

6. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. В. В. Меньшикова. М., 1987.
7. Колб В. Г., Камышников В. С. Клиническая биохимия. Мн., 1976.
8. Меркулов Г. А. Курс патологической техники. М., 1964.
9. Волкова О. В., Елецкий Ю. К. Основы гистологии и гистологической техники. М., 1982.
10. Беленький М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Рига, 1959.

УДК 581.2.02

В. М. ЮРИН, А. И. СОКОЛИК

РАСТИТЕЛЬНАЯ КЛЕТКА КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕМБРАНОТРОПНОГО ДЕЙСТВИЯ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

In terms of changes in the stationary and kinetic bioelectrical parameters the xenobiotic membranotropic effect on characean cells is described. It is shown that non-specific effect is to be determined by modifying electrodiffusion properties of the cell membrane.

Как отмечалось ранее [1, 2], клетки харовых водорослей обладают высокочувствительной и дифференцированной реакцией на различные химические агенты. Механизмы многих мембранотропных эффектов могут в принципе оказаться близкими у широкого класса биологических мембран, что позволяет перенести качественные зависимости, установленные на клетках харовых водорослей, на иные типы клеток. Наглядным примером такого подхода служат работы японских исследователей [3–5], в которых изучалось влияние одорантов на биоэлектрическую реакцию клеток *Nitella*. На основании полученных данных авторы делают выводы об аналогии между молекулярными механизмами развития под действием одорантов реакции обонятельных клеток и клеток *Nitella*. Более того, в работе [6] выдвигаются экспериментальные доказательства о наличии в клетках харовых водорослей систем, имеющих определенное сходство с α - и β -адренорецепторами животной клетки. В этой связи представляется целесообразным, по крайней мере на предварительных этапах, рекомендовать использование в качестве тестового объекта клетки харовых водорослей в системах скрининга биологической активности химических соединений.

В настоящей работе были поставлены задачи исследовать мембранотропные эффекты ксенобиотиков (на примере некоторых антибиотиков) и провести интерпретацию полученных экспериментальных данных в рамках развиваемых нами подходов [1, 2, 7].

Материал и методика

Экспериментальный материал получен в опытах с харовой водорослью *Nitella flexilis*. В экспериментах использовались 2-я или 3-я интернодальные клетки водоросли, выращиваемые в лабораторных условиях. Для регистрации электрических характеристик применялась стандартная микроэлектродная техника [8]. Опыты проводились либо в искусственной прудовой воде (ИПВ) состава 10^{-4} М KCl, 10^{-3} М NaCl и 10^{-4} М CaCl₂, либо в безкальциевой среде (ИПВ–CaCl₂). Схема опытов и экспериментальные условия подробно описаны в работе [1].

Результаты и их обсуждение

Заметные сдвиги биоэлектрической реакции клетки вызывают в сравнительно низких концентрациях три соединения из числа испытывавшихся: 6-аминопенициллановая кислота, бензилпенициллин и тетрациклин, действие которых начинает проявляться в концентрациях 10^{-6} и 10^{-5} М. Во всех случаях наблюдается деполяризация мембраны и падение ее электрического сопротивления (R), причем в опытах с присутствием ионов Ca²⁺ в окружающей среде клетка более устойчива к действию указанных соединений. При отмыве клетки от бензилпенициллина (10^{-5} М) мембранный потенциал (V) продолжал падать, а сопротивление возрастало. Аналогичная реакция отмечена и для тетрациклина. Действие других антибиотиков начинает проявляться при более

высоких концентрациях. Так, ампициллин вызывал достоверные сдвиги потенциала и сопротивления лишь в концентрациях 10^{-4} – 10^{-3} М, причем, в отличие от приведенных выше случаев, наступает гиперполяризация мембраны и возрастание ее сопротивления.

