

Ще однією характерною особливістю колекційних штамів *"P. xanthochlora"*, *P. marginalis* 8572 та типових штамів *P. marginalis* pv. *marginalis* 9175 та *P. fluorescens* B-17^T є високий вміст, порівняно з іншими штамми, циклопропанової кислоти з 17 атомами вуглецю [9]. Так для перерахованих вище штамів середній вміст C_{17:0} cyclo становить 12,93, а для решти штамів лише 0,93% від загальної площі піків (таблиця 2).

Висновки. Так, аналізуючи жирнокислотний та антигенний склад клітин досліджуваних нами штамів, необхідно відмітити спорідненість колекційних штамів *"P. xanthochlora"* з типовими штамми *P. marginalis* pv. *marginalis* 9175 та *P. fluorescens* B-17^T та колекційним штамом *P. marginalis* 8572 за даними ознаками. Тобто, у випадку збудник мокрого водянистого гниття люпину вивчення його серологічних і біохімічних властивостей не дало остаточної відповіді не тільки щодо патогенового, а й навіть видового статусу даного патогену. Отже, для коректної ідентифікації збудника мокрого водянистого гниття люпину – *"P. xanthochlora"* необхідно детально проаналізувати як його фенотипові так і генотипові властивості.

УДК 577.115:616.36

1. Бельтюкова К.И., Королева И.Б. Мурас В.А. Бактериальные болезни зерно-бобовых культур. – К.: Наук. думка, 1974. – 339 с. 2. Данкевич Л.А. Фенотипові і генотипові властивості бактерій роду *Pseudomonas* – збудників бурой бактеріальної плямистості люпину: Автореф. дис...канд.біол.наук: – 03.00.07/ Ін-т. мікробіолог. і вірусолог. – К., 2006. – 21 с. 3. Данкевич Л.А., Житкевич Н.В., Токарчук Л.В. Жирнокислотний склад клітин штамів *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* та *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* // Збірник статей учасників Міжнародної наукової конференції "Фітопатогенні бактерії. Фітонцидологія. Алелопатія." 4-6 жовтня 2005., м. Київ. – С. 113–117. 4. Королева И.Б. Биология возбудителей бактериальных болезней люпина в УССР: Автореф. дис...канд.біол.наук: – 03.00.07 / Ін-т. мікробіолог. і вірусолог. – К., 1963. – 16 с. 5. Пастушенко Л.Т., Симонович И.Д. Серологические группы фитопатогенных бактерий рода *Pseudomonas* // Микробиол. журн. – 1979. – Т.41, №3. – С. 222–228. 6. Пастушенко Л.Т., Симонович И.Д. Вивчення методів одержання антигенів фітопатогенних бактерій роду *Pseudomonas* // Микробиол. журн. – 1971. – Т.33, №3. – С. 289–295. 7. Патица В.П., Геоцзяк Р.І., Данкевич Л.А., Житкевич Н.В. Діагностика бактерій роду *Pseudomonas* – збудників бактеріальних хвороб бобових рослин // Методичні рекомендації – Київ 2007: Гарнітура Таймс., 2007. – 26 с. 8. Bradbury J.F. Guide to plant pathogenic bacteria. – Aberystwyth: The Cambrian News Ltd., 1986. – 332 p. 9. Stead D.E. Grouping of plant-pathogenic and some other *Pseudomonas* spp. by using cellular fatty acid profiles// Intr.J.Syst. Bacteriol. – 1992. – Vol.42, N. 2. – P. 281–295. 10. Young J. M., Saddler G.S., Takikawa Y., De Boer S. H., Vauterin L., Gardan L., Gvozdyak R.I., Stead D.E. Names of plant pathogenic bacteria 1864–1995 // Review of Plant Pathology. – 1996. – Vol.75, N.9. – P. 721–763.

