

сильний тканинний рівень організації в регуляцію печінкових функцій.

Висновки. Норадреналін справляє збуджуючий вплив на гепатоцити, що проявляється у збуджуючій гіперполяризації клітин. Ацетилхолін викликає збуджуючу гіперполяризацію гепатоцитів, але його дія є менш вираженою, ніж норадреналіну. Субстанція Р не впливає на мембранний потенціал гепатоцитів, що може свідчити про відсутність тахікінінових рецепторів на їх мембрані в нормі. Стимулюючий вплив субстанції Р на інтактну печінку, ймовірно, пов'язаний з "каскадною" реакцією.

1. Ашмарин И.П. Гипотеза о существовании новой высшей категории в иерархии регуляторных пептидов // Нейрохимия. – 1987. – Т. 6, № 1. – С. 23–28. 2. Лященко Т.П., Чапенко П.К. Влияние стимуляторов та ингибиторов секреции желчи на электрические свойства печени // Вісник Київського національного університету. – 2005. – № 10. – С. 10–11. 3. Aliev R.R., Fedorov V.V., Rozenshtaukh L.V. Study of the effect of acetylcholine on the excitability of true pacemaker cells of rabbit sinus node using computer simulation // Biochemistry, Biophysics and Molecular Biology. – 2005. –

Vol. 402. – P. 223–225. 4. Carrier N., Connat J.L. Rat common bile duct: structure, pharmacological responsiveness, CGRP innervation, and binding sites // Gen. Comp. Endocrinol. – 1995. – Vol. 100, № 2. – P. 482–490. 5. Dupont G., Tordjmann T., Clair C., Swillens S., Claret M., Combettes L. Mechanism of receptor-oriented intercellular calcium wave propagation in hepatocytes // FASEB J. – 2000. – №14. – P. 279–289. 6. Fitz J.G., Sostman H. Nucleotide receptors activate cation, potassium, and chloride currents in a liver cell line // Am. J. Physiol. – 1994. – 266. – P. G544–G553. 7. Lidofsky S.D., Fitz J.G., Weisiger R.A., Scharschmidt B.F. Hepatic taurocholate uptake is electrogenic and influenced by transmembrane potential difference // Am. J. Physiol. – 1993. – 264. – P. G478–G485. 8. Magnusson L., Thulin L. Effects of substance P on CCK- or VIP-induced cholestasis in anesthetized dogs // Acta. Chir. Scand. – 1979. – Vol. 106, № 3. – P. 293–297. 9. Merriam L.A., Parsons R.L. Activation of phospholipase C is required for substance P induced current generation in guinea pig intracardiac neurones // Journal of Physiology. – 1999. – Vol. 526. – P. 287–298. 10. Sanchez-Gutierrez J.C., Sanchez-Arias J.A., Samper B., Feliu J.E. Modulation of gluconeogenesis by epinephrine in hepatocytes isolated from genetically obese (fa/fa) Zucker rats // Arch. Biochem. Biophys. – 2000. – Vol. 373(1). – P. 249–254.

Надійшла до редколегії 10.12.06

УДК: 577.164.3:612.82:612.014

І. Тубальцева, асп., Є. Тукаленко, наук. співроб.,
М. Макачук, д-р біол. наук, В. Лозова, студент

КВЕРЦЕТИН ПОПЕРЕДЖУЄ ЗМІНИ УМОВНОРЕФЛЕКТОРНОЇ ІНСТРУМЕНТАЛЬНОЇ ДІЯЛЬНОСТІ ЩУРІВ ПІСЛЯ ВПЛИВУ ІОНІЗУЮЧОЇ РАДІАЦІЇ У ДОЗІ 2,5 ГР

Вивчено можливість попередження кверцетином негативних наслідків впливу іонізуючого випромінювання на інструментальну діяльність щурів за результатами щотижневого тестування тварин у човниковій та скіннеровській камерах впродовж двох місяців після γ-опромінення (2,5 Гр). Кверцетин, який застосовувався впродовж 14 діб перед опроміненням, ефективно попереджував постпроменеві зміни показників умовнорефлекторної діяльності.

