

**Учреждение образования
«Международный государственный экологический
институт имени А. Д. Сахарова»
Белорусского государственного университета**



ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

**№ 1 (39)
ЯНВАРЬ–МАРТ 2017**

Основан в мае 2007 года

Выходит ежеквартально

Минск
2017

УЧРЕДИТЕЛЬ ЖУРНАЛА:

Учреждение образования «Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова» Белорусского государственного университета

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР:

доктор физико-математических наук, профессор **Маскевич Сергей Александрович**

МЕЖДУНАРОДНЫЙ РЕДАКЦИОННЫЙ КОМИТЕТ

И. В. Дардынская, профессор, Иллинойский университет в Чикаго (США)
А. П. Денисов, генеральный директор ИЧУПП «Кока-кола Бевриджиз Белоруссия» (Беларусь)
Б. Крстич, профессор, Университет г. Нови Сад (Республика Сербия)
Ю. А. Коровин, профессор, Объединенный институт ядерных исследований (Россия)
Г. Либератос, профессор, Университет г. Патрас (Греция)
Й. Сабо, профессор, Пражский технический университет (Чешская Республика)
С. Н. Степаненко, профессор, Одесский государственный экологический университет (Украина)
С. А. Степанов, профессор, Международный независимый эколого-политологический университет (Россия)
Я. Шишко, профессор, Варшавский университет естественных наук (Республика Польша)

РЕДКОЛЛЕГИЯ:

С. С. Позняк , д-р с.-х. наук, проф. (зам.гл. редактора)	В. И. Красовский , канд. тех. наук, доцент
О. В. Лозинская (научный редактор)	Н. Д. Лепская , канд. фил. наук, доцент
В. Г. Баштовой , д-р физ.-мат. наук, проф.	Л. М. Лобанок , д-р мед. наук, член-корр. НАН Беларуси, проф.
С. Е. Головатый , д-р с.-х. наук, проф.	Н. А. Лысухо , канд. тех. наук, доцент
А. П. Голубев , д-р биол. наук, доцент	С. Б. Мельнов , д-р биол. наук, проф.
В. А. Иванюкович , канд. физ.-мат. наук, доцент	И. П. Наркевич , д-р тех. наук, доцент
С. П. Кундас , д-р тех. наук, проф.	А. Е. Океанов , д-р мед. наук, проф.
А. В. Кильчевский , д-р биол. наук, проф., член-корр. НАН Беларуси	Т. Ф. Персикова , д-р с.-х. наук, проф.

АДРЕС РЕДАКЦИИ:

ул. Долгобродская, 23/1, 220070, г. Минск,
тел. (017) 398 99 79, факс: (017) 398 99 53
E-mail: info@iseu.by
<http://www.iseu.bsu.by>

Свидетельство о государственной регистрации № 1366 от 10.06.2010,
выдано Министерством информации Республики Беларусь

Редакторы *А. В. Красуцкая, Т. А. Лавринович*
Компьютерная верстка *Д. В. Головач*
Корректор *А. В. Красуцкая*

Подписано в печать 29.03.2017 г. Формат 60×84 ¹/₈. Бумага офсетная. Печать офсетная.
Усл. печ. л. 13,25. Уч.-изд. л. 9,46. Тираж 100 экз. Заказ 139. Бесплатно

ЗАО «Оргстрой»

Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 2/182 от 15.02.2016.
Ул. Берестянская, 16, 220034, г. Минск

© Учреждение образования
«Международный государственный
экологический институт имени А. Д. Сахарова»
Белорусского государственного университета, 2017

