

УДК 57.05:557.3

МЕХАНИЗМ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИОНОВ ЦИНКА И СВИНЦА НА ПРОЦЕССЫ ОКИСЛЕНИЯ В ЛИПОСОМАХ ИЗ ЛЕЦИТИНА

© 2025 г. А. В. Машукова¹, А. С. Дубовик^{1,2}, В. О. Швыдкий¹, Л. Н. Шишкина^{1*}

¹Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук, Москва, Россия

²Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова Российской академии наук, Москва, Россия

*E-mail: shishkina@sky.chph.ras.ru

Поступила в редакцию 26.03.2024

После доработки 24.04.2024

Принята в печать 20.05.2024

Изучено влияние двухвалентных ионов цинка и свинца в широком диапазоне их концентраций на способность соевого лецитина к спонтанной агрегации в водной среде, ζ -потенциал образующихся липосом, способность ионов металлов взаимодействовать с мембранами и их участие в процессах перекисного окисления липидов (ПОЛ). С этой целью использовались метод динамического рассеяния света и математическая обработка УФ-спектров лецитина и его смесей с ионами металлов. Показано, что масштаб и направленность воздействия ионов цинка и свинца соответствуют их биологической активности при поступлении в организм. Совокупность полученных данных и анализ литературы позволяют заключить, что воздействие ионов цинка в высокой концентрации на структурное состояние мембран и их электрофоретические свойства, а также существенное изменение параметров системы регуляции ПОЛ в биологических объектах в присутствии ионов свинца даже в малых дозах в основном обуславливают токсичность этих ионов для организма.

Ключевые слова: липиды, состав, перекисное окисление, ионы тяжелых металлов, регуляция, тонкослойная хроматография, УФ-спектрометрия, метод Гаусса, светорассеяние.

DOI: 10.31857/S0207401X25030108

1. ВВЕДЕНИЕ

Увеличение промышленных мощностей обуславливает возрастание их воздействия на экологию окружающей среды, в том числе водной, так как вода является неотъемлемой частью многих производственных процессов [1]. Нарушение баланса окислительно-восстановительных и свободнорадикальных процессов в природных водоемах вследствие попадания различных токсикантов приводит к негативным последствиям для находящихся в них биообъектов [2–5].

Высокая чувствительность параметров физико-химической системы регуляции перекисного окисления липидов (ПОЛ) в биологических объектах разной сложности к действию повреждающих химических факторов, в том числе и в фоновых концентрациях [6, 7] позволяет использовать их для оценки токсических воздействий на биообъекты. Перспективность привлечения для этих целей моделей спонтанной агрегации соевого лецитина в водной среде и математической обработки УФ-спектров раствора лецитина в дистил-

лированной и природной воде ранее была показана в работах [6, 8–10].

В ряду распространенных загрязнителей окружающей среды находятся свинец и цинк [11], относящиеся к разным группам ионов тяжелых металлов (ТМ) по их воздействию на организм. Свинец является ксенобиотиком, а цинк – биогенным металлом; при этом оба они способны участвовать в регуляции ПОЛ при поступлении в организм [12, 13]. Цинк – внутриклеточный металл, практически целиком связан с ферментами (трансферазы, лигазы, гидролазы) [14]. Будучи вторым переходным металлом по распространенности в крови, он связывает многочисленные белки плазмы, тем самым способствуя изменению и ее функций, таких как гемостаз и тромбоз [15]. При нарушении регуляции метаболизма в организме образуются свободные ионы Zn^{2+} в малых количествах; кроме того, возможно и попадание наночастиц цинка в организм [16]. Показано, что наличие ионов свинца в организме в достаточно малых дозах может спровоцировать интоксикацию

и нарушение ПОЛ [17–19]. Это предполагает возможность изменения состояния параметров физико-химической системы регуляции ПОЛ, таких как его интенсивность ПОЛ и структурное состояние мембран биологических объектов, вследствие воздействия ионов ТМ.

Цель работы – изучение воздействия растворенных в воде двухвалентных ионов свинца и цинка в широком диапазоне их концентраций на физико-химические показатели системы регуляции окислительных процессов в липосомах из лецитина в зависимости от состава липидов лецитина.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объектом исследования был соевый лецитин, выпущенный в запаянных ампулах в виде 10%-го раствора в этаноле фирмой “БИОЛЕК” (Украина). Препарат не подвергали дополнительной очистке после вскрытия ампулы. В качестве химических токсикантов были выбраны хлориды двухвалентных ионов свинца и цинка (обе марки х.ч.).

После отгонки исходного растворителя и приготовления растворов лецитина в хлороформе был определен качественный состав его липидов методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) с использованием силикагеля типа Н производства компании Sigma-Aldrich (USA), стеклянных пластинок размером 90×120 мм, и смеси хлороформ – метанол – ледяная уксусная кислота – дистиллированная вода в объемном соотношении 12.5:7.5:2:1 в качестве подвижной фазы [20]. Для каждой партии лецитина на пластинку нанесли пять хроматографических дорожек. Выявление пятен фосфолипидов (ФЛ) проводили в парах йода.

Количественный анализ состава ФЛ осуществляли путем сжигания пятен с помощью хлорной кислоты до образования неорганического фосфата (Р), анализируя его концентрацию по образованию фосфорномолибденового комплекса в присутствии аскорбиновой кислоты [20] на спектрофотометре ПЭ-5400ВИ (группа компании “ЭКРОС”, Россия) при длине волны 815 нм. Методические подробности анализа состава липидов представлены в работе [21].