The possibility of the ionizing radiation negative consequences on the rats' instrumental activity quercetine-induced prevention measured by weekly testing in shuttle and Skinner chambers during two months after γ-exposure (2,5 Gy) was examined. Quercetin administrated for 14 days before the exposure, effectively prevented postexposure changes of conditioned activity indices.

Вступ. На теперішній час вважається, що цілий ряд патологічних станів, які спричинені впливом шкідливих чинників різної природи, мають універсальний механізм розвитку – оксидантний стрес, викликаний інтенсифікацією вільнорадикальних процесів [3, 5, 8]. Вплив низькоінтенсивної іонізуючої радіації можна розглядати як неспецифічний чинник, що посилює вільно радикальне окиснення [3]. Суттєва роль оксидантного стресу у розгортанні ефектів дії іонізуючої радіації підтверджена хемілюмінесцентними, біохімічними та фізіологічними методами як у клінічних, так і в експериментальних дослідженнях щодо можливості зменшення радіаційних ефектів за допомогою антиоксидантів [6, 7, 9]. Виходячи з цього, обґрунтовується застосування засобів з антиоксидантними властивостями для попередження чи зменшення порушень, що виникають за умов впливу на організм несприятливих чинників різної природи, в тому числі радіаційного фактору [3, 6, 8, 9]. Проте, широке застосування антиоксидантної терапії виявило, що навіть тоді, коли роль порушень окиснювального гомеостазу у патологічних процесах не викликала сумніву, використання антиоксидантів часто не призводило до очікуваного позитивного ефекту, а іноді викликало навіть негативну реакцію [2]. Визначення ефективності застосування антиоксидантних засобів залишається однією з актуальних та складних проблем, якій присвячено велика кількість сучасних досліджень.

Серед антиоксидантних засобів значна увага приділяється флавонолу кверцетину, біологічна активність якого, як усіх флавоноїдів, визначається високою здатністю до окиснення. Кверцетин інгібує пероксидацію,

акцептує гідроксильний радикал та супероксиданіон, знешкоджує пероксильні радикали ROO [1].

Метою роботи було вивчити можливість попередження кверцетином негативних змін інструментальної діяльності щурів після γ-опромінення у дозі 2,5 Гр.

Об'єкт та методи досліджень. Дослідження проведені на 41 статевозрілих білих щурах самцях, які утримувалися в умовах віварію на стандартному харчовому раціоні за природного режиму освітлення. Доступ до води та їжі був вільним (якщо інше не передбачалося умовами досліду, як це мало місце перед тестуваннями у скіннеровській камері). За результатами фонових досліджень (до впливу чинників опромінення та кверцетину) тварини були розподілені на наступні врівноважені групи:

- контрольні щури (10 тварин);
- щури, які були опромінені у дозі 2,5 Гр (13 тварин);
- щури, які отримували кверцетин (9 тварин);
- щури, які отримували кверцетин та були опромінені у дозі 2,5 Гр (9 тварин).

Щури відповідних груп отримували кверцетин (Acros organics, США) per os впродовж 14 діб перед опроміненням (100 мг*добу⁻¹*тварину⁻¹). Одноразове тотальне γ-опромінення тварин у дозі 2,5 Гр здійснювали за допомогою терапевтичної установи "Рокус" (60 Со; 1,12 Гр/хв). Після опромінення впродовж двох місяців проводили щотижнє тестування тварин у човниковій та скіннеровській камерах.

У човниковій камері досліджували умовнорефлекторну діяльність за модифікованою методикою, з використанням одного безумовного (електричний струм

0,8 мА) та двох умовних подразників: звука (частота 3 кГц, амплітуда 85 дБ) та світла (13,5 Вт, локально). Один з умовних сигналів був основним, на який тварина мала здійснити реакцію уникнення, а другий – додатковим, який тварина повинна була віддиференціювати та загальмувати захисну локомоторну реакцію. Значущість подразників змінювалась кожного наступного тестування. Параметри застосування сигналів: тривалість дії умовного подразника до початку дії безумовного – 4 сек, тривалість одночасної дії умовного та безумовного подразників – 10 сек, міжсигнальний період – $25 \pm 22,5$ сек, кількість спроб – 100. Подача основного та додаткового диференціюючого умовних стимулів здійснювалась рандомізовано. Визначали та аналізували наступні показники умовнорефлекторної діяльності: загальну кількість умовних рефлексів активного уникнення (% до максимально можливих), середній латентний період уникнення (сек), кількість спроб до першого умовного рефлексу, кількість міжсигнальних реакцій, кількість спроб до першої міжсигнальної реакції.