Надійшла до редколегії 28.05.08

О. Литвиненко, асп.
Л. Степанова, канд. біол. наук,
В. Грищенко, д-р вет. наук,
Л. Бабич, канд. біол. наук

ДОСЛІДЖЕННЯ ДІЇ ФОСФОЛІПІДВІСНОЇ ДОБАВКИ НА МЕМБРАНИ ГЕПАТОЦИТІВ

Вивчено вміст загальної фракції ліпідів та індивідуальних фосфоліпідів внутрішньої мітохондріальної та мікросомальної мембран гепатоцитів за терапевтичної дії ліпосомальної форми біологічно активної добавки (БАД) FLP-MD на основі фосфоліпідів молока, у порівнянні з препаратом "Ессенціал-форте", за використання експериментальної моделі ентеропатології з виразково-ерозійним процесом, ускладненим гепатитом у щурів. Мембрана мітохондрій більш чутлива до дії цих лікувальних засобів, на що вказують зміни кількості індивідуальних фосфоліпідів за всіх умов експерименту. Встановлено зростання відносно контролю рівня як загальної фракції ліпідів, так і індивідуальних фосфоліпідів при застосуванні БАД FLP-MD на відміну від терапії за використання препарату "Ессенціал-форте", що можливо пов'язане з мобілізацією процесу синтезу ліпідів за цих умов.

The content of main lipids and individual phospholipids fractions from the inner mitochondrial and the microsomal membranes of hepatocytes after the therapeutic impact of biological active addition liposomic form on the milk phospholipids (FLP-MD) base in compare with "Essentially-Forte" in using the experimental model of the hepatitis with the venomous-erosion processes in rats was investigated. The changes of the individual phospholipids quantities by the all experimental conditions confirm that the mitochondrial membrane is more sensitive to the influence of this drug. The estimated increase as main lipids as and individual phospholipids in using of "Essentially-Forte" drug is probably linked with the mobilization of lipids synthesis processes by these conditions.

Вступ. Склад ліпідів більшості мембран тваринних клітин є достатньо стабільним, тому представляє інтерес вивчення порушення балансу кількості індивідуальних та загальних фосфоліпідів при різних видах патологій. Підтримання необхідного рівня ліпідів має важливе значення як у забезпеченні життєдіяльності організму в цілому, так і варіабельності мембранних функцій клітин [6]. У зв'язку з тим, що ліпіди складають від 20 до 80% маси біомембран, є актуальним вивчення різноманітних аспектів їх змін, які можуть призводити як до структурно-функціональних порушень, так і до загибелі клітин [8]. Центральним органом обміну ліпідів є печінка, де відбувається як синтез, так і катаболізм більшості з них. Виконання основних функцій печінки в значній мірі реалізовується мембранними системами гепатоцитів. На сьогоднішнє доведено суттєву роль порушень ліпідного компонента мембран у розвитку тяжких захворювань печінки, серцево-судинної та інших систем організму, що обумовлює застосування фосфоліпідовмісних препаратів репаративної дії. Створена біологічно-активна добавка (БАД) FLP-MD на основі фосфоліпідів молока, яка містить фосфоліпіди молока, ненасичені жирні кис-

лоти, ретинолу ацетат та α-токоферол, показала свою ефективність при застосуванні у комплексному лікуванні телят, що перехворіли на неонатальну диспепсію [1]. Принциповим, для виявлення біохімічних шляхів дії БАД FLP-MD є дослідження впливу цієї БАД на різноманітні мембранні системи, в тому числі гепатоцитів.

Метою роботи було порівняльне дослідження дії ліпосомальної форми БАД FLP-MD та препарату "Ессенціал-форте" на ліпідний склад мікросомальної та внутрішньої мітохондріальної мембран гепатоцитів за використання експериментальної моделі ентеропатології з виразково-ерозійним процесом, ускладненим гепатитом у щурів.

Об'єкт та методи досліджень. Дослідження проведено на лабораторних одностатевих щурах лінії Вістар, масою 180–200 г, з яких формували 4 групи: 1 – контрольні тварини; 2 – відтворення моделі ентеропатології з виразково-ерозійним процесом, ускладненим гепатитом (модель); 3 – відтворення моделі ентеропатології та лікування препаратом "Ессенціал-форте"; 4 – відтворення моделі ентеропатології та корекція патологічних змін шляхом застосування ліпосомальної форми БАД FLP-MD. Для відтворення моделі захворювання щурам

2, 3, 4 груп упродовж 14 діб вводили препарат "диклофенак" у дозі 12,5 мг/кг маси тіла, що становить 3 мг на одну тварину один раз на добу. Далі тварини групи 2 залишалися без лікування; тваринам групи 3 перорально вводили препарат БАД FLP-MD (2,7 мг на одну тварину) протягом 30 діб; 4 група – перорально вводили препарат "Ессенціале-форте" (10–12 мг на одну тварину протягом 30 діб). Після закінчення експерименту щурів декапітували.