Кроме оценки количественного содержания отдельных фракций ФЛ, оценивали также общие показатели состава липидов: долю ФЛ (%) в со-

ставе общих липидов и отношение процентного содержания сумм более легкоокисляемых к более трудноокисляемым фракциям ФЛ ($\Sigma[\text{ЛОФЛ}]/\Sigma[\text{ТОФЛ}]$). Последнее соотношение вычисляли по следующей формуле:

$$\Sigma[\text{ЛОФЛ}]/\Sigma[\text{ТОФЛ}] = ([\text{ФИ}] + [\text{ФС}] + [\text{ФЭ}] + [\text{КЛ}] + [\text{ФК}]) / ([\text{ЛФХ}] + [\text{СЛ}] + [\text{ФХ}]),$$

где ФИ – фосфатидилинозит, ФС – фосфатидилсерин, ФЭ – фосфатидилэтанолламин, КЛ – кардиолипин, ФК – фосфатидная кислота, ЛФХ – лизоформы фосфолипидов, СЛ – сфинголипиды, ФХ – фосфатидилхолин.

Ультрафиолетовые спектры лецитина в дистиллированной воде ($[\text{Лецитин}] = 4.3 \cdot 10^{-5} \text{ М}$) и его смесей с ионами металлов с концентрациями в диапазоне от 10^{-6} до 10^{-4} М регистрировали на спектрофотометре UV-1700 PharmaSpec производства компании Shimadzu (Japan) в диапазоне длин волн от 200 до 500 нм в кварцевой кювете размером 1×1 см. Полученные УФ-спектры подвергали математической обработке по методу Гаусса в программе Excel solver при условии совпадения контура исходного спектра с расчетным после аппроксимации на уровне $10^{-3} - 10^{-5}$.

Содержания кетодиенов (КД) и диеновых конъюгатов (ДК) определяли из соотношения оптической плотности (D) максимумов полос поглощения в УФ-спектрах раствора лецитина в воде и его смесей с металлами в областях длин волн 225–233 нм (полосы поглощения, характерные для соединений с сопряженными двойными связями) и 260–270 нм (полоса поглощения, характерная для С=О-содержащих соединений) к D максимумов полос при 196–210 нм (полоса поглощения, характерная для сложноэфирных связей и используемая для определения общего содержания липидов в растворе) [6, 22].

Размер и ζ -потенциал липосом из лецитина в дистиллированной воде и в присутствии ионов металлов определяли методом динамического рассеяния света на приборе Zetasizer Nano-ZS производства компании Malvern Instruments Ltd. (Great Britain) при температуре 25 °С и угле рассеяния 173°. Источником света служил гелий-неоновый лазер с длиной волны $\lambda = 633 \text{ нм}$. Исследуемый раствор объемом около 1 мл помещали в предварительно обеспыленную квадратную кювету толщиной 1 см. Концентрация лецитина составляла $4.3 \cdot 10^{-5} \text{ М}$. Сбор данных и первичную

обработку осуществляли с помощью программы Zetasizer Software 6.20 (Malvern Instruments Ltd., Great Britain). Каждое измерение повторяли не менее 5 раз.

Экспериментальные данные обрабатывали стандартными статистическими методами, используя программный продукт MS Excel и пакет компьютерных программ KINS [23]. Данные представлены в виде средних арифметических значений с указанием их среднеквадратичных ошибок ($M \pm m$).

Физико-химические свойства и состав липидов лецитина

Соевый лецитин, будучи природным биологическим объектом, отличается изменчивым составом липидов [22], что обуславливает необходимость контроля фракционного состава липидов партий лецитина, используемых в работе. В экспериментах были использованы две партии лецитина. Сочетанным методом ТСХ и УФ-спектрометрии найдено количественное соотношение фракций ФЛ, представленное в табл. 1. Как видно из этой таблицы, доля ЛФХ и СМ в партии №2 ниже, чем в партии №1, в то время как суммарное отношение содержаний минорных фракций ФЛ (ФИ + ФС, ФЭ, КЛ + ФК) в партии № 2 в 5.4 раза выше, чем в партии №1. Это приводит к достоверным различиям в отношениях сумм более легкоокисляемых и более трудноокисляемых фракций ФЛ ($\Sigma[\text{ЛОФЛ}]/\Sigma[\text{ТОФЛ}]$), которое равно 0.011 ± 0.001 и 0.060 ± 0.004 для партий №1 и №2 соответственно. Ранее показано, что отношение $\Sigma[\text{ЛОФЛ}]/\Sigma[\text{ТОФЛ}]$ характеризует способность липидов к окислению [21]. Доли ФЛ в составе общих липидов лецитина также существенно различаются: 40.3 ± 1.7 и 78.7 ± 4.9 для партий №1 и №2 соответственно. Возможно, это тоже является фактором, обуславливающим более низкую окисляемость липидов лецитина партии №1, по сравнению с аналогичным значением для партии №2, поскольку именно ФЛ являются основным субстратом окисления в биологических системах.

Таблица 1. Количественное соотношение фракций фосфолипидов разных партий соевого лецитина, использованных в работе

№ партии	ЛФХ	СМ	ФХ	ФИ+ФС	ФЭ	КЛ+ФК
1	5.05 ± 0.95	8.6 ± 0.5	85.3 ± 1.0	0.22 ± 0.01	0.21 ± 0.02	0.63 ± 0.21
2	3.36 ± 0.21	3.35 ± 0.45	87.6 ± 0.85	1.34 ± 0.18	1.21 ± 0.16	3.15 ± 0.55

Примечание: $n = 5$ – количество хроматографических дорожек.

