

¹С.В. Хижняк,
¹Л.І. Степанова,
²Л.В. Грубська,
¹А.О. Прохорова,
³В.М. Войціцький

¹Київський національний
університет ім. Т. Шевченка,
²Інститут біоорганічної хімії
та нафтохімії НАН України,
Київ,

³Національний університет
біоресурсів
і природокористування
України, Київ

Вплив іонізуючої радіації низької потужності поглинутої дози на ліпідний склад мітохондріальної мембрани ентероцитів тонкої кишки щурів

Influence of low-dose ionizing radiation
on mitochondrial membrane lipid composition
of small intestine enterocytes in rats

Цель работы: Исследование липидного состава внутренней мембраны митохондрий (ВММ) энтероцитов тонкого кишечника крыс в разные сроки после разового (0,1 и 1,0 Гр) и хронического (суммарная доза 1,0 Гр) действия ионизирующей радиации низкой мощности поглощенной дозы.

Материалы и методы: Исследования проведены на препаратах ВММ энтероцитов тонкой кишки крыс через 1, 12 и 24 часа после рентгеновского облучения животных в поглощенных дозах 0,1 и 1,0 Гр (55 мГр/мин), а также после хронического облучения животных в суммарной поглощенной дозе 1,0 Гр (5 мГр/мин). Проводили экстракцию мембранных липидов, определяли содержание холестерина (ХС), общих липидов и фосфолипидов (ФЛ). Фосфолипиды разделяли методом тонкослойной хроматографии, их жирнокислотный состав определяли методом газожидкостной хроматографии.

Результаты: Выявлены особенности количественных изменений липидов мембран митохондрий в динамике после разового облучения в зависимости от поглощенной дозы облучения (0,1 и 1,0 Гр). Ионизирующее излучение в дозе 0,1 Гр приводит к снижению содержания ХС и увеличению индивидуальных ФЛ (с преобладающим содержанием ненасыщенных жирных кислот), а в дозе 1,0 Гр — количественному увеличению ХС, отдельных фракций ФЛ (особенно минорной компоненты и лизоформ ФЛ), перераспределению жирных кислот ФЛ. Хроническое облучение приводит к снижению количества ХС в мембране и перераспределению содержания фосфолипидов: значительному снижению основных (фосфатидилхолина, фосфатидилэтаноламина, кардиолипина), а также увеличению лизоформ и минорной компоненты мембранных фосфолипидов.

Выводы: Особенности перестройки липидной компоненты ВММ энтероцитов тонкого кишечника крыс характеризуют специфику эффектов ионизирующего излучения низкой мощности для разных видов (рентгеновское и гамма-облучение), условий (разовое или хроническое) и поглощенных доз облучения.

Ключевые слова: ионизирующая радиация, поглощенная доза, мембрана митохондрий, липиды, фосфолипиды, жирные кислоты.

Мета роботи: Дослідження ліпідного складу внутрішньої мембрани мітохондрій (ВММ) ентероцитів тонкого кишечника щурів у різні терміни після разового (0,1 і 1,0 Гр) і хронічного (сумарна доза 1,0 Гр) впливу іонізуючої радіації низької потужності поглинутої дози.

Матеріали і методи: Дослідження проведено на препаратах ВММ ентероцитів тонкої кишки щурів через 1, 12 і 24 год після рентгенівського опромінення тварин у поглинутих дозах 0,1 і 1,0 Гр (55 мГр/хв), а також після хронічного опромінення їх у сумарній поглинутій дозі 1,0 Гр (5 мГр/хв). Проводили екстракцію мембраних ліпідів, визначали вміст холестеролу (ХС), загальних ліпідів і фосфоліпідів (ФЛ). Фосфоліпіди розділяли методом тонкошарової хроматографії, їх жирнокислотний склад визначали методом газорідної хроматографії.

Результати: Виявлено особливості кількісних змін ліпідів мембран мітохондрій у динаміці після разового опромінення залежно від поглинутої дози опромінення (0,1 і 1,0 Гр). Іонізуюче випромінювання в дозі 0,1 Гр призводить до зниження вмісту ХС і збільшення індивідуальних ФЛ (з переважним вмістом ненасичених жирних кислот), а в дозі 1,0 Гр — кількісного збільшення

Objective: To investigate lipid composition of mitochondria inner membrane (MIM) of the small intestine enterocytes in rats at different terms after single (0.1 and 1.0 Gy) and chronic (total dose 1.0 Gy) exposure to low-dose ionizing radiation.

Material and Methods: The study was performed on MIM specimens of small intestine enterocytes in rats 1, 12, 24 hours after x-ray exposure of the animals to absorbed doses of 0.1 and 1.0 Gy (55 mGy/min) as well as after chronic exposure to total absorbed dose 1.0 Gy (5 mGy/min). Membrane lipids were extracted; cholesterol (CS), total lipids and phospholipids (PL) amount was determined. Phospholipids were separated by thin-layer chromatography; their fatty-acid composition was determined using gas-fluid chromatography.

