

Рисунок 1. Пример спектра ЭПР спиновых зондов I и II

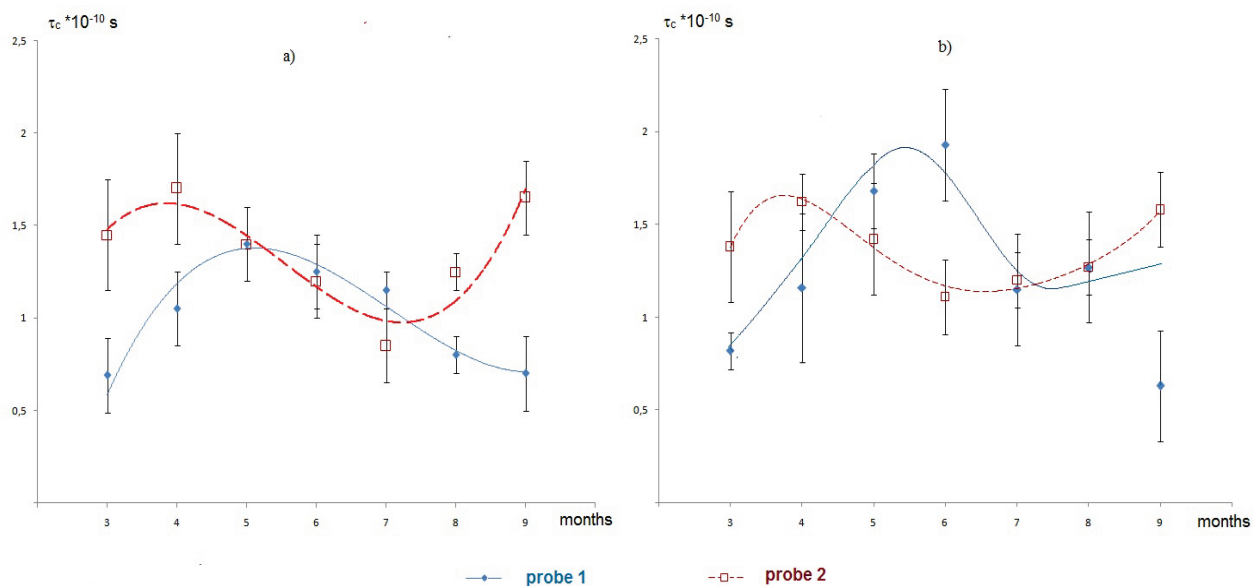
В работе [10] показано, что зонд I преимущественно локализуется в поверхностном слое липидных компонент мембраны, а зонд II - в липидах, прилегающих к белкам, что позволяет по поведению зондов I и II в липидном бислое судить о липид-белковых взаимодействиях в мембранах. Для удобства изложения мы в последующем будем называть зонд I "липидным", а зонд II – "белковым".

Из полученных спектров ЭПР рассчитывали время корреляции вращательной подвижности ( $\tau_c$ ), характеризующее микровязкость компонентов мембраны, по формуле  $\tau_c = 6.65 \times 10^{-10} \times \Delta H_+ \times ((I_+/I_-)^{0.5} - 1)$ , приведенной в работе [11]. Регистрацию спектров ЭПР проводили на радиоспектрометре ER 200D-SRC фирмы "Bruker".

