

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С ПОЛИЕНОВЫМИ АНТИБИОТИКАМИ В ПОЛЕ ДЕЙСТВИЯ УЛЬТРАЗВУКОВЫХ ВОЛН

© 2021 г. Г.Г. Султанова, Х.М. Касумов

*Институт ботаники Национальной академии наук Азербайджана,
AZ1004, Баку, Падамдартское шоссе, 40, Азербайджанская Республика*

E-mail: sultanqul@mail.ru

Поступила в редакцию 28.06.2019 г.

После доработки 14.12.2020 г.

Принята к публикации 16.12.2020 г.

Исследован гемолиз эритроцитов, индуцированный ультразвуком и алкильными производными амфотерицина В и леворина, модифицированных по аминной и карбоксильной группам. Разработан кинетический метод изучения физико-химических характеристик клеток крови под действием ультразвука в физиотерапевтическом режиме озвучивания. Показано, что взаимодействие ультразвуковых волн с биологическими системами основано на явлении кавитации. Изучено действие алкильных производных амфотерицина В и леворина на физико-химические характеристики эритроцитов. Предполагается, что изменение механической стойкости эритроцитов под влиянием полиеновых антибиотиков связано с нарушением микровязкости белково-липидной системы мембран эритроцитов путем образования ионных каналов. Обнаружена корреляция действия полиеновых антибиотиков на липидные и клеточные мембраны.

Ключевые слова: полиеновые антибиотики, эритроциты, стойкость клеток, гемолиз, ультразвук.

DOI: 10.31857/S0006302921020113

В настоящее время ультразвуковые (УЗ) исследования относятся к категории наиболее информативных и безопасных методов диагностики в медицине. Использование УЗ-методов в практической медицине непосредственно связано с изучением взаимодействия УЗ-волн с биологическими структурами. Особый интерес представляют исследования степени изменения функционального состояния клеток в зависимости от интенсивности, частоты и времени воздействия ультразвука. Важно оценить вклад каждого из перечисленных факторов на степень изменения функционального состояния клеток. Повышение интенсивности ультразвука выше 0.4 Вт/см² приводит к эффектам кавитации, вызывающим повреждение биологических структур по свободно-радикальному механизму с образованием микротоков вокруг осциллирующих микропузырьков [1, 2]. Однако до сих пор нет анализа воздействия физических параметров среды на поведение клеток крови в поле УЗ-волн. Действие внешних факторов на биологические объекты приводит к изменению ряда морфологических, биохимических,

физиологических параметров организма. Анализ литературных данных показывает, что эритроциты крови более чувствительны к действию физических и химических факторов внешней среды, характеризующиеся изменением ряда физико-химических параметров мембран эритроцитов. В качестве экзогенных факторов действия на эритроциты использовались энергия УЗ-волн и действие полиеновых антибиотиков (ПА).

ПА являются единственными в природе соединениями, эффективно взаимодействующими с клеточными и липидными мембранами, увеличивающими проницаемость мембран для ионов и органических соединений [3]. Основными представителями ПА являются амфотерицин В, нистатин, микогептин и леворин. На рис. 1 показаны структурные формулы наиболее активных из ПА — амфотерицина В и леворина.

В основе биологического действия ПА лежит формирование ими в липидных мембранах в комплексе с холестерином, эргостерином и другими стеринами структурных ионных каналов молекулярных размеров [2, 4]. Амфотерициновый канал формируется молекулами стерина и антибиотика в стехиометрическом соотношении 1:1. Амфотерицин В с холестерином формирует канал в сте-

Сокращения: УЗ — ультразвук, ПА — полиеновые антибиотики, УФ — ультрафиолет, ДМСО — диметилсульфоксид.

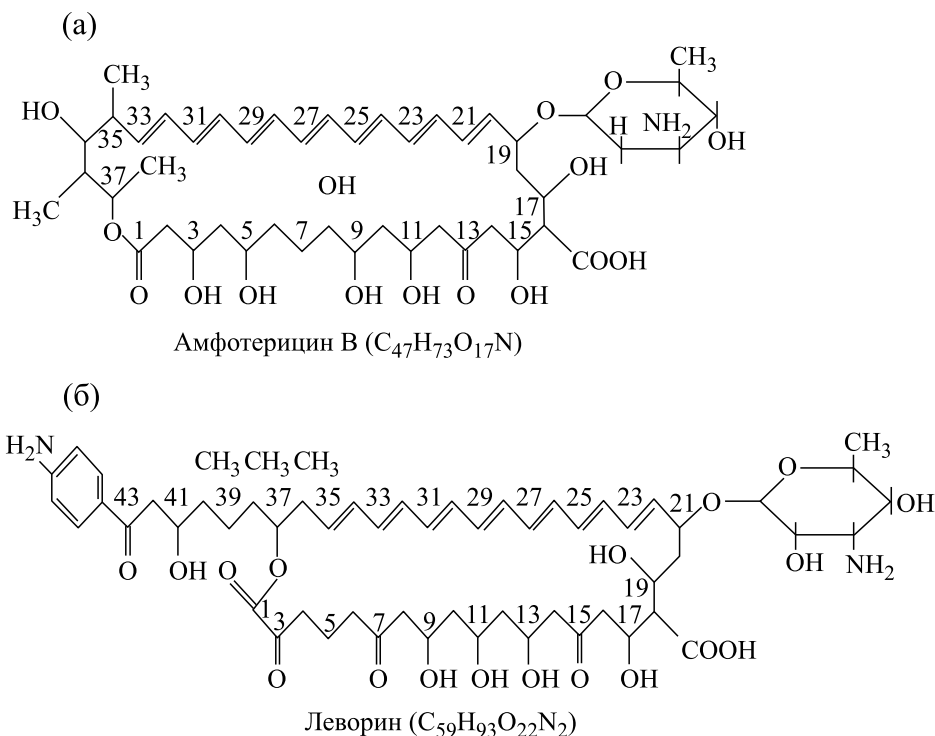


Рис. 1. Химическая структура амфотерицина В (а) и леворина (б).