Results: The peculiarities of quantitative changes of mitochondrial membrane lipids after single exposure depended on the absorbed exposure dose (0.1 and 1.0 Gy). Ionizing radiation at a dose of 0.1 Gy resulted in reduction of CS amount and increase of individual PL (with prevailing nonsaturated acid amount). The dose of 1.0 Gy caused increase of CS amount, separate fractions of PL (especially minor component and lisoforms of PL), redistribution of fatty acids of PL. Chronic exposure resulted in reduction of CS amount in the membrane and redistribution of phospholipids content: considerable reduction of main (phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine, cardiolipin) as well as increase of lisoforms and minor component of membrane phospholipids.

Conclusion: The peculiarities of reconstruction of lipid component of MIM in the small intestine enterocytes of rats characterize the specificity of the effects of low-dose ionizing radiation for different types (x-ray, gamma-rays), conditions (single or chronic) and absorbed doses of radiation.

Key words: ionizing radiation, absorbed dose, mitochondria membrane, lipids, phospholipids, fatty acids.

ХС, окремих фракцій ФЛ (особливо мінорної компоненти і лізоформ ФЛ), перерозподілу жирних кислот ФЛ. Хронічне опромінення призводить до зниження кількості ХС у мембрані та перерозподілу вмісту фосфоліпідів: значного зниження основних (фосфатидилхоліну, фосфатидилетаноламіну, кардіоліпіну), а також збільшення лізоформ і мінорної компоненти мембранних фосфоліпідів.

Висновки: Особливості перебудови ліпідної компоненти ВММ ентероцитів тонкого кишечника щурів характеризують специфіку ефектів іонізувального випромінювання низької потужності для різних видів (рентгенівське і гамма-опромінення), умов (разове чи хронічне) і поглинутих доз опромінення.

Ключові слова: іонізувальна радіація, поглинута доза, мембрана мітохондрій, ліпіди, фосфоліпіди, жирні кислоти.

Вивчення радіаційно-індукованих ефектів у клітинних мембранах становить одне з актуальних завдань радіобіології, що зумовлюється їх роллю у розвитку радіаційного патогенезу клітин [1]. Радіаційній модифікації піддається не тільки білковий, але й ліпідний компонент біомембран унаслідок активації пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), змін у вмісті мембранних ліпідів, жирних кислот тощо [2].

Головну роль в енергозабезпеченні життєдіяльності ентероцитів тонкої кишки, як і інших клітин, відіграють мітохондрії, внутрішня мембрана яких містить комплекси дихального ланцюга, де відбувається окисне фосфорилування [3]. В кооперативній системі білок-ліпідного матриксу мембран радіаційно-індуковані зміни функціональної активності мітохондрій зумовлені структурними модифікаціями мембранних білків та фізико-хімічного стану ліпідного бішару [4]. Причому зміни ліпідної компоненти відіграють вирішальну роль у формуванні радіаційно-індукованих порушень мембран за дії іонізуючої радіації (ІР) у широкому інтервалі доз, зокрема й малих [1, 5]. Що стосується малих доз ІР, то на сьогодні не існує їх загального визначення. Науковий комітет ООН з дії атомної радіації рекомендує називати малими дозами іонізувального випромінювання (ІВ) дози менше 200 мГр (20 рентген), а малими потужностями доз — 1,5 мГр/хв та нижче [6].

Мета даної роботи полягала в дослідженні ліпідного складу внутрішньої мітохондріальної мембрани ентероцитів тонкої кишки щурів у різні терміни після разової (0,1 та 1,0 Гр) та хронічної (сумарна доза 1,0 Гр) дії ІВ за низької потужності поглинутої дози.

Методика дослідження

Дослідження проведено на безпородних щурах-самцях (88) масою 160–200 г, яких утримували за стандартних умов на звичайному раціоні віварію. Експерименти проводили відповідно до конвенції Ради Європи щодо захис-

ту хребетних тварин, яких використовують з науковою метою. Разове опромінювання щурів проводили на рентгенівській установці РУМ-17 за таких умов: сила струму 5 мА, напруга 200 кВ, фільтр 0,5 мм Cu та 1 мм Al, шкірно-фокусна відстань — 100 см, потужність поглинутої дози — 55 мГр/хв. Дозиметричний контроль здійснювали дозиметром ДКС-АТ1121. Експериментальних тварин було поділено на групи відповідно до умов дослідження: 1-ша група — контрольна; 2-га — опромінення в дозі 0,1 Гр; 3-тя — в дозі 1,0 Гр. Тварин декапітували через 1, 12 та 24 год після опромінювання.

Хронічне зовнішнє гамма-опромінювання щурів здійснювали на установці «Еталон» Інституту ядерних досліджень НАН України, із джерелом випромінювання ⁶⁰Со. Потужність поглинутої дози становила 5 мкГр/хв. Тварин постійно утримували в приміщенні, де було розташоване джерело ІВ спрямованої дії. Щури, яких не піддавали дії ІВ, були захищені від нього свинцевим екраном. Дозиметричний контроль здійснювали термолюмінесцентним дозиметром КДТ-0,2М. Залежно від тривалості променевої дії експериментальних тварин поділили на групи (кожній з яких відповідав свій контроль): 1-ша група — з тривалістю дослідження 84 доби (сумарна поглинута доза 0,6 Гр); 2-га — 145 діб (сумарна поглинута доза 1,0 Гр). Щури декапітували через 24 год після закінчення експерименту.

