

чутливість метаболічних шляхів, які відповідають за синтез та розпад окремих фосфоліпідів.

Таким чином, отримані дані свідчать про кількісні зміни вмісту фосфоліпідів та величин їх співвідношень, які визначають фізико-хімічні властивості мембран. В групі 2 (модель) спостерігається найбільш виражений перерозподіл вмісту мінорної компоненти ФЛ у мембранах мітохондрій та мікросом гепатоцитів, кількість ФХ та ФЕА вірогідно не змінюється. В умовах досліду за використання "Ессенціале-форте" для препаратів печінки характерним є тенденція до повернення показників до контрольних значень. Терапія за використання БАД FLP-MD призводить до зростання вмісту всіх досліджених фосфоліпідів у мембранах вище контрольного рівня, що може свідчити про прискорення інтенсивності процесу синтезу ліпідів у печінці та відновлення їх кількості в досліджуваних мембранах. Крім того, опираючись на отримані нами дані по дослідженню ліпідного складу апікальної та мітохондріальної мембран ентоцитів тонкої кишки [4] можна відмітити, що БАД FLP-MD має односпрямовану дію на ліпідний стан мембран різних органів. Якщо вміст ліпідів зменшується за умов 2 (модель), то введення БАД FLP-MD призводить до зростання їх вмісту у мембранах.

Висновки. 1. Результати експерименту показали, що ліпідна компонента внутрішньої мембрани мітохондрій гепатоцитів у порівнянні з мікросомальною мембраною піддається більш суттєвим змінам в умовах експерименту. 2. Використання препарату "Ессенціале-

форте" в якості лікувального засобу за умов ентеропатології призводить до відновлення вмісту індивідуальних фосфоліпідів та їх сумарної кількості в обох мембранах. 3. Використання ліпосомальної форми біологічно активної добавки FLP-MD не тільки відновлює ліпідну та фосфоліпідну компоненту мембран, але за цих умов зростає кількісний вміст досліджуваних ліпідів у мембранах, що можливо пов'язане з мобілізацією процесу синтезу ліпідів.

1. Грищенко В.А. Біохімічне та клінічне обґрунтування застосування засобів репаративної терапії на основі фосфоліпідів молока при ентеропатології телят: Автореф. дис. ... д-ра вет. наук. – К., 2006.
2. Плохинский В.М. Математические методы в биологии. – М., 1981.
3. Практикум по биохимии: учебное пособие / Под редакцией С.Е. Северина. – М., 1989. – 509 с. 4. Степанова Л., Грищенко В., Реброва З., Хижняк С. Фосфоліпідний склад мембран ентоцитів за дії добавки FLP-MD // Вісник КНУ імені Тараса Шевченка. Біологія. – 2007. – Вип. 49–50. 5. Цвилюховський Н.И., Усатюк Г.В., Мельничук Д.А. Выделение, очистка и характеристика щеточной каймы и базолатеральной мембран из клеток кишечного эпителия крупного рогатого скота // Укр. биохим. журнал. – 1988. – Т. 60, № 6. – С. 91–94. 6. Эйдус Л.Х., Эйдус В.Л. Проблемы механизма радиационного и химического гомезиса // Радиационная биология. 7. Brockhuysse R.M. Phospholipids in tissues of the eel 1. Isolation characterization and quantitative analysis by dimensional thin-layer chromatography of diacyl and vinyl ether phospholipids // Biochim. Biophys. Acta. – 1968. – Vol. 152, № 2. – P. 307–315. 8. Cristea I.M., Esposti M.D. Membrane lipids and cell death: an overview // Chemistry and Physics of Lipids. – 2004. – Vol. 129. – P. 133–160. 9. Folch J., Lees M., Stanley G.H.S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues // J. Biol. Chem. – 1957. – Vol. 226, № 2. – P. 497–501.

