

ИЗУЧЕНИЕ МЕТОДОМ ФЛЮОРЕСЦЕНТНЫХ ЗОНДОВ ИЗМЕНЕНИЙ В СТРУКТУРЕ МЕМБРАН ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ КРЫС ПОД ВЛИЯНИЕМ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО γ -ИЗЛУЧЕНИЯ**Л. А. Климкина, В. И. Федорченко, Л. В. Король, Т. А. Чурюмова, Л. К. Бездробная***Институт ядерных исследований НАН Украины, Киев*

Исследовали физико-химические параметры мембран лимфоцитов крови крыс, подвергнутых длительному внешнему γ -облучению с низкой мощностью дозы (0,72 сГр/сут) в дозах 30, 60 и 100 сГр. Показано изменение микровязкости и микрополярности липидной фазы мембран лимфоцитов крови крыс с помощью флюоресцентного зонда пирена, а также параметров связывания 1-анилинонафталин-8-сульфоната с поверхностью мембран лимфоцитов, облученных в дозах 60 и 100 сГр. Сделан вывод об усилении окислительных процессов в мембранах лимфоцитов в условиях длительного действия низкоинтенсивного облучения.

Изменение структуры клеточных мембран может приводить, исходя из их функционального значения, к нарушению многих регуляторных процессов, которые происходят не только в мембранах, но и в клетке в целом. Известно, что в организме существует физико-химическая система регуляции клеточного метаболизма мембранами, основными составляющими которой являются система генерации перекисных радикалов липидов, антиоксиданты, состав липидов, вязкость липидной компоненты, мембраносвязанные белки, причем между изменением этих компонентов существует структурная и функциональная взаимосвязь [1]. Поэтому в радиационном повреждении мембраны особую роль играют вторичные процессы повреждения за счет окисления мембран продуктами радиолитического разложения, что может существенно модифицировать свойства клеточных мембран, особенно при хроническом низкоинтенсивном воздействии радиационного фактора [2 - 4]. На протяжении последних лет в радиобиологических исследованиях сформировалось представление о мембранах как альтернативной мишени повреждающего действия ионизирующих излучений по отношению к хроматину [5, 6].

Особого внимания заслуживает тот факт, что при понижении интенсивности радиационного воздействия не существует прямой зависимости степени повреждения мембран от дозы облучения [7, 8]. Это может быть связано с тем, что мембрана является сложной гетерогенной структурой с многоуровневой регуляцией, и изменение мембранных параметров зависит не только от дозы, а и от интенсивности и режима облучения. Общее повреждение даже может увеличиваться с уменьшением мощности дозы [5, 9].

Система крови является одним из самых радиочувствительных компонентов организма. Длительное низкоинтенсивное облучение вызывает количественные и качественные изменения различных клеточных пулов крови и системы кроветворения, которые в значительной мере зависят от мощности излучения и продолжительности воздействия [10]. В основе этих процессов могут лежать физические и биохимические изменения, происходящие в плазме и в мембранах форменных элементов крови, связанные с нарушением окислительного гомеостаза [11, 12]. В частности, показано наличие тесной связи между нарушениями антиокислительного гомеостаза под действием ионизирующего излучения и изменением иммунологического статуса организма [9]. Поэтому актуальным является изучение реакции мембран лимфоцитов на постоянное низкоинтенсивное излучение, тем более что в силу их функциональной роли в организме должны существовать разнообразные механизмы поддержания структурной целостности мембран этих клеток. Несмотря на то, что существует ряд публикаций, характеризующих состояние мембран эритроцитов и плазмы крови в условиях низкоинтенсивного воздействия, состояние мембран лимфоцитов изучено мало и при этом показан сложный характер их изменений под влиянием радиационного фактора [13, 14].

Целью данного исследования было изучение ряда физико-химических параметров, характеризующих структурные свойства мембран целых лимфоцитов периферической крови крыс, подвергнутых длительному низкоинтенсивному γ -облучению.