Влияние ионов цинка и свинца на агрегацию лецитина в водной среде

Методом динамического рассеяния света установлено, что при спонтанной агрегации лецитина в водной среде, как правило, образуются две фракции прямых мицелл: основная фракция с диаметром липосом около 1000 нм и минорная фракция с диаметром липосом около 100 нм. При этом ФХ, ЛФХ, СМ находятся преимущественно во внешнем слое мембран [24]. Спонтанная агрегация ФЛ — это сложный динамический процесс, для установления равновесия, в котором требуется не менее 1.5 ч. Поэтому приготовление опытных образцов смеси лецитина с ионами металлов проводили спустя 2–2.5 ч экспозиции контрольного раствора лецитина в дистиллированной воде. Кроме того, было установлено, что для установления динамического равновесия в смеси лецитина с хлоридами двухвалентных ионов Zn^{2+} и Pb^{2+} необходима экспозиция в течение 40 мин.

Эксперименты с ZnCl_2 проводили с партией лецитина №2. Величины диаметров липосом фракций агрегатов лецитина и их содержание в смеси представлены в табл. 2. Как следует из этих данных, размер липосом в присутствии ионов Zn^{2+} в диапазоне их концентраций от 10^{-6} до $5 \cdot 10^{-5}$ М существенно не изменяется, проявляя лишь тенденцию к уменьшению диаметра при $[\text{Zn}^{2+}] = 5 \cdot 10^{-6}$ М. При этом процентное содержание основной фракции мицелл лецитина с увеличением концентрации Zn^{2+} в данном диапазоне концентраций остается постоянным. Однако при $[\text{Zn}^{2+}] =$

Таблица 2. Размеры и относительное содержание липосом лецитина партии № 1 в зависимости от концентрации ионов Zn^{2+} в растворе

$[\text{Zn}^{2+}]$, М	d_1 , нм	% d_1	d_2 , нм	% d_2
0	1030 ± 70	90 ± 2	115 ± 15	9 ± 1
$1 \cdot 10^{-6}$	980 ± 45	90 ± 1	125 ± 15	10 ± 1
$5 \cdot 10^{-6}$	880 ± 60	92 ± 1	80 ± 25	8 ± 1
$1 \cdot 10^{-5}$	905 ± 35	87 ± 3	150 ± 30	13 ± 3
$5 \cdot 10^{-5}$	975 ± 45	88 ± 1	135 ± 15	12 ± 1
$1 \cdot 10^{-4}$	750 ± 20	85 ± 1	110 ± 15	11 ± 1

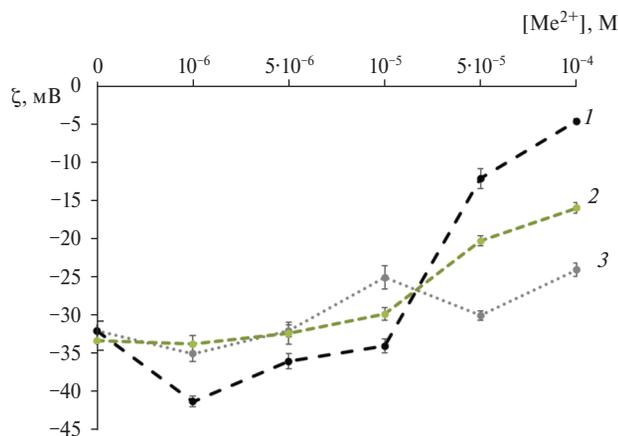


Рис. 1. Зависимость величин ζ -потенциала липосом лецитина ($[\text{Лецитин}] = 4.3 \cdot 10^{-5} \text{ М}$) от концентрации ионов свинца (1, партия лецитина №2; 2, партия лецитина №1) и ионов цинка (3, партия лецитина №1).

$= 10^{-4} \text{ М}$ диаметр липосом основной фракции лецитина в смеси почти в 1.4 раза меньше, чем при спонтанной агрегации самого лецитина. Диаметр минорной фракции лецитина и ее содержание в присутствии Zn^{2+} имеют минимальные величины при $[\text{Zn}^{2+}] = 5 \cdot 10^{-6} \text{ М}$ и максимальные при $[\text{Zn}^{2+}] = 10^{-5} \text{ М}$, а в остальных случаях достоверно не отличаются от контрольных значений.

Зависимости величин ζ -потенциала агрегатов лецитина от концентрации ионов металла в растворе представлены на рис. 1. Необходимо отметить, что эта зависимость и масштаб изменения ζ -потенциала существенно различаются при воздействии ионов Zn^{2+} на размер агрегатов, сформированных лецитином. Так, ζ -потенциал частиц лецитина достоверно не изменяется только в присутствии Zn^{2+} в концентрации 10^{-6} и $5 \cdot 10^{-6}$ (рис. 1, кривая 3). Увеличение концентрации Zn^{2+} вызывает стадийное уменьшение отрицательной величины ζ -потенциала, которое было максимальным при $[\text{Zn}^{2+}] = 10^{-4} \text{ М}$ (рис. 1, кривая 3). Характер изменений ζ -потенциала и диаметров липосом

лецитина, особенно в малых концентрациях, позволяет предполагать, что ионы цинка не встраиваются непосредственно в липосому, а аккумулируются на ее поверхности.

Для изучения влияния физико-химических свойств и состава липидов на “формирование” эффектов их взаимодействия с PbCl_2 были использованы обе партии лецитина. Из данных, представленных в табл. 3, следует, что различия в соотношении $\Sigma[\text{ЛОФЛ}]/\Sigma[\text{ТОФЛ}]$ для разных партий приводят к различиям в размерах липосом при воздействии ионов Pb^{2+} . Более низкая способность липидов к окислению в партии №1 обуславливает более существенные изменения размеров частиц в обеих фракциях (табл. 3) и появление крупных агрегатов диаметром около 5000 нм в следовых количествах. Это может быть связано с протеканием в присутствии ионов Pb^{2+} процесса коагуляции при разрушении небольшой части липосом. При этом существенное увеличение размеров агрегатов обеих фракций наблюдаются при концентрациях ионов Pb^{2+} , равных $5 \cdot 10^{-5} \text{ М}$, 10^{-5} М и 10^{-4} М . Однако рост окисляемости липидов лецитина в 5.5 раза в партии №2 обуславливает изменение диаметра только основной партии агрегатов лецитина в присутствии ионов Pb^{2+} в диапазоне концентраций от 10^{-6} до 10^{-5} М (табл. 3).