Надійшла до редколегії 08.10.07

УДК 612.36 +591.132.5

Л. Латишенко, асп.,
Є. Решетнік, канд. біол. наук,
С. Весельський, д-р біол. наук,
М. Макарчук, д-р біол. наук

МЕХАНІЗМИ ВПЛИВУ МЕТ-ЕНКЕФАЛІНУ НА ЖОВЧОСЕКРЕТОРНУ ФУНКЦІЮ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ

В гострих спробах на щурах вивчали зовнішньосекреторну функцію печінки під впливом мет-енкефаліну (1мкг/100г маси тіла), антагоніста опіоїдних рецепторів налоксону (10 мкг/100 г) та під впливом блокаторів α і β -адренорецепторів фентоламіну (25 мкг/100г) та обзидану (5 мкг/100г) і блокатору М-холінорецепторів атропіну (2 мкг/100г). Спостерігали значніші зміни жовчоутворення при сумісному послідовному введенні блокаторів опіоїдних рецепторів, α – і β -адренорецепторів та М-холінорецепторів з мет-енкефаліном, аніж при болюсному внутрішньопортальному введенні самого пептиду.

We studied the influence of Met-enkephalin (1mkg/100g), opioid receptors antagonist naloxon (10mkg/100g), α - and β adrenoreceptors (fentolamine (25mkg/100g), obzidane (5mkg/100g)) and M- holinoreceptors (atropine(2mkg/100g)) antagonists on the liver bile secretion function in acute experiment on the rats. We observed more change of bile secretion on influence of Met-enkephalin under the opioid receptors, α - and β adrenoreceptors and M- holinoreceptors blockades by using once of Met-enkephalin.

Вступ. Відомо, що значна кількість пептидів, які, виконують нейромедіаторну функцію і виступають у ролі гуморальних регуляторних факторів, впливають на жовчосекреторні процеси. Зокрема дослідженнями проведеними у Київському національному університеті імені Тараса Шевченка, встановлено, що ендогенні опіоїдні пентапептиди (енкефаліни) істотно змінюють жовчосекреторну функцію печінки щурів при введенні їх у ворітну вену [5]. Виявлено також, що синтетичні аналоги енкефалінів, розроблені, зокрема, як лікарські препарати, або як високо селективні агоністи опіоїдних рецепторів, незалежно від способів введення, виявляють гіпохолеретичні ефекти [5, 6, 10].

Припускають, що ефекти опіоїдних пептидів реалізуються через їх зв'язування з опіоїдними рецепторами. Виділяють 5 типів опіоїдних рецепторів: δ , μ , κ , σ і ϵ . Було також запропоновано існування підтипів опіоїдних рецепторів [10]. Показано, що регуляторний вплив енкефалінів опосередкований мембранними рецепторами гепатоцитів [6]. Однак, дослідження проведені Bergasa et al (1997) вказують на можливу участь парасимпатичних нервів у реалізації ефектів енкефалінів при їх внутрішньомозковому введенні, так як атропін частково (на 40–47%) усуває холестатичні ефекти введення опіоїдних пептидів.

Вагоме значення у реалізації ефектів регуляторних пептидів має швидкість їх руйнування в крові і тканинах різних органів. Молекули енкефалінів руйнуються в організмі під дією енкефалінази – аміноенкефалінази (руйнує зв'язок Tyr-Gly), карбоксиенкефалінази (гідролізує зв'язок Gly-Phe), ендоенкефалінази (гідролізує зв'язок Gly-Gly) і псевдоенкефалінази (мають широку субстратну специфічність). Енкефаліни є короткоживучими пептидами: час їх "напівжиття" у плазмі крові щурів складає лічені хвилини [10].

Беручи до уваги, що зміни інтенсивності секреції жовчі після внутрішньопортальної інфузії мет-енкефаліну спостерігаються впродовж трьох годин досліду можна припустити, що довготривалість ефектів може бути наслідком опосередкованої дії опіоїдного пептиду, в тому числі, за участю нервових механізмів регуляції жовчоутворення. Зауважимо також, що енкефаліни впливають на здійснення нервової регуляції функціонування вісцеральних органів. Так, саме впливом на механізми нервової регуляції пояснюються їх кардіопротекторні ефекти на серцевосудинну систему [3].

Мет-енкефалін знаходиться в тісному функціональному контакті як з адренергічною, так і з серотонінергіч-

ною системами. Він має модуляторну дію, обмежує ефекти активації адренергічної системи і потенціює дію серотонінергічної. Крім того мет-енкефалін міститься в нейронах нейрогіпофіза разом з окситоцином і безпосередньо впливає на секрецію нейрогіпофізарних гормонів, гальмуючи виділення окситоцину [7]. Загалом відомо, що взаємодія між адренергічною та опіоїдною системами здійснюється на пре- і постсинаптичному рівнях. Катехоламіни і опіоїдні пептиди спільно локалізовані в нервових закінченнях, а на адренергічних терміналях наявні опіоїдні рецептори [2, 3].

