

УДК 543.42: 577.115.7

РОЛЬ ПРОЦЕССОВ ДЕГИДРАТАЦИИ В МЕХАНИЗМЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ МАЛЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ПИРИДИНА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ НА КЛЕТОЧНЫЕ МЕМБРАНЫ

В.П. Лозовой, А.В. Бычко, А.Ю. Артеменко

Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко
Национальный медицинский университет им. О.О. Богомольца

Вступление

Биологически активные вещества (БАВ) способны оказывать воздействие на живые организмы на разных уровнях их организации, от молекулярного и мембранного до организма в целом, в малых (10^{-5} - 10^{-10} М) и даже сверхмалых концентрациях. Для широкого спектра БАВ зависимость "доза/эффект" имеет немонотонный и, зачастую, полимодальный характер. В то же время, анализ данных [1, 3] свидетельствует о том, что существует ряд общих закономерностей в механизмах их воздействия вне зависимости от химической природы. Это свидетельствует о наличии для них общей мишени - липидного матрикса клеточных и субклеточных мембран, структурно-функциональное состояние которого прямо или опосредованно взаимосвязано с функционированием всех мембранных систем клетки, и модификация которого является одной из отправных точек в механизме реализации всего разнообразия биологических эффектов БАВ на разных уровнях организации живого организма [6]. Однако, несмотря на то, что пути воздействия малых и сверхмалых концентраций БАВ являются объектом пристального внимания многих научно-исследовательских групп (в том числе под руководством проф. В.К. Рыбальченко, создателя гипотезы "липидного пути" [8]), общий механизм данного явления остается до конца не выясненным.

Известно, что липидный матрикс клеточной мембранны обладает определенным структурным сопротивлением к проникновению молекул. (ионов) большинства экзогенных химических

агентов. При увеличении концентрации агента это сопротивление уменьшается, а при достижении критических значений мембрана уже не может служить для него эффективным препятствием [5]. Поэтому изучение проблемы взаимодействия БАВ с липидным матриксом во всем диапазоне концентраций, на наш взгляд, требует учитывать три основные момента. Во-первых, концентрация химического агента в примембранном пространстве (без учета возможных ковалентных взаимодействий с молекулами липидов) прямо влияет на его проникающую способность, а значит и степень структурных и физико-химических воздействий, накладываемых на молекулу агента контактом с примембранным раствором и непосредственно липидным матриксом. Во-вторых, попадание молекул БАВ в зону относительно высокой зарядовой и структурной плотности может приводить к комплексообразованию и формированию ди- или тримеров. В-третьих, возможность взаимодействия молекул БАВ с собственной сольватной оболочкой (химическим окружением) с последующим образованием гидратных структур (или Н-комплексов). Иначе, необходимо рассматривать механизм взаимодействия с мембранный уже не индивидуального агента, а его комплексов с учетом всех моментов, представленных в пункте первом. Кроме того, комплексообразование (гидратация) способна влиять на физико-химические свойства исследуемого БАВ и, таким образом, на механизм взаимодействия с липидным матриксом клеточной мембранны.

Пиридин является структурно-функциональной составляющей большого количества природных и синтетических БАВ широкого диапазона воздействия на живые организмы. Низкая видоспецифичность такого воздействия для некоторых синтетических производных пиридина [7] предполагает существование универсального пускового механизма реализации их биологической активности. Одним из параметров, определяющих физико-химическое состояние пиридина и его N-окисленных производных [5], является степень гидратации молекулы в водном растворе. Известно, что пиридин (Руг) может существовать в виде двух взаимно переходящих форм (комплекс $[РугH^+]OH(H_2O)_{n+1}$ и $Руг(H_2O)_n$, где $n = 1, 2, 3\dots$). Соот-

ношение этих форм в растворе определяется степенью гидратации пиридина [11]. Предполагается, что высокая плотность зарядов на поверхности липидной мембраны и структурные ограничения, накладываемые на его молекулу при непосредственном контакте с ней [12], должны способствовать частичной ($\text{Руг}(\text{H}_2\text{O})_{n,x}$) или полной дегидратации пиридина и его производных в результате разрушения водородных связей, стабилизирующих гидратную структуру (рис.1).

