

ДОСЛІДЖЕННЯ СТРУКТУРНОГО СТАНУ АПІКАЛЬНОЇ МЕМБРАНИ ЕНТЕРОЦИТІВ ТОНКОЇ КИШКИ ЩУРІВ ЗА ДІЇ ІОНІЗУЮЧОЇ РАДІАЦІЇ**С. В. Хижняк, Л. І. Степанова, І. І. Ромась, А. О. Прохорова, В. М. Войціцький***Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ*

Досліджено вплив іонізуючої радіації в дозах 0,1, 0,4, 1,0, 2,0, 3,0 та 6,0 Гр на структурний стан апікальної мембрани ентероцитів слизової оболонки тонкої кишки щурів. Установлено, що через 24 год після дії іонізуючого випромінювання спостерігаються зменшення вмісту холестеролу, індивідуальних фосфоліпідів та зміни в їхньому співвідношенні. Відмічено конформаційну модифікацію білкових молекул апікальної мембрани ентероцитів та зменшення мікров'язкості мембрани поряд зі зростанням її проникності для іонів натрію, калію та кальцію. Виявлено дозозалежність змін досліджуваних показників. Отримані результати свідчать про порушення структурно-функціонального стану апікальної мембрани ентероцитів за дії іонізуючої радіації в дозах 0,1 - 6,0 Гр.

Вступ

Біологічна мембрана становить собою збалансовану динамічну структуру, яка забезпечує бар'єрну, регуляторну, рецепторну функції тощо. У той же час її висока здатність до радіаційно-індукованого окислення та утворення оксирадикалів і продуктів ПОЛ свідчать, що біологічна мембрана – критична структура, ушкодження якої може стати згубним для клітини [1].

З огляду на тісний взаємозв'язок між ліпідами та білками (основними компонентами мембрани) модифікація цих компонентів, наприклад за дії іонізуючої радіації, зумовлює функціональні порушення мембран. Ступінь радіаційного пошкодження мембран клітин залежить від фізико-хімічних, біохімічних та структурних особливостей клітинних елементів [2]. Дослідження радіаційно-індукованих змін мембран є актуальною проблемою радіаційної мембранології.

Відомо, що тонка кишка – це один із радіочутливих органів, порушення функцій якої є найбільш глибокими та стійкими [3]. Клітини слизової оболонки кишковика (ентероцити) забезпечують розщеплення і всмоктування поживних речовин та їхнє подальше надходження в кров і лімфу. Суттєву роль у цих процесах відіграє апікальна мембрана ентероцитів [4].

Метою даної роботи є виявлення реакції апікальної мембрани ентероцитів слизової оболонки тонкої кишки та її ліпідної компоненти на разову дію іонізуючої радіації в широкому діапазоні доз від 0,1 до 6,0 Гр.

Матеріали та методи досліджень

Дослідження проведено на білих безпородних щурах-самцях масою 180 - 200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Тварин разово тотально опромінювали на апараті РУМ-17 у дозах 0,1; 0,4; 1,0; 2,0; 3,0 та 6,0 Гр за умов: фільтри 0,5 мм Си і 1 мм Al, сила струму 5 мА, напруга 200 кВ, шкірно-фокусна відстань 50 см, перерахована потужність поглинутої дози 0,17 Гр/хв.

Препарати апікальної мембрани (АМ) ентероцитів слизової оболонки тонкої кишки (тоща кишки) з контрольних та опромінених тварин отримували згідно з [5] із незначними модифікаціями через 24 год після опромінення. Вміст білка визначали за методом Лоурі [6]. Екстракцію ліпідів проводили за методом Фолча [7]. Фосфоліпіди розділяли методом двомірної тонкошарової хроматографії на пластинках Silufol розміром 15 × 15 см і визначали їхню кількість [8]. Кількісне визначення холестеролу (ХС) проводили за методом [9].

Мікров'язкість ліпідної компоненти АМ ентероцитів оцінювали з використанням флуоресцентного зонда пірену згідно з [10]. Інтенсивність флуоресценції триптофанових залишків мембранних білків реєстрували при 338 нм, довжина хвилі збудження 296 нм [11]. Дослідження проводили на спектрофлюориметрі "Shimadzu-RF50". Проникність мембран

для Ca^{2+} , K^+ і Na^+ визначали методом синтетичних проникних іонів з використанням аніона фенілдикарбаундекаборану (ФКБ) [12].

