

Нековалентные взаимодействия подскорлуповой яичной мембраны

© В.И. Иванов-Омский, С.Г. Ястребов[†]

Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе РАН, Санкт-Петербург, Россия

[†] E-mail: yastrebov@mail.ioffe.ru

Поступило в Редакцию 10 марта 2020 г.

В окончательной редакции 9 июня 2020 г.

Принято к публикации 9 июня 2020 г.

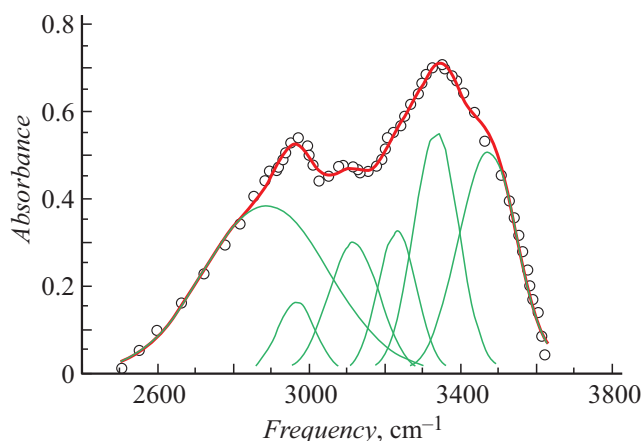
Изучен спектр активных в инфракрасной области нековалентных взаимодействий для мембраны оболочки куриного яйца. Оценены энергии этих взаимодействий. Выполнено сравнение результатов с данными, ранее полученными для различных образцов аортального клапана человека. Делается вывод о перспективности применения подскорлуповой яичной мембраны в качестве аналога базального слоя аортального клапана, пригодного для проведения биофизических экспериментов *in vitro*.

Ключевые слова: кальциноз аортального клапана, водородная связь, ИК-спектроскопия.

DOI: 10.21883/PJTF.2020.18.49993.18282

Кальциноз аорты и ее клапанов представляет собой большую проблему, поскольку в конечном счете приводит либо к инвалидизации, либо к гибели пациента. Заметим, что в процессе развития кальциноза в ткани аорты образуются значительные по размеру области отложений кальциатов, т. е. гидроксиапатита [1]. Однако до последнего времени оставался невыясненным вопрос о том, почему при значительных размерах областей кальцинации данные рентгенофазового анализа соответствуют наноразмерным кластерам гидроксиапатита. Объяснение этого феномена дано нами в работе [2], где было показано, что нанокластеры гидроксиапатита формируются в наноразмерных порах базальной мембраны аорты и ее клапанов. Однако следует констатировать, что детальное исследование зарождения и последующего роста кластеров в базальной мембране *in vivo* затруднено ввиду большого числа технических и этических трудностей, связанных со спецификой получения информации о росте нанокластеров в ткани аорты. Поэтому с целью изучения возможности замедления данного процесса или даже обращения его во времени необходимо иметь возможность проводить опыты в лабораторных условиях *in vitro*. В связи с этим встает вопрос об удобной биологической модели, которую возможно использовать при постановке опытов по выращиванию нанокластеров *in vitro*. В связи с этим обращает на себя внимание работа [3], в которой впервые *in vitro* проведен синтез нанокластеров гидроксиапатита в нанопоровом пространстве подскорлуповой яичной мембраны. Оказалось возможным вырастить вытянутые нанокластеры с продольными размерами до 30 nm и поперечными размерами до 5 nm. По-видимому, нанокластеры, заполнив пору, достигают ее границ, которые препятствуют дальнейшему росту. Нанокластеры могут фиксироваться водородными связями на поверхности поры. Поэтому интересно исследовать энергии водородных связей в мембране куриного яйца. Энергия водородной связи характеризует энергию молекулярного

взаимодействия в мембране. Для ее оценки применим метод ИК-спектроскопии. Для анализа из спектра, приведенного в работе [4], выделим полосу поглощения гидроксильными (–ОН) группами (см. рисунок). Именно содержащиеся в них протоны ответственны за формирование водородных связей (Н-связей). Влияние образования Н-связей на колебательные частоты ОН-групп довольно хорошо изучено [5], что может быть использовано для оценки величин энергий их связей. Цель настоящей работы состоит в оценке энергии Н-связи в мембране куриного яйца для сравнения с аналогичной энергией для аортального клапана человека. Сравнение этих двух величин позволит сделать вывод о перспективности использования подскорлуповой мембраны куриного яйца в качестве модели базальной мембраны аортального клапана человека. Эта цель достигается разбиением ИК-спектра из работы [4] в области колебаний растяжения водородной связи на гауссианы и сравнением па-



Спектр полосы Амид А подскорлуповой пленки. Точки — эксперимент, тонкие линии — гауссовы контуры деконволюции, жирная линия — огибающая контуров деконволюции.