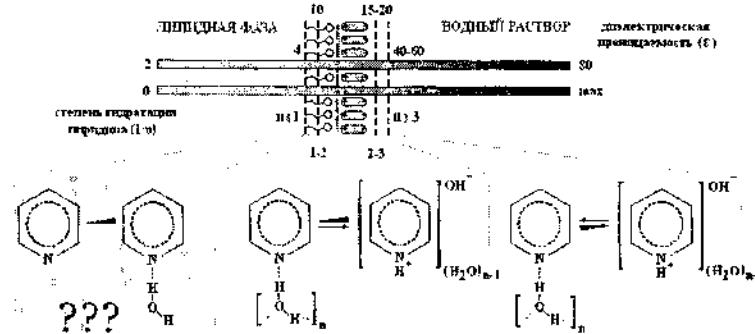


Рис.1. Схематическое отображение возможных изменений физико-химического состояния молекулы пиридина при переходе из водного раствора в липидную fazу.

Согласно данным литературы наиболее устойчивой гидратной структурой пиридина является комплекс $\text{Руг}(\text{H}_2\text{O})_2$ [11]. Аналогичные рассуждения можно применить к N-окисленным производным пиридинина, которые так же способны образовывать гидратные или водородные комплексы [7]. В данном исследовании нами рассмотрены следующие производные пиридинина: ивин (2,6-диметил-N-оксидпиридинина, регулятор роста растений), потейтин (N-комплекс ивина и янтарной кислоты, регулятор роста растений) и пиридоксин.

Поэтому, опираясь на результаты исследований, проведенных под руководством В.К.Рыбальченко, по влиянию пиридинина и его производных на мембранные ферменты [9, 10], целью данной работы является изучение возможной роли процесса дегидратации в механизме воздействия БАВ на липидный матрикс клеточных мембран в диапазоне малых концентраций.

Материалы и методы исследования

Таблица 1

Данные по реагентам, использованным в исследовании

Препаратор	Форма	Степень чистоты	Производитель
Пиридин	вбс.	х.д.ч.	Sigma, USA
2,6-диметилпиридин-N-оксид (ивин)	50% p-p (H_2O)**	х.д.ч.	синтез*
Пиридоксина гидрохлорид	5% p-p (H_2O)**	х.д.ч.	«Дарница», Украина
2,6-диметилпиридин-N-оксид / янтарная к-та (потейтин)	5% p-p (H_2O)**	х.д.ч.	синтез*
Леципин-стандарт	10% p-p (этанол)	х.д.ч.	«РеаХим», Украина
KCl	кристалл.	х.д.ч.	«РеаХим», Украина

Примечание: * - Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины; ** - для приготовления растворов использовали бидистилированную воду.

В исследовании был использован метод инфракрасной спектроскопии сухих пленок фосфатидилхоллина (ФХ). Образцы ФХ отбирались из системы двух взаимно несмешивающихся сред АБ через 15 мин после их контакта по схеме (рис.2, метод №1):

среда А - 10% p-p фосфатидилхоллин (в этаноле);

среда Б₀ - p-p 100 mM KCl;

среда Б₁ - p-p пиридина (10^9 , 10^6 , 10^5 М) в 100 mM KCl;

среда Б₂ - p-p ивина (10^9 , 10^3 , 10^2 М) в 100 mM KCl;

среда Б₃ - p-p пиридоксина (10^9 , 10^5 М) в 100 mM KCl;

среда Б₄ - p-p потейтина (10^9 , 10^5 М) в 100 mM KCl.

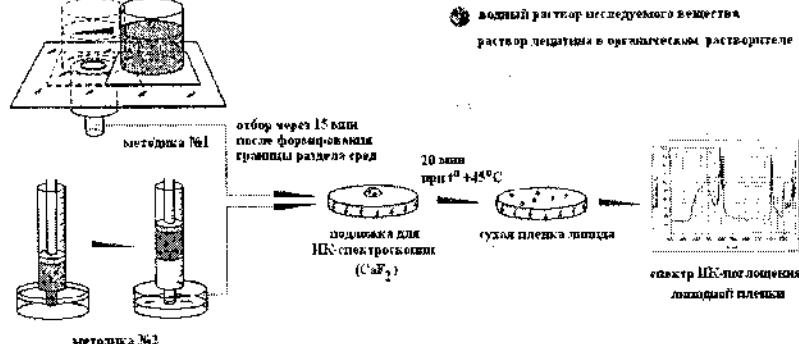


Рис.2. Общая схема метода ИК-спектроскопии сухих пленок ФХ.

