

**ТЕОРЕТИЧНА ТА  
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА  
МЕДИЦИНА**

УДК 577.352:543.395:616-092.9

*Багмут І.Ю., Жуков В.І, Наконечна О.А.*

*Харківська медична академія  
післядипломної освіти*

*Харківський національний медичний  
університет*

**СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ  
СТАН МЕМБРАН ПІД ВПЛИВОМ  
ПОЛІЕТИЛЕНОКСИДІВ В  
ЕКСПЕРИМЕНТІ**

*Вивчено вплив поліетиленоксидів на структурно-функціональний стан мембран еритроцитів, лімфоцитів, гепатоцитів, спленоцитів щурів в умовах підгострого експерименту. Визначена зміна фізико-хімічних властивостей мембран і порушення структурно-метаболических процесів під впливом поліетиленоксидів. Отримання результатів лежать в основі формування патологічних станів теплокровних тварин.*

**Ключові слова:** *поліетиленоксиди, вплив, мембрани, клітини організму, білі щури популяції Вістар.*

**Вступ.** Сьогодні збільшилась доля негативного впливу на біосферу хімічної промисловості, яка використовується у народному господарстві для отримання пластмаси, поліуретанів, штучної шкіри, лаків, емалей, епоксидних смол, гідравлічних та гальмівних рідин тощо. Великі об'єми виробництва і значний асортимент продукції, яка виходить на основі поліетиленоксидів є потенційно небезпечними як для людини так і для середовища проживання. Виробники хімічної промисловості щорічно синтезують десятки тисяч нових хімічних сполук, які

раніше не використовувалися і людина не має до них еволюційної адаптації. За думкою багатьох авторів [1, 2, 3], значна кількість хімічних сполук здатна модулювати радіобіологічні ефекти, має мембранотропну дію, викликає в організмі вільнорадикальну патологію, пригнічує клітинний та гуморальний імунітет, змінюючи імунобіологічну реактивність, що в значній мірі визначає тривалість і кінець багатьох хвороб. Як і інші хімічні сполуки, поліетиленоксиди можуть привести до змін адаптаційної системи організму теплокровних тварин і закономірному формуванню патологічних станів. Особливу увагу у дослідженні біологічної активності нових сполук набувають дослідження токсикодинаміки, токсикокинетики, біотрансформації ксенобіотиків, та дослідження по вивченню структурно-функціонального стану мембран клітин-мішеней [1].

**Метою дослідження** було вивчення впливу нової групи поліетиленоксидів на структурно-функціональний стан мембран еритроцитів, лімфоцитів і гепатоцитів у підгострому досліді.

**Об'єкт та методи дослідження.**

Дослідженню підлягала група поліетиленоксидів із регламентованими фізико-хімічними властивостями. Об'єктами дослідження були поліетиленоксид М.м. 200 (Л-202), поліетиленоксид М.м. 1100 (Л-1102-4-80), поліетиленоксид М.м. 3000 (Л-3003-2-60), поліетиленоксид М.м. 4000 (Л-4003-2-20). Ці речовини за параметрами токсичності відносяться до помірно і малотоксичних сполук (3-4 клас небезпеки), не мають шкіряно-подразливих властивостей, видової і статевої чутливості. Вплив сполук на стан біологічних мембран оцінювався в умовах підгострого перорального впливу поліетиленоксидів на білих щурах популяції Вістар. Тривалість експерименту складала 45 діб. Речовини у дозах 1/10; 1/100; 1/1000 ДЛ<sub>50</sub>, що складало відповідно для Л-202 – 304,0; 30,4; 3,4, Л-1102-4-80 – 480,0; 48,0; 4,8, Л-3003-2-60 – 321,0; 32,1; 3,21, Л-4003-2-

20 – 587,0; 58,7; 5,87 мг/кг маси тварини щоденно, вранці натще серце, вводилися внутрішньошлунково експериментальним тваринам за допомогою зонду. Контрольна група тварин отримувала очищену водомережну воду у відповідних об'ємах. По закінченню підгострого впливу ксенобіотиків вивчався структурно-функціональний стан мембран еритроцитів, гепатоцитів і лімфоцитів. Програма дослідження передбачала визначення фракцій фосфоліпідів, іонної проникності, в'язкості, заряду і полярності мембран.