Експериментальні дані обробляли загальноприйнятими методами варіаційної статистики [13].

Результати досліджень та їх обговорення

Радіаційно-індуковане пошкодження мембран оцінюється за низкою критеріїв, основними з яких є їхня проникність, величина заряду, структурний склад ліпідної і білкової компонент, в'язкість, функціональна активність мембранних білків тощо [14]. Кількість ліпідів та їхній склад є важливою структурно-функціональною характеристикою мембран. Вміст ліпідів у мембранах визначається інтенсивністю їхнього біосинтезу та розпаду, швидкістю внутрішньоклітинного транспорту ліпідів тощо й обумовлює білок-ліпідні та ліпід-ліпідні взаємодії [15]. Під впливом іонізуючої радіації ці процеси здатні змінюватися.

Серед структурних компонентів мембрани важливу роль відіграє ХС, який бере участь у різних метаболічних процесах. Він є попередником біосинтезу стероїдних гормонів, жовчних кислот, етерів ХС тощо. ХС входить до складу біологічних мембран, головним чином у вільному вигляді, і взаємодіє з молекулами білків і фосфоліпідів. Зміна його кількості у мембрані впливає на фізико-хімічні властивості ліпідного бішару – порушує кооперативні взаємодії жирних ацилів фосфоліпідів, зменшує рухомість вуглеводневих ланок молекул жирних кислот фосфоліпідів, дестабілізує бішар мембрани, зменшує ентальпію фазового переходу фосфоліпідів, що призводить до порушення в'язкості мембран і зменшення їхньої проникності тощо [16].

Установлено зниження вмісту ХС в АМ ентероцитів слизової оболонки тонкої кишки в результаті дії іонізуючої радіації. Вірогідне зменшення вмісту ХС спостерігається за дії іонізуючого випромінювання в дозах 1,0; 2,0; 3,0 і 6,0 Гр у середньому на 22, 34, 53 та 62 %. Результати дослідження вмісту індивідуальних фосфоліпідів, які мають найбільший відсоток в АМ, представлено в табл. 1. Вміст фосфатидилхоліну (ФХ) вірогідно зменшується на 21 та 29 % відповідно за дії іонізуючого випромінювання в дозах 3,0 та 6,0 Гр. Водночас кількість фосфатидилетаноламіну (ФЕА) за даних умов суттєво не змінюється. Найбільше змінюється вміст сфінгомеліну (СФМ): за дії іонізуючої радіації в дозах 0,4; 1,0; 2,0; 3,0 та 6,0 Гр відносний вміст цього ліпідів зменшується в середньому на 20, 39, 46, 65 і 69 % відповідно.

Таблиця 1. Вміст ліпідів в АМ ентероцитів слизової оболонки тонкої кишки, мкг/мг білка, ($M \pm m$, $n = 7$)

Умови досліджу	ХС	ФХ	ФЕА	СФМ
Контроль	118,7 ± 9,2	117,5 ± 10,6	138,6 ± 11,2	22,9 ± 2,0
Доза опромінення, Гр				
0,1	104,8 ± 9,9	102,8 ± 9,4	123,9 ± 10,1	21,7 ± 1,9
0,4	104,1 ± 10,2	101,2 ± 9,6	123,3 ± 10,5	18,3 ± 1,4*
1,0	92,3 ± 9,0*	97,8 ± 9,9	119,1 ± 11,6	14,0 ± 1,5*
2,0	78,4 ± 7,1*	103,7 ± 10,1	107,8 ± 9,9*	12,3 ± 1,0*
3,0	56,3 ± 5,3*	93,4 ± 8,4*	126,8 ± 12,0	8,0 ± 0,7*
6,0	45,2 ± 4,4*	83,3 ± 8,4*	130,0 ± 12,4	7,1 ± 0,6*

* Тут і далі $P \leq 0,05$ відносно контролю.

Зміни вмісту індивідуальних ліпідів призводять до змін їхніх співвідношень (табл. 2). Важливими характеристиками біомембран, пов'язаними зі структурно-функціональною активністю, є величини співвідношення холестерол/фосфоліпіди: холестерол/фосфатидилхолін (ХС/ФХ), фосфатидилхолін/фосфатидилетаноламін (ФХ/ФЕА), фосфатидилхолін/сфінгомелінін (ФХ/СФМ) [17]. Результати досліджень свідчать про зменшення співвідношення ХС/ФХ, яке вірогідно відбувається за дії іонізуючої радіації в дозах 2,0, 3,0 та

6,0 Гр, на 25, 41 та 47 %. відповідно Практично не змінюється величина співвідношення ФХ/ФЕА. У той же час суттєве зменшення рівня СФМ, у порівнянні зі зниженням вмісту ФХ, викликає значне збільшення величини співвідношення ФХ/СФМ у середньому на 37, 64, 129 та 141 % за дії доз 1,0, 2,0, 3,0 і 6,0 Гр.