Значительные различия во влиянии концентрации ионов Pb^{2+} в зависимости от физико-химических свойств и состава липидов лецитина выявляются при определении ζ -потенциала агрегатов лецитина (рис. 1). Как следует из полученных данных, низкая окисляемость липидов лецитина, т.е. наличие в составе его минорных фракций преимущественно более трудноокисляемых ФЛ (партия №1), обуславливает менее значительный масштаб колебаний величины ζ -потенциала в зависимости от концентрации ионов Pb^{2+} с его

Таблица 3. Размеры и относительное содержание агрегатов разных партий лецитина в зависимости от концентрации ионов Pb^{2+} в растворе

[Pb^{2+}], М	Партия №1				Партия №2	
	d_1 , нм	% d_1	d_2 , нм	% d_2	d_1 , нм	% d
0	890 ± 30	82 ± 7	110 ± 25	10 ± 0.8	1050 ± 55	97 ± 2
$1 \cdot 10^{-6}$	990 ± 45	80 ± 0.7	124 ± 4	13 ± 0.2	1147 ± 13	100
$5 \cdot 10^{-6}$	1315 ± 95	75 ± 2	225 ± 35	15 ± 2	1145 ± 65	100
$1 \cdot 10^{-5}$	1275 ± 50	84 ± 0.9	160 ± 15	15 ± 0.7	1150 ± 60	100
$5 \cdot 10^{-5}$	960 ± 20	88 ± 0.3	100 ± 4	12 ± 0.3	1160 ± 100	100
$1 \cdot 10^{-4}$	1110 ± 105	90 ± 3	180 ± 50	11 ± 2	1075 ± 125	100

минимумом при $[Pb^{2+}] = 10^{-6}$ М и максимуме при $[Pb^{2+}] = 10^{-4}$ М. Если липиды биологического объекта характеризуются высокой способностью к окислению (партия №2), то вариабельность величин их ζ -потенциала существенно зависит от $[Pb^{2+}]$: достоверное уменьшение отрицательного значения ζ -потенциала наблюдается при высокой концентрации иона (рис. 1, кривая 2).

Структурные группы фосфолипидов лецитина, участвующие во взаимодействии с ионами цинка и свинца

Ранее было показано, что математическая обработка УФ-спектров соевого лецитина и его смесей с различными токсикантами по методу Гаусса позволяет выявить те структурные группы ФЛ, которые будут участвовать во взаимодействии между ними и в образовании комплексов [6, 9]. В УФ-спектрах раствора соевого лецитина в дистиллированной воде, как правило, выявляются три основных максимума полос поглощения в области длин волн 190–200, 229–235 и 260–270 нм. В присутствии ионов ТМ смещения максимумов могут зависеть не только от концентрации, но и от природы металла. Типичный УФ-спектр лецитина в присутствии в растворе ионов цинка и его гауссианы представлен на рис. 2, а максимумы полос поглощения и их оптические плотности (D) при разных концентрациях лецитина приведены в табл. 4.

Анализ полученных данных позволяет сделать следующие заключения. При взаимодействии ионов Zn^{2+} с лецитином (партия №2) не было выявлено изменения длины волны наиболее интенсивного максимума полосы поглощения при $\lambda = 196$ нм, в то время как оптическая плотность D данного максимума увеличивается в 1.8–2 раза, а стадийные колебания ее значения зависят от концентрации иона (табл. 4). Поскольку данная полоса поглощения характерна для сложноэфирных групп, то увеличение значения ее D при отсутствии сдвига длины волны максимума позволяет предполагать возможное встраивание Zn^{2+} в гидрофобные группировки жирных кислот ФЛ. Максимум полосы поглощения лецитина при $\lambda = 233$ нм, характеризующий наличие сопряженных двойных связей, в присутствии в растворе ионов цинка сдвигается к $\lambda = (230.8 \pm 0.7)$ нм, а значение его D увеличивается в 2–2.6 раза в зависимости от концентрации иона (табл. 4). Максимум по-

Таблица 4. Величины длин волн максимумов полос поглощений и их оптические плотности (D) в УФ-спектрах водных растворов лецитина партии № 2 и его смесей с ионами Zn^{2+}

$[Zn^{2+}]$, М	D/λ , нм		
0	0.145 / 196.0	0.025 / 233.0	0.031 / 264.8
$1 \cdot 10^{-6}$	0.256 / 196.2	0.058 / 230.8	0.046 / 265.9
$5 \cdot 10^{-6}$	0.296 / 195.9	0.064 / 230.8	0.056 / 266.3
$1 \cdot 10^{-5}$	0.292 / 195.9	0.052 / 230.6	0.058 / 264.8
$5 \cdot 10^{-5}$	0.261 / 196.4	0.051 / 231.0	0.056 / 265.8
$1 \cdot 10^{-4}$	0.290 / 196.2	0.060 / 230.7	0.063 / 265.7

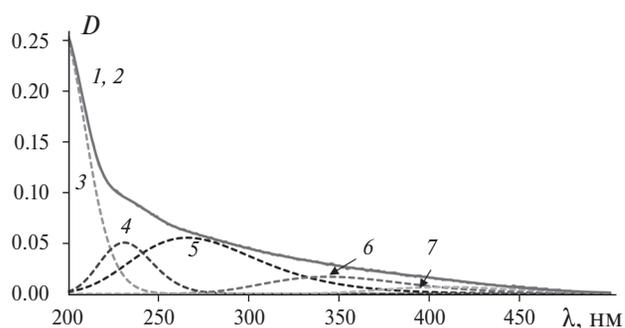


Рис. 2. Ультрафиолетовый спектр лецитина в присутствии ионов цинка и его гауссианы: 1 и 2 — исходный и расчетный спектры, 3 — 196.4 нм, 4 — 231.0 нм, 5 — 265.8 нм, 6 — 343.6 нм, 7 — 407.7 нм; $[Leцитин] = 4.3 \cdot 10^{-5}$ М, $[Zn^{2+}] = 5 \cdot 10^{-5}$ М.