хиометрическом соотношении 8 : 8. Для различных ПА значения стехиометрических коэффициентов варьируют в пределах 3–17. Внутренний диаметр амфотерицинового канала составляет 8–10 Å. Антибиотик взаимодействует со стеринном путем образования водородной связи между ними [3, 5–8].

Мембраны эритроцитов являются удобным объектом исследования механизма взаимодействия полиенов с клеточными мембранами. Исследование гемолитической активности эритроцитов и их механической стойкости представляет интерес для выяснения количественных закономерностей их биологического действия полиенов.

В настоящей работе исследуется действие ряда производных амфотерицина В и леворина, модифицированных по аминной и карбоксильной группам, на ультразвуковой и индуцированный гемолиз эритроцитов. Исследования характера действия ряда производных амфотерицина В и леворина на клетки эритроцитов могут дать ряд важных рекомендаций для их практического использования в медицине.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для оценки состояния мембран при действии физических (УЗ) и химических (ПА) факторов на клетки разработан кинетический метод УЗ-гемо-

лиза [1, 9, 10]. В качестве объекта исследования были использованы эритроциты, выделенные из венозной крови в норме. Эритроциты подвергали воздействию УЗ в физиотерапевтическом режиме озвучивания с использованием прибора УТ-5, применяемого в физиотерапии. Эритроциты осаждали из 3 мл гепаринизированной или цитратной крови (0.5 мл цитрата + 2.5 мл цельной крови) и двукратно отмывали от плазмы 0.9%-м раствором NaCl (физиологическим раствором). Центрифугирование проводили трижды при 6000 об/мин в течение 10 мин. Концентрация клеток в исследуемой суспензии составила 10^6 – 10^8 кл/мл. Стойкость эритроцитов изучали в условиях непрерывного действия УЗ при частоте 0.88 МГц с интенсивностями от 0.1 до 1.0 Вт/см² при температуре 22°C [10]. В правую кювету фотоэлектрического колориметра помещают исследуемую суспензию эритроцитов, а в левую вводится контрольный раствор. Параметры, характеризующие механическую стойкость эритроцитов (время гемолиза $t_{\text{гем}}$, время полуразрушения t_{50} , скорость гемолиза $V_{\text{гем}}$ и эффективная константа скорости k), определялись непосредственно из экспериментальных кривых [1, 11]. В работе были исследованы амфотерицин В и леворин, а также их алкильные производные и производные леворина – леворидон, изомерная форма леворидона – изолеворидон и карболеворин, которые были предоставлены проф. В.М. Вайнштейном (Санкт-Петербургский