Таблиця 2. Величини співвідношення ліпідів в АМ ентероцитів слизової оболонки тонкої кишки ($M \pm m$, $n = 7$)

Умови досліджу	ХС/ФХ	ФХ/ФЕА	ФХ/СФМ
Контроль	1,01 \pm 0,10	0,85 \pm 0,06	5,1 \pm 0,3
Доза опромінення, Гр			
0,1	1,02 \pm 0,11	0,83 \pm 0,05	4,7 \pm 0,4
0,4	0,91 \pm 0,09	0,82 \pm 0,05	5,5 \pm 0,5
1,0	0,94 \pm 0,10	0,82 \pm 0,04	7,0 \pm 0,4*
2,0	0,76 \pm 0,08*	0,96 \pm 0,08	8,4 \pm 0,6*
3,0	0,60 \pm 0,11*	0,74 \pm 0,05	11,7 \pm 0,8*
6,0	0,54 \pm 0,10*	0,65 \pm 0,04*	12,3 \pm 0,7*

Подібні зміни ліпідного складу плазматичних мембран, зокрема зменшення фосфоліпідів, падіння вмісту ХС з наступним відновленням, збільшення кількості лізоформ, відмічаються в різних органах за дії іонізуючої радіації. Наприклад, зниження кількості фосфоліпідів та ХС спостерігається в синаптичній мембрані головного мозку щурів, яких протягом 5 міс піддавали впливу γ -опромінення з потужністю дози 12,9 сГр/на добу [18]. Феномен зменшення окремих фосфоліпідів, зокрема ФС у плазматичній мембрані порожньої та клубової кишки, спостерігається при опроміненні щурів у дозі 6,0 Гр через 3 доби. Однак за цих умов вміст ФХ та ФЕА зростає в порожній кишці й не змінюється в клубовій [19]. Ліпідний склад мембран щіткової кайми слизової оболонки тонкої кишки щурів суттєво не змінюється після разового опромінення в дозі 4,0 Гр, але при опроміненні в дозі 20,0 Гр спостерігається збільшення вмісту ліпідів [20]. Після фракційного опромінення в дозі 6,0 Гр (по 2,0 Гр \times 3 через тиждень) через 3 міс після опромінення в мембрані щіткової кайми слизової оболонки тонкої кишки щурів спостерігається збільшення вмісту ХС та загальної фракції фосфоліпідів, у тому числі ФХ, а через 6 міс величини цих параметрів повертаються до контрольного рівня, що пов'язують із пригніченням катаболізму ФЛ та ХС у віддалені строки після опромінення [21]. Існують відмінності в зміні ліпідного складу, у тому числі й АМ ентероцитів, на дію сублетальних чи надлетальних доз опромінення [20]. Крім того, при порівнянні результатів досліджень, отриманих різними авторами, із вмісту ліпідів в АМ ентероцитів необхідно також враховувати існування проксимально-дистального градієнта реакції ліпідного складу мембран щіткової облямівки на дію іонізуючого опромінення [20]. Це потребує в дослідженнях чіткої ідентифікації ділянки кишки для виявлення ролі ліпідів плазматичної мембрани в реакціях епітеліоцитів на дію іонізуючої радіації.

Можливі різні механізми порушень вмісту та перерозподілу фосфоліпідів, виявлених в АМ, наприклад активація за даних умов процесів ПОЛ [22] та фосфоліпаз, що призводить до зменшення вмісту фосфоліпідів у мембрані. Відмічено також пригнічення процесів синтезу ХС, ФЛ в ентероцитах, зі зростанням дози опромінення до 6,0 Гр, у ранні терміни дослідження (24 год) та активацію синтетичних функцій АМ через 48 та 72 год після опромінення [23], що може бути пов'язано з координацією синтезу білків та ліпідів у цитоплазматичній мембрані.

