

МАТЕРІАЛИ XV З'ЇЗДУ УКРАЇНСЬКОГО ФІЗІОЛОГІЧНОГО ТОВАРИСТВА

(Донецьк, 12-15 травня 1998 р.)

Випуск, 28-30 квіт. 2002/1

Розділ 1. Нейронауки

Молекулярна та клітинна фізіологія

ОЛІГОМЕРИЗАЦІЯ КІНАЗИ ЛЕГКИХ ЛАНЦЮГІВ МІОЗИНУ ЯК МОЖЛИВИЙ МЕХАНІЗМ МОДУЛЯЦІЇ ЇЇ АКТИВНОСТІ

Е.Б.Бабійчук, В.С.Бабійчук, В.М.Данилова, А.Собешек*

Науково-дослідний інститут фізіології Київського університету
ім. Тараса Шевченка; *Інститут молекулярної біології, Зальцбург, Австрія

Кіназа легких ланцюгів міозину (КЛЛМ) - фермент, який відіграє важливу роль у регуляції скорочення гледеньких м'язів, активується кальмодуліном (КМ) при підвищенні концентрації міоплазматичного Ca^{2+} . При вивченні деяких особливостей активації кінази кальмодуліном нами були виявлені її олігомерні форми з різною спорідненістю до КМ. Було показано, що у розчині кіназа існує у вигляді мономерів, димерів і олігомерів, які знаходяться в динамічній рівновазі між собою. В присутності Ca^{2+} і КМ динамічна рівновага між різними формами КЛЛМ зсувається у бік димерів, що супроводжується зниженням спорідненості кінази до кальмодуліну та послабленням її зв'язування з міозиновими філаментами. Слід зазначити, що утворення димерів кінази є наслідком взаємодії між аутоінгібіторним доменом однієї молекули кінази з С-кінцевим, тітін-подібним доменом II іншої. За результатами проведеної роботи ми пропонуємо розширену модель регуляції активності кінази з урахуванням її олігомерних властивостей.

МЕХАНІЗМИ ЗМІН ФЕРМЕНТНОЇ АКТИВНОСТІ КЛІТИН

Т.В.Звягінцева

Харківський медичний університет

У досліджах на щурах, морських свинках і кроликах на різних моделях пошкодження шкіри, що викликані дією механічних факторів, іонізуючою радіацією (локальне опромінення різними дозами рентгенівського і γ -опромінення, а також у сполученні з загальним опроміненням) за допомогою гістохімічних методів вивчали активність аденозинтрифосфатази, ацетилхолінестерази, кислоти та лужної фосфатази у різних структурах шкіри: епідермісі, придатках шкіри, сполучній тканині, судинах, нервах. Загальним для всіх видів пошкодження є зменшення активності або відсутність ферментів у центрі пошкодження, особливо виражене та тривале при променевій дії. Зміна активності ферментів у шкірі,

що прилягає до центру пошкодження, носить фазовий характер. В цілому активність ферментів при дії іонізуючого опромінення перебільшує її при механічній дії. Збільшення активності ферментів у різних структурах шкіри прямо пропорційне дозі опромінення. Особливо чітко ця залежність виявляється при сполученні місцевого опромінення з загальним. Базуючись на феномені неспецифічної регуляції активності ферментів низькомолекулярними лігандами, що прияманний неушкодженим клітинам, ми застосували експериментальну дію на вогнище променевого пошкодження речовин, що містять субстрати, за спеціально розробленою оригінальною методикою (АС № 1761149, 1767734). Результатом виявилось значне зниження та нормалізація активності ферментів у різних структурних елементах шкіри, які супроводжувалися позитивною гістологічною та клінічною динамікою. Таким чином, незалежно від біологічного виду тварин і моделі пошкодження встановлено закономірні зміни реагування клітин. Активація різних ферментних реакцій становить неспецифічний феномен реагування клітин на пошкодження. Надмірно виражена та тривала активація ферментних реакцій при дії іонізуючого опромінення відображає пошкодження захисно-приспосувальних регуляторних клітинних механізмів. У результаті процес набуває ланцюгового характеру. Одним із шляхів переривання цього ланцюга є субстратне інгібування.

