

## БІОЛОГІЧНІ ЕФЕКТИ 15-КРАУН-5 ПРИ ДІЇ НА СТАН МЕМБРАН КЛІТИН ЩУРІВ У ПІДГОСТРОМУ ЕКСПЕРИМЕНТІ

Харківський національний педагогічний університет  
імені Г.С. Сковороди (м. Харків)

royalspear@ukr.net

Робота є фрагментом НДР «Механізм біологічної дії ксенобіотиків на організм теплокровних тварин» (№ державної реєстрації 0111U011921).

**Вступ.** Отримані дані про посилене утворення активних форм кисню в організмі експериментальних тварин за умов впливу 15-краун-5 дають підставу припустити, що у цих тварин можуть спостерігатися зміни у фракційному складі мембран, порушення їхньої проникливості та функціональної активності [6].

Біологічні мембрани відіграють значну роль у збереженні гомеостазу організму. Плазматичні мембрани відокремлюють одну клітину від іншої, забезпечуючи клітинну індивідуальність, мають вибірково проникливість і діють як бар'єр, який підтримує різницю у складі внутрішньоклітинного та позаклітинного середовища. Селективна проникливість мембран забезпечується специфічними каналами для іонів та субстратів, а також с рецепторами для гормонів та нейромедіаторів. Біологічні мембрани формують органели клітини, забезпечуючи компартменталізацію клітинних метаболічних процесів. Від структурно-функціонального стану біологічних мембран в значній мірі залежить ефективність нейрогуморальної регуляції, в них локалізовані рецептори до медіаторів та гормонів, ферментні системи, що приймають участь у метаболізмі вторинних месенджерів, білки, що формують іонні канали [1,9].

**Мета дослідження.** Вивчити вплив 15-краун-5 на стан біологічних мембран клітин організму щурів у підгострому експерименті.

**Об'єкт і методи дослідження.** Експеримент проводили на білих щурах-самцях лінії Вістар тримісячного віку. 15-краун-5 вводили тваринам щоденно у вигляді водного розчину через зонд у шлунок протягом одного місяця у  $1/100 LD_{50}$ , що становило 13,5 мг/кг. Контрольні тварини отримували водопровідну воду. По закінченню підгострого експерименту щурів обох груп забивали декапітацією гільйотинним ножом, попередньо анестезуючи тіопенталом натрію (50 мг/кг внутрішньопорожнинно) [7].

Експерименти виконані з дотриманням вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей, (Страсбург, 1986) та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006).

При вивченні фосфоліпідного складу мембран еритроцитів використовували еритроцити, відмиті від плазми 0,9% розчином NaCl при 3-4-х кратному центрифугуванні. Наважку печінки гомогенізували в 0,9% розчині NaCl у ручному гомогенізаторі. Екстра-

кцію ліпідів проводили за методом Кейтса [5]. Випаровування екстрактів ліпідів проводили у потоці рідкого азоту. Для розділення індивідуальних фосфоліпідів на фракції використовували метод двомірної мікротонкошарової хроматографії [21]. Ідентифікацію фосфоліпідів проводили за стандартними розчинами фосфоліпідів і за допомогою специфічних реакцій на фосфоліпіди. Кількісний вміст загальних та індивідуальних фосфоліпідів у ліпідних екстрактах оцінювали за кількістю неорганічного фосфору, який визначали за допомогою молібденового реагенту [10]. Співвідношення фосфоліпідних фракцій розраховували у відсотках фосфору фосфоліпідів кожної фракції до фосфору загальних ліпідів, прийнятих за 100%.

Визначення активності рецепторних мембранозв'язаних комплексів проводили у синаптосомах неокортекса головного мозку. Визначали параметри рівноважного зв'язування селективних лігандів  $\alpha_1$ -адренорецепторів –  $^3H$ -WB4101,  $\beta_1$ -адренорецепторів –  $^3H$ -дигідроалprenололу; 5-HT<sub>1</sub>-серотонінових рецепторів –  $^3H$ -серотоніну й 5-HT<sub>2</sub>-серотонінових рецепторів –  $^3H$ -спіперону синаптосомами неокортекса. Для характеристики функціонального стану рецепторів розраховували константу дисоціації (Kd) і максимальну кількість місць зв'язування (Bmax). Синаптосоми отримували за методом F. Hajos [12].

