

skij

TRANSPORT
THROUGH
FLUORINE EFFECT

absorption in rats is accom-
intestinal cavity. Under the
neonine lowers significantly.
intensity of sodium opposite
de and alanine the intensity
m loss by enterocytes.

УДК 612.261.273.2

В. Я. Березовський, В. Ю. Горчаков, Б. С. Сушко

КІНЕТИКА ТРАНСПОРТУ КИСНЮ
КРІЗЬ ОСАДОВІ ФОСФОЛІПІДНІ ПЛІВКИ

Відомо, що кисень надходить із середовища до клітин організму шляхом дифузії в напрямку градієнта парціального тиску — P_{O_2} [5]. При розрахунку P_{O_2} з використанням формули Крога — Ерланга [10], виходять з припущення про гомогенність тканин щодо проникності кисню. Проте, ще в минулому сторіччі було показано, що різні речовини характеризуються неоднаковою здатністю пропускати кисень [3]. Завдяки розвитку електронномікроскопічної техніки стало відомо, що шлях кисню від еритроцита, розташованого в капілярі великого кола кровообігу, до споживаючих його органел клітини, пролягає крізь плазму крові, мембрану ендотелію, базальну мембрану, міжклітинну рідину та цитоплазматичну мембрану клітини. Всі ці структури істотно відрізняються за своїм біохімічним складом, вмістом ліпідів, білків, мукополісахаридів, води та інших сполук. Розчинність кисню в таких середовищах неоднакова. Коефіцієнти дифузії кисню в різних тканинах перебувають у межах від $1,1 \cdot 10^{-4}$ до $4 \cdot 10^{-8}$ $см^2/с$, тобто відрізняються в 10 000 раз [11]. Оскільки ліпіди значно краще розчиняють кисень, навіть в одній тканині шлях кисню від еритроцита до мітохондрії пролягає в гетерогенному середовищі. Відомо також, що в'язкість жирів, які складаються з суміші довголанцюгових вуглеводневих молекул, в 100—1000 разів вища від в'язкості води. Завдяки цьому коефіцієнт дифузії крізь фосfolіпідні мембрани може бути настільки ж меншим [4]. З допомогою прямих внутріклітинних вимірювань показано, що парціальний тиск кисню в цитоплазмі становить одиниці Торр, незважаючи на 150 Торр в середовищі інкубації [1, 7]. Отже, поверхневий шар клітин, що складається з фосfolіпідної цитоплазматичної мембрани та двох примембранних нерухомих шарів рідини, здійснює певний опір потоку кисню до клітини [2, 4, 7]. Навіть для штучних мембран показана залежність проникності кисню від довжини ланцюга молекул полімеру [6].

Ми досліджували вплив осадкової фосfolіпідної мембрани на транспорт кисню в модельних умовах з використанням системи: вода — фосfolіпідна мембрана — споживач кисню.

Методика досліджень

Досліди проводили з фосfolіпідами тканини легень шурів та лецитином. Поверхневоактивну речовину легень (ПАР) одержували за такою схемою: 50 мг тканини легень гомогенізували і змішували з 25 мл 0,9% розчину хлористого натрію, після чого при 900 g протягом 10 хв суміш осаджували на центрифугу. Надосадову рідину центрифугували при 65 000 g на протязі 1 год. Осад переносили в 14 мл 0,9% NaCl, після чого цей розчин збовтували на приладі В-1 на протязі 10 хв. Для структурної організації розчини ПАР залишали на 12 год при 0°С. Перед дослідом розчин наливали в комірку за 30 хв до початку вимірювань, які проводили при температурі 35°С. За цей час на розподілі фаз газ—рідина і рідина — метал формувалася плівка з ПАР легень (або лецитину). Лецитин одержували за [13] і розчиняли в хлороформ-метаноловій

суміші (2:1) з таким розрахунком, щоб на 0,1 мл розчину доводилося 1 мг лецитину. З кювети відбирали 0,1 мл розчину й додавали замість нього 0,1 мл розчину лецитину.

В дослідженнях використовували полярографічну комірку (рис. 1) діаметром 50 мм, в яку наливали 14 мл 0,9% розчину хлористого натрію. При цьому об'ємі рідини електрод був занурений в рідину на глибину 0,1 мм. Комірку закривали кришкою з рівномірно розташованими отворами. З внутрішнього боку кришки приклеювали фільтрувальний папір для рівномірного розподілу кисню й попередження перемішування рідини під впливом газового потоку. Комірку розташовували в камері, крізь яку пропускали заздалегідь зволожений і доведений до температури камери кисень зі швидкістю 1 л/хв. Зміну концентрації кисню на глибині занурення електрода вимірювали стабілізованим платиновим електродом проти Ag/AgCl електрода. Запис дифузійного струму проводили на полярографі LP-60. В такий спосіб спостерігали кінетику транспорту кисню в трьох розчинах: 1) в 0,9% розчині NaCl; 2) в екстракті ПАР легень; 3) в розчині 1 мг лецитину.

