

ДЕЙСТВИЕ ФОРБОЛОВОГО ЭФИРА (ТФА) В ШИРОКОМ ДИАПАЗОНЕ КОНЦЕНТРАЦИЙ НА СТРУКТУРУ ЛИПИДОВ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН, ЭФФЕКТЫ СВЕРХМАЛЫХ ДОЗ (СМД) ТФА

Мальцева Е.Л., Богданова Н.Г., Пальмина Н.П.

Институт Биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334 Москва, ул. Косыгина 4,
E-mail: emal@sky.chph.ras.ru

Форболовый эфир 12-О-тетрадеcanoилфорбол-13-ацетат (ТФА), открытый как опухолевый промотор, является также модулятором систем вторичных посредников (фосфоинозитидного цикла, циклических нуклеотидов, перекисного окисления липидов – ПОЛ), которые локализованы в клеточных мембранах. Функционирование систем вторичных посредников зависит от структурного состояния липидов клеточных мембран, в частности, их микровязкости или жесткости.

В данной работе изучено действие ТФА, а также его неактивного аналога 4- α -форбол-12,13-дидеаноата (ДДФ), в широком спектре концентраций (10^{-4} – 10^{-23} М) на клеточные мембраны (плазматические, микросомальные и синаптические), выделенных из нормальных клеток (печени и головного мозга мышей), и клеток асцитной карциномы Эрлиха (АРЭ). Исследование проводилось методом ЭПР с использованием спиновых зондов: иминоксильных (зонды 1, 2 и 3) и доксильных радикалов (зонды 5 и 6), локализуемых в различных областях липидного бислоя. Микровязкость глуболежащих областей липидов мембран оценивалась по времени вращательной корреляции (τ_c) зондов 1-3 и 5; жесткость поверхностных слоев липидов по параметру упорядоченности (S) зонда 6.

Установлено, что наибольшие отклонения от контроля наблюдаются в области низких концентраций и СМД от 10^{-8} до 10^{-18} М ТФА. Обнаружено, что действие ТФА в широком диапазоне концентраций приводит к однотипным изменениям микровязкости различных областей липидов мембран клеток печени и мозга. ТФА является двойным модификатором клеточных мембран: поверхностные слои липидов становятся более жесткими, а более глубокие гидрофобные области – более жидкими. Под действием ТФА отмечены однонаправленные изменения (увеличение) τ_c зондов 1 и 2, характерные для мембран опухолевых клеток. Показано, что многократные воздействия ТФА в СМД (10^{-13} М) на мембраны приводят к пролонгации повышенного уровня микровязкости липидов. Показано, что ДДФ не влиял на структурные параметры липидов клеточных мембран.

Обнаружено, что, под действием ТФА в диапазоне концентраций 10^{-4} – 10^{-23} М в мембранах, выделенных из клеток АКЭ параметры микровязкости (зонд 6) и жесткости (зонд 5) меняются стадийно относительно контроля. Особенно резкие изменения отмечены по структурно-чувствительным показателям при СМД $< 10^{-16}$ М, превышающие по величине эффект наиболее активных доз ТФА (10^{-7} – 10^{-9} М). В то же время в мембранах, выделенных из нормальных клеток (печени и мозга), изменения под действием ТФА не столь резкие и значительные. Таким образом, мембраны АКЭ более чувствительны к действию ТФА, что отличается от типичной реакции – «глухоты» опухолевых клеток на различные воздействия. Под влиянием ТФА в диапазоне от 10^{-4} до 10^{-23} М структурные изменения липидов в опухолевых и интактных мембранах описываются в трехмерном пространстве различными закономерностями, ось симметрии полученных поверхностей проходит вблизи концентраций ТФА 10^{-12} – 10^{-14} М, которые, по общепринятым критериям, находятся на границе, отделяющей область СМД.

THE EFFECT OF PHORBOL ESTER (TPA) IN A WIDE RANGE OF CONCENTRATIONS ON LIPID STRUCTURE OF CELL MEMBRANES. ULTRA-LOW DOSES EFFECTS OF TPA

E.L.Mal'tseva, N.G.Bogdanova, N.P. Pal'mina. N.M.

Emanuel Institute of Biochemical Physics RAS, Kosygin str.4, 119334 Moscow, E-mail:
emal@sky.chph.ras.ru

It was found that phorbol ester (TPA) in the concentration range of 10^{-4} to 10^{-23} M, but not DDP, affected on the structural parameters of membrane lipids (microviscosity - τ_c and rigidity-S obtained by EPR method using a number of spin probes) in normal and especially tumor cells (ACE) in vitro. It was established the polymodal concentration dependences of τ_c and S, significant effects of ultra-low doses ($< 10^{-12}$ M), different 3D plots $\{\tau_c, S, [TPA]\}$, in normal and ACE membranes with symmetry at 10^{-14} M.