Результати обробляли за допомогою графіка Скетчарда з використанням ПЕОМ програми „Ліганд-Com” [19]. При вивченні параметрів зв'язування селективних лігандів  $\alpha_1$ -,  $\beta$ -адрено-, 5-HT<sub>2</sub>-серотонінорецепторів графік Скетчарда мав криволінійний характер, що могло свідчити: 1) про гетерогенність, тобто наявність декількох пулів рецепторів, що відрізняються спорідненістю до ліганду; 2) про негативну кооперативність у пулі рецепторів.

Для оцінювання наявності кооперативності використовували координати Хілла [13] – логарифм відношення зв'язаного ліганду до різниці між максимальним зв'язуванням та цією величиною (lgB/Bmax-B) проти логарифма кількості вільного ліганду (lgF). Значення коефіцієнта Хілла  $n < 1$  свідчить про наявність негативних взаємодій,  $n > 1$  – про позитивну кооперативність,  $n = 1$  – про відсутність кооперативних взаємодій між рецепторами. Для досліджуваних нами моделей рецепторів коефіцієнт Хілла дорівнював 1, що свідчило про відсутність кооперативних ефектів. У зв'язку з цим, прийнявши альтернативне припущення про існування декількох пулів рецепто-

рів, у подальшому аналізі матеріалу використовували метод Rosental [18], що дозволив відокремити у графіку Скетчарда дві системи – низько- та високоафінного зв'язування.

Визначення параметрів зв'язування ( $K_d$  і  $B_{max}$ ) високоселективного ліганду  $\alpha_1$ -адренорецепторів  $^3H$ -WB4101 проводили за методом U'Prichard et al. [20]. У ролі міченого ліганду використовували  $^3H$ -WB4101 (0,55 або 1,48 ТБк/ммоль, "Amersham", Великобританія). Середовищем інкубації був 50 мМ трис-НСІ буфер (рН 7,4), який містив 10 мМ іпразиду. Вимірювання радіоактивності проводили на лічильнику "Бета-2". Для розрахунку результатів у DPM (decomposition per minute) використовували формулу:  $X \cdot 5 \cdot (100/Y)$ , де  $X$  – результати виміру в СРМ (count per minute),  $Y$  – ефективність виміру, знайдена за методом внутрішньої стандартизації, %. Вміст білка визначали за методом Lowry [16].

Визначення параметрів зв'язування  $^3H$ -дигідроалprenололу  $\beta$ -адренорецепторами проводили за методом Bylund, Snyder [11]. Як селективний ліганд використовували  $^3H$ -дигідроалprenолол (1,41 або 2,11 ТБк/ммоль, "Amersham", Великобританія). Середовищем інкубації був 50 мМ трис-НСІ буфер (рН 7,4); 10 мМ  $MgCl_2$ .

Визначення параметрів зв'язування селективних лігандів  $5HT_1$ - і  $5HT_2$ -серотоніновими рецепторами неокортекса тварин проводили за методом Peroutka, Snyder [17].

**Результати дослідження та їх обговорення.** Відомо, що мембрани еритроцитів і гепатоцитів піддаються значним пошкодженням за умов впливу ряду ксенобіотиків, тому їх розглядають як універсальні моделі для вивчення біологічної активності токсикантів [3,4].

На 30-ту добу експерименту у фосфоліпідних фракціях мембран еритроцитів експериментальної групи тварин визначали статистично достовірне підвищення рівня фосфатидилхоліну (ФХ) на 27% та істотне підвищення рівня лізофосфатидилхоліну (ЛФХ) на 55%, за рахунок зниження фосфатидилетаноламіну (ФЕА), сфінгомієліну (СМ) та фосфатидилсерину (ФС) порівняно з контролем. У печінці спостерігали статистично достовірне зменшення вмісту сфінгомієліну на 31%. 15-краун-5 призводив також до підвищення вмісту кардіоліпіну (КЛ) та лізоформ фосфоліпідів, а саме лізофосфатидилхоліну (на 197%) і лізофосфатидилетаноламіну (ЛФЕА) (на 85%).