Мітохондрії ентероцитів тонкої кишки та, в подальшому, внутрішню мембрану мітохондрій (ВММ) у вигляді субмітохондріальних частинок, отримували згідно з [7]. Вміст білка визначали методом Лоурі з модифікаціями відповідно до [8]. Екстракцію ліпідів проводили методом Фолча [9]. Фосфоліпіди (ФЛ) розділяли двовимірною тонкошаровою хроматографією на пластинках Sorbfil розміром 10 × 10 см. Вміст загальних ліпідів (ЗЛ) та холестеролу (ХС) визначали згідно з [10], а ФЛ за [11]. Жирнокислотний склад загальної фракції фосфоліпідів ВММ визначали з використанням газорідного хроматографа. Експериментальні дані в кожній серії досліджень опрацьовували методами варіаційної статистики [12]. Розраховували значення середньоарифметичних величин (М) та похибок середніх величин (m) при n-об'ємі певної вибірки. Для визначення вірогідних відмінностей між середніми величинами використовували критерій Стьюдента (t). Розрахунки проводили за допомогою комп'ютерних програм Excel 7.0 та Statistica 6.0.

Результати та їх обговорення

Отримані дані свідчать, що за разової дії ІР кількість загальних ліпідів ВММ тонкої кишки щурів вірогідно зростає: через 12 та 24 год після опромінення в дозі 0,1 Гр в середньому на 27 та 40% відповідно, а через 1, 12 та 24 год після опромінення — в дозі 1,0 Гр — на 19, 39 та 40% (табл. 1). За даних умов досліду виявлено зростання і вмісту ФЛ, яке за разової дії ІР в дозі 0,1 Гр становить у середньому 133% у всі терміни після опромінювання. За опромінення в дозі 1,0 Гр

вміст ФЛ зростає через 1, 12 та 24 год після променевої дії на 21, 48 та 55% відповідно. Вміст ХС змінюється в мембранах залежно від поглинутої дози опромінення та терміну після його дії. Так, через 1 год після опромінення в дозі 0,1 Гр вміст ХС зростає в середньому на 48%, а через 12 та 24 год знижується на 20%. Опромінення тварин у дозі 1,0 Гр призводить до зростання вмісту ХС через 12 та 24 год після опромінювання на 42 та 57% відповідно. Тобто, спостерігаються розбіжності у вмісті ХС ВММ за опромінення в дозі 0,1 та 1,0 Гр через 24 год після променевого впливу (див. табл. 1).

Важливою характеристикою біологічних мембран є величина молярного співвідношення ХС/ФЛ, яка свідчить про ступінь гідрофобності мембрани і, певною мірою, пов'язана з її структурно-функціональною активністю [3]. Встановлено, що через 1 год після опромінення в дозі 0,1 Гр величина цього показника зростає, а зі збільшенням терміну спостереження (24 год) величина співвідношення ХС/ФЛ знижується в середньому на 43%. Однак за опромінення в дозі 1,0 Гр спостерігаються протилежно спрямовані зміни величини ХС/ФЛ: через 1 год величина показника знижується на 29%, а через 24 год —

зростає на 64% (див. табл. 1). Отримані результати свідчать про ранню відповідь ліпідної компоненти ВММ на разову дію ІР за низької потужності поглинутої дози, яка характеризується модифікацією вмісту ЗЛ, ФЛ та ХС. Крім того, виявлені протягом доби після опромінювання різноспрямовані зміни у вмісті ХС, а також величини співвідношення ХС/ФЛ можуть свідчити про перебудову ліпідної компоненти мембрани у післярадіаційний період.

Хронічне опромінення тварин призводить до зниження вмісту ФЛ та ХС у ВММ, а також величини співвідношення ХС/ФЛ (у середньому на 30%, відносно відповідного контролю) за досліджуваних доз (див. табл. 1). Виявлені зміни значень цих показників можуть свідчити про модифікацію фізико-хімічних властивостей мембранного бішару ВММ в умовах досліду, його дестабілізацію, що призводить до зростання проникності мембран тощо [13].