Образец высушивали в мягких условиях (20 мин при $t+45^{\circ}\text{C}$) на CaF_2 -подложке (окно прозрачности CaF_2 , 4500-730 cm^{-1}) без контроля влажности. Запись спектров инфракрасного (ИК) поглощения проводили в диапазоне 4200-1200 cm^{-1} против воздуха на ИКС-29. Данные представлялись в виде диаграмм анализа разностных спектров $I^X(k) - I^0(k)$ (где k - волновое число, cm^{-1} ; $I^0(k)$ - спектр сухой пленки ФХ, отобранного из системы AB_0 (контроль)) по характеристическим частотам колебаний, рис.3.

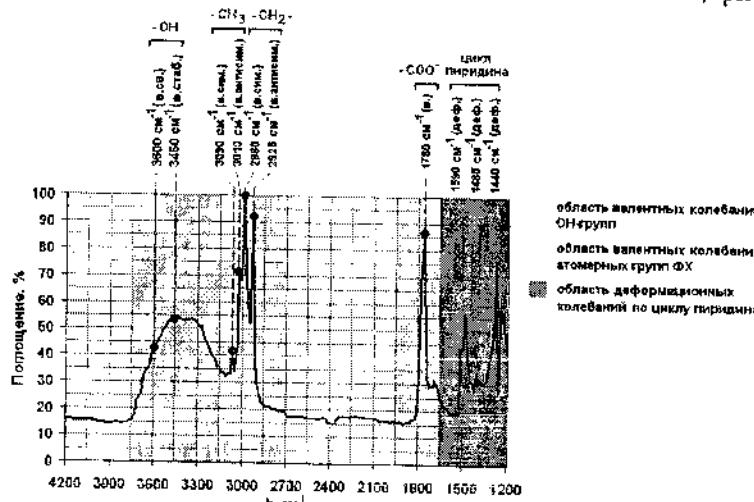
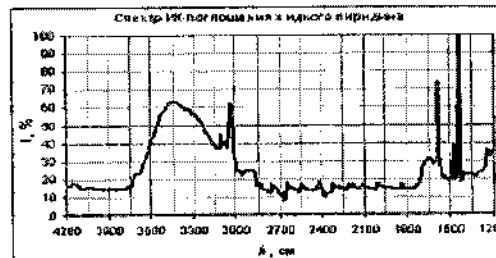


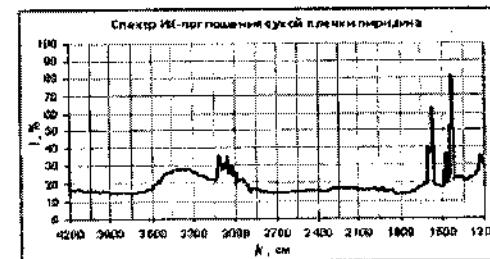
Рис.3. Пример идентификации элементов тонкой структуры ИК-спектра сухой пленки ФХ, модифицированной пиридоксином в концентрации 10^{-9} M .

Предварительное высушивание препарата пиридинина приводило к значительному снижению содержания в образце побочных продуктов синтеза пиридинина (H_2O и NH_3 , содержание которых в препарате по данным производителя изначально составляло - 0.1-0.05%), что регистрировалось по изменению в спектре ИК-поглощения пиридинина (рис. 4).

Серия пиков поглощения, не претерпевшая при этом заметных изменений и соотнесенная нами к внеплоскостным колебаниям по циклу пиридинина, и была использована для дальнейшей идентификации пиридинина и его производных в сухих образцах ФХ.



А



Б

Рис.4. Спектры ИК-поглощения препарата пиридин (А) и его сухой пленки (Б).