Аналіз фракцій фосфоліпідів мембран проводився методом двохмірної хроматографії неорганічного фосфату за V.E. Vashsovy та T.A. Terckiove [4]. Ідентифікацію фосфоліпідів проводили за стандартними зразками фосфоліпідів і якісним виявителем [5]. Іонна проникність мембран оцінювалася за вільним і індукованим валіноміціном виходу іонів  $K^+$  із еритроцитів за наступним їх визначенням у розчині за допомогою іоноселективного калієвого електроду. Зміна в'язкості, полярності і заряду мембран під впливом поліетиленоксидів вивчалася методом флуоресцентних зондів.

Інтенсивність вільнорадикальних процесів і перекисного окислення ліпідів, як критеріально-значущих показників структурно-функціонального стану мембран, вивчали за інтенсивністю люмінол – та  $H_2O_2$  – індукованої біохемілюмінесценції, а також накопиченню малонового діальдегіду та дієнових кон'югатів. Стан окисної модифікації білків оцінювався за рівнем утворення альдо- і кетогідразонів.

Результати дослідження статистично оброблені з використанням критерію Ст'юдента-Фішера.

### **Результати дослідження та їх обговорення.**

Сьогодні є багато інформації про біологічну дію хімічних сполук та стимулювання вільнорадикальних процесів і перекисного окислення ліпідів, внаслідок чого у органах та тканинах

накопичуються перекиси, гідроперекиси і інші реакційноздатні радикали, маючи мембраноруїнівальну дію. Використання кисню саме у таких внутріклітинних процесах, як біологічне окислення та окислювальне фосфорилування (внутрішня мембрана мітохондрій), окислювальна мікросомальна деструкція ксенобіотиків, присутність і функціонування у цих органелах спеціалізованих електронно-транспортних ланцюгів, утворення вільнорадикальних інтермедіатів у процесі ферментативного каталізу і внаслідок існування природного радіаційного фону супроводжуються виникненням активних форм кисню – радикалів і пероксидів, виступаючих у ролі катализаторів і продуктів не ферментативного ПОЛ [1,2]. Активні форми кисню виявляються у різноманітних клітинних органелах, втім в дуже низьких концентраціях –  $10^{-11}M$ . Супероксидний аніон-радикал  $O_2^-$  був виявлений у ядерній, плазматичній, мікросомальній та мітохондриальній мембранах тощо. Відома його здатність легко проникати крізь біологічні мембрани впродовж аніонних каналів без специфічних переносників.  $OH(O_2)$  може діяти як окисник, перетворюючись, наприклад, у пероксид водню, або як відновлювач, віддавая свій електрон. Присутність у дуже малій кількості активних форм кисню забезпечує подолання бар'єру активації та створює умови для розгортання вільнорадикальних реакцій ПОЛ. Серед органічних молекул найбільш вразливі для реакцій перекисного окислення поліетиленоксидів молекули жирних кислот, які входять до складу фосфоліпідів біологічних мембран і ліпопротеїнів крові. Слід зазначити, що активація вільнорадикальних процесів і ПОЛ утворюють реальну небезпеку розгортання вільнорадикальних ланцюгових реакцій не тільки ліпідів, але й білків. В оцінці окисдантно-антиоксидантного гомеостазу позитивно зарекомендував себе метод біохемілюмінесценції (БХЛ). Як відомо із

літературних джерел, він може виступати як один із найчутливіших і інтегральних тестів під час вивчення ПОЛ, СРО та молекулярної біоенергетики клітинного метаболізму [5,6,7]. Дослідження показали, що поліетиленоксиди у 1/100 та 1/ 1000 ДЛ<sub>50</sub> збільшували в умовах

підгострого дослідіу інтенсивність біохемілюмінесценції гомогенатів внутрішніх органів та тканин, вміст у печінці та сироватці крові малонового діальдегіду (МДА), дієнових кон'югатів (табл. 1)