СОДЕРЖАНИЕ

СОЦИАЛЬНО-ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ УСТОЙЧИВОГО РАЗВИТИЯ	5
Н. Д. Лепская, В. В. Журавков	
НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ПРОБЛЕМЫ РАЗВИТИЯ НАУЧНОГО ЗНАНИЯ	5
ИЗУЧЕНИЕ И РЕАБИЛИТАЦИЯ ЭКОСИСТЕМ	10
О. М. Храмченкова, Д. Н. Дроздов	
ПОГЛОЩЕНИЕ ВОДЫ ЭПИФИТНЫМИ ЛИШАЙНИКАМИ	10
А. В. Сорока, А. С. Антонюк, Е. А. Брыль, И. Н. Кузнецов	
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИООРГАНИЧЕСКИХ ОТХОДОВ ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ПОЧВОГРУНТОВ ПИТАТЕЛЬНЫХ ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ ЦВЕТОЧНОЙ РАССАДЫ	15
Н. М. Голуб	
АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ СТОЧНЫХ ВОД НА ГИБРОБИОНТЫ АКТИВНОГО ИЛА	20
И. М. Хандогий, В. Ф. Кулеш, Д. А. Хандогий	
ЭКОЛОГО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ АДАПТАЦИИ СИНАНТРОПНОГО СИЗОГО ГОЛУБЯ (<i>Columba livia</i> L.) В Г. МИНСКЕ	26
РАДИОЭКОЛОГИЯ И РАДИОБИОЛОГИЯ, РАДИАЦИОННАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ	35
Д. И. Комар, В. Д. Гузов, С. А. Кутень	
ИСТОЧНИК ЗАХВАТНОГО ГАММА-ИЗЛУЧЕНИЯ С ЭНЕРГИЯМИ ДО 7 И ДО 10 МЭВ НА ОСНОВЕ ПОВЕРОЧНОЙ УСТАНОВКИ НЕЙТРОННОГО ИЗЛУЧЕНИЯ	35
А. А. Баклай, Т. Г. Леонтьева, Л. Н. Москальчук	
МОДЕЛИРОВАНИЕ НАКОПЛЕНИЯ ⁹⁰Sr СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫМИ КУЛЬТУРАМИ ПОСЛЕ АВАРИИ НА ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ АЭС	42
Н. В. Гончарова, В. Ф. Ковалев	
ФОРМИРОВАНИЕ СЕМЯН СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (<i>PINUS SILVESTRIS</i>) В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ	48
МЕДИЦИНСКАЯ ЭКОЛОГИЯ	53
Е. И. Тарун, В. И. Дудук	
АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ СОКА ЦИТРУСОВЫХ ПЛОДОВ	53
Е. А. Гутковская	
ОЦЕНКА НАРУШЕНИЙ В ЭКСПРЕССИИ МИКРОРНК ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С РАЗЛИЧНЫМ РЕЦЕПТОРНЫМ СТАТУСОМ	59
Е. К. Власенко, А. Г. Сыса	
ХАРАКТЕРИСТИКА МЕМБРАНОТРОПНЫХ СВОЙСТВ ГЕКСИЛОВОГО ЭФИРА 5-АМИНОЛЕВУЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ В ЭКСПЕРИМЕНТАХ IN VITRO / IN VIVO	66

ПРОМЫШЛЕННАЯ И АГРАРНАЯ ЭКОЛОГИЯ	71
Н. Н. Мирошниченко, Е. А. Куц, С. Е. Головатый	
ОРГАНИЧЕСКОЕ ВЕЩЕСТВО ПОЧВЫ КАК ДЕПО И ИСТОЧНИК МИКРОЭЛЕМЕНТОВ	71
А. Ю. Скриган, И. В. Шилова, А. В. Щур, Ю. С. Карпенко, П. С. Орловский	
АНАЛИЗ СИСТЕМЫ ОБРАЩЕНИЯ С КОММУНАЛЬНЫМИ ОТХОДАМИ НА ПРИМЕРЕ г. МОГИЛЕВА	78
И. А. Рыбалка	
ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ ПЛОТНОСТЬЮ ОМЕЛЫ БЕЛОЙ (<i>Viscum Album</i> L.) И НЕКОТОРЫМИ ЛАНДШАФТНО-ЭКОЛОГИЧЕСКИМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ УРБАНИЗИРОВАННЫХ ТЕРРИТОРИЙ (НА ПРИМЕРЕ г. ХАРЬКОВА).....	87
M. Barz, W. Wichtmann	
REWETTED PEATLANDS AS SOURCE FOR BIOENERGY PRODUCTION	98
В. О. Лемешевский	
ФИТОЦЕНОРАЗНООБРАЗИЕ И РЕДКИЕ ВИДЫ РАСТЕНИЙ ЗАКАЗНИКА «СРЕДНЯЯ ПРИПЯТЬ»	105
ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ.....	113