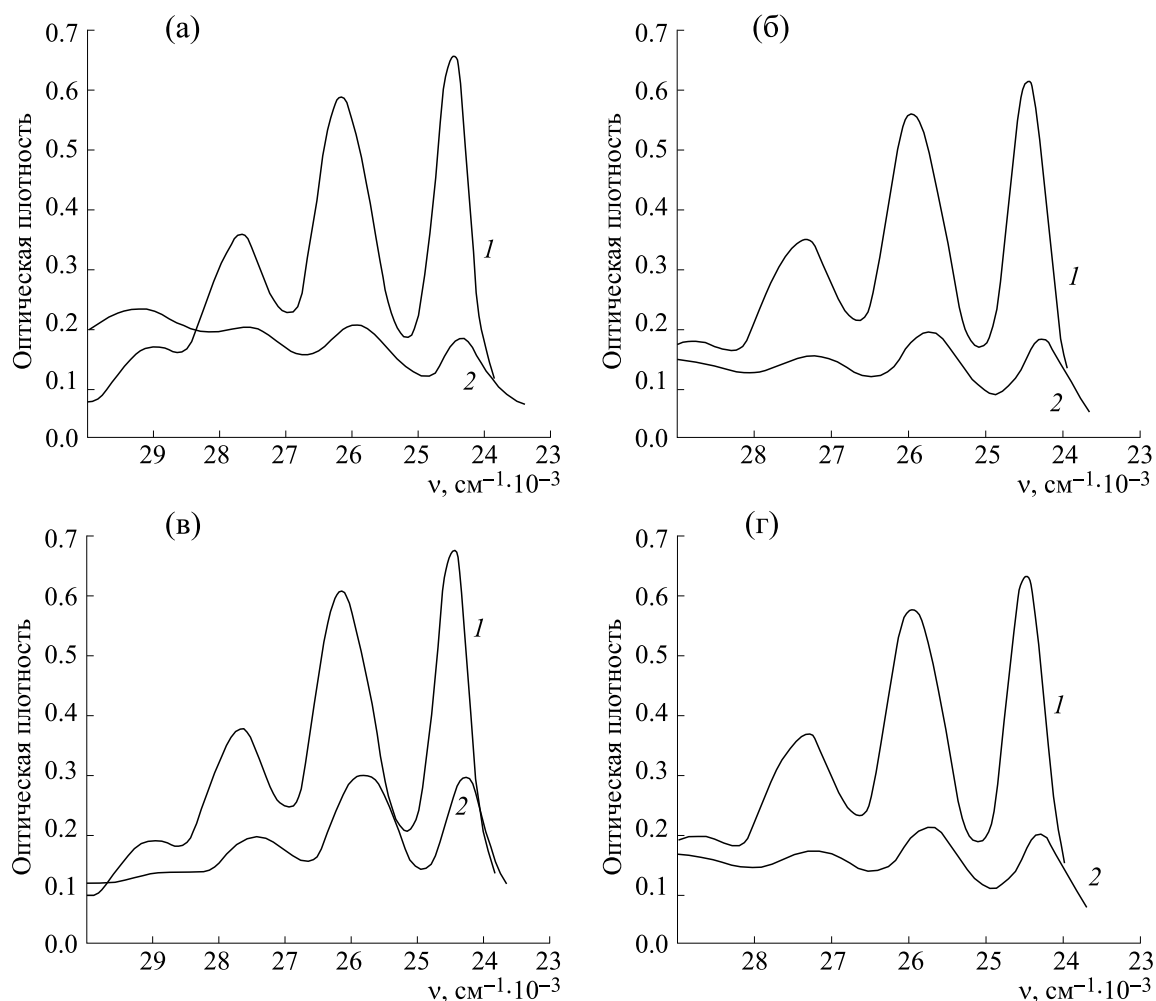


Рис. 2. УФ-спектры исходного амфотерицина В (а) и его алкильных производных: метильных (б), этильных (в) и пропильных (г) в концентрации $3 \cdot 10^{-5}$ М в метаноле (1) и в воде (2). По оси абсцисс — частота оптического поглощения (ν), по оси ординат — оптическая плотность (D).

государственный химико-фармацевтический университет Минздрава России). ПА готовили в виде растворов различной концентрации в диметилсульфоксиде (ДМСО). Амфотерицин В и леворин, а также их производные растворяли в концентрации 1 мг в 1 мл ДМСО, а затем в соответствующих концентрациях вводили в суспензию эритроцитов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Гемолитический эффект эритроцитов, индуцированный ультразвуком. Изучена кинетика гемолиза эритроцитов человека, индуцированного филипином, амфотерицином В и нистатином [10]. Гемолитическая активность филипина связана с увеличением проницаемости мембран для веществ с низкой молекулярной массой (КСИ), а также для макромолекул, включая гемоглобин, в изотонической среде. Предполагается, что амфо-

терицин В и нистатин могут одновременно образовывать ряд транспортных систем, различающихся по своей молекулярной организации и гемолитической активности. Уровень их участия в проницаемости мембран эритроцитов зависит от изменений структурной организации мембран и химического состава инкубационной среды. По своей химической природе ПА относятся к группе макролидных гептаеновых антибиотиков [3]. Благодаря наличию хромофорной цепочки в структуре молекул ПА они имеют типичный спектр в ультрафиолетовой области (УФ-спектр) с тремя основными максимумами поглощения (рис. 2). Биологическая активность ПА зависит от среды, в которой растворяется антибиотик. Макролактонное кольцо амфотерицина В включает в себя полиеновый хромофор с семью сопряженными двойными связями, что находит отражение в УФ-спектре амфотерицина В. Последний имеет три основных максимума поглощения при следу-

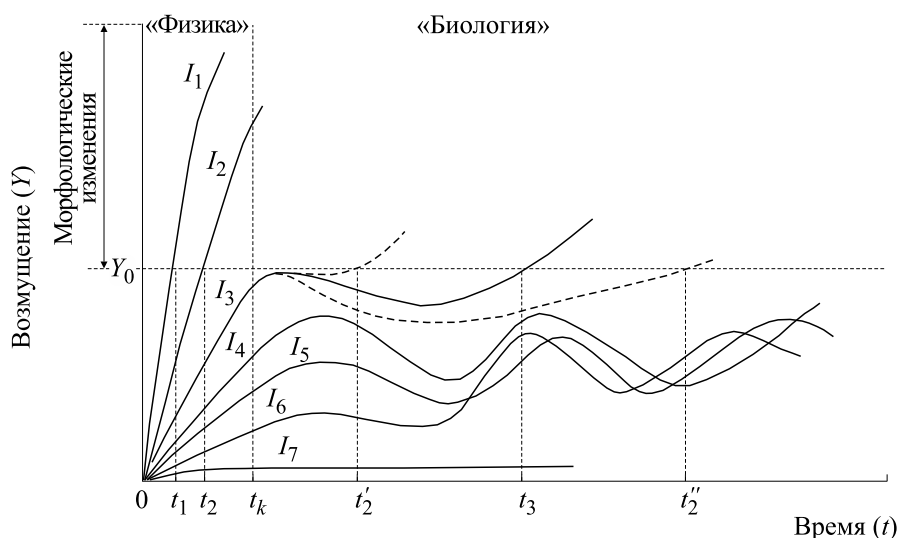


Рис. 3. Зависимость биологических эффектов УЗ от интенсивности и времени озвучивания: ($I_1 \geq 5$ Вт/см², $I_2 = 5-1$ Вт/см², $I_4-I_6 = 1.0-0.4$ Вт/см², I_7 — менее 0.1 Вт/см²).

ющих длинах волн: 358–360, 378–380 и 400–403 нм. На рис. 2 показаны УФ-спектры поглощения амфотерицина В и его алкильных производных в растворе метанола и в водном растворе. Наибольшая молекулярная дисперсность амфотерицина В достигается в органическом растворителе — метаноле (рис. 2, спектры 1) и в ДМСО. Вероятно, биодоступность антибиотика была бы максимальной в таких растворителях. В водном растворе антибиотика в такой же концентрации образуют высокодисперсный коллоидный раствор с характерными максимумами, но меньшей величиной оптической плотности (рис. 2, спектры 2), что объясняет их несколько меньшую активность по сравнению с растворами в метаноле. Таким образом, в растворах ДМСО и метаноле антибиотика находятся в молекулярной форме, и в этой форме они обладают наиболее высокой биологической активностью [9]. В водных растворах полиены находятся в ассоциированной форме и потому они менее активны [3].

