grzybów glebowych zdolne są do syntezy melaniny – pigmentu zwiększającego zdolności przeżycia m.in. w warunkach stresów środowiskowych. Melaniny grzybowe są zlokalizowane głównie w ścianie komórkowej, częściowo we wnętrzu komórki, a także poza komórką jako melaniny zewnątrzkomórkowe. Ze względu na obecność szeregu grup funkcyjnych, stanowiących centra polimeru, takich jak grupy karboksylowe, hydroksylowe, fenolowe, chinonowe, aminowe, azot pierścieni aromatycznych, melaniny posiadają wiele potencjalnych miejsc wiążących jony metali.

We wcześniejszych badaniach wykazano, że jony Cd^{2+} dodane do pożywki hodowlanej modyfikują wzrost i pigmentację grzybów glebowych *Cladosporium clado-*

sporioides w porównaniu do hodowli kontrolnych – bez jonów metali.

Celem niniejszej pracy była ocena zdolności tworzenia kompleksów jonów Cd^{2+} z melaniną wyizolowaną z *Cladosporium cladosporioides*. Dla celów porównawczych analizie poddano również kompleksy jonów Cd^{2+} z grzybnią oraz z modelową DOPA-melaniną. Analizę jakościową wiązania jonów Cd^{2+} do próbek melanin przeprowadzono stosując metodę Scatcharda. Ilości jonów metali związanych z melaniną oznaczano metodą spektrofotometrii absorpcji atomowej.

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że w tworzeniu wszystkich analizowanych kompleksów uczestniczą co najmniej 2 klasy niezależnych miejsc wiążących: miejsca silnie wiążące ze stałą asocjacji $K_1 \sim 10^5 M^{-1}$ i miejsca słabo wiążące ze stałą asocjacji $K_2 \sim 10^3 M^{-1}$. Równocześnie stwierdzono większą trwałość kompleksów jonów Cd^{2+} z melaniną syntetyczną i wyizolowaną z *Cladosporium cladosporioides* w porównaniu do kompleksów jonów Cd^{2+} z grzybnią *Cladosporioides*.

Otrzymane wyniki wskazują na udział polimerów melaninowych w wiązaniu jonów Cd^{2+} przez upigmentowane grzyby glebowe.

Badania były finansowane z grantu KBN Nr 6PO4G 053 18

Czas reakcji i siła odpowiedzi w zadaniach percepcyjno-ruchowych o różnym stopniu trudności przy stymulacji bodźcami wzrokowymi i słuchowymi

D. Włodarczyk¹, P. Jaśkowski^{2,3}

¹Katedra Biofizyki, Akademia Medyczna w Poznaniu,

²Katedra Psychofizjologii, Akademia Bydgoska

³Dept. Neurology, Medical University of Lübeck, Germany

Van der Molen i Keuss (Keuss & van der Mollen, 1982; *Quart. J. Exp. Psych.*, **31**, 95-102) pokazali, że przy ekstremalnie dużych natężeniach (powyżej 85 dB) występuje paradoksalne wydłużenie czasu reakcji, jeżeli zadanie jest skomplikowane (np. paradigmat Simona).

Sanders (1983), dokonał jego interpretacji w ramach wprowadzonego przez siebie modelu stresu. Założył on mianowicie, że sygnał wejściowy powoduje wzrost poziomu bezpośredniego wzbudzenia prowadzący automatycznie do wzrostu aktywacji i skrócenia czasu reakcji. Jeżeli jednak zadanie jest bardziej złożone lub wymaga dokładności, korzystanie z szybkiej drogi aktywacji ruchowej może się okazać ryzykowne w tym sensie, że zbyt silne jej pobudzenie spowoduje wzrost liczby przedwczesnych lub błędnych odpowiedzi. Aby tego uniknąć konieczne staje się zablokowanie wpływu wzbudzenia na aktywację. To z kolei według Sandersa prowadzi do wydłużenia czasu reakcji. Idąc za myślą Sandersa, można wyjaśnić zarówno wydłużenie czasów reakcji dla ekstremalnie dużych natężeń bodźców słuchowych, jak i brak tego efektu dla bodźców wzrokowych, które – jak się powszechnie uważa – posiadają niewielkie właściwości wzbudzające.

Jeśli istotnie siła odpowiedzi odzwierciedla stan aktywacji, jak zakłada Sanders, paradoksalne wydłużenie czasów reakcji dla największych natężeń bodźca słuchowego oraz złożonych zadań psychoruchowych powinno mieć swoje odzwierciedlenie w wynikach siły nacisku.

Otrzymane wyniki wpływu natężenia bodźca na czas i siłę reakcji motorycznej w zadaniach percepcyjno-ruchowych o różnym stopniu trudności pozwoliły przede wszystkim zweryfikować słuszność założenia modelu Sandersa o istnieniu relacji między aktywacją i siłą odpowiedzi motorycznej. Wykazały, że siła odpowiedzi niezależnie od realizowanego zadania oraz modalności bodźca rośnie monotonicznie w funkcji natężenia bodźca, a zatem inaczej niż przewiduje to ten model. Ponadto, w pracy tej po raz pierwszy wykazano istnienie efektu van der Molena i Keussa w odniesieniu do bodźców wzrokowych pod warunkiem, że zastosowane są bodźce o odpowiednio dużych natężeniach i różniarach. Do tej pory uważano, że bodźce wzrokowe nie wywołują bezpośredniego wzbudzenia i w związku z tym nie podejrzewano istnienia tego efektu.

Badania finansowane z grantu KBN Nr HOIF 00315