ВЗАЄМОДІЯ ЕНДОГЕННОГО ЛЕКТИНУ (НРА) РЕПРОДУКТИВНОЇ СИСТЕМИ ВИНОГРАДНОГО СЛИМАКА З ПОВЕРХНЕЮ ІДЕНТИФІКОВАНИХ ПОПУЛЯЦІЙ ЙОГО НЕЙРОНІВ
Л.М.Коваль
Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця, Київ

За допомогою електронної цитохімії було досліджено поверхню багатьох неідентифікованих нейронів слимака *Helix pomatia*. Внаслідок використання 12 мічених колоїдним золотом лектинів рослинного та тваринного походження з чутливістю до різних карбогідратів було виявлено, що серед інших нейронів лише пептидергічні клітини мають структуру типу α -аномеру-N-ацетил-D-галактозаміну. При цьому рецептори до ендогенного лектину НРА (*Helix pomatia agglutinin*), що є секретом білкової залози даного слимака, були присутні лише на двох популяціях пептидергічних клітин. Ці клітини відрізнялися структурою секреторних гранул. Подальше використання культивованих ідентифікованих популяцій ДВ (*dorsal bodies*) та СДС (*caudal Dorsal cell*) клітин, що фізіологічно мали відношення до секреції зі статевих залоз порівняно з електрофізіологічно ідентифікованими поодинокими пептидергічними (ППа1) та непептидергічними нейронами (ЛПа3 і ППа2) з використанням НРА лектину та лектинів з НРА-подібною специфічністю) LBA, VVA, SBA) дозволило зробити такі висновки. По-перше, поверхня багатьох пептидергічних нейронів має структуру типу α -аномеру-N-ацетил-D-галактозаміну, але при цьому більшість з них не зв'язують НРА. Це було підтверджено на електрофізіологічно

ідентифікованих нейронах слимака з застосуванням SBA. Зв'язування НРА з ідентифікованими популяціями культивованих клітин виявило НРА рецептори лише на мембрані ДВ нейронів. Одержані результати свідчать, що ендogenousні лектини гонад (зокрема НРА) мають рецептори на поверхні специфічної популяції нейронів, яка відповідає за секрецію саме цього лектину. Останнє дозволяє мати *in vitro* достовірну модель для цілеспрямованого вивчення механізму взаємодії ендogenousного лектину з нервовою клітиною.

РЕАКТИВНІ ЗМІНИ ЛІЗОСОМАЛЬНОГО АПАРАТУ ЦИРКУЛЮЮЧИХ НЕЙТРОФІЛЬНИХ ЛЕЙКОЦИТІВ

ТА АКТИВНІСТЬ АНГІОТЕНЗИН-ПЕРЕТВОРЮЮЧОГО ФЕРМЕНТУ

С.Б.Коваль, О.О.Гончар

Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця, Київ

Вивчення біологічних регуляторних систем, що забезпечують адекватність гомеостатичних реактивних процесів, має певне теоретичне та практичне значення. Залишаються недостатньо дослідженими причинно-наслідкові функціональні зв'язки, що виникають в організмі за умов розвитку гіпоксичного синдрому на тлі тривалої системної гіпертензії. Нами показано, що під час розвитку вагітності, ускладненої гіпертензією, на фоні абсолютного нейтрофільного лейкоцитозу, у циркулюючих нейтрофільних лейкоцитах відбуваються зміни лізосомального апарату, котрі визначають екзоцитоз вмісту їх первинних лізосом безпосередньо у циркуляторне русло. Виявлено, що ці процеси корелюють з активацією у плазмі крові ангіотензин-перетворюючого ферменту, який відіграє провідну роль у фізіологічній регуляції ренін-ангіотензинової та кінінової систем організму. Під час клінічних спостережень встановлені взаємозв'язки були підтверджені в експерименті на лабораторних тваринах. Показана також гормональна залежність реакцій лізосомального апарату циркулюючих нейтрофілів. Одержані результати, поряд з раніше встановленою нами наявністю у первинних лізосомах зрілих нейтрофільних лейкоцитів ангіотензин-перетворюючого ферменту, свідчать про існування в організмі дублюючих механізмів генералізованої гуморальної регуляції функцій, які опосередковані реактивними змінами лізосомального апарату циркулюючих нейтрофільних лейкоцитів, що вносить свій внесок у забезпечення біологічної резистентності адаптаційних реакцій цілісного організму за умов різних екзогенних впливів і змін внутрішнього середовища.

