

УДК 577.25+612.014+574.64

АЛЬТЕРАЦІЯ КЛІТИННИХ МЕМБРАН *LEMNA MINOR* L. ПІСЛЯ ТОКСИЧНОГО НАВАНТАЖЕННЯ

К.В. Костюк¹, В.В. Грубінко²

¹ Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, вул. Проспект перемоги, 34, Київ, 01601, Україна

² Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка, вул. М. Кривоноса, 2, Тернопіль, 46013, Україна

Як відомо, практично будь-який захист від негативного впливу реалізується на клітинному рівні, а універсальною для всіх клітин є їх мембранна будова. Клітина має систему взаємопов'язаних мембран, бо зовнішня мембрана клітини, ендоплазматичний ретикулум, мітохондріальна, лізосомна, ядерна мембрани і апарат Гольджі тісно пов'язані між собою [10].

Одна з основних функцій зовнішньої клітинної мембрани – регуляція обміну речовин між внутрішньоклітинним і зовнішнім середовищем. Проте мало відомо про динаміку та функції клітинних мембран і їх участь у регуляції відповіді клітин на дію токсикантів. Порушення в структурі цитоплазматичних і внутрішньоклітинних мембран ініціюють формування захисних механізмів, спрямованих на репарацію пошкоджених частин мембран. Вказана обставина обумовлює теоретичну значимість подібного роду робіт та велике практичне значення для розуміння процесів адаптації.

У попередніх дослідженнях нами було показано, що при дії дизельного палива та важких металів у клітинах ряски інтенсивно зменшується вміст білків та практично вдвічі зростає кількість ліпідів [1, 5, 6], що призводить до утворення вторинної концентричної мембрани [2, 3, 8], яка забезпечує захист клітин від токсичної дії. Аналізуючи цей феномен, ми дійшли висновку, що система концентричних мембран є лише однією з обов'язкових ланок специфічної відповіді клітин на пошкодження і особливо важливою для клітин водяних рослин [7]. В контексті дослідження виникало ряд питань щодо «вторинних концентричних мембран: «Це нормальне явище чи аномалія? Скільки їх може утворюватися? Яка подальша їх доля?». Одним з ключових питань є: «Чи можуть вони зникати після припинення токсичного впливу?»

У зв'язку з цим метою роботи було вивчення можливості альтерації клітинних мембран ряски в корекції білково-ліпідного спектру після семидобового токсичного навантаження.

Матеріалом для дослідження була *Lemna minor* L. В експериментальних умовах у культуральне середовище додавали дизпаливо (А-02-62, ГОСТ 305-82) у кількості 0,01 мл; 0,05 мл, що

становить 1 і 5 ГДК відповідно, а також водні розчини солей $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ та $Pb(NO_3)_2$ в розрахунку на кількість іонів Zn^{2+} – 1,0 мг/дм³ і 5,0 мг/дм³ та іонів Pb^{2+} – 0,1 мг/дм³ та 0,5 мг/дм³, що відповідає 1 ГДК, 5 ГДК відповідно для водойм рибогосподарського призначення [4]. Відбір зразків біомаси здійснювали на 1, 3, 6 годину та 1, 3, 7 добу експерименту. Контролем слугували рослини, вирощені в середовищі без додавання солей цинку, свинцю та дизпалива.

Клітинні мембрани виділяли за методом Фіндлея і Еванза [11]. Репараційні процеси спостерігали мікроскопічно, зафарбувавши клітинні мембрани “хлор–цинк–йод” реактивом [12]. Ліпіди екстрагували хлороформ-метаноловою сумішшю в співвідношенні 2:1 згідно методу Фолча [13]. Визначення вмісту білків здійснювали за Лоурі та співавт. [14].

Одержані результати оброблені з використанням методів варіаційної статистики [9].

Як показали результати дослідження, альтерація клітинних мембран при поверненні до нормальних умов існування, відбувається не так швидко, як формування вторинної концентричної. Пов'язуємо це із виснаженням клітин та почерговістю репаративних процесів. Насамперед репаративні процеси були пов'язані із зміною білково-ліпідного складу мембран. Так, в середовищі із токсикантами вміст білків зменшувався, зокрема, при дії цинку в 3,5 раза, свинцю – в 7,0 разів, а дизельного палива – в 2,3 раза. Щодо ліпідів, то їх вміст навпаки збільшувався: при дії цинку в 3,3 раза, свинцю – у 5,9 раза, дизельного палива – в 3,0 раза. Як бачимо, кількість білків зменшується в стільки разів, в скільки разів зростає рівень ліпідів і навпаки. Це свідчить про взаємозалежність цих процесів, а також про принцип компенсації, який характерний для клітин.