Отже, враховуючи вищесказане доцільно було дослідити впливи опіоїдного агоністу – мет-енкефаліну на жовчоутворювальну функцію печінки за умов різної активності адрено- та холінорецепторів.

Об'єкт і методи досліджень. Експерименти проведено на білих щурах-самцях масою 180–220г. У ворітну вену інфузували у вигляді розчину ендogenousний опіоїдний пентапептид мет-енкефалін (Sigma, США) в розрахунку 1,0 мкг на 100 г маси тіла тварини.

Блокатор опіоїдних рецепторів налоксон вводили у дозі 10 мкг на 100 г маси тіла тварини.

Блокатори α і β -адренорецепторів фентоламін у дозі 25 мкг на 100 г маси тіла тварини та обзидан у дозі 5 мкг на 100 г маси тіла тварини вводили внутрішньопортально.

Блокатор М-холінорецепторів атропін вводили внутрішньом'язово у дозі 2 мкг на 100 г маси тіла тварини.

Для дослідження секреторної функції печінки тваринам, що перебували під тіопенталовим наркозом (5мг на 100г маси тіла тварини, внутрішньочеревно), проводили лапаротомію з наступним канюлюванням загальної жовчної протоки. Статистична обробка отриманих даних проводилась із використанням методів варіаційної статистики з врахуванням t-критерію Ст'юдента.

Результати та їх обговорення. Внутрішньопортальне введення мет-енкефаліну викликало незначне знижен-

ня швидкості секреції жовчі до 14% протягом 2,5 годин після введення опіоїдного пептиду порівняно з вихідним рівнем (Рис. 1). Кількість продукрованої жовчі у контрольних тварин в середньому за весь період досліду була $1,71 \pm 0,62$ мкл/г, а під впливом опіоїдного пептиду складала $1,34 \pm 0,2$ мкл/г, що на 21,6% нижче і свідчить про гальмування жовчосекреторного процесу цілому.

Зауважимо, що статистично значимих змін порівняно з контролем немає, хоча за даними інших авторів [5] спостерігалось значне зниження швидкості секреції жовчі (до 30%), що можливо пов'язано з різними способами введення пептиду. Так, зокрема в наших дослідженнях ми використовували болюсне внутрішньопортальне введення мет-енкефаліну, в той час як в дослідженнях вищезазначених авторів застосовували інфузію опіоїдного пептиду протягом 30 хвилин 2-х мл розчину.

Внутрішньопортальне введення налоксону викликало незначне підвищення рівня об'ємної швидкості секреції жовчі порівняно з контролем. Рівень жовчоутворення коливався в межах 1,83–1,94 мкл/г маси тіла. Слід відзначити, що за даними літератури [9] антагоністичний вплив налоксону на опіоїдні рецептори всіх типів унеможливує гіпохолеретичну дію ендogenousних енкефалінів, присутніх в організмі піддослідних тварин, що не збігається з отриманими нами результатами досліджень. Сумісне введення налоксону з мет-енкефаліном за динамікою нагадувало пригнічуючий ефект окремо введенного пептиду, що може бути свідченням опосередкованого впливу опіоїдного пептиду на жовчосекреторну функцію печінки. Цікаво, що встановлена здатність налоксону змінювати частоту серцевих скорочень, активність дихального центру і такі його ефекти нагадують дію морфіну в схожих умовах експерименту. Вплив налоксону був слабший в порівнянні з дією "класичних" опіоїдних агоністів, але сама його присутність дозволила авторам говорити про часткову антагоністичну активність налоксону [1].