Підвищення відсоткового вмісту лізоформ фосфоліпідів під впливом 15-краун-5 можна пояснити посиленням перекисного окислення ліпідів в організмі експериментальних тварин. Незважаючи на підвищений відсоток лізоформ фосфоліпідів, відсоток ФЕА не змінювався, але підвищувався відсоток ФХ як у мембранах еритроцитів, так і гепатоцитів. Це, імовірно, пов'язано зі збільшенням швидкості обміну

зазначених фракцій фосфоліпідів у мембранах еритроцитів і гепатоцитів щурів.

Вплив досліджуваного краун-етеру на фосфоліпідний склад гепатоцитів, можливо, пов'язаний з особливою роллю печінки в обміні як ліпідів взагалі, так і фосфоліпідів зокрема. Біосинтез фосфоліпідів у печінці необхідний не тільки для забезпечення оновлення структурних фосфоліпідів у мембранних утвореннях самої печінки, але й для утворення фосфоліпідів, які транспортуються ліпопротеїнами плазми до інших тканин [8].

Слід зазначити, що ФХ та СМ локалізовані, головним чином, у зовнішньому шарі фосфоліпідів, а ФС та ФЕА – у внутрішньому. Наявність змін у концентрації саме тих фосфоліпідів, що знаходяться у зовнішньому ліпідному шарі, може вказувати на локалізацію процесу підвищеної генерації активних форм кисню.

Оскільки кардіоліпіни є основними ліпідними компонентами мембран мітохондрій, зміна їхніх концентрацій, а в наслідок цього, і ліпідного оточення ферментів мітохондриальних мембран може бути однією з причин порушення біоенергетики.

Виявлені зміни у співвідношенні фосфоліпідних фракцій (зокрема, накопичення ЛФХ і ЛФЕА) мембран еритроцитів і печінки можуть бути причиною їхньої дестабілізації в результаті безпосереднього впливу досліджуваної сполуки та опосередованого через продукти біотрансформації, а також наслідком інтенсифікації процесів вільнорадикального окислення. У свою чергу, підвищення рівня лізоформ фосфоліпідів, інтенсифікація перекисного окислення ліпідів можуть призвести до істотних змін функціональних характеристик мембран – активності зв'язаних ферментних, рецепторних, каналних білкових комплексів, а також до дезінтеграції мембран [2].

Аналіз лігандного зв'язування  $^3H$ -WB4101  $\alpha_1$ -адренорецепторами показав, що зв'язування проходило за типовим графіком Скетчарда, який мав вигляд гіперболи (рис. 1).

Розрахунок коефіцієнта Хілла ( $n=1$ ) дозволив припустити наявність декількох систем зв'язування. Аналіз у зв'язку з цим проводили за методом Rosental (рис. 2).

Досліджуваний 15-краун-5 на 30-ту добу експерименту статистично достовірно знижував константу дисоціації селективного ліганду  $^3H$ -WB4101 на 89% (для високоафінного пулу рецепторів) і на 73% (для низькоафінного), а також й кількість місць зв'язування

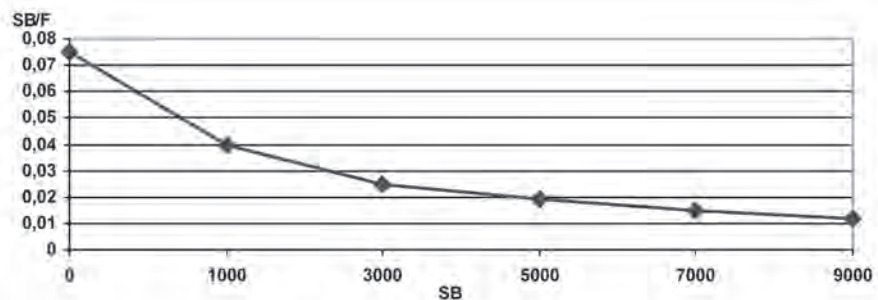
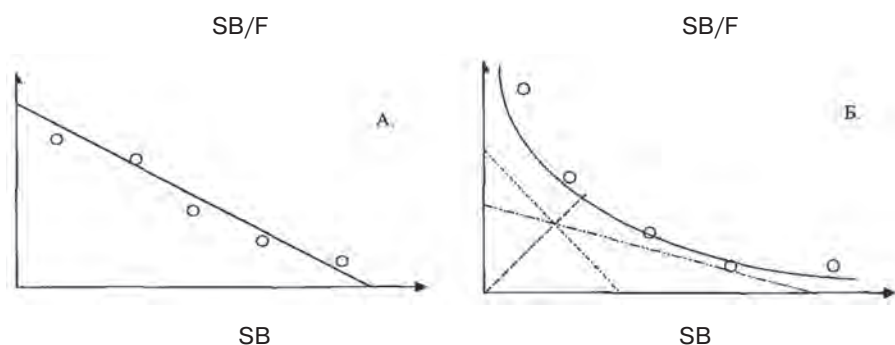