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

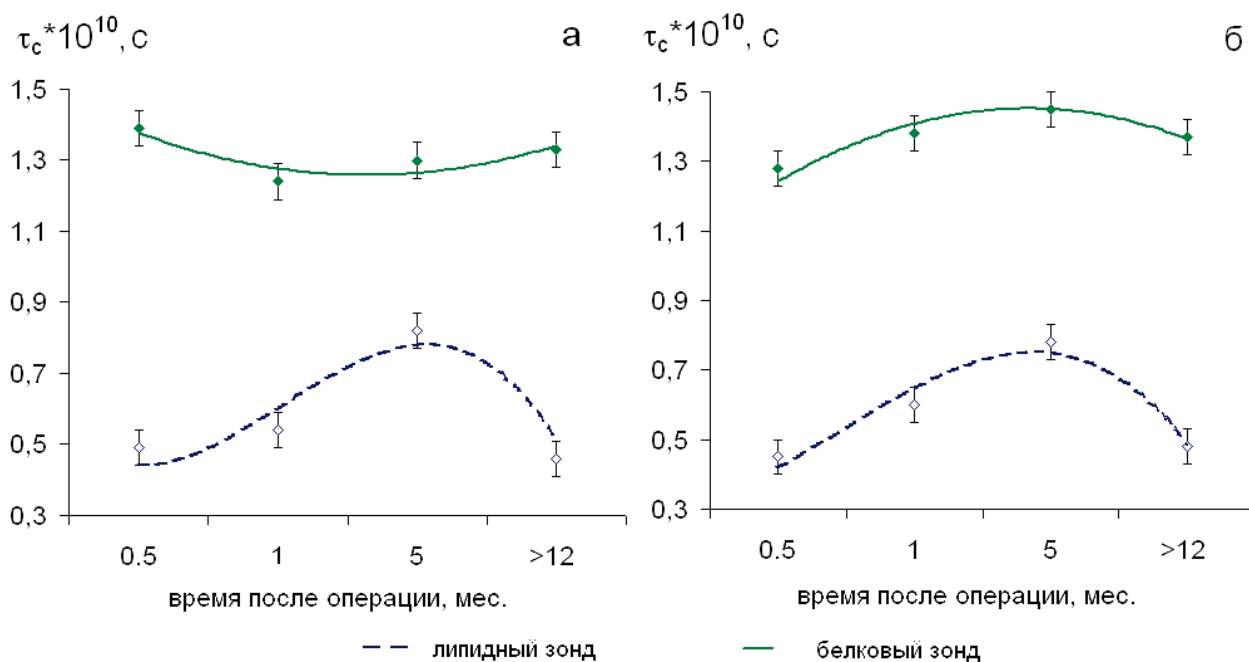
Целью работы было изучение изменений структуры мембран при развитии спонтанного лейкоза у мышей линии AKR. В процессе развития патологии у мышей (от 3-9 месяцев) обнаружены значительные изменения текучести мембран как синаптосом (рис. 2b), так и микросом (рис. 2a). На ранней стадии (3-4 месяца) микровязкость приобелковых областей синаптосом (рис. 2b) растет на 20 %, а затем в течение долгого периода падает до значений ниже изначальной  $\tau_c$ . После седьмого месяца значение времени корреляции вращательной диффузии приобелкового зонда резко увеличивается (до 1,5 раз). Аналогичные изменения микровязкости приобелковых областей наблюдаются и в микросомах (рис. 2a). В липидных областях мембран синаптосом и микросом наблюдаются подобные периодические изменения. Микровязкость липидных областей исследуемых мембран растет вплоть до 6го месяца, с шестого по 8 месяц падает, а на поздних стадиях снова показывает тенденцию к росту.

Как видно из полученных данных, наблюдаются похожие стадийные изменения текучести приобелковых и липидных областей изучаемых мембран с отставанием стадий изменений в липидных областях от приобелковых. Это означает, что при развитии спонтанного лейкоза в первую очередь изменяются функциональные характеристики белков, что, в свою очередь, приводит к изменению структурного состояния липидного бислоя. Такие изменения характерны при развитии опухолей [12], и указывают на то, что в процессе развития патологии происходит изменение состава липидов мембран на уровне их синтеза. Так, например, нами в работе [9] было показано, что удаление обонятельных луковиц у мышей приводит к симпатным изменениям микровязкостей липидной и приобелковых областей, тогда как у ложнопериоперированных животных эти изменения антипатны (Рис. 3). Таким образом, симпатные изменения, по-видимому, характерны при наличии патологических состояний, связанных с изменениями функционирования белков и ферментов, так как состав и структура липидного бислоя мембран тесно связана с функциональной активностью мембранных ферментов и белков.