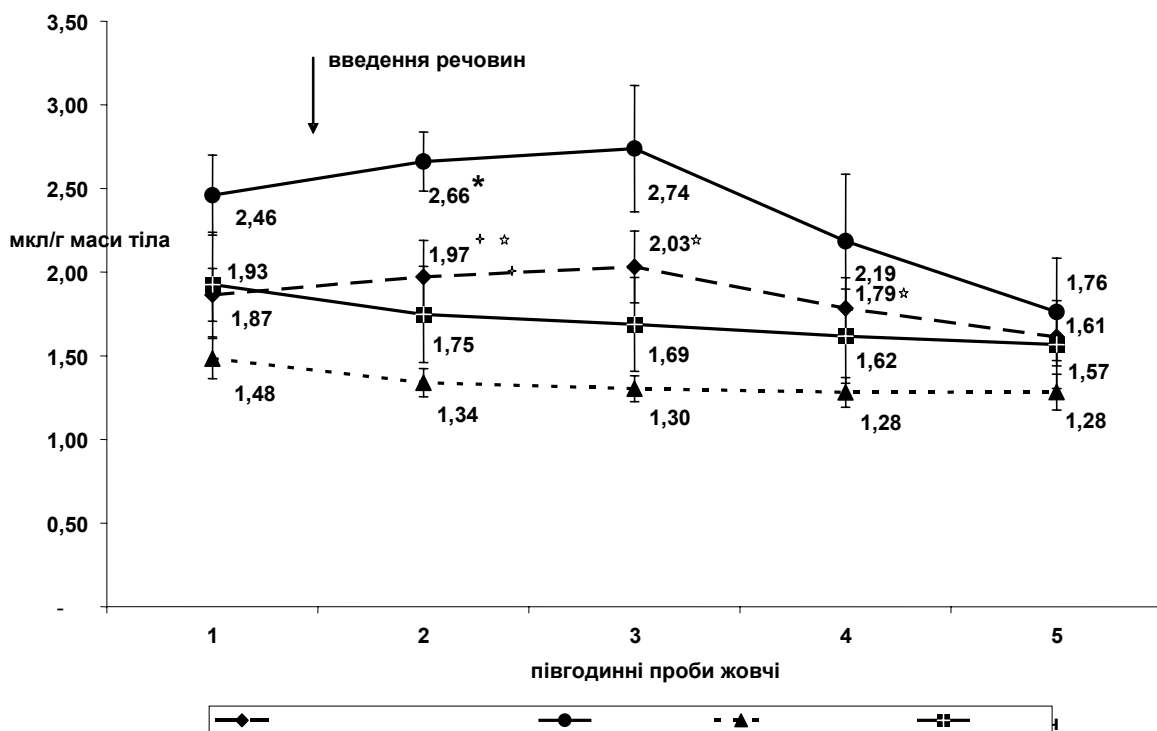


Рис. 1. Динаміка секреції жовчі під впливом фентоламіну в дозі 25 мкг/100 г маси тіла тварин та сумісного введення фентоламіну з мет-енкефаліном щодо мет-енкефаліну

Примітка: * – $p < 0,05$ – введення фентоламіну порівняно з контролем;
 – $p < 0,05$ – введення фентоламіну порівняно із сумісним введенням фентоламіну та мет-енкефаліну;
 – $p < 0,05$ – сумісне введення фентоламіну з мет-енкефаліном та окремо введенням мет-енкефаліном.

Оскільки, нервові шляхи, якими до печінки потрапляють стимулюючі та гальмівні імпульси представлені холінергічними волокнами блукаючих і діафрагмальних нервів та адренергічними волокнами симпатичних нервів, для з'ясування опосередкованого впливу опіоїдного пептиду на секрецію жовчі через симпатичну нервову систему, використовували блокатор α -адренорецепторів фентоламін.

Секреція жовчі при внутрішньопортальному введенні фентоламіну посилюється в середньому вдвічі в другій півгодинній пробі дослідження ($P < 0,05$) порівняно з контролем. Отже, можна припустити, що при блокаді адренорецепторів фентоламіном за умов нашого дослідження усувається пригнічуючий вплив адренергічної системи на жовчосекреторну функцію.

При введенні мет-енкефаліну на фоні блокади адренорецепторів фентоламіном швидкість секреції жовчі в першій пробі знижується на 26% ($P < 0,05$) порівняно із введенням самого фентоламіну. Однак, рівень секреції жовчі при сумісному введенні опіоїдного пептиду з фентоламіном 56% ($P < 0,05$) вищий ніж при введенні самого мет-енкефаліну (Рис. 1).

Отже отримані зміни секреції жовчі при дії мет-енкефаліну за умов блокади α -адренорецепторів фентоламіном і відсутність змін при введенні самого мет-енкефаліну вказують на істотну роль відповідних адренорецепторів у реалізації фізіологічної ролі мет-енкефаліну, як регулятора секреторних процесів.