Таким чином, виявлені зміни в кількісному складі ліпідів та величин їх співвідношень можуть свідчити про структурні порушення АМ ентероцитів слизової оболонки тонкої кишки. Тому в подальшому для оцінки структурного стану мембран визначали мікров'язкість їхньої ліпідної компоненти та конформаційні зміни білкових молекул за умов дослідження.

Мікров'язкість ліпідної фази АМ ентероцитів оцінювали за величиною ступеня ексімеризації флуоресцентного зонда пірену в досліджуваних мембранах [10]. У спектрі флуоресценції пірену, при його знаходженні у біологічних мембранах, збудження світлом з довжи-

ною хвилі 320 нм викликає утворення трьох основних піків флуоресценції з максимумами 373, 385 і 393 нм (найінтенсивніший), які обумовлені мономерною формою зонда. Утворення ексимерної форми (максимум флуоресценції 465 нм) залежить від в'язкості середовища оточення пірену – у в'язкому середовищі молекули рухаються повільніше й вірогідність їх зіткнення за час життя збудженого стану незначна. При зменшенні в'язкості середовища оточення зонда збільшується вірогідність утворення ексимерів. Таким чином, між ступенем ексимеризації пірену та в'язкістю середовища оточення існує зворотна залежність.

Результати визначення ступеня ексимеризації пірену в АМ ентероцитів – відношення інтенсивності флуоресценції пірену при 465 нм (ексимерна форма зонда) до інтенсивності флуоресценції при 393 нм (мономерна форма), які отримували після дії іонізуючої радіації в досліджуваних дозах, наведено на рис. 1. Установлено, що вірогідне підвищення значення ступеня ексимеризації пірену в препаратах АМ відбувається після опромінення в дозах 2,0 Гр в середньому на 22 %, 3,0 Гр – на 28 % та 6,0 Гр – на 34 %, що вказує на зменшення мікрров'язкості, а отже, на ймовірність зменшення структурної впорядкованості ліпідів АМ ентероцитів за даних умов дослідження. Аналогічну закономірність установлено й для інших мембран за дії іонізуючої радіації [24, 25].

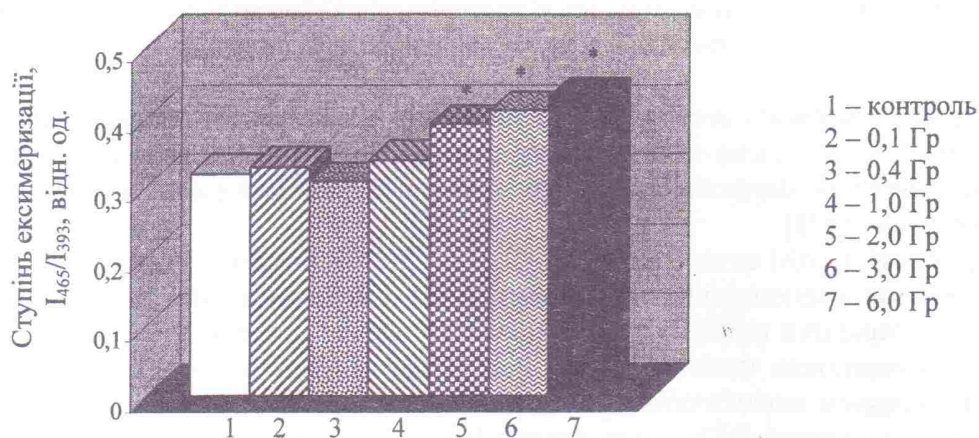


Рис. 1. Ступінь ексимеризації флуоресцентного зонда пірену, зв'язаного з АМ ентероцитів слизової оболонки тонкої кишки, ($M \pm m$, $n = 7$).

Примітка. I_{465} і I_{395} – інтенсивність флуоресценції при 465 та 393 нм відповідно.

Наявність тирозинових, триптофанових та фенілаланінових залишків у мембранних білках зумовлює власну флуоресценцію мембран. Домінуючий внесок у спектр флуоресценції мембранних білків вносять триптофаніли. Зміни таких показників, як інтенсивність флуоресценції триптофанілів, положення максимуму та ширина спектра флуоресценції, свідчать про можливі конформаційні перебудови мембранних білків [11].