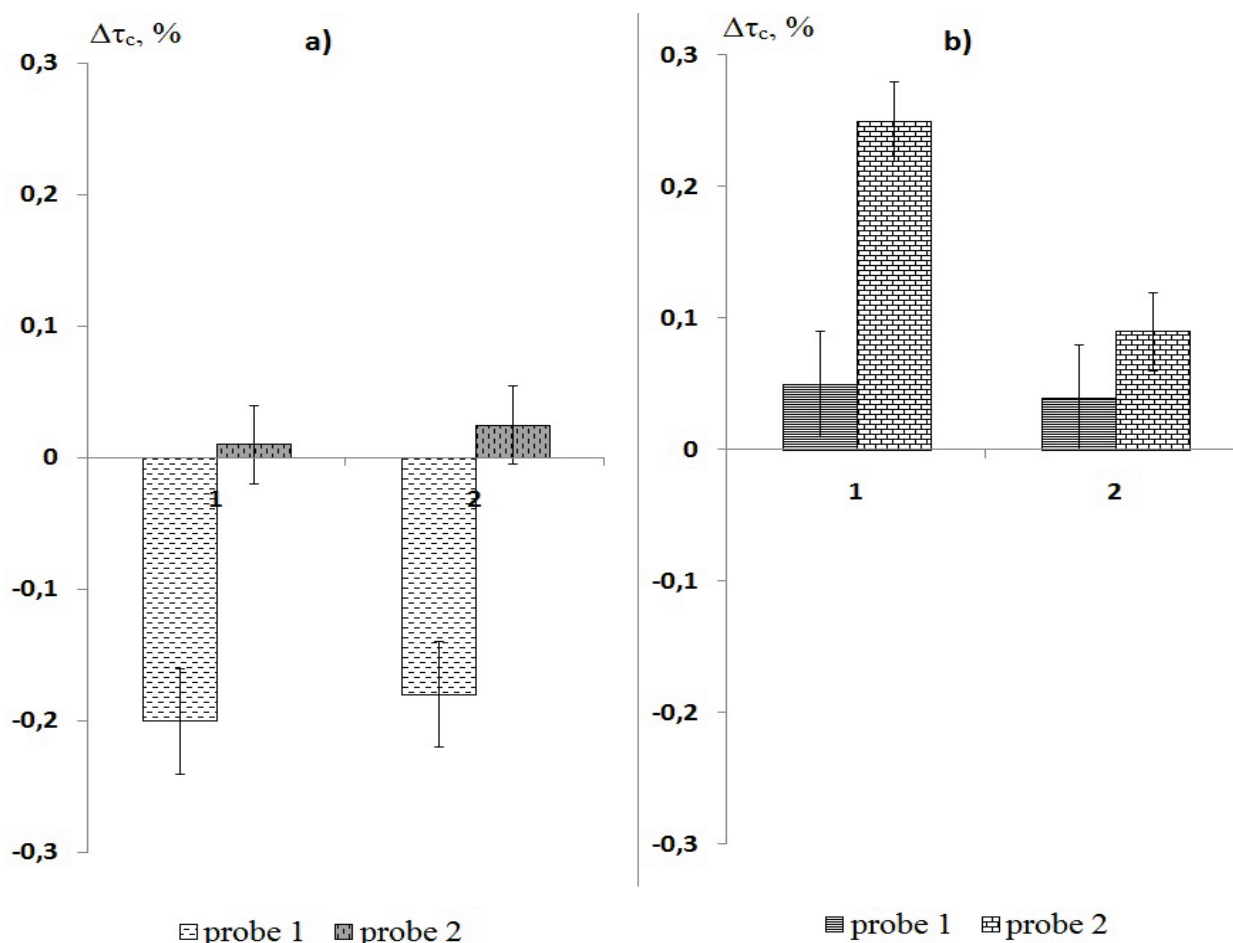


**Рисунок 2.** Динамика изменения времени корреляции вращательной диффузии при введении фенозана а – микросомы, б – синапсомы