Препарати мікросом (МК) гепатоцитів отримували згідно [3], а внутрішньої мембрани мітохондрій – субмітохондріальних частин (СМЧ), згідно [5], із незначними модифікаціями. Ліпідну фракцію отримували за методом Фолча [9], розділення індивідуальних фосфоліпідів за використання двовимірної тонкошарової хроматографії та визначення їх кількості у зразках проводили, згідно [7]. Експериментальні дані оброблялись методами варіаційної статистики [2].

Результати та їх обговорення. Функціональний стан клітин печінки, який обумовлений структурно-функціональними властивостями клітинних мембран, значно

впливає на процеси адаптації організму до екстремальних умов, на детоксикацію ендогенних токсичних сполук. Біологічна мембрана є збалансованою динамічною структурою і порушення її фізико-хімічного стану, а саме ліпідної компоненти, може призвести до ряду функціональних змін, у тому числі йонної проникності та каталітичної функції, що, в кінцевому випадку, може вплинути на функціонування як клітин, так і організму в цілому.

Результати проведених досліджень по визначенню загальної кількості ліпідів та фосфоліпідів у мембранах МК та СМЧ гепатоцитів печінки наведено у табл. 1. Слід відмітити, що в обох досліджуваних мембранах спостерігається недостовірне зменшення кількості загальної фракції ліпідів та фосфоліпідів у тварин групи 2 (модель). Причому, ці величини досліджуваних показників залишаються незмінні і за умов введення препарату "Ессенціале-форте". За використання БАД FLP-MD вміст ЗЛ та ФЛ в препаратах МК повертається до контрольних значень, а в препаратах СМЧ вміст ЗЛ та ФЛ достовірно збільшується на 31% відносно контролю.

Таблиця 1. Вміст загальних ліпідів (ЗЛ) та фосфоліпідів (ФЛ) у препаратах мікросом та субмітохондріальних частин (СМЧ) гепатоцитів (мкг/мг білка) в контролі та за умов експерименту, ($M \pm m$, $n = 6$)

	Мікросомальна мембрана				Препарати СМЧ			
	контроль	модель	"Ессенціале-форте"	БАД FLP-MD	контроль	модель	"Ессенціале-форте"	БАД FLP-MD
ЗЛ	1137,1 $\pm$ 85,4	1033,1 $\pm$ 76,3	1062,6 $\pm$ 75,2	1169,0 $\pm$ 88,4	730,4 $\pm$ 58,0	627,2 $\pm$ 68,7	841,2 $\pm$ 57,8	957,2 $\pm$ 52,3*
ФЛ	681,2 $\pm$ 48,1	630,7 $\pm$ 35,8	616,3 $\pm$ 45,1	693,5 $\pm$ 34,8	474,8 $\pm$ 33,8	413,9 $\pm$ 35,3	539,4 $\pm$ 35,0	622,2 $\pm$ 50,8*

Примітка: тут і далі в таблицях * – $P \leq 0,05$ відносно контролю.

Фосфоліпіди є незамінною складовою усіх біологічних мембран. Поряд із участю у формуванні структури мембран та транспортних процесах, вони також необхідні для забезпечення синтезу амінокислот і білків тощо. Дуже важливим є збереження співвідношень між окремими фракціями фосфоліпідів і зміна цього показника може призвести до порушення балансу в процесах життєдіяльності клітин.

Аналізуючи отримані результати вмісту окремих фракцій фосфоліпідів у препаратах МК гепатоцитів, можна відмітити, що основні з них – фосфатидилхолін (ФХ) та фосфатидилетаноламін (ФЕА), які складають

50 та 35% від їх загальної суми, відповідно, вірогідно не змінюються за умов досліджень (табл. 2). Незначне зменшення величини показників, які характеризують кількість цих ліпідів в умовах моделі, при введенні БАД FLP-MD повертається до контрольних значень. Однак у тварин в умовах моделі спостерігаються зміни вмісту мінорного компонента мембран МК: збільшується вміст фосфатидиніозитолу (ФІ) на 55% та фосфотидилсерину (ФС) на 36%. За використання БАД FLP-MD та препарату "Ессенціале-форте" відмічено наближення рівня цих фосфоліпідів до контрольних значень.