Рис. 1. Типовий графік Скетчарда зв'язування  $^3H$ -WB4101  $\alpha_1$ -адренорецепторами неокортекса щурів (SB – специфічне зв'язування (імг/хв.); F – вільний ліганд).



**Рис. 2. Графічний аналіз результатів експериментів з рецепторного зв'язування селективних лігандів у координатах Скетчарда:**  
**А** – прямолінійна залежність; **Б** – криволінійна залежність із розкладанням за Rosental; **SB** – специфічно зв'язаний ліганд;  
**F** – вільний ліганд; ---- – апроксимація результатів дослідження;  
 - - - - - I система зв'язування (високоафінний пул);  
 - · - · - II система зв'язування (низькоафінний пул).

ліганду з синапсоматомами неокортексту щурів відповідно на 49% і 64%, порівняно з контролем (табл.).

Типовий графік Скетчарда зв'язування <sup>3</sup>H-дигідроалprenололу β-адренорецепторами також був криволінійним, що дозволило припустити наявність як мінімум двох пулів рецепторів (рис. 3).

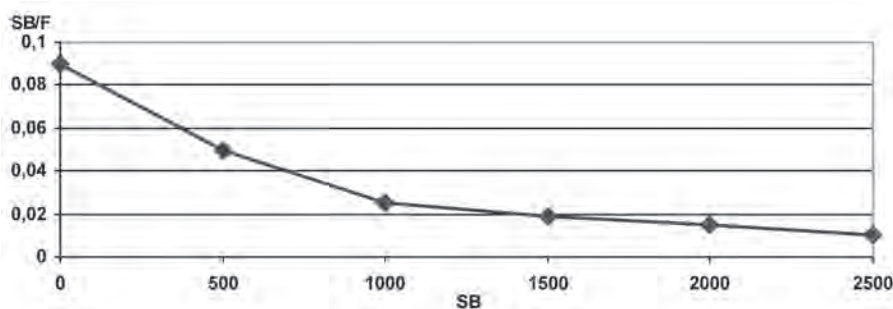
Експерименти реєстрували збільшення кількості високо- та низькоафінних рецепторів за дії досліджуваного 15-краун-5 на 72% і 59% відповідно. Ця речовина також підвищувала спорідненість ви-

**Вплив 15-краун-5 на параметри зв'язування селективних лігандів рецепторами неокортексту головного мозку щурів (M± m, n=10)**

Ліганд	Речовина	Високоафінний пул		Низькоафінний пул	
		константа дисоціації <sup>a</sup>	максимальна кількість місць зв'язування <sup>b</sup>	константа дисоціації <sup>a</sup>	максимальна кількість місць зв'язування <sup>b</sup>
<sup>3</sup> H-WB 4101	Контроль	2,27±0,33	168,1±9,48	4,13±0,33	78,4±4,7
	15-краун-5	0,26±0,03*	78,8±	1,08±0,08*	24,2±
<sup>3</sup> H-дигідролалprenолол	Контроль	0,33±	11,2±	0,760,03	9,1±
	15-краун-5	0,26±0,03*	19,5±	0,58±0,03*	14,8±
<sup>3</sup> H-спіперон	Контроль	0,17±0,01	70,4±3,4	0,48±0,03	56,2±2,1
	15-краун-5	0,13±0,01*	58,9±4,6*	0,41±0,03*	40,1±4,9*

Примітки: <sup>a</sup> – нМ, <sup>b</sup> – фмоль/мг білка, \* – p<0,05 відносно контролю.