Изучены кинетические характеристики действия ПА на гемолиз эритроцитов и их устойчивость к действию ультразвука. Одним из характерных признаков кавитации является УЗ-свечение, которое наблюдается в водных растворах при интенсивности 0.3–0.5 Вт/см² и при частоте >0.88 МГц. В плазме крови порог УЗ-свечения достигается при 0.3 Вт/см² при частоте 1 МГц. На рис. 3 показана зависимость биологических эффектов УЗ от интенсивности и времени озвучивания. Видно, что существует четко выраженная пороговая интенсивность УЗ-воздействия, при превышении ее начинается лизис клеток.

В результате воздействия УЗ в среде возникают градиенты колебательной скорости, обусловленные акустическим течением. В воде при частоте 1 МГц и интенсивности 1 Вт/см² эти колебательные напряжения достигают порядка 200 Н/м² [11]. Для изучения биоэффектов, создаваемых сдвиговыми напряжениями, широко применяют гемолиз красных кровяных телец в суспензии *in vitro* [2, 12]. При близком расположении двух частиц в УЗ-поле между ними возникает сила взаимодействия, обусловленная воздействием на колеблющуюся частицу УЗ и пропорциональная произведению объемов сфер и обратно пропорциональная расстоянию между ними [10, 12, 13]. Если тромбоциты облучать УЗ в присутствии газовых пузырьков, то уже при малой интенсивности (32 мВт/см²) они собираются в сгустки около пузырьков. В случае с эритроцитами действие УЗ с интенсивностью 20–30 мВт/см² приводит к высвобождению АТФ [14].

Проведена аналогия в действии режимов УЗ-озвучивания эритроцитов *in vitro* и сил, возникающих в различных участках кровяного русла *in vivo*. Известно, что в различных участках сосудистого русла реологические характеристики крови неодинаковы. В связи с этим при анализе кровотока необходимо характеризовать реологические показатели (вязкость цельной крови, вязкоэластичность, деформируемость и агрегацию эритроцитов) как в крупных сосудах ($d > 200$ мкм), так и в микрососудистом русле ($d < 200$ мкм). Кровь млекопитающих и человека, течение которых в сосудах описывается степенным законом $y = ax^n$

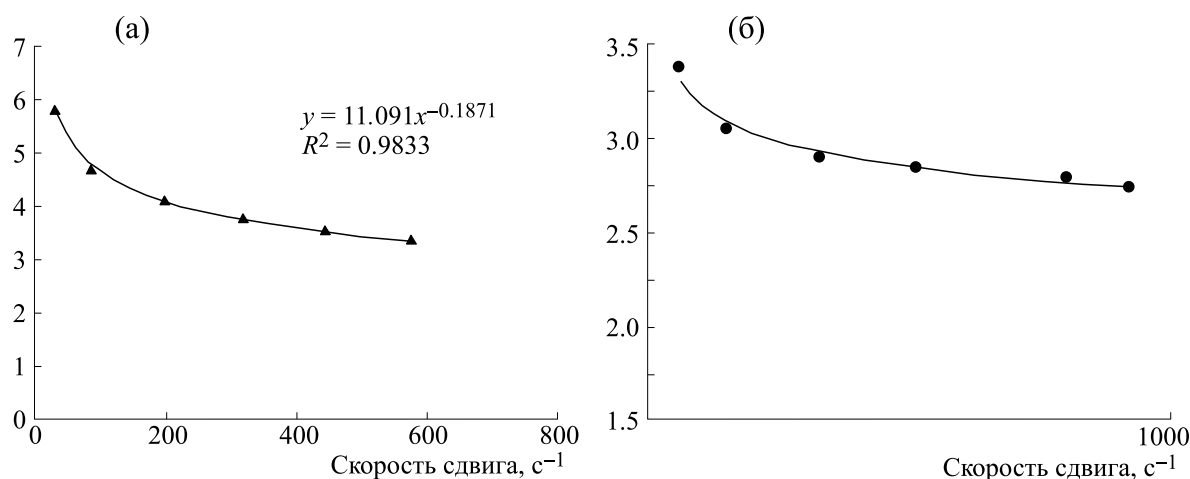


Рис. 4. Типичные кривые течения цельной крови (а) и суспензии эритроцитов (б) (гематокрит 40%) в изотоническом растворе NaCl при разных скоростях сдвига (как аналогов модели неньютоновской жидкости), описываемых степенным законом: $y = ax^n$ [20].

и суспензия эритроцитов в плазме ведут себя подобно неньютоновским жидкостям (рис. 4) [15].

Вязкость плазмы цельной крови в полтора раза выше, чем вязкость изотонического раствора ($1.8\text{--}2.2 \text{ мПа}\cdot\text{с} > 1.10 \text{ мПа}\cdot\text{с}$). В процессе непрерывной циркуляции в кровеносных сосудах клетки крови выдерживают как интенсивные, так и пассивные деформации, что обеспечивается деформируемостью и стабильностью мембран [15]. В связи с этим необходимо отметить, что сопротивление кровотоку в сосудистой системе связано, по-видимому, со снижением вязкости суспензии эритроцитов, с увеличением скорости сдвига, что свидетельствует о существенной роли деформации эритроцитов в потоке и создании вязкого сопротивления кровотоку в сосудистой системе без учета действия таких реологических факторов, как агрегация, гематокрит, вязкость суспензионной среды. Таким образом, человеческая кровь ведет себя подобно неньютоновской жидкости, характерным признаком которой является снижение вязкости с увеличением скорости или напряжения сдвига. Это, по-видимому, обусловлено двумя процессами: формированием агрегатов эритроцитов при низкой сдвиговой скорости, которые полностью распадаются при скоростях сдвига порядка $80\text{--}120 \text{ с}^{-1}$ и потоковой деформацией эритроцитов вместе с их ориентацией вдоль линии потока при средних и особенно высоких скоростях сдвига (выше 50 с^{-1}). Эритроциты диаметром $\sim 8 \text{ мкм}$ при течении в микрососудах диаметром меньше размера самой клетки подвергаются большим напряжениям сдвига. Деформируемость эритроцитов определяет продолжительность их жизни в кровотоке и зависит от формы клетки, внутренней вязкости и механических свойств мембран [15]. На деформацию оказывают влияние также сдвиговые силы (завися-