Материалы и методы

Исследование проводили на беспородных крысах-самцах с начальной массой 200 - 250 г. Крыс облучали на установке "Эталон" от источника ^{60}Co с мощностью дозы 0,72 сГр/сут. Дозы, которые формировались в процессе облучения продолжительностью 42, 84 и 139 сут, составляли 30, 60 и 100 сГр соответственно. Животных содержали на стандартном пищевом рационе в условиях 12-часового цикла дня и ночи. Облучение прерывали только для ухода за животными на 30 мин один раз в сутки. Контрольных животных содержали в аналогичных условиях в отсутствии источника облучения. Забор крови проводили под легким эфирным наркозом из бедренной вены сразу после окончания облучения. В качестве антикоагулянта использовали гепарин из расчета 25 ед. на 1 мл крови. На каждую дозу эксперименты поставлены не менее, чем в трех повторностях, использовано не менее пяти контрольных и пяти облученных животных в каждом эксперименте. Лимфоциты из крови выделяли в градиенте плотности фиколл-верографина ($\rho = 1,077$) по методике [15]. Подсчет лимфоцитов проводили в камере Горяева.

Для характеристики структурного состояния плазматических мембран лимфоцитов исследовали параметры связывания с мембранами флюоресцентных зондов пирена ("Merck", ФРГ) и 1-анилинафталин-8-сульфоната (АНС) ("Serva", ФРГ). Измерения проводили на флюоресцентном спектрофотометре модели "Hitachi 850" (Япония) в термостатируемых кюветах при температуре 37 °С в среде Хенкса.

Спектры флюоресценции пирена в мембранах лимфоцитов регистрировали при $\lambda_{\text{в}} = 337$ нм и ширине щелей монохроматоров со стороны возбуждения и эмиссии 5 и 2 нм соответственно. Концентрация пирена в суспензии лимфоцитов составляла 1 - 5 мкМ, концентрация клеток – 10^7 кл/мл. Соответствие процесса самотушения флюоресценции мономеров уравнению Штерна - Фольмера проверяли по методу [16] с использованием зависимости отношения концентрации зонда к интенсивности флюоресценции при $\lambda_{\text{эм}} = 373$ нм от концентрации зонда. Вязкость мембран оценивали как величину, обратно пропорциональную коэффициенту эксимеризации пирена (K_{ex}), который определяли согласно [16] по отношению интенсивности флюоресценции мономеров при $\lambda_{\text{эм}} = 373$ нм к интенсивности флюоресценции эксимеров при $\lambda_{\text{эм}} = 470$ нм и концентрации пирена в среде инкубации. Полярность мембран определяли как величину, обратно пропорциональную отношению 3-го и 1-го вибронных пиков в тонкой структуре спектра пирена (f_3/f_1) [17].

Для определения параметров связывания АНС с поверхностью мембраны проводили титрование лимфоцитов зондом и зонда лимфоцитами по методике [16]. Флюоресценцию АНС регистрировали при ширине щелей монохроматоров со стороны возбуждения и эмиссии 5 нм, длинах волн возбуждения флюоресценции $\lambda_{\text{в}} = 385$ нм и эмиссии $\lambda_{\text{эм}} = 490$ нм. Определяли константу связывания АНС, количество центров связывания и квантовый выход флюоресценции [16]. Изменение заряда поверхности определяли по [16].

Результаты обрабатывали статистически по t-критерию Стьюдента [18] с использованием Microsoft® Excel 97.