Результати дослідження вмісту індивідуальних фосфоліпідів ВММ ентероцитів тонкої кишки контрольних та опромінених тварин представлено в табл. 2. Вміст основних ФЛ ВММ, а саме: фосфатидилхоліну (ФХ), фосфатидилетаноламіну (ФЕА) та кардіоліпіну (КЛ) стано-

Таблиця 1

Вміст ліпідів (мкг/мг білка) у препаратах внутрішньої мембрани мітохондрій ентероцитів тонкої кишки після дії іонізуючої радіації ($M \pm m, n = 8$)
Lipid amount ($\mu\text{g}/\text{mg}$ of protein) in specimens of inner membrane of small intestine enterocyte mitochondria after exposure to ionizing radiation ($M \pm m, n = 8$)

Умови досліду	ЗЛ	ФЛ	ХС	
Разове опромінення				
Контроль	197,9 ± 12,8	119,1 ± 9,2	16,7 ± 0,9	0,140 ± 0,011
Поглинута доза опромінення 0,1 Гр				
Термін, год: 1	186,8 ± 10,3	104,7 ± 8,4	24,7 ± 1,4	0,240 ± 0,019*
12	252,3 ± 16,6*	155,9 ± 10,3*	13,2 ± 0,7*	0,081 ± 0,006*
24	277,1 ± 21,5*	160,7 ± 10,6*	13,8 ± 0,6*	0,071 ± 0,005*
Поглинута доза опромінення 1,0 Гр				
Термін, год: 1	234,9 ± 14,4	144,1 ± 10,1*	14,5 ± 0,8	0,101 ± 0,019*
12	275,1 ± 18,4*	175,7 ± 12,5*	23,7 ± 1,2*,#	0,140 ± 0,011
24	276,9 ± 16,2*	184,5 ± 13,9*	42,9 ± 2,5*,#	0,231 ± 0,018*,#
Хронічне опромінення				
Контроль		93,3 ± 3,0	18,2 ± 0,8	0,195 ± 0,020
Поглинута доза 0,6 Гр	н.в.	116,7 ± 3,1*	16,0 ± 0,7	0,137 ± 0,011*
Контроль		99,6 ± 3,1	20,2 ± 0,7	0,203 ± 0,020
Поглинута доза 1,0 Гр	н.в.	88,2 ± 2,9*	14,1 ± 0,8*	0,160 ± 0,016*

* $p \leq 0,05$ відносно відповідного контролю, # $p \leq 0,05$ відносно дози 0,1 Гр. ЗЛ — загальні ліпіди, ФЛ — фосфоліпіди, ХС — холестерол, н.в. — не визначали.

виль у середньому 27,24 та 17% відповідно. За разового опромінення щурів у дозі 0,1 Гр їх вміст через 1 год знижується, однак у подальші терміни — зростає (див. табл. 2): через 24 год для ФЕА та КЛ на 46 і 32% відповідно. За разового опромінення щурів у дозі 1,0 Гр вміст ФХ та ФЕА збільшується в усі терміни після опромінення в середньому на 22 та 40% відповідно (див. табл. 2).

Загальною тенденцією за разової дії опромінення в поглинутих дозах 0,1 та 1,0 Гр, поряд зі збільшенням вмісту основних ФЛ, є зростання вмісту мінорної компоненти ФЛ ВММ ентероцитів тонкої кишки — сфінгомієліну (СФМ), фосфатидилінозиту (ФІ) та фосфатидилсерину (ФС). Так, за 1 год після опромінення в цих дозах зміни у вмісті ФЛ є незначними. Однак за 24 год після опромінення тварин у дозі 0,1 Гр спостерігається зростання кількості СФМ, ФІ та ФС в середньому на 89, 37 та 31% відповідно, а через 24 год після опромінення тварин у дозі 1,0 Гр — на 136, 59 та 57% відповідно. Крім того, збільшення дози опромінення до 1,0 Гр призводить до більш значних змін вмісту окремих фракцій ФЛ, ніж опромінення при дозі 0,1 Гр. Підвищення рівня лізоформ ФХ та ФЕА в мембранах мітохондрій спостерігається за всіх термінів дослідження (див. табл. 2).

Підвищення вмісту функціонально важливих ФЛ за разової дії опромінення, можливо, пов'язане зі зростанням активності синтетичних реакцій. Показано, що синтез ліпідів апікальної мембрани ентероцитів тонкої кишки (ФЛ та ХС) збільшується за разової дії ІР, причому максимальна активність синтезу має місце через 24 год після опромінювання, тоді як через 48 та 72 год ліпогенез знижується [14]. Крім того, зростання вмісту СФМ може бути пов'язане з прискоренням реакції його утворення з ФХ [15]. Виявлене зростання у ВММ вмісту як загальної фракції ФЛ, так і окремих ФЛ можна розглядати як активацію відновних процесів у мембранах мітохондрій ентероцитів за разової дії опромінення.

Хронічний вплив ІР призводить до зменшення кількості основних ФЛ у ВММ — ФХ, ФЕА та КЛ в середньому на 57, 59 і 30% відповідно за сумарної поглинутої дози 1,0 Гр. В цих умовах відбувається і збільшення вмісту СФМ та ФС на 23 і 92%, відповідно, а вміст лізоформ ФХ та ФЕА зростає більш ніж у 2 рази (див. табл. 2).