Лецитин додавали в два способи. Перший — лецитин нашаровувався так, щоб він залишився на розподілі фаз рідина — газ; і другий — лецитин додавали в район розташування електрода так, щоб лецитин відшаровувався й на розподілі фаз рідина — метал.

Результати досліджень та їх обговорення

При заповненні полярографічної комірки 0,9% водним розчином хлористого натрію в комірці створювались дві межі розподілу фаз: повітря — рідина та рідина — метал. Завдяки наявності в розчині, врівноваженому з повітрям (при атмосферному тиску 752 Торр), напруження кисню 150 Торр, електрод комірки реєстрував постійний дифузійний струм, який брали за вихідний. Наявність двох меж розподілу фаз на шляху кисню до споживаючої його поверхні електрода і можливість їх модифікації за допомогою фосфоліпідних речовин створювали умови вивчення процесу транспорту кисню в модельній гетерогенній системі. При перепусканні зволоженого медичного кисню крізь газову камеру над досліджуваним розчином створювалось P_{O_2} близько 690 Торр, і робочий електрод реєстрував приріст концентрації кисню в розчині. Швидкість зростання концентрації кисню в різних розчинах виявилась неоднаковою.

При використанні 0,9% розчину NaCl без будь-яких домішок концентрація кисню в розчині збільшувалась за характерною експоненціальною кривою (рис. 2, 1). Цю криву вважали вихідною і з нею порівнювали криві, одержані в розчинах з нашаруванням фосфоліпідів легень або лецитину. Найбільше зростання концентрації кисню в усіх випадках спостерігалось в перші 90 с. Для випадку з розчином NaCl ця швидкість дорівнювала $0,1 \text{ мл } O_2 \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$. При використанні розчину ПАР легень швидкість приросту концентрації кисню підвищилась і становила $0,15 \text{ мл } O_2 \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$ (рис. 2, 2).

Оскільки до складу ПАР легень до 60% входить лецитин, ми вирішили з'ясувати, по-перше: який вплив спричиняє власне лецитин на доставку кисню до електрода; по-друге, використовуючи розчин лецитину, ми мали можливість з'ясувати, який з двох розподілів фаз відповідальний за зміну швидкості зростання концентрації кисню.

При нашаруванні лецитину на поверхню рідини швидкість зростання концентрації для чистого розчину 0,9% NaCl. Якщо плівка лецитину адсорбовувалась на поверхні платинового електрода (що знижувало дифузійний струм), то швидкість зростання концентрації кисню була більша, ніж при застосуванні розчину 0,9% NaCl і становила $0,13 \text{ мл } O_2 \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$ (рис. 2, 3). Цей ефект здійснює свіжовиділений лецитин. Препарати, що зберігались тривалий час, такого ефекту не виявляли.

Прискорення зростання дифузійного струму на електроді при наявності ПАР легень або свіжого лецитину може бути результатом впливу

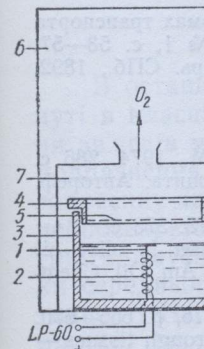


Рис. 1. Конструкція моделі для дослідження транспорту кисню. 1 — робочий платиновий електрод, 2 — кришка комірки, 3 — фільтрувальний папір, 4 — газовий ввід, 5 — вихідний електрод, 6 — газовий ввід. LP-60 — полярограф. Масштаб.

великою від товщиною с (ню), цей ефект ні електрода тільки в роз

Коли ки він долає щодження кисню дувати вздо тину в усіх н раною.

