

Tomasz SOSNOWSKI<sup>1</sup>, Michał KOLIŃSKI<sup>2</sup>, Leon GRADÓŃ<sup>1</sup>

e-mail: t.sosnowski@ichip.pw.edu.pl

<sup>1</sup>Katedra Inżynierii Procesów Zintegrowanych, Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Politechnika Warszawska, Warszawa<sup>2</sup>Laboratorium Biomodelowania, Międzynarodowy Instytut Biologii Molekularnej i Komórkowej, Warszawa

## Wpływ benzo[a]pirenu na własności fosfolipidów surfaktantu płucnego: modelowa analiza toksyczności spalin silników Diesla

### Wstęp

Aerozole emitowane z silników *Diesla* są groźne dla zdrowia, co wynika zarówno z ich bezpośredniego oddziaływania na układ oddechowy, jak i przenikania za jego pośrednictwem do innych narządów [1, 2]. Cząstki dieslowskie mają charakter nanostrukturalnych agregatów o rozbudowanej powierzchni, przez co są dobrymi nośnikami zaadsorbowanych związków organicznych, często wykazujących działanie rakotwórcze (np. związki wielopierścieniowe PAH) [3]. Po inhalacji i osadzeniu się na powierzchni płuc, cząstki te kontaktują się z surfaktantem płucnym (SP), będącym pierwszą barierą kontaktu układu oddechowego ze środowiskiem. Wniesione do płuc związki PAH mogą być wymywane z cząstek i bezpośrednio oddziaływać ze składnikami surfaktantu. SP jest specyficzną mieszaniną lipidów i białek, która pełni ważną rolę w poprawnym funkcjonowaniu układu oddechowego. Funkcje fizjologiczne SP wynikają m.in. z jego aktywności powierzchniowej. Fluktuacje napięcia powierzchniowego, wywołane przez cykliczne zmiany powierzchni płuc przy oddychaniu, prowadzą do wystąpienia efektów *Marangoniego*, będących czynnikiem intensyfikującym procesy wymiany masy (usuwanie depozytów aerozolowych z powierzchni płuc, wymiana gazowa) [4, 5].

W ramach niniejszej pracy, będącej przykładem zastosowania inżynierii chemicznej w problematyce biomedycznej, testowana jest hipoteza fizykochemicznego mechanizmu toksycznego działania wdychanych zanieczyszczeń zawierających PAH (np. spalin silników *Diesla*), prowadzącego poprzez zaburzenie właściwości powierzchniowo czynnych surfaktantu płucnego.

### Metodyka badań

W badaniach zastosowano benzo[a]piren (BAP) jako modelowy związek z grupy PAH o udokumentowanej toksyczności [m.in. 3] oraz DPPC (dipalmitylofosfatydylocholinę) – jako główny fosfolipid surfaktantu płucnego, determinujący aktywność powierzchniową naturalnego SP. Pomiary przeprowadzono w temperaturze fizjologicznej (37°C) w wadze *Langmuira-Wilhelmy'ego* (KSV, Finlandia), która umożliwia rejestrację zmian napięcia powierzchniowego podczas zmniejszania wielkości powierzchni cieczy (w analizowanym przypadku: wody) zawierającej molekuły badanego związku. Budowę i zasadę działania urządzenia opisano m.in. w pracy [6]. DPPC i BAP wprowadzono bezpośrednio na powierzchnię wody (jakość RO) dozując odpowiednie objętości ich roztworów w chloroformie. W wyniku doświadczeń określono przebieg krzywych kompresji, tj. zależności: dynamiczne napięcie powierzchniowe-względne pole powierzchni międzyfazowej ( $\sigma$ - $A$ ) dla powierzchni zawierającej DPPC w obecności kilku stężeń BAP (Tab. 1).