Полученные результаты и их обсуждение

Основным заданием проведенных нами исследований является ответ на следующие вопросы: а) возможность преодоления пиридином и его производными границы раздела фаз (модель мембранных барьера) при начальной их концентрации в "примембранных" растворе 10^{-9} и 10^{-5} M (10^{-3} M для ивина); б) степень их дегидратации при контакте с границей раздела "липид-раствор электролита" и последующего проникновения в липидную фазу; в) влияние проникающих в липидную фазу форм исследованных соединений на частоту валентных колебаний атомарных групп молекул липида. В рамках изложенного во вступлении материала и результатов предыдущих исследований сравнение поведения гидратированных форм пиридинина и его производных в количествах, соответствующих практически разным концам диапазона малых концентраций, позволит оценить роль процессов дегидратации в механизме воздействия на липидный матрикс клеточной мембраны.

Общие результаты сравнительного анализа изменений интенсивности ИК-поглощения сухих пленок ФХ при модификации пиридином, ивином, пиридоксином и потейтином по характеристическим частотам колебаний представлены на рис.5.

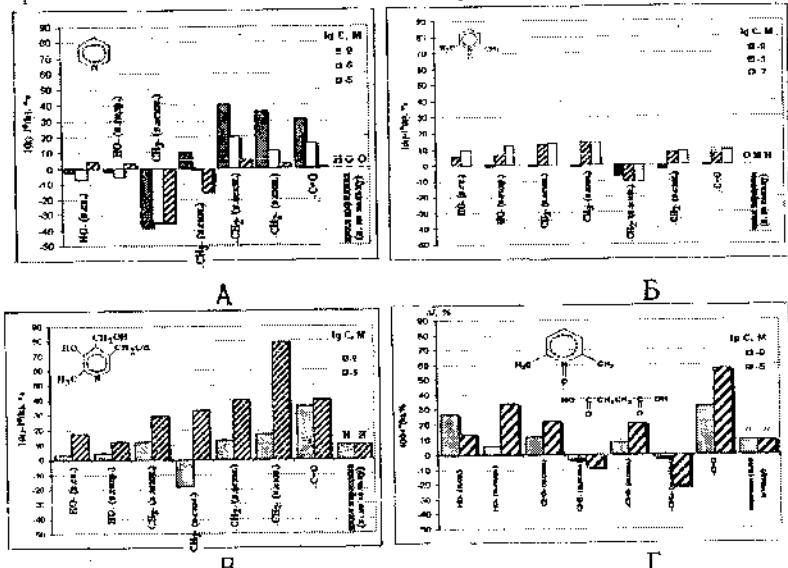


Рис. 5. Анализ разностных спектров ИК-поглощения по характеристическим частотам колебаний в сухих пленках ФХ, модифицированных:
А - пиридином в концентрации 10^{-9} , 10^{-6} и 10^{-5} М;
Б - ивином в концентрации 10^{-9} , 10^{-3} и 10^{-2} М;
В - пиридоксином в концентрации 10^{-9} и 10^{-5} М;
Г - потейтином в концентрации 10^{-9} и 10^{-5} М.
н - достоверное наличие характеристических полос пиридина.
0 - недостоверное наличие характеристических полос пиридина.

Из приведенных данных (рис.5, А) видно, что пиридин в концентрации 10^{-9} М проникает в липидную фазу модельной системы "липид/р-р электролита" в полностью дегидратированном состоянии, о чем свидетельствует снижение интенсивности поглощения в диапазоне частот валентных колебаний ОН-групп воды. Молекулы пиридина вступают во взаимодействие с остатками жирных кислот ФХ преимущественно по концевым CH_3 -сегментам. При этом, значительное снижение интенсивности поглощения ($-38,3\%$) $\nu_{\text{васк.}}(-\text{CH}_3)$ на фоне роста интенсивности ($+10,1\%$