Зменшення вмісту функціонально важливих ФЛ за хронічної дії опромінення може свідчити про пригнічення їх синтезу за цих умов. Крім того, ліпіди, які легше піддаються окисненню (КЛ, ФЕА, ФС), швидше видаляються з мембра-

Таблиця 2

Вміст індивідуальних фосфоліпідів (мкг/мг білка) у препаратах внутрішньої мембрани мітохондрій ентероцитів тонкої кишки після дії іонізуючої радіації (M ± m, n = 8)
The amount of individual phospholipids (μg/mg of protein) in specimens of inner membrane of small intestine enterocyte mitochondria after exposure to ionizing radiation (M ± m, n = 8)

Умови досліджу	ФХ	ФЕА	КЛ	СФМ	ФІ	ФС	ЛФХ	ЛФЕА
Разове опромінення								
Контроль	32,5 ± 2,6	28,8 ± 1,8	19,9 ± 1,5	9,6 ± 0,7	16,7 ± 1,4	10,8 ± 0,9	1,3 ± 0,1	0,42 ± 0,03
Поглинута доза 0,1 Гр								
Термін, год: 1	22,5 ± 2,0*	20,8 ± 1,6*	17,9 ± 1,7	12,0 ± 1,1*	10,8 ± 0,9*	15,0 ± 1,3*	3,8 ± 0,3*	0,83 ± 0,04*
12	31,7 ± 2,8	38,7 ± 3,2*	26,7 ± 2,6*	21,5 ± 1,8*	22,9 ± 2,0*	12,1 ± 0,9	1,7 ± 0,1*	0,83 ± 0,05*
24	34,2 ± 2,9	42,1 ± 3,5*	26,5 ± 2,4*	18,1 ± 1,1*	22,9 ± 1,9*	14,2 ± 1,3*	2,5 ± 0,2*	1,25 ± 0,09*
Поглинута доза 1,0 Гр								
Термін, год: 1	40,8 ± 2,2*	37,1 ± 1,8*	19,9 ± 1,2	8,7 ± 0,5	18,9 ± 1,1	12,3 ± 0,8	4,5 ± 0,3*	1,33 ± 0,06*
12	34,2 ± 1,8	38,6 ± 1,9*	23,2 ± 1,8	22,8 ± 1,2*	24,8 ± 1,3*	20,5 ± 1,3*	7,3 ± 0,4*	1,67 ± 0,04*
24	39,6 ± 2,0**, #	40,2 ± 2,1*	22,8 ± 1,3	22,6 ± 2,4**, #	26,5 ± 1,5**, #	17,0 ± 1,0**, #	8,3 ± 0,9**, #	2,00 ± 0,16*
Хронічне опромінення								
Контроль	27,9 ± 1,6	26,4 ± 1,9	13,1 ± 0,8	7,2 ± 0,5	15,9 ± 0,2	6,9 ± 0,3	3,4 ± 0,3	7,1 ± 0,6
Поглинута доза 1,0 Гр	12,2 ± 1,0*	15,6 ± 1,8*	9,3 ± 0,7*	8,8 ± 0,9*	16,9 ± 0,3	13,4 ± 0,8*	5,9 ± 0,6*	15,2 ± 1,5*

* p ≤ 0,05 відносно відповідного контролю, # p ≤ 0,05 відносно дози 0,1 Гр. ФХ — фосфатидилхолін, ФЕА — фосфатидилетаноламін, КЛ — кардіоліпін, СФМ — сфінгомієлін, ФІ — фосфатидилінозитол, ФС — фосфатидилсерин, ЛФХ — лізофосфатидилхолін, ЛФЕА — лізофосфатидилетаноламін.

ни, на відміну від СФМ та ФХ, які довше зберігаються в структурі мембрани, що також призводить до зміни ФЛ складу мембран. Відомо, що внаслідок опромінення організму, зокрема хронічного, з потужністю поглинутої дози 5 мкГр/хв [16], у тканинах у результаті активації окисних процесів значно зростає вміст продуктів ПОЛ. Це призводить до окиснення поліненасичених жирних кислот ФЛ та накопичення лізоформ ФЛ (спостерігається в умовах досліду) і, в свою чергу, може призводити до порушення структури ліпідного бішару. Виявлені відмінності разової та хронічної дії ІВ на вміст індивідуальних фосфоліпідів ВММ можуть свідчити про різну радіочутливість окремих процесів, які відповідають за синтез та розпад певних фосфоліпідів, зокрема, внаслідок реакцій взаємоперетворення окремих фосфоліпідів.

Модифікації ліпідних молекул, завдяки опроміненню, зумовлені переважно радіаційно-хімічними перетвореннями жирних кислот. Зауважимо, що ФХ та СФМ містять значно більше насичених жирних кислот, ніж ФЕА та ФІ. Тому зменшення або збільшення в мембранних структурах кількості індивідуальних ФЛ може спричинити структурні перебудови в клітинних мембранах [17].

При визначенні жирнокислотного складу загальної фракції ФЛ ВММ виявлено та ідентифіковано 22 жирні кислоти з довжиною вуглецевого ланцюга від C_{14} до C_{22} (табл. 3). Серед насичених жирних кислот найбільший вміст притаманний пальмітиновій ($C_{16:0}$, в середньому 16% від загальної кількості жирних кислот) та стеариновій ($C_{18:0}$; 10%). Ненасичені жирні кислоти представлені здебільш олеїною ($C_{18:1}$; 16%); ліолевою ($C_{18:2}$; 26%) та арахідоною ($C_{20:4}$; 14,5%) кислотами.