Na podstawie uzyskanych zależności wyliczono zmiany współczynnika ściśliwości, zdefiniowanego jako:

$$\kappa = \frac{1}{A} \frac{dA}{d\sigma} \quad (1)$$

Charakteryzuje on własności reologiczne powierzchni cieczy – gaz zawierającej molekuły związków powierzchniowo czynnych, a więc jej zachowanie się pod wpływem wymuszeń mechanicznych [6]. Informacja taka jest wymagana dla oceny zachowania się układu zawie-

Tab. 1. Składy badanych warstw powierzchniowych DPPC/BAP

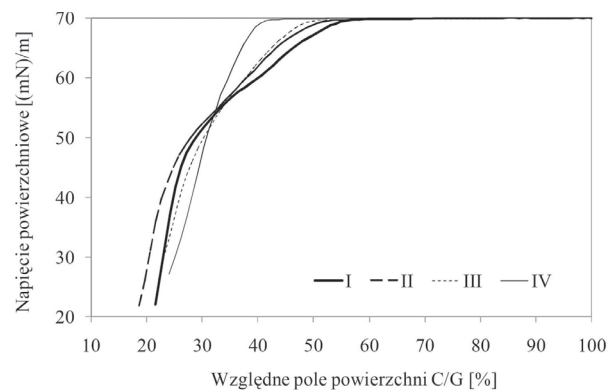
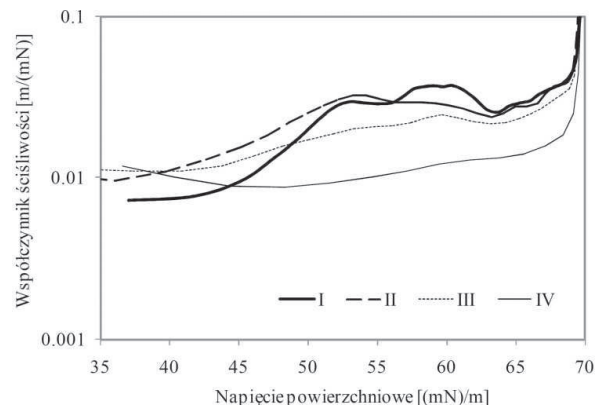
Oznaczenie pomiaru	I	II	III	IV
Stosunek masowy BAP/DPPC w warstwie powierzchniowej	0	0,08	0,15	0,33

rającego surfaktantu płucnego podczas pulsacji powierzchni pęcherzyków płucnych w cyklu oddechowym. Dane doświadczalne skonfrontowano z wynikami modelowania oddziaływań DPPC-BAP uzyskanymi metodą dynamiki molekularnej (MD). Szczegółowy opis narzędzi i procedur użytych do sformułowania i rozwiązania modelu MD można znaleźć m.in. w pracy [7].

### Wyniki i dyskusja

Krzywe kompresji zmierzone dla powierzchni woda/powietrze zawierającej DPPC oraz domieszki BAP w różnych proporcjach przedstawiono na rys. 1, zaś wyliczone na ich podstawie zależności współczynnika ściśliwości powierzchni w funkcji napięcia powierzchniowego (Rys 2).

Linia oznaczona jako I na rys. 1 i 2 ilustruje dane uzyskane dla powierzchni zawierającej tylko DPPC. Analiza uzyskanych wyników wskazuje, że obecność molekuł BAP na powierzchni woda-powietrze

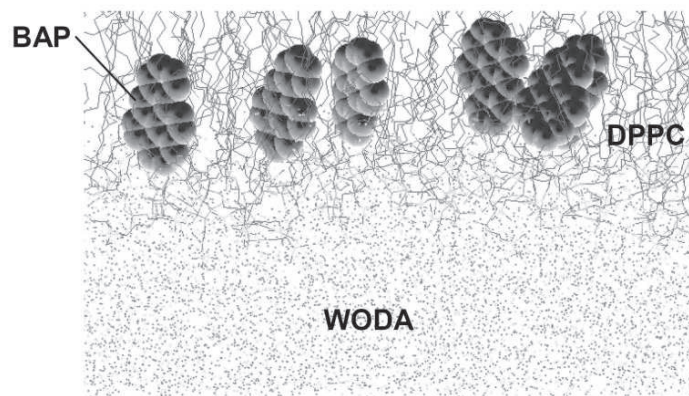
Rys. 1. Izotermy kompresji (37°C) powierzchni cieczy – gaz (C/G) zawierającej molekuły DPPC i BAP (oznaczenia wg tab. 1). Szybkość kompresji: 2,5 cm<sup>2</sup>/s