ДІЯ ЕНДОРФІНІВ ТА ЕНКЕФАЛІНІВ НА НИРКОВІ ПРОСТАНОЇДИ І СИСТЕМИ ВНУТРІШНЬОКЛІТИННИХ ПОСТРЕЦЕПТОРНИХ МЕХАНІЗМІВ

І.О.Комаревцева

Науково-дослідний центр Луганського медичного університету

Вивчення ролі ендорфінів і енкефалінів у гормональній регуляції водного балансу організму дозволяє встановити невідомі до цього часу взаємозв'язки опіоїдів і тканинних регуляторів - простагландинів (ПГ), цАМФ, цГМФ, Ca^{2+} - у корі та медулі нирок, нейрорегуляторні механізми і нові ланки фізіології гуморально-клітинних взаємодій. Використана нами методика ендогенного біосинтезу ПГ дозволила встановити роль опіоїдів у ньому і пояснити тим самим гідроосмотичні їх ефекти, які ми спостерігали у ЯМР-експерименті.

Механізм дії опіоїдів на клітину можна уявити таким чином. Після зв'язування ендогенних опіоїдів зі своїми рецепторами на поверхні клітинної мембрани відбувається одночасно пригнічення базальної або стимульованої ПГЕ₂ аденілатциклази (АЦ) і звільнення кальцію з мембранних депо. Вихід його в клітині активує фосфоліпазу А₂ та стимулює синтез ПГ із поліненасичених жирних кислот (ПНЖК). Первинне пригнічення опіоїдами аденілатциклази зменшує синтез цАМФ із АТФ, що призводить до підвищення загальної аденілатциклазної активності. На наступному етапі активація АЦ викликає підвищення утворення цАМФ, чому сприяють і ПГ, збільшена продукція яких запущена кальцієвим механізмом. Підвищений вміст цАМФ, пригнічуючи активність фосфоліпази А₂, гальмує тим самим синтез ПГ за принципом зворотного зв'язку, але активує протеїнкіназу, що призводить до фосфорилування білків люмінальної мембрани та підвищення її проникності для води. Таким чином досягається гідроосмотичний ефект ендорфінів. Певно, механізм цього ефекту ще більш складний, але принципова схема дії опіоїдів на клітину базується на двох взаємозумовлених етапах «пригнічення-збудження» головних ланок їх впливу - аденілатциклази, цАМФ, фосфоліпази А₂, простаноїдів. Підвищення проникності клітинної мембрани для води під дією ендорфінів відбувається на стадії другого кола ланки - підвищення вмісту цАМФ і гальмування ендогенного біосинтезу ПГ.

МОДЕЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ІОННИХ СТРУМІВ, КОЛИВАНЬ ВНУТРІШНЬОКЛІТИННОГО КАЛЬЦІУ ТА МОДУЛЮЮЧИХ ФАКТОРІВ НА ЕЛЕКТРИЧНУ АКТИВНІСТЬ НЕРВОВОЇ КЛІТИНИ

О.О.Комендантов, М.І.Кононенко

Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця; Інститут фізики, Київ

Досліджувалися механізми пейсмейкерної активності нейронів слимака *Helix pomatia* за допомогою методів математичного та комп'ютерного моделювання. Модель побудована на основі формалізму Ходжкіна-Хакслі й описує механізми генерації повільних хвиль мембранного по-

тенціалу та спайків, кальцеві та кальційзалежні струми, швидкий калієвий струм, буферизацію іонів кальцію та їх поглинання внутрішньоклітинними депо. Згідно з модельними дослідженнями головну роль в управлінні пейсмерною активністю та виникненні різних її видів (регулярної, пачкової, хаотичної тощо) відіграють провідності, що модулюються нейропептидом і формують повільну хвилю мембранного потенціалу. Також встановлено, що істотну роль можуть мати процеси поглинання іонів кальцію внутрішньоклітинними депо та неселективні канали, що активуються іонами кальцію. Зокрема, зменшення швидкості поглинання Ca^{2+} внутрішньоклітинними депо, провідності для неселективного кальційзалежного струму або його активації викликають появу пачкової активності у пейсмерного нейрона. Були виявлені якісно та кількісно досліджені осциляторні явища, пов'язані з нелінійною динамікою: хаотична поведінка та особливості її виникнення, висока чутливість до варіації параметрів і початкових умов, бістабільність пейсмерної активності. Приклади бістабільної поведінки нейрона (спокій - пачкова активність, регулярна - пачкова активність, хаос - пачкова активність тощо) можуть бути використані для фізіологічного пояснення процесів короткотривалої пам'яті.