щие от скорости сдвига и вязкости внеклеточной жидкости) и гематокрит. Повышение вязкости суспензии при высоком гематокрите в основном ведет к увеличению деформации эритроцитов. При определенной величине гематокрита наблюдается снижение деформации. Исследование на моделях разбавленных суспензий эритроцитов позволяет оценить деформируемость эритроцитов в кровотоке. Она повышалась вследствие разжижения потока при влиянии сдвиговых сил, связанных с деформацией и ориентацией клеток в потоке. С учетом вышеизложенного, предложено условное моделирование действия сдвиговых сил на клетки крови в поле влияния УЗ поля на суспензию эритроцитов. В капиллярах эритроциты подвергаются наибольшему риску разрушения, нежели в аорте и артериях. Предложена модель механического разрушения клеток в кровяном русле в поле действия УЗ [1, 16]. При этом реологические параметры клеток в различных частях кровяного русла коррелируют с данными поведения эритроцитов при разных условиях озвучивания. Проведенный анализ позволяет предположить, что между резистентностью клеток при различных режимах УЗ-воздействия и их поведением в кровяном русле существует корреляция, которую можно представить как модель поведения эритроцитов в различных участках кровяного русла.

Таким образом, можно сказать, что в основе механизмов морфологических и функциональных повреждений биологических клеток при физиотерапевтическом режиме озвучивания в УЗ-поле лежат механические факторы — ударные волны, микротоки и акустические течения.

Действие полиеновых антибиотиков на мембраны эритроцитов. Изучены кинетические характе-

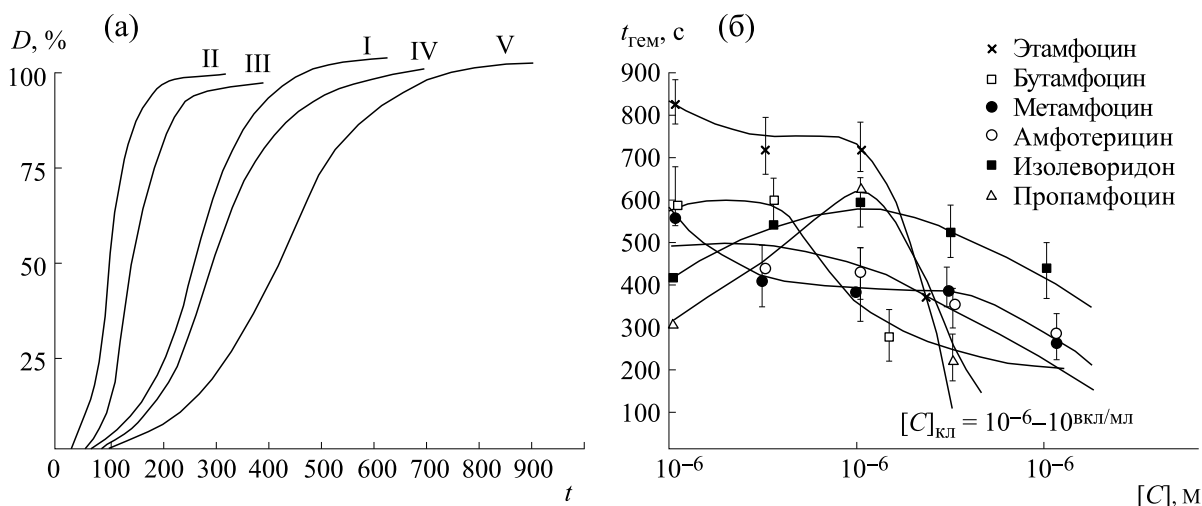


Рис. 5. Сравнение гемолитических эффектов эквимоллярных концентраций ПА. (а) — Кинетические кривые ультразвукового гемолиза эритроцитов в контроле и в присутствии эквимоллярных концентраций ПА: I — контроль, II — амфотерицин В, III — леворин, IV — бутамфоцин, V — изолеворидон (по оси абсцисс — время гемолиза, с; по оси ординат — светопропускание, %). (б) — Зависимости времени гемолиза эритроцитов от концентрации ПА в суспензии эритроцитов.

ристики действия ПА на гемолиз эритроцитов и их устойчивость к действию УЗ. Действие биологически активных соединений на мембраны эритроцитов может привести к нарушению целостности клеток, одним из проявлений которых является гемолиз. Была изучена способность ПА гемолизировать эритроциты в изотонической среде. Показано, что производные амфотерицина В — метамфоцин, этамфоцин, карбоамфоцин и производные леворина — леворидон, изолеворидон, карболеворин — в суспензии эритроцитов обладают гемолитической активностью в изотонической среде в концентрациях 10^{-5} – 10^{-4} М. Однако обработка эритроцитов чистым раствором ДМСО в изотонической среде в концентрации 1%, пропамфоцином и бутамфоцином не приводит к гемолизу. На рис. 5 представлены кинетические кривые гемолиза эритроцитов, индуцированных эквимоллярными концентрациями изученных антибиотиков. Кривые имеют S-образную форму с определенным периодом индукции 5–25 мин (латентным периодом) и подчиняются закону Гомперца. Как видно из рис. 5, гемолитический эффект ПА имеет концентрационный характер. Для характеристики гемолитической активности исследуемых антибиотиков выделяют три основные гемолитические зоны: область стабилизации при концентрациях антибиотика ($>10^{-6}$ М), нормальную составляющую ($\sim 10^{-5}$ М) и участок гемолиза ($<10^{-4}$ М) [10].