Відомо, вищий, ніж Водночас у ча, ніж у пе у мозку пок Водночас до рівнянні з ін лише тим, ш ше, ніж у пе

Можливі електрода м ступає як «к

водилося 1 мг лецитину. 0,1 мл розчину лецитину. року (рис. 1) діаметром трію. При цьому об'ємі мірку зачиняли кришкою у кришки приклеювали передження перемішували в камері, крізь яку атури камери кисень зі рення електрода вимірю- електрода. Запис дифузій- іб спостерігали кінетику Cl; 2) в екстракті ПАР

аровувався так, щоб він і додавали в район роз- розподілі фаз рідина—

ення

водним розчином і розподілу фаз: по- стів в розчині, врів- 752 Torr), напру- вав постійний дифу- двох меж розподілу ні електрода і мож- х речовин створюва- дельний гетерогенний кисню крізь газову ось P_{O_2} близько 690 нтрації кисню в роз- ризних розчинах ви-

ь-яких домішок кон- ктерною експоненці- дною і з нею порів- анням фосфоліпідів трації кисню в усіх у з розчином NaCl і використанні роз- кисню підвищилась

ть лецитин, ми вирі- власне лецитин на вуючи розчин леци- озподілів фаз відпо- її кисню.

ни швидкість зро- швидкості зростання що плівка лецитину да (що знижувало нтрації кисню була і становила 0,13 мл овиділений лецитин. ефекту не виявляли. електроді при наяв- результатом впливу

цих речовин на одну з двох або обидві межі розподілу фаз. Проте, оскільки при нашаруванні лецитину на поверхню розподілу фаз газ — вода швидкість надходження кисню в розчин залишається незмінною, необхідно звернути увагу на другу поверхню. Прискорення приросту дифузійного струму при адсорбції на робочому електроді лецитину свідчить, що модифікація умов транспорту кисню відбувається на межі метал — рідина.

Можливо, що на міжфазному розподілі газ — рідина також відзначається певне прискорення проходження кисню. Проте, в зв'язку з

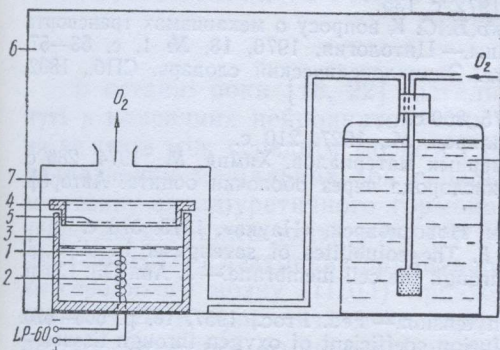


Рис. 1. Конструкція полярографічної комірки для моделювання транспорту кисню.

1 — робочий платиновий електрод, 2 — допоміжний Ag/AgCl електрод, 3 — полярографічна комірка, 4 — кришка комірки, 5 — фільтрувальний папір, 6 — внутрішня камера термостата, 7 — газова камера, 8 — камера попереднього зволоження і нагрівання кисню. Масштаб власне комірки збільшено.

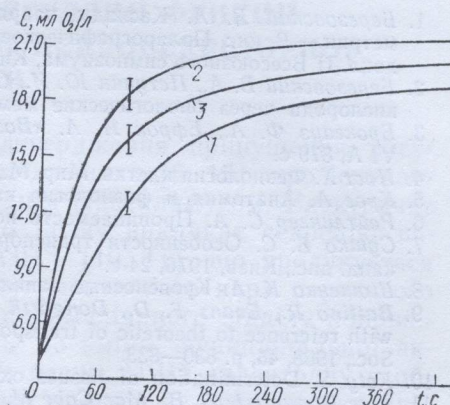


Рис. 2. Швидкість зростання концентрації кисню.

1 — в 0,9% розчині NaCl, 2 — в розчині NaCl при наявності ПАР легень, 3 — в розчині NaCl при наявності лецитину. По вертикалі — концентрація кисню на поверхні робочого електрода, по горизонталі — час в с.

великою відстанню поверхні від реєструючого електрода (порівняно з товщиною самої мембрани, яка виконує функцію «концентратора» кисню), цей ефект не виявляється. При адсорбції фосфоліпідів на поверхні електрода ми маємо можливість реєструвати концентрацію кисню не тільки в розчині, але й безпосередньо у фосфоліпідному шарі.

Коли кисень виходить з фосфоліпідної мембрани у водний розчин, він долає ще один розподіл фаз, який може гальмувати процес проходження кисню крізь мембрану. Не виключено, що кисню легше дифундувати вздовж фосфоліпідних мембран, які, до речі, перетинають клітину в усіх напрямках, сполучаючи органели з цитоплазматичною мембраною.

Відомо, що в тканинах, багатих на ліпіди, коефіцієнт дифузії кисню вищий, ніж у таких бідних на фосфоліпіди тканинах, як м'язи [12]. Водночас у мозку кількість капілярів на одиницю об'єму тканини нижча, ніж у печінці, серці. Розрахунки сумарної площі поверхні капілярів у мозку показують, що вона значно менша, ніж у серці та печінці [8]. Водночас добре відомо, що мозок інтенсивніше споживає кисень у порівнянні з іншими органами. Така невідповідність може бути пояснена лише тим, що кисень у середовищі, багатому на ліпіди, дифундує швидше, ніж у переважно водному розчині цитоплазми.