АДРЕНЕРГІЧНА ТА ДОФАМІНЕРГІЧНА РЕГУЛЯЦІЯ СЕЛЕКТИВНОГО ТРАНСПОРТУ ІОНІВ ХЛОРУ В НИРКАХ

М.В.Кришталь

Національний медичний університет ім. О.О.Богомольця, Київ

Співвідношення іонів натрію та хлору відіграє важливу роль у підтримці кислотно-лужного стану крові. Зниження концентрації Cl^- у плазмі крові без зміни вмісту Na^+ призводить до накопичення HCO_3^- . Виведення з сечею незв'язаних з натрієм іонів хлору, як засіб адаптації до ацидозу, забезпечується тим, що нирковий транспорт іонів хлору є відносно незалежним від транспорту натрію та здійснюється за допомогою специфічних переносників та аніон-селективних каналів. А фактори, що регулюють селективну реабсорбцію іонів хлору, залишаються мало вивченими. Мета даної роботи полягає у дослідженні впливу на транспорт Cl^- симпато-адrenalової системи, що активується при ацидозі. В дослідях на білих щурах показано, що активація периферичних α -адренорецепторів норадреналіном (2 мг/кг) і дофамінових рецепторів допаміном (10 мг/кг) підвищує екскрецію з сечею як хлору, так і натрію. Блокада α -адренорецепторів фентоламіном (2 мг/кг), α_1 -адренорецепторів - празозином у тому ж дозуванні та β -адренорецепторів обзиданом (20 мг/кг) знижує виведення і хлору, і натрію. Стимуляція β -адренорецепторів ізадрином (2 мг/кг) посилює екскрецію натрію без зміни виведення іонів хлору. Блокада дофамінових рецепторів галоперидолом (2,5 мг/кг) знижує екскрецію Na^+ , істотно не змінюючи транспорт Cl^- . Аналіз отриманих результатів дозволив дійти висновку, що екскреція іонів хлору, що перевищує екскрецію натрію, значно підвищувалася при стимуляції α -адрено-

дофамінових рецепторів та суттєво знижувалась у всіх інших серіях досліду внаслідок зміни селективної реабсорбції цих іонів.

ІОНО- ТА МЕТАБОТРОПНО-ІНДУКОВАНІ КАЛЬЦІЄВІ СИГНАЛИ В НЕЙРОНАХ НЕОКОРТЕКСУ ЩУРІВ

У.В.Лало, Н.В.Войтенко, П.Г.Костюк

Інститут фізіології ім.О.О.Богомольця, Київ

Нещодавно були отримані дані про роль АТФ як можливого нейротрансмітера в центральній нервовій системі. Проте, можлива участь пуринергічних механізмів у нейрональній активності вищих структур мозку вивчена недостатньо. У даній роботі ми досліджували механізми АТФ-індукованої кальцієвої сигналізації пірамідних нейронів неокортексу щурів (14-добових) в тонких зрізах мозку. Для реєстрації внутрішньоклітинних кальцієвих транзєнтів використано флуоресцентний барвник Fura-2/AM (мембранопроникна форма). Аплікація АТФ (5-2000 мкмоль/л) викликала підвищення внутрішньоклітинного кальцію ($[Ca^{2+}]_i$) у більшості нейронів (92 із 104). Ефект мав дозозалежний характер ($EC_{50} = 70$ мкмоль/л). Амплітуда АТФ-індукованого (100 мкмоль/л) підвищення $[Ca^{2+}]_i$ була $95 \text{ нмоль/л} \pm 6,4 \text{ нмоль/л}$. Похідні АТФ також викликали кальцієвий транзєнт. Це вказує на можливість участі іонотропних P_{2x} пуринорецепторів. Для вивчення ролі внутрішньоклітинних депо проводили послідовні аплікації 100 мкмоль/л АТФ. У розчині, що не містив кальцію, АТФ також спричиняв транзєнтне підвищення $[Ca^{2+}]_i$ ($65 \% \pm 6 \%$ порівняно з відповіддю в розчині з нормальною концентрацією кальцію, $2,5 \text{ ммоль/л}$), причому друга аплікація викликала відповідь меншу на $70 \% \pm 5 \%$, а відповіді на третю практично не було. Кофеїн ($10\text{-}40 \text{ ммоль/л}$) не викликає підвищення $[Ca^{2+}]_i$. Блокування накопичення іонів кальцію внутрішньоклітинними депо тапсигаргіном (1 мкмоль/л) призводить до зменшення амплітуди $[Ca^{2+}]_i$ на $56 \% \pm 5 \%$. Зроблено висновок, що в АТФ-індукованому підвищенні $[Ca^{2+}]_i$ у нейронах неокортексу беруть участь як іонотропні, так і метаботропні (P_{2y}) пуринорецептори, що діють через внутрішньоклітинні $InsP^3$ -чутливі депо.