При инкубации ПА с эритроцитами в поле действия УЗ также происходит изменение их гемолитической активности. Основные параметры гемолиза определяют механическую резистент-

ность эритроцитов. Результаты этих экспериментов представлены на рис. 6. На рис. 6 представлены сравнительные результаты процесса гемолиза в присутствии ряда ПА. В контрольных экспериментах было изучено действие ДМСО на эритроциты. Концентрацию ДМСО изменяли от 0.1 до 10%, и в пределах указанных концентраций ДМСО существенно не влияет на процесс УЗ-гемолиза.

Из рис. 6 видно, что ПА по-разному влияют на гемолитическую устойчивость эритроцитов в поле действия УЗ волн. Одни антибиотики активируют, другие замедляют, а третьи стабилизируют механическое разрушение эритроцитов. Такого рода изменения механической прочности эритроцитов под влиянием полиенов, по-видимому, могут быть связаны с нарушением микровязкости белково-липидной системы. В то же время некоторые из изученных препаратов препятствуют восстановлению клеток после УЗ-воздействия [10, 14]. Получено, что при интенсивности 0.6 Вт/см^2 и частоте 0.88 МГц , УЗ на 60–100% увеличивает электропроводность бислоевых липидных мембран, а также их проницаемость по отношению к аниону тетрафенилбората; на 10% ускоряет встраивание каналообразующего антибиотика нистатина в матрицу фосфолипидных мембран, что, по-видимому, связано как с изменением механических свойств матрицы, так и с нарушением в прилегающих к ней диффузионных слоях. Предполагается, что ПА, внедряясь в липопротеидную область мембраны, способны взаимодействовать с гидрофобными участками мембран эритроцитов, формируя в них структурные каналы, изменяя при этом ионную проницае-

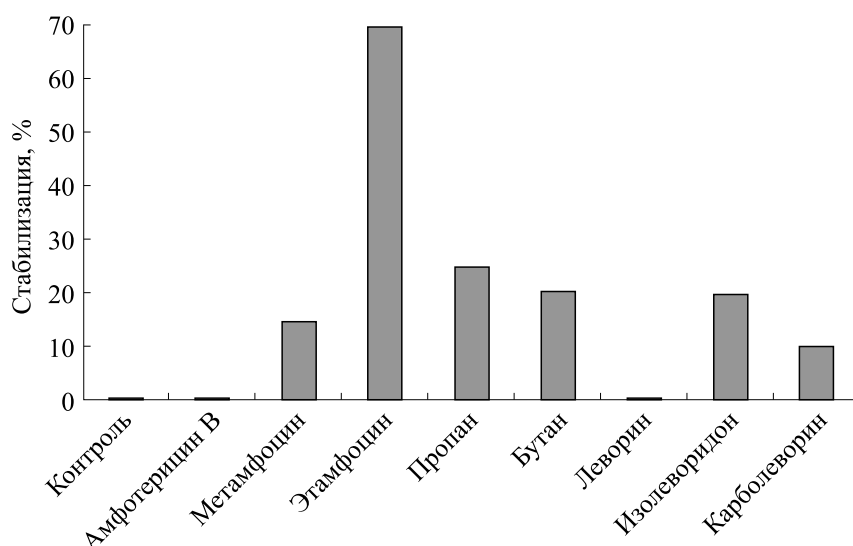


Рис. 6. Действие ПА на процесс стабилизации мембран эритроцитов. По оси абсцисс — изученные препараты, по оси ординат — степень стабилизации (в %) процесса гемолиза в изотонической среде под действием полиенов (10^{-5} М).

мость мембран [3, 14, 17]. В пользу данного предположения говорят результаты экспериментов, полученных при исследовании проницаемости мембран эритроцитов для не электролитов [18].

Ранее было показано, что ПА изменяют проницаемость бислойных липидных мембран для ионов только в том случае, когда в мембранах содержатся стеринны определенной структуры, в частности холестерина или эргостерин [3, 9, 19]. В мембранах эритроцитов содержится большое количество холестерина, и благодаря этой особенности клетки эритроцитов оказываются чувствительными к действию ПА. Полученные результаты подтверждаются ранее проведенными исследованиями механизма взаимодействия ПА с бислойными липидными мембранами на молекулярном уровне [3]. Биологическое действие полиенов может быть связано с изменением проницаемости биологических мембран, содержащих стеринны определенной структуры для ионов и органических соединений [4, 6, 18]. Было показано, что по степени изменения проницаемости липидных мембран ПА можно расположить в ряд с возрастающей биологической эффективностью: филопин > амфотерицин > леворин > нистатин, что согласуется с результатами УЗ-гемолиза (рис. 5) [3, 8, 10, 19].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В последнее время в физиотерапии широко используется совместное применение ультразвука, антибиотиков и химиотерапевтических агентов. При введении мышам с опухолевыми клетками азотистого иприта продолжительность их жизни увеличивалась. Возможно, присутствие

цитотоксических агентов препятствует пораженным клеткам восстанавливать повреждения, вызванные УЗ и наоборот. Полученные результаты важны при использовании УЗ в медицине для выявления оптимальных условий озвучивания. Также отмечено значительное увеличение эффективности рентгеновского облучения в комбинации с УЗ [14]. Показано, что клетки, которые пережили воздействие УЗ и остались неповрежденными, продолжают давать потомство точно так же, как и их необлученные аналоги [17]. Исключение составляли клетки, которые облучались УЗ при повышенной температуре среды [20]. УЗ достаточно высокой интенсивности может привести к деградации ДНК в растворе, что обусловлено кавитацией, действием гидродинамических сдвиговых напряжений и образованием свободных радикалов. УЗ может стимулировать рост дрожжевых клеток и увеличивать скорость синтеза белка. Большинство функциональных изменений в клетках обусловлены взаимодействием УЗ с их мембранами клеток. Например, УЗ может воздействовать на электрофоретическую подвижность клеток [12]. Эритроциты, в отличие от других форменных элементов крови, наименее чувствительны к повреждающему действию УЗ. Считается, что гемолиз вызывается кавитацией или высоким гидродинамическим напряжением [13]. Есть, однако, некоторые признаки того, что гемолиз может происходить при терапевтических интенсивностях в случае коллапсирующей кавитации и в зонах турбулентных потоков. Показано, что АТФ может высвобождаться при низких интенсивностях УЗ, если эритроциты облучаются *in vitro* в присутствии стабильных газовых полостей. В используемом режиме озвучивания основные