Результаты и обсуждение

Поскольку во всех проведенных нами экспериментах тушение флюоресценции мономерной формы пирена его эксимерами по мере увеличения концентрации пирена в мембранах соответствовало уравнению Штерна - Фольмера, можно считать, что весь пирен находится в одинаковом окружении [16]. Учитывая, что в белках этот зонд не эксимеризуется, следовательно, весь он находится в липидной фазе мембран [16]. Согласно [19], мо-

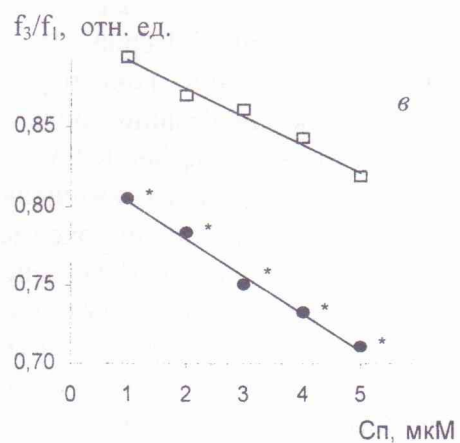
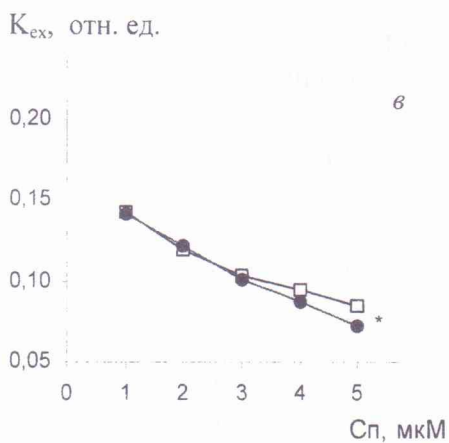
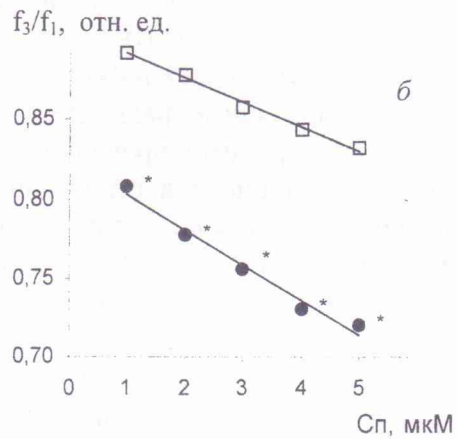
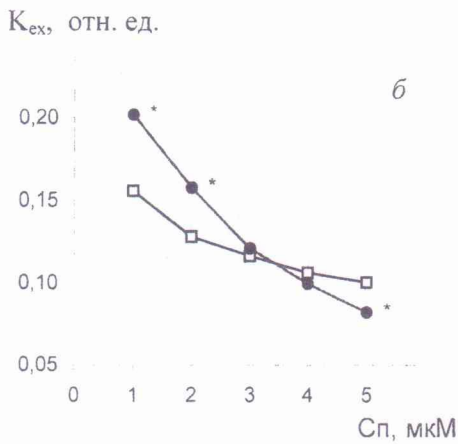
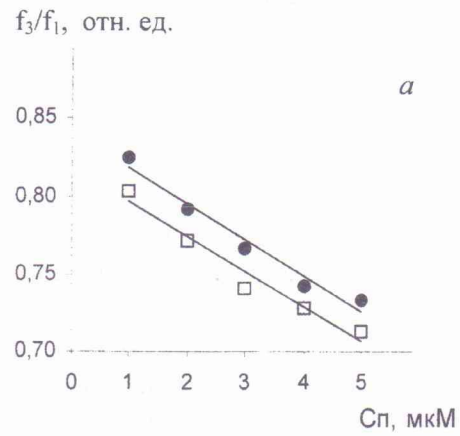
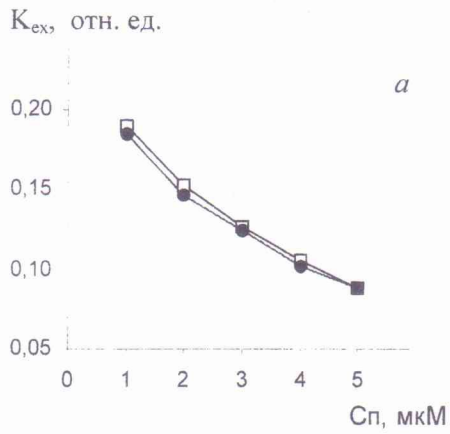


Рис. 1. Зависимость коэффициентов эксимеризации пирена в мембранах лимфоцитов контрольных (□) и облученных (●) (а - 30 сГр, б - 60 сГр, в - 100 сГр) крыс от концентрации пирена.