РОЛЬ РІЗНИХ ТИПІВ КАЛЬЦІЄВИХ КАНАЛІВ У КАЛЬЦІЙЗАЛЕЖНІЙ СЕКРЕЦІЇ ІЗОЛЬОВАНИХ ХРОМАФІННИХ КЛІТИН БИКА

О.О.Лук'янець

Макс-Планк інститут біофізичної хімії, Гьсттінген, Німеччина, Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця, Київ

Ca^{2+} -залежне вивільнення нейромедіаторів через регулюючий екзоцитоз є головною формою зв'язку у центральній нервовій системі. Тому дослідження його механізмів буде сприяти розумінню фундаментальних основ синаптичної передачі. Взаємодія між кальцієвими каналами,

внутрішньоклітинним Ca^{2+} і вивільненням медіаторів (екзоцитозу) була досліджена з використанням електрофізіологічних і флуоресцентних методів. Проводилася одночасна реєстрація кальцієвого трансмембранного іонного струму, електричної ємності мембрани та концентрації внутрішньоклітинного Ca^{2+} у поодиноких хромафінних клітинах бика. Було встановлено, що екзоцитоз нелінійно залежить від вмісту внутрішньоклітинного Ca^{2+} і носить складний біфазний характер. При використанні селективних блокаторів різних підтипів кальцієвих каналів проводилися дослідження ролі типів кальцієвих каналів у індукуванні кальційзалежної секреції. Наші дослідження показали, що кальційзалежний екзоцитоз не залежить від типу кальцієвого каналу через який Ca^{2+} потрапляє до клітини. Важливим є лише зміна базального внутрішньоклітинного вмісту Ca^{2+} , що індукується активністю того чи іншого підтипу кальцієвого каналу. Через те вважається, що для секреції має значення тільки концентрація вільного Ca^{2+} у клітині під час збудження, а роль підтипу кальцієвого каналу у секреції буде визначатися лише кількісним представництвом, тобто густиною іонного струму даного типу каналу у плазматичній мембрані збудливої клітини.

ОСОБЛИВОСТІ РЕГУЛЯЦІЇ НЕЙРОГІПОФІЗАРНИМИ ПЕПТИДАМИ АКТИВНОСТІ Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФАЗИ ПЛАЗМАТИЧНИХ МЕМБРАН МІОЦИТІВ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА ПІСЛЯ ТРИВАЛОГО ЇХ ЗБЕРІГАННЯ
Г.В.Островська, В.К.Рибальченко, Т.О.Ковальчук, С.М.Дівінська
Науково-дослідний інститут фізіології
Київського університету ім. Тараса Шевченка

Раніше нами була продемонстрована блокуюча дія окситоцину (ОТ), вазопресину (ВП) і дезаміноокситоцину (дОТ) на активність Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФази міоцитів тонкого кишечника кроля за умов, які виключають попередню взаємодію гормону зі специфічними рецепторами на зовнішній поверхні плазматичної мембрани (ПМ). За інтенсивністю блокуючої дії пептиди можна розташувати в такий ряд: дОТ > ОТ > ВП. Напівмаксимальне блокування активності відбувається при концентраціях пептидів 10^{-13} , $5 \cdot 10^{-10}$ і 10^{-6} моль/л відповідно. Ці та інші наші дані дозволили зробити висновок про здатність пептидів безпосередньо взаємодіяти з молекулою АТФази (або оточуючими її мембранними компартментами), вбудовуючись у ліпідний бішар ПМ. При зберіганні заморожених препаратів ПМ упродовж кількох місяців за умов збереження високої активності АТФази значно знижується чутливість ферменту до пептидів. У випадку використання ВП навіть при концентраціях пептиду 10^{-5} - 10^{-6} моль/л гальмування не перевищує 15 %. При дії дОТ середній рівень пригнічення становить 20-30 %. Цей ефект ми пояснюємо поки що невідомими змінами в молекулярній організації мембран у процесі зберігання, які ще не впливають на функціонування молекули АТФази, але істотні для зв'язування пептидів із мембраною. Таким чином, при тривалому зберіганні ПМ втрачає пов'язаний з ліпідним матриксом фактор, який забезпечує

ефект пептидних гормонів або може придбати невластиві для нативної структури фактори, що блокують зв'язування пептидів.