Установлено, що після дії іонізуючої радіації в дозах 0,1 – 6,0 Гр спостерігається збільшення інтенсивності флуоресценції триптофанілів АМ ентероцитів, причому вірогідні зміни спостерігаються за дії дози 2,0 Гр в середньому на 18 %; 3,0 Гр – 22 % та 6,0 Гр – 36 % по відношенню до контролю (рис. 2). Слід відзначити, що спектри флуоресценції триптофанілів ($\lambda_{аб} = 296$ нм, $\lambda_{фл} = 338$ нм) АМ ентероцитів контрольних препаратів та виділених з опромінених тварин за своїм характером, окрім інтенсивності флуоресценції, не відрізнялися між собою. З урахуванням того, що повне оновлення ентероцитів слизової оболонки тонкої кишки відбувається через 3 – 6 діб [26], то малоймовірними є зміни білкового складу АМ ентероцитів за термін дослідження. Підвищення інтенсивності флуоресценції триптофанілів білків АМ ентероцитів після дії іонізуючої радіації в умовах проведення досліджень може бути пов'язане з конформаційними змінами білкових молекул, які супроводжуються переходом триптофанових залишків у більш гідрофобну ділянку мембрани [27], а також у результаті модифікації білок-ліпідних взаємодій в АМ [24]. Можливо, з цим пов'язано виявлене зниження

мікрів'язкості ліпідної компоненти АМ. Здатність білкових молекул переміщуватися всередину мембрани обумовлена станом ліпідної компоненти і, зокрема, її динамічними властивостями (мікрів'язкістю).

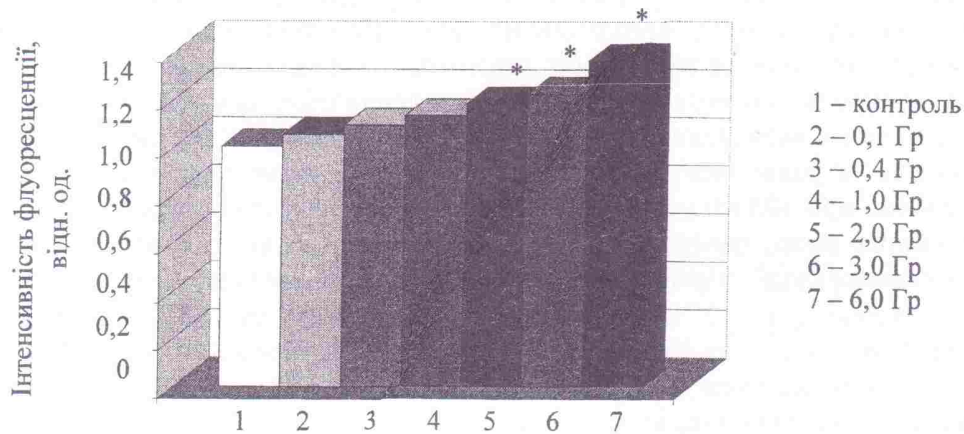


Рис. 2. Інтенсивність флуоресценції триптофанів АМ ентероцитів тонкої кишки після дії іонізуючої радіації ($M \pm m$, $n = 7$).

Зниження мікрів'язкості АМ ентероцитів може призводити до збільшення рухомості ліпідної фази, до порушень білок-ліпідних взаємодій і, як наслідок, – до збільшення мембранної проникності. Порушення іонної проникності біомембран є одним з ранніх проявів дії іонізуючої радіації [28].

Проникність АМ ентероцитів для K^+ , Na^+ і Ca^{2+} оцінювали, виходячи з наступного: при розсіюванні концентраційного градієнта досліджуваного іона на мембрані виникає дифузний мембранний потенціал, значення якого визначається як величиною цього градієнта, так і проникною здатністю іона. Реєстрацію дифузного мембранного потенціалу проводили методом синтетичних проникних іонів [12, 29], використовуючи ФКБ⁻. Величина зміни концентрації ФКБ⁻ у середовищі інкубації в умовах розсіювання штучно створеного градієнта досліджуваного іона відповідає значенню утвореного дифузного потенціалу, що дозволяє розрахувати відносну проникну здатність досліджуваних іонів. Згідно з рекомендаціями, викладеними в [20], при визначенні проникності АМ ентероцитів для K^+ , Na^+ і Ca^{2+} використовували 100-кратні градієнти глюконатів калію, натрію і кальцію. При виборі вихідних концентрацій K^+ , Na^+ і Ca^{2+} для створення градієнтів виходили з того, що концентрації 2 мМ для Ca^{2+} і 150 мМ для K^+ і Na^+ близькі до можливих у клітинах.