$\%) \nu_{\text{васк.}}(-\text{CH}_3)$ может свидетельствовать об увеличении плотности их упаковки. Экстраполируя общую картину изменений интенсивностей поглощения по характеристическим частотам колебаний атомарных групп ФХ на липидный бислой, можно предположить, что пиридин проникает в гидрофобную зону и локализуется преимущественно в зоне концевых сегментов жирнокислотных остатков ФХ (зоне "метиленового газа") и инициирует увеличение упорядоченности упаковки молекул липида. Увеличение начальной концентрации пиридина до 10^{-5} М приводит к увеличению интенсивности $\nu(-\text{OH}(\text{H}_2\text{O}))$. Хотя мы не можем достоверно утверждать факт проникновения в липидную фазу молекул пиридина, однако предполагаем, что изменения в спектре поглощения $\nu(-\text{OH}(\text{H}_2\text{O}))$ и атомарных групп ФХ могут быть вызваны присутствием в липидной фазе гидратных комплексов пиридина. Контакт таких комплексов с остатками жирнокислотных цепей ФХ в значительной степени нивелирует "структурирующий" эффект влияния дегидратированного пиридина, так же проникающего в липидную фазу в следовых количествах. Можно предполагать, что на уровне липидной мембранны гидратные комплексы пиридина могут приводить к дезорганизации упаковки молекул липида, тем большей, чем большее их удельное содержание относительно дегидратированных форм. Так, например, модификация липидной фазы пиридином в концентрации 10^{-6} М инициирует эффекты, промежуточные между воздействием дегидратированного пиридина и его гидратных комплексов.

Предположение о необходимости рассмотрения эффекта взаимодействия пиридина с липидной фазой как интегральной суммы эффектов взаимодействия его гидратированных и дегидратированных форм находит подтверждение в экспериментах с его производными. Так, модификация липидной фазы модельной системы ивином в концентрации 10^{-9} М не влияет на интенсивность поглощения $\nu(\text{H}_2\text{O}_{\text{св.}})$ и $\nu(\text{H}_2\text{O}_{\text{тадр.}})$ в сухой пленке ФХ, что свидетельствует о наличии в ней полностью дегидратированного ивина (рис.5, Б). При этом достоверное уменьшение интенсивности $\nu_{\text{в.}}(-\text{CH}_2)$ может свидетельствовать о взаимодействии молекул ивина с остатками жирных кислот ФХ по CH_2 -сегментам. В ранних исследованиях на бимолеку-

лярных липидных мембранах и липосомах [2, 4] было показано, что ивин в данной концентрации приводит к уплотнению упаковки молекул ФХ в бислое и сдвигу точки фазового перехода T_c (ФХ) в сторону кристаллических форм. Увеличение начальной концентрации ивина до 10^{-3} - 10^{-2} М приводит к появлению в пленке гидратированных форм. Об их наличии в липидной фазе свидетельствует также наличие непрерывного поглощения в диапазоне 2800-1800 cm^{-1} - отображение миграции избыточного протона в гидратной структуре ивина [7]. При этом, хотя локализация его молекул остается неизменной, но характер воздействия спектр поглощения ФХ претерпевает значительные изменения. Как и результаты [2, 4] они свидетельствуют, что гидратированный ивин оказывает дестабилизирующее влияние на упаковку молекул ФХ в липидных мембранах.

Модификация липидной фазы пиридоксином в концентрации 10^{-9} М ведет к незначительному увеличению интенсивности поглощения в диапазоне $\nu(\text{H}_2\text{O}_{\text{св}})$ 2,3% и $\nu(\text{H}_2\text{O}_{\text{гидр}})$ 3,9%, что может свидетельствовать о проникновении в фазу так же гидратированного пиридоксина в следовых количествах (рис.5, В). Увеличение концентрации пиридоксина до 10^{-5} М так же приводит к увеличению интенсивности сигнала воды - $\nu(\text{H}_2\text{O}_{\text{св}})$ 18,2% и $\nu(\text{H}_2\text{O}_{\text{гидр}})$ 12,1% соответственно, что говорит о росте доли его гидратированных форм в пленке по отношению к дегидратированным. Примечательно, что зафиксированное соотношение интенсивностей поглощения OH-групп $\text{H}_2\text{O}_{\text{своб}}/\text{H}_2\text{O}_{\text{гидр}}$ $\approx 4:3$ для пиридоксина и $\approx 2:1$ для пиридинина, в отличие от ивина $\approx 1:2$, может свидетельствовать об относительной нестойкости их гидратированных форм в липидной фазе. Анализ по характеристическим частотам колебаний атомарных групп ФХ показал, что воздействие гидратированного/дегидратированного пиридоксина принципиально не отличается при концентрациях 10^{-9} и 10^{-5} М, а его интенсивность носит дозозависимый характер. Исключением является изменение интенсивности $\nu(-\text{CH}_3_{\text{васм}})$. К сожалению, на основе наличных данных пока нельзя дать полную интерпретацию механизма влияния пиридоксина на уровне липидной мембранны. Однако, можно предположить, что пиридоксин оказывает дестабилизирующее влияние на упаковку молекул липида.