У камері Скіннера досліджували показники оперантної діяльності тварин впродовж 20 хв у режимі фіксованого співвідношення, яке збільшували на одиницю через кожен тиждень (щоб уникнути зменшення мотивації). Перед кожним тестуванням тварини зазнавали добової питної депривації. Умовним сигналом було світло, як позитивне підкріплення використовували молоко. Визначали та аналізували показники загальної кількості реалізованих умовних рефлексів (кількість отримання підкріплення) та загальної оперантної активності (кількість натиснень на педаль).

Статистичну обробку результатів проводили з використанням дисперсійно-регресійного аналізу, який дає змогу визначити напрям та вірогідність впливу кожного з застосованих чинників на поведінкові показники. Рівняння множинної регресії накопичення кумулятивних значень показників мало наступний загальний вигляд:

$$Y = a_0 + a_1 \cdot T + a_2 \cdot R + a_3 \cdot Q + a_4 \cdot R \cdot Q$$

де: Y – залежна змінна (показник поведінки); a_0 – вільний член (константа); T – чинник часу (доба після опромінення); R – чинник опромінення (1 або 0); Q – чинник застосування кверцетину (1 або 0); a_i – коефіцієнти рівняння множинної регресії (кутові коефіцієнти).

Обробку одержаних даних проводили з використанням ППП Microsoft Excel 2000, Statistica 6.0.

Результати та їх обговорення. Напрямок впливу досліджуваних чинників на зміни показників активного уникнення, які відбивають рівень умовнорефлекторної діяльності тварин, в цілому був однаковим. Так, проведений регресійний аналіз кумулятивних значень показника кількості умовних рефлексів активного уникнення свідчить про негативний вплив опромінення на досліджуваний показник ($a_2 = -22,9$; $p < 0,05$). Отримування кверцетину збільшувало кількість умовних рефлексів як у неопромінених тварин ($a_3 = 33,8$; $p < 0,01$), так і у опромінених ($a_4 = 18,9$; $p > 0,05$) ($\Sigma a_2 - a_4 = 29,8$). Взаємодія кверцетину та опромінення виявилася невірогідною, тому позитивну дію антиоксиданту у опромінених тварин слід розглядати як атрибутивний вплив окремих чинників, які обумовлюють утворення та знешкодження вільних радикалів.

Регресійний аналіз кумулятивних значень показника середньої тривалості латентного періоду реакції уникнення свідчить про негативний вплив чиннику опромінення, яке призводило до збільшення досліджуваного показника ($a_2 = 0,45$; $p < 0,01$). У неопромінених тварин застосування кверцетину не впливало на обговорюваний показник ($a_3 = -0,21$; $p > 0,01$). Натомість чинник взаємодії кверцетину та опромінення виявився вірогідним ($a_4 = -0,48$; $p < 0,05$), що врешті-решт і обумовлює зменшення цього показника у опромінених тварин, які отримували кверцетин у порівнянні з контролем ($\Sigma a_2 - a_4 = -0,24$).

Визначені коефіцієнти рівняння множинної регресії дають підстави стверджувати що опромінення сповільнює швидкість навчання у опромінених щурів ($a_2 = 42,8$; $p < 0,001$), в той час як рівень показника кількості спроб до першого умовного рефлексу у неопромінених тварин, які отримували кверцетин, у порівнянні з контролем зменшувався ($a_3 = -22,6$; $p < 0,05$). В той же час у тварин, які отримували кверцетин та були опромінені зменшення обговорюваного показника мало значно меншу вираженість ($a_4 = -24,4$; $p > 0,05$) ($\Sigma a_2 - a_4 = -4,2$).