гіперболи, що дозволило ідентифікувати два пули зв'язування – високо- та низькоафінний. Параметри зв'язування селективних лігандів 5-HT<sub>1</sub>- та 5-HT<sub>2</sub>-серотонінових рецепторів у тварин, що підлягали впливу 15-краун-5, відрізнялися від аналогічних показників контрольної групи. Досліджувана речовина призводила до однотипних змін характеру зв'язування селективних лігандів як 5-HT<sub>1</sub>-, так і 5-HT<sub>2</sub>-серотоніновими рецепторами, збільшуючи спорідненість рецепторів до ліганду на 37% та зменшуючи кількість місць зв'язування на 23%, порівняно з контролем для <sup>3</sup>H-серотоніну. Для високоафінного та низькоафінного пулів 5-HT<sub>2</sub>-рецепторів характерним було зниження константи дисоціації за дії 15-краун-5 на 22%, та кількості місць зв'язування на 15%, порівняно з контролем.



**Рис. 3. Типовий графік Скетчарда зв'язування <sup>3</sup>H-дигідролалprenололу β<sub>1</sub>-адренорецепторами неокортексту експериментальних тварин**

Примітки: SB – специфічне зв'язування (імп/хв.); F – вільний ліганд.

соко- та низькоафінного пулів β<sub>1</sub>-адренорецепторів неокортексту головного мозку щурів (табл.).

Отримані дані свідчать про зміну адренергічної регуляції під впливом 15-краун-5, що виявилось у більшій активації α<sub>1</sub>-адренорецепторів, ніж β<sub>1</sub>-адренорецепторів.

Це, у свою чергу, може супроводжуватись зміною ефектів, опосередкованих даними підтипами рецепто-

Визначені зміни функціонального стану рецепторів неокортексту у тварин, що підлягали токсичному впливу 15-краун-5 (враховуючи мембранну локалізацію серотонінергічних рецепторів) свідчать на

рів. Відомо, що адренергічна регуляція функцій органів може модулюватися не тільки за рахунок зміни числа або співвідношення адренорецепторів, але і внаслідок індукції будь-яких процесів спряження рецепторів із внутрішньоклітинними структурами трансмісії клітинного сигналу.

Для 5-HT<sub>1</sub>-рецепторів графік Скетчарда мав прямолінійний характер, що являє собою одноцентрову модель зв'язування. Для 5-HT<sub>2</sub>-рецепторів графік Скетчарда мав вигляд

Таблиця.

користь нашої гіпотези про мембранотропні властивості досліджуваних ксенобіотиків і також пояснюють появу симптомів порушень з боку центральної нервової системи, шлунково-кишкового тракту, дихальної та серцево-судинної системи у токсикованих тварин [14, 15]. Однотипність змін властивостей функціонально різних рецепторів свідчить про неспецифічний характер впливу краун-етерів на мембранні рецептори, ферментні комплекси. В основі такого впливу ксенобіотиків може бути посилення вільнорадикальних процесів перекисного окислення ліпідів клітинних мембран, зміна проникності мембран для метаболітів, сигнальних молекул, які здатні модулювати синаптичну передачу.

Таким чином, досліджуваний макрогетероциклічний краун-етер здатні впливати на стан мембранозв'язаних рецепторних комплексів, що може бути однією з ланок структурно-метаболических порушень в організмі тварин. Зміни параметрів зв'язування мембранних рецепторів із селективними лігандами свідчать про можливий вплив краун-етеру на конформаційний стан глікопротеїнових рецепторних молекул. Дія макроциклічних етерів на рецепторні комплекси може реалізуватися через зміни у фосфоліпідному оточенні рецепторів, а також через ефекти солюбілізації, інтерналізації рецепторних комплексів.

### Висновки

1. Дія 15-краун-5 призводить до змін фракційного складу фосфоліпідів мембран еритроцитів та гепато-

цитів щурів, підвищуючи відсоток фосфатидилхоліну і лізофосфатидилхоліну в еритроцитах та знижуючи відсоток сфінгомієліну, фосфатидилінозитолу і підвищуючи – фосфатидилхоліну, лізофосфатидилетаноламіну і лізофосфатидилхоліну в печінці.