Таблиця 1

**Стан вільнорадикальних процесів та перекисного окислення ліпідів під впливом поліетиленоксидів у 1/100 ДЛ<sub>50</sub>**

Показники, об'єкти дослідження	Речовини, М±m				
	Л-202	Л-1102-4-80	Л-3003-2-60	Л-4003-2-20	КОНТРОЛЬ
Дієнові кон'югати (нмоль/мл), сироватка	4,85±0,20*	3,79±0,18*	4,10±0,26*	4,20±0,31*	2,53±0,16
МДА(нмоль/мл), сироватка	1,43±0,15*	1,65±0,22*	1,38±0,17*	1,54±0,13*	0,73±0,06
Дієнові кон'югати (нмоль/г), печінка	7,45±0,38*	9,20±0,65*	7,95±0,36*	8,40±0,42*	4,95±0,30
МДА(нмоль/мл), печінка	5,80±0,60*	5,40±0,36*	5,20±0,38*	4,62±0,27*	2,35±0,14
Люмінол-індуков. БХЛ (І°·сек.), сироватка	1105,4±30,5*	1235±40,7*	1280±37,2*	1154,3±28,2*	780,6±21,3
Люмінол-індуков. БХЛ (І°·сек.), печінка	1315,5±48,6*	1275±51,3*	1304,5±42,3*	1260,8±32,3*	865,7±30,5
Н <sub>2</sub> О <sub>2</sub> індуков. БХЛ (І°·сек.), сироватка	920,4±31,6*	895,6±21,9*	980,3±27,5*	925,6±17,2*	710,3±25,4
Н <sub>2</sub> О <sub>2</sub> індуков. БХЛ (І°·сек.), печінка	1094,3±27,5*	1103,8±30,6*	1120,6±22,4*	1136,2±38,4*	805,6±23,7

Примітка: \*-розрізняння вірогідні, P<0,05

Доза 1/1000 ДЛ<sub>50</sub> не здійснювала вплив на рівень вмісту у органах та тканинах продуктів перекисного окислення ліпідів.

Пероральне надходження у організм білих щурів поліетиленоксидів призводило до збільшення у сироватці крові вмісту альдо- та кетогідразонів, що свідчило про стимуляцію процесів пов'язаних з окисною модифікацією білків (табл. 2). Як і у попередніх

дослідженнях доза 1/10000 ДЛ<sub>50</sub> не впливала на цей показник.

Враховуючи, що поліетиленоксиди містять гідрофільні групи та гідрофобні радикали можна передбачити вірогідність першочергового впливу їх на білкові та ліпідні структури мембран. В цьому зв'язку проведено визначення відсоткового вмісту фракцій фосfolіпідів у еритроцитах, лейкоцитах, спленоцитах та гепатоцитах методом

двомірної тонкошарої хроматографії. Для вивчення фосфоліпідного складу визначалися фосфатидилхолін (ФХ), сфингомієлін (СМ), фосфатидилсерин (ФС), лизофосфатидилетаноламін (ЛФЕА), лизофосфатидилхолін (ЛФХ), фосфатидилетаноламін (ФЕА),

фосфатидна кислота (ФК) та кардіоліпін (КЛ). Як показали результати досліджень, поліетиленоксида у 1/10 та 1/100 ДЛ<sub>50</sub> змінювали відсоткове співвідношення практично всіх досліджуваних фракцій фосфоліпідів мембран аналізуючи об'єктів.

