

ни (історія та методи дослідження, система, конспект флори). – К., Фітосоціоцентр, 2001. – 300 с. 2. Костіков І.Ю., Новохацька М.А. Колекція культур мікроводоростей (АСКУ) Київського національного університету імені Тараса Шевченка // Вісник Луганського державного педагогічного університету ім. Т. Шевченка. Серія: Біологічні науки. – 2003. – № 66. – С. 46–48. 3. Gärtner G. ASIB – the Culture Collection of Algae at the Botanical Institute of the University at Innsbruck (Austria) Catalogue of Strains // Ber. nat.-med. Verein Innsbruck – 1996. – vol. 83. – P. 45–69. 4. Kelly M.G., Cazaubon A., Coring E., Dell'Umo A., Ector L. et al. Recommend for routine sampling of diatoms for water quality assessments in Europe // Journal of applied Phycology. – 1998. – vol. 10. – P. 215–224.

5. Nichols H.W. Growth media-freshwater // Handbook of phycological methods culture methods and growth measurements. London: Cambridge University Press. – 1973. – P. 7–25. 6. Prygiel J., Coste M., Bukowska J. Review of the major diatom-based techniques for the quality assessment of rivers – State of the art in Europe // Use algae for monitoring rivers III. – Duai: Agence de l'Eau Artois-Picardie. – 1999. – P. 224–238. 7. Round F.E., Crawford R.M., Mann D.G. The Diatoms. Biology and Morphology of the Genera. – Cambridge: Cambridge University Press. – 1990. – 747 p. 8. Schlösser U.G. SAG – Sammlung von Algenkulturen at the University of Göttingen. Catalogue of Strains // Bot. Acta, 1994. – vol. 107. – P. 113–186.

Надійшла до редколегії 02.11.06

УДК 612.35+591.132.5

П. Цапенко, асп., О. Можеїтова, асп.,
М. Мірошніченко, д-р біол. наук, Т. Лященко, канд. біол. наук

ВПЛИВ РЕЧОВИНИ Р НА МЕМБРАННИЙ ПОТЕНЦІАЛ ГЕПАТОЦИТІВ

Вивчено вплив речовини Р на мембранний потенціал гепатоцитів. Показана відсутність дії речовини Р на мембранний потенціал гепатоцитів.

Influence of substance P on hepatocytes' membrane potential was studied. Absence of effects of substance P on hepatocytes' membrane potential was shown.

Вступ. Як відомо, в живому організмі існує декілька типів регуляторних систем, серед яких одне з провідних місць посідає пептидергічна система регуляції. Основними компонентами цієї системи є низькомолекулярні пептиди, що забезпечують перенесення необхідної інформації, координацію, нормальне функціонування, розвиток і взаємодію клітинних популяцій [1].

Значна кількість регуляторних пептидів бере участь у нейрогуморальній регуляції жовчоутворювальної функції печінки [1]. До них слід віднести і тахікініни – широко поширені в організмі родину регуляторних пептидів, які, в свою чергу, відповідають всім вимогам APUD-концепції для ендокринних клітин. Тахікініни здійснюють швидку регуляцію функцій тканин і органів, у яких вони локалізовані, в тому числі і печінки. Тому, доцільно дослідити вплив цих пептидів на основну функцію печінки – жовчосекреторну. На сьогодні холекінітичні ефекти тахікінінів переконливо доведені [4], а дані літератури щодо впливу тахікінінів на жовчоутворення є протирічними. Одні дослідники вказують на антихолеретичні ефекти цих пептидів [8], тоді як інші показують стимулюючий вплив тахікінінів на транспортні, синтетичні, екскреторні процеси та електричну активність в залозі [2].

Серед багатьох методів вивчення функцій печінки важливе місце посідають електрофізіологічні методи, адже електрична активність біологічних об'єктів залежить від нервової та гуморальної систем та різноманітних фізичних факторів. Багатофакторна залежність електричних параметрів дозволяє досліджувати їх кінетику у відповідь на зміни внутрішнього і зовнішнього середовища організму. Електричні процеси в секреторній клітині відображають анаболічні і катаболічні процеси, процеси секреції та екскреції тощо, тому вивчення електричної активності клітин залози дозволяє дослідити механізми впливу різних факторів як на клітинному рівні організації, так і дослідити міжклітинні взаємодії. Тому дослідження кінетики електричних процесів в основних клітинних елементах печінки – гепатоцитах, є важливим для з'ясування механізмів регуляції функцій цього органу.