Наиболее показательными в рамках цели проведенных исследований является воздействие на липидную фазу потейтина (рис.5, Г). При модификации липидной фазы потейтином в концентрации 10^{-9} М интенсивность поглощения $\nu(\text{H}_2\text{O}_{\text{св}})$ возрастает на 26,1%, в то время как $\nu(\text{H}_2\text{O}_{\text{гидр}})$ - всего на 6,4%. Показатель $\text{H}_2\text{O}_{\text{своб}}/\text{H}_2\text{O}_{\text{гидр}}$ при этом составляет $\approx 4:1$. Это может свидетельствовать о том, что при контакте с границей раздела "липид/р-р электролита" водородный комплекс ивина/янтарная кислота практически полностью распадается на составляющие части. При этом ивин, взаимодействуя с молекулами воды, переходит в гидратированную форму, проникает в липидную фазу, где он переходит в негидратированное состояние. Полученные данные на данном этапе исследований не позволяют с уверенностью утверждать способствует ли янтарная кислота проникновению гидратированного ивина или рост сигнала $\nu(\text{H}_2\text{O}_{\text{св}})$ связан также с проникновением в липидную фазу остатков ее сольватной оболочки. При увеличении начальной концентрации потейтина до 10^{-5} М наблюдается обратная ситуация - рост интенсивности поглощения $\nu(\text{H}_2\text{O}_{\text{св}})$ составляет всего 6,3%, в то время как для $\nu(\text{H}_2\text{O}_{\text{гидр}})$ - 34,1%. Полагаем, что в данном случае водородный комплекс ивина/янтарная к-та практически не претерпевает изменений при переходе в липидную фазу, а рост интенсивности сигнала $\nu(\text{H}_2\text{O}_{\text{гидр}})$ объясняется, в основном, поглощением Н-связи - С=О ... НО [12]. Аналогично пиридоксину, модификация потейтином липидной фазы в концентрации 10^{-9} и 10^{-5} М ведет к однотипным дозозависимым изменениям в спектре поглощения атомарных групп ФХ, которые можно интерпретировать как дестабилизацию углеводородных цепей молекул ФХ.

Выводы

На примере пиридинина и его производных показано, что начальная концентрация препарата в "примембранным" растворе прямо влияет на степень его дегидратации при контакте с границей раздела "липид/р-р электролита". При концентрации 10^{-9} М молекула препарата практически полностью теряет свою гидратную оболочку (в случае потейтина, происходит деструкция Н-комплекса). Соответственно, зафиксированные в эксперименте эффекты воздействия на липидную фазу модельной системы опи-

сываются влиянием непосредственно молекул препарата (индивидуальными компонентами комплекса). В больших концентрациях (10^{-5} М и выше) в липидную фазу способны проникать также гидратированные формы пиритина и его производных (для потейтина, недеструктурированные Н-комплексы). На примере пиритина, ивина и пиритоксина показано, что на молекулярном уровне их воздействия на липидную фазу в гидратированном и дегидратированном состоянии носит полимодальный характер. При этом общий эффект воздействия исследованных препаратов на липидную фазу определяется как интегральная сумма вкладов эффектов его дегидратированных и гидратированных форм и зависит от их удельного соотношения. Предполагаем, что на уровне клеточной мембраны инициация отличных по характеру и интенсивности эффектов воздействия на структурно-функциональное состояние липидного матрикса может служить причиной развития неидентичных клеточных ответов. Поэтому, считаем, что дозозависимая дегидратация БАВ является одним из базисных механизмов феномена малых концентраций.

