

ДИМЕТИЛСУЛЬФОКСИД ИНДУЦИРОВАННАЯ ДЕПОЛЯРИЗАЦИЯ
ПЛАЗМАЛЕММЫ КЛЕТОК
CHARA GYMNOPHYLLA**Э.Р.ИСМАИЛОВ, Н.А.МУСАЕВ**

*С помощью микроэлектродной техники исследованы закономерности изменения потенциала (E_m) и сопротивления (R_m) плазмалеммы интернодальных клеток *Chara gymnophylla* при действии 1-10 % диметилсульфоксида (ДМСО). Все испытываемые концентрации ДМСО вызвали деполяризацию плазмалеммы, величина которой зависела от исходного уровня E_m . С увеличением содержания ДМСО в пределах 1-6 % наблюдали первоначальное уменьшение и последующее увеличение R_m . Предполагается, что взаимодействие ДМСО с липидной фазой приводит к инактивации ионных каналов и электрогенных насосов плазмалеммы клеток *Ch. gymnophylla*.*

Диметилсульфоксид (ДМСО) является растворителем полиеновых антибиотиков, применяемых для регулирования электрогенной активности и проводимости клеточных мембран [1,2]. Молекула ДМСО обладает амфифильностью, что позволяет погрузиться в липидную фазу биомембран, тем самым изменить стабильность липидного матрикса клеточных мембран [8,11,12].

Одним из особенностей действия ДМСО является его способность увеличивать проницаемость биологических мембран, в результате чего внутренние компартменты клеток оказываются более доступными для воздействия экзогенных соединений [4,5,6,9] или увеличивается процент выхода целого продукта из клеток [10]. Поэтому можно полагать, что при воздействии ДМСО на клеточную мембрану, вышеупомянутые эффекты растворителя отразятся на изменении мембранного потенциала (E_m) и сопротивления (R_m) клеточных мембран, что предопределило задачу настоящей работы. Таким образом, представленная работа посвящена изучению закономерностей изменения мембранного потенциала и сопротивления клеточных мембран при воздействии ДМСО. Такой аспект исследований важен также для точной оценки эффектов полиеновых антибиотиков на электрические характеристики биомембран. С другой стороны, иссле-

дование такого плана позволит определить роль ДМСО в регулировании мембранного транспорта.

МЕТОДИКА

Объектами измерений служили интернодальные клетки *Chara gymnophylla* из озера Гёк-гёль. Растения выращивали в лабораторных условиях в ИПВ (искусственная прудовая вода), в которой содержалось (Мм/л) KH_2PO_4 -0,1, CaCl_2 -0,4, NaHCO_3 -1,0, $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ -0,1, MgSO_4 -0,1 с добавлением Шолларской воды (1:1), pH=7-7,5 при освещении лампами дневного света 20Вт/м^2 [3]. Длина клеток составляла 1,5-3 см, диаметр – 0,05 см. Клетки, как правило, срезали за 2-3 сутки до опыта, отделив их от соседних, выдерживали в растворе ИПВ при рассеянном освещении.

Для одновременного измерения E_m и R_m применялся двухэлектродный метод Хогга [7]. С помощью одного внутриклеточного микроэлектрода (токовый микроэлектрод) и наружного Ag-AgCl-электрода, через середину цилиндрической клетки пропускались прямоугольные импульсы постоянного тока плотностью 1 мА/м^2 и длительностью 1-2 сек. Мембранный и электротонический потенциалы снимались с помощью второго внутриклеточного микроэлектрода, введенного на фиксированном расстоянии от токового микроэлектрода. R_m вычисляли по величине электротонического потенциала и амплитуде пропускаемых через клетку прямоугольных импульсов. Диаметр кончиков применяемых микроэлектродов составлял 1мкм, сопротивление по постоянному току около 5 мОм. Электродом сравнения служил стандартный электрод ЭВЛ-ИМЗ, сопротивление которого составляло 10 кОм.

Рабочие растворы ДМСО вводили в измерительную камеру после установления стационарных значений E_m , R_m клеток в питательной среде.

Измерение электрических параметров клеток *Chara gymnophylla* проводили при комнатной температуре 18-20⁰С. ДМСО хорошо растворялся в ИПВ. Добавление ДМСО не вызывало изменения pH искусственной прудовой воды (ИПВ).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Мембранный потенциал E_m исследуемых клеток составлял $-167 \pm 2,5\text{ мВ}$, а мембранное сопротивление R_m $4,5 \pm 1,55\text{ Ом} \cdot \text{м}^2$. Между этими величинами (для 120 клеток) положительная корреляция (коэффициент линейной корреляции $r=0,0000125$) отсутствовала. Биоэлектрические реакции плазмалеммы клеток *Chara gymnophylla* под влиянием ДМСО зависели от исходного уровня мембранного потенциала E_m (рис.1).

У клеток, имевшие высокие мембранные потенциалы $E_m \sim -195 \div -125\text{ мВ}$, обнаружили деполяризацию плазмалеммы, а у клеток с низкими мембранными потенциалами $E_m \sim -80 \div -60\text{ мВ}$ не наблюдалось изменение E_m (рис.1).