Rys. 2. Zależność współczynnika ściśliwości powierzchni cieczy – gaz zawierającej molekuły DPPC i BAP od chwilowej wartości napięcia powierzchniowego

wyraźnie wpływa na aktywność powierzchniową zaadsorbowanego fosfolipidu. Zaburzenie aktywności jest zależne od dawki BAP i przejawia się zmianami przebiegu krzywej kompresji, z czego wynikają następujące konsekwencje:

- przy niewielkim spadku napięcia powierzchniowego ( $\sigma$  większe od 60 (mN)/m) spada ściśliwość w układach DPPC/BAP. Sugeruje to wzrost oddziaływań wzajemnych między cząsteczkami związków zaadsorbowanych na powierzchni wody, czego przyczyną może być wbudowanie się molekuł BAP w strukturę monowarstwy DPPC;
- obserwuje się inny przebieg zależności ściśliwości powierzchni zawierającej oba związki w obszarze obniżonego napięcia powierzchniowego. W przypadku DPPC, wraz ze spadkiem wartości  $\sigma$  obserwuje się lokalne maksimum, a następnie spadek wartości współczynnika ściśliwości, odzwierciedlający kondensację filmu powierzchniowego [6, 8]. Dla monowarstw mieszanych ściśliwość zaczyna w pewnym obszarze przewyższać wartości charakteryzujące powierzchnię zawierającą tylko fosfolipid. Efekt ten zależy od proporcji masowej obu związków i wskazuje najprawdopodobniej na możliwość selektywnego usuwania z powierzchni międzyfazowej molekuł BAP jako cząsteczek słabiej związanych z tą powierzchnią. Usuwanie to (desorpcja) przebiega po przekroczeniu granicznej wartości stężenia powierzchniowego osiąganego wskutek sprężania powierzchni. Podobny efekt był obserwowany podczas kompresji innych mieszanych monowarstw zawierających fosfolipidy [6, 9].

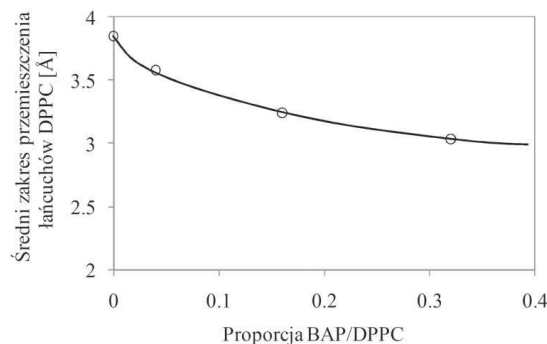
Wyniki modelowania przeprowadzonego metodami dynamiki molekularnej potwierdzają słuszność powyższych interpretacji obserwacji doświadczalnych. Stan początkowy modelowania MD zakładał obecność molekuł BAP w fazie wodnej. Warunek minimalizacji energii układu doprowadził do ich dyslokacji w kierunku powierzchni cieżg. Na rys. 3 przedstawiono obraz ilustrujący strukturę powierzchniowej monowarstwy DPPC w obecności BAP po osiągnięciu stanu równowagi dynamicznej.



Rys. 3. Wynik modelowania MD wskazujący na lokalizację związku wielopierścieniowego BAP w obszarze hydrofobowym monowarstwy DPPC zaadsorbowanej na powierzchni wody

Widoczne jest umiejscowienie się molekuł BAP w obszarze zajmowanym przez hydrofobowe łańcuchy fosfolipidu. Taka struktura warstwy powierzchniowej sugeruje ograniczenie mobilności łańcuchów węglowodorowych DPPC, co powinno znaleźć wyraz w usztywnieniu powierzchni (a więc spadku jej ściśliwości – co zostało zaobserwowane doświadczalnie). Wyliczone teoretycznie ograniczenie ruchliwości łańcuchów węglowodorowych molekuł DPPC w obecności BAP (czas obserwacji: 1 ns), przedstawiono na rys. 4.