лосы поглощения лецитина при $\lambda = 265$ нм, обусловленный наличием в системе групп $-O-CN=CH-$ и $-C=O$, проявляет только слабую тенденцию к сдвигу к большему значению длины волны, в то время как значение его D нелинейно увеличивается с ростом концентрации Zn^{2+} в растворе, достигая максимума при $[Zn^{2+}] = 10^{-4}$ М (табл. 4). Следовательно, ионы Zn^{2+} принимают участие в ПОЛ на разных его стадиях, что подтверждают и расчеты содержания продуктов ПОЛ–ДК и КД (табл. 5). При этом максимальные значения содержания ДК в составе липидов липосом выявлены при $[Zn^{2+}] = 10^{-6}$ и 10^{-4} М, а минимальное и близкое к аналогичной величине для лецитина значение — при 10^{-5} М (табл. 5). Содержание КД в липидах липосом минимально при $[Zn^{2+}] = 10^{-6}$ М, а затем постепенно возвращается к контрольному значению.

Поскольку липиды лецитина партии №2 характеризуются относительно высоким содержанием Р-содержащих группировок в составе ФЛ, то при математической обработке его УФ-спектра выявлена полоса поглощения при $\lambda > 300$ нм

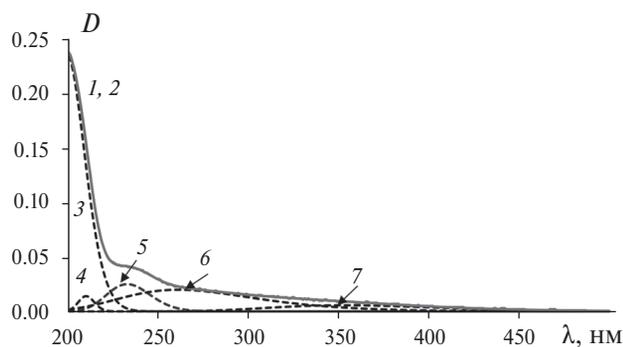


Рис. 3. Ультрафиолетовый спектр лецитина в присутствии ионов свинца и его гауссианы: 1 и 2 – исходный и расчетный спектры, 3 – 198.7 нм, 4 – 209.6 нм, 5 – 232.4 нм, 6 – 260.8 нм, 7 – 352.6 нм; [Лецитин] = $4.3 \cdot 10^{-5}$ М, $[\text{Pb}^{2+}] = 5 \cdot 10^{-5}$ М.

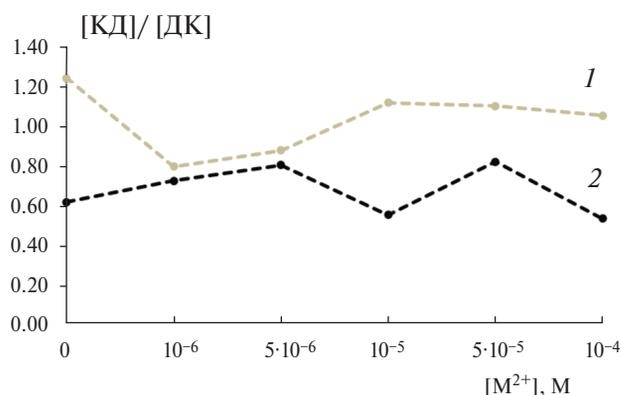


Рис. 4. Соотношение содержания кетодиенов (КД) и диеновых конъюгатов (ДК) в липидах липосом в зависимости от концентрации ионов цинка (1) и свинца (2) в растворе.

Таблица 5. Величины длин волн максимумов полос поглощений и их оптические плотности (D) в УФ-спектрах водных растворов лецитина партии № 2 и его смесей с ионами Pb^{2+}

$[\text{Pb}^{2+}]$, М	D / λ , нм			
0	0.243 / 197.9	0.007 / 210.4	0.031 / 230.8	0.019 / 269.7
$1 \cdot 10^{-6}$	0.227 / 198.4	0.007 / 210.4	0.025 / 231.7	0.018 / 263.5
$5 \cdot 10^{-6}$	0.238 / 198.7	0.014 / 209.6	0.025 / 232.4	0.020 / 260.8
$1 \cdot 10^{-5}$	0.079 / 196.2	0.236 / 204.0	0.031 / 231.5	0.017 / 259.6
$5 \cdot 10^{-5}$	0.212 / 196.2	0.540 / 207.0	0.038 / 229.4	0.031 / 256.1
$1 \cdot 10^{-4}$	0.093 / 199.2	0.845 / 207.8	0.070 / 223.4	0.037 / 264.3

с низкой величиной D . Присутствие ионов цинка в растворе вызывает увеличение оптической плотности полосы поглощения, достигающее 2.9 раз в зависимости от концентрации Zn^{2+} , а ее максимум с ростом концентрации сдвигается на 17 нм к большим значениям длины волны ионов. Это позволяет предполагать возможность образования комплекса Zn^{2+} с Р-содержащими группировками ФЛ лецитина.