Можно предполагать, что наблюдаемые сдвиги связаны с непосредственным действием ампициллина на плазмалемму, на что указывает сравнительно небольшое время развития реакции: порядка 5 мин после добавления препарата. Однако концентрация ампициллина 10^{-6} М, не вызывающая на протяжении часа заметных изменений величин V и R , при более длительном выдерживании обусловила появление сдвигов, по знаку совпадающих с теми, которые наблюдались при действии высоких концентраций. Трудно сказать, вызвано ли такое действие сорбцией ампициллина мембраной или его диффузией в клетку. Возможно, последнее более вероятно, поскольку отмыв клетки не приводит к восстановлению электрических параметров мембраны, а наблюдается деполяризация и небольшое уменьшение электрического сопротивления.

В наших опытах клетки *N. flexilis* оказались весьма устойчивыми к действию феноксиметилпенициллина, метициллина и оксациллина, которые оказывают влияние лишь в концентрациях 10^{-3} М и выше.

Весьма заметное влияние на клетку оказывает амфотерицин В, действие которого начинает проявляться в концентрациях 10^{-6} М и выше; временное развитие реакции клетки на амфотерицин В иллюстрирует рис. 1. Следует отметить, что при удалении агента из среды наблюдается тенденция возвращения регистрируемых величин к первоначальному уровню.

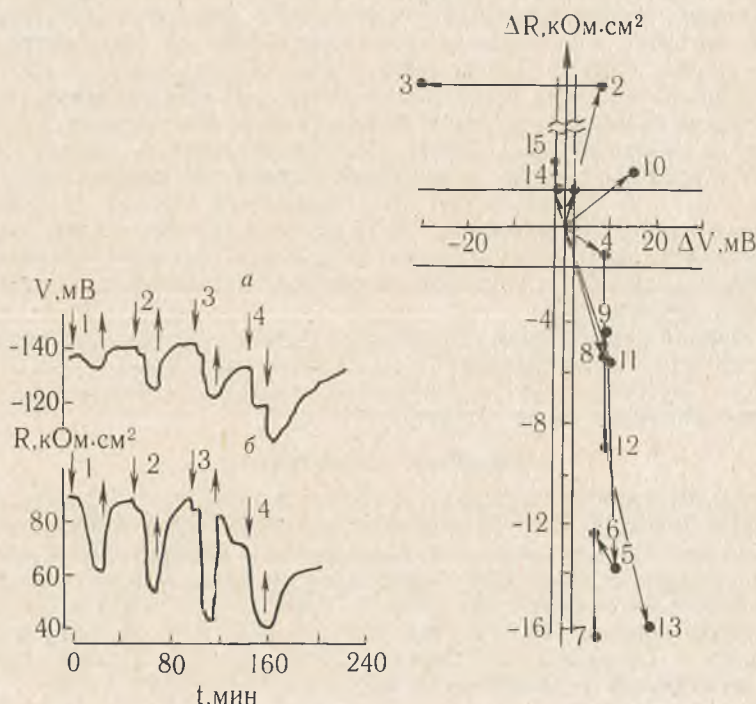


Рис. 1. Развитие биоэлектрической реакции клетки на действие амфотерицина В. Сдвиги РЭП (а) и электрического сопротивления (б): 1– $3,8 \cdot 10^{-6}$ М; 2– $1,1 \cdot 10^{-5}$ М; 3– $0,3 \cdot 10^{-4}$ М; 4– $0,9 \cdot 10^{-4}$ М. Стрелками (и) и (и) указаны моменты добавления и удаления вещества из окружающей среды

Рис. 2. Результаты тестирования некоторых антибиотиков в ИПВ- CaCl_2 , представленные на диаграмме (ΔV , ΔR): ампициллин, 10^{-5} М (1), 10^{-4} М (2), 10^{-3} М (3); 6-аминопенициллановая кислота, 10^{-6} М (4), 10^{-5} М (5), 10^{-4} М (6), 10^{-3} М (7); бензилпенициллин, 10^{-5} М (8), 10^{-4} М (9); оксациллин, 10^{-5} М (10); тетрациклин, 10^{-6} М (11), 10^{-5} М (12), 10^{-4} М (13); феноксиметилпенициллин, 10^{-4} М (14), 10^{-3} М (15)