Analiza wszystkich uzyskanych wyników potwierdza więc wystąpienie zaburzenia aktywności powierzchniowej głównego składnika sur-



Rys. 4. Wyliczony (modelowanie MD) średni zakres ruchliwości łańcuchów węglowodorowych DPPC, zmniejszający się na skutek obecności molekuł BAP w warstwie

faktantu płucnego, tj. DPPC, przy kontakcie ze związkami wielopierścieniowymi (na przykładzie BAP), jakie mogą być wprowadzane do płuc wraz z wdychanymi aerozolami zawartymi w spalinach silników Diesla.

## Wnioski

W badaniach doświadczalnych popartych wynikami modelowania przeprowadzonego metodami dynamiki molekularnej wykazano, że domieszki benzo[a]pirenu wpływają na dynamiczne właściwości powierzchniowo czynne głównego fosfolipidu surfaktantu płucnego, w wyniku czego zaburzone zostają również właściwości reologiczne powierzchni woda-powietrze zawierającej ten surfaktant. Na skutek oddziaływań molekularnych, których przebieg częściowo wyjaśniają przytoczone wyniki modelowania MD, powierzchnia w odmienny sposób reaguje na wymuszenia mechaniczne. Oznacza to, że czasowa ewolucja wartości napięcia powierzchniowego w trakcie deformacji powierzchni ulega zmianie. Biorąc pod uwagę znaczenie dynamiki zmian napięcia powierzchniowego w płucach dla przebiegu procesów fizjologicznych [4, 10], można więc wskazać na teoretyczną możliwość wywołania niepożądanych efektów zdrowotnych (toksyczność) przez fizykochemiczne oddziaływanie wdychanych związków z grupy PAH z surfaktantem płucnym. W zaproponowanym podejściu celowo nie uwzględniono bezpośredniej interakcji cząstek z surfaktantem płucnym, gdyż już we wcześniejszych pracach wykazano, że aktywność powierzchniowa jego składników jest zaburzana także przez same depozyty aerozolowe [11, 12]. Wyniki niniejszej pracy wskazują jednak, że oddziaływanie wdychanych spalin silników Diesla z surfaktantem płucnym może przebiegać w sposób bardziej złożony i jest uzależnione od właściwości wszystkich substancji dostających się do płuc.

## LITERATURA

- [1] J. Marijnissen, L. Gradoń (Eds.): Nanoparticles in Medicine and Environment, Springer, Dordrecht, 2009.
- [2] G. Oberdörster et al.: Inhal. Toxicol. **16**, 437 (2004).
- [3] J.C. Seagrave et al.: Toxicol. Sci. **70**, 212 (2002).
- [4] L. Gradoń, A. Podgórski: Chem. Eng. Sci. **44**, 741 (1989).
- [5] T.R. Sosnowski et al: Int. J. Occup. Safety Ergon. **4**, 391 (1998).
- [6] T.R. Sosnowski et al: Inż. Chem. Proces. **27**, 93 (2006).
- [7] T.R. Sosnowski et al: Ann. Occup. Hyg. – submitted (2010).
- [8] J. Lyklema: Fundamentals of Interface and Colloidal Science, Academic Press, San Diego, 2000.
- [9] B. Pastrana-Rios et al: Biochemistry **33**, 5121 (1994).
- [10] T.R. Sosnowski: Chem. Process Eng. **29**, 305 (2008).
- [11] T.R. Sosnowski et al: Aerosol Sci. Techn. **32**, 52 (2000).
- [12] T.R. Sosnowski et al: Inż. Ap. Chem. **48**, nr 5, 99 (2009).