Анализ математической обработки УФ-спектров смесей Pb^{2+} с лецитином партии № 2 представлен в табл. 6, а типичный УФ-спектр лецитина в присутствии в растворе ионов свинца и его гауссианы приведены на рис. 3. Обнаружено, что присутствие свинца в растворе обуславливает появление дополнительного максимума основной полосы поглощения в области 204–210 нм. При этом при низких концентрациях ионов свинца оптическая плотность полосы поглощения при 197–199 нм существенно превышает значение D полосы поглощения второго максимума, а при увеличении концентрации иона наблюдается обратный эффект: оптическая плотность полосы поглощения в области длин волн 204–208 нм в

3.0–9.1 раза превышает значение D полосы поглощения при 196–200 нм (табл. 6). Эти данные позволяют заключить, что Pb^{2+} , встраиваясь в гидрофобную часть липосом, вызывает существенные изменения ее структурного состояния. Как величины длин волн в области 230–232 нм, так и их значения D существенно изменяются только при $[\text{Pb}^{2+}] = 10^{-4}$ М, а оптическая плотность полосы поглощения возрастает в 2.3 раза и ее максимум сдвигается на 7 нм к меньшим значениям длины волны (табл. 6). Нелинейное уменьшение длины волны полосы поглощения в области 270 нм выявлено и при увеличении концентрации ионов свинца в растворе, а достоверный рост ее оптической плотности наблюдается только при высоких концентрациях ионов Pb^{2+} (табл. 6). Однако существенное изменение оптической плотности основной полосы поглощения липидов липосом обуславливает достоверное уменьшение содержания в них КД и ДК при больших концентрациях ионов Pb^{2+} в растворе, что соответствует данным об участии ионов свинца в процессах ПОЛ в биологических объектах [11]. Взаимодействие ионов свинца с Р-содержащими

Таблица 6. Влияние концентрации ионов цинка и свинца на содержание диеновых конъюгатов и кетодиенов в липидах липосом

[Me ²⁺], М	ДК		КД ⁺	
	Zn ²⁺	Pb ²⁺	Zn ²⁺	Pb ²⁺
0	0.172	0.128	0.214	0.078
1 · 10 ⁻⁶	0.227	0.110	0.180	0.079
5 · 10 ⁻⁶	0.216	0.105	0.189	0.084
1 · 10 ⁻⁵	0.178	0.131	0.199	0.072
5 · 10 ⁻⁵	0.195	0.070	0.215	0.057
1 · 10 ⁻⁴	0.207	0.083	0.217	0.044

группировками ФЛ липосом приводит к существенному сдвигу максимума полосы поглощения к меньшим значениям λ (на 40 нм при [Pb²⁺] = 10⁻⁵ М) и достоверному росту D в 2.3 раза в интервале концентраций ионов от 10⁻⁵ М до 10⁻⁴ М.

Одной из наиболее устойчивых взаимосвязей в физико-химической системе регуляции ПОЛ на уровне липосом из природных липидов является взаимосвязь между КД и ДК [25]. Зависимость величины данного показателя в липидах лецитина от концентрации исследованных ионов ТМ в растворе приведена на рис. 4. Как видно из этого рисунка, в то время как присутствие ионов Zn²⁺ вызывает стадийное уменьшение величины отношения КД/ДК, наиболее выраженное при низких концентрациях иона, присутствие ионов Pb²⁺ обуславливает стадийное увеличение данного показателя, наиболее выраженное при концентрации ионов 5 · 10⁻⁶ и 5 · 10⁻⁵ М. Это согласуется и с результатами анализа УФ-спектров смесей лецитина и ионов ТМ, свидетельствующими о более значительном влиянии ионов Zn²⁺ на содержание ДК, а ионов Pb²⁺ на содержание КД в составе липидов липосом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, обобщение представленных данных свидетельствует о том, что присутствие в водной среде двухвалентных ионов цинка и свинца даже в малых концентрациях оказывает существенное влияние на состояние параметров физико-химической системы регуляции ПОЛ в биологических объектах. На примере ионов Pb²⁺ выявлено, что они оказывают более выраженное влияние на структурное состояние и электрофоретические свойства липосом, липиды которых характеризуются меньшей способностью к окислению. Установлено, что масштаб и направлен-

ность воздействия двухвалентных ионов цинка и свинца соответствуют их биологической активности при поступлении в организм. Так, ионы Zn²⁺ в малых дозах аккумулируются на поверхности мембран и образуют комплексы с Р-содержащими группировками ФЛ. Однако существенное уменьшение размера липосом, достоверное снижение отрицательной величины их ζ -потенциала, и более выраженную способность к образованию комплексов с ФЛ биогенный элемент цинк преимущественно проявляет при высоких концентрациях: 5 · 10⁻⁵–10⁻⁴ М, в то время как его участие на разных стадиях процесса окисления оказывается более выраженным в области малых доз – 10⁻⁶ и 5 · 10⁻⁶ М.

Из анализа данных по влиянию ионов Pb²⁺ на липосомы из лецитина, липиды которого обладали высокой способностью к окислению, следует, что ионы свинца, проникая в гидрофобный жирнокислотный слой мембран, вызывают в нем значительные структурные перестройки, образуют комплексы с Р-содержащими группировками ФЛ, участвуют в процессах окисления во всем исследованном диапазоне концентраций, чем обуславлено снижение интенсивности ПОЛ. Хотя максимальный эффект воздействия ионов Pb²⁺ на исследованные параметры липосом, как правило, выявлен именно при [Pb²⁺] = 10⁻⁴ М, полученные экспериментальные данные и анализ литературы позволяют заключить, что именно существенное изменение параметров системы регуляции ПОЛ в биологическом объекте является основой токсичности этого ксенобиотика для организма.