Таблиця 2

**Вплив поліетиленоксидів у 1/100 ДЛ<sub>50</sub> на вміст продуктів перекисного окислення білків**

Ксенобіотики	Показники, М±m	
	2,4-динітрофенілальдогидразони (од.опт.щільн/г білку), λ-370 нм	2,4-динітрофенілкетогидразони (од.опт.щільн/г білку), λ-380 нм
Л-202	37,82±2,16*	46,52±2,37*
Л-1102-4-80	41,54±1,75*	44,83±2,43*
Л-3003-2-60	42,33±1,60*	41,78±1,96*
Л-4003-2-20	39,80±2,70*	43,65±2,28*
Контроль	21,74±1,83	24,46±2,17

Примітка: \*-розрізняння вірогідні, P<0,05

Загальним та характерним у структурі фосфоліпідних фракцій є збільшення лізоформ фосфоліпідів (табл.3). Це свідчить про порушення

структури мембран еритроцитів, лейкоцитів та гепатоцитів, що супроводжує утворення високотоксичних сполук.

Таблиця 3

**Вплив поліетиленоксидів на фосфоліпідний склад мембран клітин під впливом 1/100 ДЛ<sub>50</sub>**

Речовини, об'єкти дослідження		Показники, М±m (% від суми)							
		ФЕА	ФХ	СМ	ФС	ЛФЕ	ЛФХ	ФК	КЛ
Л-202	Еритроцити	14,5±0,9*	58,6±1,7*	10,3±0,8*	7,2±0,6*	3,1±0,4*	4,4±0,7*	3,9±0,8*	0,75±0,04*
	Лейкоцити	15,3±0,9*	61,4±2,7*	12,6±0,8*	8,9±0,65	4,3±0,33*	4,5±0,20*	4,1±0,35*	0,85±0,09*
	Гепатоцити	16,4±1,3*	60,2±2,3*	12,1±1,2*	9,2±0,7	4,0±0,28*	4,78±0,6*	3,70±0,25*	0,80±0,07*
	Спленоцити	17,0±1,9*	60,3±2,6*	13,4±0,9*	8,2±0,65*	3,8±0,6*	3,5±0,40*	5,1±0,35*	0,90±0,08*
Л-3003-2-60	Еритроцити	14,2±1,5*	58,3±2,6*	10,2±1,3*	7,4±0,5*	3,6±0,8*	4,2±0,45*	3,9±0,70	0,8±0,06*
	Лейкоцити	14,8±1,2*	62,3±2,7*	11,5±1,3*	8,9±0,7	4,5±0,37*	4,3±0,40*	4,1±0,25*	0,8±0,06*
	Гепатоцити	15,4±1,6*	61,7±2,4*	11,3±1,7*	8,8±0,7	4,1±0,35*	4,85±0,73*	3,65±0,30*	0,75±0,09*
	Спленоцити	17,9±1,7*	59,4±2,8*	13,3±0,7*	9,5±0,9	4,95±0,6*	3,3±0,25*	2,8±0,4*	0,7±0,08*
Контроль	Еритроцити	20,4±1,8	41,3±1,5	14,7±1,3	11,5±0,7	1,2±0,40	1,3±0,30	6,2±0,7	0,5±0,06
	Лейкоцити	24,5±1,8	38,9±1,5	17,3±0,6	9,1±1,3	1,4±0,30	1,15±0,2	7,3±0,8	0,55±0,07
	Гепатоцити	23,3±2,1	39,3±3,1	16,0±0,9	9,0±1,2	1,3±0,6	1,1±0,2	7,7±0,9	0,5±0,1
	Спленоцити	21,3±1,6	40,3±2,4	15,2±0,8	9,2±0,95	1,40±0,35	0,8±0,1	6,8±0,55	0,45±0,08

Примітка: \*-розрізняння вірогідні, P<0,05

В ході досліджень встановлено, що досліджувані речовини по закінченню підгострого досліду приводили до зниження текучості цитоплазматичних

мембран клітин крові в порівнянні з рівнем контрольних груп тварин (табл. 4).