На следующем этапе исследовали действие фенозана на микровязкость мембран микросом при развитии спонтанного лейкоза у мышей. Фенозан вводили в концентрациях  $2 \cdot 10^{-4}$  и  $3 \cdot 10^{-4}$  в латентный период развития патологии (3-6 месяцев). Изменения микровязкости микросомальных мембран через двое суток и через месяц показаны на рисунке 4 (а, б). Введение антиоксиданта в обеих дозах приводило к увеличению текучести липидных областей мембран (probe 1) через двое суток после введения. По истечении месяца после введения фенозана текучесть обеих областей мембран увеличивалась. Учитывая стадии изменения микровязкости при патологии (рис. 4), можно эффективно использовать введение фенозана с целью возвращения структурных характеристик к норме. Для этого необходимо вводить фенозан на 5-6 месяц, когда микровязкость мембран повышена, а через месяц резко снижается. Таким образом, введение фенозана приведет к тому, что в период от 5 до 7-8 месяца текучесть липидного бислоя окажется близко к начальному контрольному уровню. Заметим, что время корреляции вращательной диффузии зондов через месяц после введения фенозана меняется в одну сторону относительно контроля. Такие изменения микровязкости характерны при развитии патологий [12].



**Рисунок 3.** Изменение микровязкости мембран микросом мозга: а – при ложной операции; б – при удалении обонятельных луковиц



**Рисунок 4.** Относительные изменения времени корреляции вращательной диффузии зондов в микросомальных мембранах при введении фенозана в латентный период развития лейкоза: а – через 48 часов после введения; б – через месяц после введения

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные эксперименты показали, что структурное состояние мембран играет одну из важных ролей в метаболизме. Поэтому мы считаем, что при исследовании развития различных патологий, необходимо изучать изменение структуры липидного бислоя. При исследовании влияния препаратов и биологически активных веществ, в том числе и антиоксидантов, необходимо учитывать изменения текучести мембран, что может помочь увеличить эффективность их использования при терапии патологий различного этиопатогенеза.

#### Список литературы / References:

1. Аристархова С.А., Архипова Г.В., Бурлакова Е.Б. [и др.] *ДАН СССР*, 1976, т. 228, с. 215. [Aristarhova S.A., Arhipova G.V., Burlakova E.B. [et al.] *DAN USSR*, 1976, vol. 228, p. 215. (In Russ.)]
2. Бурлакова Е.Б., Храпова Н.Г. *Успехи химии*, 1985, т. 54, № 9, с. 540. [Burlakova E.B., Храпова N.G. *Uspekhi himii*, 1985, vol. 54, no. 9, p. 540. (In Russ.)]
3. Бурлакова Е.Б. *Химическая и биологическая кинетика. Новые горизонты*, М.: Химия, 2005, т. 2, с. 10. [Burlakova E.B. *Himicheskaya i biologicheskaya kinetika. Noveye gorizonty*, Moscow: Himiya, 2005, vol. 2, p. 10 (In Russ.)]
4. Геннис Р. *Биомембраны. Молекулярная структура и функции*. М.: Мир, 1997, 208 с. [Gennis R. *Biomembrany. Molecular structure and functions*. Moscow: Mir, 1997, 208 p. (In Russ.)]
5. Бурлакова Е.Б. Эффект сверхмалых доз. *Вестник Российской Академии Наук*, 1994, 64(5), с. 425-431. [Burlakova E.B. The effect of ultralow doses. *Vestnik Rossijskoj Akademii Nauk*, 1994, 64(5), pp. 425-431 (In Russ.)]
6. Бурлакова Е.Б., Конрадов А.А., Мальцева Е.Л. Действие сверхмалых доз биологически активных веществ и низкоинтенсивных физических факторов. *Биофизика*, 2004, т. 49, с. 551-564. [Burlakova E.B., Konradov A.A., Mal'ceva E.L. The effect of ultralow doses of the biologically active agents and low-molecular physical factors. *Biofizika*, 2004, vol. 49, pp. 551-564. (In Russ.)]
7. Пальмина Н.П., Часовская Т.Е., Белов В.В., Мальцева Е.Л. Дозовые зависимости изменения микровязкости липидов биологических мембран, индуцированные синтетическим антиоксидантом фенозаном

калия. *Докл. Акад. Наук.*, 2012, т. 443, с. 463-499. [Pal'mina N.P., CHasovskaya T.E., Belov V.V., Mal'ceva E.L. Dose dependences of the microviscosity changes of the biological membrane lipids induced by the sintetic antioxidant phenosan-potassium. *Dokl. Akad. Nauk.*, 2012, vol. 443, pp. 463-499 (In Russ.)]