В работе использовалось оборудование центра коллективного пользования ИБХФ РАН.

Работа выполнена в рамках госзадания Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН (тема № 0084-2019-0014).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Громов В.Ф., Иким М.И., Герасимов Г.Н., Трахтенберг Л.И. // Хим. физика. 2022. Т. 41. № 1. С. 66. <https://doi.org/10.31857/S0207401X22010058>
2. Штамм Е.В., Скурлатов Ю.И., Швыдкий В.О. и др. // Хим. физика. 2015. Т. 34. № 6. С. 22. <https://doi.org/10.7868/S0207401X15060072>
3. Скурлатов Ю.И., Вичутинская Е.В., Зайцева Н.И. и др. // Хим. физика. 2015. Т. 34. № 6. С. 12. <https://doi.org/10.7868/S0207401X15060084>
4. Штамм Е.В., Скурлатов Ю.И., Рошин А.В. и др. // Хим. физика. 2019. Т. 38. № 11. С. 16.

- <https://doi.org/10.1134/S0207401X19110098>
5. Швыдкий В.О., Штамм Е.В., Скурлатов Ю.И. и др. // Хим. физика. 2017. Т. 36. № 8. С. 23.
<https://doi.org/10.7868/S0207401X17080131>
 6. Шишкина Л.Н., Козлов М.В., Повх А.Ю., Швыдкий В.О. // Хим. физика. 2021. Т. 40. № 9. С. 57.
<https://doi.org/10.31857/S0207401X21090089>
 7. Герасимов Н.Ю., Неврова О.В., Жигачева И.В. и др. // Хим. физика. 2023. Т. 42. № 1. С. 22.
<https://doi.org/10.31857/S0207401X23010041>
 8. Шишкина Л.Н., Козлов М.В., Мазалецкая Л.И. и др. // Хим. физика. 2020. Т. 39. № 6. С. 52.
<https://doi.org/10.31857/S0207401X20060102>
 9. Shvydkyi V., Dolgov S., Dubovik A. et al. // Chem. J. Moldova. 2022. Т. 17. № 2. С. 35.
<http://dx.doi.org/10.19261/cjm.2022.973>
 10. Шишкина Л.Н., Козлов М.В., Константинова Т.В. и др. // Хим. физика. 2023. Т. 42. № 1. С. 28.
<https://doi.org/10.31857/S0207401X23010107>
 11. Кумпаненко И.В., Иванова Н.А., Шаповалова О.В. и др. // Хим. физика. 2022. Т. 41. № 9. С. 55.
<https://doi.org/10.31857/S0207401X22090059>
 12. Girotti A.W., Thomas J.P., Jordan J.E. // J. Free Rad. Biol. & Med. 1985. V. 1. № 5–6. С. 395.
[https://doi.org/10.1016/0748-5514\(85\)90152-7](https://doi.org/10.1016/0748-5514(85)90152-7)
 13. Sandhir R., Gill K.D. // Biol. Trace Elem. Res. 1995. V. 48. P. 91.
<https://doi.org/10.1007/BF02789081>
 14. Нуриддинова Ш.О., Цой А.В., Султанбаева А.С., Акбарходжаева Х.Н. // ORIENS. 2023. Т. 3. № 4–2. С. 214.
 15. Vu T.T., Fredenburgh J.C., Weitz J.I. // Thromb. Haemost. 2013. V. 109. № 03. P. 421.
<https://doi.org/10.1160/TH12-07-0465>
 16. Bundschuh M., Filser J., Lüderwald S. et al. // Environ. Sci. Eur.. 2018. V 30. P. 1.
<https://doi.org/10.1186/s12302-018-0132-6>
 17. Лобанова А.В., Чесовских Ю.С. // Матер. междунар. конф. “Неделя российской науки” / Под ред. Наволокина Н.А., Мыльникова А.М., Федонникова А.С. Саратов: Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского 2023. С. 236.
 18. Lawton L.J., Donaldson W.E. // Biol. Trace Elem. Res. 1991. V. 28. P. 83.
<https://doi.org/10.1007/BF02863075>
 19. Kasperczyk S., Słowińska-Łożyńska L., Kasperczyk A. // Toxicol. Ind. Health. 2015. Т. 31. № 12. С. 1165.
<https://doi.org/10.1177/0748233713491804>
 20. Финдлей Дж., Эванз У. Биологические мембраны. Методы. М.: Мир, 1990.
 21. Шишкина Л.Н., Кушнирева Е.В., Смотряева М.А. // Радиационная биология. Радиозэкология. 2004. Т. 44. № 3. С. 289.
 22. Маракулина К.М., Крамор Р.В., Луканина Ю.К. и др. // ЖФХ. 2016. Т. 90. №2. С. 182.
<https://doi.org/10.7868/S0044453716020187>
 23. Брин Э.Ф., Травин С.О. // Хим. физика. 1991. Т. 10. С. 830.
 24. Геннис Р. Биомембраны: Молекулярная структура и функции. М. Мир. 1997.
 25. Shishkina L.N., Klimovich M.A., Kozlov M.V. // Pharmaceutical and Medical Biotechnology. New Perspective. N.Y.: Nova Sci. Publ., 2013.