Проведені дослідження свідчать, що за всіх досліджуваних термінів після разового опромінення в дозі 0,1 Гр вміст насичених жирних кислот ФЛ ВММ знижується, особливо пальмітинової ($C_{16:0}$) — на 27%. Це може бути наслідком порушення процесу синтезу пальмітинової кислоти — попередника довголанцюгових жирних кислот. Проте вміст стеаринової ($C_{18:0}$) та ейкозанової ($C_{20:0}$) кислот зростає через 1 год після опромінювання в середньому на 25 та 97% відповідно.

Кількість ненасичених жирних кислот через 1 год після разового опромінення в дозі 0,1 Гр зменшується в середньому так: олеїнової ($C_{18:1}$), арахідонової ($C_{20:4}$) та докозагексанової ($C_{22:6}$) на 30%, а ліоленової ($C_{18:3}$) — на 60% (див. табл. 3). За 24 год після опромінення в цій дозі їх вміст вірогідно збільшується (див. табл. 3). Результатом перерозподілу вмісту жирних кислот ФЛ після опромінення в дозі 0,1 Гр (вірогідне зростання загального вмісту ненасичених жирних кислот) є зниження коефіцієнта насичення, який за 24 год після опромінення становить 0,48. Тобто фракція ФЛ ВММ після опромінення в дозі 0,1 Гр стає менш насиченою відносно контролю. Зростання кількості ненасичених жирних кислот може впливати на перебіг мембранозв'язаних процесів.

Опромінення в дозі 1,0 Гр викликає різноспрямовані зміни у вмісті насичених жирних кислот ФЛ у різні терміни дослідження (див. табл. 3). Так, через 1 год після опромінювання вміст пальмітинової ($C_{16:0}$), гептадеканової ($C_{17:0}$), стеаринової ($C_{18:0}$) кислот зростає в середньому на 13, 64 та 56%, а за 24 години — знижується на 55, 41 та 16% відповідно. Водночас, через 1 год після опромінення вміст генейкозанової ($C_{21:0}$) та докозанової ($C_{22:0}$) кислот знижується в середньому на 22 та 54% відповідно, а через 24 год зростає вміст ейкозанової ($C_{20:0}$) в 7,5 та докозанової ($C_{22:0}$) в 1,4 рази.

Рівень ненасичених жирних кислот у ВММ за разової дії ІР в поглинутій дозі 1,0 Гр через 1 та 24 год після опромінювання також змінюється різноспрямовано (див. табл. 3). Вірогідно зростає вміст гептадекамоноєвої ($C_{17:1}$) кислоти, ейкозамоноєвої ($C_{20:1}$) та докозапентаєнової ($C_{22:5}$) кислот на 46–60% через 1 год після опромінювання, а через 24 год вірогідно знижується вміст ліолевої ($C_{18:2}$), ліоленової ($C_{18:3}$) та докозатетраєнової ($C_{22:4}$) кислот у середньому на 60, 83 та 27% відповідно.

Таким чином, загальний вміст насичених жирних кислот через 1 год після разового опромінення в дозі 1,0 Гр зростає, а через 24 год вірогідно знижується. Водночас загальний вміст ненасичених жирних кислот залишається зниженим у всі терміни досліду. Тобто, величина показника індексу насиченості через 1 год становить 1,12, а через 24 год не відрізняється від контрольного значення.

Вміст жирних кислот (ЖК) загальної фракції фосфоліпідів (% від суми всіх жирних кислот) у препаратах внутрішньої мембрани мітохондрій ентероцитів тонкої кишки після дії іонізуючої радіації ($M \pm m, n = 8$)

The amount of fatty acids (FA) of total fraction of phospholipids (% of the total of all fatty acids) in specimens of inner membrane of small intestine enterocyte mitochondria after exposure to ionizing radiation ($M \pm m, n = 8$)