Сп – концентрация пирена, мкМ;
К_{ex} – коэффициент эксимеризации, отн. ед.

* - $p < 0,05$.

Рис. 2. Зависимость полярности микроокружения пирена в мембранах лимфоцитов контрольных (□) и облученных (●) (а - 30 сГр, б - 60 сГр, в - 100 сГр) крыс от концентрации пирена.

Сп – концентрация пирена, мкМ;
f₃/f₁ – коэффициент, характеризующий микрополярность, отн. ед.

* - $p < 0,05$.

лекулы пирена находятся во всех участках углеводородной области бислоя. При увеличении концентрации этого зонда в мембране его молекулы начинают занимать все более полярные области мембраны [20], и изменение параметра f_3/f_1 с ростом концентрации пирена характеризует градиент полярности в исследуемой структуре [21]. Таким образом, можно наблюдать, как изменяются параметры, характеризующие вязкость и полярность, по мере возрастания вклада в общую флюоресценцию молекул пирена, поднимающихся в более полярные области мембраны.

На рис. 1 представлены результаты типичного эксперимента по изучению вязкости липидной фазы мембран лимфоцитов крови крыс. Видно, что вязкость отдельных зон мембраны возрастает по мере повышения их полярности. У крыс, облученных в дозе 30 сГр, не наблюдается изменение параметра, характеризующего вязкость мембраны, а при облучении крыс в дозе 60 сГр профиль вязкости в мембранах их лимфоцитов имеет более крутую форму по сравнению с контрольным. Т. е. вязкость мембраны в наименее полярной зоне липидного бислоя снижается на 23 – 30 % от опыта к опыту и одновременно в наиболее полярной зоне повышается на 10 – 18 %. При продолжении облучения до накопления дозы 100 сГр изменения вязкости зафиксированы только в более полярных участках мембраны, их величина колеблется около 10 %.

У крыс, облученных в дозах 60 и 100 сГр, было обнаружено и достоверное изменение параметра f_3/f_1 (рис. 2), свидетельствующее о повышении полярности липидного бислоя. Так, для более гидрофобных зон характерно достоверное повышение полярности до 10 – 11 %, а для более полярных – до 15 %. Наклон профиля полярности для мембран лимфоцитов контрольных и облученных животных составляет, соответственно, при дозе 60 сГр 0,031 и 0,045 ($p = 0,023$), а при дозе 100 сГр 0,035 и 0,048 ($p = 0,026$), т.е. достоверно увеличивается в 1,4 раза при обеих дозах облучения. Это говорит о том, что в процессе облучения не только повышается полярность липидной фазы, но и нарушается распределение полярных групп в липидном бислое, характерное для мембран лимфоцитов контрольных животных. Можно заключить, что большие изменения происходят в более полярных участках мембраны, связанных, очевидно, с областью, приближенной к поверхности мембраны, нежели в более гидрофобных участках в середине бислоя.

Согласно [16], отрицательно заряженный флюоресцентный зонд АНС связывается с внешней поверхностью плазматической мембраны лимфоцита. Его связывание характеризуется как константой связывания с центрами сорбции АНС, так и количеством этих центров. Константа связывания характеризует состав и распределение заряженных групп на поверхности мембраны в первую очередь положительно заряженных [22], количество центров связывания характеризует площадь контакта полярных и гидрофобных участков на поверхности мембраны. Считают, что АНС связывается с мембранами преимущественно в зонах контакта „белок – липид” [23]. Кроме того, интенсивность флюоресценции зависит от структуры и конформации центров связывания и для различных типов центров сорбции квантовый выход связывания АНС может отличаться в несколько раз [16, 24], особенно для такой гетерогенной структуры, как мембрана.