MECHANISM OF EFFECT OF THE ZINC AND LEAD IONS ON STATE OF THE OXIDATION PROCESSES IN LIPOSOMES FROM LECITHIN

A. V. Mashukova¹, A. S. Dubovik^{1,2}, V. O. Shvydkiy¹, L. N. Shishkina^{1*}

¹*Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

²*Nesmeyanov Institute of Organoelement compounds, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

*E-mail: shishkina@sky.chph.ras.ru

The influence of divalent zinc and lead ions in a wide range of concentrations on the ability of soy lecithin to spontaneous aggregation in water medium, the zeta potential of the formed liposomes, the ability of metal ions to interact with membranes and their participation in the processes of the lipid peroxidation were studied using the method of dynamic light scattering and mathematical processing of UV-spectra of lecithin and its mixtures with metal ions. It has been shown that the scale and direction of the impact of zinc and lead ions corresponds to their biological activity when entering the body. The data obtained and the analysis of the literature allow us to conclude that the effect of zinc ions at high concentrations on the structural state of membranes and their electrophoretic properties and a significant change in the parameters of the lipid peroxidation regulation system in biological objects in the presence of lead ions, even at low doses, are the basis of their toxicity for biological objects.

Keywords: lipids, composition, peroxidation, heavy metal ions, regulation, TLC, UV-spectrometry, Gauss method, light scattering.

REFERENCES

- V.F. Gromov, M.I. Ikin, G.N. Gerasimov, L.I. Trakhtenberg. *Russ. J. Phys. Chem. B.* **16**, 138 (2022).
<https://doi.org/10.1134/S1990793122010055>
- E.V. Stamm, Yu.I. Skurlatov, V.O. Shvydkiy et al. *Russ. J. Phys. Chem. B.* **9**, 421 (2015).
<https://doi.org/10.1134/S1990793115030197>
- Yu.I. Skurlatov, E.V. Vichutinskaya, N.I. Zaitseva et al. *Russ. J. Phys. Chem. B.* **9**, 412 (2015).
<https://doi.org/10.1134/S1990793115030203>
- E.V. Stamm, Yu.I. Skurlatov, A.V. Roshchin et al. *Russ. J. Phys. Chem. B.* **13**, 986 (2019).
<https://doi.org/10.1134/S1990793119060095>
- V.O. Shvydkiy, E.V. Stamm, Yu.I. Skurlatov et al. *Russ. J. Phys. Chem. B.* **11**, 643 (2017).
<https://doi.org/10.1134/S1990793117040248>
- L.N. Shishkina, M.V. Kozlov, A.Yu. Povkh, V.O. Shvydkiy. *Russ. J. Phys. Chem. B.* **15**, 861 (2021).
<https://doi.org/10.1134/S1990793121050080>
- N.Yu. Gerasimov, O.V. Nevrova, I.V. Zhigacheva et al. *Russ. J. Phys. Chem. B.* **17**, 135 (2023).
<https://doi.org/10.1134/S1990793123010049>
- L.N. Shishkina, L.I. Mazaletskaia, M.V. Kozlov et al. *Russ. J. Phys. Chem. B.* **14**, 498 (2020).
<https://doi.org/10.1134/S1990793120030240>
- V. Shvydkiy, S. Dolgov, A. Dubovik et al. *Chem. J. Moldova. T.* **17**(2), 35 (2022).
<http://dx.doi.org/10.19261/cjm.2022.973>
- L.N. Shishkina, M.V. Kozlov, T.V. Konstantinova et al. *Russ. J. of Phys. Chem. B.* **17**, 141 (2023).
<https://doi.org/10.1134/S1990793123010104>
- I.V. Kumpanenko, N.A. Ivanova, O.V. Shapovalova et al. *Russ. J. of Phys. Chem. B.* **16**, 917 (2022).
<https://doi.org/10.1134/S1990793122050050>
- A.W. Girotti, J.P. Thomas, J.E. Jordan. *J. Free Rad. Biol. & Med.* **1**, 395 (1985).
[https://doi.org/10.1016/0748-5514\(85\)90152-7](https://doi.org/10.1016/0748-5514(85)90152-7)
- R. Sandhir, K.D. Gill. *Biol. Trace elem. Res* **48**, 91 (1995).
<https://doi.org/10.1007/BF02789081>
- Sh.O. Nuriddinova, A.V. Tsoi, A.S. Sultanbaeva, Kh.N. Akbarkhodzhaeva. *ORIENTS* **3**, 214 (2023).
- T.T. Vu, J.C. Fredenburgh, J.I. Weitz. *Thromb. Haemost.* **109**, 421 (2013).
<https://doi.org/10.1160/TH12-07-0465>
- M. Bundschuh, J. Filser, S. Lüderwald et al. *Environ. Sci. Eur.* **30**, 1 (2018).
<https://doi.org/10.1186/s12302-018-0132-6>
- A.V. Lobanova, Yu.S. Chasovskikh. *Proc. Intern. conf. Week of Russian science.* Saratov: Razumovsky University, 2023, P. 1140.
- L.J. Lawton, W.E. Donaldson. *Biol. Trace Elem. Res.* **28**, 83 (1991).
<https://doi.org/10.1007/BF02863075>
- S. Kasperczyk, L. Słowińska-Łożyńska, A. Kasperczyk. *Toxicol. Ind. Health* **31**, 1165 (2015).
<https://doi.org/10.1177/0748233713491804>
- J.B.C. Findlay, W.H. Evans. *Biological membranes: a practical approach*, Ltd, Oxford, 1987.
- L.N. Shishkina, E.V. Kushnireva, M.A. Smotryaeva. *Radiation biology. Radioecology*, **44**, 289 (2004).
- K.M. Marakulina, R.V. Kramor, Yu.K. Lukanina et al. *Russ. J. Phys. Chem. A* **90**, 286 (2016).
<https://doi.org/10.1134/S0036024416020187>
- E.F. Brin, S.O. Travin. *J. Chem. Phys. B.* **10**, 830 (1991).
- R. Gennis, *Biomembranes: Molecular structure and function.* (Springer, New York, 1989).
- L.N. Shishkina, M.A. Klimovich, M.V. Kozlov. *Pharmaceutical and Medical Biotechn. New Persp.* (Nova Science Publishers, New York, 2013).