Таблиця 2. Вміст індивідуальних фосфоліпідів (мкг/мг білка) у мембранних препаратах мікросом (МК) та субмітохондріальних частин (СМЧ) гепатоцитів в контролі та за умов експерименту, ($M \pm m$, $n=6$)

Мембрани	Умови досліджу	Індивідуальні фосфоліпіди							
		ФХ	ФЕА	СФМ	ФС	ФІ	КЛ	ЛФХ	ЛФЕА
МК	контроль	343,0 $\pm$ 19,3	243,7 $\pm$ 7,8	43,6 $\pm$ 6,8	28,7 $\pm$ 2,8	14,8 $\pm$ 1,8	7,3 $\pm$ 0,8	-	-
	модель	312,9 $\pm$ 19,8	210,8 $\pm$ 7,4	42,3 $\pm$ 6,3	34,7 $\pm$ 3,8	22,9 $\pm$ 2,0*	5,5 $\pm$ 0,6*	сліди	сліди
	препарат "Ессенціале-форте"	297,7 $\pm$ 17,4	209,7 $\pm$ 8,8	46,9 $\pm$ 5,1	39,1 $\pm$ 4,0*	17,6 $\pm$ 1,8	4,9 $\pm$ 0,3	-	-
	БАД FLP-MD	340,2 $\pm$ 18,8	241,3 $\pm$ 7,8	47,0 $\pm$ 5,8	34,4 $\pm$ 3,4	21,9 $\pm$ 6,2*	8,7 $\pm$ 0,8	-	-
СМЧ	контроль	226,4 $\pm$ 19,7	138,8 $\pm$ 9,9	31,8 $\pm$ 3,8	26,5 $\pm$ 2,8	12,6 $\pm$ 1,1	37,9 $\pm$ 2,8	-	-
	модель	197,8 $\pm$ 19,5	120,5 $\pm$ 8,1	26,8 $\pm$ 3,7	21,0 $\pm$ 2,2*	15,5 $\pm$ 1,4*	29,4 $\pm$ 2,8*	сліди	-
	препарат "Ессенціале-форте"	242,9 $\pm$ 18,3	157,8 $\pm$ 12,8	36,6 $\pm$ 4,3	42,8 $\pm$ 3,2*	20,6 $\pm$ 2,3*	38,7 $\pm$ 4,8	-	-
	БАД FLP-MD	287,5 $\pm$ 19,8*	188 $\pm$ 14,2*	46,8 $\pm$ 4,8*	41,4 $\pm$ 3,8*	18,7 $\pm$ 1,8*	39,0 $\pm$ 2,2	-	-

Дослідження вмісту індивідуальних ФЛ в мембранах СМЧ показало, що в умовах моделі характерним є зниження вмісту ФЛ, особливо ФС та кардіоліпіну (КЛ), відповідно на 21 та 22%, а також зростання вмісту ФІ на 23% (табл. 2). Терапія за використання БАД FLP-MD призводить до вірогідного зростання вмісту всіх досліджених фосфоліпідів у мембрані вище контрольного рівня. При застосуванні "Ессенціале-форте" спостерігається відновлення показників основних фосфоліпідів до

рівня контролю, в той же час залишається значно підвищеним вміст ФС – на 57% та ФІ – на 63%, відносно контрольних значень. Слід відмітити, що у препаратах МК та СМЧ виявляються сліди вмісту лізоформ фосфоліпідів – лізофосфатидилхоліну (ЛФХ) та лізофосфатидилетаноламіну (ЛФЕА) лише в умовах моделі. Різноманітність змін вмісту окремих фосфоліпідів пояснює незначні зміни їх сумарної кількості в умовах експерименту. В той же час, це може вказувати на різну

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 досліджу 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 ентероцитів 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 ентероцитів 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 гормонализма // 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. Макачук, 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 гіпохOLERETICНІ 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 досліджу 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-