ВПЛИВ ЕКЗОГЕННОГО ПРОСТАГЛАНДИНУ C₂ НА ОБМІН КАЛЬЦИТОНІНУ

М.В.Панасенко

Луганський університет

Метою цього дослідження було визначення впливу екзогенного простагландину C₂ на вміст кальцитоніну та метенкефаліну крові. Експеримент був проведений на 114 щурах-самцях лінії Вістар. Щурам протягом 7, 14, 30 діб в шлунок вводився простагландин C₂ у фізіологічній дозі 100 мг/кг. Вміст метенкефаліну та кальцитоніну визначався радіоімунним методом. Було встановлено, що простагландин C₂ зменшує синтез метенкефаліну на рівні гіпофіза. Концентрація кальцитоніну у молодих тварин підвищувалася на 30-ту добу введення простагландину C₂, а у дорослих тварин вміст кальцитоніну був значним уже на 7-му добу і продовжував підвищуватися до 30-доби. Наведені результати корелювали з вмістом кальцію крові, сечі, кісток. Отже, простагландин C₂ стимулює секрецію кальцитоніну С-клітинами. Різниця між дорослими та молодими тваринами в підвищенні вмісту кальцитоніну у молодих тварин на 30-ту добу свідчить про те, що у молодому організмі всі системи працюють більш напружено, щоб забезпечити водно-електролітний баланс зростаючого організму.

ХАРАКТЕРИСТИКА ТРАНСМЕМБРАННИХ ІОННИХ СТРУМІВ ГЛАДЕНЬКОМ'ЯЗОВИХ КЛІТИН ХВОСТОВОЇ АРТЕРІЇ ЩУРА

В.Л.Резніков, О.В.Повсян, М.Ф.Шуба

Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця, Київ

Іонні канали відіграють важливу роль у регуляції збудливості гладеньком'язових клітин (ГМК), визначають їх фізіологічні та фармакологічні властивості. Метою цієї роботи було вивчення малодосліджених іонних струмів мембрани ГМК хвостової артерії щура у відповідь на деполяризуючі зміщення мембранного потенціалу. Експерименти проводилися на свіжоізолюваних ГМК за допомогою фіксації потенціалу в режимі внутрішньоклітинного діалізу («whole-cell» конфігурація методу «patchclamp»). У більшості досліджуваних клітин у відповідь на деполяризуючі зміщення мембранного потенціалу від -70 мВ до рівнів позитивніших, ніж -40 мВ виникав вихідний трансмембранний іонний струм. У деяких клітинах на початку деполяризуючого імпульса спостерігався тимчасовий вхідний струм. Специфічний блокатор кальційзалежних калієвих каналів - харибдотоксин істотно зменшував амплітуду вихідного струму, залишаючи лише нечутливий до Ca²⁺ потенціалзалежний калієвий струм. При додаванні до зовнішньоклітинного розчину блокаторів калієвих каналів TEA (10 ммоль/л) і 4-амінопіридину (4 ммоль/л) амплітуда вихідного струму зменшувалася більше ніж на 50 %.

За цих умов вхідний трансмембранний струм помітно збільшувався і його амплітуда сягала в окремих клітинах 100 пА. Наступна заміна іонів Са у зовнішньому розчині іонами Ва (5 ммоль/л) збільшувала амплітуду вхідного струму до 150 пА. Вхідний компонент трансмембранного іонного струму блокувався ніфедипіном та іонами Со і активувався при додаванні Вау К 8644. Отримані результати дозволяють припустити, що в переносі вихідного струму беруть участь, принаймні, два типи калієвих каналів - потенціал- і кальційзалежні, а в переносі вхідного - високопорогові кальцієві канали L-типу і, частково, низькопорогові Т-типу (оскільки вхідний струм блокувався іонами Ні, а ніфедипін викликав неповне його блокування).