Для з'ясування можливої опосередкованої дії мет-енкефаліну через β -адренорецептори гепатоцитів застосовували неселективний їх блокатор обзидан.

Обзидан викликає незначне підвищення швидкості секреції жовчі відносно контролю.

Однак, послідовна внутрішньопортальна інфузія обзидану і мет-енкефаліну пригнічує швидкість секреції жовчі на 58% ($P < 0,01$) порівняно з введенням самого обзидану, так і порівняно із введенням окремо мет-енкефаліну на 44% ($P < 0,001$) в кінці дослідження (Рис. 2). Ймовірно, такі зміни є результатом сумарної дії обзидану і мет-енкефаліну та можуть свідчити про вплив β -адренорецепторів на процеси регуляції жовчосекреторної функції печінки.

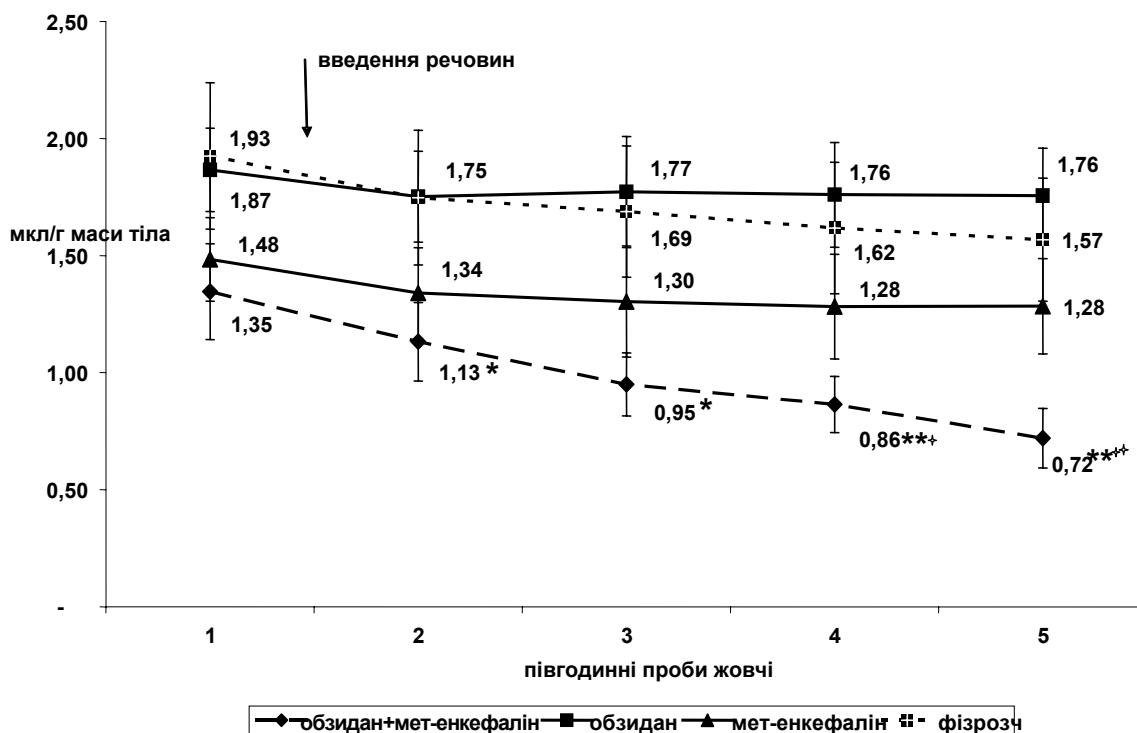


Рис. 2. Динаміка секреції жовчі під впливом обзидану в дозі 5 мкг/100 г маси тіла тварин та сумісного введення обзидану з мет-енкефаліном щодо мет-енкефаліну

Примітка:

- $p < 0,05^*$ та – $p < 0,01^{**}$ сумісне введення обзидану з мет-енкефаліном та окремо введенням мет-енкефаліном;
- $p < 0,05^*$ та – $p < 0,01^{**}$ введення обзидану порівняно із сумісним введенням фентоламіну та мет-енкефаліну.