Результаты оценок энергий Н-связей в подскорлуповой пленке яйца

Частоты ОН-групп, cm^{-1}	Сдвиг частоты ОН-групп, cm^{-1}	Энергия Н-связи, kJ/mol
3229	421	22.9
3423	227	15.8
3529	121	7.1

раметров разложения с эталонной оценкой, приведенной в [5].

Оценим величину энергии Н-связи в мембране яйца. На рисунке представлен фрагмент спектра ИК-поглощения яичной оболочки, содержащий полосу Амид А, вместе с результатом его деконволюции гауссовыми контурами методом наименьших квадратов [6]. Отметим, что оказалось достаточно шести контуров, чтобы среднеквадратичное отклонение не превышало 0.992. Результат этой процедуры представлен на рисунке кривыми гауссовых контуров и кривой их огибающей. Контур с максимумами при 2850 и 2964 cm^{-1} соответствуют хорошо известным полосам поглощения метил-метиленовыми группами, которые, как известно, индифферентны по отношению к формированию Н-связей и по этой причине оказываются вне рамок нашего интереса, хотя и могут служить реперами, подтверждающими надежность использованной градуировки частот. Полоса вблизи 3100 cm^{-1} может быть отнесена к поглощению валентными колебаниями аминокислотных NH_2 -групп, которые хотя и охватываются Н-связями, но по причине отсутствия надежных данных по их влиянию на собственную частоту колебаний этой группы также остаются вне рамок нашего анализа. А полоса при 3231 cm^{-1} может быть отнесена к поглощению ОН-группой, охваченной Н-связью. Именно параметры этого контура будут использованы в дальнейшем для оценки величины энергии Н-связи. Контур при 3333 cm^{-1} является типичным для валентных колебаний NH-группы коллагена [7,8], что может дополнительно подтвердить нашу идентификацию спектра, равно как и контур при 3470 cm^{-1} (деформационные колебания ОН-групп) [8]. Воспользуемся теперь полученными нами величинами частот колебаний ОН-групп для оценки энергий охваченных ими Н-связей по величине сдвига этих частот от частоты деформационных колебаний свободных от Н-связей групп ОН (3650 cm^{-1} [5]) с помощью эмпирического корреляционного соотношения величин сдвига и энергий [5]. Полученные таким образом результаты представлены в таблице. Видно, что в пленке энергия Н-связи близка по величине к ее типичному значению в аортальном клапане здорового человека (22.9 kJ/mol), но несколько меньше, чем в костной ткани (24.9 kJ/mol) [9].

На основе указанного выше можно сделать вывод, что близость энергий нековалентных взаимодействий подскорлуповой мембраны куриного яйца к аналогичным

параметрам базальной мембраны аортального клапана также свидетельствует о том, что она является хорошим аналогом для проведения биофизических экспериментов *in vitro*.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

- [1] Izquierdo-Gómez M.M., Hernández-Betancor I., García-Niebla J., Martí-López B., Laynez-Cerdeña I., Lacalzada-Almeida H.I. // Biomed. Res. Int. 2017. V. 2017. P. 5178631 (1–12).
- [2] Ястребов С.Г., Гуляев Н.И., Галенко А.С., Прус М., Суклицкая А.В. // Письма в ЖТФ. 2019. Т. 45. В. 4. С. 46–49.
- [3] Neelakandeswari N., Sangami G., Dharmaraj N. // Synth. React. Inorg. Met.-Org. Nano-Met. Chem. 2011. V. 41. N 5. P. 513–516.
- [4] Torres-Mansilla A.C., Delgado-Mejia E. // Int. J. Poult. Sci. 2017. V. 16. N 11. P. 451–456.
- [5] Иванов-Омский В.И. // Письма в ЖТФ. 2014. Т. 40. В. 16. С. 28–35.
- [6] Marquardt D.W. // J. Soc. Industr. Appl. Math. 1963. V. 11. N 2. P. 431–441.
- [7] Kudo S., Ogawa H., Yamakita E., Watanabe Sh., Suzuki T., Nakashima S. // Appl. Spectr. 2017. V. 71. N 7. P. 1621–1632.
- [8] Movasaghi Z., Rehman S., Rehman I. // Appl. Spectr. Rev. 2008. V. 43. N 2. P. 134–179.
- [9] Иванов-Омский В.И., Рутковский К.С., Гуляев Н.И., Галенко А.С., Ястребов С.Г. // Письма в ЖТФ. 2019. Т. 45. В. 18. С. 28–35.