Е. К. Власенко¹, А. Г. Сыса²¹Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены», г. Минск, Республика Беларусь²Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова Белорусского государственного университета, г. Минск, Республика Беларусь**ХАРАКТЕРИСТИКА МЕМБРАНОТРОПНЫХ СВОЙСТВ ГЕКСИЛОВОГО ЭФИРА 5-АМИНОЛЕВУЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ В ЭКСПЕРИМЕНТАХ *IN VITRO* / *IN VIVO***

В работе проведен анализ мембранотропных свойств гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты (ГЭ-АЛК). Схема эксперимента включала две серии опытов: первый (*in vitro*) – с использованием теней эритроцитов, которые подвергали воздействию ГЭ-АЛК в концентрациях 2×10^{-5} , 2×10^{-4} , 2×10^{-3} моль $\times$ л⁻¹, второй (*in vivo*) – для исследований использовали белых крыс, получавших изучаемый препарат перорально в максимально переносимой дозе 440 мг/кг в субхроническом опыте. Анализ динамики структурно-функциональных свойств мембран эритроцитов позволил выявить выраженный дозозависимый эффект введенного ГЭ-АЛК на липид-белковые и липид-липидные взаимодействия, который проявлялся в снижении микровязкости липидного бислоя и зон липид-белковых контактов.

Обнаруженные эффекты в полной мере соотносятся с воздействием на уровне целостного организма в диапазоне доз, которые приводят к увеличению проницаемости мембран гепатоцитов и дестабилизации мембраносвязанных белков. При этом, показатели флуоресценции позволяют выявлять ранние изменения состояния липидного бислоя и могут с успехом применяться в качестве биомаркеров мембраноповреждающего действия при изучении интоксикаций.

➤ **Ключевые слова:** ГЭ-АЛК, тени эритроцитов, липидный бислой, дозозависимый эффект, флуоресценция.

Введение

В результате выполнения Государственной программы «Инновационные биотехнологии» (2013–2015 гг.) учеными Института биоорганической химии НАН Беларуси разработан оригинальный регулятор роста сельскохозяйственных растений «Эфаламин» на основе гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты (ГЭ-АЛК). В целях обоснования и проведения мероприятий, направленных на защиту здоровья человека и среды его обитания необходимо выявить закономерности проявления токсических свойств ГЭ-АЛК при различных режимах и путях воздействия. Особая роль в проведении таких исследований принадлежит изучению токсичности соединения на тепловых животных, в результате которого устанавливают величины пороговых и подпороговых доз.

В ряде проведенных экспериментов нами установлены основные токсикометрические характеристики ГЭ-АЛК [1, 2, 3], при этом, ряд полученных данных свидетельствует о наличии мембраноповреждающего действия препарата [4]. Для более детального выявления лимитирующих показателей воздействия и изучения механизмов токсического действия требуется проведение исследований с применением специальных методов, позволяющих определить характер взаимодействия химического вещества с мембраной, изменение активности мембранных систем и структуры самой мембраны.

Биологические мембраны первыми реагируют на неблагоприятное воздействие внешних химических факторов и во многих случаях подобные изменения лежат в основе нарушения жизнедеятельности клеток, болезни и смерти организма. Поэтому выяснение роли и изучение механизма нарушения структуры и функции мембран в патологическом процессе (в т. ч. при изучении химических интоксикаций) – одна из важнейших задач медико-биологических исследований биологически активных соединений [5].

Уже более сорока лет для изучения структурно-функционального состояния клеточных мембран используется метод флуоресцентных зондов [6]. Флуоресценция зондов отражает те изменения в мембране и клетке, которые происходят под действием биологически активного соединения, и с помощью различных зондов можно качественно и количественно охарактеризовать его мембранотропные эффекты [5].

Настоящая работа посвящена изучению мембранотропных свойств ГЭ-АЛК путем регистрации изменений параметров флуоресценции пирена в мембранах эритроцитов крыс *in vivo* и *in vitro*.

Методы исследования

В экспериментальной работе использовали синтезированный в Институте биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси ГЭ-АЛК гидрохлорид (действующее вещество препарата «Эфаламин»), представляющий собой белый кристаллический порошок со слабым характерным запахом, хорошо растворимый в воде.

Изучение структурно-функциональных свойств мембран проводили с применением флуоресцентного зонда пирена, вносимого в суспензию теней эритроцитов белых крыс. Схема эксперимента включала две серии опытов: первый – с использованием теней эритроцитов, которые подвергали воздействию ГЭ-АЛК в концентрациях 2×10^{-5} , 2×10^{-4} , 2×10^{-3} моль $\times$ л $^{-1}$, второй – для исследований использовали белых крыс, получавших изучаемый препарат перорально в максимально переносимой дозе 440 мг/кг в течение 30 суток.