Как видно из рис. 3, при облучении крыс в дозе 30 сГр не происходит достоверных изменений в характере связывания АНС по сравнению с контролем. Однако начиная с дозы 60 сГр, интенсивность флюоресценции АНС в суспензии лимфоцитов падает в среднем на 47 %, а при увеличении дозы до 100 сГр – на 27 % по сравнению с контролем. Очевидно, что достоверные изменения интенсивности флюоресценции АНС при облучении в дозе 60 сГр связаны с уменьшением квантового выхода флюоресценции. В то же время константа связывания зонда и количество центров сорбции не изменяются, что свидетельствует о том, что заряд мембраны и распределение АНС-связывающих центров на поверхности контакта белкового и липидного компонентов поддерживается на уровне контроля. Однако уменьшение квантового выхода флюоресценции АНС на 30 % указывает на то, что на границе контакта либо происходят структурные перестройки, что приводит к изменению белкового и

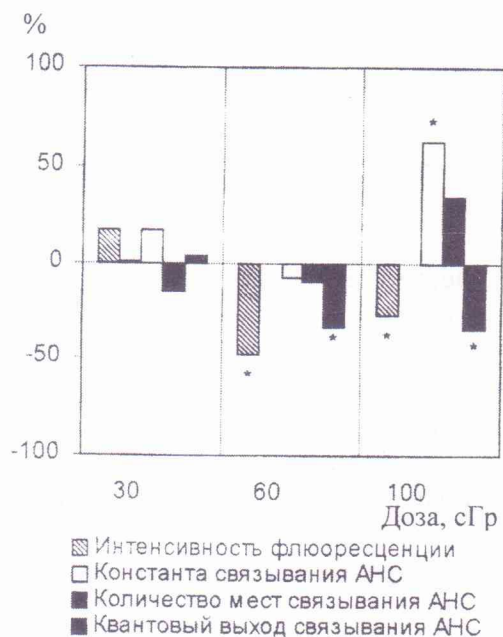


Рис. 3. Параметры связывания АНС с мембранами лимфоцитов облученных крыс по отношению к контролю.

0 – соответствует уровню контроля.

* - $p < 0,05$.

липидной фазе, видимо, за счет образования кислородосодержащими соединениями водородных связей с молекулами воды [22]. Окислительные процессы также могут приводить к уменьшению квантового выхода АНС в окисленных мембранах [25], однако не во всех случаях [23]. В данном случае продолжающееся облучение после получения дозы 30 сГр, судя по всему, приводит к резкому накоплению продуктов окисления в липидном бислое, о чем свидетельствуют величины параметров, регистрируемые при дозе 60 сГр. Как следствие, происходит проникновение молекул воды в бислой, развитие этого процесса может приводить к нарушению как барьерных функций мембраны, так и функциональной активности белков.

Видно также и то, что увеличение дозы облучения до 100 сГр не сопровождается значительными изменениями параметров, которые характеризуют этот процесс. Существенные изменения, имеющие место при дозе 60 сГр и указывающие на наличие окислительных процессов в мембранах, могут возникать при снижении активности антиокислительной системы, задействованной в восстановлении мембран. Однако при облучении до дозы 100 сГр дальнейшего роста полярности липидного бислоя не происходит (см. рис. 2, в), что может свидетельствовать о стабилизации окислительных процессов на данном этапе облучения. Основными отличиями для мембран лимфоцитов, облученных в дозах 60 и 100 сГр, является восстановление вязкости менее полярных областей липидного бислоя при облучении до дозы 100 сГр и увеличение положительного заряда на поверхности мембраны. Такое восстановление вязкости, скорее всего, связано с изменением состава жирнокислотных остатков липидов в процессе окисления [2, 3] либо частичной заменой состава липидов на более радиорезистентный пул [9].