Показники поведінки уникання, які відбивають збудженість тварин під впливом застосовуваних факторів змінювалися вельми подібно один до одного. Так, опромінення не впливало на показник загальної кількості міжсигнальних реакцій ($a_2 = 3,9$; $p > 0,05$), а застосування кверцетину збільшувало цей показник як у неопромінених, так і у опромінених щурів ($a_3 = 30,3$; $p < 0,01$) ($a_4 = -21,1$; $p > 0,05$) ($\Sigma a_2 - a_4 = 13,1$). Вплив чинників опромінення та взаємодії кверцетину та опромінення на показник кількості спроб до першої міжсигнальної реакції також виявився невірогідним ($a_2 = -4,1$; $a_4 = 22,0$; $p > 0,05$), а фактор отримання антиоксидантного засобу зменшував цей показник як у неопромінених, так і у опромінених тварин ($a_3 = -34,7$; $p < 0,01$) ($\Sigma a_2 - a_4 = -16,8$).

Вплив досліджуваних чинників на зміни показників оперантної діяльності у камері Скіннера можна описати наступним чином. Регресійний аналіз кумулятивних значень отримання підкріплення свідчить про негативний вплив чиннику опромінення, який призводив до зменшення досліджуваного показника ($a_2 = -27,5$; $p < 0,05$). У неопромінених тварин застосування кверцетину не впливало на даний показник ($a_3 = 19,1$; $p > 0,05$). Натомість чинник взаємодії кверцетину та опромінення виявився вірогідним ($a_4 = 71,0$; $p < 0,01$), що обумовлює збільшення отримання підкріплення у опромінених тварин, які отримували кверцетин у порівнянні з контролем ($\Sigma a_2 - a_4 = 62,6$).

За результатами регресійного аналізу кумулятивних значень показника кількості натиснень на педаль можна зробити висновок про негативний вплив чиннику опромінення, який пригнічував оперантну діяльність ($a_2 = -227,8$; $p < 0,05$). Фактор застосування кверцетину у неопромінених тварин не змінював обговорюваний показник ($a_3 = -98,0$; $p > 0,05$), тоді як чинник взаємодії кверцетину та опромінення обумовлював зменшення постпроменевих змін оперантної діяльності у тварин, які отримували кверцетин ($a_4 = 278,3$; $p < 0,05$) ($\Sigma a_2 - a_4 = -47,5$).

Рівень умовнорефлекторної діяльності у тварин різних експериментальних груп після опромінення представлено на рис. 1.

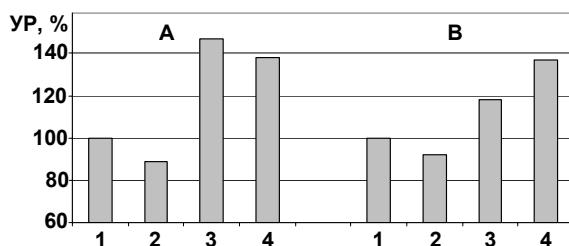


Рис. 1. Рівень умовнорефлекторних відповідей у тестуванні з використанням човникової (А) та скіннеровської (В) камер у різних експериментальних групах тварин:
1 – контроль (прийнято за 100%), 2 – 2,5 Гр, 3 – кверцетин, 4 – 2,5 Гр + кверцетин

Таким чином, із застосуванням різних методичних підходів дослідження інструментальної поведінки, виявлено зниження рівня умовнорефлекторної діяльності тварин після опромінення у дозі 2,5 Гр. Так, регресійний аналіз усієї сукупності даних, одержаних під час щотижневих тестувань тварин впродовж двох місяців після опромінення, показав, що радіаційний чинник зменшує кількість умовних рефлексів активного уникнення, уповільнює швидкість переробки навички та збільшує тривалість латентного періоду реакції уникнення у човниковій камері. Аналогічний ефект виявлено і за результатами тестування тих самих тварин у скіннеровській камері: вплив опромінення призводив до зниження рівнів оперантної активності та кількості реалізованих умовних рефлексів.