Кровь отбирали в стеклянные центрифужные пробирки по 1,5 мл (в качестве антикоагулянта использовали гепарин в конечной концентрации 5 Ед/мл крови). Для получения эритроцитарной пасты кровь центрифугировали при 1000 g в течение 10 мин. (центрифуга ОПН-3, Россия). Супернатант и лейкоцитарную пленку отбрасывали. Эритроциты трижды промывали переосаждением в изотоническом 0,155 М охлажденном растворе NaCl.

Тени эритроцитов получали по методу J. T. Dodge [7] с незначительной модификацией. Гемолиз осуществляли ресуспендированием отмытых эритроцитов в соотношении осадок/буфер, равном 1/15 в ледяном 10 мМ натрий-фосфатном буфере pH = 7,2, содержащем 1 мМ ЭДТА. Лизис проводили в течение ночи. Тени осаждали при 4 °С в течение 40 мин. при 16 000 g. Полученный осадок ресуспендировали в том же буфере и оставляли на 30 мин. Через 30 мин. тени эритроцитов осаждали центрифугированием при 16 000 g в течение 30 мин., операцию повторяли 3–4 раза в том же буфере. Конечный препарат теней, полученный ресуспендированием в изотонической среде, содержащей 0,100 М NaCl и 0,050 М натрий-фосфатный буфер pH = 7,3, хранили в холодильнике.

Регистрацию стационарных спектров флуоресценции пирена в тенях проводили на спектрофлуориметре CM 2203 «Solar» (Беларусь) при 20 °С. Внедрение пирена осуществляли путем прединкубации спиртового раствора зонда (10 мг/50 мл) в суспензии теней (0,35–0,36 мг белка/мл) в 0,050 М натрий-фосфатном буфере pH = 7,3, содержащем 0,100 М NaCl [8]. Конечная концентрация зонда в среде инкубации составляла 1,5 мкМ. Регистрацию спектров флуоресценции осуществляли при длинах волн возбуждения 337 и 286 нм. Микровязкость липидного окружения пирена оценивали по отношению интенсивностей эксимерной и мономерной (F_e/F_m) флуоресценции при $\lambda_{эм} = 475$ и 373 нм, соответственно. Микрополярность анализировали по отношению вибронных пиков в спектре флуоресценции мономеров с $\lambda_{эм} = 385$ и 373 нм; при длинах волн возбуждения 337 и 286 нм, соответственно. Состояние белковой компоненты теней оценивали по интенсивности флуоресценции мембранных триптофанилов $\lambda_{эм} = 330$ нм при $\lambda_{возб.} = 286$ нм. Спектральную ширину щелей на возбуждение и на испускание флуоресценции устанавливали равной 7,5 нм.

Эффективность переноса энергии электронного возбуждения с триптофановых остатков мембранных белков на пирен определяли по соотношению $(F_0 - F)/F_0$, где F_0 – интенсивность флуоресценции теней эритроцитов в отсутствие пирена, F – интенсивность флуоресценции теней эритроцитов после инкубации с пиреном.

Результаты исследований обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики. Количественные параметры представлены в виде среднего значения (M) и 95 % доверительного интервала (± 95 % ДИ). Критическим уровнем значимости при проверке статистических гипотез был принят $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Известно, что флуоресцентный зонд пирен локализуется в гидрофобной области биологических мембран и способен образовывать долгоживущие комплексы, состоящие из одной возбужденной и одной невозбужденной молекул так называемые эксимеры. Спектр флуоресценции пирена состоит из нескольких пиков в диапазоне длин волн 350–400 нм, относящихся к мономерной форме и одного широкого пика в диапазоне 430–500 нм, соответствующего эксимерной форме пирена. Различные случаи тушения флуоресценции пирена в эксимерной и мономерной форме другими молекулами в мембране могут дать информацию о структурных изменениях липидного бислоя и мембранотропности изучаемого соединения [6].