Символ ЖК	Контроль	Умови досліджу			
		Поглинута доза опромінення 0,1 Гр		Поглинута доза опромінення 1,0Гр	
		через 1 год	через 24 год	через 1 год	через 24 год
14:0	4,53 ± 0,28	3,92 ± 0,22*	1,20 ± 0,08*	6,83 ± 0,41*	1,94 ± 1,05*
16:0	15,91 ± 1,13	15,16 ± 1,06	11,56 ± 0,77*	17,99 ± 1,28*	7,17 ± 0,40*
17:0	2,96 ± 0,06	2,66 ± 0,05	2,91 ± 0,06	4,86 ± 0,32*	1,75 ± 0,04*
17:1	1,27 ± 0,03	1,50 ± 0,04*	1,34 ± 0,03	1,85 ± 0,06*	2,25 ± 0,06*
18:0	9,82 ± 0,41	12,24 ± 0,56*	9,37 ± 0,30	15,28 ± 1,12*	8,28 ± 0,36*
18:1	2,49 ± 0,05	1,72 ± 0,04*	2,82 ± 0,06*	1,56 ± 0,04*	3,68 ± 0,15*
18:2	26,09 ± 1,38	26,23 ± 1,71	26,21 ± 1,67	18,69 ± 1,33*	10,52 ± 0,48*
18:3	2,46 ± 0,04	0,99 ± 0,02*	2,62 ± 0,08	1,23 ± 0,03*	0,42 ± 0,01*
20:0	0,92 ± 0,02	2,21 ± 0,05*	0,76 ± 0,03*	0,97 ± 0,02	7,13 ± 0,47*
20:1	0,63 ± 0,01	1,66 ± 0,03*	1,08 ± 0,02*	1,01 ± 0,03*	0,97 ± 0,04*
20:3	0,72 ± 0,02	0,81 ± 0,02*	0,70 ± 0,03	0,77 ± 0,02	2,90 ± 0,06*
20:4	14,38 ± 0,87	10,93 ± 0,56*	13,97 ± 0,09	13,07 ± 0,85	19,20 ± 1,10*
21:0	4,19 ± 0,35	0,66 ± 0,01*	3,49 ± 0,06*	3,28 ± 0,30*	3,08 ± 0,25*
22:0	1,36 ± 0,03	0,93 ± 0,03*	1,28 ± 0,04	0,62 ± 0,02*	3,32 ± 0,13*
22:4	4,72 ± 0,26	7,05 ± 0,45*	5,49 ± 0,22*	2,95 ± 0,09	3,46 ± 0,14*
22:5	0,98 ± 0,06	4,91 ± 0,31*	3,71 ± 0,16*	1,43 ± 0,04*	5,25 ± 0,34*
22:6	5,68 ± 0,41	3,62 ± 0,22	5,85 ± 0,38	1,82 ± 0,04*	3,62 ± 0,15*
Насичені	39,69 ± 2,28	37,78 ± 1,98	30,57 ± 1,34*	49,83 ± 3,47*	32,67 ± 2,7*
Ненасичені	59,72 ± 3,09	59,42 ± 3,40	63,82 ± 2,74	44,38 ± 2,50*	52,27 ± 2,53*
Коефіцієнт насиченості	0,66 ± 0,07	0,64 ± 0,06	0,48 ± 0,04*	1,12 ± 0,13*	0,63 ± 0,07

* $p \leq 0,05$ відносно відповідного контролю.

Аналізуючи отримані результати, перш за все, слід зазначити, що іонізуюче опромінення за низької потужності поглинутих доз, як разове, так і хронічне, призводить до модифікацій ліпідного складу ВММ ентероцитів тонкої кишки. Характер цих змін має свої особливості, з урахуванням різного виду (рентгенівське та гамма-опромінення) чи способів (разове та хронічне), а також доз опромінення. В умовах разового опромінення за низької потужності поглинутої дози (55 мГр/хв) при дозі 0,1 Гр перебудови ліпідної компоненти мітохондріальної мембрани у післярадіаційний період характеризуються зниженням вмісту ХС та зростанням вмісту ФЛ, можливо, за рахунок зростання їх синтезу, з переважанням ненасичених, важкоокиснювальних жирних кислот. Крім того, не виключене явище ліпідного дедиференціювання (перерозподіл

ліпідів у різних органелах клітини), яке трапляється за різних патологій [3]. Встановлені зміни ліпідної компоненти ВММ можуть спричинити зниження її мікрров'язкості, що призводить до активації мембранних процесів, зокрема й репаруючих, та впливати на структуру та функції мітохондрій як цілого.

Перебудова ліпідної компоненти ВММ у динаміці після опромінення в дозі 1,0 Гр характеризується зростанням вмісту ХС і ФЛ (особливо мінорної компоненти та лізоформ ФЛ), перерозподілом вмісту жирних кислот ФЛ, який призводить до зниження рівня як насичених, так і ненасичених жирних кислот. Накопичення за цих умов у ліпідному бішарі мембран вільних жирних кислот, лізоформ ФЛ чи інших продуктів деградації ліпідів, що, ймовірно, за рахунок активації ПОЛ та фосфоліпазного гідролізу,

впливає на структуру мембран і погіршує умови функціонування мембранозв'язаних комплексів. Слід зауважити, що в попередніх дослідженнях (за опромінення в дозі 1,0 Гр) виявлено функціональні зміни мітохондрій ентероцитів тонкої кишки — роз'єднання процесів окиснення та фосфорилування [18].

Стосовно хронічного впливу гамма-опромінення з потужністю поглинутої дози 5 мГр/хв необхідно відзначити зниження у ВММ ентероцитів тонкої кишки вмісту ХС та загальних ФЛ, зумовлене зниженням рівня основних фосфоліпідів ВММ (ФХ, ФЕА та КЛ) та накопиченням у мембрані лізоформ ФЛ. Попередні дослідження свідчать про перерозподіл у вмісті окремих жирних кислот ФЛ ВММ, однак загальний вміст насичених та ненасичених жирних кислот ФЛ істотно не змінюється [19]. Тобто зменшення вмісту основних ФЛ, особливо КЛ, який має особливе значення в підтримці функціональної структури мембранозв'язаних ферментів мітохондрій, а також значне накопичення лізоформ ФЛ може впливати на порушення функцій мітохондрій за хронічного опромінення. Зафіксовано зниження енергетичних властивостей мітохондрій ентероцитів тонкої кишки за цих умов [16].