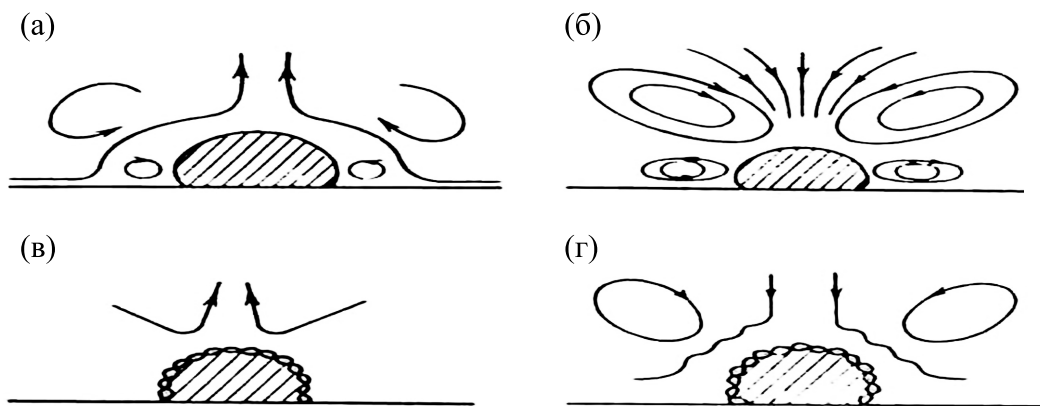


Рис. 7. Схема возникновения акустических течений.

повреждающие факторы — акустические микротечения и сдвиговые напряжения — не вызывают химических изменений в среде озвучивания. При действии внешних факторов на эритроциты меняются механические свойства их стромы. Эти параметры зависят от свойств самих эритроцитов (возраст, форма, реология), от условий озвучивания, фактора воздействия и наличия патологии в организме. Определен наиболее оптимальный (физиотерапевтический) режим воздействия УЗ, используемый в медицинской практике, не приводящий к негативным последствиям [1, 14].

Известно, что акустическая энергия УЗ в биологических средах имеет свойство поглощаться и рассеиваться [1, 10, 21]. С физической точки зрения поглощение акустической энергии обусловлено взаимодействием УЗ с биологическими тканевыми структурами. Если в среде содержатся относительно малые молекулы и среда текучая, то энергия колебательных или вращательных движений, вызванных взаимодействием с акустической волной, не приводит к специфическим химическим или биологическим изменениям и быстро превращается в тепло. В средах менее текучих, содержащих высокомолекулярные соединения, наблюдаются нетепловые специфические эффекты [2, 21]. Энергия, переносимая УЗ-полем, затухает при прохождении ее через вязкую среду и определяется как:

$$I(x) = I_0 e^{-\mu x}, \quad (1)$$

где μ — коэффициент затухания по интенсивности (закон Гомперца). Энергия, рассеянная из основного пучка, может поглощаться в других местах ткани. В поле действия УЗ-волн кинетика гемолиза эритроцитов подчиняется закону Гомперца [1, 20]. В биологических экспериментах используются продольные акустические волны, приводящие к кавитации. Кавитацией называется комплекс явлений, связанных с образованием полостей в жидкости [2, 5], что, в свою очередь,

связано с возникновением свободных радикалов, локально высоких температур, микротоков, ударных волн и кавитационных пузырьков. Число кавитационных пузырьков в 1 см³ жидкости достигает 10⁷, радиус пузырька в момент захлопывания составляет $\sim 10^{-4} - 10^{-5}$ см. Возникающие при захлопывании ударные волны распространяются со сверхзвуковой скоростью [12, 21]. Эффект УЗ в биологических средах также может быть обусловлен действием гидродинамического течения растворителя, возникающего при распространении ударных волн [12]. В водных растворах порог кавитации прямо пропорционален частоте УЗ и обратно пропорционален времени воздействия. Порог кавитации заметно снижается при наличии микронеоднородностей, микроорганизмов и молекул растворимого газа. В условиях кавитации относительно низкая средняя плотность энергии УЗ-поля трансформируется в высокую плотность энергии, локализованную в непосредственной близости от захлопывающего пузырька. В этой области в воде при интенсивностях УЗ ~ 10 Вт/см² возникающее звуковое давление $\sim 10^6$ дин/см² может приводить к разрыву химических связей. Кавитация может быть представлена как явление, при котором в объеме озвучиваемой жидкости образуется новая поверхность, включающая в себя кипение и бурную дегазацию при высоких интенсивностях УЗ [2, 21]. Существуют два типа активности пузырьков — стабильная (стационарная) и коллапсирующая (нестационарная) кавитация. Активность стабильной кавитации связана с возникновением акустических микротоков и высоких сдвиговых напряжений (рис. 7).