При введении пирена в суспензию теней эритроцитов регистрировали спектр флуоресценции с пиками мономера на 373, 385, 393 нм и широкий пик эксимера на 475 нм ($\lambda_{возб.}$ 337 нм). Добавление к полученной системе ГЭ-АЛК в концентрациях 2×10^{-5} , 2×10^{-4} , 2×10^{-3} моль $\times$ л $^{-1}$ приводило к туше-

нию флуоресценции пирена без заметного изменения соотношения между пиками мономера и эксимера (табл. 1).

Таблица 1

Параметры флуоресценции пирена в суспензии теней эритроцитов при воздействии ГЭ-АЛК, усл. ед., $M (\pm 95 \% ДИ)$

Концентрация ГЭ-АЛК, моль $\times$ л ⁻¹	Интенсивность флуоресценции, $\lambda_{эм}$ 475 нм (эксимеров), $F_э$		Интенсивность флуоресценции, $\lambda_{эм}$ 393 нм (мономеров), $F_м$		Коэффициент эксимеризации ($F_э/F_м$), усл.ед.
	в отн.ед.	в %	в отн.ед.	в %	
Контроль	61 (58–64)	100	120 (112–128)	100	0,51 (0,5–0,52)
2×10^{-5}	42 (39–45)	66	84 (78–89)	70	0,5 (0,49–0,51)
2×10^{-4}	26 (24–28)	41	51 (48–54)	43	0,51 (0,5–0,52)
2×10^{-3}	5 (4,6–5,3)	8	10 (9,3–10,6)	8	0,5 (0,49–0,51)

Как следует из табл. 1, тушение флуоресценции пирена происходит в широком диапазоне больших концентраций и носит дозозависимый характер. Величина коэффициента эксимеризации остается постоянной в диапазоне изученных доз и не отличается от контрольного значения. Таким образом, вероятно, причиной снижения интенсивности флуоресценции зонда без нарушения соотношения между пиками эксимера и мономера является деградация липидного бислоя при воздействии ГЭ-АЛК.

В ранее проведенном эксперименте *in vitro* на клетках эмбриональных фибробластов человека нами было показано, что ГЭ-АЛК оказывает цитотоксическое действие и заметно подавляет пролиферацию клеток [9]. Рассчитанная по параметрам клеточной гибели с применением пробит-анализа [10] величина среднеэффективной концентрации цитотоксического действия CL_{50} составляет $1,14 \times 10^{-4}$ ($1,08 \times 10^{-4} \div 1,21 \times 10^{-4}$) моль $\times$ л⁻¹, $CL_{16} = 0,34 \times 10^{-4}$ моль $\times$ л⁻¹, $CL_{84} = 4 \times 10^{-4}$ моль $\times$ л⁻¹.

При сопоставлении установленных величин эффективных концентраций *in vitro* с данными флуоресцентного анализа, следует, что цитотоксическое действие ГЭ-АЛК реализуется в диапазоне концентраций, приводящих к снижению флуоресценции пирена как показателя деградации липидного бислоя. Данное обстоятельство должно отражать мембранотропность ГЭ-АЛК с точки зрения способности оказывать токсическое действие и позволяет использовать метод флуоресцентных зондов для углубленного изучения биологического действия данного соединения.

В субхроническом эксперименте на белых крысах динамика структурно-функциональных свойств мембран эритроцитов свидетельствует о выраженном эффекте введенного ГЭ-АЛК на липид-белковые и липид-липидные взаимодействия в мембране (табл. 2).

Таблица 2

Структурные параметры мембран эритроцитов при субхроническом введении белым крысам ГЭ-АЛК в максимально переносимой дозе 440 мг/кг, усл. ед., $M (\pm 95 \% ДИ)$

Показатели флуоресценции пирена, усл. ед		Группы сравнения	
		Контроль	Опыт
Микровязкость	$F_э/F_м$ (337)	0,63 (0,58–0,68)	0,81 (0,76–0,86)*
	$F_э/F_м$ (286)	0,96 (0,91–1,01)	1,41 (1,36–1,46)*
Степень полярности	F_{385}/F_{373} (337)	0,99 (0,95–1,03)	0,98 (0,94–1,02)
	F_{385}/F_{373} (286)	1,01 (0,96–1,04)	1,03 (0,98–1,07)
Эффективность переноса энергии	$(F_0 - F)/F_0$	0,121 (0,103–0,139)	0,075 (0,064–0,086)*

Как следует из табл. 2, последствия воздействия ГЭ-АЛК сказываются на величинах коэффициентов эксимеризации $F_э/F_м$ (337) и $F_э/F_м$ (286), которые после 30-ти дней введения препарата животным увеличиваются на 29 % и 47 %, соответственно. Поскольку по условиям методики параметр $F_э/F_м$ (337) характеризует текучесть липидной фазы мембран, а параметр $F_э/F_м$ (286) – текучесть аннулярных липидов [5], то полученные результаты указывают на зависимое от воздействия ГЭ-АЛК снижение микровязкости липидного бислоя и зон липид-белковых контактов.