2. Підвищення відсоткового вмісту лізоформ фосфоліпідів підтверджує активацію перекисного окислення ліпідів мембран організму експериментальних тварин під впливом продуктів біотрансформації краун-етерів.

3. 15-краун-5 односпрямовано впливає на рецепторну ланку дискримінації клітинного сигналу, знижуючи константи дисоціації та підвищуючи або знижуючи максимальну кількість місць зв'язування селективних лігандів  $\alpha$ -,  $\beta_1$ -, 5-HT<sub>1</sub> та 5-HT<sub>2</sub>-рецепторів синапсом неокортексту щурів.

4. Односпрямовані зміни рецепторного апарату доводять неспецифічний модуляторний вплив 15-краун-5 насамперед на фосфоліпідне мікрооточення, як частину рецепторних комплексів.

**Перспективи подальших досліджень.** В подальшому було б цікаво дослідити вплив краун-сполук на пострецепторну ланку трансмісії внутрішньоклітинного сигналу в організмі теплокровних тварин.

### Література

1. Balli M.B. Tekuchest' membrany v biologii: koncepcii membrannyh struktur / M.B. Balli, B. Besterling, Dzh.D. Brelsford. – Kiev: Naukova dumka, 1989. – 312 s.
2. Baraboj V.A. Okislitel'no-antioksidantnyj gomeostaz v norme i patologii / V.A. Baraboj, D.A. Sutkovej. – K.: Naukova dumka, 1997. – 420 s.
3. Djatlovickaja Je.V. Lipidy kak bioeffektory / Je.V. Djatlovickaja, V.V. Bezuglov // Biohimija. – 1998. – T. 63. – Vyp. 1. – S. 3-5.
4. Zacepina D.N. Membrannye potentsialy i adaptacionnye sposobnosti limfocitov i jeritroцитov v razlichnyh sostojaniyah zhiznedatel'nosti mlekopitajushhih / D.N. Zacepina, G.V. Vengrus, N.N. Gorjunov // Biofizika. – 1993. – T. 38. – № 6. – S. 1098-1103.
5. Kejts M. Tehnika lipidologii / M. Kejts. – M.: Mir, 1975. – 322 s.
6. Kratenko R.I. Biologichni efekti 15-kraun-5 pri diy na aktivnist' sistemi mikrosomal' nogo oksislennja ta vil'no-radikal'ni procesi u pid gostromu eksperimenti / R.I. Kratenko // Visnik problem biologii i medicini. – 2017. – Vip. 3, t. 1. – S. 82-88.
7. Lang S.M. Laboratornaja krysa / S.M. Lang, R.P. Uilson // Laboratornye zhivotnye. – 1993. – № 2. – S. 101-110.
8. Mak-Mjurej U. Obmen veshhestv u cheloveka / U. Mak-Mjurej. – M.: Mir, 1980. – 340 s.
9. Findlej Dzh.B. Biologicheskie membrany / Dzh.B. Findlej, U. Jevans. – M.: Mir, 1990. – 424 s.
10. Brockhuse R.M. Phospholipids structure of erythrocytes and hepatocytes / R.M. Brockhuse // Clin. Biochem. – 1974. – № 3. – P. 157-158.
11. Bylund D.B. Beta-adrenergic receptor binding in membrane preparations from mammalian brain / D.B. Bylund, S.H. Snyder // Mol. Pharmacol. – 1979. – Vol. 12. – P. 68-80.
12. Hajos F. An improved method for preparation of synaptosomal fractions in high purity / F. Hajos // Brain Res. – 1975. – Vol. 93. – P. 485-489.
13. Hill A.V. The combinations of hemoglobin with oxygen and with carbon monoxide I / A.V. Hill // Biochem. J. – 1913. – Vol. 7, № 5. – P. 471-480.
14. Kratenko R.I. Crown-ethers toxicity parameters and their cumulative properties in short-term experiments / R.I. Kratenko // Біологія та валеологія. – 2016. – № 18. – P. 38-43.
15. Kratenko R.I. Crown-ethers – xenobiotics which possess membranotropic activity / R.I. Kratenko // Біологія та валеологія. – 2014. – № 16. – P. 21-28.
16. Lowry O.H. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O.H. Lowry, N.J. Rosenbrough, A.L. Farr, R.J. Randall // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193. – P. 265-275.
17. Peroutka S.J. Multiple serotonin receptors: differential binding of <sup>3</sup>H-5-hydroxytryptamine, <sup>3</sup>H-5-lysergic acid diethylamide and <sup>3</sup>H-spiroperidol / S.J. Peroutka, S.H. Snyder // Mol. Pharmacol. – 1979. – Vol. 16. – P. 687-699.
18. Rosenthal H.E. A graphic method for the determination and presentation of binding parameters in a complex system / H.E. Rosenthal // Analytical Biochem. – 1967. – Vol. 20. – P. 525-532.
19. Scatchard G. The attractions of proteins for small molecules and ions / G. Scatchard // Ann. N.Y. Acad. Sci. – 1949. – V. 51. – P. 660-672.
20. U'Prichard D. Binding characteristics of a radiolabeled agonist and antagonist of central nervous system alpha-noradrenergic receptors / D. U'Prichard, D. Greenberg, S.H. Snyder // Molec. Pharmacol. – 1977. – Vol. 13. – P. 454-473.
21. Vashovsky V.E. UPTL of phospholipids mixtures containing phosphatidyl glycerol / V.E. Vashovsky, T.A. Terekhiva // J. High Res. Chromatogr. – 1979. – № 11. – P. 671-672.