Згідно даних літератури регуляторний вплив опіоїдних пептидів на жовчосекреторну функцію може бути пов'язаний з парасимпатичними механізмами регуляції секреції жовчі. Виявлене зниження швидкості секреції жовчі при внутрішньомозковому введенні опіоїдів пов'язується, зокрема, з парасимпатичними механізмами регуляції жовчотоку, оскільки атропін частково (на 40–47%) усуває холестатичні ефекти опіоїдних пептидів [9]. Взаємодія опіоїдної і холінергічної систем почала розглядатися науковцями при дослідженні ноцицептивних реакцій організму [2]. Так, було продемонстровано, що (-)-N-аллїлнорметазоцин (синтетичний ліганд опіоїдних

рецепторів непептидної природи) зв'язується з холіорецепторами, а морфін усуває дію ацетилхоліну на різні популяції кіркових нейронів кори головного мозку кролика. Слід відмітити, що лей-енкефалін пригнічує скорочення прямої кишки, викликане ацетилхоліном. Взаємодія опіоїдної й холінергічної систем здійснюється і на пресинаптичному рівні: опіоїдні пептиди блокують вивільнення ацетилхоліну з пресинаптичних депо. Разом з тим, ацетилхолін викликає вивільнення мет-енкефаліну в середовище у первинній культурі хромафінних клітин наднирників [2]. Враховуючи вище сказане, для з'ясування можливих механізмів дії мет-енкефаліну із залучен-

ням парасимпатичної нервової системи було використано блокатор М-холінорецепторів – атропін.

Атропін – це алкалоїд, який є екзогенним лігандом холінорецепторів, що обумовлено деякою подібністю його хімічної структури з молекулою ацетилхоліну. Фармакологічна дія атропіну – блокада М-холінорецепторів, хоча він виявляє і слабкий вплив на Н-холінорецепто. Блокатор М-холінорецепторів атропін при внутрішньом'язевому введенні в дозі 2 мкг/100 г знижує секрецію жовчі на 14% порівняно з вихідним рівнем, але практично не змінює рівень жовчоутворення порівняно з контролем. Таким чином, зниження інтенсивності секреції жовчі при дії атропіну викликане пригніченням стимулюючої дії парасимпатичної нервової системи на жовчосекреторну функцію печінки. За умов внутрішньопортального введення мет-енкефаліну при блокаді М-холінорецепторів атропіном рівень секреції жовчі практично не змінюється порівняно із введенням самого атропіну. Рівень секреції жовчі при сумісному введенні атропіну з мет-енкефаліном є вищим (до 18%) ніж при введенні окремо мет-енкефаліну (однак ці зміни не є достовірними).

Односпрямованість дії, а саме збільшення об'єму виділеної жовчі під впливом самого атропіну та атропіну з мет-енкефаліном вказує на можливість залучення парасимпатичної нервової системи до реалізації регуляторного впливу мет-енкефаліну на жовчосекреторну функцію печінки щурів.

З даних літератури відомо, що зниження рівня жовчоток при внутрішньошлунковій ін'єкції DAME може відбуватися лише за умов цілісності зв'язку між мозком і печінкою [9]. У регуляції жовчосекреторної функції печінки безміхурових тварин, якими є щури, основна роль належить адренергічним механізмам [4, 8]. Однак, виявилось, що хімічна симпатектомія не усуває гіпохолеретичної дії DAME [9]. Не зважаючи на розбіжності у постановці досліду, зокрема, у способі введення опіоїдного пептиду, отримані нами результати повністю узгоджуються з даними Bergassa et al (1999). Так, попере-

дне введення фентоламіну частково усувало гіпохолеретичні ефекти мет-енкефаліну. Цікаво відзначити, що сам фентоламін викликав підвищення об'ємної швидкості секреції жовчі, що, ймовірно, пов'язано з унеможливленням пригнічуючої дії ендогенних агоністів α -адренорецепторів на жовчосекреторні процеси. При сумісному введенні блокатора β -адренорецепторів обзидану і мет-енкефаліну спостерігалась сумація холестатичної дії обох препаратів.

Висновки. Отже, ми спостерігали значніші зміни жовчоутворення при сумісному послідовному введенні блокаторів опіоїдних рецепторів, α - і β -адренорецепторів та М-холінорецепторів з мет-енкефаліном, аніж при болюсному внутрішньопортальному введенні самого пептиду. Можливо, ефекти енкефалінів, зокрема, мет-енкефаліну на жовчосекреторну функцію істотніше проявляються за умов зміни функціонального стану нервової системи, а саме, при блокаді певних ланок нервової регуляції жовчоутворення.