РОЛЬ ОПТИЧНОЇ ІЗОМЕРІЇ

В МЕМБРАНОТРОПНІЙ АКТИВНОСТІ КІОТОРФИНУ

В.К.Рибальченко, Г.В.Островська, Ю.М.Мельник,

І.В.Порало, Т.В.Рибальченко

Науково-дослідний інститут фізіології

Київського університету ім. Тараса Шевченка

Тепер відомо, що біоактивні речовини пептидної природи здатні змінювати функціонування клітини не тільки з залученням специфічних рецепторів, а й за допомогою безпосередньої взаємодії з плазматичною мембраною (ПМ), впливаючи на структурно-функціональний стан її компонентів. Характер і інтенсивність цього впливу (мембранотропна активність) залежить від амінокислотного складу регуляторного пептиду та його гідрофобності, а також від таких характеристик, як розмір молекули, розподіл гідрофобних і гідрофільних залишків по довжині пептидного ланцюга, кількість заряджених амінокислот тощо.

Із застосуванням техніки мономолекулярних штучних мембран ми дослідили внесок оптичної ізомерії в мембранотропну активність стереоізомерів кіоторфину - дипептиду з анальгетичною дією (Tyr-Arg) - D-Tyr-D-Arg, L-Tyr-D-Arg, D-Tyr-L-Arg, L-Tyr-L-Arg. Встановлено, що серед цих ізомерів власну поверхневу активність достатньою мірою виявляє лише ізомер L-L (відповідає природному кіоторфину). Проте всі чотири ізомери виявляють мембранотропну активність відносно штучних фосфоліпідних моношарових мембран і (дещо меншою мірою) до аналогічних мембран, сформованих з виділеної фракції ПМ міоцитів. Спочатку спостерігається адсорбція на поверхню моношару полярних головок пептиду та наступне вбудовування його молекул у гідрофобну зону мембрани жирнокислотними радикалами. Інтенсивність описаної взаємодії розподіляється таким чином: $L-L > D-L \approx L-D > D-D$, що повністю збігається з біологічною активністю цих ізомерів, встановленою іншими авторами. Отже, результати досліджень переконливо свідчать про взаємозв'язок мембранотропної активності регуляторних пептидів з їх біологічною активністю. Оптичну ізомерію можна також віднести до факторів, які є істотними як для мембранотропної активності пептидів, так і для виявлення ними фізіологічних ефектів.

ОСОБЛИВОСТІ ЕНДОГЕННОГО БІОСИНТЕЗУ ЕЙКОЗАНОЇДІВ У ТКАНИНАХ ЛЕГЕНІВ І НИРОК

В.Н.Сенчій

Науково-дослідний центр Луганського медичного університету

До однієї з функцій легенів належить біосинтез, перетворення та розпад факторів нейрогуморальної регуляції фізіологічно активних субстанцій: гормонів, пептидів, активних метаболитів, в т.ч. ейкозаноїдів. У даному випадку ми розглядали здатність легеневої тканини брати участь в ендегенному біосинтезі ейкозаноїдів. При дослідженні ендегенного біосинтезу ейкозаноїдів у легенях було виявлено, що рівні синтезу ПГЕ₂ і ПГГ_{2α} у правій та лівій легенях відрізняються один від одного, що проявляється підвищенням продукції у правій легені. Цей факт, певно, можна пояснити анатомо-фізіологічними відмінностями у будові правої та лівої легені. При порівнянні рівня продукції ПГЕ₂ і ПГГ_{2α} у тканинах легенів і нирок встановлено, що рівні їх синтезу у нирках (в місці їх основного синтезу) незначно перевищують такі в легенях (в місці їх розпаду).

КАМЕРНЕ МОДЕЛЮВАННЯ ВПЛИВУ АНТИЕПІЛЕПТИЧНИХ ЗАСОБІВ НА СТАЛІСТЬ (НЕСТАЛІСТЬ) ДИНАМІКИ МІЖНЕЙРОНАЛЬНИХ СИГНАЛІВ

С.О.Силантьєв, Г.А.Токар, В.Я.Балінський, С.І.Щукін

Одеський університет ім. І.І.Мечникова

Моделювання процесів масопередачі медіаторів у хімічних синапсах показало наявність трьох основних станів кінетичної системи, що включає нейрон: стаціонарного, динамічного та десенситизованого. Ці стани оборотні й моделюються швидкістю надходження медіаторів з нейрону і оточуючого міжклітинного середовища. Надходження та емісія медіаторів із міжклітинного середовища залежить від різниці їх концентрації у пре- і постсинаптичних відсіках (камерах) системи. Показано, що ефективність міжклітинного сигналу визначається значеннями концентрації імпульсного надходження медіатора з пресинаптичного відсіку і залишкового вмісту у постсинаптичному. Послідовна зміна ефективності міжклітинних сигналів (тормозних і збудливих) є причиною втрати сталості (м'якої та жорсткої) функціонування нейрональних систем, що імітує параксизмальний стан ЦНС. Досліджені особливості дії деяких антиконвульсійних засобів (похідні 1,4-бенздіазепіну, барбітурати, аналоги ГАМК тощо) на ефективність міжклітинних сигналів і параметри сталості або несталості функціонування нейрональних популяцій. Показано, що динаміка їх дії залежить від шляху і кінетики надходження до постсинаптичної камери та вихідного стану (стаціонарного/динамічного) системи.