Исследования, которые проводились параллельно на сыворотке крови тех же самых облученных и контрольных крыс, показали, что уровень малонового диальдегида в сыворотке крови животных, облученных в дозах 30 и 60 сГр, достоверно, хоть и незначительно, возрастает по сравнению с контролем [26]. Таким образом, происходит усиление антиокислительных процессов в сыворотке крови. При продолжении облучения содержание этого продукта перекисного окисления липидов (ПОЛ) возвращается к

липидного компонента поддерживается на уровне контроля. Однако уменьшение квантового выхода флуоресценции АНС на 30 % указывает на то, что на границе контакта либо происходят структурные перестройки, что приводит к изменению свойств центров связывания, либо имеет место массовое проникновение молекул воды в поверхностные зоны мембраны, в результате чего должно происходить тушение более 30 % молекул АНС, поскольку флуоресценция АНС эффективно тушится молекулами воды [16]. При облучении в дозе 100 сГр также наблюдается снижение квантового выхода флуоресценции АНС в мембранах в среднем на 30 %, кроме того, происходит резкое возрастание константы связывания зонда на 63 %. Из этого следует, что заряд мембраны изменяется в положительную сторону на $8,8 \pm 1,6$ мВ.

Такие комплексные изменения, как увеличение полярности в липидном компоненте мембраны и увеличение наклона профиля полярности характерны для окисленных липопротеидных структур, в которых наблюдается увеличение количества и подвижности молекул воды в

контрольному уровню и при этом возрастает активность каталазы. В литературе имеются данные об усилении процессов ПОЛ в сыворотке крови мышей и уменьшении ее антиокислительной активности уже в течение первого месяца облучения с мощностью 1 сГр/сут. Затем изменение этих параметров приобретает более плавный характер, что наблюдается вплоть до 9 мес облучения, после чего происходит такое же резкое восстановление этих показателей до уровня контроля [27]. Было также показано, что изменения количества пероксидов в мембранах эритроцитов крови мышей и ТБК-активных продуктов в плазме при облучении с мощностью 0,01 сГр/мин происходят в одном направлении [28]. Позднее был показан однонаправленный характер изменений структурных характеристик ДНК лимфоцитов и интенсивности ПОЛ в плазме при облучении по той же схеме [11]. Можно предположить, что под влиянием облучения с малой мощностью дозы происходят сопоставимые изменения структурных и биохимических показателей в мембранах лимфоцитов и плазме крови, связанные с активацией окислительных процессов под действием низкоинтенсивного облучения и компенсаторными процессами.

Таким образом, длительное облучение с мощностью 0,72 сГр/сут приводит к изменению микровязкости и микрополярности липидного бислоя в мембранах лимфоцитов крови крыс, а также к изменению связывания зонда АНС с поверхностью мембраны. Характер изменений указывает на накопление продуктов окисления в мембране и проникновение в бислой молекул воды. Немонотонная зависимость от накопленной дозы облучения свидетельствует о наличии компенсаторных процессов, направленных на восстановление структуры мембран.