**БИОЛОГИЧНІ ЕФЕКТИ 15-КРАУН-5 ПРИ ДІЇ НА СТАН МЕМБРАН КЛІТИН ЩУРІВ У ПІДГОСТРОМУ ЕКСПЕРИМЕНТІ****Кратенко Р. І.**

**Резюме.** В статті представлені результати біологічної дії 15-краун-5 на фосфоліпідний склад мембран еритроцитів та гепатоцитів та стан мембранно-зв'язаних рецепторів синапсом головного мозку. Експеримент проводили на білих щурах-самцях лінії Вістар тримісячного віку. 15-краун-5 вводили тваринам щоденно у вигляді водного розчину через зонд у шлунок протягом одного місяця у 1/100 LD<sub>50</sub>, що становило 13,5 мкг/кг. Контрольні тварини отримували водопровідну воду. Дія 15-краун-5 призводила до змін фракційного складу фосфоліпідів мембран, підвищуючи відсоток фосфатидихоліну і лізофосфатидилхоліну в еритроцитах та знижуючи відсоток сфінгомієліну, фосфатидилінозитолу і підвищуючи – фосфатидилхоліну, лізофосфатидилетаноламіну і лізофосфатидилхоліну в печінці. Підвищення відсоткового вмісту лізоформ фосфоліпідів підтверджує активацію перекисного окислення ліпідів мембран організму експериментальних тварин під впливом продуктів біотрансформації краун-ефірів. 15-краун-5 односпрямовано впливав на рецепторну ланку дискримінації клітинного сигналу, знижуючи константи дисоціації та підвищуючи або знижуючи максимальну кількість місць зв'язування селективних лігандів  $\alpha$ -,  $\beta$ -, 5-HT<sub>1</sub> та 5-HT<sub>2</sub>-рецепторів синапсом неокортексу щурів. Односпрямовані зміни рецепторного апарату доводять неспецифічний модуляторний вплив 15-краун-5 насамперед на фосфоліпідне мікрооточення, як частину рецепторних комплексів.

**Ключові слова:** 15-краун-5, фосфоліпіди, адренорецептори, серотонінові рецептори.

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ 15-КРАУН-5 ПРИ ДЕЙСТВИИ НА СОСТОЯНИЕ МЕМБРАН КЛЕТОК КРЫС В ПОДОСТРОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ****Кратенко Р. И.**