Можливо, що прискорення доставки кисню до робочої поверхні електрода може відбуватися внаслідок того, що шар фосфоліпідів виступає як «концентратор» кисню. Як відомо, коефіцієнт розподілу кис-

ню в системі фосфоліпід — вода дорівнює 4,4 [9]. Це повинно приводити до підвищення градієнта концентрації кисню між шаром фосфоліпідів та електродом і збільшувати його масоперенос до споживача.

Наведені результати дають підстави припустити, що тонкий шар фосфоліпідів легень, а, можливо, інші фосфоліпідні мембрани, розташовані безпосередньо біля споживача кисню, можуть знижувати дифузійні обмеження і приводити до збільшення його масопереносу.

Література

1. Бerezovskij B. A. Каскады напряжения кислорода в свете данных окситензометрии. — В кн.: Полярнографическое определение кислорода в биообъектах. Тезисы докл. II Всесоюзного симпозиума, Киев, 1972, с. 135.
2. Бerezovskij B. A., Петунин Ю. И., Сушко Б. С. К вопросу о механизмах транспорта кислорода через биологические мембраны. — Цитология, 1976, 18, № 1, с. 53—57.
3. Брокгауз Ф. А., Ефрок И. А. «Воздух». Энциклопедический словарь. СПб., 1892, VI A, 879 с.
4. Иост Х. Физиология клетки. Мир, М., 1975. 860 с.
5. Круг А. Анатомия и физиология капилляров. М., 1927. 210 с.
6. Рейтлингер С. А. Проницаемость полимерных материалов. Химия, М., 1974. 286 с.
7. Сушко Б. С. Особенности транспорта кислорода через оболочки ооцита. Автореф. канд. дис., Киев, 1976, 24 с.
8. Шошенко К. А. Кровеносные капилляры. Новосибирск, «Наука», 1975. 373 с.
9. Battino R., Evans F. D., Dongarh W. F. The solubilities of sevengaser in olive oil with reference to theoretic of transport through the cell membrane. — J. Am. Oil. Chem. Soc., 1968, 45, p. 830—833.
10. Kety S. Determination of tissues oxygen tension. — Fed. Proc., 1957, 16, p. 666—670.
11. Mac Dongall J. D. B., Mac Cabe M. Diffusion coefficient of oxygen through tissues. — Nature, 1967, 215, 9, p. 1173—1176.
12. Niessel W., Thews G. Ein elektrisches Analogrechenverfahren zur Lösung physiologischer Diffusionsprobleme. — Pflug. Arch., 1959, 269, p. 282—305.
13. Tisashewskiy W. Biochemiczna Preparatyka cwiczeniar biochemii dunamiszej. Warszawa, 1968 г, 160 s.

Відділ фізіології дихання
Інституту фізіології

ім. О. О. Богомольця АН УРСР, Київ

Надійшла до редакції
22.III 1977 р.

V. A. Berezovskij, V. Ju. Gorchakov, B. S. Sushko

KINETIC OF OXYGEN TRANSPORT THROUGH PRECIPITATION PHOSPHOLIPID FILMS

Summary

Using polarographic cell of special design oxygen diffusion from solution to electrode through the phospholipid layer was studied. For film formation the lipoprotein complex of surface-active substances of lungs and lecithin of egg yolk were used. Rate of oxygen delivery to the electrode is shown to increase with phospholipids adsorption on its surface.

Department of Physiology of Respiration,
the A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,
Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev

РОЛЬ АЛК СЕР СУПРА

В останні
нута в класич
ня зв'язків між
подразнення м
зопресину-анти
нейросекретор
гіпоталамуса.
ки середнього
тивності НСК
ластей, приче
фізарну нейро
Припускається
кільки тут зас
шляху [20]. Х
нервовій систе
нями нейронів
ефекти катехол

Для виріш
мозку, що беру
стресі, нами б
бета-адреноре
подразнення.

Досліди про
сичним методом за
вживляли голки-к
вали їх до кісток
а через канюлі вв
вих трубочок з м
протяжі 10—15 хв,
становив 2 мл. I
II), блокатора аль
або блокатора бет
спричиняли больов
ли прямокутної с
вмертвляли одразу
припинення больов

Після декапіт
вали в спиртах зр
гіпоталамуса та гі
Гоморі—Габа для
бовували азокармі
стан супраоптично