Таблиця 4

**Вплив поліетиленоксидів у 1/100 ДЛ<sub>50</sub> на текучість мембран еритроцитів і лімфоцитів (коефіцієнт ексімеризації  $\lambda$  іспуск. – 470 нм/ $\lambda$  іспуск. – 393 нм)**

Речовина	Показник, $M \pm m$			
	Лімфоцити		Еритроцити	
	Білок-ліпідні контакти	Ліпідний біслой	Білок-ліпідні контакти	Ліпідний біслой
Контроль	3,75±0,09	3,6±0,06	2,95±0,04	2,93±0,06
Л-202	1,75±0,03*	1,90±0,04*	1,50±0,03*	1,70±0,03*
Л-3003-2-60	1,80±0,04*	1,95±0,06*	1,60±0,05*	1,75±0,04*
Л-1102-4-80	1,65±0,06*	1,80±0,05*	1,40±0,04*	1,60±0,03*

Примітка: \*-розрізняння вірогідні,  $P < 0,05$

Цьому процесові в більшому ступені підвернені еритроцитарні мембрани, у яких значні зміни виявлені у ліпідному бішарі і зоні білок-ліпідних контактів. В залежності від дози і тривалості впливу поліетиленоксидів текучість мембран знижувалася до 40%. У лімфоцитів зниження текучості торкало переважно ліпідний бішар і було максимальним під впливом 1/100 ДЛ<sub>50</sub>. Крім того, визначено, що поліетиленоксиди підвищували і занурення білків у ліпідний бішар мембран еритроцитів і лімфоцитів і в більшому ступені еритроцитів, в наслідок чого порушується активність мембранозв'язаних ферментів.

Разом з цим, поліетиленоксиди не порушували відсотковий вміст фосфатидилсеріну у лейкоцитах, спленоцитах, гепатоцитах, втім у еритроцитах його вміст вірогідно знижувався. Найбільші зміни співвідношення фракцій фосфоліпідів притаманні еритроцитам, що має зв'язок звісно з їх низьким рівнем репаративних і синтетичних процесів, які відбуваються у цих без'ядерних клітинах крові.

Більш значні зміни текучості мембран і занурення білків у ліпідний матрикс в еритроцитах у порівнянні з

лімфоцитами, також можна пояснити тим, що еритроцити володіють низьким потенціалом репарації ушкоджених мембран, зв'язаних з відсутністю ядра, саме і анаболічних каталізаторів.

Інтенсивність флуоресценції 1,8-АНС у лімфоцитах і еритроцитах, відзеркалююча зміни поверхневого заряду плазматичних мембран, значно знижувалася у дослідних групах тварин на 39-94% в залежності від дози дії поліетиленоксидів.

Дослідники [2, 3] відмічають що зниження флуоресценції може бути пов'язано із збільшенням полярності мембран за рахунок дегідратації білкових молекул і накопиченням води у мембранних структурах. Тривалий вплив поліетиленоксидів в умовах хронічного досліду супроводжувався глибоким порушенням фізико-хімічних властивостей мембран, зокрема іонної проникності. Результати виявили, що усі досліджувані поліетиленоксиди у 1/100 та 1/1000 ДЛ<sub>50</sub> збільшували мимовільний та індукований валіноміцином вихід іонів  $K^+$  із еритроцитів, що свідчило про порушення структурно-функціональної організації їх мембран і, як наслідок, іонного транспорту (табл.5).

**Вплив поліетиленоксида на мимовільний та індукований вихід іонів K<sup>+</sup> із еритроцитів під впливом 1/100 ДЛ<sub>50</sub>**

Речовина	Досліджувані показники, M±m (млн/мл)		
	Швидкість мимовільного виходу іонів K <sup>+</sup> із еритроцитів	Швидкість індукованого валіноміцином виходу іонів K <sup>+</sup> із еритроцитів	Сумарна кількість іонів K <sup>+</sup> на 1 мл еритроцитів
Контроль	0,53±0,04	6,50±0,27	18,95±1,62
Л-202	3,65±0,23*	11,80±1,14*	88,95±3,70*
Л-3003-2-60	4,26±0,35*	14,75±1,20*	83,45±4,60*
Л-1102-4-80	5,30±0,62*	15,40±1,60*	90,30±3,55*
Л-4003-2-20	4,80±0,43*	13,95±1,40*	85,60±4,15*

Примітка: \*-розрізняння вірогідні, P<0,05

Отже, аналіз проведених досліджень свідчить, що поліетиленоксида здатні здійснювати однонаправлену дію на структурно-функціональний стан мембран, який супроводжується зміною їх фізико-хімічних властивостей – заряду, проникності, в'язкості, полярності, гідрофобного об'єму, що неминуче може приводить до кількісних та якісних змін активності метаболічних процесів у структурно-функціональних одиницях клітини і дезінтеграції ядерно-цитоплазматичних станів. 1/10000 ДЛ<sub>50</sub> не змінювало фізико-хімічних та метаболічних властивостей мембран.