Авторы выражают благодарность заведующему отделом белковой инженерии Института молекулярной биологии и генетики НАН Украины проф. А. И. Корнелюку за предоставленную возможность выполнения измерений на флюоресцентном спектрофотометре.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Биологические мембраны*: Пер. с англ. / Под ред. Д. С. Парсона. - М.: Мир, 1978. - 228 с.
2. *Коломийцева И.К.* Радиационная биохимия мембранных липидов. - М.: Наука, 1989. - 181 с.
3. *Рыскулова С.Т.* Радиационная биология плазматических мембран. - М.: Энергоатомиздат, 1986. - 128 с.
4. *Бурлакова Е.Б., Алексеев А.В., Молочкина Е.М. и др.* Биоантиоксиданты в лучевом поражении и злокачественном росте. - М.: Наука, 1975. - 211 с.
5. *Эйдус Л.Х.* Мембранный механизм биологического действия малых доз. Новый взгляд на проблему. - М.: Типография ФНПР, 2001. - 82 с.
6. *Кудряшов Ю.Б.* Основные принципы в радиобиологии // *Радиационная биология. Радиозэкология.* - 2001. - Т. 41, вып. 5. - С. 531 - 547.
7. *Бурлакова Е.Б., Голощанов А.Н., Жижина Г.П., Конрадов А.А.* Новые аспекты закономерностей действия низкоинтенсивного облучения в малых дозах // *Там же.* - 1999. - Т. 39, вып. 1. - С. 26 - 34.
8. *Коломийцева И.К., Кулагина Т.П., Маркевич Л.Н. и др.* Немонотонность метаболического ответа клеток и тканей млекопитающих на воздействие ионизирующей радиации // *Биофизика.* - 2002. - Т. 47, вып. 6. - С. 1106 - 1115.
9. *Burlakova E.B., Goloshchapov A.N., Gorbunova N.V. et al.* Peculiarities of Biological Action of Low Irradiation Doses and Their Probable Relation to the Health State of Participants of Chernobyl Accident Liquidation // *Research Activities about the Radiobiological Consequences of the Chernobyl NPS Accident and Social Activities to Assist the Sufferers by the Accident* / Ed. by T. Imanaka. - Research Reactor Institute, Kyoto Univ., 1998. - P. 223 - 234.
10. *Муксинова К.Н., Мушкачева Г.С.* Клеточные и молекулярные основы перестройки кроветворения при длительном радиационном воздействии. - М.: Энергоатомиздат, 1990, - 160 с.
11. *Шишкина Л.Н., Кушнирева Е.В., Беспалько О.Ф., Полякова Н.В.* Роль АО-статуса в формировании последствий биологического действия низкоинтенсивного излучения в малой дозе // *Радиационная биология. Радиозэкология.* - 2000. - Т. 40, вып. 2. - С. 162 - 167.

12. *Смотряева М.А., Круглякова К.Е., Шишкина Л.Н. и др.* Структурные и биохимические показатели элементов крови мышей после γ -облучения в малых дозах разной интенсивности // Там же. - 1996 - Т. 36, вып. 1 - С. 21 - 29.
13. *Прищеп С.Г., Герасимович И.В., Буланова К.Д., Милютин А.А.* Влияние ионизирующего излучения в малых дозах на физико-химические характеристики мембран лимфоцитов периферической крови крыс // Там же. - 2000. - Т. 40, вып. 2. - С. 154 - 159.
14. *Губский В.И., Древаль В.И., Митряева Н.А. и др.* Пострадиационные изменения структуры плазматических мембран тимоцитов и лимфоцитов при фракционированном облучении крыс // Там же. - 1994. - Т. 34, вып. 6. - С. 763 - 768.
15. *Клаус Дж.* Лимфоциты. Методы / Пер. с англ. - М.: Мир, 1990.- С. 15-68.
16. *Владимиров Ю.А., Добрецов Г.Е.* Флуоресцентные зонды в исследовании биологических мембран. - М.: Наука, 1980. - 320 с.
17. *Самойленко С.Г., Окунь И.М., Аксенцев С.Л., Конев С.В.* Влияние температуры на полярность анулярного и бислоевого липида синаптических мембран // Биофизика.- 1992. - Т. 37, вып. 2. - С. 290 - 294.
18. *Бейли Н.* Статистические методы в биологии / Пер. с англ. - М.: Изд-во иностр. лит., 1962. - 260 с.
19. *Vanderkooi J., Fischkoff S., Andrich M. et al.* Diffusion in two dimensions. Comparison between diffusional fluorescence quenching in phospholipid vesicles and in isotropic solutions // J. Chem. Phys. - 1975 - Vol. 63. - P. 3661 - 3666.
20. *Векишин Н.Л.* Об использовании пирена в качестве люминесцентного индикатора вязкости модельных и биологических мембран // Биол. науки. - 1987. - № 11. - С. 59 - 66.
21. *Деев А.И., Осис Ю.Г., Формазюк В.Е. и др.* Увеличение содержания воды в липидной фазе липопротеинов при перекисном окислении // Биофизика. - 1983. - Т. 28, вып. 4. - С. 629 - 631.
22. *Добрецов Г.Е.* Флуоресцентные зонды в исследовании мембран, клеток и липопротеидов. - М.: Наука, 1989. - 277 с.
23. *Формазюк В.Е., Осис Ю.Г., Деев А. и др.* Изменение белок-липидных взаимодействий при перекисном окислении липопротеинов сыворотки крови // Докл. Акад. наук СССР. - 1982. - Т. 263, № 2. - С. 497 - 500.
24. *Бойцов В.М., Орлов С.Н.* Применение анализа спектров флюоресценции зондов для исследования структурного состояния сорбента, гетерогенные участки связывания // Биофизика. - 1982. - Т. 27, вып. 6. - С. 1049 - 1052.
25. *Добрецов Г.Е., Петров В.А., Борщевская Т.А. и др.* Влияние перекисного окисления на физическую структуру фосфолипидных мембран // Вопросы мед. химии. - 1977. - Т. 23, вып. 6. - С. 818 - 821.
26. *Кисіль О.О., Хижняк С.В., Клепко А.В. та ін.* Дослідження хронічної дії малих доз іонізуючої радіації та кадмію на різні тканини щурів // Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. - Київ: НЦРМ АМН України, 2003. - № 9. - С. 39 - 45.
27. *Устинова А.А., Рябинин В.Е.* Влияние хронического воздействия γ -излучения на перекисное окисление липидов в сыворотке крови мышей СВА // Радиация. Биология. Радиэкология. - 2003. - Т. 43, вып. 4. - С. 459 - 463.
28. *Полякова Н.В., Шишкина Л.Н.* Воздействие γ -радиации разной мощности на процессы перекисного окисления липидов в тканях мышей // Там же. - 1995. - Т. 35, вып. 2. - С. 181 - 188.