**Резюме.** В статье представлены результаты биологического действия 15-краун-5 на фосфолипидный состав мембран эритроцитов и гепатоцитов и состояние мембранно-связанных рецепторов синапсом головного мозга. Эксперимент проводили на белых крысах-самцах линии Вистар трехмесячного возраста. 15-краун-5 вводили животным ежедневно в виде водного раствора через зонд в желудок на протяжении одного месяца в 1/100 LD<sub>50</sub>, что составляло 13,5 мкг/кг. Контрольные животные получали водопроводную воду. Действие 15-краун-5 приводило к изменениям фракционного состава фосфолипидов мембран, повышая процентное содержание фосфатидихолина и лизофосфатидилхолина в эритроцитах снижая процент сфингомиелина, фосфатидилінозитола и повышая – фосфатидилхолина, лизофосфатидилетаноламина и лизофосфатидилхолина в печени. Повышение процентного содержания лизоформ фосфолипидов подтверждает активацию перекисного окисления липидов мембран организма экспериментальных животных под влиянием продуктов биотрансформации краун-эфиров. 15-краун-5 однонаправлено влиял на рецепторное звено дискриминации клеточного сигнала, снижая константы диссоциации и повышая или снижая максимальное количество мест связывания  $\alpha$ -,  $\beta$ -, 5-HT<sub>1</sub> та 5-HT<sub>2</sub>-рецепторов синапсом неокортекса крыс. Однонаправленные изменения рецепторного аппарата доказывают неспецифическое модуляторное влияние 15-краун-5, прежде всего на фосфолипидное микроокружение, как часть рецепторных комплексов.

**Ключевые слова:** 15-краун-5, фосфолипиды, адренорецепторы, серотониновые рецепторы.

**BIOLOGICAL EFFECTS OF 15-CROWN-5 WHEN ACTIONG ON RATS CELLULAR MEMBRANES STATE AT SUB-ACUTE EXPERIMENT****Kratenko R. I.**

**Abstract.** The paper represents the experimental results of 15-crown-5 biological action on phospholipids composition of erythrocytes and hepatocytes membranes, as well as, on the state of membrane-bound neurotransmitter receptors of brain synaptosomes.

**Objective.** Investigation of 15-crown-5 influence upon cellular biological membrane state of rat organism at sub-acute experiment.

**Object and methods.** The experiment was performed with the usage of three-months-old Vistar line white male rats. The experimental animals were administered with 15-crown-5 (water solution) within one month (daily) per orally in 1/100 LD<sub>50</sub> (13.5 mkg/kg). The control group of animals was given water. Lipid extraction was performed by the Cates method. Evaporation of micro-thin-layer chromatography was used as a method for separation of individual phospholipids factions. Determination of membrane-bound receptors complexes activity was investigated in rat brain synaptosomes. The experiment used <sup>3</sup>H-WB4101, <sup>3</sup>H-dihydroalprenolole, <sup>3</sup>H-serotonin and <sup>3</sup>H-spiperone, as selective ligands for  $\alpha$ -,  $\beta$ -, adreno-, 5-HT<sub>1</sub>-, 5-HT<sub>2</sub>-serotonin receptors, correspondently. The characteristics of the receptors functional state implied the calculation of dissociation constant (K<sub>d</sub>), and binding sites maximal quantity (B<sub>max</sub>).

**Results.** The action of 15-crown-5 resulted in alterations of membrane phospholipids faction composition. The compound increased percentage contents of phosphatidyl choline and lisophosphatidyl choline in erythrocytes, decreasing sphingomyelin and phosphatidyl inositol percentage. In the liver, the chemical increased phosphatidyl choline, lisophosphatidyl ethanole amine and lisophosphatidyl choline percentage. The increase in phospholipids lysoforms percentage verifies lipid peroxidation of experimental animals organism membranes at the influence of crown-ethers biotransformation products. 15-crown-5 unidirectionally influenced the receptory link of cellular signal discrimination, decreasing dissociation constants, and increasing or decreasing binding sites maximal quantity of  $\alpha$ -,  $\beta$ -, 5-HT<sub>1</sub> and 5-HT<sub>2</sub>-receptors of rat neocortex synaptosomes. Unidirectional changes of receptory apparatus prove non-specific modulatory influence of 15-crown-5, first of all, on phospholipid microsurrrounding, as a part of receptory complexes.

**Keywords:** 15-crown-5, phospholipids, adrenoreceptors, serotonin receptors.

Рецензент – проф. Непорада К. С.

Стаття надійшла 02.10.2017 року