Самая низкая концентрация (пороговая) ДМСО в среде, которая вызывала первичные изменения E_m , R_m клеток *Chara gymnophylla*, оказалась 1 %. Введение в ИПВ 1 % ДМСО не затрагивало E_m , однако при этом

обнаружили снижение мембранного сопротивления в пределах 10 % (рис.2).

При увеличении концентрации ДМСО в среде до 2 % обнаружили дальнейшее уменьшение R_m еще на несколько процентов. Одновременно с уменьшением R_m происходила деполяризация плазмалеммы на 10-15 мВ (рис. 2).

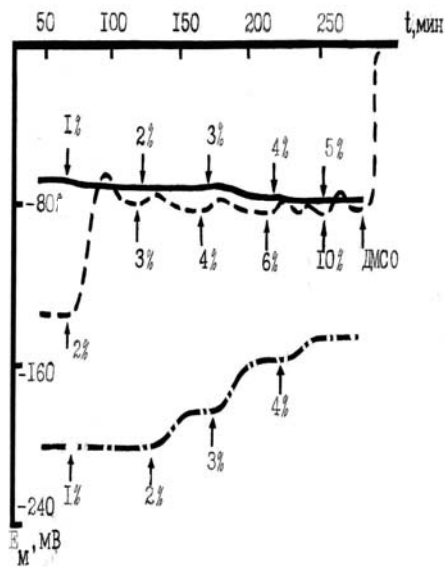


Рис. 1. Кинетика изменения мембранного потенциала (E_m) клеток *Ch.gymnorphylla* при действии диметилсульфоксида (ДМСО). Стрелками на графике указаны моменты введения соответствующих концентраций ДМСО в состав среды, омывающей исследуемую клетку.

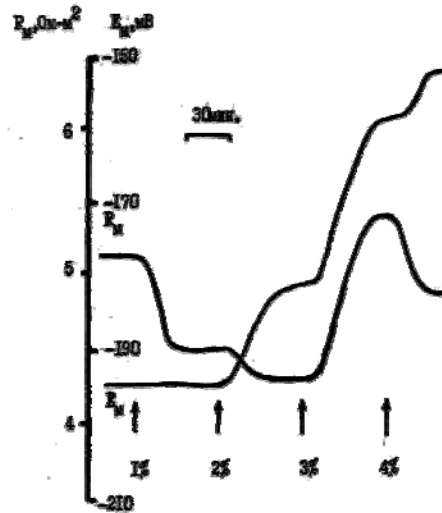


Рис.2. Кинетика изменения мембранного потенциала (E_m) и сопротивления (R_m) клеток *Chara gymnorphylla* при увеличении концентрации ДМСО в среде в пределах 1-4 %. Стрелками указаны моменты введения соответствующих концентраций ДМСО в среду.

Увеличение содержания ДМСО в среде до 3 %, вызывало дальнейшую деполяризацию плазмалеммы еще на 20-30 мВ. Таким образом, величина деполяризации плазмалеммы в среде с 3 % ДМСО составляла 30-40 мВ. Сильная деполяризация плазмалеммы *Chara gymnorphylla* в присутствии 3 % ДМСО сопровождалась возрастанием мембранного сопротивления, которое установилось на уровнях, превышающих исходный уровень R_m в ИПВ (рис. 2).

Увеличение мембранного сопротивления плазмалеммы в присутствии повышенных концентраций ДМСО, следующее за первоначальным уменьшением R_m , вызванное малыми концентрациями растворителя, было характерно для всех клеток *Chara gymnorphylla* без исключения (Рис. 2). Однако, по чувствительности к ДМСО в отношении увеличения R_m клетки

различались, т.е. увеличение R_M плазмалеммы, при обработке клеток с ДМСО, могло наступить при одной из концентраций растворителя 3, 4, 5, 6 %. При замене в измерительной камере ИПВ на чистый ДМСО происходило уменьшение E_M до нуля, однако мембранное сопротивление при этом установилось на уровне, превышающий уровень:

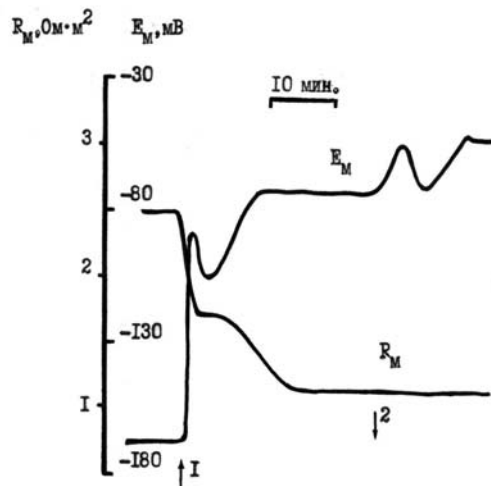


Рис. 3. Изменение мембранного потенциала (E_M) и сопротивления (R_M) плазмалеммы клеток *Chara gymnohylla* при действии 6% ДМСО. Стрелками указаны моменты введения в состав (1) и выведения из состава (2) питательной среды 6% ДМСО.