Вплив застосованого антиоксидантного засобу кверцетину ефективно попереджував зменшення показників інструментальної діяльності щурів після опромінення у дозі 2,5 Гр. Можна припустити, що цей модифікуючий ефект пов'язано зі зменшенням впливу утвореного внаслідок опромінення надлишку вільних радикалів. Про це, зокрема, свідчить і відсутність взаємодії між чинниками опромінення та застосування кверцетину, що дає підстави розглядати кінцевий ефект як атрибутивний вплив застосованих факторів у змінах поведінки уникання. Однак за умов дослідження інструментальної діяльності з позитивним підкріпленням, навпаки, знайдена взаємодія між чинниками опромінення та застосування кверцетину вказує на те, що позитивний ефект кверцетину може бути не пов'язаним прямо з його антиоксидантними властивостями. Цікаво, що застосування кверцетину у неопромінених тварин, призводить до збільшення показників інструментальної поведінки уникання, але не впливає на рівень умовнорефлекторної діяльності у камері Скіннера. Складається враження, що позитивний ефект кверцетину на показники інструментальної поведінки уникання певною мірою може реалізовуватися внаслідок підвищення збудливості тварин (про це свідчить виявлений вплив цього фактору на показники кількості між сигнальних реакцій та кількості спроб до першої між сигнальної реакції). Не

виключено, що підвищення рівня показників поведінки уникання у неопромінених тварин, які отримували кверцетин, у порівнянні з контролем може бути пов'язано із стресовим впливом процедури тестування тварин у човниковій камері. Тоді стає зрозумілою відсутність впливу ізоляованого чиннику застосування кверцетину за умов дослідження інструментальної поведінки менш "жорсткою" методикою: умовнорефлекторна діяльність з позитивним підкріпленням у камері Скіннера не супроводжується створенням конфліктної ситуації та застосуванням больового підкріплення, як це має місце при застосуванні методики човникової камери [4].

Висновки. Проведені пролонговані дослідження умовнорефлекторної інструментальної поведінки щурів у човниковій та скіннеровській камерах показали, що однократне тотальне γ -опромінення у дозі 2,5 Гр пригнічує показники інструментальної діяльності тварин, а застосування кверцетину впродовж двох тижнів перед опроміненням може попереджати постпроменеві зміни умовнорефлекторної поведінки щурів

1. Барабой В.А. Биоантиоксиданты. – К., 2006. – 462 с.
2. Бутилін В.Ю., Шептицька А.М. Профилактична ефективність антиоксидантної терапії: світовий досвід тривалих досліджень // Матеріали симпозиуму "Діагностика та профілактика негативних наслідків радіації", Київ, 16-17 грудня, 1997 р. – К., 1997. – С. 50–52.
3. Зозуля Ю.А., Барабой В.А., Сутковий Д.А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга. – М., 2000. – 344 с.
4. Савоненко А.В., Зелински К. Зависимость обучения реакции активного избегания от преодоления проблемной ситуации в челночной камере // Журн. ВНД. – 1998. – Т. 48, № 2. – С. 229–239.
5. Agrawal A., Kale R.K. Radiation induced peroxidative damage: mechanism and significance // Indian. J. Exp. Biol. – 2001. – Vol. 39, № 4. – P. 291–309.
6. Deger Y., Dede S., Belge A. et al. Effects of X-ray radiation on lipid peroxidation and antioxidant systems in rabbits treated with antioxidant compounds // Biol. Trace Elem. Res. – 2003. – Vol. 94, № 2. – P. 149–156.
7. Prasad K.N. Rationale for using multiple antioxidants in protecting humans against low doses of ionizing radiation // Br.J. Radiol. – 2005. – Vol. 78. – P. 485–492.
8. Robbins M.E., Zhao W. Chronic oxidative stress and radiation-induced late normal tissue injury: a review // Int. J. Radiat. Biol. – 2004. – Vol. 80, № 4. – P. 251–259.
9. Weiss J.F., Landauer M.R. Protection against ionizing radiation by antioxidant nutrients and phytochemicals // Toxicology. – 2003. – Vol. 189, № 1-2. – P. 1–20.

Надійшла до редколегії 02.10.06