Активность коллапсирующих или нестационарных полостей приводит к повышению температуры и давления, а также к возможному использованию энергии УЗ для осуществления химических реакций [2]. Некоторые авторы

предположили, что в акустическом поле газ периодически диффундирует в пузырек во время фазы разряжения и из пузырька во время фазы сжатия [12]. Анализируя различные механизмы гемолиза, можно сказать, что УЗ-гемолиз более динамичный, чем осмотический, что, возможно, связано с более энергичными характеристиками УЗ-поля. Интенсивность УЗ, при которой возникает акустическая кавитация в исследуемом образце, зависит от чистоты, образца, его газосодержания, предварительного воздействия на него УЗ, вязкости, температуры, частоты УЗ и режима импульсного воздействия, а также конфигурации УЗ поля в образце [2, 13]. Так, при действии УЗ (1 МГц, 32 мВт/см²) на эритроциты человека происходит высвобождение АТФ, что можно показать по свечению люциферин – люциферазного комплекса, добавленного в суспензию. Порог этого явления лежит в области 20–30 мВт/см². Эффект не наблюдается в отсутствии пузырьков газа или при более низких интенсивностях УЗ [21].

Исследования проницаемости бислойных липидных мембран для ионов показали, что ПА по возрастающей эффективности своего действия на клеточные и липидные мембраны располагаются в один и тот же ряд, что согласуется с результатами УЗ-гемолиза эритроцитов. Это свидетельствует о корреляции между действием ПА на клеточные и липидные мембраны. Эта корреляция дает возможность использовать количественные параметры УЗ-гемолиза эритроцитов для оценки биологической эффективности ПА в терапевтических целях и в качестве биологически активных фармакологических препаратов [6, 8].

В заключение отметим, что весьма актуально создание новых видов противогрибковых препаратов и изучение их действия в связи с тем, что распространение инфекции ВИЧ способствует развитию грибковой инфекции. Полиеновые антибиотики обладают способностью подавлять грибковые инфекции, развитие гнойных инфекций, рост опухолевых клеток, снимать стрессовое состояние, и это указывает на необходимость использования ПА в биомедицинской практике.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда развития науки при Президенте Азербайджанской Республики (грант № EIF-BGM-3-BRFTF-2+/2017-15/12).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. G. H. Sultanova, V. Kh. Qasimova, T. F. Pashazade, and Kh. M. Kasumov, Rep. Nat. Acad. Sci of Azerbaijan **LXXIV** (2), 58 (2018).
2. C. R. Hill, J. C. Bamber, and G. R. Ter Haar, *Physical principles of medical ultrasonics*, 2nd edit. (Wiley, 2004).
3. X. M. Касумов, *Структура и мембранная функция полиеновых макролидных антибиотиков* (Наука, М., 2009).
4. E. A. Romero, E. Valdivieso, and B. E. Cohen, J. Membrane Biol. **230** (2), 69 (2009).
5. V. Beringue, K. T. Adjou, F. Lamoury, et al., Virology **74**, 5432 (2000).
6. K. C. Gray, D. S. Palacios, I. Dailey, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA **109**, 2234 (2012).
7. B. Cybulska, J. Bolard, O. Seksek, et al., Biochim. Biophys. Acta **1240**, 167 (1995).
8. J. Milhaud, J. V. Ponsinet, M. Takashi, and B. Michels, Biochim. Biophys. Acta **1558**, 95 (2002).
9. В. А. Вайнштейн, Л. Н. Николаевич, Г. Г. Султанова и др., Бюл. эксперим. биологии и медицины, **166** (12) 695 (2018).
10. G. Sultanova, A. Samedova, V. Gasimova, et al., Sylwan **161** (1), 161 (2017).
11. Г. Г. Султанова, А. А. Самедова и X. М. Касумов, Антибиотики, № 9–10, 9 (2007).
12. E. A. Brujan, T. Ikeda, and Y. Matsumoto, Phys. Med. Biol. **50** (20), 4797 (2005).
13. C. H. Farny, R. G. Holt, and R. A. Roy, IEEE Trans. Biomed. Engineer. **57**, 175 (2010).
14. W. D. O'Brien, Progr. Biophys. Mol. Biol. **93** (1–3), 212 (2007).
15. А. В. Муравьев, А. А. Ахапкина, П. В. Михайлов и А. А. Муравьев, Регионарное кровообращение и микроциркуляция **13** (2), 64 (2014).
16. B. C. Wilcock, M. M. Endo, B. E. Uno, and M. D. Burke, J. Am. Chem. Soc. **135** (23), 8488 (2013).
17. C. Garcia-Chaumont, O. Seksek, B. Jolles, and J. Bolard, Antisense Nucl. Acid Drug Dev. **10** (3), 177 (2000).
18. M. Arczewska, G. Czernel, and M. Gagoś, J. Phys. Chem. B **120** (43), 11191 (2016).
19. A. Knopik-Skrocka and J. Bielawski, Cell Mol. Biol. Lett. **7** (1), 31 (2002).
20. A Margulis and I. M. Margulis, J. Phys. Chem. **79** (6), 1142 (2005).
21. G. Sultanova, J. Integrated OMIKS, Spec. Issue **9** (1), 8 (2020).

Physico-Chemical Properties of Erythrocyte Membranes in the Presence of Polyene Antibiotics in an Ultrasound Exam

G.G. Sultanova and Kh.M. Kasumov

Institute of Botany, National Academy of Sciences of Azerbaijan, Padamdart shosse 40, Baku, AZ1004 Azerbaijan

Erythrocyte hemolysis induced by ultrasound and alkyl derivatives of amphotericin B and levorin modified by the amine and carboxyl groups was studied. A kinetic method has been developed for studying the physicochemical characteristics of blood cells during ultrasound physiotherapy. It was shown that the ultrasound interaction with biological systems is based on the cavitation effect. The effects of alkyl derivatives of amphotericin B and levorin on the physicochemical characteristics of erythrocytes were examined. It is assumed that the change in the mechanical stability of erythrocytes in the presence of polyenes is associated with an alteration in microviscosity of the protein-lipid system of erythrocyte membranes through the formation of ion channels. A correlation was found between the effects of polyenes on lipid and cell membranes.

Keywords: polyene antibiotics, erythrocytes, cell resistance, hemolysis, ultrasound