Для действия ДМСО на электрические характеристики клеток *Chara gymnohylla* была характерна необратимость (рис.3). Даже после обработки пороговой концентрации ДМСО параметры клеток E_M , R_M не восстанавливались в течении длительного времени.

OBSUJDENIE

Анализируя полученные результаты, можно выделить три основные особенности действия ДМСО на электрические параметры плазмалеммы *Chara gymnohylla*: устойчивая деполяризация, величина которой определялась концентрацией ДМСО; увеличение R_M , сопровождаемое синхронным уменьшением E_M , при повышенных концентрациях ДМСО и следующее уменьшение R_M при воздействии низкими концентрациями растворителя; необратимость изменения E_M , R_M даже при пороговой концентрации ДМСО в ИПВ. Поэтому необходимо учитывать эти эффекты ДМСО при его применении в качестве растворителя для полиенов. По всей вероятности, полученные данные могут быть привлечены для определения предельно допустимой концентрации растворителя. Уменьшение R_M низкими концентрациями ДМСО вероятно отражает образование токопроводящих комплексов с участием амфифильных молекул растворителя [5,6]. А увеличение R_M при повышенных концентрациях растворителя вероятно отражает нарушение стабильности липидов плазмалеммы, что приводит к инактивации ионных каналов и электрогенных насосов плазмалеммы. Совокупность установленных данных показывает на возможность применения ДМСО в качестве регулятора транспортной функции клеточных мембран.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гаджи-заде Х.А., Мусаев Н.А. Физиология растений, 1989, т.35, вып.6, с.1045
2. Ермишкин Л.Н., Зильберштейн А.Я. Итоги науки и техники, сер. Биофизика мембран, 1982, т.2, с.5
3. Musayev N.A., İsmayilov E.R., Eyubova L.M. «Biokimya bu gün və sabah» movzusunda elmi konfransin materiallari, BDU-2003 .s.142-143
4. Brayton C.F.// Cornell Vet. 1986.V.76, №1 p.61-90
5. Bunch W., Edwards C. – Journ. Physiol., London, 1969, V.202, p.683
6. Drug Permeation Enchement, Theory and Application /By ed. D. Hsieh Dortround, 1994
7. Hogg J., Williams E.J. Johnston R.I. – BBA, 1968, V.150, p.518.
8. Johannesson H., Denisov V.P., Halle B.//Protein Sci, 1997, V.6, №8, P. 1756-1763.
9. Kai T., Nakazono M., Kurosaki Y. et al.// Biol. and Pharm.Bull.1993.V.16. №8.p.801-805.
10. Yu Z. Quinn P. – Biosci. Reps. 1994.V.14, №6, p.259-281.
11. Yu Z. Quinn P. – Biophys. chemistry, 1998, V.70, p.35
12. Yu Z. Quinn P. – Mol.Membrane biol., 1998, V. 15, p.59

CHARA GYMNOPHYLLA HÜCEYRƏLƏRİNİN PLAZMA- LEMMA SININ DİMETİLSULFOKSİDLƏ İNDUKSİYA OLUNMUŞ DE- POLYARLAŞMASI

Е.Р.ИСМАЙЫЛОВ, Н.А.МУСАЙЕВ

ANNOTASIYA

Микроелектрод техникасынын кюмяйи иля *Chara gymnophylla*нын буьу-марасы щцъейряринин мембран потенсиалы (E_m) вя мембран мцгавимяти (R_m) 1-10 % диметилсулфоксидин (ДМСО) тясиринин ганунауйьунлуглары тядгиг едилмишдир. E_m -ин илкин сявиййясиндя асылы олараг ДМСО-нун истифадя олунан бцтцн гатылыглары плазмалемманы деполйарлашдырмышдыр. ДМСО-нун мигдарыны 1-6 % щцдудларында артыран заман R_m –ин илкин артмасы сонра азалмасы мцшашидя едилмишдир. Эцман олунур ки, ДМСО *Ch.gymnophylla* щцъейряринин плазмалеммасынын липид фазасы иля гаршылыгы тясирдя олараг, ион каналларыны вя електроэен насосларыны инактивляшдирир.

DIMERHYSULFOXIDE INDUCED DEPOLARIZATION OF CHARA GYMNOPHYLLA CELLS PLASMALEMMA

E.R.ISMAILOV, N.A.MUSAYEV

ABSTRACT

With microelectrode technique there has been studied the regularities of changes of internodales cells of *Chara gymnophylla* membrane (E_m) potential and resistance (R_m) under influence of the 1-10 % dimethylsulfoxide. The influence of DMSO caused depolarization plasmalemma. Depolarization value depended from the initial level of E_m . With increase of the contents DMSO within the limits of 1-6 % observed initial reduction and subsequent increase R_m . With the influence on physical state of plasmalemma lipid phases inaktivied ion canales and electrogenic pump of *Chara gymnophylla* plasmalemma.