1. Головки А.И., Головки С.И., Леонтьева Л.В., Романенко О.И., Конопкин Д.А. // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2003. – Т. 66. – С. 71–78.
2. Громов Л.А. Нейропептиды. – К., 1992. – 248 с.
3. Лишманов Ю.Б., Маслов Л.Н. Эндогенная опиоидная система и устойчивость сердца к аритмогенным воздействиям // Экспериментальная кардиология. – 2002. – №3. – С. 51–56.
4. Лященко П.С., Весельский С.П. Роль адренергических нервов в передаче влияния гипоталамуса на секреторную деятельность печени // Проблемы физиологии гипоталамуса. – 1991. – Вып. 25. – С. 44–48.
5. Масюк Т.В., Весельский С.П., Масюк А.И. // Физиологический журнал. – 1995. – Т. 41, №3–4. – С. 3–8.
6. Решетник Е.М., Філінська О.М., Рибальченко Т.В. Физиологические та молекулярные механизмы эффектов енкефалинов // Проблемы экологической та медицинской генетики і клінічної імунології. – 2004. – Выпуск 9 (62).
7. Смятний В.П., Чернуха Г.Е., Морозова О.М. Эндогенные опиоидные пептиды и эндокринная функция репродуктивной системы // Акуш. и гинеко. – 1990. – № 4. – С. 50–52.
8. Тукаев С.В. Участие адренергических механизмов в регуляции жовчовиділення: Автореф. дис.... канд. біол. наук. – К., 1999. – 17 с.
9. Bergasa N.V., Zhou J., Ravi J., Shi Q. The opioid peptide analog D-Ala2-Met-enkephalinamide decreases bile flow by a central mechanisms // Peptides. – 1999. – V 20. – P. 979–986.
10. MacKinnon K.L., Zuzel K.A., Billington D. Hepatic inactivation of Leu-enkephalin // Regulatory Peptides. – 1996. – V.67. – P. 85–92.

Надійшла до редколегії 02.03.08

УДК 576.3

К. Лапшина, студ.,
О. Маслова, студ.,
Н. Скрипник, канд. біол. наук,
М. Дзержинський, д-р біол. наук

ЗАГАЛЬНОБІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН, ЯК ОСНОВНОГО ДЖЕРЕЛА ФІЗІОЛОГІЧНОГО РОЗВИТКУ ТА РЕГЕНЕРАЦІЇ

Проаналізовано основні положення теорії стовбурових клітин, подана їх загальна характеристика, а також аналіз початкових етапів ембріогенезу, механізмів диференціації стовбурових клітин та морфо-функціональних особливостей різних ліній стовбурових клітин.

Main assertions of the stem cell theory are analyzed, their general characteristics are presented in addition to the analysis of the initial phases of the embryogenesis, mechanisms of the stem cell differentiation and morpho-functional peculiarities of different lines of stem cells.

Вступ. В останні роки все більше уваги приділяють дослідженням стовбурових клітин (СК) із врахуванням можливості їхнього клінічного використання. Практичне застосування СК пов'язано з цілим рядом проблем, зумовлених як складністю їх отримання, так і з проблемами направленої диференціації, культивування та трансплантації культивованих тканин. Зазначимо, що культивування СК значно ускладнюється їх високою чутливістю до стресових факторів, в тому числі окисників.

Згідно сучасним поглядам виділяють ембріональні стовбурові клітини (ЕСК) та ССК. З етичних міркувань клітини, отримані з раннього зародка людини, не можуть бути використані з терапевтичною метою, не дивлячись на високий потенціал диференціювання. ССК,

що присутні практично у всіх тканинах дорослої людини мають значно більший потенціал диференціації, ніж вважалося раніше. У зв'язку з цим, вони знаходять все більше застосування в аутологічній клітинній та тканинній терапії, яка має ряд переваг перед пересадкою цілих органів [1]. Нині можливим є лікування та відновлення органів, введенням в них суспензії клітин, вирощених з СК.

Загальна характеристика СК. Останні роки характеризуються справжньою революцією у дослідженні СК. Саме поняття "стовбурові клітини" існує давно, проте раніше воно використовувалося, в основному, щодо кровотворних клітин [1]. Сучасне визначення виглядає наступним чином: СК – це унікальні клітини, які мають