**УДК 577.352:543.395:616-092.9**

**Багмут И.Ю., Жуков В.И., Наконечная О.А.**

*Харьковская медицинская академия  
последипломного образования*

*Харьковский национальный медицинский  
университет*

**СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ  
СОСТОЯНИЕ МЕМБРАН ПОД  
ВЛИЯНИЕМ  
ПОЛИЭТИЛЕНОКСИДОВ В  
ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

*Изучено влияние  
полиэтиленоксидов на структурно-*

*функциональное состояние мембран эритроцитов, лимфоцитов, гепатоцитов, спленоцитов крыс в условиях подострого эксперимента. Определено изменение физико-химических свойств мембран и нарушение структурно-метаболических процессов под влиянием полиэтиленоксидов. Полученные результаты лежат в основе формирования патологических состояний теплокровных животных.*

**Ключевые слова:** *полиолы, влияние, мембраны, клетки органов-мишеней, белые крысы популяции Вистар.*

**UDC 577.352:543.395:616-092.9**

**Bagmut I., Zhukov V., Nakonechna O.**

*Kharkiv Medical Academy of Postgraduate  
Education*

*Kharkiv National Medical University*

**STRUCTURAL AND FUNCTIONAL  
STATE OF THE MEMBRANE UNDER  
INFLUENCE OF  
POLYETHYLENOXYDS IN  
EXPERIMENT**

*The effect of polyetylenoxydes on the structural and functional state of erythrocyte membranes, cells, hepatocytes, splenocytes of rats in subacute experiment was studied. The change in the physicochemical*

*properties of the membranes and impairment of the structural and metabolic processes under the influence of polyetylenoxydes was obtained. These results are the basis of the formation of pathological conditions of warm-blooded animals.*

Н.Г. — Харьков : Полісинтез, 2001. — 413с.

**Keywords:** *poly, the influence of the membrane, the cells of the target organs, white Wistar rats.*

#### **Література:**

1. Влияние полиолов марок Л-803 и Л-655-2-100 на состояние иммунной системы в подостром опыте / М.А. Ващук, Зайцева О.В., Д.И. Маракушин, В.А. Телегин [и др.] // Медицина сьогодні і завтра. — 2007. — №2. — С. 56-58.

2. Простые и макроциклические эфиры: Научные основы охраны водных водоемов / [Жуков В.И., Попова Л.Д., Зайцева О.В. и др.]. — Харьков : Торнадо, 2000. — 438с.

3. Медико-биологические аспекты охраны водных объектов от загрязнения поверхностно-активными веществами / [Жуков В.И., Кратенко Р.И., Резуненко Ю.К. и др.] — Харьков : Торнадо, 2000. — 397с.

4. Vashsovky V.E. URYIC of phospholipids micstures containingphosphtidyl glycerol / V.E. Vashsovky, T.A. Terekkiove // J. High Res Chromatog. — 1979. — V.2, №11. — P. 671-672.

5. Brockhuse R.M. Phospholipide structure of erythrocytes and hepatocytes / R.M. Brockhuse // Clin. Biochem. — 1974. — V. 14, №13. — P. 157-158.

6. Римарчук Г.В. Оздоровление детей в районах экологического неблагополучия / Г.В. Римарчук // РМЖ. — 1999. — № 7. — С. 89-94.

7. Циганенко А.Я. Структурно-метаболические механизмы формирования нарушений клеточного и гуморального иммунитета под воздействием детергентов в связи с проблемой охраны водных экосистем / Циганенко А.Я., Жуков В.И., Щербань