Большинство испытывавшихся соединений вызывает ухудшение показателей селективности, обуславливая падение проницаемости мембра-

ны к ионам K^+ (P_K) или рост величины коэффициента проницаемости к другим ионам (P_i), а чаще одновременное появление обоих этих сдвигов; интерпретация изменений ионной проницаемости мембраны (ΔP_i) проведена в рамках феноменологической теории Гольдмана по данным, приведенным на рис. 2 [2]. По-видимому, это наиболее распространенный и, в известной мере, тривиальный эффект, обусловленный неспецифическими модификациями мембранных структур.

Характеристика кинетики мембранотропных эффектов антибиотиков

Соединение	Концентрация, М	Быстро изменяющийся коэффициент проницаемости	Знак параметров		Тип механизма
			ΔP_1	ΔP_2	
ИПВ	Развитие реакции				
Амфотерицин	$3,8 \cdot 10^{-6}$	P_K	—	+	E_+
	$1,1 \cdot 10^{-5}$	P_K	—	+	D_+
	$0,3 \cdot 10^{-4}$	.	.	.	A_+
Синтомицин	10^{-6}	P_j	+	—	C_+
	10^{-5}	.	—	—	B_-
Тетрациклин	$3 \cdot 10^{-5}$	.	.	.	A_+
	$5 \cdot 10^{-5}$	.	+	+	B_+
Эритромицин	$8,3 \cdot 10^{-5}$	P_j	+	—	F_+
ИПВ- $CaCl_2$					
Бензилпенициллин	10^{-4}	P_j	—	+	C_+
	10^{-3}	.	.	.	A_+
Тетрациклин	10^{-6}	P_j	+	—	C_+
	Отмыв				
Амфотерицин	$3,8 \cdot 10^{-6}$	.	.	.	G
	$1,1 \cdot 10^{-5}$	.	.	.	G
Синтомицин	10^{-6}	.	.	.	G
	10^{-5}	.	.	.	G
Тетрациклин	$3 \cdot 10^{-5}$	.	.	.	.
	$5 \cdot 10^{-5}$	.	.	.	G
ИПВ- $CaCl_2$					
Бензилпенициллин	10^{-4}	.	.	.	G
	10^{-3}	.	.	.	G
Тетрациклин	10^{-6}	P_K	—	—	J

Используя присмы, приведенные в работах [2, 7], можно охарактеризовать особенности временного развития мембранотропной реакции клетки на действие ксенобиотика (таблица). Среди изученных антибиотиков представлены основные типы механизмов развития реакции, причем изменение концентрации агента часто обуславливает переход от одного типа к другому. Так, амфотерицин Б в ИПВ в концентрации $3,8 \cdot 10^{-6}$ вызывает сдвиги, развивающиеся по механизму E_+ ; в силу различия констант равновесия ($K_j > K_K$) увеличение концентрации до $1,1 \cdot 10^{-5}$ М обуславливает изменение типа реакции (D_+), а при дальнейшем повышении концентрации ($0,3 \cdot 10^{-4}$ М) реакция протекает по схеме A_+ . Более быстрые изменения претерпевает величина P_K . Отмыв при всех концентрациях развивается по схеме G.

Увеличение концентрации синтомицина с 10^{-6} до 10^{-5} М также вызывает смену типа механизма — C_+ на B_- . При понижении концентрации более быстрой реакцией характеризуется величина P_j . Отмыв в обоих случаях протекает по механизму G.

Реакция клетки в ИПВ на тетрациклин в концентрации $3 \cdot 10^{-5}$ М протекает по механизму A_+ , а более высокая концентрация ($5 \cdot 10^{-5}$ М) действует по механизму B_+ ; по-видимому, $K_j \neq K_K$. В безкальциевой среде имеет место схема C_+ . Отмыв в обеих средах протекает по типу G или J.