Розсіювання 100-кратного градієнта K^+ викликає підвищення, порівняно з контролем, зміни концентрації ФКБ⁻ у середовищі інкубації (відповідно до дифузного мембранного потенціалу) після опромінення в дозі 0,1 Гр у середньому в 1,2 рази, 0,4 Гр – у 1,4 рази, 1,0 Гр – у 2,6 разів, 2,0 Гр – у 2,8 разів, 3,0 Гр – у 3,1 рази, 6,0 Гр – у 3,5 рази. Відповідно для Na^+ – у 1,2; 1,3; 1,7; 2,0; 2,2 та 2,6 разів, а для Ca^{2+} – у 1,1; 1,3; 1,8; 2,1; 2,2 та 2,8 разів.

Слід відзначити, що електричний заряд Ca^{2+} в 2 рази більший, ніж K^+ і Na^+ . Тому при розрахунку відносної проникної здатності для Ca^{2+} отримані значення зміни концентрації ФКБ⁻, що відповідають дифузному мембранному потенціалу, необхідно зменшити в 2 рази. При визначенні відносної проникної здатності досліджуваних іонів за 100 % приймали максимальну величину зміни концентрації ФКБ⁻, зумовлену розсіюванням 100-кратного концентраційного градієнта K^+ в контролі, тоді для Na^+ ця величина складає 65 %, а Ca^{2+} (з урахуванням того, що заряд цього іона дорівнює +2) – 21 %.

Розраховані величини відносної проникної здатності АМ у результаті дії іонізуючої радіації наведено в табл. 3. Установлено, що після дії іонізуючої радіації в дозах 0,4 – 6,0 Гр відбувається збільшення проникності АМ ентероцитів слизової оболонки тонкої кишки для K^+ , Na^+ і Ca^{2+} . Проникність мембран для досліджуваних іонів змінюється відповідно: $K^+ > Na^+ > Ca^{2+}$.

Таблиця 3. Відносна проникна здатність АМ ентероцитів тонкої кишки для K^+ , Na^+ і Ca^{2+} ($M \pm m$, $n = 7$)

Іон	Проникність, %						
	Контроль	Доза опромінення, Гр					
		0,1	0,4	1,0	2,0	3,0	6,0
K^+	100	122 ± 12	146 ± 15*	264 ± 18*	221 ± 20*	312 ± 26*	359 ± 25*
Na^+	65 ± 4	78 ± 5	85 ± 6*	110 ± 9*	130 ± 12*	143 ± 10*	169 ± 14*
Ca^{2+}	21 ± 2	23 ± 2	27 ± 3*	39 ± 3*	44 ± 4*	46 ± 4*	56 ± 5*

Таким чином, виявлено дозозалежне зростання проникності плазматичної мембрани ентероцитів тонкої кишки для іонів натрію, калію та кальцію в результаті дії рентгенівського випромінювання в дозах 0,1 – 6,0 Гр. Реалізація функцій біологічних мембран визначається їхнім біохімічним станом. Робота ферментів, рецепторів, іонних каналів та внутрішньоклітинний гомеостаз залежать як від ліпідного складу мембран і співвідношення окремих його компонентів (фосфоліпідів, жирних кислот, холестеролу тощо), так і від структурного та фізичного стану мембрани (мікрров'язкість) [29]. Зростання проникності мембрани може сприяти змінам концентрації іонів усередині клітини, що може викликати порушення клітинного гомеостазу.

Висновки

Радіаційно-індуковане зменшення вмісту ліпідів в АМ ентероцитів тонкої кишки обумовлює зміни величин їхнього співвідношення (холестерол/фосфатидилхолін, фосфатидилхолін/фосфатидилетаноламін, фосфатидилетаноламін/сфінгомелін), які визначають фізико-хімічні властивості мембран.