Висновки

1. Виявлені у післярадіаційний період (1-ша, 12-та і 24-та год) за разової дії іонізуючої радіації у поглинутій дозі 0,1 Гр (55 мГр/хв) перебудови ліпідної компоненти внутрішньої мембрани мітохондрій ентероцитів тонкої кишки, які проявляються зменшенням вмісту ХС, зростанням вмісту індивідуальних ФЛ (з переважанням ненасичених жирних кислот та зниженням коефіцієнта їх насиченості) можуть характеризувати активацію відновних процесів у мембрані.

2. Разове опромінення за поглинутої дози 1,0 Гр (55 мГр/хв) в динаміці призводить до зростання вмісту ХС та окремих фракцій ФЛ (особливо мінорної компоненти та лізоформ ФЛ), перерозподілу вмісту жирних кислот фосфоліпідів, а також зниження вмісту як насичених, так і ненасичених жирних кислот.

3. За хронічного впливу радіації (сумарна поглинута доза 1,0 Гр) спостерігається знижен-

ня вмісту ХС, перерозподіл вмісту фосфоліпідів: значне зниження рівня основних (ФХ, ФЕА, КЛ) та зростання лізоформ і мінорної компоненти ФЛ, що може спричинити структурні перебудови мітохондріальної мембрани.

4. Отримані результати свідчать про особливості перебудови ліпідної компоненти внутрішньої мітохондріальної мембрани ентероцитів тонкої кишки, які стосуються змін у співвідношенні окремих ліпідних компонент (фосфоліпідів, жирних кислот, холестеролу) для різних видів (рентгенівське та гамма-опромінення), умов (разове чи хронічне) та дози опромінення, що характеризує реалізацію ефектів іонізуючого випромінювання за низької потужності доз.

Література

1. Эйдус Л.Х. Мембранный механизм биологического действия малых доз. — М.: Изд-во Ин-та теор. и эксперим. физ., 2001. — 81 с.
2. Коломийцева И. К. Радиационная биохимия липидов. — М.: Наука, 1989. — 181 с.
3. Скулачев В.П. Энергетика биологических мембран. — М.: Наука, 1989. — 564 с.
4. Коломийцева И.К., Потехина Н.И., Новоселова Е.Г. Лучевые повреждения организма и пути их коррекции. — Томск, 1991. — 119 с.
5. Cristea I.M., Esposti M.D. // *Chem. and Phys. of Lipids*. — 2004. — Vol. 129. — P.133–160.
6. Кудряшов Ю.Б. Радиационная биофизика (ионизирующее излучение). — М.: Физматлит, 2004. — 448 с.
7. Практикум по биохимии: Учебное пособие / Под ред. С.Е. Северина, Г.А. Соловьевой. — М.: Изд-во МГУ, 1989. — 509 с.
8. Cadman E., Bostwick J.R., Eichberg J. // *Anal. Biochem.* — 1979. — Т. 96, № 1. — P. 21–23.
9. Folch J., Leez M., Stanley G.H.S. // *J. Biol. Chem.* — 1957. — Vol. 226, № 2. — P.497–501.
10. Колб В.Г., Камышников В.С. Клиническая биохимия. — Минск: Беларусь, 1976. — С.158–161.
11. Биохимическое исследование мембран / Под ред. Э. Медди. — М.: Мир, 1979. — С. 228–235.
12. Кучеренко М.Є., Бабенюк Ю. Д., Войціцький В.М. Сучасні методи біохімічних досліджень. — К.: Фітосоціоцентр. — 2001. — С.109–134.
13. Геннис Р. Биомембраны. Молекулярная структура и функции. — М.: Мир, 1997. — 624 с.
14. Степанова Л.І., Хижняк С.В., Клепко А.В. та ін. // *УРЖ*. — 2006. — Т. XIV, вип. 3. — С. 268–271.
15. Marggraf W.D., Anderer A.F., Kanfer J.N. // *Biochim. Biophys. Acta*. — 1981. — Vol. 664, № 1. — P. 61–73.
16. Хижняк С.В., Клепко А.В., Кисіль О.О. та ін. // *УРЖ*. — 2003. — Т. XI, вип. 3. — С. 298–304.
17. Артамонов М.В., Жуков О.Д., Горідько Т.М. та ін. // *Укр. біохім. журн.* — 2003. — Т. 75, № 4. — С. 81–89.
18. Левченко Л.В., Клепко А.В., Войціцький В.М. та ін. // *Доповіді НАН України*. — 2006. — № 7. — С. 179–182.
19. Хижняк С.В., Клепко А.В., Степанова Л.І. та ін. // *Вісник КНУ ім. Тараса Шевченка. Біологія*. — 2004. — Вип. 42–43. — С. 59–61.

Надходження до редакції 11.03.2010.

Прийнято 09.11.2010.

Адреса для листування:
Хижняк Світлана Володимирівна,
svetavh@mail.ru