Література

1. Ашмарин И. К вопросу о развитии проблемы эффективности сверхмалых доз биологически активных соединений / И.П. Ашмарин, Е.П. Каразеева, Т.В. Лелекова // Российский химический журнал. - 1999. - Т. XLIII, № 5. - С.21-27.
2. Бичко А.В. Комбінований вплив N-оксид-2,6-диметил-піридину та 2,4-дихлорфеноксицтової кислоти на електричні характеристики біомолекулярних ліпідних мембрани / А.В. Бичко, В.К. Рибальченко // ДАН України. - 2005. - № 4. - С.167-167-169.
3. Бурлакова Е.Б. Особенности действия сверхмалых доз биологически активных веществ и физических факторов низкой интенсивности / Е.Б. Бурлакова // Российский химический журнал. - 1999. - Т. XLIII, № 5. - С. 3-11.
4. Бичко А.В. Эволюция гидратных структур ивина при его взаимодействии с поверхностью липидной мембрани / А.В. Бичко, Ю.В. Семенов, В.К. Рыбальченко // ДАН України. - 2005. - № 4(14). - С. 23-26.

5. Ивков В.Г. Динамическая структура липидного бислоя / В.Г.Ивков, Г.Н.Берестовский. - М. : Наука, 1981. - 256 с.
6. Курчий Б.А. Мембранные аспекты механизма действия биорегуляторов небелковой природы / Б.А. Курчий. - Киев: ИФРИГ, 1988. - 43 с.
7. Пономаренко С.П. Регуляторы роста растений. Монографія. / С.П. Пономаренко. - Київ: Інтертехнодрук, 2003. - 219 с.
8. Рибальченко В.К. "Липидная" гипотеза связывания окситоцина с плазматической мембраной гладкомышечной клетки / В.К.Рибальченко//ДАН СССР. - 1990. - Т.314, № 4. - С. 984-987.
9. Рибальченко В.К. Влияние гербицида 2,4-дихлорфеноксусной кислоты, сукцинат-натрия и их совместного применения на Mg²⁺, Ca²⁺-АТФазную активность плазматической мембрани гепатоцитов / В.К. Рибальченко, В.П. Лозовий, С.В. Яблонська, О.М. Філінська // Доповіді НАНУ. - 2008. - № 8. - С.174-176.
10. Рибальченко В.К. Вплив піридину на активність мембраноз'язаних ферментів клітин печінки / В.К. Рибальченко, В.П. Лозовий, С.В. Яблонська, О.М. Філінська // Доп. НАНУ. - 2008. - № 6. - С. 173-177.
11. Цундель Г. Гидратация и межмолекулярное взаимодействие. Исследование полиэлектролитов методом инфракрасной спектроскопии / Г. Цундель. - М.: Мир, 1972.- 404 с.
12. Пономаренко С.П. Электрические и спектральные свойства комплексов N-окисленных производных пиритина с янтарной кислотой / С.П. Пономаренко, П.Г. Дульнев, Ю.Я. Боровиков, Т.Е. Сивачек, В.П. Маковецкий, В.П. Кухарь // Укр.Хим.Журнал. - 2003. - Т.69, № 9. - С. 7-11.

Резюме

Лозовой В.П., Бичко А.В., Артеменко А.Ю. Роль процессов дегидратации в механизме воздействия малых концентраций пиритина и его производных на клеточные мембрани.

Методом инфракрасной спектроскопии сухих пленок фосфатидилхоллина (ФХ) был исследован механизм дегидратации пиритина и его производных при контакте с границей раздела "липид/р-р электролита" в крайних точках диапазона малых концентраций (10^{-9} , 10^{-5} М). Показано, что степень дегидратации исследованных соединений прямо

зависит от их начальной концентрации. Показано, что эффекты воздействия на спектральные характеристики молекул ФХ дегидратированных и гидратированных форм пиридина и его производных имеют полимодальный характер и зависят от их соотношения в липидной фазе. На основе полученных данных сделано предположение о роли процесса дозозависимой дегидратации в реализации феномена "малых доз" биологически активных веществ.