Изучение значений параметров F_{385}/F_{373} (337) и F_{385}/F_{373} (286) не выявило достоверных отличий по сравнению с контролем, таким образом, воздействие ГЭ-АЛК не приводит к существенным изменениям полярности липидного бислоя и аннулярного (прибелкового) липида.

Исследование интенсивности безизлучательного переноса энергии электронного возбуждения с триптофановых остатков на пирен при воздействии ГЭ-АЛК выявило снижение эффективности переноса энергии $(F_0 - F)/F_0$ с белков на пирен на 62 %, что указывает на уменьшение погруженности белковых молекул в липидный бислой.

В субхроническом эксперименте на белых крысах были изучены кумулятивные свойства ГЭ-АЛК по схеме Кагана и Станкевича, в результате чего обнаружено, что 30-тидневное воздействие препарата

в дозе 880 мг/кг приводит к повышению уровней аланинаминотрансферазы и гамма-глутамил-транспептидазы в сыворотке крови подопытных животных. Также, при использовании данного подхода, получены данные, свидетельствующие о повышении уровня содержания цитохрома P420 (неактивной формы цитохрома P450) в печени подопытных животных, получавших 440 мг/кг ГЭ-АЛК [9].

Характер изменений показателей ферментных систем указывает на проявление мембрано-повреждающего действия препарата. Так, патофизиологической основой гиперферментемии (повышение уровней аланинаминотрансферазы и гамма-глутамилтранспептидазы) является нарушение целостности плазматической мембраны гепатоцитов, в результате чего увеличивается ее проницаемость с прохождением в сыворотку компонентов цитоплазмы (цитоллиз) [11]. Следует отметить, что фермент аланинаминотрансфераза расположен в цитозоле клеток, а гамма-глутамилтранспептидаза локализуется на уровне цитоплазматических мембран, следовательно, воздействие препарата проявляется не только в виде «разжижения» цитоплазматической мембраны, но и приводит к потере интегрированных в нее белков.

При исследовании микросомальных монооксигеназ печени в субхроническом опыте на белых крысах при воздействии ГЭ-АЛК регистрировали увеличение уровня цитохрома P420, который представляет собой каталитически инертную форму фермента 1-й фазы детоксикации ксенобиотиков – цитохрома P450. Цитохром P450 является мембраносвязанным белком эндоплазматического ретикулума и проявляет каталитическую активность только в присутствии фосфолипидного окружения, которое стабилизирует фермент в функционально активной конформации [12]. Таким образом, накопление цитохрома P420 свидетельствует о способности изучаемого препарата дестабилизировать структуру мембран эндоплазматического ретикулума.

По результатам данного эксперимента можно сделать вывод о том, что изучаемое соединение способно оказывать мембранотропное действие на организм, которое реализуется на различных уровнях организации клетки. Воздействие препарата характеризуется увеличением проницаемости мембраны и потерей (дестабилизацией) мембраносвязанных белков (ферментов).

Применение метода флуоресцентных зондов позволило более глубоко исследовать процессы мембраноповреждающего действия ГЭ-АЛК. В эксперименте на телях эритроцитов крыс, получавших препарат в течение 30-ти дней, обнаруженные изменения ряда параметров подтверждают характер мембранотропного действия вещества. Так, изменения, обнаруженные в ходе изучения параметров флуоресценции пирена – снижение микровязкости липидного бислоя и зон липид-белковых контактов, уменьшение погруженности белковых молекул в липидный бислой, в полной мере соотносятся с эффектами на уровне целостного организма в диапазоне доз, которые приводят к увеличению проницаемости мембран гепатоцитов и дестабилизации мембраносвязанных белков. При этом, показатели флуоресценции позволяют выявлять ранние изменения состояния липидного бислоя и могут с успехом применяться в качестве биомаркеров мембраноповреждающего действия при изучении интоксикаций.