Об'єкт і методи досліджень. Досліди проводилися на лабораторних білих щурах масою 200–250 г за умов гострого експерименту. Після наркотизації тварин тіопенталовим наркозом (5 мг/100г маси тіла) проводилася лапаротомія та відмивання печінки від крові розчином Локка для савців зі швидкістю 10 мл/хв. Після перфузії печінки брали ліву чи праву долі органу та відпрепарували сполучнотканинну оболонку. Препарат печінки прикріплювали до експериментальної камери,

дно якої було вкрите силгардом, та перфузувався фізіологічним розчином, що є оптимальним для культивування гепатоцитів [6], такого складу (в мМ/л): 140 NaCl, 4 KCl, 1 CaCl₂, 1 MgCl₂, 10 глюкоза, 1 KH₂PO₄, 10 HEPES (pH 7,4, NaOH), що подавався зі швидкістю 2 мл/хв. Розчин оксигенувався.

Вивчення дії досліджуваних речовин на мембранний потенціал гепатоцитів проводили з використанням мікроелектродної техніки. Використовували мікроелектроди з боросилікатного скла зовнішнього діаметру 1,45 мм опором 100–150 МОм, які заповнювали 2,5 М розчином KCl. Потенціал реєстрували диференціальним підсилювачем "AMVCCC" за допомогою комп'ютерної програми "ADCLPT 1.0".

З метою вивчення динаміки мембранного потенціалу гепатоцитів у відповідь на дію класичного нейромедіатора норадреналіну, перфузували препарат розчином норадреналіну у концентрації 1 мкМ/л в матричному розчині. Саме в такій кількості нейромедіатор викликає найбільші зміни в метаболізмі клітин паренхіми печінки, пов'язані з глікогеногенезом [10]. Концентрація ацетилхоліну була 10 мкМ/л, оскільки за даними [3] в такій концентрації він викликає найбільший ефект в пейсмеркерних клітинах синоатріального вузла. Речовину Р застосовували в концентрації 1 мкМ/л, адже в такій концентрації пептид викликає найбільший ефект у внутрішньосерцевих нейронах [9].

Фактичний матеріал оброблено методами варіаційної статистики. Після перевірки на нормальність розподілу за тестом Шапіро-Уїлка нормально розподілені дані обчислювалися за критерієм Стюдента для залежних виборок з урахуванням тесту Левена. Статистично значущими вважалися відмінності між вихідним рівнем і дослідом при $P < 0,05$.

Результати та їх обговорення. Нашим завданням було дослідити вплив на мембранний потенціал гепатоцитів основних нейромедіаторів: норадреналіну та ацетилхоліну, які в організмі справляють протилежну дію на основну функцію печінки – жовчосекреторну, та порівняти їх дію з дією речовини Р. Досліди показали, що норадреналін справляє збуджуючий вплив на гепатоцит в цілому, про що свідчить гіперполяризація у відповідь на дію цієї речовини (рис. 1).

Наші дослідження показали, що в стані спокою гепатоцит має мембранний потенціал близько -20 мВ, що узгоджується з даними літератури [7]. У відповідь на дію норадреналіну мембранний потенціал клітини зростає, максимальна його зміна сягала близько -60 мВ та

залишалась на цьому рівні протягом часу перфузії препарату розчином норадреналіну. Отже, в даному випадку спостерігається чітко виражений приклад збуджуючої гіперполяризації, на фоні якої спостерігаються певні коливання потенціалу. Проте, не можна сказати, чи є ці коливання секреторним потенціалом, оскільки вони мають низьку амплітуду та можуть бути пов'язаними з

впливом обладнання. У відповідь на дію іншого класичного медіатора – ацетилхоліну – спостерігається дещо інша реакція (рис. 1). В даному випадку також реєструється збуджуюча гіперполяризація, однак амплітуда коливань клітинного потенціалу гепатоцитів є значно меншою, потенціал сягає -40 мВ, проте реакція розвивається швидше, ніж за дії норадреналіну (рис. 1).

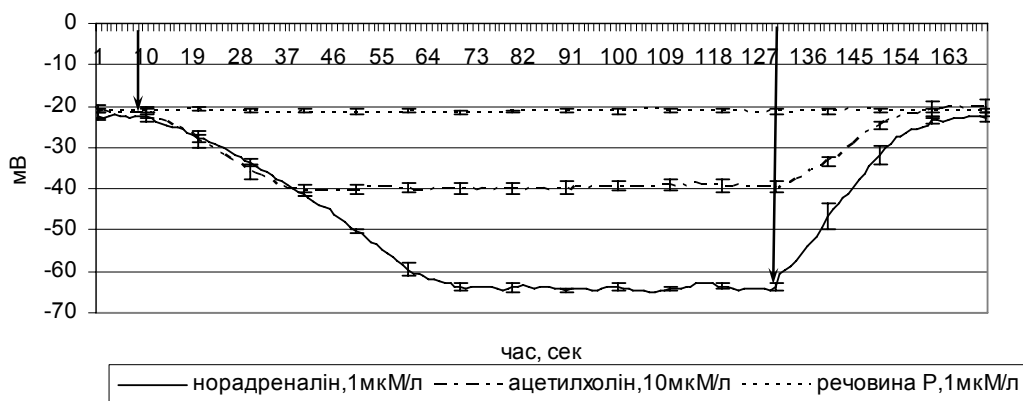


Рис. 1. Вплив норадреналіну ($M \pm m$, $n=4$), ацетилхоліну ($M \pm m$, $n=6$) та речовини Р ($M \pm m$, $n=4$) на мембранний потенціал гепатоцитів.
Умовні позначення: стрілками відмічені початок та кінець перфузії речовини