ВИВЧЕННЯ МЕТОДОМ ФЛЮОРЕСЦЕНТНИХ ЗОНДІВ ЗМІН У СТРУКТУРІ МЕМБРАН ЛІМФОЦИТІВ КРОВІ ЩУРІВ ПІД ВПЛИВОМ НИЗЬКОІНТЕНСИВНОГО γ -ВИПРОМІНЮВАННЯ

Л. А. Клімкіна, В. І. Федорченко, Л. В. Король, Т. О. Чурюмова, Л. К. Бездробна

Досліджували фізико-хімічні параметри мембран лімфоцитів крові щурів, яких піддавали тривалому зовнішньому γ -опроміненню з низькою потужністю дози (0,72 сГр/добу) у дозах 30, 60 та 100 сГр. Показано зміни мікрров'язкості та мікрополярності ліпідної фази мембран лімфоцитів крові щурів за допомогою флюоресцентного зонда пірену, а також параметрів зв'язування 1-аніліно-нафталін-8-сульфонату з поверхнею мембран лімфоцитів щурів, опромінених у дозах 60 і 100 сГр. Зроблено висновок про посилення окислювальних процесів у мембранах лімфоцитів за умов впливу тривалого низькопотужного опромінення.

**FLUORESCENT PROBE INVESTIGATION OF MEMBRANE STRUCTURE ALTERATIONS
IN RAT BLOOD LYMPHOCYTES UNDER LOW DOSE RATE γ -IRRADIATION****L. A. Klimkina, V. I. Fedorchenko, L. V. Korol, T. A. Churyumova, L. K. Bezdrobnaya**

Physicochemical parameters of membranes of rat blood lymphocytes have been studied. The rats were exposed to the long term external γ -irradiation with low dose rate (0,72 cGy/day) with doses of 30, 60 and 100 cGy. It has been found microviscosity and micropolarity alterations of membrane lipid phase of rat blood lymphocytes using pyrene fluorescent probe and also changes of 1-anilinonaphthalene-8-sulfonate binding parameters to membrane surface in rats exposed to the irradiation doses of 60 and 100 cGy. It was drawn a conclusion about oxidizing process enhancement in lymphocyte membranes conditions of long term low dose rate irradiation influence.

Поступила в редакцию 04.03.04,
после доработки – 21.05.04.