Виявлена структурна реорганізація АМ ентероцитів, яка обумовлена конформаційними змінами білкових молекул, переміщенням білків у ліпідний матрикс та зменшенням мікрров'язкості ліпідної компоненти, вказує на порушення білок-ліпідних взаємодій у результаті дії іонізуючої радіації. Зі структурною модифікацією АМ пов'язано збільшення проникності мембран для неорганічних іонів, що може призвести до порушення іонного гомеостазу клітин ентероцитів тонкої кишки за дії опромінення в умовах дослідження. Виявлені зміни носять дозозалежний характер в інтервалі доз 0,1 – 6,0 Гр.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Cristea I.M., Esposti M.D.* Membrane lipids and cell death: an overview // *Chemistry and Physics of Lipids*. - 2004. - Vol. 129. - P.133 - 160.
2. *Юрченко О.В., Трегубова Н.А., Хаєцький І.К. та ін.* Морфологічні зміни внутрішніх органів тварин, які в різні роки утримувались у Чорнобильській зоні // *Чорнобиль. Зона відчуження*. - К.: Наук. думка, 2001. - С. 509 - 520.
3. *Land Mia F., Harding R.K.* Intestinal permeability studies in the irradiation ferret // *Can. J. Physiol. and Pharmacol.* - 1991. - Vol. 69, № 5 - P. 1124 - 1130.
4. *Choudhary D., Srivastava M., Sarma A., Kale R.K.* Effect of high linear energy transfer radiation in biological membranes // *Radiat. Environ. Biophys.* - 1998. - Vol. 73. - P. 177 - 185.
5. *Цвилюховський Н.И., Усатюк Г.В., Мельничук Д.А.* Выделение, очистка и характеристика щеточной каймы и базолатеральной мембран из клеток кишечного эпителия крупного рогатого скота // *Укр. биохим. журнал*. - 1988. - Т. 60, № 6. - С. 91 - 94.
6. *Lowry O.H., Rosenbrouch N.J., Fair A.L., Rendall R.T.* Protein measurement with the Folin Phenol reagent // *J. Biol. Chem.* - 1951. - Vol. 193, № 1. - P. 265 - 275.
7. *Folch J., Leez M., Stanley G.H.S.* A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues // *J. Biol.Chem.* - 1957. - Vol. 226, № 2. - P. 497 - 501.
8. *Brockhuysse R.M.* Phospholipids in tissues of the eeje 1. Isolation characterization and quantitative analysis by dimensional thin-layer chromatography of diacyd and vinyether phospholipids // *Biochim. Biophys. Acta.* - 1968. - Vol. 152, № 2. - P. 307 - 315.

9. *Методы биохимических исследований* / Под ред. М. Н. Прохоровой. - Л.: Изд-во Ленинград. ун-та, 1982. - С. 54 - 73.
10. *Владимиров Ю.А., Добрецов Л.Д.* Флуоресцентные зонды в исследованиях биомембран. - М.: Наука, 1980. - 320 с.
11. *Демченко А.П.* Люминесценция и динамика структуры белков. - К.: Наук. думка, 1988. - 280 с.
12. *Скулачов В.П.* Энергетика биологических мембран. - М.: Наука, 1989. - 564 с.
13. *Плохинский В.М.* Математические методы в биологии. - М.: Изд-во Моск. ун-та, 1981. - 265 с.
14. *Кузин А.М.* Структурно-метаболическая теория в радиобиологии. - М.: Наука, 1986. - 283 с.
15. *Физер Л., Физер М.* Стероиды. - М.: Мир, 1984. - 982 с.
16. *Коломийцева И.К.* Радиационная биохимия мембранных липидов. - М.: Наука, 1989. - 181 с.
17. *Фоменко Б.С., Длимбетова Г.К., Акоев И.Г.* Индуктивно-резонансный перенос энергии между хромофорами, локализованными в разных участках облученных и необлученных тканей эритроцитов // Радиобиология. - 1985. - Т. 25, вып. 1. - С. 12 - 15.
18. *Потехина Н.И., Коломийцева И.К., Жарикова Н.Д. и др.* // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1993. - Т. 116, № 10. - С. 370 - 374.
19. *Turner R.S., Kuo J.F.* // Phospholipids and cellular regulation / Ed. J.F. Kuo. Vol. 2. Florida: CRC Press Inc. Boca Raton, 1985. - P. 75 - 110.
20. *Потехина Н.И., Коломийцева И.К.* Влияние γ -облучения в суб- и сверхлетальной дозах на липидный состав слизистой оболочки и мембраны щеточной каемки тонкого кишечника крыс // Радиобиология. - 1992. - Т. 32, вып. 4. - С. 528 - 533.
21. *Потехина Н.И., Коломийцева И.К.* Липидный состав мембраны щеточной каймы тонкого кишечника крыс в отдаленные сроки после γ -облучения // Радиационная биология. Радиозэкология. - 1995. - Т. 35, № 6. - С. 851 - 856.
22. *Хижняк С.В., Степанова Л.И., Вечера О.О. та ін.* Перекисне окислення ліпідів у клітинах печінки та тонкої кишки за сумісної дії іонізуючої радіації та кадмію // Вісник Київського національного ун-ту імені Тараса Шевченка. Біологія. - 2000. - Вип. 32. - С. 12 - 13.
23. *Степанова Л.И., Преображенська Т.Д., Мельничук І.В., Кучеренко М.Є.* Вплив низьких та сублетальних доз іонізуючої радіації на синтез мембранных ліпідів тонкого кишечника щурів // Там же. - 1998. - Вип. 28. - С. 10 - 12.
24. *Прищеп С.Г., Герасимович Н.В., Буланова К.Я., Милютин А.А.* Влияние ионизирующего излучения в малых дозах на физико-химические характеристики мембран лимфоцитов периферической крови крыс // Радиационная биология. Радиозэкология. - 2000. - Т. 40, № 2. - С. 154 - 159.
25. *Зима Г.В., Древаль В.И.* Влияние ионизирующего излучения в широком дозовом диапазоне на структурно-функциональные характеристики белковой и липидной компонент плазматических мембран эритроцитов // Радиационная биология. Радиозэкология. - 2000. - Т. 40, № 3. - С. 261 - 265.
26. *Морозов И.А., Лысков Ю.А., Питран Б.В.* Всасывание и секреция в тонкой кишке. - М.: Медицина, 1988. - 221 с.
27. *Шустанова Т.А., Милютин Н.П., Бондаренко Т.И.* Влияние дельта-сон индуцирующего пептида на структурное состояние и поверхностный заряд мембран эритроцитов крыс в норме и при холодном стрессе в опытах *in vivo* и *in vitro* // Биологические мембраны. - 2001. - Т. 18, № 5. - С. 375 - 381.
28. *Сим Э.* Биохимия мембран. - М.: Мир, 1985. - 110 с.
29. *Либерман Е.А., Топалы В.П.* Проницаемость биомолекулярных фосфолипидных мембран для жирорастворимых ионов // Биофизика. - 1969. - Т. 14, № 3. - С. 452 - 461.