Ключевые слова: дегидратация, пиридин, производные пиридина, фосфатидилхоллин, сухие пленки, инфракрасная спектроскопия.

Резюме

Лозовий В.П., Бичко А.В., Артеменко О.Ю. Роль процесів дегідратації в механізмі впливу малих концентрацій піридину та його похідних на клітинні мембрани.

Методом інфрачервоної спектроскопії сухих плівок фосфатидилхоліну (ФХ) був досліджений механізм дегідратації піридину та його похідних при контакті з межею розподілу "ліпід/р-н електроліту" в крайових точках діапазону малих концентрацій (10^9 , 10^5 М). Показано, що ступінь дегідратації досліджених сполук прямо залежить від їх початкової концентрації. Показано, що ефекти впливу на спектральні характеристики молекул ФХ дегідратованих та гідратованих форм піридину та його похідних мають полімодальний характер і залежать від їх співвідношення в ліпідній фазі. На основі отриманих даних зроблено припущення щодо ролі процеса дегідратації в реалізації феномена "малих доз" біологічно активних речовин.

Ключові слова: дегідратація, піридин, похідні піридину, фосфатидилхолін, сухі плівки, інфрачервона спектроскопія.

Summary

Lozovy V.P., Bychko A.V., Artemenko O.Yu. *The role of dehydration process in the mechanism of pyridine and its derivatives low concentrations action on the cell membrane.*

The mechanism of pyridine and its derivatives dehydration in contact with the boundary between "lipid/electrolyte sol." in the extreme points of the low concentrations range (10^9 , 10^5 M) was investigated by phosphatidylcholine (PC) dry films infrared spectroscopy. The compounds dehydration degree is directly depends on their initial concentration. The dependence from their ratio in the lipid phase and polymodal character of the effects of dehydrated and hydrated forms of pyridine and its derivatives on PC spectral characteristics was shown. According to the data the role of dose-limiting process of dehydration in the phenomenon of biologically active substances low doses realization was assumed.

Key words: dehydration, pyridine, pyridine derivatives, phosphatidylcholine, dry films, IR-spectroscopy.

Рецензент: д.біол.н., проф. Б.П. Романюк

УДК 577.24: 001.8: 664.872

ОЦІНКА ЖИТТЄЗДАТНОСТІ ДРІЖДЖОВОЇ КУЛЬТУРИ В ПРОЦЕСІ СТАРІННЯ ПОПУЛЯЦІЇ ПРИ ДІЇ ІНДУКТОРА АПОПТОЗУ

О.О.Парілова, Д.В.Ватліцов, Т.З.Богдан, К.М.Ігрунова,
О.М.Дуган

Національний технічний університет України "КПІ"
Національна медична академія післядипломної освіти
імені П.Л. Шупика

Вступ

Дані літератури свідчать про те, що дріжджі здатні до запуску механізму запрограмованої клітинної загибелі з різних вагомих причин [1,2]. Зокрема, для *Saccharomyces cerevisiae* дослідженими індукторами апоптозу є α -фактор (статевий феромон), оцтова кислота, амоній, АФК, підвищена температура, старіння, вірусні токсини, K1 та K2B, зигоцин, азид натрію та підвищена експресія генів проапоптичних білків севашів, делеція гена гістонового шаперону, пошкодження ядерної ДНК тощо [1]. Передчасна смерть старих та ушкоджених клітин протягом життєвого циклу та під час голодування збільшує шанси решти популяції вижити та утворити спори, таким чином зростає ймовірність, що клон продовжуватиме існувати [2]. Отже, альтруїстична клітинна загиbelь через активацію високо консервативного, самодеструктивного, ферментативного механізму надає перевагу для популяції, розширюючи її генетичне різноманіття [1].

Зміни в мітохондріальному мембраниному потенціалі використовують як маркер мітохондріальної активності та життєздатності клітин, а також як один з критеріїв, що вказує на активацію процесу апоптозу в клітині [3]. Мітохондріальна мембрана permeabilizaciia розглядається як безповоротна точка в численних моделях програмованої клітинної загибелі [3, 4, 5]. Дійсно, мітохондрії обумовлюють внутрішній шлях апоптозу, а також відіграють ключову роль в зовнішньому механізмі