Для эритромицина характерна переходная реакция с нулевым стационарным уровнем (схема F_+); за быстрым увеличением коэффициента P_j следует падение величины P_K .

Приведенные результаты показывают, что в сочетании с данными стационарных сдвигов величин V и R оказывается возможным отнесение кинетических характеристик наблюдаемых изменений ΔP_i к конкретным ионам.

С другой стороны, исследование условий квазиобратимости биоэлектрической реакции может являться характеристикой устойчивости клеточной мембраны к действию испытанных соединений.

Полученные данные указывают на то, что испытанные антибиотики оказывают неспецифическое действие, выражающееся в изменении электродиффузионных характеристик мембраны.

Таким образом, клетки харовых водорослей являются весьма удобным объектом для исследования механизмов химически индуцируемых мембранотропных эффектов. Эксперименты, включающие варьирование концентрации не только ксенобиотика, но также ионного состава и других факторов внешней среды, позволяют получить весьма детализированную картину наблюдаемых эффектов; благодаря значительным размерам клетки и прецизионности регистрирующих приемов обеспечивается весьма высокая (по критериям, принятым для биологических исследований) точность измерения.

Список литературы

1. Юрин В. М., Иванченко В. М., Галактионов С. Г. Регуляция функций мембран растительных клеток. Мн., 1979.
2. Юрин В. М. Электрофизиологический анализ основных закономерностей взаимодействия органических соединений с мембранами растительной клетки: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Мн., 1980.
3. Ueda T., Kobatake Y. // Jaur. Membrane Biol. 1977. V. 34. N 4. P. 351.
4. Ueda T., Kurihara K., Kobatake Y. // Journ. Membrane Biol. 1975—76. V. 25. N 3-4. P. 271.
5. Ueda T. et al. // Nature. 1975. V. 253. N 5493. P. 629.
6. Ониани Д. А. Физико-химические механизмы регуляции циклоза растительной клетки: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Тбилиси, 1987.
7. Юрин В. М., Соколик А. И., Кудряшов А. П. Регуляция ионного транспорта через мембраны растительных клеток. Мн., 1991.
8. Юрин В. М., Гончарик М. Н., Галактионов С. Г. Перенос ионов через мембраны растительных клеток. Мн., 1977.

УДК 574.457(28)

В. А. БАБИЦКИЙ

МЕЙОБЕНТОС ТРЕХ ОЗЕР ГОМЕЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ: ПРЕДВАРИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ДИНАМИКИ, СОДЕРЖАНИЯ РАДИОНУКЛИДОВ И ИХ ПОТОКА

In the article the dynamics of meiobenthic animals (body length up to 3—3,5 mm), content of radionuclides (^{137}Cs) and its flow in the Gomel district's lakes are discussed. The attempt is undertaken to estimate the content of nuclides in the stock of dry biomass for the areas of the lakes being investigated.

Авария на ЧАЭС привела к широкомасштабному загрязнению радионуклидами земельных и водных угодий. Выпаив на поверхность водоемов, радиоактивные осадки в результате жизнедеятельности биоты распределились по различным звеньям пищевых сетей и включились в круговорот вещества в этих экосистемах. Таким образом, одним из основных механизмов рециклинга радионуклидов в водоемах является их вхождение в пищевые сети и накопление в отдельных звеньях этих сетей. В водоемах, в том числе и загрязненных радионуклидами, основная масса донных животных, потребляя первичную продукцию планктона и перифитона, а также образовавшийся в результате ее трансформации детрит, принимает участие в переносе этих нуклидов в донные осадки. С другой стороны, аккумулированные в живой массе зообентоса радиоактивные вещества в результате его потребления рыбой поступают на более высокие трофические уровни, вплоть до человека.

Цель настоящей работы — изучить количественное развитие донных мейобентических животных (размер тела не более 3—3,5 мм) и провести