8. Прохорова М.И. *Методы биохимических исследований*. Изд-во Ленинград. ун-та, 1982, 272 с. [Prohorova M.I. *Methods of the biochemical investigations*. Ed. of Leningrad. un-ty, 1982, 272 p. (In Russ.)]

9. Герасимов Н.Ю., Голощапов А.Н., Бурлакова Е.Б. Исследование методом ЭПР спиновых зондов изменений текучести мембран органелл мозга мышей с экспериментальной патологией, моделирующей болезнь Альцгеймера. *Биофизика*, 2013, т. 58, № 2, с. 252-256. [Gerasimov N.Yu., Goloshchapov A.N., Burlakova E.B. Studying by the method of EPR of spin probes of the changes of fluidity of brain organell membrane from mice with experimental pathology modeling Alzheimer's disease. *Biofizika*, 2013, vol. 58, no. 2, pp. 252-256. (In Russ.)]

10. Бинюков В.И., Борунова С.Ф., Гольдфельд М.Г. [и др.] *Биохимия*, 1971, 36(6), с. 1149. [Binyukov V.I., Borunova S.F., Gol'dfel'd M.G. [et al.] *Biohimiya*, 1971, 36(6), p. 1149. (In Russ.)]

11. Вассерман А.М., Бучаченко А.Л., Коварский А.Л., Нейма И.Б. *Высокомолекулярные соединения*, 1968, т. 10А, с. 1930. [Vasserman A.M., Buchachenko A.L., Kovarskij A.L., Nejma I.B. *Vysokomolekulyarnye soedineniya*, 1968, vol. 10A, p. 1930. (In Russ.)]

12. Голощапов А.Н., Бурлакова Е.Б. Термоиндуцированные структурные переходы в мембранах при введении антиоксидантов и злокачественном росте. *Биофизика*, 1980, т. 25, № 1, с. 97-101. [Goloshchapov A.N., Burlakova E.B. Thermoinduced structural transitions in membranes under antioxidant injection and with malignant growth. *Biofizika*, 1980, vol. 25, no. 1, pp. 97-101. (In Russ.)]

13. Bachurin S., Tkachenko I. [et al.] *Ann. N.Y.Acad. Sci.*, 2001, vol. 939, p. 219.

14. Grigorev V.V., Dranyi O.A., Bachurin S.O. *Bull. Exp. Biol. Med.*, 2003, 136(5), p. 474.

15. Grigoriev V.V., Proshin A.N., Kinzirskii A.S., Bachurin S.O. *Bull. Exp. Biol. Med.*, 2012, 153(3), p. 298.

16. Касаринская О.В., Виноградова Д.В., Шевцова Е.Ф., Зарипов В.Н. Модуляция свойств митохондрий как механизм нейропротекции. *Вестник молодых ученых ИвГУ*, 2014, вып. 14, с. 12-15. [Kasarin'skaya O.V., Vinogradova D.V., SHEvcova E.F., Zaripov V.N. Mitochondria properties modulation as the mechanism of the neuroprotection. *Vestnik molodyh uchenyh IvGU*, 2014, iss. 14, pp. 12-15. (In Russ.)]

#### CHANGE OF MEMBRANES MICROVISCOSITY IN DEVELOPMENT OF SPONTANEOUS LEUKEMIA IN AKR MICE LINES

**Herasimov N.Yu., Nevrova O.V., Holoshchapov A.N., Burlakova E.B.**

N.M. Emanuel Institute of biochemical physics RAS

*Kosygin str., 4, Moscow, 119334, Russia: e-mail: n.yu.gerasimov@gmail.com*

**Abstract.** Studying the changes of the membrane structure with the development of the spontaneous leucosis in AKR line mice was the aim of this paper. Similar phasic fluidity changes of lipidic and proteinic regions of the membranes with lag of the stages in lipidic areas with respect to proteinic regions was observed. It was shown that the structural state of membranes plays one of the central roles in the patalogy development.

**Key words:** *membranes microviscosity, AKR mice lines.*