Таким образом, в проведенных *in vivo* и *in vitro* экспериментах особенности воздействия позволяют выделить мембранотропность (мембраноповреждающее действие) как свойство реализации токсического действия ГЭ-АЛК на организм.

Выводы

Анализ структурно-функционального состояния мембран при воздействии ГЭ-АЛК позволил выявить выраженный дозозависимый эффект тушения флуоресценции пирена без заметного изменения соотношения между пиками мономера и эксимера. Величина коэффициента эксимеризации оставалась постоянной в диапазоне изученных доз и не отличалась от контрольного значения. Вероятно, причиной снижения интенсивности флуоресценции зонда является деградация липидного бислоя при воздействии ГЭ-АЛК.

В эксперименте на белых крысах динамика структурно-функциональных свойств мембран эритроцитов свидетельствует о выраженном эффекте введенного ГЭ-АЛК на липид-белковые и липид-липидные взаимодействия в мембране. Последствия воздействия ГЭ-АЛК сказываются на величинах коэффициентов эксимеризации F_3/F_m (337) и F_3/F_m (286), которые после 30-тидневного введения препарата животным увеличиваются на 29 % и 47 %, соответственно. Полученные результаты указывают на зависимое от воздействия ГЭ-АЛК снижение микровязкости липидного бислоя и зон липид-белковых контактов.

Список литературы

1. Особенности токсического действия гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты в условиях одно- и многократного внутрижелудочного введения / Е. К. Власенко [и др.] // Токсикологический вестник. – 2015. – №5. – С. 31–36.

2. Особенности эпикутанного действия гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты // Е. К. Власенко [и др.] // Анализ риска здоровью. – 2015. – №1(9). – С. 49–54.
3. Токсикологическая оценка гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты при различных путях и режимах однократного воздействия Е. К. Власенко [и др.] // Труды БГУ. – 2014. – Т.9, Ч.2. – С. 218–223.
4. Оценка биохимического статуса белых крыс при воздействии гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты в субхроническом эксперименте Е. К. Власенко [и др.] // Вестник ВМГУ. – 2015. – Т.14, № 6. – С. 104–111.
5. Владимиров, Ю. А. Флуоресцентные зонды в исследовании биологических мембран / Ю. А. Владимиров, Г. Е. Добрецов. – М: Наука, 1980. – 320 с.
6. Мембранотропные и релаксационные свойства водорастворимых производных гадолинийсодержащего эндометаллофуллера / И. И. Файнгольд [и др.] // Известия Академии наук. Серия химических наук. – 2014. – № 5. – С. 1107–1112.
7. Dodge, J. T. The preparation and chemical characteristics of hemoglobin-free ghosts of human erythrocytes / J. T. Dodge, C. Mitchell, D. J. Hanahan // Arch. Biochem. Biophys. – 1963. – Vol. 100. – P. 119–130.
8. Влияние температуры на полярность аннулярного и бислойного липида синаптических мембран / С. Г. Самойленко [и др.] // Биофизика. – 1992. – Т. 37, Вып. 2. – С. 290–293.
9. Власенко, Е. К. Токсикологическая характеристика гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты в условиях хронического воздействия на белых крысах и в пролонгированном эксперименте in vitro // Е.К. Власенко / Труды БГУ. – 2014. – Т.9, Ч.2. – С. 209–217.
10. Бельский, М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М. Л. Бельский. – Рига : Изд-во Акад. наук Латв. ССР, 1959. – 115 с.
11. Кишкун, А. А. Руководство по лабораторным методам диагностики / А. А. Кишкун. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 822 с.
12. Адрианов, Н. В. Регуляция активности ферментных систем окисления чужеродных соединений / Н. В. Адрианов, В. Ю. Уваров // Вестник АМН СССР. – 1988. – № 1. – С. 24–33.

E. K. Vlasenko, A. G. Sysa

MEMBRANE-ACTING PROPERTIES OF 5-AMINOLEVULINIC ACID HEXYL ESTER IN EXPERIMENTS IN VITRO / IN VIVO

In the experiments on the ghosts of erythrocytes and on white rats were showed a pronounced effect of the H-ALA on lipid-protein and lipid-lipid interactions in the membrane. The results indicate dependent of H-ALA decrease microviscosity lipid bilayer and areas of lipid-protein contacts.