Аналогічні зміни були відмічені і при поверненні клітин до нормальних умов існування після семидобового токсичних навантаження. Так, для білків, рівень якого знаходиться все ж таки дещо нижче контролю, показники були відмічені такі: без цинку – в 1,75 раз (1-6 год.), в 1,3 раз (1-7 доба); без свинцю – в 2, 8 раз (1-6 год.), в 1,5 раз (1-7 доба); без дизельного палива – в 2,5 раз (1-6 год.), в 1,7 (1-7 доба). Для ліпідів, вміст яких дещо перевищував контрольні показники, характерні наступні результати: без цинку – в 2,3 раз (1-6 год.), в 1,3 раза (1-7 доба); без свинцю – 2,9 раз (1-6 год.), в 1,3 раза (1-7 доба); без дизельного палива – в 2,7 раз (1-6 год.), в 1,6 (1-7 доба).

Отже, дослідження процесів альтерації клітинних мембран, після токсичного навантаження, підтверджує концепцію ендомембранної системи про взаємодію мембранних компонентів, а також вказує на існування регуляторних взаємодій клітинних органел, які здійснюють системну відповідь клітини на зміни умов зовнішнього і внутрішнього середовища.

Література

1. Грубінко В. В. Липидные перестройки в клеточных мембранах водорослей при действии ионов цинка и свинца / В. В. Грубінко, К. В. Костюк // Матеріали Х Українського біохімічного з'їзду. Одеса, 13-17 вересня 2010 р. / Укр. біохім. журн. – 2010. – Т. 82, № 4 (додаток 1). – С. 24–25.

2. Грубінко В. В. Образование двойных концентрических мембран в клетках пресноводных водорослей при действии токсикантов / В. В. Грубінко, К. В. Костюк // Доп. НАН України. – 2011. – №3. – С. 149–157.

3. Грубінко В. В. Структурные изменения в клеточных мембранах водных растений при воздействии токсических веществ / В. В. Грубінко, К. В. Костюк // Гидробиол. журн. – 2011. – Т. 47, № 6. – С. 43–57.

4. Давыдова С. А. Тяжелые металлы как супертоксиканты XXI века: Учебн. пос. / С. А. Давыдова, В. И. Тагасов. – М.: МГУ, 2002. – 140 с.

5. Костюк К. В. Вплив іонів цинку, свинцю та дизельного палива на ліпідний склад мембран клітин водних рослин / К. В. Костюк, В. В. Грубінко // Вісник Львівського університету. Серія: Біологія. – 2010. – Вип. 54. – С. 257–264.

6. Костюк К. В. Изменение состава клеточных мембран водных растений при действии токсических веществ / К. В. Костюк, В. В. Грубінко // Гидробиол. журн. – 2012. – Т. 48, № 2. – С. 77 – 96.

7. Костюк К. В. Специфічні та неспецифічні реакції клітин гідробіонтів на дію важких металів та нафтопродуктів / К. В. Костюк, В. В. Грубінко // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту ім. Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. – 2011. – № 2 (47). – С. 35–43.

8. Костюк К. В. Структурна реакція клітинних мембран водних рослин на дію токсикантів / К. В. Костюк, В. В. Грубінко // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Серія: Біологія. – 2010. – № 4 (45). – С. 131–136.

9. Лакин Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин. – М.: Высш. школа, 1990. – 352 с.

10. Патологические анатомия и физиология / Ультраструктурная патология клетки [Електронний ресурс]. – Режим доступу:

<http://www.nedug.ru/library/doc.aspx?item=34099>.

11. Финдлей Дж. Биологические мембраны / Дж. Финдлей, У. Эванз. – М.: Мир, 1990. – 423 с.

12. Broda V. Metody histochemii roslinnej / V. Broda. – Warszawa: Panstwowy zaklad wydawnictw lekarskich, 1971. – 255 p.

13. Hokin L. E. Studies on the characterization of the sodium-potassium transport adenosine triphosphatase. IX. On the role of phospholipids in the enzyme / L. E. Hokin, T. D. Hexum // Arch. Biochem and Biophys. – 1992. – Vol. 151, № 2. – P. 58–61.

«БІОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ – 2014»: Збірник наукових праць V Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених і студентів. – Житомир: Вид-во ЖДУ ім. І.Франка, 2014. – С.337-340.

14. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. I. Rosebrough, A. L. Farr [et al.] // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193, № 1. – P. 265–275.