Отже, гіперполяризація, викликана дією ацетилхоліну є набагато меншою, ніж при дії норадреналіну. Такі відмінності в дії цих речовин можуть бути пов'язані з тим, що у щурів симпатична нервова система відіграє більш значну роль в регуляції функцій печінки, ніж парасимпатична, яка проявляється в більшому тонічному впливі симпатичних нервів в умовах *in vivo*. Отже, гепатоцити інших тварин можуть інакше реагувати на дію норадреналіну та ацетилхоліну. Різниця ж швидкості наростання реакції може бути пов'язана як з механізмами внутрішньоклітинної передачі, так і механізмами міжклітинної передачі. Так, відомо, що існує зональна залежність в експресії рецепторів певних речовин (зокрема, вазопресину) в печінці. В перипортальній зоні концентрація рецепторів більша, ніж у перивенозній. Такий градієнт був знайдений для рецепторів, що пов'язані з системою інозитолтрифосфату та внутрішньоклітинного кальцію. Існує гіпотеза, яка підтверджується експериментальними даними, про те, що клітини з перипортальної зони виділяють інозитолтрифосфат, що зв'язується з відповідними рецепторами клітин перивенозної зони і справляє таку ж дію, як і в клітинах перипортальної зони, цим самим компенсуючи нестачу рецепторів [9]. Логічно припустити, що такий механізм буде дещо уповільнювати відповідь. Норадреналін діє на α_1 -адренорецептори, пов'язані з системою інозитолтрифосфату [10]. В наших експериментальних умовах ми не маємо змоги контролювати, до якої зони належить клітина, від якої ми відводимо потенціал, тому не можна виключати, що певну роль в такій більш повільній відповіді відіграє вищенаведений механізм. Разом з тим, оскільки більшість клітин мала такий характер реакції, більш вірогідно, що норадреналін має більш повільний каскад внутрішньоклітинних реакцій.

Трансдукція сигналу речовини Р, як і норадреналіну, пов'язана з системою інозитолтрифосфату, діацилгліцеролу та внутрішньоклітинного кальцію [1]. Отже, логічно було припустити, що її дія буде схожою на дію норадреналіну і ми спостерігатимемо повільну, але знач-

ну гіперполяризацію клітин. Проте, в наших дослідах не спостерігалось ніякого впливу речовини Р на мембранний потенціал гепатоцитів (рис. 1). Це свідчить про відсутність прямого впливу речовини Р на секреторні процеси в гепатоцитах, що може пояснюватися або відсутністю тахікінінових рецепторів на плазматичній мембрані гепатоцитів щурів в нормальних умовах, або тим, що речовина Р регулює інші процеси в гепатоцитах, можливо, лише в патологічних умовах. Отже, знайдені в печінці нервові закінчення, що містять речовину Р, не беруть участі в регуляції секреторних функцій печінки в нормі. Речовина Р, що міститься в цих нейронах не справляє свій вплив навіть опосередковано через інші клітини печінки, зв'язок з якими зберігався в умовах нашого експерименту. Щодо даних літератури про стимулюючий вплив речовини Р на електричні, синтетичні та екскреторні процеси в інтактній залозі, то цей вплив, імовірно, слід віднести на рахунок опосередкованої дії "каскадної" реакції, що пов'язано з системною дією пептиду, який вводився внутрішньочеревно та слугував сигналом для секреції інших гормонів шлунково-кишкового тракту. При цьому, враховуючи схожість системної дії речовини Р та ацетилхоліну, така дія може бути опосередкована парасимпатичними нервами, що містять тахікінінові рецептори, хоча не можна виключати впливу й інших посередників. Таким чином, слід шукати інший холеретичний агент чи агенти, які задіяні в цій реакції. Присутність речовини Р в печінці можна пояснити її участю в регуляції скоротливої активності ГМК жовчовивідних протоків, що в свою чергу пояснює її стимулюючий вплив на екскреторну функцію печінки, та впливом на гемодинаміку в залозі через дію на ендотелію та клітини Іто.

Отже, маємо необхідність пошуку інших регуляторів жовчосекреторної функції печінки та вивчення їх впливу як на гепатоцити в складі печінкової тканини, так і на ізольовані клітини, що дасть змогу досліджувати внутрішньоклітинні механізми дії регуляторів та взаємозв'язки між гепатоцитами, визначаючи, що нового привно-

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 флавонолідів, 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 установки "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