СТРУКТУРНОЕ СОСТОЯНИЕ АПИКАЛЬНОЙ МЕМБРАНЫ ЭНТЕРОЦИТОВ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ

С. В. Хижняк, Л. И. Степанова, И. И. Ромась, А. А. Прохорова, В. М. Войцицкий

Изучено структурное состояние апикальной мембраны энтероцитов слизистой оболочки тонкого кишечника крыс при разовом действии ионизирующей радиации в дозах 0,1, 0,4, 1,0, 2,0, 3,0 и 6,0 Гр. Установлено, что через 24 ч после облучения содержание холестерина уменьшается, изменяется соотношение индивидуальных фосфолипидов. Установлено уменьшение микровязкости мембраны с повышением дозы облучения. Выявлено увеличение интенсивности флуоресценции триптофановых остатков мембранных белков, что свидетельствует о структурных перестройках белковых

молекул. Наряду с этим наблюдается повышение ионной проницаемости мембран для ионов калия, натрия, кальция. В результате проведенных экспериментов установлена дозозависимость выявленных эффектов разового действия ионизирующей радиации за ответной реакцией мембранных систем.

STRUCTURAL STATE OF RATS SMALL INTESTINE ENTEROCYTES APICAL MEMBRANE AT IONIZING RADIATION

S. V. Hizhnyak, L. I. Stepanova, I. I. Romas, A. A. Prokhorova, V. M. Voitsitskiy

The structural state of small intestine enterocytes apical membrane at one-time action of ionizing radiation in doses 0,1, 0,4, 1,0, 2,0, 3,0 and 6,0 Gy in 24 hour is investigated. The development of small intestine pathological conditions connected with the occurrence of ultrastructure disturbance of small intestine cellular elements, which intensify with the increase of ionizing radiation dose, is detected. The ionizing radiation causes decrease of phospholipids and cholesterol quantity in 24 hour after the irradiation. The decreases of membrane microviscosity and increase of protein triptophanil fluorescence intensity is shown of ionizing radiation. The structural modifications can result in the detected rise permeability of membrane for ions, disturbance of enzymes functioning.

Надійшла до редакції 06.05.05,
після доопрацювання – 29.08.05.