**ВПЛИВ ГІПОКСІЇ ТА ОКИСУ АЗОТУ
НА ВИСОКО- ТА НИЗЬКОПОРОГОВІ КАЛЬЦІЄВІ КАНАЛИ
В СЕНСОРНИХ НЕЙРОНАХ ЗАДНЬО-КОРІНЦЕВИХ ГАНГЛІЇВ МИШЕЙ**
Н.А.Соловійова, П.Г.Костюк
Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця, Київ

Вплив гіпоксії та водного розчину окису азоту (NO) на високо- та низькопорогові кальцієві струми в сенсорних нейронах задньокорінцевих гангліїв мишей був досліджений за допомогою методики «patch-clamp» у конфігурації «whole-cell». Для дослідів були обрані нейрони середнього діаметра, які експресують обидва типи кальцієвих каналів. Знайдено, що аутентичний NO в концентрації 10^{-5} моль/л, який додавався безпосередньо в камеру, знижує максимальну амплітуду високопорогового кальцієвого струму з $4,6 \pm 0,2$ до $2,8 \text{ нА} \pm 0,3 \text{ нА}$ та низькопорогового - з $3,6 \pm 0,4$ до $1,1 \text{ нА} \pm 0,3 \text{ нА}$ в усіх шести досліджених нейронах. Ця NO-індукована супресія була оборотна на 80 % протягом 1-2 хв відмивання. В той же час нейрони середнього діаметра демонстрували дуже низьку чутливість до впливу гіпоксії. Лише в двох з десяти нейронах гіпоксія викликала зворотнє блокування низькопорогового кальцієвого струму. Отримані результати дозволяють припустити, що окис азоту в концентрації 10^{-5} моль/л має здатність блокувати як високо-, так і низькопорогові кальцієві струми в нервових клітинах, причому такий модулюючий вплив є більш ефективним, ніж відомий раніше вплив гіпоксії.

**ІЗОДИНАМІЧНИЙ АНАЛІЗ ПРОЯВУ ФІЗІОЛОГІЧНОГО
АНТАГОНІЗМУ, КОНКУРЕНТНОЇ ТА АЛОСТЕРИЧНОЇ ВЗАЄМОДІЇ
ЕФЕКТІВ ЕКЗОГЕННИХ ЛІГАНДІВ МЕДІАТОРНИХ СИСТЕМ ЦНС**
С.О.Силантьєв, М.С.Жук, В.Г.Зінковський, М.Я.Головенко
Одеський університет ім. І.І.Менчикова

Обґрунтована можливість кількісного аналізу взаємодії фармакологічних ефектів екзогенних лігандів різних медіаторних систем ЦНС із різними механізмами дії. Моделювання, що базується на аналізі ізодинамічних кривих фармакологічних ефектів, дозволяє визначити ступінь сполученості ефекторних систем (у випадку фізіологічного антагонізму чи сумачії дії) і тип взаємодії (конкурентний, без- або неконкурентний) при алостеричній взаємодії лігандів з однією ефекторною системою. Досліджена взаємодія конвульсійних ефектів екзогенних лігандів ГАМК_{A2} - рецепторно-іонофорної системи - конкурентного антагоніста ГАМК - бікукуліну, блокаторів хлорного іонофору - пікротоксину та коразолу, а також - блокатора хлорного іонофору гліцинових рецепторів - стрихніну. Визначені параметри сполучення ГАМК і гліцинергічних систем ЦНС при формуванні ефектів, які реєстрували (клонічні конвульсії, тонічна екстензія) у дослідних тварин (мишей). Вивчені типи їх модуляції (антагонізму) антиконвульсійними сполуками лігандами ГАМК_{A2} - рецепторно-іонофорної системи - барбітуратами, 1,4-бензодіазепінами, спиртами.